

ANÁLISE DE DESEMPENHO DE AGENTES DE BLOQUEIO EM IMUNOSSENSOR ELETROQUÍMICO PARA DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE

GABRIEL SAN MARTINS KUNDE¹; EDUARDA PEREIRA SOARES DIAS²;
NATASHA RODRIGUES DE OLIVEIRA³; NEFTALÍ LENIN VILLARREAL
CARREÑO⁴; THAIS LARRÉ OLIVEIRA BOHN⁵; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - sanmartinskundegabriel@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - eduardapdias@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - oliveira_natasha@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - neftali@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - thais.larreoliveira@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - odirad@ufpel.edu.br

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

A leptospirose é uma doença zoonótica negligenciada e de alta prevalência a nível mundial. Causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, sua transmissão ocorre principalmente pelo contato com água ou solo contaminado por urina de animais infectados, como roedores, e é favorecida por condições de enchentes e saneamento básico precário (HAAKE, D. A.; LEVETT, P.N., 2014). No Brasil, 3.792 pessoas foram afetadas e 346 morreram em decorrência da infecção por *Leptospira* spp. patogênicas em 2024 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2025), esse dado foi inflacionado em função das grandes enchentes que afetaram o Rio Grande do Sul no período.

O diagnóstico, especialmente precoce, é uma das estratégias para reduzir a subnotificação e prevenir os surtos de leptospirose. Atualmente, o teste de aglutinação microscópica (MAT) é considerado pela OMS o método de referência para o diagnóstico da leptospirose. Contudo, o MAT apresenta limitações: requer manutenção de cepas vivas de *Leptospira*, infraestrutura laboratorial especializada, profissionais treinados e tempo considerável para execução e interpretação (MUSSO, D.; LA SCOLA, B., 2013). Essas limitações têm impulsionado a busca por novas tecnologias diagnósticas que combinem rapidez, sensibilidade e portabilidade (*point-of-care*), permitindo o seu uso em ambientes de poucos recursos e em situações de surtos.

Entre essas tecnologias, destacam-se os imunossensores eletroquímicos, que baseiam-se na interação antígeno-anticorpo (MALHOTRA, B. D.; ALI, MD. A., 2018). Durante a leitura, o processo de transdução do sinal elétrico ocorre por reações de oxirredução (redox). Técnicas eletroquímicas, como a voltametria de pulso diferencial (DPV), permitem monitorar variações de corrente e potencial gerando perfis eletroquímicos que refletem a presença e a concentração do alvo analítico.

Para o funcionamento eficaz de um imunossensor, a etapa de bloqueio é fundamental, pois previne ligações inespecíficas e minimiza o ruído de fundo. Comumente, usa-se a albumina sérica bovina (BSA) como agente bloqueador físico. No entanto, este trabalho explora outras duas alternativas: o leite desnatado (SKI), um bloqueador proteico de baixo custo, e a glicina, que atua quimicamente ao reagir com grupos ativos promovendo maior especificidade. Mediante a importância da leptospirose globalmente e a necessidade do desenvolvimento de novos métodos para seu diagnóstico, este trabalho visa

avaliar o desempenho de diferentes agentes de bloqueio (BSA, SKI e glicina), essenciais para o aumento da acurácia de biossensores eletroquímicos, em um imunossensor *point-of-care* inovador para diagnóstico da leptospirose.

2. ANÁLISE DE MERCADO

Esse trabalho traz três opções de agente de bloqueio que otimizem o diagnóstico da leptospirose, suprimindo uma lacuna no setor nacional, visto que biossensores similares são de origem asiática (Índia e Tailândia). Além disso, tecnologias semelhantes demandam mais insumos para seu desenvolvimento quando comparadas ao imunossensor aqui proposto e requerem um longo período de tempo para as análises. Neste produto, busca-se uma análise rápida e *point-of-care*, com alta sensibilidade e especificidade promovida em parte pelo uso de agentes de bloqueio efetivos.

O público-alvo do imunossensor são: (1) profissionais do setor agropecuário e da (2) área da saúde que tem o intuito de monitorar a ocorrência de casos de leptospirose de forma rápida e *in loco*; (3) órgãos do governo (Secretaria de Vigilância em Saúde - MS, secretarias de saúde e do meio ambiente estaduais e municipais); (4) empresas de frigorífico para que haja um monitoramento constante e eficaz de seus produtos; (5) empresas de tratamento de água que buscam se certificar da qualidade microbiológica da água e (6) empresas de biotecnologia e de monitoramento ambiental que procuram soluções eficientes e seguras para o desenvolvimento de seus produtos e serviços.

O espaço no mercado para esta nova tecnologia é amplo e com tendência de crescimento, devido ao aumento da população afetada pela leptospirose e da demanda por testes *point-of-care* de baixo custo. Isso ocorre por conta do aumento da ocorrência de desastres climáticos extremos, como enchentes, causados pelas mudanças climáticas. O TAM engloba o mercado global de biossensores, avaliado em US\$ 55,78 bilhões para 2032. O SAM foca no mercado de biossensores com base em *point-of-care*, avaliado em US\$ 28,6 bilhões para 2033. O SOM abrange os biossensores para diagnóstico *point-of-care* de doenças infecciosas, estimado em US\$ 12,46 bilhões até 2030 (FORTUNE BUSINESS INSIGHTS, 2025).

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

O modelo de negócios baseia-se na produção e comércio dos biossensores para o diagnóstico de leptospirose. Por meio de vendas para setores de empresas mencionados no item anterior (modelo B2B). Em termos de precificação, estima-se que o valor unitário para a produção do sensor seja de: R\$ 2,24 reais. No que se refere à propriedade intelectual, o imunossensor ainda não possui registro, está em trâmite, sendo o próximo passo a realização do depósito junto ao INPI. Entendemos também a possibilidade de depósito em outros países, por meio do Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (PCT), a fim de possuir exclusividade comercial em outros países fora do Brasil.

O imunossensor desenvolvido foi caracterizado por técnicas eletroquímicas, tendo seu limite de detecção (LOD) determinado tanto em amostras contendo apenas o analito quanto em amostras de *Leptospira* sp. patogênica, além de ter sido avaliado frente a espécies interferentes. Dentre as etapas de produção, destaca-se a fabricação dos sensores, a funcionalização com o ligante de superfície e bioreceptor, sendo posteriormente bloqueados com diferentes

agentes. Após essa etapa, ocorre a análise eletroquímica por voltametria de pulso diferencial (DPV) no equipamento AUTOLAB da Metrohm. Após a coleta dos dados gerados pelo equipamento, realizam-se as análises dos dados pelo *software* Origin. Atualmente, a inovação encontra-se em TRL 4, pois o imunossensor já foi testado em condição de laboratório com amostras similares às reais.

O obstáculo majoritário será o registro do produto nos órgãos regulatórios, como a ANVISA, devido ao longo tempo de aprovação, ainda mais se tratando de uma tecnologia pouco estabelecida e pelo alto custo. No entanto, possíveis parcerias públicas-privadas podem auxiliar nesse quesito.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

O imunossensor descrito possui potencial de facilitar e ampliar o diagnóstico da leptospirose no Brasil. Os impactos sociais e ambientais esperados após uso do imunossensor estão associados aos ODS da ONU (Agenda 2030), sendo alguns deles: (1) aumento da testagem de amostras humanas, animais e ambientais para leptospirose (ODS 3, 6 e 15); (2) redução de custos de métodos convencionais (ODS 9); (3) equidade no acesso ao diagnóstico (ODS 10).

Nas análises obtidas (Figura 1), em relação aos sensores bloqueados com SKI, conforme houve o aumento da concentração, a corrente máxima também aumentou. Desse agente, observou-se a baixa corrente média do sensor bloqueado com SKI 1% (39,3 uA), em comparação ao grupo contendo o ligante de superfície (99 uA) e o grupo contendo o bioreceptor (99 uA), indicando que houve o bloqueio da superfície do sensor de maneira eficiente e que o mesmo obteve o melhor desempenho em relação aos demais. Esse resultado é diferente de alguns outros encontrados na literatura, em que o SKI 5% demonstrou melhor desempenho como agente de bloqueio em biossensores para diagnóstico de leptospirose (JAMPASA et al., 2019). Esse trabalho traz a inovação do uso da glicina como agente de bloqueio, visto que sua utilidade para o diagnóstico da leptospirose ainda não havia sido relatada. O sensor bloqueado com GLI 5% apresentou resultados consideravelmente melhores que o com BSA 1%, agente comumente usado para bloqueio desses biossensores.

A fim de que a inovação possa evoluir e ser escalada futuramente, almeja-se o aumento da produção, visando o mercado exterior, principalmente as regiões endêmicas, suprimindo as demandas locais pelo produto e as necessidades mundiais.

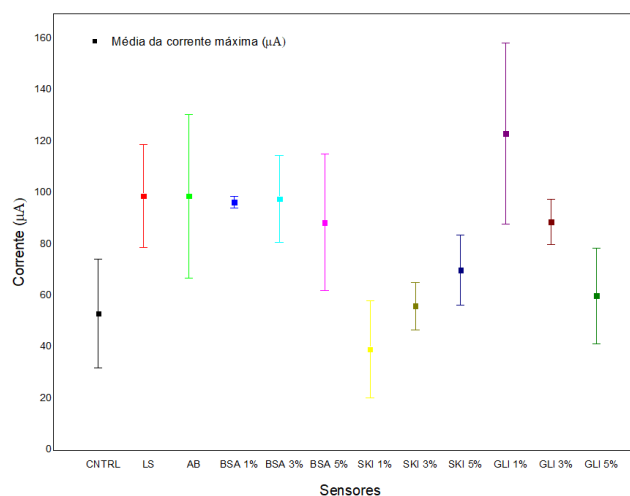


Figura 1. Voltametria de pulso diferencial para análise de desempenho de diferentes agentes de bloqueio em biossensor eletroquímico para diagnóstico da leptospirose. Os resultados representam a média e desvio padrão dos grupos CNTRL, LS e AB (n= 9 sensores cada), e dos agentes de bloqueio albumina sérica bovina (BSA), leite desnatado (SKI) ou glicina (GLI) (n= 3 sensores cada).

5. CONCLUSÕES

Este trabalho testou três agentes de bloqueio a fim de otimizar o desempenho de um imunossensor para o diagnóstico da leptospirose em amostras humanas, animais e ambientais. Através dos dados obtidos, pode-se constatar que o SKI 1% foi o agente de bloqueio que obteve o melhor desempenho nesse estudo.

Mediante a elevação dos casos de leptospirose globalmente e a necessidade do desenvolvimento de um teste *point-of-care*, é interessante o estabelecimento de parcerias com o setor público-privado para investir na solução, produzir em larga escala e difundir o produto para diversos setores da indústria.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASOS CONFIRMADOS DE LEPTOSPIROSE -Brasil, UF e Regiões. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leptospirose/situacao-epidemiologica/casos-e-obitos-2000-a-2024.pdf>>.

HAAKE, D. A.; LEVETT, P. N. Leptospirosis in Humans. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 387, n. 25388133, p. 65–97, 12 nov. 2014.

Infectious Disease Point-of-care [POC] Diagnostics Market Size. Disponível em: <<https://www.fortunebusinessinsights.com/infectious-disease-point-of-care-poc-diagnostics-market-104307>>. Acesso em: 13 ago. 2025.

JAMPASA, S. et al. Electrochemical immunosensor based on gold-labeled monoclonal anti-LipL32 for leptospirosis diagnosis. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 142, p. 111539–111539, 1 out. 2019.

MALHOTRA, B. D.; ALI, MD. A. Nanomaterials in Biosensors. **Nanomaterials for Biosensors**, p. 1– 74, 2018.

MUSSO, D.; LA SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 46, n. 4, p. 245–252, ago. 2013.