

BIOSSENSORES: PERSPECTIVAS PARA O LABORATÓRIO CLÍNICO

Vinícius FERREIRA DE SOUZA (1); Henrique SOUTO CHAGAS (2); Viviane VIANA SILVA (3);

(1) Engenheiro Eletricista Especialista em Engenharia Biomédica pelo Instituto Nacional de Telecomunicações - Inatel; Endereço: Praça Coronel João Luiz Garcia, 401, Centro; CEP: 37750-000; Machado/MG; vinicius-souza@axtelecom.com.br; (2) Farmacêutico Bioquímico Especialista em Engenharia Biomédica pelo Instituto Nacional de Telecomunicações - Inatel; hensouto@yahoo.com; (3) Orientadora: Professora do curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Engenharia Biomédica do Instituto Nacional de Telecomunicações - Inatel; viviane@pq.cnpq.br

RESUMO

Os serviços médicos como os tratamentos *home-care* e *point-of-care* estão favorecendo novos critérios para a seleção de tecnologias para o laboratório clínico e auxiliando no surgimento de uma nova tecnologia, a dos biossensores. Um biossensor é um dispositivo composto por dois elementos fundamentais: um receptor biológico preparado para detectar especificamente uma substância e um transdutor, capaz de interpretar a reação de reconhecimento biológico quantitativa ou qualitativamente. As aplicações do biossensor vão desde o emprego no monitoramento e controle ambiental até o emprego em diferentes segmentos industriais, em especial, nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Os biossensores também podem satisfazer a necessidade do monitoramento contínuo, em tempo real *in vivo* para substituir a tecnologia analítica intermitente usada na indústria química e análises clínicas. Mais de 1000 publicações relevantes apareceram desde 1995, indicando a atividade de pesquisa devotada para esse importante assunto. Embora diversos protótipos laboratoriais tenham sido descritos na literatura, apenas alguns sensores chegaram ao mercado internacional. O mercado de diagnóstico representa uma oportunidade única para a introdução dos biossensores sobre uma ampla base comercial.

Palavras-chave: biossensores, laboratório clínico.

1. INTRODUÇÃO

O Laboratório Clínico, como todo nicho de mercado, tem etapas evolutivas. A automação nesse setor aparece como uma necessidade de otimização da rotina e adequação ao mercado global. O produto desse mercado seria o laudo técnico laboratorial, que deve estar adequado as condições das agências reguladoras e descrever as características físico-químicas qualitativas e quantitativas, de uma ou mais amostras biológicas.

A atual produção laboratorial é dividida em três etapas que visam auxiliar no controle desse processo, e são assim conceituadas segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) número 302 de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA):

- Fase pré-analítica, que se inicia com a solicitação da análise, passando pela obtenção da amostra e finda ao se iniciar a análise propriamente dita;
- Fase analítica, que apresenta um conjunto de operações com descrição específica, utilizado na realização das análises de acordo com um determinado método;
- Fase pós-analítica, que se inicia após a obtenção dos resultados válidos das análises e se encerra com a emissão do laudo, para a interpretação pelo solicitante.

Toda essa sistematização vem confrontar com a mais importante função de um sistema de qualidade em linha produtiva: monitorar e minimizar erros. A fase analítica é a mais automatizada de todas e a que apresenta menos problemas habitualmente, graças à robustez dos equipamentos recentemente desenvolvidos e aos serviços prestados pela Engenharia Clínica dos hospitais ou pelo próprio fabricante do equipamento.

Entretanto, a fase mais complicada do exame é a fase pós-analítica. Nessa última fase há o controle do gestor, pois a consciência e a qualificação profissional não permitem que sejam validados resultados de testes dos quais não se tenha convicção de que estejam absolutamente adequados e corretos. A interpretação dos exames pelo responsável técnico do processo depende dos conhecimentos que ele tem sobre o teste e o laudo que o laboratório fornece.

A tendência é que, cada vez mais, esse tipo de serviço seja interdisciplinar, rápido, confiável, limpo e, paradoxalmente às teorias de produção, personalizado ao paciente, e somando-o aos crescentes serviços médicos *home-care* e *point-of-care*, cria-se o meio que favorece uma nova etapa evolutiva no laboratório clínico, a do mercado de biossensores médicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo Connolly (1995) e Malhotra (2003), o mercado de diagnóstico representa uma oportunidade única para a introdução dos biossensores sobre uma ampla base comercial. A grande desvantagem no campo do diagnóstico clínico, denunciada por esses autores, é que já há um grande número de diagnósticos em máquinas altamente automatizadas e robustas, a partir de grandes construtores, colocadas em centros laboratoriais de rotina e análise de prestação de serviços de emergência.

Conforme apresentado por Oliveira (2007), um biossensor funciona através do mimetismo de organismos vivos. O detector biológico atua de forma semelhante às membranas gustativas ao perceber o sabor. O sinal é convertido em impulsos elétricos tanto nos transdutores quanto nas células nervosas e enviado a um dispositivo que irá processar as informações, no caso dos biossensores um microprocessador, e no caso de organismos vivos o cérebro.

Embora diversos protótipos laboratoriais tenham sido descritos na literatura, apenas alguns biossensores chegaram ao mercado internacional, e a comercialização desses dispositivos tem um atraso significativo contra uma infinidade de publicações e patentes (BALDINI, 2005; LUONG, 2008). O campo de biossensores é multidisciplinar e também alimenta uma sólida interação entre as ciências puras e aplicadas.

Um exame sobre algumas definições, previstas na literatura sobre biossensores, revela as dificuldades encontradas na consecução de um acordo semântico. Apesar disso, inúmeros autores definem biossensor como: pequeno dispositivo sensível de reconhecimento biológico, ligado intimamente a um transdutor, capaz de, em uma matriz complexa, quantificar um analito específico ou classe específica, proporcionalmente à intensidade do fenômeno físico ou químico mensurável (RATNER, 1996; CUNNINGHAM, 1998; THÉVENOT, 2001; MIKKELSEN, 2004; SVITEL, 2006; OLIVEIRA, 2007; LUONG, 2008).

Para este trabalho, tendo como foco o laboratório clínico, conceituamos biossensor como: um dispositivo sensível, que na sua unidade, é capaz de quantificar especificamente fenômenos físico-químicos proporcionalmente à concentração do analito, em uma matriz complexa.

3. METODOLOGIA

3.1. Partes de um biossensor

O biossensor é composto por duas subunidades básicas: um sistema de reconhecimento biológico, que interage seletivamente com um analito, e um transdutor, que mensura essa interação.

O sistema de reconhecimento biológico interage seletivamente com o analito alvo, assumindo boa parte da responsabilidade pela especificidade do dispositivo e seu desempenho será limitado pelo tipo do método de escolha para obtenção e preparo desse receptor (por exemplo: extração, purificação, viabilidade de microrganismos e células vivas, utilização das técnicas do DNA recombinante). Os sistemas de reconhecimento biológico podem ser classificados em duas partes (CASTILLO, 2004; THÉVENOT, 2001): biocatálise (enzimas, microrganismos ou tecidos) e bioligantes (anticorpos, ácidos nucleicos ou receptores farmacológicos).

O transdutor converte a resposta biológica resultante da interação com o analito alvo em um sinal elétrico mensurável. Os transdutores tradicionais são elétrico-químicos, ópticos ou térmicos. A última geração de biossensores combina os princípios de medidas clássicas com transdutores magnéticos e piezelétricos (convertem energia mecânica em elétrica e vice-versa). A sensibilidade do biossensor é fortemente influenciada pelo tipo de transdutor (material utilizado, amplificador de sinal) (CASTILLO, 2004; THÉVENOT, 2001).

De posse do sinal elétrico, que é proporcional à quantidade do alvo específico, pode-se usar da tecnologia dos microprocessadores e trabalhar esses dados, como ilustrado na Figura 1.

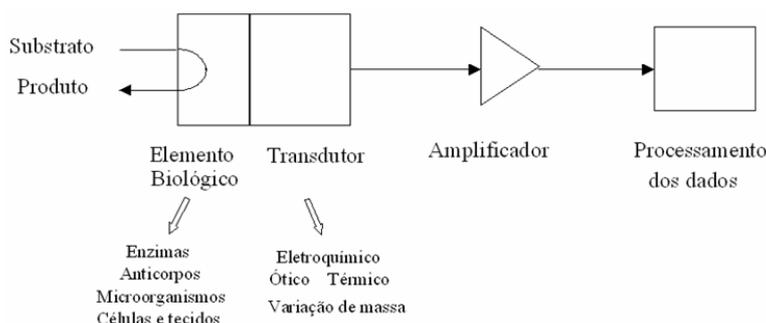


Figura 1 – Subunidades de um biossensor e dispositivos anexos (amplificador de sinal e uma central de processamento de dados). Fonte: www.enq.ufrgs.br.

Os biossensores podem ser classificados de acordo com a especificidade conferida pelo mecanismo de reconhecimento biológico, pelo modo de transdução, ou até mesmo pela combinação dos dois. Para este trabalho, adotou-se como critério de classificação dos biossensores as técnicas de transdução eletroquímica com maior potencial de aplicabilidade no mercado, e já solidamente discutidas no meio acadêmico.

3.2. Condutimetria

Este método envolve a aplicação de tensão alternada entre os dois eletrodos colocados em solução com o analito, e a medida da amplitude da resposta em corrente alternada, sendo essa corrente (i) diretamente proporcional à condutância (Ω^{-1}) (MIKKELSEN, 2004, p.54).

3.3. Amperometria

A amperometria é uma técnica que tira vantagem do fato de certas espécies químicas oxidarem ou reduzirem (reações de oxiredução) em eletrodos de metal inerte. Essa técnica é baseada na medida da corrente resultante da reação de catálise, seja da oxidação eletrolítica ou da redução de um espécime eletroativo. É a metodologia de análise mais utilizada em biossensores comerciais (THÉVENOT, 2001).

3.4. Potenciometria

A potenciometria envolve a determinação da diferença de potencial elétrico entre dois eletrodos separados por uma membrana seletiva, sendo um dos eletrodos o de referência. O transdutor pode ser um eletrodo de íon seletivo (ISE), o qual é um eletrodo eletroquímico com membrana semipermeável e seletivo para um determinado íon (THÉVENOT, 2001; MIKKELSEN, 2004, p.54).

3.5. Materiais e técnicas de imobilização

Nos biossensores, receptores biológicos como enzimas, anticorpos, antígenos, peptídeos, células e tecidos com alta atividade biológica, podem ser imobilizados em uma fina camada sobre a superfície de um transdutor, usando diferentes técnicas (MALHOTRA, 2003).

As técnicas mais comumente utilizadas, segundo Malhotra (2003), são de imobilização por adsorção física ou química em material inerte, ligação química covalente, ligamento covalente cruzado de reagentes com partículas macroscópicas, encarceramento físico em gel reticulado (oclusão em gel), ligação covalente em matrizes insolúveis em água e microencapsulamento dentro de esferas.

4. DISCUSSÃO

Uma alternativa para a melhor aceitação comercial dos biossensores é o seu desenvolvimento para multianálise (*array*), onde além de diminuir o custo de produção, há a agregação de valor ao produto e por consequência, a melhor aceitação do mercado. Além de representar uma tecnologia emergente, poderá ser a principal ferramenta em se tratando de análises *home-care* e *point-of-care*.

Atualmente, há aplicações imediatas no laboratório clínico de apoio diagnóstico e de pesquisa, onde já temos biossensores solidamente implantados como no uso dos biossensores *in vivo* (em tempo real ou

através de dispositivos portáteis), que auxiliam no monitoramento do paciente à distância, e nos tratamentos *home-care* e *point-of-care* ou no uso de biossensores acoplados a equipamentos que mesuram inúmeros analitos *in vitro*, dentre eles gases sanguíneos, eletrólitos, drogas e fármacos.

Outro fator a ser discutido, é a falta de padronização para validação analítica frente aos órgãos reguladores, principalmente quando se fala em biossensoriamento *in vivo*, onde temos muitos desafios como a biocompatibilidade dos materiais e as variações biológicas intra e inter-pacientes.

Diante do que foi estudado, as contribuições futuras dos biossensores para o mercado laboratorial podem ser assim enumeradas: (1) compactar o processo de diagnóstico laboratorial; (2) personalizar o serviço médico; (3) aperfeiçoar a triagem, o diagnóstico e a medicina terapêutica e (4) diminuir o lixo químico/biológico.

5. CONCLUSÃO

O crescente e o promissor mercado de biossensores no Brasil e no mundo, representa a aliança de vários profissionais, de áreas multidisciplinares como a física, a química e a biologia, desenhando alternativas que colaboram para a melhor qualidade de vida do homem. Dessa forma, os biossensores podem vir a se tornar a grande solução para triagem, diagnóstico e monitoramento em saúde nos próximos anos, tendo o paciente individualizado como o foco do trabalho.

REFERÊNCIAS

BALDINI, Francesco. New trends in biosensors for health care. **Anal Bioanal Chem**, Italy, v.10, n.381, p.1003, Feb. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para funcionamento de laboratórios clínicos. **Diário Oficial da União** (D.O.U.), Brasília, 2005 out. 14.

CASTILLO J. *et al.* Biosensors for life quality design, development and applications. **Sensors and Actuators B Chemical**, Pittsburgh, n.102, p.179-194, June 2004.

CONNOLLY, Patricia. Clinical diagnostics opportunities for biosensors and bioelectronics. **Biosensors and Bioelectronics**, Milan, v.10, p.1-6, Oct. 1995.

CUNNINGHAM, Alice J. **Introduction to bioanalytical sensors**. New York: Wiley, c1998. 418p.

Dequi - Departamento de Engenharia Química. Disponível em: <<http://www.enq.ufrgs.br/dequi/>>. Acesso em: 20 jan. 2008.

LUONG, J. H. T.; MALE, K. B.; GLENNON, J. D. Biosensor technology: Technology pushes versus market pull. **Biotechnology Advances**, n.26, p.492-500, Sept./Oct. 2008.

MALHOTRA, B. M.; CHAUBEY, A. Biosensors for clinical diagnostics industry. **Sensors and Actuators B Chemical**, New Delhi, n.91, p.117-127, 2003.

MIKKELSEN, S. R.; COTÓN, E. **Bioanalytical Chemistry**. 1º ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. 382p.

OLIVEIRA, Juliano Elvis. **Estudo de monocamadas fosfolipídicas nanoestruturadas obtidas por LB para aplicações em biossensores**. 2007, 94f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

RATNER, Buddy. D. *et al.* **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. 6º ed. San Diego: Academic, 1996. 484p.

SVITEL, Juraj. *et al.* Gluconobacter in biosensors: applications of whole cells and enzymes isolated from gluconobacter and acetobacter to biosensor construction. **Biotechnol Lett**, Slovakia, n.28, p.2003-2010, Aug. 2006.

THÉVENOT, D. R. *et al.* Electrochemical biosensors: recommended, definitions and classification. **Biosensors & Bioelectronics**, Paris, n.16, p.121-131, June 2001.