



Imunossensores eletroquímicos e suas aplicações¹

Luana Kelly Lima Santana², Philipi Cavalcante Ricardo³ Ricardo Lima Serudo⁴,
Michella Lima Lasmara⁵ e Maria Cristina dos Santos⁶

Recebido em: 02/11/2016, revisado: 03/11/2016, aceito em: 03/11/2016.

Resumo

Imunossensor é um sistema baseado na interação imune de reconhecimento antígeno-anticorpo, que envolve imobilização de antígenos ou anticorpos sobre a superfície transdutora, com consequente emissão de sinais durante essa interação de reconhecimento molecular. Os tipos de transdutores disponíveis são os físico-químicos ou microssistemas integrados, ópticos, eletroquímicos, termométricos, piezoelétricos, magnéticos ou micromecânicos. Diversos imunossensores estão sendo desenvolvidos para simplificar os processos de detecção, diminuir o tempo de análise, melhorar a sensibilidade e reduzir custos. Dentre as técnicas de detecção a eletroquímica gera dados de elevada qualidade e é indicada para detecção de citocinas, proteínas, enzimas e outras substâncias. A pesquisa bibliográfica que subsidiou essa revisão foi baseada em trabalhos publicados nos últimos 20 anos (1996 a 2016), obtidos nas Bases de dados Científicos como *ScienceDirect*, *Periódicos Capes*, *Scopus* e *Lilacs* e, ao final foram selecionados 2.332 artigos, que utilizaram a técnica eletroquímica. Dentre as vantagens dessa técnica têm-se a diversidade de opções que estão disponíveis para o público em termos de eletrodos, instrumentos, marcadores enzimáticos e reagentes. Além de apresentarem pequeno nível de interferências eletroquímicas em amostras clínicas ou alimentares complexas, redução ou eliminação de etapas de lavagem ou adição de reagentes externos acoplados com o baixo custo e a facilidade de uso de instrumentação para o diagnóstico rápido, prevenção e tratamento de muitas doenças, incluindo doenças infecciosas e autoimunes.

Palavras-Chave: transdutor, doenças autoimunes, citocinas, anticorpos, biossensor.

Electrochemical immunosensors and their applications. Immunosensor is an immune system based on the interaction of antigen-antibody recognition, which involves immobilizing antigens or antibodies on the transducer surface, with consequent emission of signals during this molecular recognition interaction. The types of transducers are available physicochemical or integrated microsystems, optical, electrochemical, thermometric, piezoelectric, magnetic or micromechanical. Several immunosensors are being developed to simplify the detection process, reduce the analysis time, improve the sensitivity and reduce costs. Among the detection techniques electrochemical generates high quality data and is suitable for detection of cytokines, proteins, enzymes and other substances. The literature that supported the review was based on papers published in the last 20 years (1996-2016), obtained from Scientific databases like *ScienceDirect*, *Capes*, *Scopus*, and *Lilacs* and at the end we selected 2,332 articles, which used

¹ Parte da Revisão de Dissertação de Mestrado do primeiro autor em Biotecnologia na Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus, AM, Brasil.

² Farmacêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Manaus e Professora Assistente da Universidade Paulista – UNIP. Avenida Adolfo Ducke, 1221 – Conjunto Acariquara – Coroado III, Manaus, AM. CEP 69082-653. E-mail: luana.lima.santana@gmail.com.

³ Aluno de Iniciação Científica da Escola Superior de Tecnologia (EST) da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, Manaus - AM, Brasil.

⁴ Professor Adjunto de Química da Escola Superior de Tecnologia (EST) da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, Manaus - AM, Brasil.

⁵ Professora Adjunta de Patologia Geral da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESA) da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, Manaus, AM, Brasil.

⁶ Professora Associada do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus, AM, Brasil.

the technique electrochemistry. Among the advantages of this technique are the diversity of options that are available to the public in terms of electrodes, instruments, reagents and enzyme markers. In addition to having low electrochemical interferences in complex clinical or food sample, reduction or elimination of washing steps or the addition of external reagents coupled with the low cost and ease of instrumentation used for fast diagnosis, prevention and treatment of many diseases including infectious and autoimmune diseases.

Key-words: transducer, autoimmune diseases, cytokines, antibodies, biosensor.

1. Introdução

Biossensores são sistemas analíticos constituídos de *materiais biológicos* como tecidos, microrganismos, organelas, receptores celulares, enzimas, anticorpos, ácidos nucleicos, dentre outros; ou *derivados biológicos* como anticorpos recombinantes, proteínas recombinantes, etc.; ou

biológicos sintéticos, que são acoplados a superfícies de transdutores físico-químicos ou microsistemas integrados, ópticos, eletroquímicos, termométricos, piezoelétricos, magnéticos ou micromecânicos (LAZCKA et al., 2007). Figura 1.

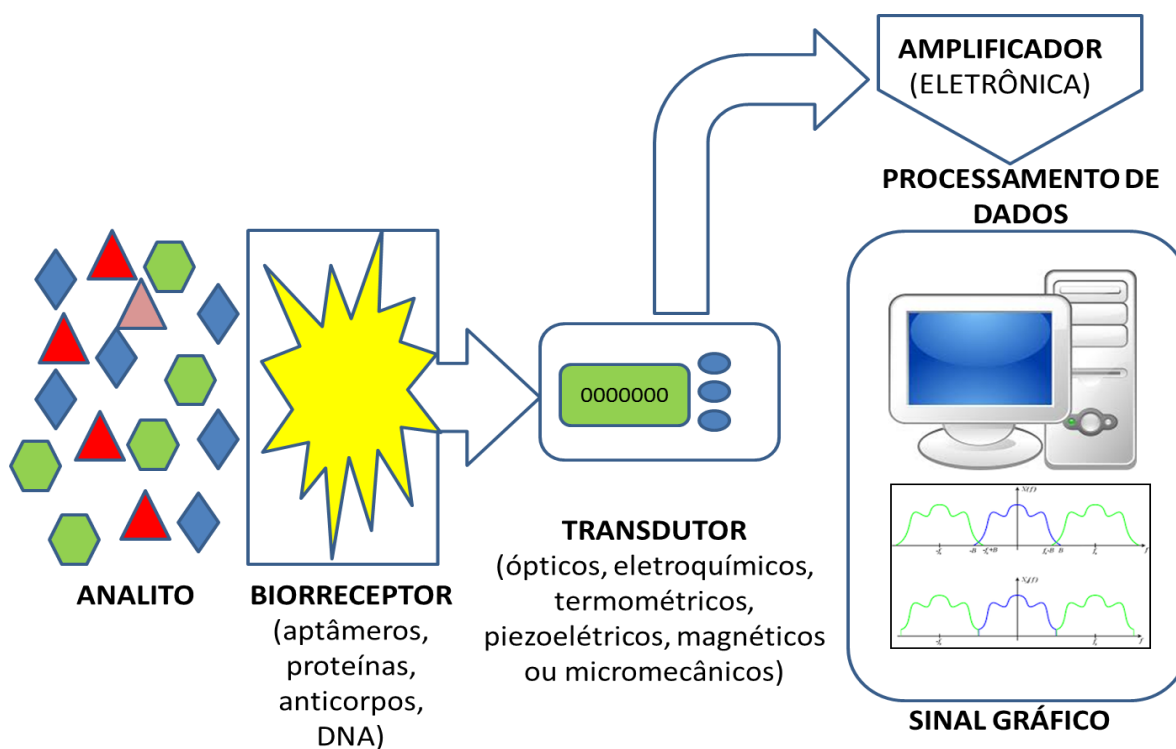


Figura 1: Esquema representativo de Biossensores. Baseado em: MARTINS, et al., 2013.

A camada sensora, constituída por *material biológico*, *derivados biológicos* ou *biológicos sintéticos*, os quais proporcionam seletividade ao sistema, é o elemento principal de um biossensor. O material biológico e o transdutor, dependem fundamentalmente do tipo de amostra a ser analisada e o tipo de parâmetro a ser medido. A porção biológica do processo é a responsável pela seletividade ou especificidade do

biossensor, principal objetivo no desenvolvimento desta tecnologia (LAZCKA et al., 2007).

Diversos componentes biológicos podem ser utilizados no desenvolvimento de biossensores e podem ser baseados na ligação antígeno-anticorpo, hibridização de ácidos nucleicos, aptâmeros, enzimas e biorreceptores. Os biossensores auxiliam no diagnóstico de doenças e no monitoramento médico pela da detecção de agentes infecciosos, de anticorpos e de



biomarcadores, etc. (CALIL; SILVA, 2014; CHUNG et al., 2006; GIL et al., 1999; GONG et al., 2007; MORGAN et al., 1996; RICCARDI, 2012; SHANKARAN et al., 2007, RICCI et al., 2012, MOHAMMED; DESMULLIEZ, 2011).

Imunossensor é um biossensor que emite sinais elétricos, ópticos, eletroquímicos, termométricos, magnéticos ou micromecânicos, dentre outros, após o reconhecimento do antígeno (citocinas ou outras proteínas, açúcares, hormônios, ácidos nucleicos, etc.) pelo anticorpo, ou vice-versa. A técnica de análise é baseada na imobilização de antígenos ou de anticorpos sobre a superfície transdutora, que transmite sinais durante a interação e o reconhecimento molecular (CALIL; SILVA, 2014; CHUNG et al., 2006; GIL et al., 1999; GONG et al., 2007; MORGAN et al., 1996; RICCARDI, 2012; SHANKARAN et al., 2007, RICCI et al., 2012, MOHAMMED; DESMULLIEZ, 2011).

Com o intuito de simplificar os processos de detecção, reduzir o tempo de análise, melhorar a sensibilidade e reduzir custos, estão sendo desenvolvidos diversos imunossensores. Dentre as técnicas de detecção final a eletroquímica, determinação óptica tais como métodos biofotônicos geram dados confiáveis e de qualidade, e têm sido frequentemente utilizadas para a detecção de antígenos, como citocinas, enzimas dentre outras substâncias. Os métodos ópticos requerem equipamentos complexos, assim, o desenvolvimento de métodos alternativos, como os eletroquímicos, que fornecem ótimos resultados com procedimento de simples execução é cada vez mais requisitado (KONGSUPHOL et al., 2014).

2. Material e Método

A pesquisa bibliográfica que subsidiou a presente revisão foi baseada na consulta de trabalhos publicados nos últimos 20 anos (1996 a 2016), obtidos nas seguintes Bases de dados Científicas: *ScienceDirect*, *Periódicos Capes*, *Scopus* e *Lilacs*.

Como unitermo foi utilizado “Imunossensores”, “Imunossensor” “Imunossensores”, “Imunossensores”.

No total foram obtidos inicialmente 13.126 arquivos distribuídos nas bases de dados da seguinte forma: a) *ScienceDirect* - resultou inicialmente em 6.592 arquivos publicados em revistas, livros e referências de trabalho; b) *Periódicos Capes* – resultou em 1.675 arquivos; c)

Lilacs/BVS – resultou em apenas 1 arquivo; d) *Scopus* – resultou em 3.744 arquivos.

O Portal *Periódicos Capes* faz busca direta nas bases de dados como o *WebScience* e *Scopus* e, por isso, foram encontrados artigos duplicados, em versões diversas. Portanto, foram excluídos e contabilizados para seleção, considerando os critérios pré-estabelecidos.

Para seleção de trabalhos foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: 1) artigos publicados nos cinco principais periódicos da área: *Biosensors and Bioelectronics*; *Sensors and Actuators B: Chemical*; *Analytica Chimica Acta*; *Talanta*; *Electrochimica Acta*. 2) Idiomas: inglês, português e espanhol; 3) Tópicos: imunossensores, biossensores, anticorpos, eletroquímica, imunossensor eletroquímico, carbono.

Os critérios de exclusão foram: 1) teses, dissertações, comunicações em congresso, livros e referências de trabalho; 2) outros idiomas; 3) outros títulos de periódicos; 4) demais termos ou tópicos apresentados nas buscas nas bases de dados.

3. Desenvolvimento de Imunossensores

3.1 Seleção de publicações

Após exclusão de arquivos por duplicidade, ficaram um total de 8.923 artigos.

Na base de dados *Periódicos Capes* inicialmente aplicando os critérios de exclusão, foram selecionados 402 arquivos, enquanto no *ScienceDirect* foram 716 arquivos, no *Scopus* 1.415 arquivos e 0 no *Lilacs/BVS*.

Foram excluídos 201 artigos duplicados.

Inicialmente para análise foram selecionados 2.332 artigos conforme demonstrado na Figura 2.

3.2 Tipos de Biossensores e Imunossensores

Os vários tipos de biossensores disponíveis envolvem sistemas de detecção enzimática, genética, imune, bioquímicas, dentre outros (BANDIERA et al., 2007; GAU et al. 2005).

O reconhecimento dos biossensores é baseado em sistemas de detecção bioquímica que podem envolver uma diversidade de moléculas, tais como: sequências de ácidos nucleicos, anticorpos, enzimas e outras biomoléculas que se ligam às moléculas complementares ou reagem com substratos específicos (GAU et al., 2005; WANG, 2000; WANG, 2006).

Os biossensores são apresentados nos mais diferentes formatos: *beads*, nanopartículas metálicas, magnetizadas, coloidais, em nanotubos de carbono, biochips, com superfícies de diferentes materiais inorgânicos (ouro, prata, platina, vidro, quartzo, ligas metálicas, óxidos -

SiO₂, Al₂O₃, SnO₂, TiO₂; nitretos - N₄Si₃), polímeros orgânicos e biomateriais (ARSLAN et al., 2006; ELSAYED; HUANG; EL-SAYED, 2005; MIYACHI et al., 2004; SOKOLOV et al., 2003; UKAJI et al., 2007; VITICOLI et al., 2006; WANG, 2000).

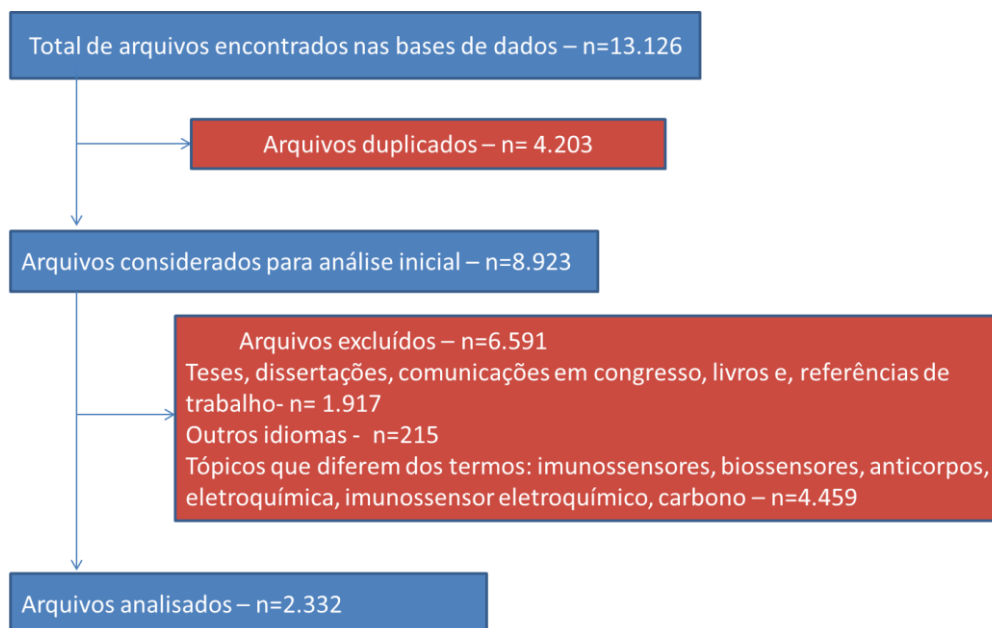


Figura 2: Fluxograma de seleção de estudos.

Segundo Carvalho e colaboradores (2003) para desenvolver um biossensor é de fundamental importância conhecer e avaliar as constantes de afinidades, de equilíbrios, fenômenos de interface (sólido/líquido) associados com interações enzima/substrato, etc., resultando assim em biossensores mais sensíveis, seletivos, principalmente mais estáveis e com maior potencial para produção comercial.

Os imunossensores aliam reconhecimento bioquímico com sinais de transdução em sistemas de detecção de moléculas específicas, pela interação antígeno-anticorpo. O componente transdutor transforma a interação das biomoléculas em sinais reconhecíveis. As junções desses componentes desencadeiam a detecção específica e até, quantificação de moléculas alvos em amostras complexas (GAU et al., 2005; WANG, 2000; WANG, 2006).

Os imunossensores eletroquímicos são geralmente obtidos pela imobilização de um elemento de reconhecimento (o antígeno ou anticorpo) sobre a superfície do eletrodo. Nesse sistema pode ser adicionado um anticorpo

secundário marcado com enzima. A adição de um substrato enzimático adequado fornecerá uma reação enzimática com produção de uma molécula eletroativa gerando um sinal que é gravado, por instrumentos de bancada ou portáteis, por meio de diferentes técnicas eletroquímicas (Figura 3). Sendo assim a construção de um imunossensor eletroquímico deve partir das seguintes etapas de seleções: da superfície do eletrodo e do processo de imobilização do elemento de reconhecimento (RICCI; ADORNETTO; PALLESCHI, 2012).

3.3 Técnicas de Imobilização

Segundo MARQUES e YAMANAKA (2008) na construção de um biossensor a técnica a ser empregada na imobilização é uma etapa crítica e os tipos de procedimentos mais comuns de imobilização de material biológico podem ser classificados em: (a) adsorção; (b) encapsulação; (c) ligação covalente, e (d) ligação covalente cruzada (*crosslinking*), como podem ser observados na Figura 4.

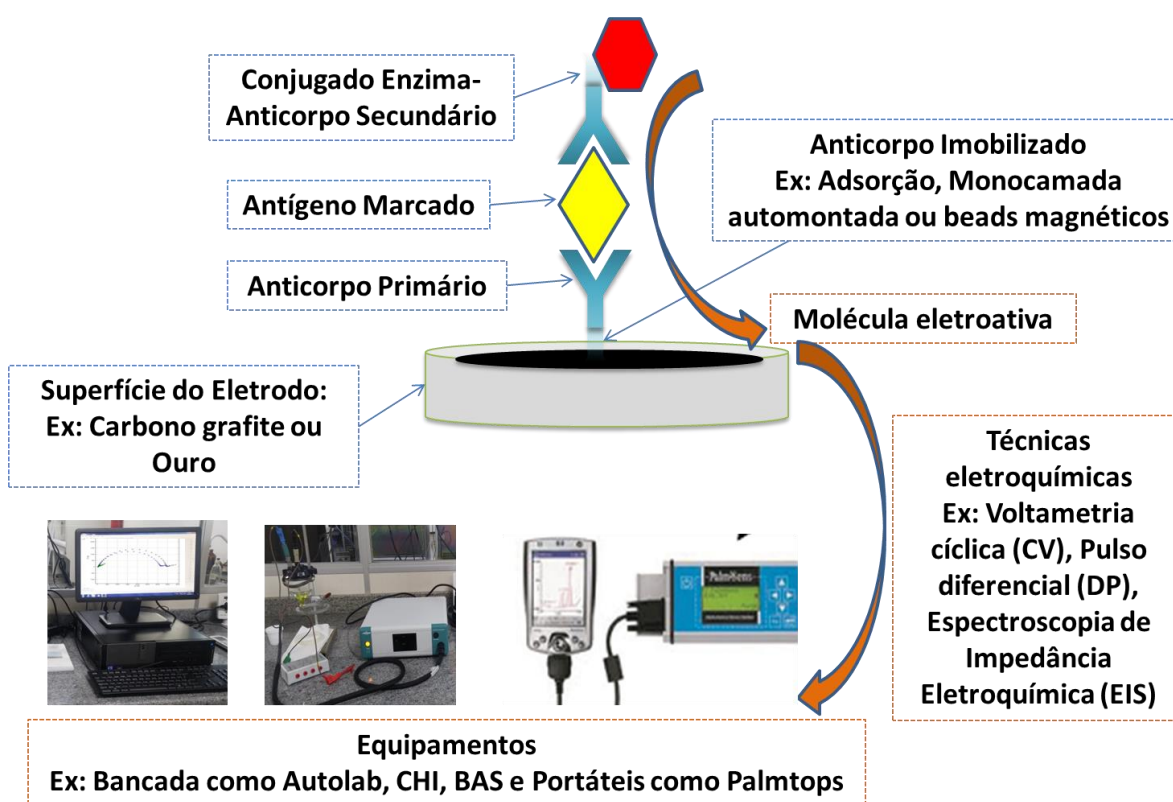


Figura 3 - Visão geral dos principais componentes de um imunossensor eletroquímico genérico, com base em um formato de sanduíche. Fonte (adaptado): RICCI; ADORNETTO; PALLESCHI, 2012.

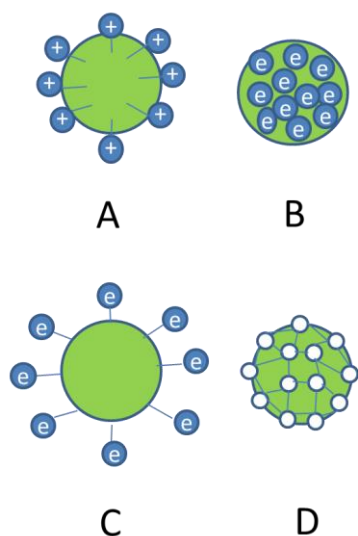


Figura 4 - Esquema ilustrativo dos quatro tipos básicos de métodos de imobilização enzimáticos: a) adsorção; (b) encapsulação; (c) ligação covalente, e (d) ligação covalente cruzada. Fonte (adaptado): MARQUES; YAMANAKA, 2008.

A ligação covalente é a técnica de imobilização mais utilizada e se baseia na retenção da enzima, pela ligação com seus grupos funcionais, com a superfície do suporte. Porém, desvantagem dessa técnica de imobilização é a perda de parte da atividade enzimática, por conta de alterações nas conformações dos sítios ativos da enzima (DIAZ; PEINADO, 1997; RETAMA et al., 2005; VIDAL et al., 2006; YANG et al., 2004).

A imobilização pela técnica da ligação covalente cruzada (*crosslinking*) é baseada na formação de um sistema reticulado das moléculas da enzima, formando uma rede rígida, oferecendo assim a vantagem de uma ligação enzima-enzima mais sólida. Como desvantagem pode induzir a formação de barreiras de difusão, resultando no aumento do tempo de resposta do biossensor. O glutaraldeído e o álcool polivinílico, com grupos estirilpiridínicos (PVA-SbQ) ligados, são exemplos de agentes de ligação cruzada já

utilizados na construção de biossensores (ANDREESCU et al., 2002; NUNES et al., 2004).

Segundo os estudos de Makaraviciute e Ramanaviciene (2013) a sensibilidade, estabilidade e longevidade de um imunossensor, dependem da quantidade de moléculas de anticorpos imobilizados. Dessa forma, a sua estabilidade conformacional remanescente sobre a superfície, após imobilização, determina sua orientação na superfície do sensor. As imunoglobulinas (anticorpos) são compostas por duas cadeias leves e duas cadeias pesadas unidas por pontes dissulfetos. Apresentam duas regiões de reconhecimento de antígenos (bivalente – região Fab) e uma região constante (Fc) que caracteriza cada classe de imunoglobulinas e que define as suas funções biológicas (Figura 5). Dependendo do processo de imobilização e da porção que é imobilizada da imunoglobulina, pode dificultar a interação como antígeno (Figura 6 A).

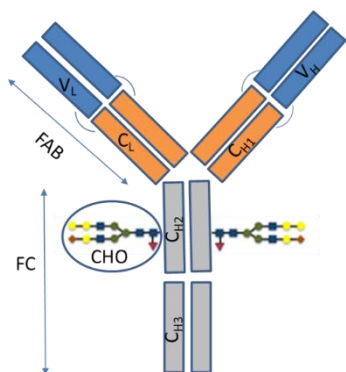


Figura 5 - Representação esquemática de uma molécula de anticorpo. Fragmento Fab, ligação ao antígeno; Fc-fragmento, cristalizável; CHO-hidrato de carbono porção; VL- domínio variável da cadeia leve; VH- domínio variável da cadeia pesada; CL- domínio constante da cadeia leve; e CH1, CH2, CH3-primeiro, segundo e terceiro domínios constante da cadeia pesada. Fonte (adaptado): MAKARAVICIUTE; RAMANAVICIENE, 2013.

A imobilização de anticorpos pode ainda ser do tipo orientada (sítio-dirigida), pois assegura a minimização de impedimento estérico e, conseqüentemente, facilita a interação antígeno-anticorpo, aumentando a sensibilidade da análise (PIETRO-SIMÓN et al., 2015).

Para Makaraviciute e Ramanaviciene (2013) a otimização de sistemas de detecção de substâncias deve concentrar-se principalmente no da imobilização do anticorpo, com local específico (sítio-dirigido) para porção ligante de interesse. Essa técnica é indicada para aplicações

clínicas, por ser simples, exata e permitir a detecção do analito diretamente. As duas principais abordagens existentes que podem ser utilizadas na preparação da superfície do sensor a base de anticorpo é: aleatória e sítio-dirigida ao local de imobilização do anticorpo, que podem ocorrer de diferentes maneiras, como expressos nas figuras 6 e 7.

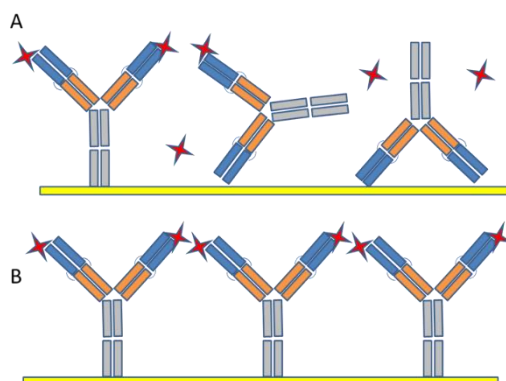


Figura 6 - Representação das duas principais abordagens de imobilização de anticorpo. A-aleatória, e B-dirigida ao local de imobilização do anticorpo.

Fonte (adaptado): MAKARAVICIUTE; RAMANAVICIENE, 2013.

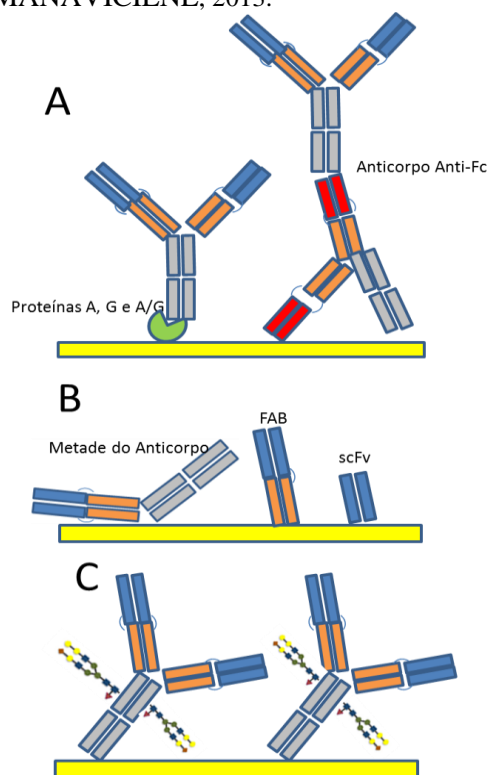


Figura 7 - Representação esquemática de métodos de imobilização de anticorpo por local indicado. (A) proteínas de ligação via Fc, (b) por meio de fragmentos de anticorpo e (c) por oligossacarídeos oxidados.

Fonte (adaptado): MAKARAVICIUTE; RAMANAVICIENE, 2013

3.4 Sistemas de Transdução de Sinal, Camada Sensora e Aplicação

Dentre as diversas formas de transdução de sinal têm-se: óptica (colorimétrica, fluorescente), magnética, eletroquímica (amperométricos, potenciométricos, espectroscopia de impedância eletroquímica), piezoelétrica, etc. (CATTARUZZA et al., 2006; DONG et al., 2006; JOSHI et al., 2007; YANG et al., 2006). A Tabela 1 expressa alguns tipos de imunossensores, seus diferentes componentes e aplicações.

3.5 Tipos de Imunossensores

Os imunossensores têm o objetivo de trabalhar como teste POCT (*Point-of-care*) que permite diagnosticar doenças ou substâncias tóxicas, por meio de dispositivos portáteis, em qualquer lugar que o indivíduo esteja, da cabeceira de sua cama a um local distante. A conversão de imunossensores a dispositivos portáteis é fundamental para que o diagnóstico possa ser realizado em áreas rurais onde os recursos e o atendimento à saúde são escassos (GOPINATH et al. 2014).

Ao longo dos anos e pelas publicações disponíveis foram constatados inúmeros dispositivos com definição de imunossensores, que têm por finalidade propiciar maior especificidade em diagnósticos diversos.

Nos estudos de Hays, Millner e Prodromidis (2006) as monocamadas de um eletrodo foram montadas em bases de sistemas mistos utilizando compostos derivados tiol ancorados na superfície de ouro, ou pela criação de monocamadas de suporte para que as moléculas como a biotina possam ser imobilizadas.

Balkenhohl e Lisdat (2007) desenvolveram um imunossensor eletroquímico capaz de detectar anticorpos antitransglutaminase em soro humano. A sensibilidade foi alta o suficiente para indicar a sua aplicação no diagnóstico de doença celíaca. Por ser um sistema com resultados quantitativos, os dados obtidos foram superiores aos de ensaios de linha ou denominados qualitativos, que apresentam apenas como resultados: positivo (sim) ou negativo (não). Ainda assim, os dados não foram tão precisos

estatisticamente que permitam afirmar, por exemplo, que esse teste é mais preciso que um realizado por *kits* comerciais de ELISA.

MORENO-GUSMÁN e colaboradores (2012) desenvolveram um imunossensor eletroquímico para detecção rápida do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) envolvendo a imobilização de antiACTH em eletrodos impressos de carbono modificado com ácido fenilborônicos.

Um imunoenensaio competitivo implicando ACTH biotilado e fosfatase alcalina estreptavidina marcada foi realizado. A resposta analítica obtida foi pela análise voltamétrica de pulso diferencial para monitorizar a reação de afinidade. Resultando assim, em um eletrodo de excelente desempenho analítico em termos de sensibilidade, seletividade, ampla gama de concentrações de antígeno quantificáveis e inter ensaio de reprodutibilidade.

Em geral, segundo Ricci, Adornetto, Palleschi, (2012) a sensibilidade de imunossensores eletroquímicos não é comparável a de métodos conjugados com enzima, no entanto, conduzem a limites de detecção suficientemente baixos, sendo, portanto, úteis para aplicações práticas, além de serem menos propensos a interferência do que os imunossensores ópticos. As vantagens dos modelos eletroquímicos estão na diversidade de opções de eletrodos disponíveis para o público, de instrumentos, de marcadores enzimáticos e de reagentes. Além dessas podem ser adicionadas as vantagens relacionadas ao pequeno nível de interferências eletroquímicas em amostras clínicas ou alimentares complexas, redução ou eliminação de etapas de lavagem ou adição de reagentes externos acoplados com o baixo custo e a facilidade de uso de instrumentação eletroquímica para o diagnóstico rápido, prevenção e tratamento de muitas doenças, incluindo doenças infecciosas e autoimunes.

4. Considerações Finais

O desenvolvimento de imunossensor de alto desempenho, qualidade e praticidade, com possível miniaturização, são de suma relevância para aplicação na prática médica de diagnóstico e monitoramento de substâncias diversas no organismo humano.

Tabela 1. Tipos de imunossensores com exemplos de transdutores, camada sensora e aplicação.

SUBSTRATO	TRANSDUTOR	CAMADA SENSORA	APLICAÇÃO	REFERÊNCIA
Membrana celulósica (rede nylon)	POTENCIOMÉTRICO E AMPEROMÉTRICO	Anticorpo Anti-IgG humano e glicose oxidase	Determinação de Anti-IgG humana	CAMPANELLA et al., 1999
Superfície de ouro	PIEZOELÉTRICO	Anticorpo antiHSA	Detecção de albuminúria	NAVRÁTILOVÁ, SKLÁDAL, VIKLICKY, 2001
Eletrodo de vidro	ÓPTICO	Glutaraldeído e DNA	Dinâmica de hibridização de DNA	WANG et al., 2002.
Nanopartícula de Ouro	ÓPTICO	Polietilenoglicol e Anticorpo AntiEGFR.	Detecção de câncer	EL-SAYED; HUANG; EL-SAYED, 2005; SOKOLOV et al., 2003.
Nanopartículas de (dióxido de titânio)-TiO ₂	VOLTAMÉTRICO	Glicose oxidase	Diagnóstico e controle da diabetes	VITICOLI et al., 2004.
Nanopartícula de prata	AMPEROMÉTRICA	Polivinil butiral (PVB), Glutaraldeído e glicose oxidase.	Detecção de glicose	REN et al., 2005.
Nanotubos de carbono	AMPEROMÉTRICO	Glutaraldeído e glicose oxidase	Diagnóstico e controle da diabetes	TKAC; WHITTAKER; RUZGAS, 2007; ZOU et al., 2006.
Eletrodo de vidro	AMPEROMÉTRICO E IMPEDIMÉTRICO	Glutaraldeído e glicose oxidase	Detecção de desordens neurológicas	MAALOUF et al., 2006.
Superfície de ouro	ÓPTICO	Ácido Mercaptoundecanóico, Carbodiimida (EDC), N- hidroxisuccinimida (NHS) e IgG.	Detecção de câncer	CHUNG; BERNHARDT; PYUN, 2006
Superfície de ouro	PIEZOELÉTRICO	Mercaptoundecanóico, Carbodiimida (EDC), N-hidroxisuccinimida (NHS) e IgG.	Detecção de câncer	GRONEWOLD et al., 2006
Superfície de ouro	IMPEDIMÉTRICO	Biotina	Detecção de cristais de quartzo	HAYS, MILLNER e PRODROMIDIS, 2006
Superfície de ouro	ÓPTICO	Cisteamina, Carbodiimida (EDC), N-hidroxisuccinimida (NHS) e Troponina cardíaca.	Detecção do infarto do miocárdio	DUTRA et al., 2007.
Nanopartícula de Ouro e ponto quântico	ELETROQUÍMICA E ÓPTICO	Carbodiimida (EDC), Glicose oxidase e DNA.	Detecção de câncer	WILLNER; BARON; WILLNER, 2007.
Nanopartícula de sílica e prata magnetizada	MAGNÉTICA E ÓPTICA	Aminopropiltrietóxisilano (APTS), DETA, Glutaraldeído e Anticorpo Anti-IgG	Detecção de câncer	GONG et al., 2007
Eletrodo impresso de ouro	ELETROQUÍMICA	Anticorpos antitransglutaminase em soros humanos	Diagnóstico de doença celíaca	BALKENHOHL, LISDAT, 2007
Eletrodo impresso de carbono	ELETROQUÍMICA	Anticorpo monoclonal antiácido ocaído (antiOA-MAb)	Detecção de ácido ocaído em amostra de músculo	HAYAT; BARTHELMEBS; MARTY, 2012
Eletrodo impresso de carbono	ELETROQUÍMICA IMPEDIMÉTRICA	Anticorpo antiACTH, ACTH biotilado, fosfatase alcalina, estreptavidina marcada	Detecção de ACTH	MORENO-GUSMÁN et al., 2012
Superfície de ouro	ELETROQUÍMICA IMPEDIMÉTRICA	Anticorpo para receptor de lipoproteína AntisLOX1	Detecção de Troponina Cardíaca I	BILLAH et al., 2012
Nanopartículas de Platina mesoporosas não enzimático	ELETROQUÍMICO	Anticorpos AntiCA125, antiCA153 e antiCEA (Ab1)	Detecção de três tipos de marcadores tumorais de câncer de mama	CUI et al., 2014
Nanotubos de carbono em superfície de ouro	VOLTAMÉTRICO (PULSO DIFERENCIAL)	Anticorpo policlonal adaptado nanotubos de carbono de parede única	Determinação De contaminação microbiana	PRIETO-SIMÓN et al., 2015



Há uma demanda sobre o desenvolvimento de testes rápidos, quantitativos, com alta sensibilidade e especificidade para quantificação de marcadores moleculares, como citocinas, no sangue de pacientes portadores de enfermidades crônicas, como doenças autoimunes, as quais são tratadas com várias modalidades terapêuticas, de acordo com as condições clínicas dos pacientes, que são extremamente variáveis.

A concepção de um imunossensor portátil, de fácil utilização, de alta sensibilidade e especificidade, contribuirá para direcionar um tratamento mais eficaz das doenças autoimunes, nas quais são utilizadas terapias com anticorpos monoclonais direcionados para citocinas inflamatórias. Além do alto custo desses imunobiológicos, que são fornecidos pelo Ministério da Saúde, a administração de doses inadequadas torna o paciente imunossuprimido, sujeito a infecções e a outras patologias graves, durante o tratamento.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- ANDREESCU, S.; NOGUER, T.; MAGEARU, V.; MARTY, J. L. Screen-printed electrode based on AChE for the detection of pesticides in presence of organic solvents. **Talanta**, v. 57 (1), p. 169-176, 2002.
- ARSLAN, G. et al. Surface Modification of Glass Beads with an Aminosilane Monolayer. **Turk J Chem**, v. 30, p. 203-210. 2006.
- BALKENHOHL, T.; LISDAT F., Screen-printed electrodes as impedimetric immunosensors for the detection of anti-transglutaminase antibodies in human sera. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 50-57. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2007.06.041>
- BANDIERA, L.; Cellere, G.; Cagnin, S.; Toni, A.; Zanoni, E.; Lanfranchi, G.; Lorenzelli, L. A fully electronic sensor for the measurement of cDNA hybridization kinetics. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p. 2108-2114. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2006.09.025>
- BILLAH, M. M.; HAYS, H. C. W.; HODGESB, C. S.; PONNAMBALAM, S.; VOHRA, R.; MILLNER, P. A. Mixed self-assembled monolayer (mSAM) based impedimetric immunosensors for cardiac troponin I (cTnI) and soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (sLOX-1). **Sensors and Actuators B**, v. 173 p. 361-366. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2012.07.017>
- CALIL, S. S.; SILVA, P. R. Q. da; **Biossensores: estrutura, funcionamento e aplicabilidade**. Acesso em <[http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/artigos/SAUDE/SI MONE%20SAAD%20CALIL%20PAULO%20ROBERTO%20QUEIROZ.pdf](http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/artigos/SAUDE/SI%20MONE%20SAAD%20CALIL%20PAULO%20ROBERTO%20QUEIROZ.pdf)>, dia 23 de junho de 2014.
- CAMPANELLA, L.; ATTIOLI, R.; COLAPICCHIONI, C.; TOMASSETTI, M. New amperometric and potentiometric immunosensors for anti-human immunoglobulin G determinations. **Sensors and Actuators B**, v. 55, p. 23 - 32. 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00035-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00035-0)
- CARVALHO, R. M. de; RATH, S.; KUBOTA, L. T. SPR - Uma Nova Ferramenta para Biossensores. **Química Nova**, v. 26, no. 1, p. 97-104, 2003.
- CATTARUZZA, F.; CRICENTI, A.; FLAMINI, A.; GIRASOLE, M.; LONGO, G.; PROSPERI, T.; ANDREANO, G.; CELLAI, L.; CHIRIVINO, E. Controlled loading of oligodeoxyribonucleotide monolayers onto unoxidized crystalline silicon; fluorescence-based determination of the surface coverage and of the hybridization efficiency; parallel imaging of the process by Atomic Force Microscopy. **Nucleic Acids Research**, v. 34, n. 4, 2006. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gnj034>
- CHUNG, J.W.; BERNHARDT, R.; PYUN, J.C. Additive assay cancer marker CA 19-9 by SPR biosensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.118, p.28-32. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2006.04.015>
- CUI, Z.; WU, D.; ZHANG, Y.; MA, H.; LI, H.; DUA, B.; WEIA, Q.; JU, H. Ultrasensitive electrochemical immunosensors for multiplexed determination using mesoporous platinum nanoparticles as nonenzymatic labels. **Analytica Chimica Acta**, v. 807, p. 44-50. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.025>
- DIAZ, A. N.; PEINADO, M. C. R. Sol-gel cholinesterase biosensor for organophosphorus pesticide fluorometric analysis. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 38, p. 426-431, 1997. [http://dx.doi.org/S0925-4005\(97\)00025-7](http://dx.doi.org/S0925-4005(97)00025-7)
- DONG, H.; LI, C. M.; ZHOU, Q.; SUN, J. B.; MIAO, J. M. Sensitive electrochemical enzyme immunoassay microdevice based on architecture of dual ring electrodes with a sensing cavity chamber. **Biosensors**



- and **Bioelectronics**, v. 22, p. 624-626. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2006.01.034>
- EL-SAYED, I. H.; HUANG, X.; EL-SAYED, M.A. Surface Plasmon Resonance Scattering and Absorption of anti-EGFR Antibody Conjugated Gold Nanoparticles in Câncer Diagnostics: Applications in Oral Cancer. **Nano Lett.**, v.5, n.5, p.829-834. 2005.
- GAU, V.; MA, S.-C.; WANG, H.; TSUKUDA, J.; KIBLER, J.; HAAKE, D. A.. Electrochemical Molecular Analysis Without Nucleic Acid Amplification. **Methods**, v. 37, n.1, p.73-83. 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2005.05.008>
- GIL, E. S.; KUBOTA, L. T.; YAMAMOTO, Y. I.; Alguns Aspectos de Imunoensaios Aplicados À Química Analítica. **Química Nova**, v. 22, p. 874 – 881. 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000600015>
- GONG, J. L.; LIANG, Y.; HUANG, Y.; CHEN, J. W.; JIANG, J. H.; SHEN, G. L.; YU, R. Q. Ag/SiO₂ core-shell nanoparticle-based surface-enhanced Raman probes for immunoassay of cancer marker using silica-coated magnetic nanoparticles as separation tools. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p.1501–1507. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2006.07.004>
- GOPINATH, S. C. B.; TANG, T-H.; CITARTAN, M.; CHEN, Y.; LAKSHMIPRIYA, T. Current aspects in immunosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 57, p. 292–302. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2014.02.029>
- HAYS, H. C. W.; MILLNER, P. A.; PRODRONIDIS, M. I. Development of capacitance based immunosensors on mixed self-assembled monolayers. **Sensors and Actuators B**, v. 114, p. 1064–1070. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2005.08.039>
- JOSHI, M.; KALE, N.; LAL, R.; RAMGOPAL, R. V.; MUKHERJI, S. A novel dry method for surface modification of SU-8 for immobilization of biomolecules in Bio-MEMS. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p. 2429–2435. 2007. <http://dx.doi.org/>
- KONGSUPHOL, P.; NG, H. H.; PURSEY, J. P.; ARYA, S. K.; WONG, C. C.; STULZ, E.; PARK, M. K. EIS-based biosensor for ultra-sensitive detection of TNF- α from non-diluted Human serum. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 61, p. 274-279. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2014.05.017>
- LAZCKA, O.; DEL CAMPO, F.J.; MUÑOZ, F. X. Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, p.1205-1217. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2006.06.036>
- MAKARAVICIUTE, A.; RAMANAVICIENE, A. Site-directed antibody immobilization techniques for immunosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 50, p. 460–471. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2013.06.060>
- MARQUES, P. R. B. O.; YAMANAKA, H. Biossensores Baseados no processo de inibição enzimática. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1791-1799. 2008.
- MARTINS, T. D.; RIBEIRO, A. C. C.; CAMARGO, H. S.; FILHO, P. A. C.; CAVALCANTE, H. P. M.; DIAS, D. L. New Insights on Optical Biosensors: Techniques, Construction and Application. **INTECH. State of the Art in Biosensors - General Aspects**-ch. 5, p. 111-140. 2013. <http://dx.doi.org/10.5772/52330>
- MIYACHI, H. IKEBUKURO, K.; YANO, K.; ABURATANI, H.; KARUBE, I. Single nucleotide polymorphism typing on DNA array with hydrophobic surface fabricated by plasma-polymerization technique. **Biosensors and Bioelectronics**, v.20, p.184-189. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2004.02.022>
- MOHAMMED, M. I.; DESMULLIEZ, M. P. Lab-on-a-chip based immunosensor principles and technologies for the detection of cardiac biomarkers: a review. **Lab on a Chip**, v. 11, n 4, p. 569-595, 2011. <http://dx.doi.org/10.1039/c0lc00204f>
- MORENO-GUZMÁN, M.; OJEDA, I.; VILLALONGA, R.; GONZÁLEZ-CORTÉS, A.; YÁÑEZ-SEDEÑO, P.; PINGARRÓN, J. M. Ultrasensitive detection of adrenocorticotropin hormone (ACTH) using disposable phenylboronic-modified electrochemical immunosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 35, p. 82–86. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.02.01>
- MORGAN, C. L.; NEWMAN, D. J.; PRICE, C. P.; Immunosensors: technology and opportunities in laboratory medicine. **Clinical Chemistry**, v. 42, p. 193-209. 1996.
- NAVRÁTILOVÁ, I.; SKLÁDAL, P.; VIKLICKÝ, V. Development of piezoelectric immunosensors for measurement of albuminuria. **Talanta**, v. 55, p. 831–839. 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00512-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00512-4)
- NUNES, G. S.; JEANTY, G.; MARTY, J-L. Enzyme immobilization procedures on screen-printed electrodes used for the detection of anticholinesterase pesticides Comparative study. **Analytica Chimica Acta**, v. 523, p. 107-115, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2004.03.100>
- PRIETO-SIMÓN, B.; BANDARU, N.M.; SAINT, C.; VOELCKER, N.H. Tailored carbon nanotube immunosensors for the detection of microbial contamination. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 67, p. 642–648. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2014.09.089>



RETAMA, J. R.; LÓPEZ, M. S.; PÉREZ, J. P. H.; CABANILLAS, G. F.; LÓPEZ CABARCOS, E.; LÓPEZ-RUIZ, B. A comparative study of immobilized glucose oxidase and tyrosinase. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, n. 11, p. 2268-2275, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2004.10.011>

RICCARDI, C. S.; COSTA, P. I.; YAMANAKA, H. Imunossensor Amperométrico. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 316-320, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200020>

RICCI, F.; ADORNETTO, G.; PALLESCHI, G. A review of experimental aspects of electrochemical immunosensors. **Electrochimica Acta**, v. 84, p. 74-83. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2012.06.033>

SHANKARAN, D. R.; GOBI, K.V.; MIURA, N. Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 121, p. 158-177. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2006.09.014>

SOKOLOV, K. FOLLEN, M.; AARON, J.; PAVLOVA, I.; MALPICA, A.; LOTAN, R.; RICHARDS-KORTUM, R. Real Time Vital Optical Imaging of Pre cancer Using Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibodies Conjugated to Gold Nanoparticles. **Cancer Research**, v. 63, p. 1999-2004. 2003.

UKAJI, E. FURUSAWA, T.; SATO M.; SUZUKI N. The effect of surface modification with silane coupling agent on suppressing the photo-catalytic activity of fine TiO₂ particles as inorganic UV filter. **Applied Surface Science**, v. 254, p. 563-569. 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2007.06.061>

VIDAL, J. C.; ESTEBAN, S.; GIL, J.; CASTILLO, J. R. A comparative study of immobilization methods of a tyrosinase enzyme on electrodes and their application to the detection of dichlorvos organophosphorus insecticide. **Talanta**, v. 68, p. 791-799, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.06.038>

VITICOLI, M.; CURULLI, A.; CUSMA, A.; KACIULIS, S.; NUNZIANTE, S.; PANDOLFI, L.; VALENTINI, F.; PADELETTI, G. Third-generation biosensors based on TiO₂ nanostructured films. **Materials Science and Engineering C**, v. 26, p. 947-951. 2006.

WANG, J. Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 21, p. 1887-1892. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2005.10.027>

WANG, J. From DNA biosensors to gene chips. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n.16, p.3011-3016. 2000. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/28.16.3011>

YANG, X.; ZHOU, Z.; XIAO, D.; CHOI, M. M. F. A fluorescent glucose biosensor based on immobilized glucose oxidase on bamboo inner shell membrane. **Biosensors and Bioelectronics**, v.21, p.1613-1620. 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2005.08.004>

YANG, Y.; YANG, M.; WANG, H.; JIANG, J.; SHEN, G.; YU, R. An amperometric horseradish peroxidase inhibition biosensor based on a cysteamine self-assembled monolayer for the determination of sulfides. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 102, p. 162-168, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2004.04.016>