



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102015007805-6 A2

(22) Data do Depósito: 08/04/2015

(43) Data da Publicação: 13/03/2018



(54) Título: DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM PARTÍCULAS DE OURO

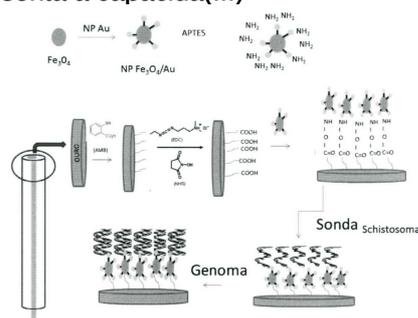
(51) Int. Cl.: G01N 27/26; G01N 33/53; B82B 1/00; B82B 3/00

(52) CPC: G01N 27/26, G01N 33/53, B82B 1/00, B82B 3/00

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE

(72) Inventor(es): GISELLE SOARES DOS SANTOS; FABIO LOPES DE MELO; CÉSAR AUGUSTO SOUZA DE ANDRADE; MARIA DANIELLY LIMA DE OLIVEIRA

(57) Resumo: DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA UTILIZANDO PARTÍCULAS MAGNÉTICAS ESQUISTOSSOMOSE DECORADAS COM PARTÍCULAS DE OURO é produto oriundo da aplicação de uma técnica simples para a obtenção de nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas de ouro e sua aplicação no desenvolvimento de um biodispositivo de diagnóstico voltado para novas tecnologias em saúde com elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da esquistossomose. Desta forma, obtivemos um método de preparação por meio da técnica de automontagem através da associação de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície de magnetita modificada (NpsFe304). As nanopartículas da presente invenção combinam as propriedades do óxido de ferro e do ouro, proporcionando diversas vantagens, dentre as quais podemos citar o aumento das propriedades elétricas e magnéticas. As técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica foram úteis para o acompanhamento das etapas de modificação do eletrodo e observação da hibridação molecular por meio do indicador redox ferro-ferricianeto de potássio. O sistema biossensível desenvolvido apresenta a capacida(...)



DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM PARTÍCULAS DE OURO

Campo da Invenção

01. A presente invenção é aplicável à área do diagnóstico através do uso de biossensores eletroquímicos nanoestruturados, e refere-se a métodos e composições para identificação de patógenos. A invenção baseia-se na aplicação de uma sequência curta de oligonucleotídeos (sonda de DNA) ligados quimicamente a superfície de nanopartículas de magnetita ($NpsFe_3O_4$) revestidas com nanopartículas de ouro ($NpsAu$) para detecção de patógenos em amostras com baixas concentrações. Em particular, na presente invenção, foi desenvolvido um genossensor para a identificação de sequências específicas do DNA do *Schistosoma mansoni* em amostras de pacientes infectados.

02. As nanopartículas apresentam diversas aplicações, como carreadores para entrega controlada de fármacos, separação de proteínas e de células, detecção de patógenos e desenvolvimento de sensores eletroquímicos para o diagnóstico de diversas patologias. Outra aplicação para as partículas magnéticas é o seu uso para a marcação de moléculas biológicas, como por exemplo, anticorpos ou DNA, proporcionando também aplicações nas áreas médicas e veterinárias e no diagnóstico de doenças causadas por diferentes patógenos. As nanopartículas de ouro também têm demonstrado vasto potencial em diferentes aplicações biológicas, incluindo a sua utilização no desenvolvimento de métodos diagnósticos altamente sensíveis. As $NPsAu$ apresentam a vantagem de formarem partículas pequenas, com elevada razão área/volume, alta homogeneidade, de fácil preparação e superfície química reativa a qual permite que moléculas orgânicas se liguem a ela.

Sumário

03. O invento aqui descrito é oriundo da aplicação de uma técnica simples para a obtenção de nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas de ouro e sua aplicação no desenvolvimento de biossensores com elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da esquistossomose. Desta forma, descrevemos um método de preparação por meio da técnica de automontagem através da associação de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície de magnetita modificada (NpsFe₃O₄).

04. As nanopartículas da presente invenção combinam as propriedades do óxido de ferro e do ouro, proporcionando diversas vantagens, dentre as quais podemos citar o aumento das propriedades elétricas e magnéticas. Destacamos ainda que a síntese de partículas de óxidos de ferro em escala nanométrica, leva a uma elevação em sua reatividade, bem como a sua rápida degradação. A fim de melhorar a sua biocompatibilidade e estabilidade há a conjugação desta com outros materiais, dentre os quais destacamos o ouro. Principalmente porque o ouro proporciona estabilidade química adequada para a funcionalização de oligonucleotídeos, proteínas, biomoléculas entre outros, além de possuir alta condutibilidade térmica, baixa resistividade elétrica e baixa interação com o oxigênio do ar para formar óxidos.

Anterioridades: Estado da Técnica

05. A esquistossomose é uma doença parasitária causada pelo helminto *Schistosoma mansoni*, sendo uma doença importante no contexto da saúde pública brasileira. Além ser encontrada em muitas regiões tropicais do globo. A confirmação do diagnóstico da esquistossomose é tomada principalmente pela análise de amostras fecais. Algumas metodologias de teste de diagnóstico, tais como ELISA, imunoenensaio de fluorescência indireta e radioimunensaio, são comumente usados para diag-

nosticar a esquistossomose. No entanto, estes métodos são geralmente complicados e demorados. Por isso, o desenvolvimento de métodos sensíveis, rápidos e seletivos para a detecção do *Schistosoma* é importante.

06. Recentemente, o uso de eletrodos nanoestruturados na área da química analítica vem se tornando uma tendência, a fim de melhorar a sensibilidade, seletividade e rendimento de sensores analíticos eletroquímicos e biossensores. Atribui-se o aumento do desempenho eletroanalítico de eletrodos nanoestruturados a sua alta condutividade, à grande área de superfície, à estabilidade e biocompatibilidade. Diferentes métodos de modificação de eletrodo são utilizados para aumentar a sua sensibilidade e especificidade atenuando assim os inconvenientes inerentes na detecção do analito.

07. As nanopartículas magnéticas vêm ganhando destaque nas aplicações biológicas, como a aplicação de diferentes formas de óxido de ferro, o óxido de ferro (II) FeO, óxido férrico (III) Fe₂O₃ e óxido de ferro (II, III) Fe₃O₄, para procedimentos diagnósticos como ressonância magnética nuclear (RMN), carreador magnético de drogas, catálise e liberação controlada de drogas e tratamento de câncer por hipertermia magnética. As aplicações terapêuticas exploram as duas maiores vantagens dos óxidos de ferro: sua baixa toxicidade em seres humanos e a possibilidade de se controlar sua magnetização. As nanopartículas de ouro incorporadas à superfície de partículas magnéticas aumentam sua atividade catalítica e sua estabilidade.

08. Esforços vêm sendo empregados, com o objetivo de elaborar metodologias eficientes no diagnóstico e prevenção desta doença, como, por exemplo, a patente C.N. Pat. 103197059 A, que se refere ao desenvolvimento de um kit para detecção da esquistossomose. O kit compreende uma matriz de detecção eletroquímica, um fluido de funcionamento conjugado de enzima, um substrato de enzima, um produto

de comparação negativa, um produto de comparação positiva, um diluente de amostra e uma solução de lavagem.

09. Também são conhecidas as patentes Pat. CN 102040658 B, que divulga um polipeptídeo imunogênico na preparação de vacina preventiva para o *Schistosoma japonicum* ou na preparação de um medicamento para aplicação no tratamento da esquistossomose. A patente WO 2012145398 A1, que descreve um método diagnóstico para *S. haematobium*, utilizando um método de enriquecimento e um teste colorimétrico para detectar anticorpos anti-*Schistosoma*. As patentes U.S. Pat US 6261788 B1, US 6818402 B2 e US 5583011 descrevem métodos de diagnóstico para a esquistossomose, seja baseado na detecção de antígenos, seja pela utilização de técnicas de amplificação do DNA (PCR). A presente invenção difere das demais supracitadas por que nenhuma delas utiliza sistemas de biossensores com dispositivos nanoestruturados baseados em nanopartículas no seu desenvolvimento.

10. A presente invenção mostra um processo de síntese de nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas de ouro e sua utilização na montagem de um biossensor eletroquímico visando sua utilização principalmente, mas não restrita, na área biomédica.

11. Muito embora tais documentos apresentem semelhança em relação à presente patente, as diferenças existentes podem ser observadas através da comparação entre esses documentos, que pode ser visualizada na Tabela 1, abaixo.

Tabela 1 - Comparação entre as componentes características de cada invento

	Invento apresentado	CN 103197059 A	US 8623636 B2	WO 2012145398 A1
Partícula metálica	Sim	Não	Sim	Não

Polímero	Não	Não	Sim	Não
Sequência de DNA	Sim	Não	Sim	Não
Anticorpos	Não	Sim	Sim	Sim
Nanopartícula magnética decorada com nanopartículas de ouro	Sim	Não	Não	Não

Problemas e Limitações do Estado da Técnica

12. O principal problema encontrado no estado presente da técnica é a limitação da quantidade da sonda de DNA imobilizada no genossensor, assim como da sensibilidade da sonda para a detecção desta hibridação. A fim de reverter esta situação e aumentar a quantidade de hibridação bem como a sensibilidade de sua detecção usamos os nanomateriais, nanopartículas de magnetita decoradas com nanopartículas de ouro, para fazer modificações na superfície do eletrodo, pois são indicadas para este fim, devido a sua elevada área superficial e excelentes propriedades eletroquímicas. Podemos, assim, desenvolver um dispositivo específico, de alta sensibilidade e economicamente viável.

Objetivos da Invenção

13. O objetivo da presente invenção é apresentar um biossensor impedimétrico nanoestruturado com nanopartículas de magnetita decoradas com nanopartículas de ouro, e sua obtenção através de um método de automontagem. A presente invenção evita e dispensa a necessidade de marcadores, uma vez que esta técnica revela alterações nas propriedades elétricas da superfície, tal como a resistência e capacitância, que têm uma resposta representativa a partir da presença da molécula alvo, sem marcadores.

14. A presente invenção também tem como objetivo o desenvolvimento de novos sistemas eletroquímicos em escala nanométrica para produção em larga escala e de baixo custo operacional.

Solução

15. O ato inventivo relacionado com a presente invenção é a obtenção de um biossensor eletroquímico modificado com nanopartículas de magnetita decoradas com nanopartículas de ouro que fornecerá um diagnóstico rápido e preciso. Isso faz com que este dispositivo forneça a vantagem, em comparação aos métodos atuais de diagnóstico da esquistossomose, de apresentar-se como uma técnica com economia de tempo e custo.

Vantagens

16. Uma das vantagens é a conjugação das propriedades elétricas e magnéticas, proporcionando o desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos mais eficientes, pois as combinações de distintas propriedades possibilitam potenciais aplicações.

17. Por causa da sua simplicidade, a técnica da hibridação é a mais comumente usada nos diagnósticos laboratoriais do que o método de sequenciamento direto, na análise de sequência gênica específica. Na hibridação do DNA, a sequência gênica alvo é identificada por meio de uma sonda de DNA que forma um híbrido de dupla hélice com o seu ácido nucleico complementar, sendo esse reconhecimento altamente eficiente e específico. O transdutor eletroquímico (eletrodo) de DNA apresenta a vantagem de apresentar uma grande diversidade de suportes utilizados e pela facilidade de modificação dos mesmos. Após modificação com a sonda de DNA, o eletrodo então produzido, é capaz de detectar eletroquimicamente a molécula complementar de DNA, apre-

sentando-se como uma promissora ferramenta para aplicação na área biomédica.

18. O biodispositivo da invenção mostra respostas satisfatórias frente a diferentes concentrações de DNA alvo na amostra analisada, além de ser de fácil manuseio, o que é uma vantagem, pois permite sua aplicação em laboratórios de análises clínicas, além de laboratórios de ensino e pesquisa.

A Novidade e o Efeito Técnico Alcançado

19. Resumindo, a novidade da presente invenção é a metodologia diagnóstica utilizando biossensores modificados com nanopartículas de magnetita decoradas com nanopartículas de ouro. Até o presente momento, não havia sido identificada por nenhuma outra instituição de pesquisa ou ensino, ou mesmo, descrito na literatura.

Descrição Detalhada

20. Os exemplos a seguir não têm o intuito de limitar o escopo da invenção, mas sim de somente ilustrar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção.

21. Resumidamente, consegue-se chegar à invenção, primeiramente, pela montagem do nanocompósito. Para montar o nanocompósito, juntou-se 1mg de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) e 2mL de NpsAu, e colocou-se sob agitação por, no mínimo, 5h, seguida de lavagens e resuspensão com água deionizada.

22. O procedimento seguido para preparar o biossensor foi o seguinte: o eletrodo foi polido com uma lixa com água deionizada, seguido por imersão em solução de hipoclorito de sódio, durante aproximadamente 5 minutos, e secou-se à temperatura ambiente. Após lavagem com água deionizada, o eletrodo foi imediatamente modificado por incubação com ácido mercaptobenzoico (AMB), após secagem, foram

adicionados um conjugado de 0,4M de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) / N-hidroxisuccinimida (NHS) 0,1M, numa proporção de 1:1, a fim de ativar os grupos carboxílicos presentes nas moléculas do AMB, por um período de não mais que 10 minutos. Seguida a lavagem, foi adicionado o nanocompósito NpsFe₃O₄/NpsAu, e incubado durante 10 minutos, para se obter o sistema AMB-EDC:NHS-NpsFe₃O₄/NpsAu, posteriormente, a incubação da sonda foi realizada por um período de tempo de ao menos 20 minutos, e, finalmente, a amostra com o DNA-alvo pelo mesmo período (Figura 1). A lavagem foi executada com água deionizada após cada incubação. O exemplo a seguir mostra um caso mais específico de realização.

Exemplo: Síntese e Caracterização das Nanopartículas

- Preparação de Nanopartículas

23. As nanopartículas de ouro foram obtidas pelo aquecimento de 0,01% do ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) a 80°C, sob agitação vigorosa. Em seguida, ao acrescentar 1% p/v da solução de citrato trissódico à solução em ebulição, obtém-se, como resultado, uma mudança de cor, de amarelo pálido para vermelho escuro, indicando a formação de nanopartículas de ouro. Para a preparação das nanopartículas de ferro, 0,2g de Fe₃O₄ foi disperso em 90mL de etanol a 50% e, posteriormente, submetida a ultrassom durante, aproximadamente, 28min, e aquecida a, pelo menos, 60°C, em seguida, foi adicionado 300μL 3-aminopropil-trietoxissilano (3-APTES), gota a gota, e 500μL de hidróxido de amônio, e deixou-se agitar durante a noite. Isto foi seguido por lavagem com 0,1M de ácido clorídrico (HCl) (mínimo de seis vezes por cada quatro horas) para remover Fe₃O₄ não revestido. O depósito foi separado por um ímã e lavado ao menos três vezes com água deionizada, e, em seguida, etanol, para obter o modificado SH-Fe₃O₄. Posteriormente, foi feita a conjugação de ambas as nanopartículas.

- Caracterização de Nanopartículas

24. As análises impedimétricas e amperométricas foram realizadas com potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N (Autolab, Holanda), em uma célula eletroquímica de três eletrodos, imersos numa solução de 10mM de ferro-ferricianeto de potássio, $K_4[Fe(CN)_6]^{4-}/K_3[Fe(CN)_6]^{3-}$, na proporção (1: 1) - usada como uma sonda redox. A superfície do eletrodo de trabalho foi de ouro. Eletrodos de fio de platina e Ag/AgCl (solução saturada de KCl) foram usados como eletrodo auxiliar e de referência, respectivamente. Os experimentos impedimétricos foram realizados a uma frequência entre 100MHz e 100kHz, com uma gama de potencial de 10mV aplicado. Análises amperométricas foram realizadas em um intervalo de potenciais entre 0,7V e -0,2V, a uma taxa de varredura de $50mVs^{-1}$. As análises morfológicas foram realizadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (SEM) Shimadzu SS-550. As amostras foram montadas em lâminas de vidro, presas ao suporte da amostra, usando a fita dupla face de carbono. Subsequentemente, uma fina camada superficial de ouro foi depositada por deposição catódica, utilizando uma máquina de revestimento rápido, Metalizadora SC-701.

Características das Nanopartículas

25. O artifício utilizado na construção do biodispositivo foi a imobilização de uma sequência específica do DNA do *Schistosoma mansoni*, na superfície do eletrodo que vai se ligar à sequência-alvo através de processos de hibridação. Empregamos, ainda, diferentes concentrações deste DNA-alvo, que foram imobilizados para testar a sensibilidade do dispositivo aqui descrito.

26. A Figura 2 apresenta as micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) do processo de montagem do sistema sensor NPsFe₃O₄\Au-Sonda_{Schistosoma}. Na Figura 2a, é possível observar o nanocompósito puro, sendo visível a presença de várias micropartículas, dis-

tribuídas homoganeamente sobre a superfície. Na Figura 2b, notamos mudanças no aspecto da superfície do nanocompósito, evidenciado pelo aumento da rugosidade, após adição do Primer, confirmando, assim, o processo de imobilização. Na Figura 2c, evidencia-se a presença de pequenos agregados sobre a superfície do sistema com a sonda, refletindo o processo de hibridação molecular. O processo de biorreconhecimento é caracterizado por maior rugosidade na superfície do nanocompósito e pelos pontos esbranquiçados que observamos na imagem. Este processo não é observado após adição de genoma negativo, Figura 2d.

27. A Figura 3 mostra os voltamogramas cíclicos do processo de montagem do biossensor, onde podemos observar, no voltamograma em preto, as correntes de picos anódicos (I_{pa}) e catódicos (I_{pc}) bem definidos, o que é característico de um processo limitado por difusão. Com a adição de $NPsFe_3O_4/Au$, vemos a diminuição acentuada destes picos, caracterizando, assim, a aderência do nanocompósito à superfície do eletrodo (voltamograma vermelho). Após a adição da sonda de *Schistosoma* (Sonda_{*Schistosoma*}), observa-se uma nova redução dos I_{pa} e I_{pc} (voltamograma verde), onde esta diminuição dos picos reflete a interação eletrostática entre o nanocompósito e a sonda, comprovando, assim, a ligação e formação da camada sensora $NPsFe_3O_4/Au$ -Sonda_{*Schistosoma*}. Para a avaliação da ação do sistema sensor $NPsFe_3O_4/Au$ -Sonda_{*Schistosoma*}, foi avaliada uma amostra contendo o DNA-alvo, e, após incubação, foi observado o processo de hibridação, isto faz com que haja uma nova diminuição nas correntes de picos anódicos e catódicos, como observado no voltamograma em azul. As análises foram realizadas numa faixa de potencial de -0,2 a 0,7V.

28. A Figura 4 demonstra a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica, também do processo de modificação da superfície de eletrodo de trabalho, onde as modificações são comprovadas pelo aumento do diâmetro do semicírculo do diagrama de Nyquist, sendo este aumento

proporcional à Resistência à Transferência de Carga (RCT). O eletrodo sem modificações (preto) em sua superfície apresenta gráfico com um comportamento quase linear, devido ao processo ser limitado por difusão, no gráfico em vermelho mostra a ligação de NPsFe₃O₄\Au à superfície do biossensor. É possível notar nítido aumento do diâmetro do semicírculo quando comparado com o eletrodo sem modificação, esta característica se mantém à medida que as camadas vão sendo acrescentadas ao dispositivo, refletido pelo aumento gradual de sua resistência para o sistema NPsFe₃O₄\Au-Sonda_{Schistosoma}, como para o sistema após reconhecimento NPsFe₃O₄\Au-Sonda_{Schistosoma+Genoma}, o que corrobora com as análises de voltametria cíclica.

REIVINDICAÇÕES

1. DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, caracterizado por ser um biossensor constituído das seguintes partes: a) uma molécula de reconhecimento (sequência de ácido nucleico); b) um suporte onde, em sua superfície, será feita a imobilização das moléculas; c) uma fonte de corrente elétrica; d) nanopartículas magnéticas (NpsFe₃O₄) decoradas com nanopartículas de ouro (NpsAu), funcionalizadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (3-APTES), e a detecção do analito se dá pela análise das interações interfaciais do eletrodo.

2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, conforme Reivindicação 1, caracterizadas por serem obtidas a partir de um processo de automontagem das nanopartículas de ouro, sobre a superfície modificada de Fe₃O₄-SH.

3. DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, caracterizado por referir-se a métodos e composições para identificação de patógenos, a invenção baseia-se na aplicação de uma sonda de DNA em nanopartículas magnéticas, revestidas com nanopartículas de ouro, para detecção de patógenos em amostras com baixas concentrações, em particular, foi desenvolvido um genossensor para a identificação do DNA do *Schistosoma mansoni*, em amostras de pacientes infectados.

4. DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE E SUPERFÍCIE DE IMOBILIZAÇÃO DAS MOLÉCULAS, conforme Reivindicação 1, caracterizada pelo fato da referida superfície ser de ouro, o que proporciona uma maior condutibilidade elétrica e biocompatibilidade ao dispositivo, facilitando, assim, as interações moleculares.

5. NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA DECORADAS COM NANOPARTICULAS DE OURO, conforme Reivindicações 1-4, caracterizadas pelo fato de que o referido compósito apresenta um núcleo formado por um óxido de ferro, que se liga às nanopartículas de ouro, através de ligações amins.
6. MÉTODO PARA OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM OURO, caracterizado pela etapa de montagem do nanocompósito, pela junção de 1mg Nps Fe_3O_4 , previamente modificada, e 2mL Nps Au, submetidas a agitação por, no mínimo, 5 horas, seguida de lavagens e resuspensa com água deionizada.
7. PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DO DISPOSITIVO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTICULAS DE OURO, caracterizado pela modificação, camada a camada, da superfície do biodispositivo, seguida da análise impedimétrica e voltamétrica ao término de cada etapa de modificação, sendo que a lavagem foi executada com água deionizada, após cada período de incubação.
8. MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTICULAS DE OURO, de acordo com a Reivindicação 7, caracterizado pelo fato dos métodos de detecção espectroscópica serem por meio de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e Voltametria Cíclica.
9. PROCESSO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTICULAS DE OURO, conforme Reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o ácido mercaptobenzoico proporciona um aumento considerável na superfície de contato do eletrodo, facilitando a aderência das nanopartículas.

10. PROCESSO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, conforme Reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que o conjugado 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) / N-hidroxisuccinimida (NHS), devido a suas propriedades, viabiliza a ligação das nanopartículas ao ácido mercaptobenzoico, através de ligações amidas.

11. PROCESSO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, conforme Reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que as referidas nanopartículas acumulam as propriedades magnéticas e elétricas do óxido de ferro e do ouro, sendo, portanto, importantes ferramentas na construção de biossensores.

12. PROCESSO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, conforme Reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a sonda imobilizada na superfície da nanopartícula é constituída por uma sequência específica do material genético do *Schistosoma mansoni*, proporcionando ao referido biossensor uma alta especificidade da resposta.

13. PROCESSO PARA DETECÇÃO ELETROQUIMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, conforme Reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a referida análise é feita em uma faixa de frequência de 100MHz e 100kHz, e numa faixa de potencial de -0,2V e 0,7V, respectivamente.

14. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO EM BIOSSENSORES, caracterizado por abranger, ao menos, um agente imobilizador, no mínimo, um agente ativador das ligações moleculares, para a elaboração de ferramentas para uso diagnóstico.

15. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO EM BIOSSENSORES, caracterizado por abranger, ao menos, um agente imobilizador, no mínimo, um agente ativador das ligações, para o desenvolvimento de biodispositivos eletroquímicos.

16. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO EM BIOSSENSORES, conforme Reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o referido dispositivo é um genossensor eletroquímico.

17. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO EM BIOSSENSORES, abrangendo, ao menos, um agente imobilizador, no mínimo, um agente ativador das ligações, caracterizado por ter caráter conjugado, para a elaboração de ensaios eletroquímicos, para rápida e específica detecção em amostras biológicas infectadas.

18. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, caracterizado pelo uso nas áreas médica, biológica e farmacológica.

19. USO DA NANOPARTÍCULA DE MAGNETITA DECORADA COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, caracterizado por ser, no mínimo, monômero funcionalizado com oligonucleotídeo, para elaboração de biossensores e biodispositivos.

Figura 1

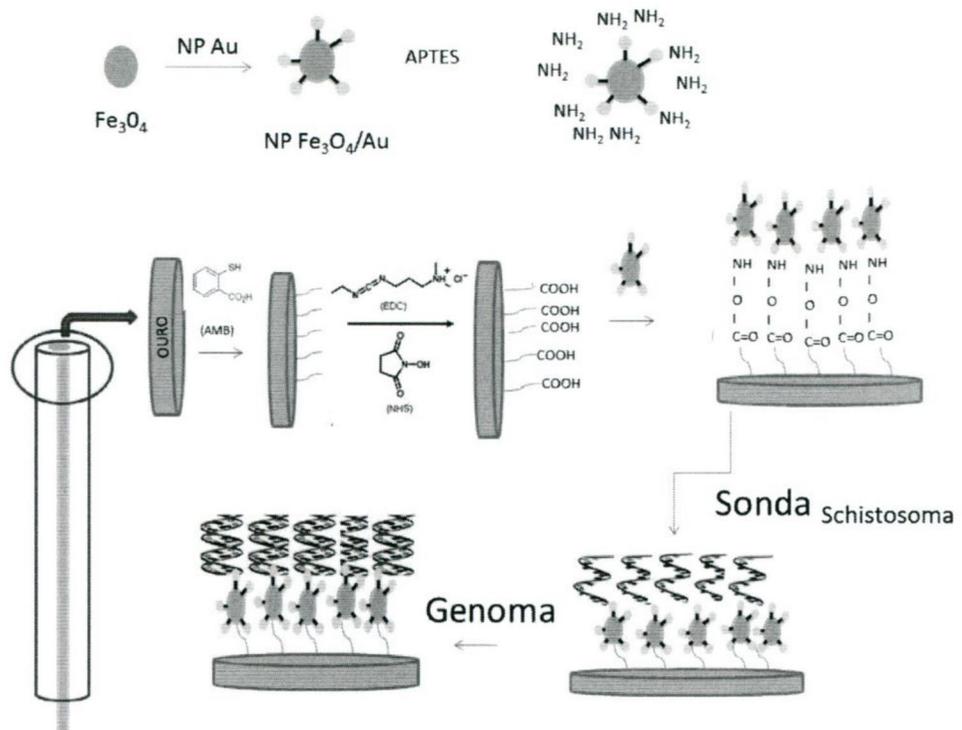


Figura 2

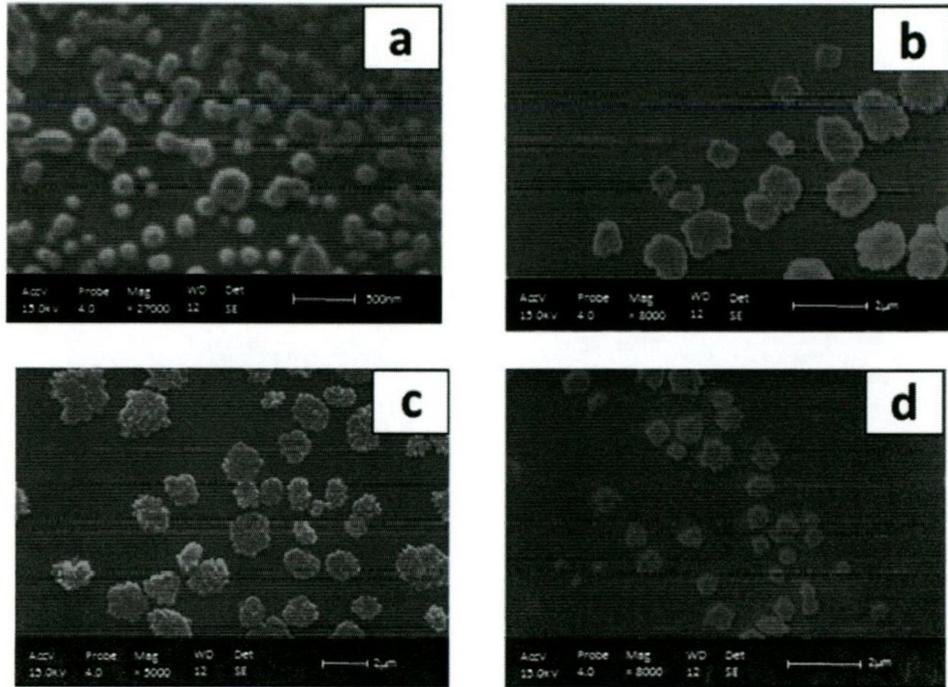


Figura 3

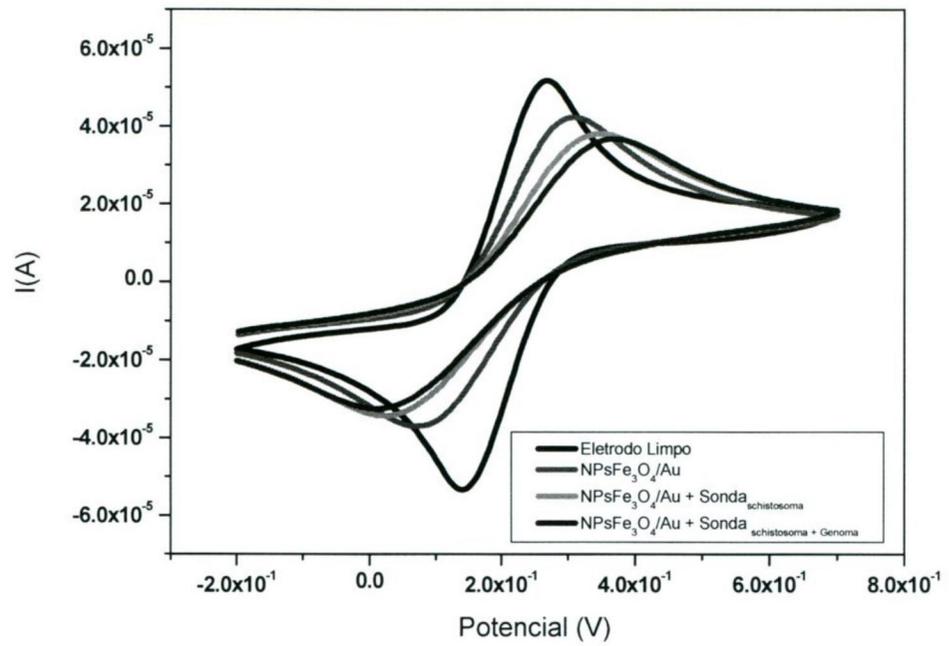
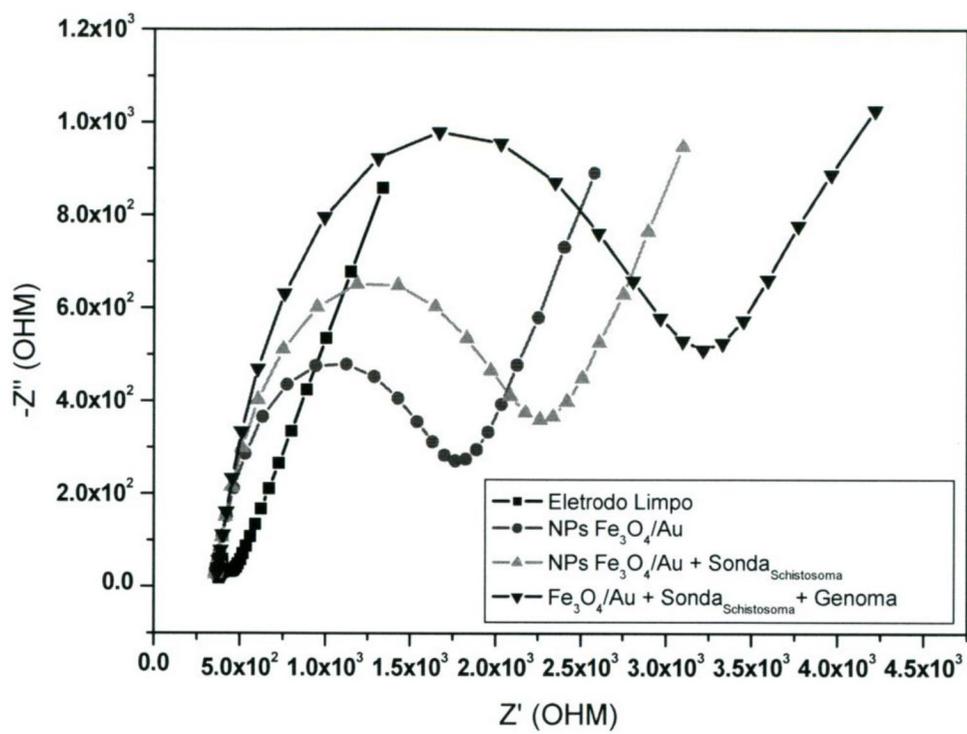


Figura 4



RESUMO

DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DA ESQUISTOSSOMOSE UTILIZANDO PARTÍCULAS MAGNÉTICAS DECORADAS COM PARTÍCULAS DE OURO é produto oriundo da aplicação de uma técnica simples para a obtenção de nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas de ouro e sua aplicação no desenvolvimento de um biodispositivo de diagnóstico voltado para novas tecnologias em saúde com elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da esquistossomose. Desta forma, obtivemos um método de preparação por meio da técnica de automontagem através da associação de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície de magnetita modificada (NpsFe₃O₄). As nanopartículas da presente invenção combinam as propriedades do óxido de ferro e do ouro, proporcionando diversas vantagens, dentre as quais podemos citar o aumento das propriedades elétricas e magnéticas. As técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica foram úteis para o acompanhamento das etapas de modificação do eletrodo e observação da hibridação molecular por meio do indicador redox ferro-ferricianeto de potássio. O sistema biossensível desenvolvido apresenta a capacidade de detecção de genoma de *Shistosoma mansoni* em baixas concentrações prestando-se para a avaliação de pacientes contaminados com esquistossomose.