

Avaliação de dispositivos de papel e microssistemas eletroforéticos para detecção de analitos clinicamente relevantes na lágrima.

Ellen F.M. Gabriel¹ (PG), Cyro L.S. Chagas¹ (PG), Paulo de T. Garcia¹ (PG) e Wendell K.T. Coltro^{1*} (PQ)

¹Grupo de Métodos Eletroforéticos, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, Brasil.

*wendell@ufg.br

Palavras-Chave: Bioanalítica, eletroforese, detecção condutométrica sem contato, dispositivos microfluidicos.

Introdução

O fluido lacrimal é a camada aquosa sobre a superfície ocular que tem funções importantes como defesa, lubrificação e nutrição da córnea. A lágrima é composta por mais de 20 componentes entre sais minerais, proteínas, glicose e alguns íons metálicos [1]. Essa matriz complexa tem sido explorada para monitorar algumas mudanças patofisiológicas. Além disso, o interesse nesse fluido está relacionado à facilidade da coleta, uma vez que se trata de um método não invasivo [1]. No entanto, uma das principais dificuldades é o baixo volume de amostra e a faixa de concentração de alguns destes analitos. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o uso de dispositivos analíticos fabricados em papel e também de microssistemas eletroforéticos (MSE) para detecção de glicose, Na⁺ e K⁺ em amostras de lágrima.

Resultados e Discussão

O ensaio para determinação da concentração de glicose foi realizado em dispositivos analíticos carimbados em papel (Fig. 1A) [2], os quais foram modificados quimicamente com quitosana [3]. Essa modificação teve como intuito melhorar a sensibilidade da detecção colorimétrica realizada pela captura de imagens com *scanner* de bancada. A análise de Na⁺ e K⁺ foi realizada em MSE fabricados em poli(metilmetacrilato) (PMMA) e acoplados com detecção condutométrica sem contato (C⁴D) [4], como representado na Fig. 1B.

A glicose é um dos analitos responsáveis pela nutrição da córnea e estudos recentes tem demonstrado que o aumento dos níveis de glicose plasmática está relacionado com o aumento correspondente na lágrima [1]. A concentração de glicose foi determinada através de ensaios colorimétricos baseado em uma reação enzimática na presença da mistura dos cromógenos 4-aminoantipirina/diclorohidroxibenzeno sulfonato (4-AAP/DHBS). Nesse ensaio, observou-se uma variação na cor gerada na zona da detecção de incolor para magenta (Fig. 1C). O limite de detecção (LD) para glicose obtido com essa metodologia foi igual a 21 µmol/L. Com o uso dos dispositivos de papel, a lágrima foi analisada diretamente sem qualquer diluição. A concentração de glicose encontrada foi igual a 0,20 ± 0,01 mmol/L.

Os íons Na⁺ e K⁺ são responsáveis pelo controle da pressão osmótica ocular. As concentrações de Na⁺ e K⁺ determinadas através do uso de MSE com C⁴D foram iguais a 101,4 ± 0,1 e 20,8 ± 0,1 mmol/L, respectivamente. Conforme apresentado na Fig. 1D, os dois íons foram analisados em aproximadamente 2 min na presença do íon Li⁺ como padrão interno (PI), o qual assegurou melhor reprodutibilidade e confiabilidade na análise. Para os ensaios nos MSE, a amostra de lágrima foi diluída 1000x e devido à diferença de concentração, outros íons presentes (Ca²⁺ e Mg²⁺) não foram detectados com a metodologia utilizada. Os LD's obtidos para os íons ficaram na faixa entre 3 e 5 µmol/L.

Conclusões

Os dispositivos de papel e os MSE acoplados com C⁴D demonstraram potencialidade para análise de analitos clinicamente relevantes em amostras de lágrima. Especialmente na análise de glicose, é importante ressaltar que o LD obtido com a metodologia proposta é aproximadamente 10x menor que os melhores valores já reportados na literatura com detecção colorimétrica. Esse avanço abre novas prospecções para investigação de outros analitos como lactato e lisozima nesse fluido.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, INCTBio e FAPEG.

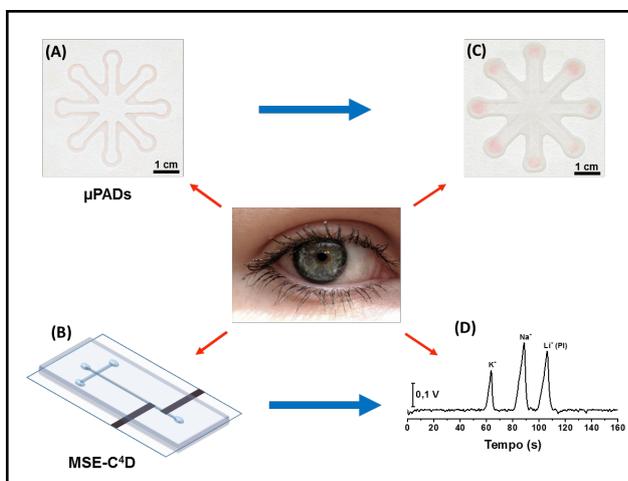


Figura 1. Representação (A) do dispositivo microfluidico carimbado em papel, (B) do MSE de PMMA contendo canal de separação com comprimento de 87 mm, largura/profundidade de 50 µm, (C) do ensaio colorimétrico para detecção de glicose e (D) do eletroferograma para detecção de K⁺ e Na⁺ na lágrima usando Li⁺ como padrão interno (PI).

¹Cha, K. H.; *et. al. Anal. Chem.* **2014**, *86*, 1902.

² Garcia, P.T.G.; *et. al. RSC Advances* **2014**, *4*, 37637.

³ Liu, W.; *et. al. Anal. Chem.* **2013**, *85*, 10270.

⁴ Kubáň, P.; *et. al. Electrophoresis* **2005**, *26*, 3169.