

Uso de biossensores no diagnóstico precoce de arbovirose: uma revisão de escopo

Using biosensors for the early diagnosis of arboviruses: a scoping review

Lígia Marques Vicente¹; Rafaela Carla Piotto Rodrigues²; Sílvia Carla da Silva André Uehara³

¹ Enfermeira pela Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil.

ORCID: 0000-0001-8492-2720. E-mail: ligiamarques.vicente@gmail.com

² Doutoranda em Enfermagem pela Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil.

ORCID: 0000-00018587-3115. E-mail: rafapiotto@yahoo.com.br

³ Professora Titular da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil.

ORCID: 0000-0002-0236-5025. E-mail: silviacarla@ufscar.br

RESUMO: Mapear o conhecimento científico sobre o desenvolvimento de biossensores para o diagnóstico precoce de arbovirose. Trata-se de uma revisão de escopo, onde, as buscas foram realizadas nas bases de dados Lilacs, PubMed, SciELO e Web of Science. Foram selecionados ao todo, 19 artigos. Os estudos apresentaram os diversos tipos de biossensores para a detecção da arbovirose e suas variantes, destacando-se dengue e zika. Os mais utilizados devido à pouca margem de erro são os eletroquímicos, ópticos e de ressonância de plasmons. Trazem confiabilidade e rapidez no diagnóstico além de serem fáceis de manusear e de baixo custo. Conclui-se que ainda não há nenhum biossensor para identificação de arbovirose disponíveis nos serviços de saúde, uma vez que necessitam avançar nas fases práticas das pesquisas.

Palavras-chave: Biossensores; Dengue; Zika Vírus; Arbovirose; diagnóstico precoce.

ABSTRACT: Mapping scientific knowledge about the development of biosensors to be used for the early diagnosis of arboviruses. Scoping review based on studies searched in Lilacs, PubMed, SciELO and Web of Science databases. Nineteen (19) articles were selected, in total. The selected studies presented different types of biosensors used to detect arboviruses and their variants, with emphasis on dengue and Zika viruses. Electrochemical, optical and plasmon resonance were the biosensors mostly used for the aforementioned purpose due to their little margin of error. They enable reliable and fast diagnosis processes, besides being easy to handle and its low cost. Biosensors capable of identifying arboviruses are not yet available in health services, since they still require advancements to be achieved at practical research stages.

Keywords: Biosensors; Dengue; Zika virus; arboviruses; early diagnosis.

INTRODUÇÃO

O crescimento populacional, a urbanização, o aquecimento global, aumento da pecuária, mudanças antropogênicas e a destruição de habitats primitivos, aumentaram a propagação de doenças infecciosas reemergentes e emergentes como a Dengue, Zika e Chikungunya. As arboviroses são um grupo de doenças virais que são transmitidas principalmente por artrópodes, como mosquitos e carrapatos e provocam sintomas semelhantes, dificultando o diagnóstico clínico, assim, os testes que favorecem esse diagnóstico com rapidez são de grande importância na prática clínica (Khan, 2020).

O impacto das arboviroses na morbidade e mortalidade se intensifica à medida que epidemias pressupõem grande número de indivíduos acometidos, com implicações sobre os serviços de saúde, principalmente diante da ausência de tratamento, vacinas e outras medidas efetivas de prevenção e controle (Donalisio; Freitas; Von Zuben, 2019).

O diagnóstico clínico dos flavivírus (Vírus da Dengue e Zika Vírus) e alguns vírus do gênero Alphavirus como o vírus da Chikungunya, geralmente realiza-se por meio da análise dos sintomas comuns como febre alta acompanhada de dores retroorbitárias e nas articulações. Entretanto, são sintomas comuns que dificultam um diagnóstico específico (Naresh; Lee, 2020). Dessa maneira, para diferenciar infecções causadas por vírus do gênero Flavivirus e outros gêneros como os Alphavirus, que possuem sintomatologia semelhante, deve-se utilizar o diagnóstico laboratorial (Vidic, 2021).

Atualmente, para o diagnóstico da dengue, zika e chikungunya, utiliza-se a sorologia realizada por meio do método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Elisa) e deve ser solicitada a partir do sexto dia do início dos sintomas; e, os exames para detecção de antígenos virais (Antígeno Estrutural 1) NS1, isolamento viral, (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase) RT-PCR e imunohistoquímica, devem ser requeridos até o quinto dia após o início dos sintomas. Ressalta-se que o resultado positivo de algum desses exames confirma o caso; porém, se o resultado for negativo, uma nova amostra para sorologia de IgM deve ser realizada para confirmação ou descarte (Brasil, 2021). Todos esses exames, incluso a coleta de uma nova amostra para a confirmação do resultado implica em um diagnóstico tardio, pois a coleta deve ser realizada a partir do sexto dia. Para tanto, ferramentas como os biossensores estão sendo desenvolvidos para detecção dessas doenças de forma rápida, de baixo custo, além de apresentar uma maior sensibilidade no resultado e pode ser realizada a partir do primeiro dia da aparição dos sintomas (Kaya *et al.*, 2021)

Os biossensores são dispositivos analíticos que apresentam moléculas bioreceptoras (sondas) imobilizadas na superfície transdutora do biossensor que ligam especificamente no alvo (Mollarasouli, 2019)

Nesse contexto, há um aumento de pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de técnicas que garantam um diagnóstico rápido das arboviroses mais prevalentes no país (Ying-Pei *et al.*, 2019; Mazlan *et al.*, 2019; Faria; Mazon, 2019). Enfatiza-se que o diagnóstico precoce das arboviroses, contribui especialmente para o adequado manejo clínico da doença, podendo evitar agravamento, além de auxiliar no planejamento das ações de vigilância em saúde. Assim, este estudo tem como objetivo mapear o conhecimento científico sobre o desenvolvimento de biossensores para o diagnóstico precoce de arboviroses.

MATERIAIS E MÉTODO

Trata-se de uma revisão de escopo, sendo seguidos os seis passos metodológicos descritos pelo Joanna Briggs Institute: (1) identificação da questão de pesquisa; (2) identificação de estudos relevantes; (3) seleção dos estudos; (4) extração de dados; (5) separação, sumarização e relatório de resultados; e (6) divulgação dos resultados (Aromataris, 2020).

Para a identificação da questão da pesquisa foi utilizada a estratégia PCC (*acrônimo população, contexto e conceito*), sendo, P (não se aplica), C (dengue, zika e chikungunya) e C (biossensores e diagnóstico). Definida a seguinte pergunta problema: Quais biossensores estão sendo desenvolvidos para realizar o diagnóstico de dengue, zika e chikungunya?

A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados Lilacs, PubMed, SciELO e Web of Science e foram conduzidas por meio de descritores que constam no Descritor em Ciências da Saúde (DeCS) e no Medical Subject Headings (MeSH) (**Quadro1**).

Quadro 1 - Estratégias de busca utilizadas nas bases de dados. São Carlos, SP, 2024.

Base de Dados	Estratégia de Busca
Web Of Science	("Biossensores OR biossensor OR biossensores OR biosensors ") AND ("Diagnóstico OR diagnostico OR diagnosis") AND ("Precoce OR precoce OR early") AND ("Arboviroses OR arbovirose OR arboviruses OR arbovirus OR arbovirus")
Pubmed	("Biossensores OR biossensor OR biossensores OR biosensors ") AND ("Diagnóstico OR diagnostico OR diagnosis") AND ("Precoce OR precoce OR early") AND ("Arboviroses OR arbovirose OR arboviruses OR arbovirus OR arbovirus")
Lilacs	("Biossensores OR biossensor OR biossensores OR biosensors ") AND ("Diagnóstico OR diagnostico OR diagnosis") AND ("Precoce OR precoce OR early") AND ("Arboviroses OR arbovirose OR arboviruses OR arbovirus OR arbovirus")
SciELO	("Zika Virus Infection" OR "Zika Virus Fever" OR "Zika Virus Disease") AND ("Changes" OR "aspects" OR "manifestation") AND (Kids OR Children rbctiOR Child)

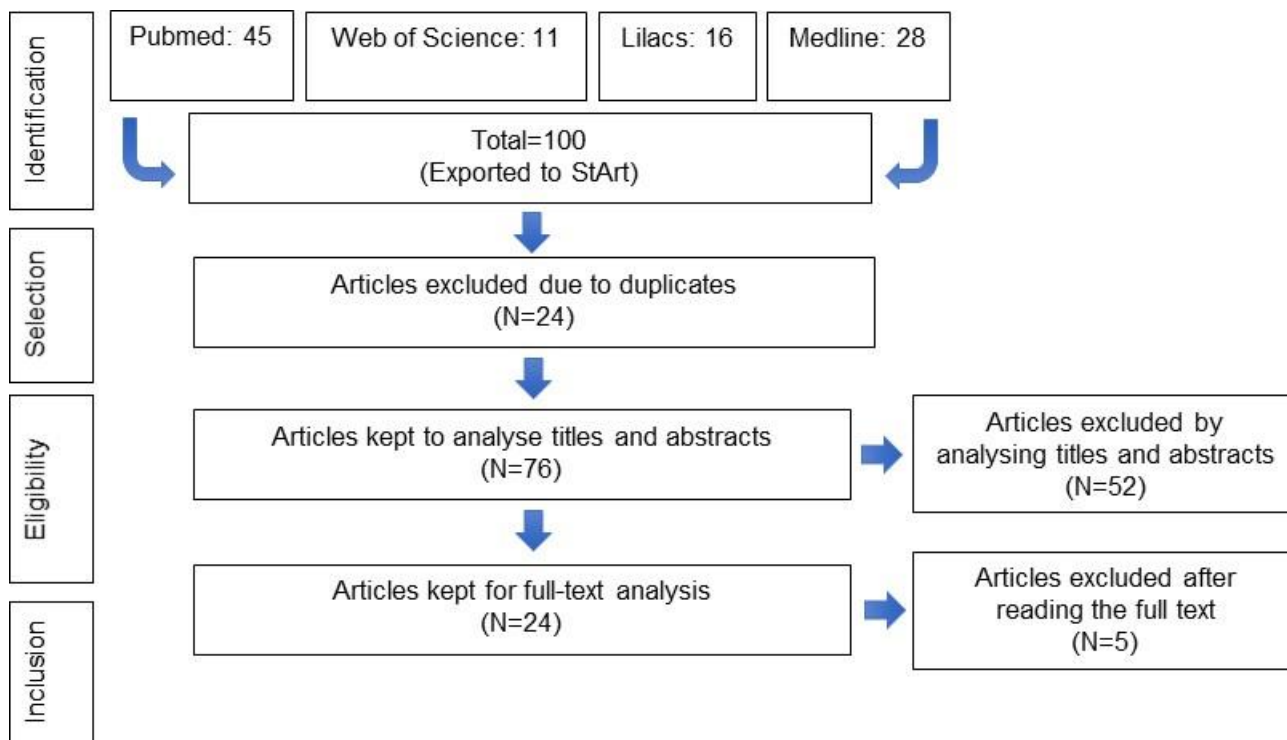
Foram incluídos estudos primários publicados em português, inglês e espanhol, publicados no período de 2005 a 2020 e excluídos artigos cujos títulos e resumos não se delimitavam dentro do objetivo da investigação, além de artigos de opinião, editoriais e revisões. Também, foram verificadas as listas de referências de todos os estudos encontrados. Para a seleção dos estudos, após implementação da estratégia de busca em cada base de dados, as referências identificadas foram exportadas para o gerenciador de referências Mendeley, versão X7.

Após a seleção dos estudos, as referências foram exportadas para o aplicativo *web StArt* (*State of the Art through Systematic Review*), para a seleção dos estudos em dois níveis.

RESULTADOS

Foram identificados nas bases de dados 100 artigos, sendo que 24 foram excluídos por estarem duplicados, 52 após a análise dos títulos, resumos e palavras-chaves, e 5 após a leitura na íntegra, sendo selecionados 19 estudos (**Figura 1**).

Figura 1 - Fluxograma de referência: inclusão e exclusão dos artigos. São Carlos-SP, 2023



As 19 publicações incluídas nesta revisão de escopo foram publicadas no idioma inglês. Em relação aos países onde os estudos foram realizados, destacam-se 4 (21%) em cada dos países, Brasil e Malásia, 3 (15,7%) nos Estados Unidos; 2 (10,5%) em Taiwan e Índia, os demais países publicaram somente 1 (5,2%) Tailândia, Áustria, Austrália, Colômbia, Israel, Filipinas, Suécia e França. Já em relação aos países de publicação, 12 (63,15%) estudos foram publicados na Holanda, 5 (29,31%) na Suíça e 02 (10,5%) no Reino Unido. Em relação ao tipo de estudo, os 19 artigos eram experimentais (**Quadro 2**).

Quadro 2. Descrição dos artigos de estudos experimentais, segundo autor, ano, país, objetivo, amostra e principais resultados. São Carlos – SP, 2021

Autores, ano e país	Objetivos	Principais resultados
Sz-Hau <i>et al.</i> , 2009, Taiwan, Reino Unido	Desenvolver microbalanças de cristal de quartzo de fluxo circulante e em tempo real (QCM) combinadas com nanopartículas de ouro com cobertura de oligonucleotídeo (AuNPs), ou seja, sondas AuNP - para detectar o DNA da Dengue.	No método DNA - QCM (microbalanças de cristal de quartzo), dois tipos de sondas AuNP específicas foram ligadas pelas sequências alvo no chip QCM para amplificar o sinal de detecção, isto é, mudança de frequência oscilatória (ΔF) do sensor QCM. As sequências alvo amplificadas a partir do genoma do DENV atuam como uma ponte para a hibridização das sondas AuNP camada por camada no método. Além de serem amplificadores do sinal de detecção, as sondas AuNP utilizadas no método DNA - QCM desempenham o papel de verificadores para reconhecer especificamente suas sequências alvo na detecção. O efeito de quatro tamanhos de AuNP na hibridização camada por camada foi avaliado e descobriu-se que AuNPs de 13 nm colocados com AuNPs de 13 nm apresentaram a melhor eficiência de hibridização. De acordo com a aplicação de nanopartículas, o método de biossensor de DNA-QCM foi capaz de detectar RNA viral de dengue em soro contaminado com vírus como títulos de placa sendo 2 PFU ml^{-1} e uma correlação linear ($R^2 = 0,987$) de ΔF versus titulação de vírus de 2×10^0 a 2×10^6 PFU ml^{-1} foi encontrada.
Navakul <i>et al.</i> , 2017, Amsterdã	Realizar a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) como um método alternativo para detecção de dengue (DENV) total e ensaio de anticorpos por reconhecimento de proteínas.	Um detector é construído aplicando o composto de polímero óxido de grafeno (GO) a um eletrodo EIS. O protocolo experimental é relativamente simples, sem necessidade de reagentes ou condições caras, mas pode detectar o vírus até o limite de 0,12 pfu / mL ($P = 0,05$). Nesse limite de detecção, o método pode confirmar a presença de DENV em um estágio inicial da infecção. O método foi capaz de discriminar entre o DENV e os outros subtipos, bem como o H5N1. Além disso, os experimentos também mostraram que quando um anticorpo DENV é adicionado à solução de vírus DENV correspondente, isso levou a uma diminuição na resistência em comparação com a amostra de vírus pura, indicando que o anticorpo inibiu a ligação do vírus ao polímero GO. Os resultados sugerem que esse método pode ser usado para rastrear anticorpos contra o vírus da dengue e pode ser de benefício geral na pesquisa da vacina DENV.
Oliveira <i>et al.</i> , 2015, Suíça	Desenvolver um biossensor eletroquímico de DNA para a detecção de sequências do vírus da dengue sorotipo 3 (DENV-3).	Os resultados mostraram que a sequência de 22-m foi a melhor sonda de DNA para a identificação do DENV-3. A concentração ótima da sonda de DNA imobilizada na superfície do eletrodo é de 500 nM e um limite de detecção baixo do sistema (3,09 nM). Além disso, este sistema permite a detecção seletiva de sequências de DENV-3 em soluções tampão e soro humano.
Steinmetz <i>et al.</i> , 2019, Amsterdã	Desenvolver biossensor de DNA para detectar Zika Virus em amostras de soro humano, por eletrodo de carbono vítreo oxidado (ox-GCE)	Devido à alta área de superfície e alta condutividade elétrica dos AuNPs, a quantidade de carga das sondas de DNA foi aumentada, resultando em uma resposta eletroquímica significativamente melhorada do biossensor desenvolvido. Esta plataforma de biossensor proposto mostrou-se bastante simples e apropriada para uma imobilização adequada de sondas de ssDNA de ZIKV (através da formação de ligações covalentes Au-S), e foi capaz de detectar com eficiência o ZIKV em amostras reais de soro humano. O dispositivo demonstrou um LOD adequado de 0,82 pmol L^{-1} por EIS e exibiu estabilidade por 90 dias.

Dias <i>et al.</i> , 2013, Amsterdã	Desenvolver um imunossensor para a proteína não estrutural 1 (NS1) do vírus da dengue baseado em eletrodos impressos em nanotubo de carbono (CNT-SPE).	Uma mistura homogênea contendo nanotubos de carbono carboxilados foi dispersa em tinta de carbono para preparar um eletrodo de trabalho serigrafado. Os anticorpos Anti-NS1 foram covalentemente ligados ao CNT-SPE por uma estratégia de filme de etilenodiamina. As respostas amperométricas foram geradas a -0,5 V vs. Ag / AgCl por reação de peróxido de hidrogênio com peroxidase (HRP) conjugada ao anti-NS1. Um excelente limite de detecção (na ordem de 12 ng mL ⁻¹) e uma sensibilidade de 85,59 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ foram alcançados, permitindo o diagnóstico de dengue de acordo com a faixa clínica exigida.
Lim <i>et al.</i> , 2018, Amsterdã	Desenvolver um teste utilizando uma gota de sangue, um imunossensor, para detectar especificamente ZIKV sem reação cruzada com outros FLAVs.	A análise foi realizada usando uma gota de sangue adicionada a um imunossensor. Obteve uma alta sensibilidade de 1 pg / mL, especificidade desejável, armazenamento de dados e vigilância de localização geográfica foram alcançados simultaneamente. E o teste POC pode distinguir facilmente a infecção pelo ZIKV das amostras de sangue FLAV com reatividade cruzada por detecção visual. Este teste POC simples, conveniente, barato, sem instrumentos e portátil tem o potencial de atender às necessidades urgentes em portos de entrada, aeroportos e regiões endêmicas com poucos recursos.
Mazlan, 2019, Amsterdã	Elaborar um genossensor óptico baseado no marcador de DNA do complexo de base de Schiff para o sorotipo 2 do vírus da dengue.	Esta base de projeto forneceu uma boa seletividade na distinção da variação de uma base na sequência de nucleotídeos, triagem de alta sensibilidade em baixas concentrações de tcDNA e tempo de hibridização rápido para dar mudança de cor observável na superfície do biossensor de DNA. Além disso, a demonstração do biossensor de DNA no teste do genoma DEN-2 em amostras clínicas de sangue, urina e saliva de pacientes positivos para dengue foi realizada em comparação com o método de referência RT-PCR sem diferença estatisticamente significativa nos resultados gerados por ambos os métodos.
Faria; Mazon, 2019, Amsterdã	Desenvolver um imunossensor eletroquímico baseado em nanoestruturas de ZnO imobilizadas com anticorpo ZIKV	O biossensor desenvolvido permite a detecção rápida do vírus Zika na urina não diluída, sem reatividade cruzada com o antígeno DENV-NS1, com faixa linear 0,1 ng mL ⁻¹ a 100 ng mL ⁻¹ . O limite de detecção é inferior a 1,00 pg mL ⁻¹ . Apresentou alta especificidade para ZIKV-NS1. O ensaio dot-blot aprovou a não reatividade do imunossensor baseado em ZnO NRs com o antígeno da dengue. Fazer o teste na urina permite que o imunossensor seja realizado como um teste rápido e imediato, sem a necessidade de especialistas. O imunossensor aqui mostrou estabilidade e reprodutibilidade adequadas com outros testes de ZIKV.
Rahman <i>et al.</i> , 2016, Amsterdã	Uso de nanofio de silício (SiNW) integrado ao processo de semicondutor de óxido de metal complementar para detecção baseada em eletrônica molecular altamente eficaz	Ao usar esta técnica intensificadora, os resultados mostram que o limite de detecção para o dispositivo de SiNW tratado com plasma de 60 segundos pode ser reduzido para 1,985 x 10 ⁻¹⁴ M em comparação com 4,131 x 10 ⁻¹³ M para o dispositivo SiNW não tratado. Acredita-se que essas descobertas podem promover muito o uso de tratamento com plasma como plataformas de aprimoramento. Além disso, o biossensor SiNW modificado pode distinguir diferentes sequências de alvos de base de 27-mers oligômero de DNA de DENV e é estável em relação ao círculo de desnaturação e re-hibridização. O biossensor desenvolvido também foi capaz de detectar o produto RT-PCR do DENV em amostras reais, indicando seus potenciais aplicações como ferramenta de diagnóstico.

Alzate <i>et al.</i> , 2020, Amsterdã	Relatar o desenvolvimento de genossensores para detecção diferencial de ZIKV e sua discriminação de dengue (DENV) e chikungunya (CHIKV,) arbovírus homólogos	Os resultados mostram que os iniciadores moleculares projetados eram específicos para a amplificação eficiente das sondas alvo ZIKV sintéticas em comparação com uma escada de peso molecular de referência e controle negativo com material não genético. De fato, esses primers amplificaram eficientemente também o cDNA transcrito de fitas de RNA do ZIKV replicado em culturas de células. Os primers também amplificaram especificamente o RNA de amostras de culturas de células infectadas e as discriminaram do material genético de DENV e CHIKV por PCR em tempo real. Esses resultados demonstraram que a alta especificidade dos primers projetados nos permite detectar RNA do ZIKV e discriminá-lo dos arbovírus DENV e CHIKV filogeneticamente relacionados.
Michelson <i>et al.</i> , 2019, Reino Unido	Avaliar novos ensaios sorológicos de ZIKV, utilizando o antígeno NS1 biossensor de modulação	Os ensaios MMB para zika têm sensibilidade de 88% -97%, muito mais alta do que os atuais ensaios EUROIMMUN ELISA (38% -74%). Além disso, a especificidade é de 100% e a reatividade cruzada com os vírus do Nilo Ocidental e dengue é mínima (0% -4%). Além disso, os ensaios de MMB detectaram anticorpos IgM para zika tão cedo quanto 5 dias e até 180 dias após o início dos sintomas, estendendo significativamente o número de dias em que os anticorpos são detectáveis.
Darwish <i>et al.</i> , 2018, Amsterdã	Desenvolver um biossensor em imunofluorescência para a detecção do biomarcador de proteína não estrutural 1da dengue em amostras clínicas obtidas nos estágios iniciais da infecção	A faixa de detecção linear para o antígeno NS1 foi entre 15 e 500 ng mL ⁻¹ , com coeficientes de determinação (R2) = 0,92 e LOD de 15 ng mL ⁻¹ , que é muito inferior ao de um biossensor baseado em ressonância plasmônica localizada de superfície (LSPR) relatado anteriormente (74 ng mL ⁻¹) para detecção de NS1. O presente imunossensor NS1 óptico permitiu boa reprodutibilidade, com um desvio padrão relativo de 2%, e alta estabilidade (até 21 dias) durante o armazenamento a 4 °c. Além disso, o presente imunossensor determinou efetivamente o antígeno NS1 em amostras de plasma complexas de pacientes infectados com DENV, com alta seletividade para o antígeno NS1 e baixa reatividade cruzada com JEV (vírus da encefalite japonesa) e vírus Zika.
Suthanthiraraj; Sen, 2019, Amsterdã	Produzir um biossensor baseado em ressonância de plasmon de superfície localizada para detectar o antígeno da dengue, no sangue total.	especificamente em uma faixa de concentração de duas vezes no plasma. Ao integrar o biossensor proposto com a separação de plasma sanguíneo baseada em membrana, desenvolvemos um dispositivo lab-on-chip que facilita o diagnóstico rápido de NS1 (em 30 minutos) a partir de apenas 10 µL de sangue total. Além de reduzir o volume da amostra e o tempo do ensaio, o biossensor também pode reduzir o custo do ensaio, visto que a deposição de metal e o recozimento são realizados em massa e vários biossensores podem ser fabricados a partir de um único substrato.
Afsahi <i>et al.</i> , 2018, Amsterdã	Desenvolver um biossensor à base de grafeno portátil e econômico para detectar o zika vírus com um anticorpo monoclonal imobilizado altamente específico.	A ligação covalente do anti-Zika NS1 a um chip biossensor de grafeno permite a aquisição portátil e de baixo custo de dados de ligação cinética em tempo real por meio da tecnologia Bio-sensor de efeito de campo (FEB). O chip biossensor Agile R100 funcionalizado com anti Zika NS1 detecta ZIKV NS1 em concentrações tão baixas quanto 0,45 nM. Além disso, quando o dispositivo foi testado com encefalite japonesa (JEV) NS1, não houve reatividade cruzada mensurável. O LLOD e a especificidade do antígeno ZIKV NS1 fornecem uma oportunidade para a detecção em estágio inicial de doença ativa na infecção presuntiva por Zika. A plataforma Agile R100 FEB oferece uma base promissora para o desenvolvimento de aplicações clínicas para zika e testes diagnósticos aprimorados no início da infecção.

Ariffin <i>et al.</i> , 2018, Suíça	Desenvolver um biossensor refletométrico de DNA do vírus da dengue baseado na matriz de imobilização do DNA e no marcador óptico.	O biossensor refletométrico de DNA demonstrou uma ampla faixa de resposta linear para o DNA alvo na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-16}$ - $1,0 \times 10^{-10}$ M ($R^2 = 0,9879$) com um limite de detecção ultra baixo (LOD) em 0,2 aM. A resposta do biossensor óptico de DNA foi estável e sustentável em 92,8% de sua resposta inicial por até sete dias de armazenamento com um tempo de resposta de 90 minutos. O biossensor de DNA de reflectância obteve valores de recuperação promissores de cerca de 100% para a detecção de concentração de DNA do vírus sintético do vírus da dengue (DENV-2) em amostras humanas não invasivas, indicando a alta precisão do método analítico de DNA proposto para o diagnóstico precoce.
Wasik; Mulchandani; Yates, 2018, Reino Unido	Apresentar um imunossensor quimiosistivo sem rótulo para a detecção e quantificação livre de marcadores da proteína NS1 da dengue (DENV) em saliva.	Ao contrário dos Testes de diagnóstico rápido disponíveis comercialmente (RDTs), o imunossensor apresentado é compatível com a coleta de saliva, uma técnica de amostragem não invasiva que tem muito mais probabilidade de ser aceita pelos pacientes e pode ser coletada por pessoal não treinado. Com uma faixa de quantificação de ~ 1 ng / mL a 1000 ng / mL de NS1 em saliva humana artificial, o biossensor proposto é capaz de quantificar DENV NS1 de uma forma clinicamente relevante, com uma faixa de concentração salivar e incubação de 10 min de 10 µL de saliva. Como tal, o imunossensor melhorará a utilidade clínica e os diagnósticos no local de atendimento, especialmente quando a coleta de sangue não estiver disponível, e pode distinguir a dengue da dengue grave.
Kumbhat <i>et al.</i> , 2017, Amsterdã	Propor um imunobiossensor em ressonância de plasma de superfície para o diagnóstico sorológico pelo vírus da dengue.	Os resultados foram comparados com os obtidos por MAC-ELISA. A regeneração foi alcançada por solução de pepsina em tampão glicina-HCl (pH 2,2) e a superfície do sensor exibiu um alto nível de estabilidade durante ciclos repetidos de imunorreação. O biossensor proposto sendo simples, eficaz e baseado na utilização de afinidade antígeno-anticorpo natural, este estudo apresenta um escopo encorajador para o desenvolvimento de biossensores para o diagnóstico de dengue e febre hemorrágica da dengue (DHF).
Yrad <i>et al.</i> , 2019, Suíça	Desenvolver um biossensor de fluxo lateral colorimétrico (LFB) para a detecção visual do RNA da dengue-1.	O teste positivo gerou uma linha de teste vermelha na tira do biossensor de fluxo lateral (LFB), o que permitiu a detecção visual. O biossensor otimizado tem um valor de corte de 0,01 µM usando o alvo sintético de dengue-1. A aplicação de prova de conceito do biossensor detectou o vírus da dengue-1 em soros humanos agrupados com um valor de corte de $1,2 \times 10^4$ pfu / mL. O RNA viral extraído, quando acoplado à amplificação baseada na sequência de ácido nucleico (NASBA), foi detectado no LFB em 20 min. Este estudo demonstra pela primeira vez a aplicabilidade com dextrina como marcador para ensaio de fluxo lateral.
Palomar <i>et al.</i> , 2020, Suíça	Desenvolver um biossensor eletroquímico para a detecção da toxina da dengue	O sistema exibe uma alta sensibilidade de $-0,44 \pm 0,01$ µA por década com ampla faixa linear entre 1×10^{-12} e 1×10^{-6} g/mL com um potencial de trabalho de 0,22 V vs Ag / AgCl. O limite de detecção extremamente baixo (3×10^{-13} g/mL) classifica este imunossensor como um dos mais eficientes relatados na literatura para a detecção do vírus da dengue viral recombinante 2 NS1. Este biossensor também oferece boa seletividade, caracterizada por uma baixa resposta a vários alvos não específicos e ensaios em soro humano.

DISCUSSÃO

A identificação precoce é essencial para tratar de forma adequada as pessoas com alguma arbovirose, nesse contexto destaca-se o desenvolvimento de biossensores, que podem contribuir no diagnóstico rápido e preciso dessas doenças. Os biossensores são apropriados para detecção de vírus patogênicos com excelente resposta/especificidade e permitem testes rápidos com procedimentos simples e confiáveis e miniaturização (Kaya; *et al.*, 2021)

A configuração de um biossensor é composta por dispositivos que conseguem detectar antígenos de forma mais rápida, simples e econômica a partir da interação antígeno-anticorpo, onde os anticorpos são imobilizados pelo transdutor para que possa detectar o antígeno. Os biossensores podem ser compostos por um elemento biológico que possui a capacidade de capturar o vírus e um transdutor para converter o vírus que foi previamente capturado na amostra em um sinal detectável; posteriormente, os sistemas amplificam e expressam o sinal para uma detecção quantitativa. Esses elementos de bioreconhecimento são compostos de reações enzimáticas, células inteiras, material genético de vírus, como DNA e RNA, e produtos do sistema de resposta imune do paciente, como, por exemplo, os anticorpos.

Os biossensores eletroquímicos são considerados mais simples, sensíveis e confiáveis com eficácia e resposta diagnóstica rápida para detectar uma infecção viral por arbovirose, como por exemplo, a febre amarela. Esse tipo de procedimento já pode ser usado nos serviços de saúde; porém, podem sofrer interferências entre os sinais detectados de forma eletroquímica ou eletrofisiológicas, onde algumas proteínas virais podem compartilhar de uma identidade sequencial igual de outras espécies virais, se fazendo necessário repetir o processo (Vidic *et al.*, 2021).

Já os biossensores ópticos utilizados para identificar infecção por arbovirose, também consegue diagnosticar e monitorar o câncer de garganta. Esses biossensores conseguem detectar sinais remotos não elétricos em ambientes sensíveis, sem necessidade de elementos ativos na biocamada, de forma a responder a mais de um analito usando reagentes que absorvam ou emitam a diferentes comprimentos de onda, ainda que os reagentes opticamente ativos que utilizam sejam frequentemente instáveis. Entretanto podem apresentar problemas de interferência da luz ambiente, longos tempos de resposta, liberação do reagente sob uso contínuo, baixa estabilidade da matriz de imobilização e alto custo de manufatura e de reagentes, além de alta complexidade (Naresh; Lee, 2021).

Os biossensores de ressonância de plasmons de superfície localizada, detectam os exossomas doentes e podem apresentar resultados que podem ser vistos a olho nu, apresentam respostas em tempo real, além de ser de fácil manuseio, resultado rápido e preciso. Esses biossensores atuam na temperatura e detectam as oscilações eletromagnéticas que ocorrem na interface metal-dielétrica na interação entre o ligante imobilizado no chip do biossensor e o analito alvo. Ressalta-se que podem ser usados para detectar diferentes tipos de biomarcadores, incluindo ácidos nucleicos, proteínas e anticorpos; entretanto, são necessários testes para validar sua aplicação para cada patologia em específico (Khan, 2020)

Estudo feito pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), em 2019, mostrou que o biossensor de ressonância de plasmons de superfície localizada, detectou a arbovirose de maneira específica e sensível (principalmente durante o estágio agudo de infecção), em amostras de vírus purificadas e em vírus que foram adicionados em amostras de soro humano. Além disto, conseguiu distinguir doenças com apresentações clínicas

semelhantes, como a Influenza, Dengue, Zika e Chikungunya, foram rápidos, em média quinze minutos e apresentou um baixo custo. Nesse contexto, este biossensor apresenta grande potencial para o desenvolvimento de uma nova e eficaz abordagem de diagnóstico para os Flavivírus (Ribeiro; Silva, 2019).

Também, existe o biossensor de efeito de campo, que é composto por eletrodos mensurados por concentração de biotecnologia e tecnologia de transistor, e, as as moléculas alvo se unem e identificam a presença do analito e sua composição. Esses biossensores são portadores de alta sensibilidade para identificar uma infecção viral como Hepatite, Influenza, Dengue, Chikungunya e Zika (Vidic *et al*, 2021).

Estudos mostram que a conformação da proteína do ZIKV possui uma característica exclusiva quando comparada às proteínas de outros Flavivírus, podendo ser detectada na urina desde a aparição dos primeiros sintomas, mesmo antes da produção de anticorpos específicos, já eliminando a coleta invasiva de sangue para a conclusão do diagnóstico (Faria; Mazon, 2019).

Em 2014, foi realizado um estudo pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) onde se comprovou que os biossensores eletroquímicos podem apresentar um resultado favorável quanto a detecção do vírus que invadiu o organismo. Entretanto, independentemente do estado de diluição da amostra colhida da pessoa infectada a partir do primeiro dia de manifestação dos sintomas, o uso da tecnologia microfluídica nesses dispositivos podem depreender positividade da doença viral que acometeu o organismo. Tal fato é possível devido o controle do nível de diluição, que permite a detecção de moléculas numa faixa de concentração ampla com pequeno volume de amostra, de forma rápida, eficiente, sensível, portátil, além de oferecer economia de amostras e reagentes (Cecchetto; Bueno; Carvalho, 2014).

Consideram-se como limitações o fato de terem sido incluídos nesta revisão somente estudos em português, inglês e espanhol, artigos que se encontravam disponíveis em texto na íntegra e bases de indexação não incluídos nesta pesquisa.

Por fim, no momento atual, nenhum desses biossensores direcionados para identificar arboviroses estão disponíveis nos serviços de saúde, uma vez que necessitam avançar nas fases práticas das pesquisas. Destaca-se a importância de aplicar esses biossensores para o diagnóstico precoce e diferencial de arboviroses, implicando em um tratamento mais efetivo e adequado dessas doenças; além de disponibilizar aos serviços de saúde, dispositivos práticos, de fácil manuseio e eficazes.

CONCLUSÕES

Diante dos estudos acerca das características e vantagens dos biossensores, destaca-se a necessidade de serem implementados no cotidiano dos serviços de saúde, uma vez que podem contribuir para uma forma de diagnóstico preciso e de fácil manuseio. Além de oferecer um diagnóstico rápido que favorece um tratamento adequado de sintomas e contribuir para as avaliações epidemiológicas e sanitárias e na redução dos números de casos subnotificados por essas doenças.

Apesar da confiabilidade, rapidez e baixo custo dos biossensores, têm-se como lacuna na literatura a necessidade de realizar estudos considerando a viabilidade prática, uma vez que a confiabilidade e reprodutividade devem ser minuciosamente estudadas para garantir resultados mais específicos e estáveis, mesmo sendo aplicados por diferentes mecanismos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa PIBIC.

REFERÊNCIAS

- AFSAHI, S. *et al.* Novel graphene-based biosensor for early detection of Zika virus infection. **Biosensors & bioelectronics**, v. 100, p. 85–88, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.08.051>
- ALZATE, D. *et al.* Genosensors for differential detection of Zika virus. **Talanta**, v. 210, n. 120648, p. 120648, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120648>
- ARIFFIN, E. *et al.* Optical DNA biosensor based on square-planar ethyl piperidine substituted nickel(II) salphen complex for dengue virus detection. **Sensors**, v. 18, n. 4, p. 1173, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18041173>
- AROMATARIS, E.; MUNN, Z. **JBI manual for evidence synthesis**. Adelaide (AU): Joanna Briggs Institute, 2020. Available at: <https://synthesismanual.jbi.global>. Access on: 20 Sep. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção Básica. **Chikungunya: Manejo Clínico/ Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção Básica – Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
- CECCHETTO, J.; BUENO, P. R.; CARVALHO, F. **Desenvolvimento de biossensor eletroquímico para diagnóstico de dengue**. 2014. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Instituto de Química - Campus Araraquara, Unesp – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014. Available at: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/115620/000810636.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Access on: 12 Sep. 2023.
- DARWISH, N. T. *et al.* Immunofluorescence-based biosensor for the determination of dengue virus NS1 in clinical samples. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 149, p. 591–602, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.064>
- DIAS, A. C. M. S. *et al.* A sensor tip based on carbon nanotube-ink printed electrode for the dengue virus NS1 protein. **Biosensors & bioelectronics**, v. 44, p. 216–221, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.12.033>
- DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; VON ZUBEN, A. P. B. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 30, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2017051006889>
- FARIA, A. M.; MAZON, T. Early diagnosis of Zika infection using a ZnO nanostructures-based rapid electrochemical biosensor. **Talanta**, v. 203, p. 153-160, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.04.080>

KAYA, H. O.; CETIN, A. E.; AZIMZADEH, M.; TOPKAYA, S. Pathogen detection with electrochemical biosensors: Advantages, challenges and future perspectives. **Journal of electroanalytical chemistry**, v. 882, n. 114989, p. 114989, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jelechem.2021.1149891>

KHAN, R. S. **Obtenção de biossensores plasmônicos baseados em nanopartículas de prata**. 2020. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Curso Superior de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2020. Available at: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/11/AP_COLIQ_2017_2_06.pdf. Access on: 08 Sep. 2023.

KUMBHAT, S. *et al.* Surface plasmon resonance based immunosensor for serological diagnosis of dengue virus infection. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 52, n. 2, p. 255–259, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.01.001>

LIM, J. M. *et al.* An electrochemical peptide sensor for detection of dengue fever biomarker NS1. **Analytica Chimica Acta**, v. 1026, p. 109–116, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.005>

MAZLAN, N.-F. *et al.* Acrylic-based genosensor utilizing metal salphen labeling approach for reflectometric dengue virus detection. **Talanta**, v. 198, p. 358–370, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.02.036>

MICHELSON, Y. *et al.* Highly sensitive and specific Zika virus serological assays using a magnetic modulation biosensing system. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 219, n. 7, p. 1035–1043, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy606>

MOLLARASOULI, F.; KURBANOGLU, S.; OZKAN, S. A. The role of electrochemical immunosensors in clinical analysis. **Biosensors**, v. 9, n. 3, p. 86, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/bios9030086>

NARESH, V.; LEE, N. Corrigendum to “Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers” [J. Clin. Virol. 55 (2012) 191–203]. **Journal of Clinical Virology**, v. 56, n. 1, p. 89-91, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2012.07.004>

NAVAKUL, K.; WARAKULWIT, C.; YENCHITSOMANUS, P.; PANYA, A.; LIEBERZEIT, P. A.; SANGMA, C. A novel method for dengue virus detection and antibody screening using a graphene-polymer based electrochemical biosensor. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 13, n. 2, 2017, p. 549-557. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.08.009>.

PALOMAR, Q. *et al.* Voltammetric sensing of recombinant viral dengue virus 2 NS1 based on Au nanoparticle-decorated multiwalled carbon nanotube composites. **Mikrochimica Acta**, v. 187, n. 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04339-y>

RAHMAN, S. F. A. *et al.* Enhanced sensing of dengue virus DNA detection using O₂ plasma treated-silicon nanowire based electrical biosensor. **Analytica chimica acta**, v. 942, p. 74–85, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.09.009>

OLIVEIRA, N. *et al.* A sensitive and selective label-free electrochemical DNA biosensor for the detection of specific dengue virus serotype 3 sequences. **Sensors**, v. 15, n. 7, p. 15562–15577, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/s150715562>

RIBEIRO, E. M. C.; SILVA, B. M. **Desenvolvimento de biossensor para detecção direta de Flavivirus utilizando nanobastões de ouro**. 2019. 117 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ppgbiotec, Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019. Available at: https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/11538/1/TESE_DesenvolvimentoBiossensorDetec%C3%A7%C3%A3o.pdf. Access on: 08 Sep. 2023.

STEINMETZ, M. *et al.* A sensitive label-free impedimetric DNA biosensor based on silsesquioxane-functionalized gold nanoparticles for Zika Virus detection. **Biosensors & bioelectronics**, v. 141, n. 111351, p. 111351, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111351>

SUTHANTHIRARAJ, Pearlson Prashanth Austin; SEN, Ashis Kumar. Localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensor based on thermally annealed silver nanostructures with on-chip blood-plasma separation for the detection of dengue non-structural protein NS1 antigen. **Biosensors and Bioelectronics**, v.132, 2019, p. 38-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.02.036>.

SZ-HAU, C.; LU, Y. C.; LIN, H. C.; YANG, Y. L.; LIN, C. S. A method of layer-by-layer gold nanoparticle hybridization in a quartz crystal microbalance DNA sensing system used to detect dengue virus. **Nanotechnology**. v. 27, p. 20-21, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/20/21/215501>

VIDIC, J. *et al.* Advances in Nanomaterials-Based Electrochemical Biosensors for Foodborne Pathogen Detection. **Nanomaterials**, v. 11, n. 10, p. 2700, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano11102700>

YING-PEI, H. *et al.* A serological point-of-care test for Zika virus detection and infection surveillance using an enzyme-free vial immunosensor with a smartphone. **Biosensors & bioelectronics**, v. 151, n. 111960, p. 111960, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111960>

YRAD, F. M.; CASTAÑARES, J. M.; ALOCILJA, E. C. Visual detection of dengue-1 RNA using gold nanoparticle-based lateral flow biosensor. **Diagnostic**, v. 9, n. 3, p. 74, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics9030074>

WASIK, D.; MULCHANDANI, A.; YATES, M. V. Salivary detection of dengue virus NS1 protein with a label-free immunosensor for early dengue diagnosis. **Sensors**, v. 18, n. 8, p. 2641, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18082641>

Recebido em: 26/10/2023

Aprovado em: 13/06/2024