



UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



instituto de
ciências farmacêuticas
Universidade Federal do Rio de Janeiro - Macaé

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

ELLEN KÁSSIA SOUZA DA SILVA

LEVANTAMENTO DO ESTADO DA ARTE DO USO DE GENOSENSORES PARA
A DETECÇÃO DE PATÓGENOS

MACAÉ
2023

ELLEN KÁSSIA SOUZA DA SILVA

LEVANTAMENTO DO ESTADO DA ARTE DO USO DE GENOSENSORES PARA
A DETECÇÃO DE PATÓGENOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Farmácia do Centro
Multidisciplinar UFRJ-Macaé como requisito
para obtenção do título de farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Siqueira Melo.

MACAÉ
2023

CIP - Catalogação na Publicação

S586

Silva, Ellen Kássia Souza da

Levantamento do Estado da Arte do uso de Genossensores para a Detecção de Patógenos / Ellen Kássia Souza da - Macaé, 2023.

60 f.

Orientador(a): Rodrigo de Siqueira Melo.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2023.

1. Nanotecnologia. 2. Técnicas eletroquímicas. 3. Hibridização.
I. Melo, Rodrigo de Siqueira, orient. II. Título.

CDD 615

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Biblioteca Central do Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé
Bibliotecário: Anderson dos Santos Guarino CRB7 – 5280

ELLEN KÁSSIA SOUZA DA SILVA

LEVANTAMENTO DO ESTADO DA ARTE DO USO DE GENOSENSORES PARA
A DETECÇÃO DE PATÓGENOS

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como requisito para
obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 10 de janeiro de 2023.

Comissão avaliadora:

Prof. Dr. Rodrigo de Siqueira Melo
Universidade Federal do Rio de Janeiro – CM UFRJ-Macaé
<http://lattes.cnpq.br/3387456281635948>

Prof. Dr. Ana Carolina da Silva Carvalho
Universidade Federal do Rio de Janeiro – CM UFRJ-Macaé
<https://lattes.cnpq.br/4637564126071086>

Prof. Dr. Paulo José de Souza Maria
Universidade Federal do Rio de Janeiro – CM UFRJ-Macaé
<http://lattes.cnpq.br/7563056909720108>

Para o Criador do universo, dono de todo o conhecimento,
Que me sustenta desde o ventre e que me guarda todos os dias.

“Toda a minha vida tenho me apoiado em ti; desde o meu nascimento tu tens me protegido. Eu sempre te louvarei.”

(BÍBLIA, Salmos 71,6)

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho nasceu diante de um cenário completamente desafiador e novo. Em meio à insegurança, ao cansaço e às dificuldades, foi imprescindível o apoio, a paciência e o amor de pessoas queridas.

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir chegar até aqui e por ter guardado o meu coração e a minha mente em perfeita paz. Por ter me dado forças quando eu pensei que não conseguiria.

Agradeço ao meu pai, Edilson, por sempre ter acreditado em mim, pelos incentivos e conselhos sábios cheios de amor que sempre me impulsionaram a ser melhor. Esse trabalho é por você.

Agradeço à minha mãe, Elisângela, por todo o carinho, pelas comidas deliciosas, pelas conversas em meio ao desespero e pelo colo que nunca faltou. Esse trabalho é por você.

Agradeço à minha irmã, Emilly, pelos momentos descontraídos de filmes e séries em meio a tensão, pela amizade e risadas diárias. Esse trabalho é por você.

Agradeço ao meu noivo, Lucas, por acompanhar de perto todo esse processo, por não soltar a minha mão, pelo amor diário, pela compreensão e paciência diante das dificuldades. Esse trabalho é por você.

Agradeço a todos os meus familiares de Volta Redonda, que de longe vibravam e oravam por mim em cada etapa. Esse trabalho é por vocês.

Agradeço às minhas companheiras de jornada, Paula, Larissa e Carolina, por toda parceria durante esses anos, pela amizade e por todos os momentos compartilhados. Esse trabalho é por vocês.

Agradeço às minhas amigas, Mariane e Tainá, por independente da distância, se fazerem presentes, pela torcida e por toda a cumplicidade. Esse trabalho é por vocês.

Por fim, agradeço ao meu orientador, Rodrigo, por me acompanhar desde o terceiro período da faculdade durante a iniciação científica e por me ajudar a chegar até aqui. Esse trabalho é por você.

RESUMO

SILVA, Ellen Kássia Souza. **Levantamento do Estado da Arte do uso de Genossensores para a detecção de patógenos**. Macaé, 2023. Monografia (Bacharelado em Farmácia) - Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2023.

Introdução: A nanotecnologia é uma área bem estabelecida e fornece cada vez mais novos materiais na solução de problemas analíticos e bioanalíticos, incluindo especificidade, estabilidade e sensibilidade. Sensores eletroquímicos nos quais um eletrodo é usado como elemento de transdução são uma subclasse importante dos sensores químicos. Os sensores eletroquímicos ocupam uma posição de liderança entre os sensores atualmente disponíveis que atingiram o estágio comercial e que encontraram uma vasta gama de aplicações importantes nas áreas de análises clínicas, farmacêuticas, ambientais e agrícolas. Apesar de sensores enzimáticos bem estabelecidos, a seletividades das interações de afinidade, como as de antígeno-anticorpo ou hibridização de ácido nucléico, é explorada para o respectivo desenvolvimento de promissores imunoensaios e experimentos com ácidos nucléicos. **Objetivos:** avaliar o estado da arte das pesquisas envolvendo a construção de genossensores para detecção de patógenos. **Metodologia:** Para a revisão dos dados disponíveis na literatura sobre genossensores, foi utilizada a ferramenta de pesquisa avançada da base de dados Web of Science. A análise das pesquisas permitiu a construção de um repositório de dados, contendo informações-chave, que viabilizou o cruzamento dessas informações para avaliação crítica sobre o cenário dessa tecnologia. **Resultados e Discussões:** As pesquisas realizadas retornaram 314.106 publicações para o título “sensor”. Para o título “genossensor” retornaram 196 publicações, sendo destas, 102 artigos para a detecção de patógenos. O número de publicações manteve-se razoavelmente constante, o que sugeriu um aumento recente do interesse científico pelo uso de técnicas eletroanalíticas que envolvam genossensores para buscar atender às necessidades da tecnologia moderna. Além disso, Irã, Índia, Espanha e Brasil foram os países que mais apresentaram publicações referentes ao título genossensor, sendo 32, 27, 27 e 25, respectivamente. Em 2020 foi o ano marcado pelo maior número de publicações no decorrer dos anos, totalizando 19. A Espanha foi o primeiro país a publicar sobre a utilização de técnicas eletroanalíticas aplicadas aos genossensores para a detecção do sequenciamento do vírus SARS (síndrome respiratória aguda grave), em 2005. Em 2021, foi publicado um artigo pelo Irã onde abordava sobre o emprego do genossensor como potencial ferramenta de diagnóstico precoce de COVID-19 pela determinação da sequência de RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) como um alvo específico do novo coronavírus, o SARS-CoV-2. Além deste patógeno, foi possível identificar a busca por novas ferramentas de diagnóstico para diferentes microrganismos e outras doenças, como câncer. **Conclusão:** Com as informações obtidas por todas as tendências observadas, foi possível avaliar de forma criteriosa o estado da arte do uso de genossensores para a detecção de patógenos de modo a evidenciar possibilidades de melhoria e desenvolvimento de estudos futuros. Principalmente devido a alta taxa de infecção pelo vírus da Covid-19 e, conseqüentemente, a necessidade de testes confiáveis e acessíveis para a detecção desse patógeno. **Perspectivas:** Fica claro a importância e aplicabilidade das técnicas eletroanalíticas através de uma crescente constante no cenário global, o que abre margem para

muitas outras pesquisas, como uma metanálise, que pode ser realizada de forma específica para diferentes temáticas.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Técnicas Eletroquímicas. Eletrodo. Genossensores. Hibridização. Detecção de Patógenos.

ABSTRACT

SILVA, Ellen Kássia Souza. **Levantamento do Estado da Arte do uso de Genossensores para a detecção de patógenos**. Macaé, 2023. Monografia (Bacharelado em Farmácia) - Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2023.

Introduction: Nanotechnology is a well-established area and increasingly provides new materials in solving analytical and bioanalytical problems, including specificity, stability and sensitivity. Electrochemical sensors in which an electrode is used as the transducing element are an important subclass of chemical sensors. Electrochemical sensors occupy a leading position among currently available sensors that have reached the commercial stage and have found a wide range of important applications in the areas of clinical, pharmaceutical, environmental and agricultural analysis. Despite well-established enzymatic sensors, the selectivity of affinity interactions, such as antigen-antibody or nucleic acid hybridization, is exploited for the respective development of promising immunoassays and experiments with nucleic acids. **Objectives:** to evaluate the state of the art of research involving the construction of genosensors for detecting pathogens. **Methodology:** For the review of data available in the literature on genosensors, the advanced search tool of the Web of Science database was used. The analysis of the research allowed the construction of a data repository, containing key information, which enabled the crossing of this information for a critical evaluation of the scenario of this technology. **Results and Discussion:** The searches carried out returned 314,106 publications for the title “sensor”. For the title “genosensor”, 196 publications were returned, of these, 102 articles for the detection of pathogens. The number of publications remained fairly constant, which suggested a recent increase in scientific interest in the use of electroanalytical techniques involving genosensors for seek to meet the needs of modern technology. In addition, Iran, India, Spain and Brazil were the countries that most presented publications referring to the genosensor title, being 32, 27, 27 and 25, respectively. 2020 was the year marked by the highest number of publications over the years, totaling 19. Spain was the first country to publish on the use of electroanalytical techniques applied to genosensors for the detection of the sequencing of the SARS virus (severe acute respiratory syndrome), in 2005. In 2021, an article was published by Iran in which it addressed the use of the genosensor as a potential tool for the early diagnosis of COVID-19 by determining the sequence of RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) as a specific target of the new coronavirus, the SARS-CoV-2. In addition to this pathogen, it was possible to identify the search for new diagnostic tools for different microorganisms and other diseases, such as cancer. **Conclusion:** With the information obtained from all observed trends, it was possible to carefully assess the state of the art in the use of genosensors for detecting pathogens in order to highlight possibilities for improvement and development of future studies. Mainly due to the high rate of infection by the Covid-19 virus and, consequently, the need for reliable and accessible tests for the detection of this pathogen. **Perspectives:** The importance and applicability of electroanalytical techniques is clear through a constant increase in the global scenario, which opens the door for many other studies that can be carried out specifically for different themes.

Keywords: Nanotechnology. Electrochemical Techniques. Electrode. Genosensors. Hybridization. Pathogen Detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Configuração de um sistema eletroanalítico envolvendo três eletrodos.	17
Figura 2 - Esquema geral dos principais componentes de um sensor químico.	18
Figura 3 - Esquema ilustrativo de um biossensor com transdutor eletroquímico.	19
Figura 4 – Fluxo da detecção eletroquímica de DNA alvo com base em sondas de DNA de oligonucleotídeos marcados com CdSNPs.	23
Figura 5 - Processo de construção de genossensores impedimétricos para a detecção de diferentes amostras de DNA alvo do HPV. (A) eletrodo de ouro; (B) imobilização covalente de nanofitas de grafeno tioladas (GNRsTh) com grupos COOH e SH; (C) imobilização da sonda de sequência genômica (MY11) com grupos NH ₂ via solução EDC – NHS (1:1); (D) processo de hibridização com amostra de cDNA do HPV.	25
Figura 6 - Processo de busca de pesquisa de publicações disponíveis na Web of Science.	29
Figura 7 - Número de publicações retornadas pelo Web of Science para cada um dos títulos analisados.	31
Figura 8 - Distribuição das publicações encontradas pelas pesquisas realizadas no Web of Science pela região geográfica dos respectivos centros de pesquisa.	32
Figura 9 - Recorrência de cada patógeno descrito no repositório de dados.	42
Figura 10 - Distribuição do número de publicações retornadas pelo Web of Science sobre genossensores ao longo dos anos (1993-2022).	44
Figura 11 - Distribuição dos tipos de documentos retornados pelo Web of Science sobre genossensores.	45
Figura 12 - Áreas de pesquisas retornados pelo Web of Science sobre genossensores.	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Repositório de informações das publicações disponíveis na literatura sobre genossensores para a detecção de patógenos.	34
Quadro 2 - Número de publicações obtido para cada patógeno descrito no repositório de dados.	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVOS	14
1.2 ESTRUTURA	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 SENSORES E BIOSSENSORES	15
2.2 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS	15
2.3 SENSORES E BIOSSENSORES ELETROANALÍTICOS	18
2.4 GENOSSENSORES	19
2.5 GENOSSENSORES PARA A DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS	21
2.6 GENOSSENSORES APLICADOS À DETECÇÃO DE CÂNCER	25
2.7 GENOSSENSORES APLICADOS À DETECÇÃO DE CORONAVÍRUS	27
3 METODOLOGIA	29
3.1 LEVANTAMENTO DE DADOS DA LITERATURA	29
3.2 AVALIAÇÃO E SELEÇÃO DAS PUBLICAÇÕES DISPONÍVEIS	30
3.3 ANÁLISE DE TENDÊNCIAS DAS PUBLICAÇÕES	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1 DADOS DISPONÍVEIS NA LITERATURA – WEB OF SCIENCE	31
4.2 REPOSITÓRIO DE PUBLICAÇÕES DISPONÍVEIS NA LITERATURA	33
4.3 PATÓGENOS MAIS RECORRENTES NA LITERATURA	42
4.4 TENDÊNCIAS DAS PESQUISAS SOBRE GENOSSENSORES	44
4.4.1 Ano de publicação	44
4.3.2 Tipos de documentos	45
4.3.3 Áreas de pesquisa	46
5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Os sensores eletroquímicos abrangem uma importante área da nanotecnologia que possibilita o controle da matéria em nanoescala, escala atômica e molecular. São empregados com o intuito de solucionar problemas analíticos e bioanalíticos, possibilitando alcançar uma maior especificidade, estabilidade e sensibilidade no momento de detecção. Nos sensores eletroquímicos um eletrodo é utilizado como transdutor para transformar a energia resultante da interação do eletrodo com o analito em sinal elétrico após uma determinada excitação.

Durante a interação do eletrodo com o analito ocorre a captação do analito na superfície do eletrodo e um processo redox é gerado, o que faz com que ocorra uma troca de elétrons e, conseqüentemente, um sinal pode ser visualizado no equipamento. Ou seja, o analito será capaz de fornecer um sinal ou elétron, podendo também receber elétron do próprio eletrodo. Desta forma, acontecerá uma mudança de potencial que resultará no sinal esperado.

Os sensores eletroquímicos são muito comercializados devido ao seu *design* e ao desenvolvimento contínuo de novos materiais que sempre buscam atender às necessidades da tecnologia moderna. Além da possibilidade de miniaturização, eles possuem vantagens quando comparados com as técnicas moleculares convencionais, como PCR (Reação da Cadeia Polimerase) e FISH (Hibridação *in situ* por Fluorescência) devido ao baixo custo de operação, mecanismo de detecção simples, sistema semiautomatizado, fácil portabilidade e capacidade de realizar análises simultâneas, que contribuem para uma detecção utilizando baixas concentrações do analito com alta sensibilidade e precisão.

É possível encontrar os sensores eletroquímicos em diferentes áreas, como análises clínicas, farmacêuticas, ambientais e agrícolas. Nessa mesma vertente, os biossensores entram como uma excelente proposta para o desenvolvimento de dispositivos que apresentem rapidez, fácil manuseio e capacidade de identificação de diferentes analitos alvo. Sendo assim, o elemento biológico pode ser incorporado ao sensor e produzir sinais mensuráveis quando ocorrer a hibridização do material biológico com o transdutor que será responsável por converter este evento em sinal elétrico. Para a consolidação deste evento são empregadas estratégias com a

aplicação de nanomateriais como marcadores que se ligam às biomoléculas de reconhecimento, como enzimas, anticorpos e oligonucleotídeos.

Os genossensores são caracterizados como uma alternativa atraente e promissora para a detecção de sequências de ácidos nucleicos, pois existem cada vez mais a crescente demanda por testes rápidos, simples, baratos e portáteis quando comparado aos métodos caros e demorados para a detecção específica de ácidos nucleicos. Sendo assim, os genossensores apresentam alta sensibilidade para a detecção preliminar de doenças, terapia preventiva de distúrbios genéticos e tratamento de infecções causadas por microrganismos. Os genossensores eletroquímicos de DNA são constituídos por uma sonda de DNA imobilizada na superfície do eletrodo que realizará interações específicas com pareamento de bases com o objetivo de recrutar o DNA alvo para a superfície, evento conhecido como hibridização e que é responsável por gerar o sinal elétrico. Sendo assim, a amplificação desse sinal pode ocorrer através de modificações que podem ser realizadas na superfície dos eletrodos.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar o estado da arte das pesquisas envolvendo o uso de genossensores para a detecção de patógenos, através de uma revisão sistemática da literatura.

1.2 ESTRUTURA

Esta pesquisa foi dividida em 6 capítulos, sendo o primeiro deles, este, um capítulo introdutório, onde a temática dos genossensores é contextualizada e os objetivos e estrutura do trabalho são apresentados. No capítulo 2, é realizada uma breve revisão bibliográfica de modo a alinhar conceitos e estabelecer diretrizes para o desenvolvimento do trabalho. No capítulo 3 é apresentada a metodologia, onde são descritos os mecanismos e ferramentas utilizados para a coleta e avaliação dos dados de interesse da literatura. No capítulo 4, são apresentados os resultados da pesquisa e avaliação dos dados disponíveis na literatura sobre o tema, bem como as discussões suscitadas por eles. O capítulo 5 apresenta as principais conclusões do trabalho realizado e sugestões para as pesquisas realizadas futuramente. No capítulo 6 são listadas as referências.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SENSORES E BIOSSENSORES

Sensores são definidos por Ronkainen, Halsall, Heineman [1], como dispositivos capazes de registrar uma mudança física, química ou biológica e a converterem em um sinal mensurável. O sensor contém um elemento de reconhecimento que permite a resposta seletiva a um determinado analito ou a um grupo de analitos, minimizando assim as interferências de outros componentes da amostra. Ainda segundo os autores, outro componente importante de um sensor é o transdutor ou o dispositivo detector responsável por produzir um sinal. Este sinal é captado por um processador, onde ocorre a amplificação e exibição do sinal.

Nesta mesma vertente, os biossensores tornaram-se foco de diferentes estudos através da adição de materiais biológicos aos sensores com o objetivo de realizar análises clínicas, ambientais e alimentícias [2]. Stetter, Penrose, Yao [3], definem biossensores como um subconjunto de sensores químicos que possuem como alvo uma biomolécula de interesse para medição. Já Flauzino et al. [4], caracteriza biossensores como dispositivos analíticos que incorporam algum elemento biológico, capaz de produzir sinais mensuráveis que se relacionam com a concentração do analito de interesse pela combinação de um sistema de reconhecimento bioquímico com um transdutor que converte este evento de reconhecimento em um sinal mensurável.

2.2 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

Pacheco et al. [5] descrevem que os estudos sobre a Eletroquímica foram introduzidos na Itália, ao final do século XVIII (1791), através da descoberta de fenômenos elétricos associados aos seres vivos. Ao dissecar uma Rã, Luigi Galvani (1737– 1798) notou a contração muscular após tocar com lâminas metálicas nas terminações nervosas, o que deu início aos estudos posteriores. Estes estudos ganharam cada vez mais seu espaço de visibilidade devido às diferentes contribuições nos avanços da química, eletrônica e nanotecnologia. Suas principais vantagens incluem a possibilidade de miniaturização, robustez e versatilidade, que

resulta na transformação de sistemas complexos em equipamentos portáteis e de fácil utilização.

O campo da eletroquímica abrange uma enorme variedade de diferentes fenômenos como eletroforese e corrosão, dispositivos (visores eletrocromáticos, sensores eletroanalíticos, baterias e células de combustível) e tecnologias (galvanização de metais e a produção em larga escala de alumínio e cloro). Seu interesse pode estar na obtenção de dados termodinâmicos sobre uma reação, análise de íons metálicos ou de espécies orgânicas em solução [6].

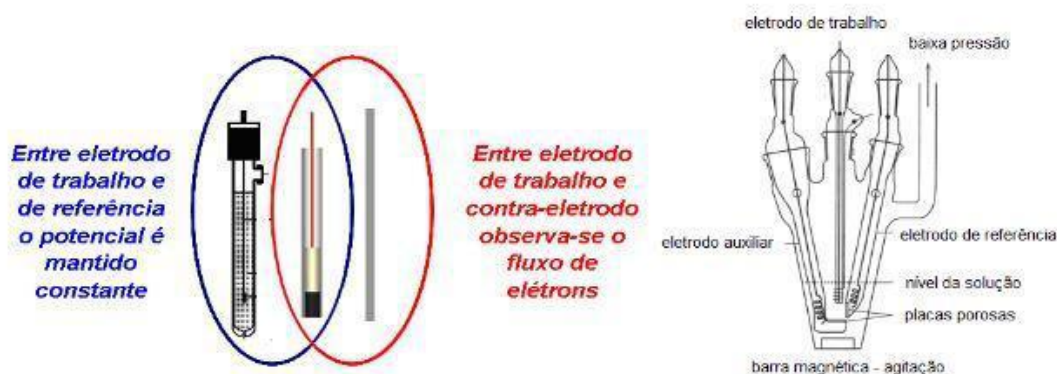
Para que as técnicas eletroquímicas sejam aplicadas é imprescindível uma compreensão dos princípios fundamentais das reações de eletrodos e das propriedades elétricas das interfaces eletrodo-solução [6]. Sendo assim, são utilizadas propriedades elétricas mensuráveis, como por exemplo, corrente elétrica, diferenças de potencial e acúmulo interfaciais de carga a partir de fenômenos onde uma espécie redox interage física e/ou quimicamente com demais componentes do meio, ou mesmo com interfaces [5].

A reação eletroquímica monitorada normalmente gera uma corrente mensurável (amperometria), um acúmulo de carga mensurável ou potencial (potenciometria) ou altera as propriedades condutivas do meio entre os eletrodos (condutometria). Além disso, também é comum a utilização da espectroscopia de impedância eletroquímica monitorando a resistência e a reatância no biossensor. Sendo assim, as técnicas eletroquímicas comumente são organizadas em três categorias principais de medição: corrente, potencial e impedância, sendo a categoria de corrente a mais utilizadas em biossensores [1].

A voltametria é definida por Aleixo [8], como uma técnica eletroquímica onde é possível que as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química sejam obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, realizadas durante a eletrólise. A corrente é o resultado da eletrólise por meio de uma redução ou oxidação eletroquímica do eletrodo de trabalho e é limitada pela taxa de transporte de massa das moléculas para o eletrodo [1]. Para isto, uma célula eletroquímica é constituída de pelo menos dois eletrodos, sendo um deles o eletrodo de trabalho e um eletrodo de superfície, conhecido como eletrodo de referência. Um terceiro eletrodo, o contra-eletrodo, é empregado com o objetivo de evitar possíveis distúrbios causados no eletrodo de referência, podendo ser de platina, ouro, carbono vítreo, dentre outros (Figura 1). Ele foi introduzido na célula voltamétrica para

assegurar o sistema potenciostático. Assim, após a aplicação de uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, a resistência do eletrodo de referência aumentará e a do contra-eletrodo diminuirá, permitindo a passagem de corrente entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar [5].

Figura 1 - Configuração de um sistema eletroanalítico envolvendo três eletrodos.



Fonte: Pacheco et al. [5].

O termo voltametria é utilizado para as técnicas nas quais o potencial é varrido em uma faixa de potencial definida. A resposta geralmente ocorre através de um pico ou um platô que é proporcional à concentração do analito. Os métodos voltamétricos incluem voltametria de varredura linear, voltametria cíclica, voltametria hidrodinâmica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada, polarografia e voltametria de decapagem. Os métodos eletroanalíticos voltamétricos são empregados em diferentes tipos de análises como técnicas alternativas ou complementares às outras técnicas devido à sua boa sensibilidade, alta frequência analítica, redução no consumo de solventes e baixo custo operacional quando comparada com outros procedimentos analíticos [1,7].

Na amperometria, as mudanças na corrente gerada pela oxidação ou redução eletroquímica são monitoradas diretamente com o tempo, enquanto um potencial constante é mantido no eletrodo de trabalho em relação a um eletrodo de referência. É exatamente a ausência de um potencial de varredura que distingue a amperometria da voltametria. Esta técnica é implementada aumentando o potencial diretamente para o valor desejado. Sendo assim, a corrente é proporcional à concentração das espécies eletroativas na amostra. Já na detecção condutométrica, ocorre o monitoramento das mudanças na condutividade elétrica da solução da

amostra, ou um meio como nanofios, conforme a composição da solução/meio muda no curso da reação química. Os biossensores condutimétricos geralmente incluem enzimas cujos produtos carregados resultam em mudanças na força iônica e, portanto, aumento da condutividade [1,6].

2.3 SENSORES E BIOSSENSORES ELETROANALÍTICOS

Um dos maiores desafios enfrentados na atualidade é a busca por novos métodos de análises rápidas. Além disso, esses métodos precisam demonstrar sensibilidade, precisão e uma significativa capacidade em determinar diversas substâncias com diferentes composições. Como uma alternativa a esta problemática, os sensores eletroquímicos apresentam características promissoras para novas aplicações devido à alta sensibilidade e seletividade, tamanho portátil, rapidez de resposta e baixo custo. Esse novo conceito de utilização de sensores eletroquímicos para determinar substâncias e outros parâmetros de interesse biológico resultou na crescente expansão de novas pesquisas científicas [1,9].

Para que seja possível obter a resposta analítica, é extremamente importante que a membrana aderida na extremidade do dispositivo seja capaz de reconhecer a espécie de interesse de forma seletiva. Para esta imobilização, existem diferentes estratégias e, além disso, é necessário que ocorra algum processo químico para possibilitar a transdução deste sinal para o detector [10]. A figura 2 apresenta o esquema geral dos principais componentes de um sensor químico.

Figura 2 - Esquema geral dos principais componentes de um sensor químico.



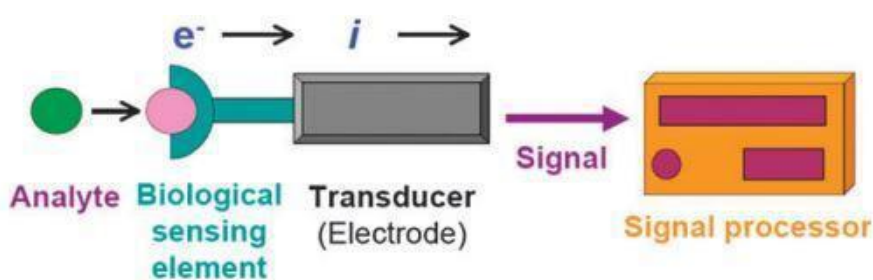
Fonte: Lowinsohn; Bertotti [10].

Wang et al. [9] e Rasooly [11], descreveram que em 1962, Clark e Lyons foram os responsáveis pela primeira criação de um biossensor eletroquímico,

conhecido como eletrodo enzimático, onde foi utilizado a enzima glicose oxidase (GOx) a um eletrodo amperométrico para oxigênio dissolvido.

Os biossensores eletroquímicos, pertencentes a uma subclasse de sensores químicos, combinam a sensibilidade, conforme for indicado pelos baixos limites de detecção, dos transdutores eletroquímicos com a alta especificidade dos processos de reconhecimento biológico. Estes dispositivos contêm um agente biológico como elemento de reconhecimento, como, enzimas, proteínas, anticorpos, ácidos nucleicos, células, tecidos ou receptores [1,12]. O principal requisito consiste em projetar uma superfície de detecção ideal que possa estabilizar moléculas de reconhecimento biológico e realizar a interface com transdutores físicos que convertam o bioreconhecimento em um sinal quantificável. Diferentes materiais têm sido utilizados para criar essa interface, incluindo diferentes formas de carbono, metais e óxidos metálicos [12]. A figura 3 apresenta o esquema de um biossensor com transdutor eletroquímico.

Figura 3 - Esquema ilustrativo de um biossensor com transdutor eletroquímico.



Fonte: Ronkainen; Halsall; Heineman [1].

Os biossensores tornaram-se uma área muito importante e de grande diferencial da Química Analítica, uma vez que a maioria dos requisitos analíticos atuais e futuros estão sendo resolvidos por dispositivos simples e sensíveis. Além dos sensores enzimáticos bem estabelecidos, as interações de afinidade como as de hibridização antígeno-anticorpo ou ácido nucléico são exploradas para o desenvolvimento de biossensores que podem oferecer uma grande seletividade [13].

2.4 GENOSENSORES

Os dispositivos eletroquímicos têm recebido considerável atenção no desenvolvimento de biossensores que utilizam a hibridização de DNA. A alta sensibilidade já descrita dos transdutores eletroquímicos, juntamente a sua compatibilidade com as modernas tecnologias de microfabricação, miniaturização e baixo custo tornam esses dispositivos excelentes candidatos para diagnósticos baseados em DNA [14]. Sendo assim, a análise de ácidos nucléicos possui grande importância em diversas áreas, com aplicações que vão desde a detecção de doenças humanas e animais, contaminações de alimentos por bactérias e pesquisas forenses e ambientais [15].

Para que seja possível estruturar um projeto de genossensor eletroquímico é importante seguir algumas etapas:

1. Imobilização da sonda de DNA;
2. Hibridização com sequência complementar;
3. Marcação e investigação eletroquímica da superfície.

A etapa de imobilização da sonda apresenta um papel importante na determinação do desempenho geral do biossensor de DNA e diferentes estratégias para a imobilização da sonda de DNA nas superfícies de eletrodos foram estudadas. Dentre elas, a adsorção em potencial controlado é o método mais simples para imobilizar a sonda de DNA em superfícies de eletrodos. Além disso, a possibilidade da automontagem fornece uma das abordagens mais refinadas para obter superfícies bem definidas e organizadas que podem ser uma excelente plataforma para aplicações de biossensores [15].

O mercado em expansão para análises de DNA tem auxiliado muito o uso da tecnologia de genossensores como uma alternativa analítica barata e fácil de usar, especialmente para aplicações industriais. Os genossensores, também conhecidos como biossensores de DNA, são dispositivos que combinam um agente de reconhecimento biológico, como uma sonda de DNA, com um transdutor. O agente de reconhecimento biológico é responsável por fornecer a seletividade, enquanto o transdutor é responsável por fornecer a sensibilidade e a conversão do evento de reconhecimento (hibridização) em um sinal elétrico mensurável [16].

Williams et al. [17] descreveram que a possibilidade de utilizar a detecção eletroquímica direta de DNA foi inicialmente proposta por Palecek (1958, 1960),

onde foi reconhecida a capacidade do DNA e RNA em produzir sinais de redução e oxidação. Esses avanços responsáveis pela elucidação de genes causadores de diversas doenças patogênicas incentivou o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à detecção eletroquímica de DNA.

Entre os genossensores descritos na literatura baseados na transdução eletroquímica, os que envolvem as técnicas de amperometria demonstraram vantagens claras, como velocidade, robustez, baixo custo, sensibilidade, potencial para produção em massa e miniaturização da instrumentação. Estes dispositivos eletroquímicos são baseados em indicadores eletroativos e em sinais de oxidação-redução de DNA livre de marcadores da base guanina. Além disso, técnicas de marcação enzimática foram descritas objetivando o aumento da sensibilidade, como sistemas de DNA-biotina / estreptavidina-enzima. As enzimas possuem grande potencial para a detecção elétrica de hibridização de DNA devido à atividade biocatalítica desses marcadores que fornece a amplificação essencial para monitorar níveis-alvo muito baixos. Isso pode ser realizado combinando a etapa de hibridização com uma medição eletroquímica do produto da reação enzimática [14,15,16].

Paredes et al. [13] descreveram sobre o uso de vários tipos de eletrodos como transdutores eletroquímicos para sensores de hibridização de DNA. Os autores destacaram que o ouro sempre foi um material apropriado para a detecção eletroquímica de substâncias. Além de permitir diferentes formatos, o ouro também oferece a possibilidade relevante de criar monocamadas de DNA automontadas através de grupos tiol devido à forte ligação entre enxofre e ouro, que pode ser considerada covalente. Sendo assim, realizaram um ensaio de hibridização de DNA com detecção eletroquímica enzimática em um eletrodo de carbono serigrafado nanoestruturado de ouro.

2.5 GENOSSENSORES PARA A DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS

A detecção de patógenos através dos biossensores eletroquímicos de DNA (genossensores) tem demonstrado sua importância para o diagnóstico de doenças virais e bacterianas ao decorrer dos anos. Sua tecnologia promissora para análise de ácidos nucleicos é conferida ao rápido tempo de resposta, alta sensibilidade, baixo limite de detecção, ampla faixa de detecção, boa confiabilidade, fácil

manuseio, baixo custo e portabilidade, como já mencionado anteriormente. Essas características fornecem uma plataforma simples, precisa e rápida para a detecção precoce de doenças. Os genossensores, baseiam-se principalmente na afinidade natural do DNA de fita simples (ssDNA) para sua fita complementar, permitindo a detecção de genes alvo específicos [18,19].

Painel et al. [19] disseram que embora a maioria desses microrganismos exerça atividades essenciais nos ecossistemas, alguns deles são potencialmente prejudiciais. As bactérias mais comuns responsáveis por surtos em todo o mundo são *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, e *Legionella* spp. Esses patógenos podem levar a consequências na economia e na saúde humana devido à sua natureza infecciosa. Além disso, são necessários 2 a 3 dias para obter os resultados iniciais dos testes tradicionais utilizados.

A transdução eletroquímica é amplamente utilizada no projeto de construção dos genossensores devido ao processo de biointeração, onde espécies eletroquímicas podem ser consumidas ou geradas, dando origem ao sinal eletroquímico mensurável. Esta técnica utiliza sequências de DNA immobilizadas na superfície do sensor e eventos de hibridização de sequência específica são convertidos em um sinal eletrônico. Este sinal pode ser direto, produzido pela oxidação de nucleotídeos, ou indiretamente, através de um indicador eletroquímico para o processo de hibridização. Para a detecção indireta, compostos orgânicos aromáticos planares, que também incluem brometo de etídio, são marcadores redox-ativos usados neste tipo de sensores [18].

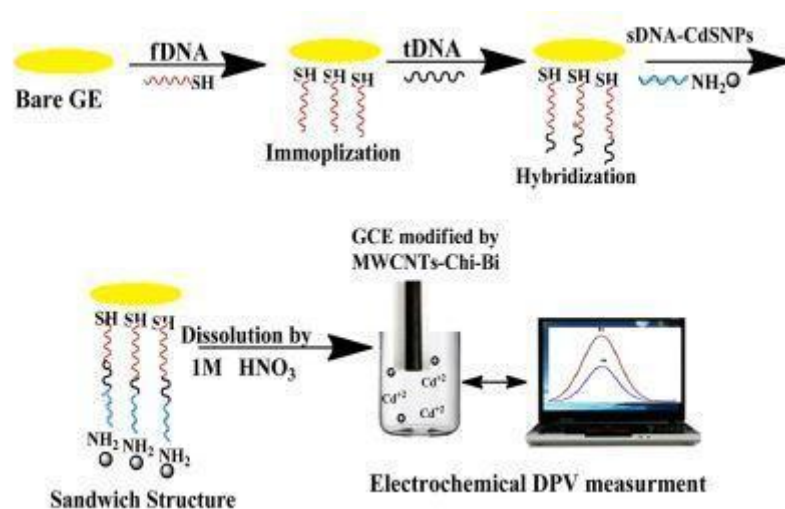
Castro et al. [18] descreveram um genossensor para a detecção de *Neisseria meningitidis*, o principal agente etiológico da meningite, onde um alvo específico foi monitorado utilizando técnicas eletroanalíticas. Além disso, demonstraram que o polímero poli (4-aminofenol) foi eficiente como plataforma para a construção de biossensores de DNA. O sistema desenvolvido apresentou excelente estabilidade, seletividade, especificidade, repetibilidade, potencial de miniaturização e diagnóstico *point-of-care*.

Abdulai et al. [20] apresentaram um genossensor eletroquímico altamente sensível para a detecção rápida de *E. coli*. Neste estudo, foi utilizado sondas complementares para construir uma estrutura sanduíche de nanopartículas de

sulfeto de cádmio (CdSNPs) e eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT).

A figura 4 apresenta a preparação da estrutura sanduíche em uma superfície em eletrodo de carbono vítreo e descreve a detecção eletroquímica de DNA utilizando rótulos de nanopartículas de sulfeto de cádmio (CdSNPs).

Figura 4 – Fluxo da detecção eletroquímica de DNA alvo com base em sondas de DNA de oligonucleotídeos marcados com CdSNPs.



Fonte: Abdalhai et al. [20].

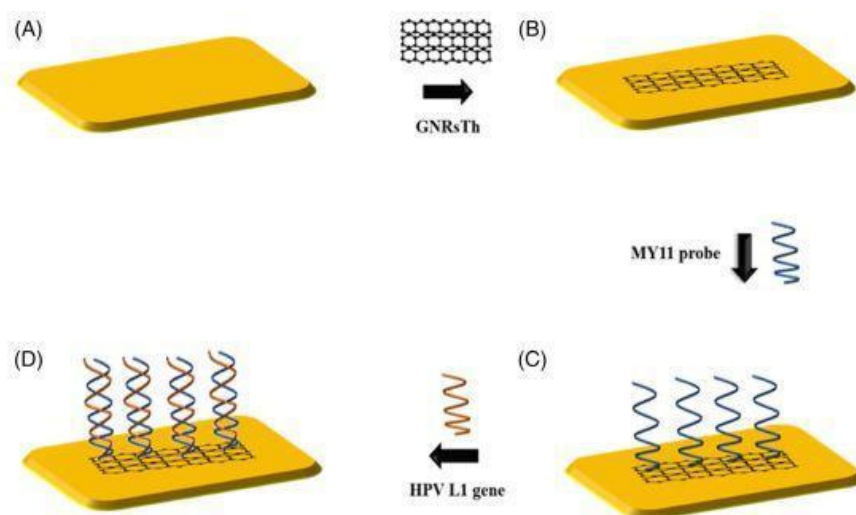
Além dos genossensores para a detecção de bactérias, a literatura apresenta inúmeros estudos para a detecção de vírus, como os da hepatite A, B e C, descritos por Yea et al. [21], Ariksoysal et al. [22] e Uliana; Riccardi; Yamanaka [23], respectivamente. O genossensor apresentado para a hepatite A foi capaz de trabalhar tanto para cDNA quanto para RNA com uma relação sinal/ruído relativamente grande e uma boa sensibilidade. Uma excelente especificidade também foi confirmada pela triagem com uma ampla gama de outras amostras de patógenos e o método das sondas de ácido nucleico foi validado por PCR e qPCR [21]. Ariksoysal et al. [22] descreveram pela primeira vez, em 2005, um genossensor de DNA eletroquímico para a detecção de HBV utilizando o sinal de oxidação da guanina e um eletrodo de grafite. Já em 2014, Uliana; Riccardi; Yamanaka [23] apresentaram uma outra problemática envolvendo a saúde global, a chegada do HCV, onde mais uma vez buscavam-se novas técnicas de diagnóstico para auxiliar o manejo clínico.

Malecka, et al. [24] apresentaram em 2019 um genosensor eletroquímico ultrasensível para a detecção direta de sequências de RNA específicas derivadas de vírus da gripe aviária presentes em amostras biológicas. A preparação do biossensor consistiu na modificação de eletrodos de ouro com aminoetanotiol, modificação da monocamada automontada de aminoetanotiol com 5,6-epoxi-5,6-dihidro-[1,10]-fenantrolina seguida da complexação de Ferro (III). A imobilização da sonda de amino-DNA de fita simples ocorreu por meio de grupos epóxi e amino. As interações entre a sonda de ssDNA e os alvos de RNA foram exploradas com a Voltametria de Onda Quadrada.

Os genossensores eletroquímicos também demonstraram sucesso para a detecção do papilomavírus humano (HPV). Lucena et al. [25] descreveram um estudo realizado no Brasil, em 2021, para a detecção de hibridização HPV – DNA e comprovaram as vantagens já citadas das metodologias de voltametria cíclica (CV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Neste estudo, foram utilizadas nanofitas de grafeno (GNRs) por serem uma excelente escolha para o projeto de genossensores nanoestruturados, devido às suas propriedades elétricas e relações comprimento-diâmetro e superfície-volume notavelmente altas.

A figura 5 apresenta um esquema do processo de construção de genossensores impedimétricos para a detecção de diferentes amostras de DNA alvo do HPV.

Figura 5 - Processo de construção de genossensores impedimétricos para a detecção de diferentes amostras de DNA alvo do HPV. (A) eletrodo de ouro; (B) imobilização covalente de nanofitas de grafeno tioladas (GNRsTh) com grupos COOH e SH; (C) imobilização da sonda de sequência genômica (MY11) com grupos NH2 via solução EDC – NHS (1:1); (D) processo de hibridização com amostra de cDNA do HPV.



Fonte: Lucena et al. [25].

Embora os métodos microbiológicos tradicionais estejam disponíveis, evoluções recentes da biotecnologia, nanotecnologia e química de superfície criaram a possibilidade de desenvolver novos elementos para auxiliar no diagnóstico precoce de doenças. Muitos esforços têm sido dedicados ao desenvolvimento desses biossensores utilizando o ácido nucleico como elemento de bioreconhecimento [19]. Os ácidos nucleicos surgiram como elementos de reconhecimento promissores para aplicações analíticas, por permitirem a detecção da sequência específica de DNA, garantindo a identificação precisa de diferentes patógenos [26].

2.6 GENOSSENSORES APLICADOS À DETECÇÃO DE CÂNCER

A tecnologia do biossensor para sequenciamento de DNA e análise de amostras de DNA tornaram-se cada vez mais importantes na medicina e no diagnóstico molecular, tanto para tratamento de infecções bacterianas e virais, quanto para terapia preventiva de distúrbios genéticos, prognóstico de câncer e terapia pós-citotóxica [27]. Alguns dos possíveis marcadores de interesse envolvem os miRNAs, que apresentam sequências com um comprimento aproximado de 22 nucleotídeos atuantes como RNAs não codificantes reguladores. O papel dos miRNAs no controle de diversos processos fisiológicos e patológicos faz com que

essas moléculas sejam caracterizadas como moléculas biológicas e permitem a utilização como marcadores em várias doenças, como câncer, doenças virais, doenças reumáticas, distúrbios cardiovasculares e neurológicos [27, 28].

Salahandish et al. [28] descreveram o projeto de um biossensor eletroquímico com alta sensibilidade e seletividade para a detecção de miRNA-21 em uma leitura direta de amostras de sangue. O miRNA-21 é um dos miRNAs mais importantes no diagnóstico, prognóstico e terapia do câncer de mama. Neste estudo, o nano-biossensor foi baseado em nanopartículas de prata (AgNPs) enxertadas em um filme nanocompósito de grafeno funcionalizado e polianilina nanoestruturada (PANI). Um nanocompósito funcionalizado de três camadas foi depositado na superfície do eletrodo, seguido pela imobilização do DNA seletivo de fita simples (ss-DNA) como uma sonda complementar do miRNA-21. O genossensor apresentou um alto desempenho para a detecção rápida, quantitativa e altamente sensível e seletiva de biomarcadores de câncer miRNA-21.

Outro estudo envolvendo a utilização do biomarcadores foi demonstrado por Salcedo, et al. [29], onde apresentaram o desenvolvimento de um genossensor eletroquímico duplo para diagnóstico precoce do câncer de próstata através da detecção de RNAs longos não codificantes (lncRNAs). Esses RNAs longos não codificantes são liberados do tecido tumoral para a urina e apresentam grande potencial para melhorar a especificidade no diagnóstico. Este trabalho demonstrou boa sensibilidade no ensaio de hibridização tipo sanduíche para detectar tanto o biomarcador urinário antígeno 3 do câncer de próstata (PCA3) quanto um controle endógeno, o mRNA do PSA.

Li et al. [30] também realizaram estudos utilizando lncRNAs através de um genossensor de gene3 expresso materno (MEG3) baseado para a detecção simultânea de duas sequências alvo específicas de diferentes estágios (T1 e T2) deduzido de MEG3. Foram combinadas estratégias de reciclagem de alvo assistida por RNase A e HCR para estimular a sensibilidade, e dois marcadores de ferroceno (Fc) e azul de metileno (MB) com potenciais eletroquímicos distintos foram usados para fornecer a leitura do sinal de T1.

Um estudo de 2019, descrito por Carr, et al. [31] apresentou um genossensor para detectar a metilação do DNA do gene MGMT em linhagens celulares de câncer de cabeça e pescoço. Essa metilação do DNA é conhecida por estar envolvida na oncogênese do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço e pode ser usada

para detecção precoce do câncer para aumentar as chances de cura, principalmente devido ao diagnóstico ser geralmente feito em fases tardias da doença. A sonda utilizada para MGMT foi imobilizada em eletrodos de ouro modificados com monocamadas automontadas (SAM) de ácido 11-mercaptoundecanóico (11-MUA). A detecção foi realizada com espectroscopia de impedância eletroquímica, com clara distinção entre DNA metilado e não metilado de linhagens celulares de cabeça e pescoço.

Demonstradas diferentes formas de projeção dos genossensores, para que seja possível aumentar a capacidade de detecção de sinais de sensores eletroquímicos, pesquisadores propuseram o uso de moléculas eletroativas com a capacidade de serem intercaladas no DNA, incluindo complexos catiônicos metálicos, ou compostos orgânicos, sendo estes últimos o que apresentaram uma relação mais específica de hibridização-sinal. O aspecto crítico no projeto e construção de genossensores está relacionado com a descoberta de compostos com capacidade de formar monocamadas estáveis, compactas e nano-ordenadas, permitindo evitar a corrente elétrica de fundo, inibir a corrosão e resistir à penetração de íons. Assim, atuando como barreiras efetivas contra a transferência de elétrons [32].

2.7 GENOSSENSORES APLICADOS À DETECÇÃO DE CORONAVÍRUS

O coronavírus é uma doença causada pelo vírus SARS-coV, responsável por causar a síndrome respiratória aguda grave. O mundo tem presenciado a terceira pandemia em grande escala nas últimas duas décadas, após a síndrome respiratória aguda grave (SARS) em 2003 e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012. A nova pandemia, conhecida como COVID-19, é causada pelo vírus extremamente contagioso da síndrome respiratória aguda grave, o coronavírus-2 (SARS-CoV-2). Diante da rápida disseminação global da COVID-19, a detecção rápida e precisa de vírus ou doença é cada vez mais vital para controlar as fontes de infecção e impedir a ampla disseminação da doença. Estudos envolvendo os genossensores para a detecção do SARS-CoV-2 têm surgido e é notavelmente mais falado entre a comunidade científica [33].

Apenas quatro artigos foram publicados no decorrer dos anos sobre a aplicação de genossensores para a detecção do vírus SARS até fevereiro de 2022.

A Espanha foi o país responsável por três dessas publicações. Valle; Abedul; García [34] descreveram pela primeira vez em 2004 um genossensor baseado em hibridização projetado em um filme de ouro pulverizado de 100 nm, onde uma sequência de 30-mer que codifica uma região curta rica em lisina, exclusiva do vírus SARS, foi escolhida como alvo. Uma fita complementar (sonda) marcada com um grupo tiol foi imobilizada no filme. A hibridização ocorreu e a interação com a estreptavidina marcada com fosfatase alcalina permitiu a detecção eletroquímica indireta amplificada. Utilizando a voltametria de onda quadrada, foi permitido obter um limite de detecção de 6 pM, que até então era inferior a qualquer outra encontrada na bibliografia.

Em 2006, Valle; Abedul; García [35] voltaram a publicar, desta vez, o objetivo do estudo consistia em melhorar a seletividade do genossensor. Para isto, desenvolveram um estudo sistemático sobre a seletividade da hibridização de DNA utilizando um genossensor eletroquímico enzimático em filmes de ouro abordado no trabalho anterior. Os estudos de hibridação realizados entre cadeias de 30-mer foram comparados com os de oligonucleótidos de 40-mer. O comprimento da fita demonstrou influência na hibridização. Além disso, experimentos com fitas cruzadas revelaram a importância de uma cauda oligonucleotídica na fita imobilizada para favorecer a mobilidade e, portanto, a hibridização.

Paredes; González García; Costa García [13] também realizaram um estudo sobre a utilização do genossensor para detecção do vírus SARS, em 2008, com base em eletrodos de carbono impressos em tela nanoestruturada de ouro. Essas nanopartículas de ouro têm recebido cada vez mais atenção devido às suas propriedades únicas de imobilização de biomoléculas mantendo sua atividade biológica, como interfaces condutoras eficientes com capacidade eletrocatalítica e alta relação superfície-volume que as torna uma ferramenta poderosa para modificar materiais de eletrodos e construir biossensores robustos e sensíveis que podem encontrar aplicação em muitos campos de interesse [13,35].

O Irã foi o único país a publicar especificamente sobre o SARS-CoV-2, em 2021, quando vivíamos elevadas consequências desta recente pandemia. Farzin et al. [33] apresentaram um genossensor voltamétrico desenvolvido para o diagnóstico precoce de COVID-19 pela determinação da sequência de RNA polimerase dependente de RNA (RdRP) como um alvo específico do novo coronavírus. Isto porque o SARS-CoV-2 utiliza o RdRP para a replicação de seu genoma e a

transcrição de seus genes. Utilizaram íons de prata (Ag⁺) na hexatia-18-coroa-6 (HT18C6) pela primeira vez como uma sonda redox. Em seguida, o eletrodo de carbono incorporado foi modificado com quitosana e pontos quânticos de silício revestidos com dendrímero para a imobilização de sequências de sonda (oligonucleotídeos aminados). A intensidade de corrente da voltametria de pulso diferencial utilizando a sonda redox diminuiu com o aumento da concentração da sequência alvo. O genossensor proposto exibiu uma boa resposta linear ao SARS-CoV-2 RdRP na faixa de concentração de 1,0 pM-8,0 nM e um limite de detecção (LOD) de 0,3 pM.

3 METODOLOGIA

3.1 LEVANTAMENTO DE DADOS DA LITERATURA

Para a revisão dos dados disponíveis na literatura sobre genossensores para a detecção de patógenos, foi utilizada a ferramenta de pesquisa avançada da base de dados *Web of Science*. A pesquisa foi elaborada por tentativa e erro no uso de descritores, conforme demonstrado na figura 6.

Figura 6 - Processo de busca de pesquisa de publicações disponíveis na Web of Science.

The screenshot displays the Web of Science search interface. At the top, it shows 'DOCUMENTOS' and 'PESQUISADORES'. Below this, there are dropdown menus for 'Pesquisar em: Coleção principal da Web of Science' and 'Edições: All'. A search bar contains the text 'Exemplo: water consum*' and a dropdown menu set to 'Título'. To the right of the search bar are 'And' and 'Adicionar à busca' buttons. Below the search bar, there is a section for 'Mais opções' with a 'Visualização de busca' dropdown. A text box contains the search query: '(((TI=(sensors)) AND TI=(sensores)) AND TI=(genossensores)) AND TI=(genosensors)'. Below this text box are buttons for '+ Adicionar intervalo de datas', 'X Limpar', and 'Pesquisar'. To the right of the search query, there is a 'Ajuda de pesquisa' link and a list of field codes under the heading 'Rótulos do campo:'. The list includes codes for various fields such as TS, TI, AB, AU, AI, AK, GP, ED, KP, SD, DC, AD, OG, OO, SO, SA, CI, PS, CU, ZF, FO, FG, FT, SU, WC, IS, UT, PM, DO, PUBL, and ALL.

Fonte: elaborado pela autora.

Inicialmente, a fim de se obter o retorno das publicações sobre o histórico dos sensores, utilizou-se na busca de pesquisa no campo de título a palavra

“sensores”. Além disso, de modo a avaliar um panorama geral, a pesquisa foi direcionada para as publicações feitas de abril de 1993 a fevereiro de 2022 e, portanto, inseriu-se o filtro de busca de pesquisa no campo do ano de publicação (1993-2022). Para estreitar a pesquisa em torno dos genossensores, inseriu-se no campo de busca o título “*genosensor*”, que seguiu o padrão de publicações feitas de abril de 1993 a fevereiro de 2022.

3.2 AVALIAÇÃO E SELEÇÃO DAS PUBLICAÇÕES DISPONÍVEIS

As publicações resultantes do título de “*genossensores*” foram submetidas a avaliação de seus resumos, caso a caso, para obtenção de informações como suporte utilizado, eletrodo, técnica eletroanalítica, objetivo, matriz, parte do genoma e limite de detecção. Nos casos em que o resumo não dispunha de todas essas informações, o corpo do artigo foi analisado.

Foram excluídas da listagem de publicações a serem avaliadas aquelas de onde não fosse possível obter um número significativo dessas informações (a única falta tolerada foi o limite de detecção). Além disso, algumas dessas publicações não tratavam exatamente sobre a detecção de patógenos e essas também foram excluídas da listagem na etapa de avaliação caso a caso.

As informações obtidas a partir das publicações que não foram excluídas durante o processo de avaliação foram utilizadas para a construção de um repositório que serviu de base para as análises subsequentes.

3.3 ANÁLISE DE TENDÊNCIAS DAS PUBLICAÇÕES

Através da listagem consolidada das publicações disponíveis na literatura sobre inibidores genossensores para a detecção de patógenos, inclusive para o vírus SARS-CoV-2, foram traçados gráficos de tendência das pesquisas nessa área, os quais dividem o número de publicações ou de condições estudadas em relação aos seguintes parâmetros:

- ano de publicação;
- tipo de documento;
- área de pesquisa;

- países publicados.

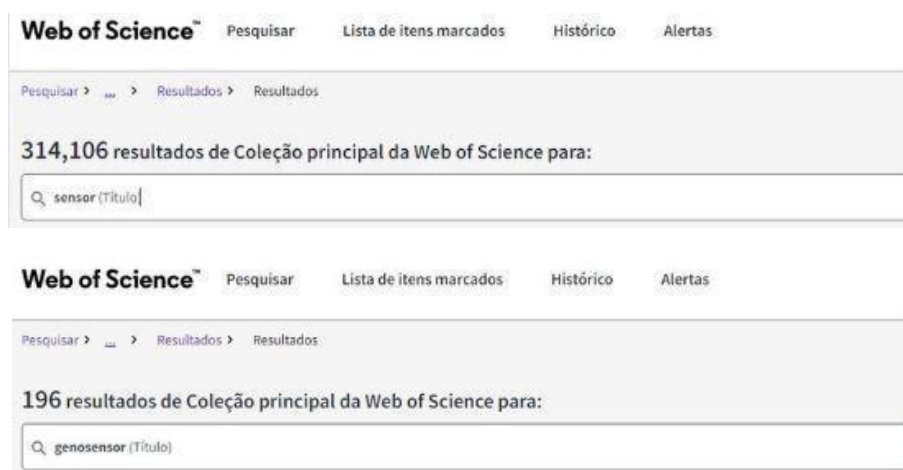
Por fim, foram avaliadas as publicações mais recorrentes nestas publicações em relação às particularidades de suas diferentes condições de estudo. Com as informações obtidas por todas essas tendências, foi possível avaliar de forma criteriosa o estado da arte do uso de genossensores para a detecção de patógenos de modo a evidenciar possibilidades de melhoria e desenvolvimento de estudos futuros. Principalmente devido a alta taxa de infecção pelo vírus da Covid-19 e, conseqüentemente, a necessidade de testes confiáveis para a detecção desse patógeno.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DADOS DISPONÍVEIS NA LITERATURA – *WEB OF SCIENCE*

As pesquisas realizadas na ferramenta de pesquisa avançada do Web of Science utilizando os títulos estabelecidos na metodologia retornaram números de publicações bastante distintos, como pode ser observado na Figura 7.

Figura 7 - Número de publicações retornadas pelo Web of Science para cada um dos títulos analisados.



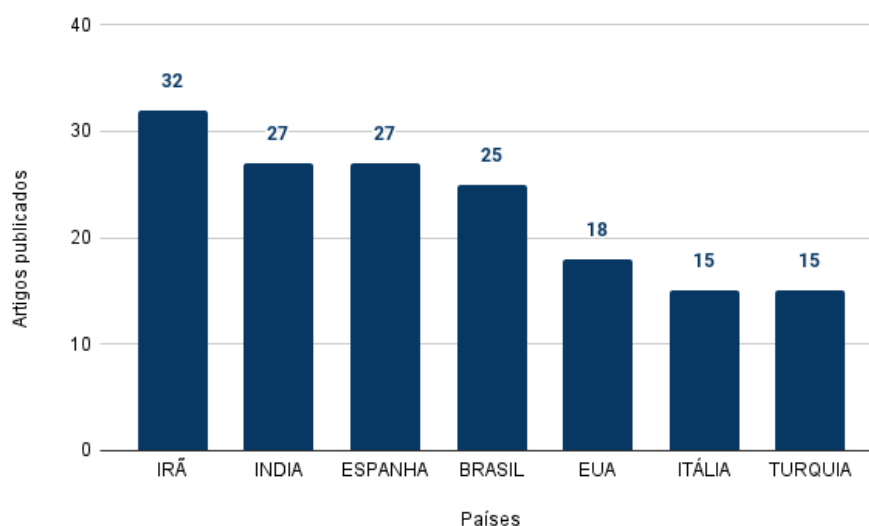
Fonte: elaborado pela autora.

Nota-se que o elevado número de publicações relacionadas ao título “sensor” está relacionado ao desenvolvimento contínuo de novos materiais que sempre buscam atender às necessidades da tecnologia moderna. Por possuir um

mecanismo de detecção simples, rápido e com um baixo custo, sendo muito visado pelo mercado. Posteriormente, surgiram os biossensores, onde começaram a utilizar os sensores empregados ao uso de materiais biológicos, com o objetivo de melhorar as técnicas de diagnósticos que podem ser caras e demoradas. Esse histórico justifica a grande diferença de resultados de publicações.

Os resultados expressos pelo gráfico da figura 8 permitem algumas suposições iniciais sobre a distribuição geográfica das pesquisas envolvendo as publicações sobre genossensores. Primeiramente, foi surpreendente a colocação do Irã como o principal país a investir nessas publicações. Uma das possibilidades pode se dar ao histórico do país receber constantemente sanções seguidas de bloqueios econômicos. Além da própria característica de centralização, o que poderia motivar uma busca interna por desenvolvimento, principalmente através de técnicas acessíveis, rápidas e eficientes para detecção. Em seguida, nota-se a Índia, o segundo país mais populoso do mundo e com grande desigualdade social acompanhada da Espanha em termos de mesma quantidade de publicações e em terceiro o Brasil. Isso indica que esse tipo de estudo possui maior adesão em países com menor Índice de Desenvolvimento Humano (IDH).

Figura 8 - Distribuição das publicações encontradas pelas pesquisas realizadas no Web of Science pela região geográfica dos respectivos centros de pesquisa.



Fonte: elaborado pela autora.

4.2. REPOSITÓRIO DE PUBLICAÇÕES DISPONÍVEIS NA LITERATURA

Através dos resultados obtidos de acordo com a pesquisa demonstrada na seção 4.1, aplicados no *Web of Science*, foi realizada a análise e seleção de todas as publicações a que se teve acesso. Sendo assim, foi construído um repositório de dados extraídos de cada artigo que serviu de base para a construção das análises subsequentes. A lista construída de publicações, juntamente aos seus principais dados e as respectivas referências, é apresentada no quadro 1.

Quadro 1 - Repositório de informações das publicações disponíveis na literatura sobre genossensores para a detecção de patógenos.

Ano	Título	Patógeno	País	Referência
2022	A sensitive and accurate fluorescent genosensor for <i>Staphylococcus aureus</i> detection	<i>Staphylococcus aureus</i>	China	[36]
2021	A nanoscale genosensor for early detection of COVID-19 by voltammetric determination of RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) sequence of SARS-CoV-2 virus	SARS-CoV-2	Irã	[33]
2021	A novel engineered label-free Zn-based MOF/CMC/AuNPs electrochemical genosensor for highly sensitive determination of <i>Haemophilus Influenzae</i> in human plasma samples	<i>Haemophilus Influenzae</i>	Irã	[37]
2021	Designing DNA probe from HPV 18 and 58 in the E6 region for sensing element in the development of genosensor-based gold nanoparticles	Papilomavírus (HPV)	Malásia	[38]
2021	Development of an electrochemical genosensor for detection of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) using glycoprotein (G) gene probe	Vírus da septicemia hemorrágica viral (VHSV)	Irã	[39]
2021	Development of an ultrasensitive electrochemical genosensor for detection of HIV-1 pol gene using a gold nanoparticles coated carbon paste electrode impregnated with lead ion-imprinted polymer nanomaterials as a novel electrochemical probe	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	Irã	[40]
2021	Electrochemical genosensor for the detection of <i>Alexandrium minutum</i> dinoflagellates	<i>Alexandrium minutum</i>	Portugal	[41]
2021	Graphene Oxide Based Electrochemical Genosensor for Label Free Detection of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> from Raw Clinical Samples	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Paquistão	[42]
2021	Impedimetric genosensor based on graphene nanoribbons for detection and identification of oncogenic types of human papillomavirus	Papilomavírus humano (HPV)	Brasil	[25]

2021	Ninhydrin as a novel DNA hybridization indicator applied to a highly reusable electrochemical genosensor for <i>Candida auris</i>	<i>Candida auris</i>	Brasil	[26]
2021	Photo-genosensor for <i>Trichomonas vaginalis</i> based on gold nanoparticles-genomic DNA	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Irã	[43]
2020	A Label-Free Impedimetric Genosensor for the Nucleic Acid Amplification-Free Detection of Extracted RNA of Dengue Virus	Vírus da dengue (DENV)	China	[44]
2020	An impedimetric genosensor for <i>Leishmania infantum</i> based on electrodeposited cadmium sulfide nanosheets	<i>Leishmania infantum</i>	Irã	[45]
2020	An innovative genosensor for the monitoring of <i>Leishmania spp</i> sequence using binding of pDNA to cDNA based on Cit-AgNPs	<i>Leishmania spp</i>	Irã	[46]
2020	An OLED-based genosensor for the detection of <i>Hermetia illucens</i> in feeds	<i>Hermetia illucens</i>	Itália	[47]
2020	Biotin self-assembled monolayer for impedimetric genosensor for direct detection of HIV-1	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	Cuba	[48]
2020	Detection of HPV16 in cell lines deriving from cervical and head and neck cancer using a genosensor made with a DNA probe on a layer-by-layer matrix	Papilomavírus humano 16 (HPV16)	Brasil	[49]
2020	Genosensor for rapid, sensitive, specific point-of-care detection of H1N1 influenza (swine flu)	Influenza A (H1N1)	Índia	[50]
2020	Graphene-based electrochemical genosensor incorporated loop-mediated isothermal amplification for rapid on-site detection of <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tailândia	[51]
2020	The sweet detection of rolling circle amplification: Glucose-based electrochemical genosensor for the detection of viral nucleic acid	Vírus Ebola	Suécia	[52]
2019	Acrylic-based genosensor utilizing metal salphen labeling approach for reflectometric dengue virus detection	Vírus da Dengue (DEN-2)	Malásia	[53]

2019	Amperometric genosensor for culture independent bacterial count	<i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i>	China	[54]
2019	An innovative nucleic acid based biosensor toward detection of <i>Legionella pneumophila</i> using DNA immobilization and hybridization: A novel genosensor	<i>Legionella pneumophila</i>	Irã	[55]
2019	Carbon nanomaterial as platform for electrochemical genosensor: A system for the diagnosis of the hepatitis C in real sample	Vírus da Hepatite C (HCV)	Brasil	[56]
2019	Novel electrochemical genosensor for Zika virus based on a poly-(3-amino-4-hydroxybenzoic acid)-modified pencil carbon graphite electrode	Zika vírus	Brasil	[57]
2019	Ultrasensitive electrochemical genosensor for direct detection of specific RNA sequences derived from avian influenza viruses present in biological samples	Influenza aviária A (H5N1)	Polônia	[24]
2018	A genosensor for detection of HTLV-I based on photoluminescence quenching of fluorescent carbon dots in presence of iron magnetic nanoparticle-capped Au	Vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV-1)	Irã	[58]
2018	A new genosensor for meningococcal meningitis diagnosis using biological samples	<i>Neisseria meningitidis</i>	Alemanha	[18]
2018	A Novel Polymer-Based Genosensor for the Detection and Quantification of <i>Streptococcus pneumoniae</i> in Genomic DNA Sample	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Brasil	[59]
2018	An optical genosensor for <i>Enterococcus faecalis</i> using conjugated gold nanoparticles-rRNA oligonucleotide	<i>Enterococcus faecalis</i>	Irã	[60]
2018	Electrochemical genosensor based on carboxylated graphene for detection of water-borne pathogen	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[61]
2018	Microfluidic-Based Genosensor To Detect Human Papillomavirus (HPV16) for Head and Neck Cancer	Papilomavírus humano (HPV16)	Brasil	[62]

2018	Portable bioactive paper based genosensor incorporated with Zn-Ag nanoblooms for herpes detection at the point-of-care	Herpesvírus humano tipo 5 (HHV-5)	Índia	[63]
2017	A genosensor for detection of consensus DNA sequence of Dengue virus using ZnO/Pt-Pd nanocomposites	Vírus da dengue (DENV)	Índia	[64]
2017	A Quantitative PCR-Electrochemical Genosensor Test for the Screening of Biotech Crops	Vírus do mosaico da couve-flor (CaMV)	Espanha	[65]
2017	Development of a chemiluminescent DNA fibre optic genosensor to Hepatitis A Virus (HAV)	Vírus da hepatite A (HAV)	Singapura	[21]
2017	Impedimetric genosensor for detection of hepatitis C virus (HCV1) DNA using viral probe on methylene blue doped silica nanoparticles	Vírus da hepatite C (HCV)	Índia	[66]
2017	Impedimetric nanostructured genosensor for detection of schistosomiasis in cerebrospinal fluid and serum samples	<i>Schistosoma mansoni</i>	Brasil	[67]
2017	Use of magnetically disentangled thiolated carbon nanotubes as a label-free impedimetric genosensor for detecting canine Leishmania spp. infection	<i>Leishmania</i> spp.	Brasil	[68]
2016	An electrochemical genosensor for Leishmania major detection based on dual effect of immobilization and electrocatalysis of cobalt-zinc ferrite quantum dots	<i>Leishmania major</i>	Irã	[69]
2016	An ultrasensitive electrochemical genosensor for Brucella based on palladium nanoparticles	<i>Brucella</i> spp.	Irã	[70]
2016	Electrophoretically deposited multiwalled carbon nanotube based amperometric genosensor for <i>E.coli</i> detection	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[71]
2016	Impedimetric genosensor for ultratrace detection of hepatitis B virus DNA in patient samples assisted by zeolites and MWCNT nanocomposites	Vírus da hepatite B (HBV)	Índia	[72]
2016	Label-free electrochemical genosensor based on mesoporous silica thin film	<i>Escherichia coli</i>	Tunísia	[73]

2016	Non-protein coding RNA-based genosensor with quantum dots as electrochemical labels for attomolar detection of multiple pathogens	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp.	Malásia	[74]
2015	A Label-Free Photoluminescence Genosensor Using Nanostructured Magnesium Oxide for Cholera Detection	<i>Vibrio cholerae</i>	Índia	[75]
2015	Electrochemical genosensor assay using lyophilized gold nanoparticles/latex microsphere label for detection of <i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	Malásia	[76]
2015	Electrochemical Genosensor To Detect Pathogenic Bacteria (<i>Escherichia coli</i> O157:H7) As Applied in Real Food Samples (Fresh Beef) To Improve Food Safety and Quality Control	<i>Escherichia coli</i>	China	[20]
2015	Electrochemical Label-free and Reagentless Genosensor Based on an Ion Barrier Switch-off System for DNA Sequence-Specific Detection of the Avian Influenza Virus	Influenza aviária A (H5N1)	Polônia	[77]
2015	Genosensor based on a nanostructured, platinum modified glassy carbon electrode for <i>Listeria</i> detection	<i>Listeria monocytogenes</i>	Índia	[78]
2015	New redox-active layer create via epoxy-amine reaction – The base of genosensor for the detection of specific DNA and RNA sequences of avian influenza virus H5N1	Influenza aviária A (H5N1)	Polônia	[24]
2014	Diagnostic tests for hepatitis C: recent trends in electrochemical immunosensor and genosensor analysis	Vírus da hepatite C (HCV)	Brasil	[23]
2014	A highly sensitive electrochemical genosensor based on Co-porphyrin-labelled DNA	Influenza aviária A (H5N1)	Polônia	[79]
2014	An electrochemical genosensor for <i>Salmonella typhi</i> on gold nanoparticles-mercaptopilane modified screen printed electrode	<i>Salmonella typhi</i>	Índia	[80]
2014	Carbon-Mercaptooctadecane/Carboxylated Multi-walled Carbon Nanotubes Composite Based Genosensor for Detection of Bacterial Meningitis	<i>Neisseria meningitidis</i>	Índia	[81]

2014	Clinical evaluation of a disposable amperometric magneto-genosensor for the detection and identification of <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Espanha	[82]
2014	Hierarchical cystine flower based electrochemical genosensor for detection of <i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[83]
2014	Ion-Channel Genosensor for the Detection of Specific DNA Sequences Derived from Plum Pox Virus in Plant Extracts	Plum Pox Vírus (PPV)	Polônia	[84]
2014	Preparation of genosensor for detection of specific DNA sequence of the hepatitis B virus	Vírus da hepatite B (HBV)	Brasil	[85]
2014	Self-assembled monolayers of mercaptobenzoic acid and magnetite nanoparticles as an efficient support for development of tuberculosis genosensor	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Brasil	[86]
2013	An Internalin A Probe-Based Genosensor for <i>Listeria monocytogenes</i> Detection and Differentiation	<i>Listeria monocytogenes</i>	Itália	[87]
2013	Aptasensor and genosensor methods for detection of microbes in real world samples	<i>E. coli, Salmonella, Listeria, e Campylobacter</i>	França	[19]
2013	Magnesium oxide grafted carbon nanotubes based impedimetric genosensor for biomedical application	<i>Vibrio cholerae</i>	Índia	[88]
2013	Multiplex electrochemical genosensor for identifying toxigenic <i>Vibrio cholerae</i> serogroups O1 and O139	<i>Vibrio cholerae</i>	Malásia	[89]
2013	Omp85 genosensor for detection of human brain bacterial meningitis	<i>Neisseria meningitidis</i>	Índia	[90]
2013	rmpM Genosensor for Detection of Human Brain Bacterial Meningitis in Cerebrospinal Fluid	<i>Neisseria meningitidis</i>	Índia	[91]
2013	Single Electrode Genosensor for Simultaneous Determination of Sequences Encoding Hemagglutinin and Neuraminidase of Avian Influenza Virus Type H5N1	Influenza aviária A (H5N1)	Polônia	[92]

2012	Electrochemical genosensor array for the simultaneous detection of multiple high-risk human papillomavirus sequences in clinical samples	Papilomavírus humano (HPV)	Espanha	[93]
2012	Electrochemical genosensor for specific detection of the food-borne pathogen, <i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	Malásia	[94]
2012	Fully Integrated Thermoplastic Genosensor for the Highly Sensitive Detection and Identification of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	EUA	[95]
2011	Electrochemical genosensor based on modified octadecanethiol self-assembled monolayer for <i>Escherichia coli</i> detection	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[96]
2010	Genosensor for detection of four pneumoniae bacteria using gold nanostructured screen-printed carbon electrodes as transducers	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , e <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Espanha	[97]
2009	Genosensor for SARS Virus Detection Based on Gold Nanostructured Screen-Printed Carbon Electrodes	Vírus SARS	Espanha	[13]
2009	Nanostructured zirconium oxide based genosensor for <i>Escherichia coli</i> detection	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[98]
2008	Enzyme-Linked Amperometric Electrochemical Genosensor Assay for the Detection of PCR Amplicons on a Streptavidin-Treated Screen-Printed Carbon Electrode	<i>Vibrio cholerae</i>	Malásia	[99]
2007	A Computational–Experimental Approach to Designing a Polyfunctional Genosensor Derived from the <i>Escherichia coli</i> Gene <i>yfiA</i> Promoter	<i>Escherichia coli</i>	Rússia	[100]
2007	Disposable electrochemical genosensor for the simultaneous analysis of different bacterial food contaminants	<i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Itália	[101]

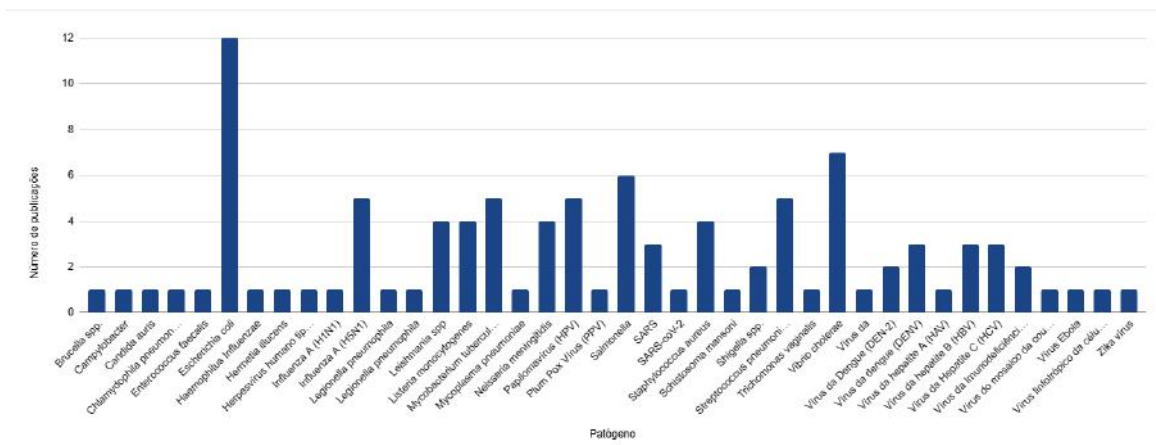
2007	DNA single-base mismatch study with an electrochemical enzymatic genosensor	Vírus SARS	Espanha	[34]
2007	<i>Escherichia coli</i> Genosensor Based on Polyaniline	<i>Escherichia coli</i>	Índia	[102]
2006	Genosensor on gold films with enzymatic electrochemical detection of a SARS virus sequence	Vírus SARS	Espanha	[35]
2005	Disposable Electrochemical Enzyme-Amplified Genosensor for <i>Salmonella</i> Bacteria Detection	<i>Salmonella</i>	Itália	[15]
2005	Genosensor Based on a Platinum(II) Complex as Electrocatalytic Label	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Espanha	[103]
2005	Label-Free Electrochemical Hybridization Genosensor for the Detection of Hepatitis B Virus Genotype on the Development of Lamivudine Resistance	Vírus da hepatite B (HBV)	Turquia	[22]
2004	Enzymatic Genosensor on Streptavidin-Modified Screen-Printed Carbon Electrodes	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Espanha	[14]
2003	PCR-Genosensor Rapid Test for Detecting <i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	Espanha	[16]
2001	Dot-blot amperometric genosensor for detecting a novel determinant of b-lactamase resistance in <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Espanha	[104]
1996	Development of a Genosensor for <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	EUA	[105]

Fonte: elaborado pela autora.

4.3 PATÓGENOS MAIS RECORRENTES NA LITERATURA

A figura 9 apresenta a recorrência de cada patógeno descrito no repositório de dados descritos no quadro 1 na seção 4.2.

Figura 9 - Recorrência de cada patógeno descrito no repositório de dados.



Fonte: elaborado pela autora.

Através da imagem gráfica obtida é possível notar que os estudos utilizando genossensores para a detecção de patógenos concentraram sua maior atenção para a detecção da *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa pertencente à família das Enterobacteriaceae, com formato bacilar, naturalmente encontrada no trato gastrointestinal humano. A presença de *Escherichia coli* (*E. coli*) é utilizada como um marcador potencial para diagnósticos de doenças e de veiculação hídrica que afetam os seres humanos. Alguns patótipos de *E. coli* podem causar diarreia, infecção do trato urinário, inflamação e peritonite [71]. Além deste, outros patógenos como *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Streptococcus pneumoniae* e o vírus da Influenza A (H5N1) receberam destaque comparado aos outros encontrados.

No quadro 2 é possível observar o número de publicações obtido para cada patógeno descrito no repositório de dados.

Quadro 2 - Número de publicações obtido para cada patógeno descrito no repositório de dados.

Patógeno	Número de publicações
<i>Alexandrium minutum</i>	1
<i>Brucella spp.</i>	1

<i>Campylobacter</i>	1
<i>Candida auris</i>	1
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	12
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1
<i>Hermetia illucens</i>	1
Herpesvírus humano tipo 5 (HHV-5)	1
Influenza A (H1N1)	1
Influenza A (H5N1)	5
<i>Legionella pneumophila</i>	1
<i>Legionella pneumophila</i>	1
<i>Leishmania spp</i>	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	4
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1
<i>Neisseria meningitidis</i>	4
Papilomavírus (HPV)	5
Plum Pox Vírus (PPV)	1
<i>Salmonella</i>	6
SARS	3
SARS-coV-2	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
<i>Schistosoma mansoni</i>	1
<i>Shigella spp.</i>	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1
<i>Vibrio cholerae</i>	7
Vírus da septicemia hemorrágica viral (VHSV)	1
Vírus da Dengue (DEN-2)	2
Vírus da dengue (DENV)	3
Vírus da hepatite A (HAV)	1
Vírus da hepatite B (HBV)	3
Vírus da Hepatite C (HCV)	3
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	2

Vírus do mosaico da couve-flor (CaMV)	1
Vírus Ebola	1
Vírus linfotrópico da célula T humana (HTLV-1)	1
Zika vírus	1
Total	102

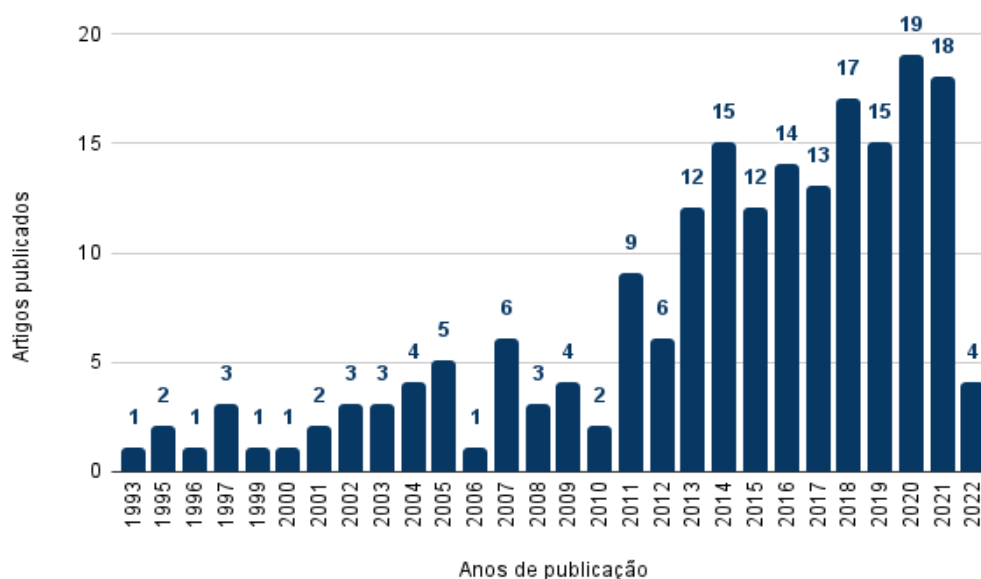
Fonte: elaborado pela autora.

4.4 TENDÊNCIAS DAS PESQUISAS SOBRE GENOSENSORES

4.4.1 Ano de publicação

A Figura 10 apresenta a distribuição do número de publicações ao longo dos anos (1993-2022) de modo a salientar a tendência no decorrer do tempo.

Figura 10 - Distribuição do número de publicações retornadas pelo Web of Science sobre genossensores ao longo dos anos (1993-2022).



Fonte: elaborado pela autora.

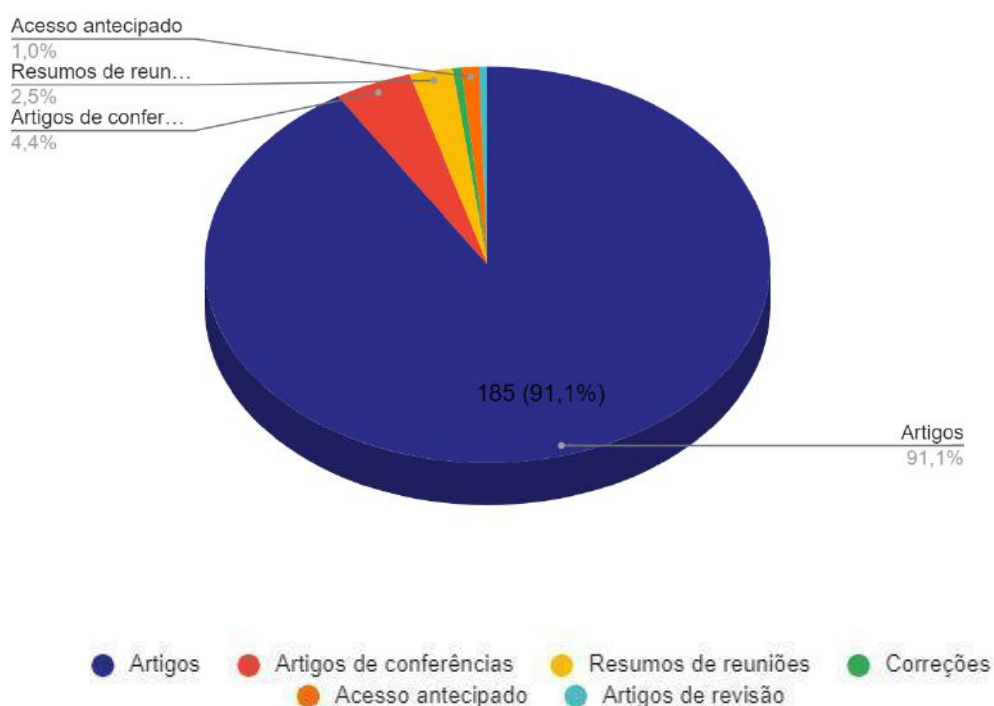
À primeira vista, fica evidente o aumento do número de publicações sobre o tema dos genossensores ao longo dos anos, o que pode ser atestado tanto pelo maior número de publicações apresentado pelos dois últimos anos mais recentes, sendo o maior número de publicações em 2020, quanto pela inexistência de publicações sobre esse tema no ano de 2000, onde a publicação realizada neste

ano tratava-se de uma revisão bibliográfica. De maneira geral, ao longo dos anos, o número de publicações manteve-se razoavelmente constante, o que sugere um aumento recente do interesse científico pelo uso de técnicas eletroanalíticas que envolvam genossensores. Um ponto a ser destacado sobre os anos de publicações correspondentes até o mês de fevereiro de 2022 é que somente quatro publicações tratavam sobre a utilização de genossensores para a detecção do vírus SARS. A Espanha foi o país responsável por três dessas publicações e somente o Irã, em 2021, publicou sobre o novo vírus que ocasionou a atual pandemia, o SARS-coV-2. O baixo volume de artigos relacionado a este patógeno nos remete a uma escassez de informações na literatura sobre essa aplicação específica, porém com elevado potencial promissor.

4.3.2 Tipos de documentos

A figura 11 apresenta a distribuição dos tipos de documentos durante os anos de 1993-2022.

Figura 11 - Distribuição dos tipos de documentos retornados pelo Web of Science sobre genossensores.



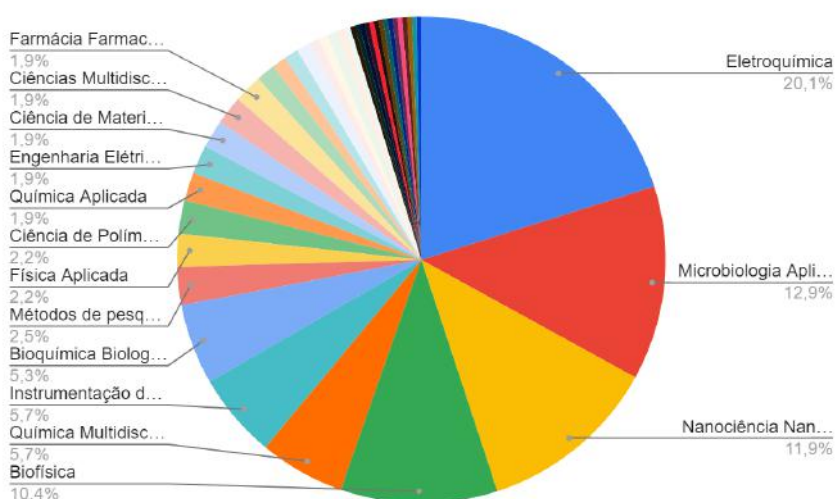
Fonte: elaborado pela autora.

De acordo com os dados obtidos, pode-se perceber que foram publicados 185 artigos sobre genossensores até fevereiro de 2022, correspondendo a 91,1%. O único artigo de revisão foi realizado em 2000.

4.3.3 Áreas de pesquisa

A figura 12 apresenta as áreas de pesquisas envolvendo os estudos de genossensores durante os anos de 1993-2022.

Figura 12 - Áreas de pesquisas retornados pelo Web of Science sobre genossensores.



Fonte: elaborado pela autora.

A figura 12 classifica os estudos avaliados em categorias de acordo com as áreas de pesquisa. Vale destacar que a área de estudos eletroquímicos representa a maior categoria. Além disso, é notável a crescente de estudos envolvendo cada vez mais a área da saúde e crescentes preocupações com novas técnicas de diagnósticos.

5 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Há poucas pesquisas envolvendo o uso de genossensores para a detecção do vírus SARS-coV-2. O baixo volume de artigos relacionado a este patógeno nos remete a uma escassez de informações na literatura sobre essa aplicação específica, porém com elevado potencial promissor.
- Estudos envolvendo a utilização de genossensores se apresentaram majoritariamente em países com menor IDH;
- Os ácidos nucleicos se apresentaram como elementos de reconhecimento promissores para aplicações analíticas, por permitirem a detecção da sequência específica de DNA, garantindo a identificação precisa de diferentes patógenos;
- O comprimento da fita de oligonucleotídeos demonstrou influência durante o evento de hibridização, afetando a sensibilidade. Além disso, experimentos com fitas cruzadas revelaram a importância de uma cauda oligonucleotídica na fita imobilizada para favorecer a mobilidade;
- As nanopartículas de ouro demonstraram propriedades únicas de imobilização de biomoléculas mantendo sua atividade biológica, como interfaces condutoras eficientes com capacidade eletrocatalítica e alta relação superfície-volume que as torna uma ferramenta poderosa para modificar materiais de eletrodos e construir novos biossensores;
- O ouro também oferece a possibilidade relevante de criar monocamadas de DNA automontadas;
- As técnicas eletroanalíticas deveriam ser mais exploradas objetivando um maior auxílio para as diferentes ferramentas de diagnósticos atualmente disponíveis, principalmente pensando a nível global de pandemias;
- Desde 1993 foram publicados 102 artigos para a detecção de patógenos utilizando genossensores.

Tendo em vista o número crescente de publicações sobre genossensores, fica comprovado o potencial e a importância de novas técnicas eletroanalíticas para a detecção de patógenos, principalmente pela recente problemática causada pela infecção do vírus SARS-coV-2, que resultou na terceira pandemia em grande escala nas últimas duas décadas. É de suma importância que o aprimoramento dos métodos de diagnósticos e aplicação para doenças infecciosas transmissíveis sejam realizados, a fim de proporcionar maior acesso de diagnósticos precoces à população para diferentes doenças com menor custo e maior confiabilidade.

REFERÊNCIAS

- [1] RONKAINEN, N. J.; HALSALL, H. B.; HEINEMAN, W. R. Electrochemical biosensors. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 5, p. 1747, 2010.
<https://doi.org/10.1039/B714449K>
- [2] KARUBE, I.; SUZUKI, S. Biosensor. **Journal of Synthetic Organic Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 227 - 233, 1982.
<https://doi.org/10.5059/yukigoseikyokaishi.40.227>.
- [3] STETTER, J.; PENROSE, W.; YAO, S. Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 150, n. 2, p. S11 - S16, 2003.
<https://doi.org/10.1149/1.1539051#>
- [4] FLAUZINO, J. et al. A Novel and Reusable Electrochemical Genosensor for Detection of Beef Adulteration. **Electroanalysis**, v. 33, p. 296 –303, 2021.
<https://doi.org/10.1002/elan.202060029>
- [5] PACHECO, W. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 4, p. 516 - 537, 2013.
<https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>
- [6] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2. Ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001. 833 p. ISBN: 978-0-471-04372-0.
- [7] FERRAZ, Bruno. **Desenvolvimento e validação de metodologias eletroanalíticas para determinação de fármacos antituberculose**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2016.
- [8] ALEIXO, Luiz Manoel. **Voltametria: Conceitos e Técnicas**. Chemkeys. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2003.
- [9] WANG, Y.; XU H.; ZHANG, J.; LI, G. Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. **Sensors (Basel)**. 2008 Mar 27;8(4):2043-2081. PMID: 27879810; PMCID: PMC3673406.
<http://doi.org/10.3390/s8042043>
- [10] LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, dez. 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600029>
- [11] RASOOLY, A. Biosensor technologies. **Methods**, v. 37, n. 1, p. 1–3, set. 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2005.05.004>

[12] KHAN, R. et al. Two-Dimensional Nanostructures for Electrochemical Biosensor. **Sensors**, v. 21, n. 10, p. 3369, 12 maio 2021.

<https://doi.org/10.3390/s21103369>

[13] MARTÍNEZ-PAREDES, G.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M.; COSTA-GARCÍA, A. Genosensor for SARS Virus Detection Based on Gold Nanostructured Screen-Printed Carbon Electrodes. **Electroanalysis**, v. 21, n. 3-5, p. 379–385, fev. 2009. <https://doi.org/10.1002/elan.200804399>

[14] HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M. B.; COSTA-GARCÍA, A. Genosensor Based on a Platinum(II) Complex as Electrocatalytic Label. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 2868–2874, 31 mar. 2005.

<https://doi.org/10.1021/ac048091w>.

[15] GIALLO, Maria et al. Disposable Electrochemical Enzyme-Amplified Genosensor for Salmonella Bacteria Detection. **Analytical Letters**, 38: 2509–2523, 2005, Itália.

<https://doi.org/10.1080/00032710500369687>.

[16] PIVIDORI, M. ISABEL et al. PCR-Genosensor Rapid Test for Detecting Salmonella. **Electroanalysis**, v. 15, n. 2324, p. 1815–1823, dez. 2003.

<https://doi.org/10.1002/elan.200302764>.

[17] WILLIAMS, E. et al. Rapid electrochemical genosensor assay using a streptavidin carbon-polymer biocomposite electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 19, n. 3, p. 165–175, nov. 2003.

[https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(03\)00171-4](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(03)00171-4)

[18] DE CASTRO, A. C. H. et al. A new genosensor for meningococcal meningitis diagnosis using biological samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 22, n. 8, p. 2339–2346, 22 mar. 2018.

<https://doi.org/10.1007/s10008-018-3940-0>.

[19] PANIEL, N. et al. Aptasensor and genosensor methods for detection of microbes in real world samples. **Methods**, v. 64, n. 3, p. 229–240, dez. 2013.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.07.001>.

[20] ABDALHAI, M. H. et al. Electrochemical Genosensor To Detect Pathogenic Bacteria (Escherichia coli O157:H7) As Applied in Real Food Samples (Fresh Beef) To Improve Food Safety and Quality Control. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 20, p. 5017–5025, 19 maio 2015.

<http://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00675>

[21] YE, K. et al. Development of a chemiluminescent DNA fibre optic genosensor to Hepatitis A Virus (HAV). **Talanta**, v. 174, p. 401–408, nov. 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.036>

[22] ARIKSOYSAL, D. et al. Label-Free Electrochemical Hybridization Genosensor for the Detection of Hepatitis B Virus Genotype on the Development of Lamivudine Resistance. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 15, 2005.

<http://doi.org/10.1021/ac050022>.

- [23] ULIANA, C. V. Diagnostic tests for hepatitis C: Recent trends in electrochemical immunosensor and genosensor analysis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 42, p. 15476, 2014.
<http://doi.org/10.3748/wjg.v20.i42.15476>.
- [24] MALECKA, K. et al. Ultrasensitive electrochemical genosensor for direct detection of specific RNA sequences derived from avian influenza viruses present in biological samples. **Acta Biochimica Polonica**, 22 ago. 2019.
https://doi.org/10.18388/abp.2019_2774.
- [25] LUCENA, R. P. et al. Impedimetric genosensor based on graphene nanoribbons for detection and identification of oncogenic types of human papillomavirus. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 96, n. 6, p. 1496–1503, 8 abr. 2021.
<http://doi.org/10.1002/jctb.6726>
- [26] GUEDES, P. H. G. et al. Ninhydrin as a novel DNA hybridization indicator applied to a highly reusable electrochemical genosensor for *Candida auris*. **Talanta**, v. 235, p. 122694, dez. 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122694>.
- [27] FARJAMI, E. et al. Off-On” Electrochemical Hairpin-DNA-Based Genosensor for Cancer Diagnostics. **Analytical Chemistry**, v. 83, p. 1594 – 1602, 2011.
<https://doi.org/10.1021/ac1032929l>.
- [28] SALAHANDISH, R. et al. Label-free ultrasensitive detection of breast cancer miRNA-21 biomarker employing electrochemical nano-genosensor based on sandwiched AgNPs in PANI and N-doped graphene. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 120, p. 129–136, nov. 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.025>.
- [29] SÁNCHEZ-SALCEDO, R. et al. Dual electrochemical genosensor for early diagnosis of prostate cancer through lncRNAs detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 192, p. 113520, nov. 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113520>.
- [30] LI, X. et al. Double determination of long noncoding RNAs from lung cancer via multi-amplified electrochemical genosensor at sub-femtomole level. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 113, p. 116–123, 15 ago. 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.04.062>.
- [31] CARR, O. et al. Genosensor made with a self-assembled monolayer matrix to detect MGMT gene methylation in head and neck cancer cell lines. **Talanta**, v. 210, p. 120609, abr. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120609>.
- [32] GARCIA-MELO, L. F. et al. Construction of an electrochemical genosensor based on screen-printed gold electrodes (SPGE) for detection of a mutation in the adenomatous polyposis coli gene. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 840, p. 93–100, maio 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.03.048>.

[33] FARZIN, L. et al. A nanoscale genosensor for early detection of COVID-19 by voltammetric determination of RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) sequence of SARS-CoV-2 virus. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 4, 10 mar. 2021.

<https://doi.org/10.1007/s00604-021-04773-6>.

[34] ABAD-VALLE, P.; FERNÁNDEZ-ABEDUL, M. TERESA.; COSTA-GARCÍA, A. DNA single-base mismatch study with an electrochemical enzymatic genosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, n. 8, p. 1642–1650, 15 mar. 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.07.015>.

[35] ABAD-VALLE, P.; FERNÁNDEZ-ABEDUL, M. T.; COSTA-GARCÍA, A. Genosensor on gold films with enzymatic electrochemical detection of a SARS virus sequence☆. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, n. 11, p. 2251–2260, 15 maio 2005.

<http://doi.org/10.1016/j.bios.2004.10.019>.

[36] LIU, R. et al. A sensitive and accurate fluorescent genosensor for Staphylococcus aureus detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 355, p. 131311, mar. 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131311>.

[37] SOHRABI, H. et al. A novel engineered label-free Zn-based MOF/CMC/AuNPs electrochemical genosensor for highly sensitive determination of Haemophilus Influenzae in human plasma samples. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 3, 24 fev. 2021.

<https://doi.org/10.1007/s00604-021-04757-6>.

[38] JAAPAR, F. N. et al. Designing DNA probe from HPV 18 and 58 in the E6 region for sensing element in the development of genosensor-based gold nanoparticles. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 5, p. 1966–1983, 12 out. 2021.

<https://doi.org/10.1002/bab.2260>.

[39] MOATTARI, G.; IZADI, Z.; SHAKHSI-NIAEI, M. Development of an electrochemical genosensor for detection of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) using glycoprotein (G) gene probe. **Aquaculture**, v. 536, p. 736451, abr. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736451>.

[40] SHAMSIPUR, M. et al. Development of an ultrasensitive electrochemical genosensor for detection of HIV-1 pol gene using a gold nanoparticles coated carbon paste electrode impregnated with lead ion-imprinted polymer nanomaterials as a novel electrochemical probe. **Microchemical Journal**, v. 160, p. 105714, jan. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105714>.

[41] MORAIS, S. L. et al. Electrochemical genosensor for the detection of Alexandrium minutum dinoflagellates. **Talanta**, v. 222, p. 121416, jan. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121416>.

- [42] JAVED, A. et al. Graphene Oxide Based Electrochemical Genosensor for Label Free Detection of Mycobacterium tuberculosis from Raw Clinical Samples. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 16, p. 7339–7352, nov. 2021.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S326480>.
- [43] ILBEIGI, S.; DEHDARI VAIS, R.; SATTARAHMADY, N. Photo-genosensor for Trichomonas vaginalis based on gold nanoparticles-genomic DNA. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 34, p. 102290, jun. 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102290>.
- [44] WU, C.-C. et al. A Label-Free Impedimetric Genosensor for the Nucleic Acid Amplification-Free Detection of Extracted RNA of Dengue Virus. **Sensors**, v. 20, n. 13, p. 3728, 3 jul. 2020.
<https://doi.org/10.3390/s20133728>.
- [45] NAZARI-VANANI, R.; HELI, H.; SATTARAHMADY, N. An impedimetric genosensor for Leishmania infantum based on electrodeposited cadmium sulfide nanosheets. **Talanta**, v. 217, p. 121080, set. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121080>.
- [46] MEHRI, P. et al. An innovative genosensor for the monitoring of Leishmania spp sequence using binding of pDNA to cDNA based on Cit-AgNPs. **Heliyon**, v. 6, n. 8, p. e04638, ago. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04638>.
- [47] DANISO, E.; MELPIGNANO, P.; TULLI, F. An OLED-based genosensor for the detection of Hermetia illucens in feeds. **Food Control**, v. 113, p. 107179, jul. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107179>.
- [48] TAMAYO, A. I. B. et al. Biotin self-assembled monolayer for impedimetric genosensor for direct detection of HIV-1. **Microchemical Journal**, v. 153, p. 104462, mar. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104462>.
- [49] SOARES, J. C. et al. Detection of HPV16 in cell lines deriving from cervical and head and neck cancer using a genosensor made with a DNA probe on a layer-by-layer matrix. **Materials Chemistry Frontiers**, v. 4, n. 11, p. 3258–3266, 2020.
<https://doi.org/10.1039/d0qm00530d>.
- [50] RAVINA et al. Genosensor for rapid, sensitive, specific point-of-care detection of H1N1 influenza (swine flu). **Process Biochemistry**, v. 98, p. 262–268, nov. 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.09.016>.
- [51] JAROENRAM, W. et al. Graphene-based electrochemical genosensor incorporated loop-mediated isothermal amplification for rapid on-site detection of Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 186, p. 113333, jul. 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113333>.

[52] CIFTCI, S. et al. The sweet detection of rolling circle amplification: Glucose-based electrochemical genosensor for the detection of viral nucleic acid. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 151, p. 112002, mar. 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.112002>.

[53] MAZLAN, N.-F. et al. Acrylic-based genosensor utilizing metal salphen labeling approach for reflectometric dengue virus detection. **Talanta**, v. 198, p. 358–370, jun. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.02.036>.

[54] JIANG, X. et al. Amperometric genosensor for culture independent bacterial count. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 299, p. 126944, nov. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126944>.

[55] MOBED, A. et al. An innovative nucleic acid based biosensor toward detection of Legionella pneumophila using DNA immobilization and hybridization: A novel genosensor. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 708–716, jul. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.05.027>.

[56] OLIVEIRA, D. A. et al. Carbon nanomaterial as platform for electrochemical genosensor: A system for the diagnosis of the hepatitis C in real sample. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 844, p. 6–13, jul. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.04.045>.

[57] DA FONSECA ALVES, R. et al. Novel electrochemical genosensor for Zika virus based on a poly-(3-amino-4-hydroxybenzoic acid)-modified pencil carbon graphite electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 296, p. 126681, out. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126681>.

[58] ZAREI-GHOBADI, M. et al. A genosensor for detection of HTLV-I based on photoluminescence quenching of fluorescent carbon dots in presence of iron magnetic nanoparticle-capped Au. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 22 out. 2018.

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-32756-w>.

[59] FERREIRA, F. P. et al. A novel polymer-based genosensor for the detection and quantification of Streptococcus pneumoniae in genomic DNA sample. **Polymer Engineering & Science**, v. 58, n. 8, p. 1308–1314, 8 set. 2017.

<https://doi.org/10.1002/pen.24707>.

[60] TONDRO, G. H.; DEHDARI VAIS, R.; SATTARAHMADY, N. An optical genosensor for Enterococcus faecalis using conjugated gold nanoparticles-rRNA oligonucleotide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 263, p. 36–42, jun. 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.02.097>.

[61] JAISWAL, N. et al. Electrochemical genosensor based on carboxylated graphene for detection of water-borne pathogen. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 275, p. 312–321, dez. 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.07.055>.

[62] SOARES, A. C. et al. Microfluidic-Based Genosensor To Detect Human Papillomavirus (HPV16) for Head and Neck Cancer. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 10, n. 43, p. 36757–36763, 8 out. 2018.
<https://doi.org/10.1021/acsami.8b14632>.

[63] NARANG, J. et al. Portable bioactive paper based genosensor incorporated with Zn-Ag nanoblooms for herpes detection at the point-of-care. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 2559–2565, fev. 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.146>.

[64] SINGHAL, C.; PUNDIR, C. S.; NARANG, J. A genosensor for detection of consensus DNA sequence of Dengue virus using ZnO/Pt-Pd nanocomposites. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 97, p. 75–82, nov. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2017.05.047>.

[65] MOURA-MELO, S. et al. A Quantitative PCR-Electrochemical Genosensor Test for the Screening of Biotech Crops. **Sensors**, v. 17, n. 4, p. 881, 18 abr. 2017.
<https://doi.org/10.3390/s17040881>.

[66] SINGHAL, C. et al. Impedimetric genosensor for detection of hepatitis C virus (HCV1) DNA using viral probe on methylene blue doped silica nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 84–93, maio 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.093>.

[67] SANTOS, G. S. et al. Impedimetric nanostructured genosensor for detection of schistosomiasis in cerebrospinal fluid and serum samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 137, p. 163–169, abr. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.01.031>.

[68] FRIAS, I. A. M. et al. Use of magnetically disentangled thiolated carbon nanotubes as a label-free impedimetric genosensor for detecting canine Leishmania spp. infection. **Carbon**, v. 117, p. 33–40, jun. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2017.02.031>.

[69] HELI, H. et al. An electrochemical genosensor for Leishmania major detection based on dual effect of immobilization and electrocatalysis of cobalt-zinc ferrite quantum dots. **Talanta**, v. 156-157, p. 172–179, ago. 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.065>.

[70] RAHI, A.; SATTARAHMADY, N.; HELI, H. An ultrasensitive electrochemical genosensor for Brucella based on palladium nanoparticles. **Analytical Biochemistry**, v. 510, p. 11–17, out. 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2016.07.012>.

[71] BHARDWAJ, H.; SOLANKI, S.; SUMANA, G. Electrophoretically deposited multiwalled carbon nanotube based amperometric genosensor for *E. coli* detection. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 704, p. 012007, abr. 2016.
<http://doi.org/10.1088/1742-6596/704/1/012007>.

- [72] NARANG, J. et al. Impedimetric genosensor for ultratrace detection of hepatitis B virus DNA in patient samples assisted by zeolites and MWCNT nano-composites. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 86, p. 566–574, dez. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.07.013>.
- [73] SAADAOU, M. et al. Label-free electrochemical genosensor based on mesoporous silica thin film. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 26, p. 7321–7327, 28 maio 2016. <http://doi.org/10.1007/s00216-016-9608-7>.
- [74] VIJIAN, D. et al. Non-protein coding RNA-based genosensor with quantum dots as electrochemical labels for attomolar detection of multiple pathogens. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 77, p. 805–811, mar. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2015.10.057>.
- [75] PATEL, M. K. et al. A Label-Free Photoluminescence Genosensor Using Nanostructured Magnesium Oxide for Cholera Detection. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 27 nov. 2015. <http://doi.org/10.1038/srep17384>.
- [76] LIEW, P. S. et al. Electrochemical genosensor assay using lyophilized gold nanoparticles/latex microsphere label for detection of *Vibrio cholerae*. **Talanta**, v. 139, p. 167–173, jul. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.02.054>.
- [77] KURZAŃKOWSKA, K. et al. Electrochemical Label-free and Reagentless Genosensor Based on an Ion Barrier Switch-off System for DNA Sequence-Specific Detection of the Avian Influenza Virus. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 19, p. 9702–9709, 22 set. 2015. <http://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01988>.
- [78] KASHISH, K. et al. Genosensor based on a nanostructured, platinum-modified glassy carbon electrode for *Listeria* detection. **Analytical Methods**, v. 7, n. 6, p. 2616–2622, 2015. <http://doi.org/10.1039/c5ay00167f>.
- [79] GRABOWSKA, I. et al. A highly sensitive electrochemical genosensor based on Co-porphyrin-labelled DNA. **Chem. Commun.**, v. 50, n. 32, p. 4196–4199, 2014. <http://doi.org/10.1039/c4cc00172a>.
- [80] DAS, R. et al. An electrochemical genosensor for *Salmonella typhi* on gold nanoparticles-mercaptopilane modified screen printed electrode. **Journal of Biotechnology**, v. 188, p. 9–16, out. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.08.002>.
- [81] DASH, S. K. et al. Carbon-Mercaptooctadecane/Carboxylated Multi-walled Carbon Nanotubes Composite Based Genosensor for Detection of Bacterial Meningitis. **Indian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 170–177, 27 out. 2013. <http://doi.org/10.1007/s12088-013-0435-7>.

- [82] SOTILLO, A. et al. Clinical evaluation of a disposable amperometric magneto-genosensor for the detection and identification of *Streptococcus pneumoniae*. **Journal of Microbiological Methods**, v. 103, p. 25–28, ago. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2014.04.014>.
- [83] PANDEY, C. M.; TIWARI, I.; SUMANA, G. Hierarchical cystine flower based electrochemical genosensor for detection of *Escherichia coli* O157:H7. **RSC Adv.**, v. 4, n. 59, p. 31047–31055, 2014.
<http://doi.org/10.1039/c4ra04511d>.
- [84] MALECKA, K. et al. Ion-Channel Genosensor for the Detection of Specific DNA Sequences Derived from Plum Pox Virus in Plant Extracts. **Sensors**, v. 14, n. 10, p. 18611–18624, 9 out. 2014.
<http://doi.org/10.3390/s141018611>.
- [85] HONORATO CASTRO, A. C. et al. Preparation of genosensor for detection of specific DNA sequence of the hepatitis B virus. **Applied Surface Science**, v. 314, p. 273–279, set. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.06.084>.
- [86] COSTA, M. P. et al. Self-assembled monolayers of mercaptobenzoic acid and magnetite nanoparticles as an efficient support for development of tuberculosis genosensor. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 433, p. 141–148, nov. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2014.07.014>.
- [87] BIFULCO, L.; INGIANNI, A.; POMPEI, R. An Internalin A Probe-Based Genosensor for *Listeria monocytogenes* Detection and Differentiation. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 640163, 2013.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/640163>.
- [88] PATEL, M. K. et al. Magnesium oxide grafted carbon nanotubes based impedimetric genosensor for biomedical application. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 50, p. 406–413, dez. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2013.07.006>.
- [89] YU, C. Y.; ANG, G. Y.; YEAN, C. Y. Multiplex electrochemical genosensor for identifying toxigenic *Vibrio cholerae* serogroups O1 and O139. **Chemical Communications**, v. 49, n. 20, p. 2019, 2013.
<http://doi.org/10.1039/c3cc39144b>.
- [90] DASH, S. K. et al. Omp85 genosensor for detection of human brain bacterial meningitis. **Biotechnology Letters**, v. 35, n. 6, p. 929–935, 8 mar. 2013.
<http://doi.org/10.1007/s10529-013-1161-2>.
- [91] DASH, S. K. et al. rmpM Genosensor for Detection of Human Brain Bacterial Meningitis in Cerebrospinal Fluid. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 171, n. 1, p. 198–208, 4 jul. 2013.
<http://doi.org/10.1007/s12010-013-0339-3>.

- [92] GRABOWSKA, I. et al. Single Electrode Genosensor for Simultaneous Determination of Sequences Encoding Hemagglutinin and Neuraminidase of Avian Influenza Virus Type H5N1. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 21, p. 10167–10173, 9 out. 2013.
<http://dx.doi.org/10.1021/ac401547h>.
- [93] CIVIT, L. et al. Electrochemical genosensor array for the simultaneous detection of multiple high-risk human papillomavirus sequences in clinical samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 715, p. 93–98, fev. 2012.
<http://doi.org/10.1016/j.aca.2011.12.009>.
- [94] LOW, K.-F. et al. Electrochemical genosensor for specific detection of the food-borne pathogen, *Vibrio cholerae*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 1699–1706, 18 dez. 2011.
<http://doi.org/10.1007/s11274-011-0978-x>.
- [95] WANG, H. et al. Fully Integrated Thermoplastic Genosensor for the Highly Sensitive Detection and Identification of Multi-Drug-Resistant Tuberculosis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 18, p. 4349–4353, 19 mar. 2012.
<http://dx.doi.org/10.1002/anie.201200732>.
- [96] PANDEY, C. M. et al. Electrochemical genosensor based on modified octadecanethiol self-assembled monolayer for *Escherichia coli* detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 151, n. 2, p. 333–340, 28 jan. 2011.
<http://doi.org/10.1016/j.snb.2010.07.046>.
- [97] MARTÍNEZ-PAREDES, G.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M. B.; COSTA-GARCÍA, A. Genosensor for detection of four pneumoniae bacteria using gold nanostructured screen-printed carbon electrodes as transducers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 149, n. 2, p. 329–335, ago. 2010.
<http://doi.org/10.1016/j.snb.2010.06.064>.
- [98] SOLANKI, P. R. et al. Nanostructured zirconium oxide based genosensor for *Escherichia coli* detection. **Electrochemistry Communications**, v. 11, n. 12, p. 2272–2277, dez. 2009.
<http://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.10.007>.
- [99] YEAN et al. Enzyme-Linked Amperometric Electrochemical Genosensor Assay for the Detection of PCR Amplicons on a Streptavidin-Treated Screen-Printed Carbon Electrode. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 8, p. 2774–2779, 1 mar. 2008.
<http://doi.org/10.1021/ac702333x>.
- [100] TIKUNOVA, N. V. et al. A computational-experimental approach to designing a polyfunctional genosensor derived from the *Escherichia coli* Gene *yfiA* promoter. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v. 417, n. 1, p. 357–361, dez. 2007.
<http://doi.org/10.1134/S1607672907060191>.

[101] FARABULLINI, F. et al. Disposable electrochemical genosensor for the simultaneous analysis of different bacterial food contaminants. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 22, n. 7, p. 1544–1549, fev. 2007.
<http://doi.org/10.1016/j.bios.2006.06.001>.

[102] ARORA, K. et al. *Escherichia coli* Genosensor Based on Polyaniline. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 16, p. 6152–6158, 14 jul. 2007.
<http://doi.org/10.1021/ac070403i>.

[103] HERNÁNDEZ-SANTOS, D.; GONZÁLEZ-GARCÍA, M. B.; COSTA-GARCÍA, A. Genosensor Based on a Platinum(II) Complex as Electrocatalytic Label. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 2868–2874, 31 mar. 2005.
<http://doi.org/10.1021/ac048091w>.

[104] PIVIDORI, M.; MERKOÇI, A.; ALEGRET, S. Dot-blot amperometric genosensor for detecting a novel determinant of b-lactamase resistance in *Staphylococcus aureus*. **Analyst**, v. 126, p. 1551 – 1557. 2001.
<http://doi.org/110.1039/b101477n>.

[105] ISOLA, N. et al. **Development of a Genosensor for Mycobacterium tuberculosis**. SPIE, vol. 2676, 1996.