



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102018008064-4 A2



(22) Data do Depósito: 20/04/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 05/11/2019

(54) **Título:** MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE SCHISTOSOMA MANSONI, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRO-DEPOSITADO

(51) **Int. Cl.:** G01N 27/327; C12Q 1/6825.

(52) **CPC:** G01N 27/3278; C12Q 1/6825.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** GISELLE SOARES DOS SANTOS; RAQUEL GOMES DE SENA CARNEIRO CALDAS; CÉSAR AUGUSTO SOUZA DE ANDRADE; MARIA DANIELLY LIMA DE OLIVEIRA.

(57) **Resumo:** A presente invenção é resultado de uma metodologia simples para a obtenção de nanopartículas de ouro através da eletrodeposição direta do ouro na superfície do eletrodo e sua aplicação na elaboração de um dispositivo de diagnóstico focado em metodologias inovadoras em saúde com alta sensibilidade e especificidade para a detecção do *Schistosoma mansoni*. Assim, alcançamos uma técnica de preparação por meio de automontagem através da eletrodeposição de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície do eletrodo de ouro modificado com 3- mercaptopropiltrimetoxissilano (MPTS). As nanopartículas de ouro são usadas para imobilizar sondas de DNA tiolada na superfície do eletrodo, devido às suas propriedades, tais como reter a atividade biológica, condução eficiente do sinal eletroquímico entre transdutor e interface o que permite amplificar a resposta elétrica e o organossilano MPTS oferece monocamada auto-montada em ouro e age de forma comprovadamente eficiente entre a superfície do eletrodo. 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 do genoma de *Schistosoma mansoni* em baixas concentrações prestando-se para (...).

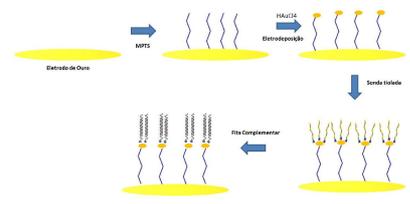


Figura 1

## MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRO-DEPOSITADO

### Campo da Invenção

01. A presente invenção é aplicável à área de dispositivos nanoestruturados, utilizados para diagnóstico através do uso de biossensores eletroquímicos, e refere-se a métodos e composições para identificação de patógenos. A invenção refere-se à aplicação de uma sequência curta de oligonucleotídeos (sonda de DNA), modificada com o grupamento tiol em sua extremidade, ligada quimicamente à superfície de nanopartículas de ouro (NpsAu), previamente eletrodepositadas na superfície do eletrodo de ouro, modificado com camada auto-montada de 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS), para detecção de patógenos em amostras biológicas, em 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. A associação entre materiais nanométricos e biomoléculas são de interesse na biotecnologia e química bioanalítica, pois as nanopartículas podem melhorar o desempenho dos biossensores. 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 (Oliveira *et al.*, 2011). 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. Em adição, as nanopartículas são biocompatíveis, sendo, portanto, úteis na imobilização de biomoléculas, por manterem a atividade biológica destes materiais. Desta forma, no desenvolvimento de biossensores utilizando DNA, essas nanopartículas têm sido utilizadas, diante de suas excelentes propriedades (Costa *et al.*, 2014).

## Sumário

03. O invento aqui descrito é oriundo da aplicação de técnica eletroquímica simples, para a eletrodeposição de nanopartículas de ouro e sua aplicação no desenvolvimento de biossensores, com elevada sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da esquistossomose. Desta forma, expomos uma metodologia de preparação por meio da técnica de eletrodeposição de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície do eletrodo.

04. As nanopartículas da presente invenção têm áreas de superfície elevadas e propriedades físico-químicas únicas, fazendo delas ideais para o desenvolvimento de sistemas de biossensoriamento. O uso das nanopartículas de ouro (NpsAu) na preparação de biossensores eletroquímicos se deve às suas características, como alta eletrocondutividade, energia de superfície e a razão entre superfície e volume, propriedades eletrocatalíticas, possibilidade de atuar como fios condutores elétricos entre a superfície do eletrodo e o analito, permitindo a transferência eletrônica direta (Boujakhrou, 2016). Além de que, 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. É encontrada em muitas regiões tropicais do globo. Sua principal manifestação ectópica é a neuroesquistossomose, que se caracteriza pelo comprometimento do sistema nervoso central (SNC), decorrente da infecção pelo *S. mansoni*. Quando sintomática, é um grave distúrbio, no qual o prognóstico depende, em grande parte, do diagnóstico e tratamento precoces.

06. 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 diagnosticar a esquistossomose. No entanto, estes métodos são geralmente complicados e demorados. Em relação à neuroesquistossomose, geralmente, o diagnóstico faz-se tardiamente, não raro em achados de autópsia, ou quando o paciente está em fase terminal da doença. Ante o exposto, faz-se necessário o desenvolvimento de um método de detecção rápido, sensível e seletivo, para a determinação da infecção pelo *Schistosoma*, tanto para a proteção da saúde, quanto para a continuação do tratamento médico.

07. 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 à sua alta condutividade, à grande área de superfície, à estabilidade e à 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.

08. As nanopartículas de ouro vêm ganhando destaque em inúmeras aplicações biológicas. Destacamos os numerosos métodos que têm sido desenvolvidos para a identificação de sequências de DNA, tais como as técnicas ópticas, elétricas e gravimétricas. Todos estes procedimentos oferecem diferentes vantagens para a detecção de alvos específicos de sequência de DNA.

09. Muito empenho tem sido feito no intuito de elaborar metodologias mais eficientes no diagnóstico e prevenção desta patologia; neste sentido, foi elaborada a patente CN 105891465 A, que se refere à construção de um sensor de nanobastões de ouro, como um novo método de detecção de antígeno circulante de *Schistosoma japonicum*. O sensor compreende anticorpos de *Schistosoma* presos a um suporte de fase sólida de ITO, combinada com hastes de ouro, para detecção do antígeno circulante de *Schistosoma* para o diagnóstico, onde, através de sensores de varredura UV, foi possível observar mudanças nos picos de extinção, para determinar a infecção por *Schistosoma japonicum* ou não.

10. A patente WO 2012145398 A1 descreve um método diagnóstico para *S. haematobium*, baseado em um método de enriquecimento, e um teste colorimétrico para detectar anticorpos anti-*Schistosoma*. As patentes US 6261788 B1, US 6818402 B2 e US 5583011 também propõem métodos de detecção do *Schistosoma sp.*, seja esta baseada na detecção de antígenos, ou pela utilização de técnicas de amplificação do DNA (PCR). Desta maneira, a presente invenção se diferencia das anteriormente expostas pelo fato de ser a única que utiliza sistema de genossensor, baseado em eletrodeposição de nanopartículas, no seu desenvolvimento.

11. A invenção, aqui apresentada, mostra um processo de síntese de nanopartículas de ouro e sua utilização na montagem de um

genossensor eletroquímico, visando sua utilização, principalmente, mas não restrita, na área biomédica.

12. 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 características de cada invento

|  | Invento<br>apresentado | CN<br>105891465<br>A | US<br>6261788<br>B1 | WO<br>2012145398<br>A1 | US<br>6818402<br>B2 |
|--|------------------------|----------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
| Nanomaterial   | Sim                    | Sim                  | Não                 | Não                    | Não                 |
| Polímero   | Não                    | Sim                  | Não                 | Não                    | Não                 |
| Sequência de DNA   | Sim                    | Não                  | Não                 | Não                    | Sim                 |
| Anticorpos   | Não                    | Sim                  | Sim                 | Sim                    | Não                 |
| Deposição<br>eletroquímica                               | Sim                    | Não                  | Não                 | Não                    | Não                 |
| Técnica<br>eletroquímica/<br>Impedância<br>eletroquímica | Sim                    | Não                  | Não                 | Não                    | Não                 |

#### Problemas e Limitações do Estado da Técnica

13. A principal dificuldade observada no desenvolvimento da técnica é superar a limitação da quantidade de sonda de DNA que pode ser imobilizada no genossensor, bem como, a melhora da sensibilidade da sonda para a detecção desta hibridação. Desta forma, a fim de aumentar a quantidade de hibridação, bem como, a sensibilidade de sua detecção, fizemos uso de nanomateriais, nanopartículas de ouro, depositadas eletroquimicamente sobre o eletrodo de ouro previamente

modificado com MPTS, sendo que as nanopartículas são indicadas para este fim devido à elevada área superficial e excelentes propriedades eletroquímicas. Podemos, assim, desenvolver um dispositivo específico, de alta sensibilidade e economicamente viável.

### Objetivos da Invenção

14. O objetivo da presente invenção é apresentar um genossensor impedimétrico nanoestruturado com camadas auto-montadas de silano na superfície de um eletrodo de ouro e nanopartículas de ouro eletroquimicamente depositadas. 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.

15. A presente invenção também tem como objetivo o desenvolvimento de novos sistemas nanoestruturados obtidos por síntese eletroquímica em escala nanométrica para produção em larga escala e de baixo custo operacional.

### Solução

16. O ato inventivo relacionado com a presente invenção é a obtenção de um sistema de camadas auto-montadas de silano na superfície de um eletrodo de ouro e nanopartículas de ouro eletroquimicamente depositadas 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

17. A obtenção de nanopartículas pelo método eletroquímico apresenta vantagens, tais como: aumentar a condutividade do eletrodo, facilitar a transferências de elétrons e melhora da sensibilidade analítica e seletividade, proporcionando o desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos mais eficientes.

18. 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 nucléico 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, apresentando-se como uma promissora ferramenta para aplicação na área biomédica.

19. 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.

#### Novidade e Efeito Técnico Alcançado

20. Resumindo, a novidade da presente invenção é a metodologia diagnóstica utilizando nanopartículas de ouro eletroquimicamente depositadas para o desenvolvimento de genossensores, até o presente momento, esta metodologia não foi identificada por nenhuma outra instituição de pesquisa ou ensino ou mesmo descrita na literatura.

### Descrição Detalhada

21. 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.

22. Resumidamente consegue-se chegar à invenção primeiramente pela deposição direta das nanopartículas de ouro sobre o eletrodo de trabalho previamente modificado com o MPTS. Foi utilizada uma faixa de potencial de -0,2 a 1,3 V vs Ag / AgCl ciclado 30 vezes a uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , numa solução a 1mM de  $\text{HAuCl}_4$  contendo 0,5M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

23. O procedimento seguido para preparar o genossensor 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 pela adição de 3-Mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS). O grupamento tiol expostos pelo MPTS é importante para a posterior ancoragem das nanopartículas de ouro via eletrodeposição. Em seguida, foi feita a eletrodeposição das NpsAu levando ao aumento da superfície eletroativa do eletrodo. Posteriormente, a incubação da sonda foi realizada por um período de tempo de ao menos 10 minutos e, finalmente, a amostra com o DNA-alvo pelo mesmo período (Fig.1, p.1). A lavagem foi executada com água deionizada após cada incubação. O exemplo a seguir mostra um caso mais específico de realização.

### Preparação de Nanopartículas

24. As nanopartículas de ouro foram diretamente depositadas sobre o eletrodo de trabalho previamente modificado com o MPTS. Uma solução de 50.0 mM de MPTS foi preparada diluindo o MPTS em água deionizada em uma proporção 0.5:100, em seguida adicionou-se a esta

solução 600µL de 0.1M de HCl levada ao sonificador por aproximadamente 9 minutos seguida de agitação por mais 45 minutos. Posteriormente, uma alíquota deste material foi adicionada à superfície do eletrodo. Para a deposição eletroquímica foi utilizada uma faixa de potencial de -0,2 a 1,3 V vs Ag / AgCl ciclado 30 vezes a uma velocidade de varredura de 50 mV. s<sup>-1</sup>, numa solução a 1mM de HAuCl<sub>4</sub> contendo 0,5M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

#### Caracterização de Nanopartículas

25. 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 10 mM de ferro-ferricianeto de potássio K<sub>4</sub> [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> / K<sub>3</sub> [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> 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 100 mHz e 100 kHz, com um potencial de 10 mV aplicado. Análises amperométricas foram realizadas em um intervalo de potenciais entre 0,7 V e -0.2V a uma velocidade de varredura de 50mVs<sup>-1</sup>.

#### Características das Nanopartículas

26. 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 a 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. Figura 1 (p.1).

27. A Figura 2 (p.3) mostra a voltametria cíclica das etapas de montagem do genossensor onde podemos observar que antes da modificação as correntes de pico redox encontram-se bem definidas (preto). Depois da modificação do eletrodo com o MPTS houve uma diminuição desses picos comprovando a formação da camada orientada de MPTS na superfície do eletrodo, dificultando assim a transferência de elétrons entre a superfície do ouro e a solução redox (vermelho). O grupamento tiol exposto pelo MPTS é importante para a posterior ancoragem das nanopartículas de ouro via eletrodeposição. Seguida da eletrodeposição das NpsAu houve um acréscimo nas correntes de pico (verde). Este comportamento indica que as NpsAu foram eficientemente ancoradas pelos grupamentos tíois expostos pelo MPTS levando ao aumento da área de superfície eletroativa do eletrodo. Com a imobilização da sonda de DNA tiolada, ocorreu nova diminuição da corrente, em decorrência à repulsão eletrostática entre o par redox e a sonda de DNA na superfície do eletrodo (azul). Por fim após adição de amostra com DNA complementar, nova redução foi observada indicando a ocorrência do processo de hibridação (rosa) e consequente bioreconhecimento do sistema sensor desenvolvido.

28. A Figura 3 (p.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 a Resistência à transferência de Carga (RCT). O eletrodo sem modificações (preto) em sua superfície apresenta gráfico com um comportamento quase linear devido o processo ser limitado por difusão, no gráfico em vermelho observa-se a ligação de MPTS à superfície do genossensor. É possível notar nítido aumento do diâmetro do semicírculo quando comparado com o eletrodo sem modificação, seguida por um decréscimo deste diâmetro quanto a

eletrodeposição da nanopartículas devido às suas características condutoras. O semicírculo volta a aumentar e esta característica se mantém à medida que as camadas vão sendo acrescentadas ao dispositivo, refletido pelo aumento gradual de sua resistência para o sistema MPTS\NpsAu-Sonda<sub>Shistosoma</sub> como para o sistema após bioreconhecimento MPTS\NpsAu Sonda<sub>Shistosoma+Genoma</sub> o que corrobora com as análises de voltametria cíclica.

## REIVINDICAÇÕES

1) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, cuja plataforma é caracterizada por ser formada pelos componentes a seguir: a) uma molécula de reconhecimento (sequência de ácido nucleico), modificada com o grupo tiol; b) um suporte, onde, em sua superfície, será feita a imobilização das moléculas; c) uma fonte de corrente elétrica; d) nanopartículas de ouro (NpsAu); e) 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS), sendo a detecção do analito realizada através da análise das interações interfaciais do eletrodo.

2) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, conforme Reivindicação 1, caracterizada pela presença de nanopartículas, obtidas a partir de um processo de eletrodeposição das nanopartículas de ouro sobre a superfície modificada com MPTS.

3) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, para identificação de patógenos, de acordo com as Reivindicações 1 e 2, caracterizada por basear-se na aplicação de uma sonda de DNA, modificada com o grupo tiol, em nanopartículas de ouro, diretamente eletrodepositadas na superfície do eletrodo modificado com MPTS, para detecção de patógenos em amostras com baixas concentrações, em particular, utilizando o genossensor desenvolvido para a identificação do DNA do *Schistosoma mansoni*, em amostras de pacientes infectados.

4) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, 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, interações moleculares.

5) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, caracterizado pela modificação, camada a camada, da superfície do biodispositivo, seguida da análise impedimétrica e voltamétrica; ao término de cada período de incubação da etapa de modificação, a lavagem foi executada com água deionizada.

6) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, de acordo com a Reivindicação 5, caracterizada por utilizar os métodos de detecção espectroscópica, por meio de espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica.

7) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, conforme Reivindicação 5, caracterizado pela exposição do grupamento tiol pelo MPTS.

8) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, conforme Reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o grupamento tiol, exposto pelo MPTS, é importante para a posterior ancoragem das nanopartículas de ouro, via eletrodeposição.

9) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, conforme Reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que as referidas nanopartículas acumulam as

propriedades magnéticas e elétricas do ouro, sendo importantes ferramentas na construção de biossensores.

10) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, conforme Reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a sonda, imobilizada na superfície da nanopartícula, é uma sequência específica do material genético do *Schistosoma mansoni*, proporcionando ao referido biossensor uma alta especificidade da resposta.

11) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, conforme Reivindicações 5 e 6, 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.

12) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, caracterizado pelo uso da nanopartícula de ouro em biossensores, abrangendo, ao menos, um agente imobilizador, e, no mínimo, um agente ativador das ligações moleculares.

13) MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRODEPOSITADO, utilizando nanopartículas de ouro, de acordo com a Reivindicação 12, caracterizado pelo uso da nanopartícula de ouro em biossensores, abrangendo, ao menos, um agente imobilizador, e, no mínimo, um agente ativador das ligações para o desenvolvimento de biodispositivos eletroquímicos.

FIGURAS

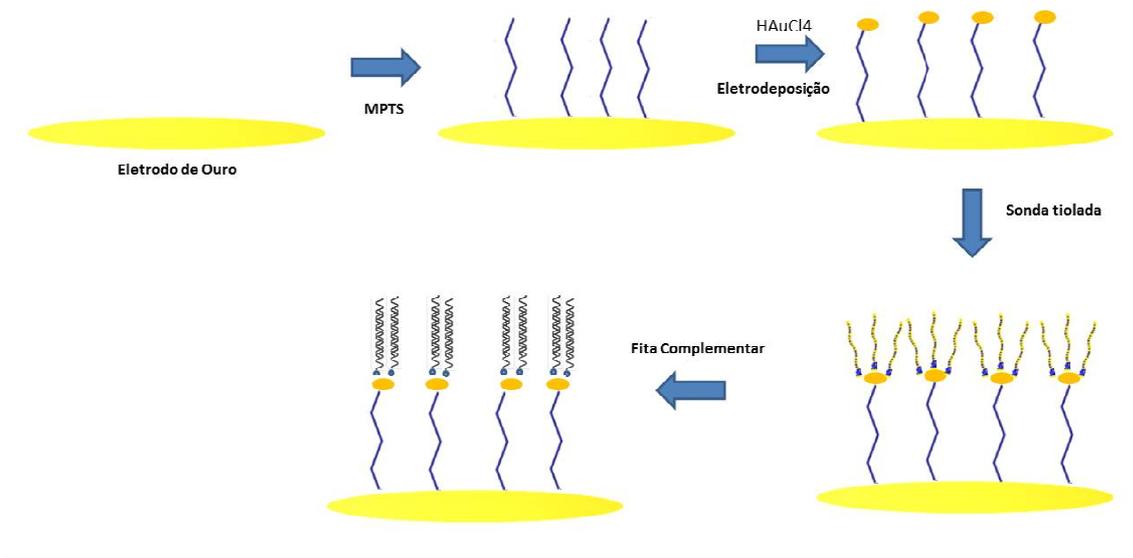


Figura 1

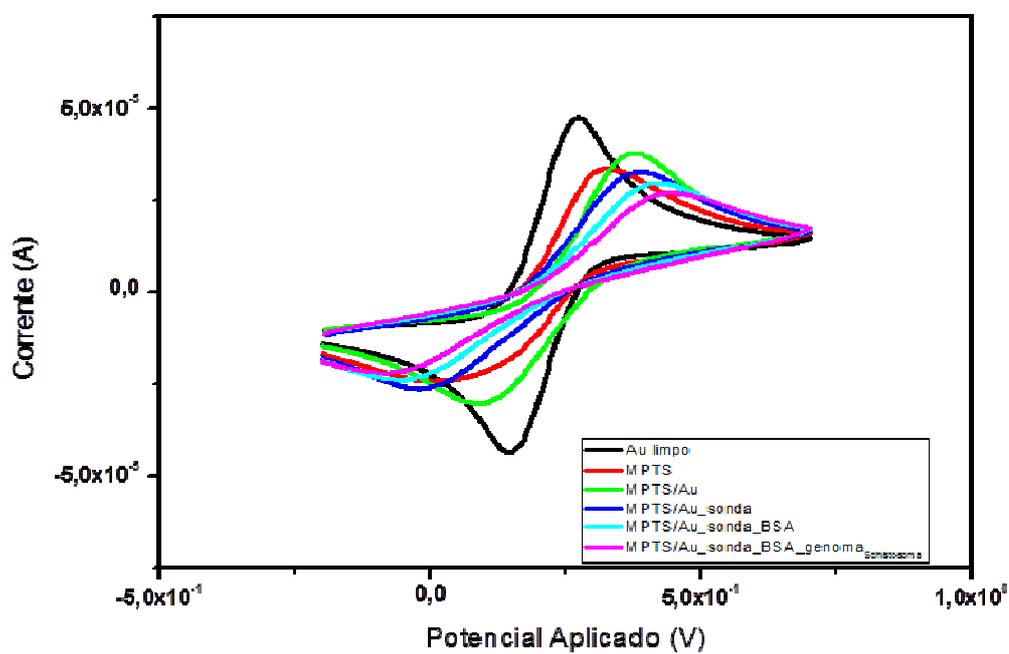


Figura 2

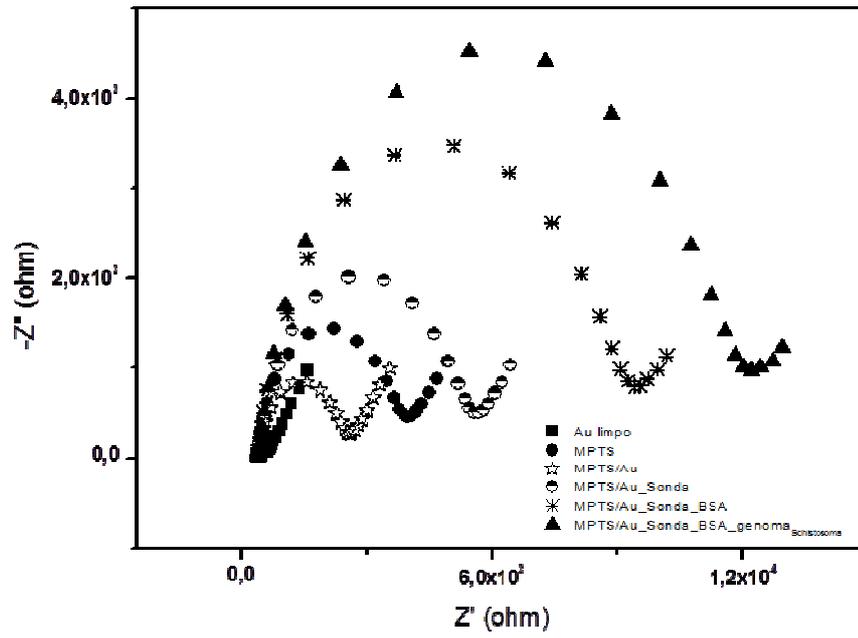


Figura 3

**RESUMO****MÉTODO PARA DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO GENOMA DO VERME DE *Schistosoma mansoni*, UTILIZANDO PLATAFORMA DE OURO ELETRO-DEPOSITADO**

A presente invenção é resultado de uma metodologia simples para a obtenção de nanopartículas de ouro, através da eletrodeposição direta do ouro na superfície do eletrodo, e sua aplicação na elaboração de um dispositivo de diagnóstico, focado em metodologias inovadoras em saúde, com alta sensibilidade e especificidade para a detecção do *Schistosoma mansoni*. Assim, alcançamos uma técnica de preparação, por meio de automontagem, através da eletrodeposição de nanopartículas de ouro (NpsAu) sobre a superfície do eletrodo de ouro, modificado com 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTS). As nanopartículas de ouro são usadas para imobilizar sondas de DNA tiolada na superfície do eletrodo, devido às suas propriedades, tais como reter a atividade biológica, condução eficiente do sinal eletroquímico entre transdutor e interface, o que permite amplificar a resposta elétrica, e o organosilano MPTS oferece monocamada auto-montada em ouro, e age de forma comprovadamente eficiente entre a superfície do eletrodo. 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 do genoma de *Schistosoma mansoni* em baixas concentrações, prestando-se para a avaliação de pacientes com esquistossomose.