

## Ensaio bioanalítico em microchips de poliéster-toner

Naiara R. Lopes<sup>1,2,\*</sup> (IC), Lunara T. Silva<sup>1,2</sup> (IC), Cristina R. de Oliveira<sup>3</sup> (PG), Thaynara S. Garcia<sup>1,2</sup> (IC), Priscilla M. Loze<sup>1,2</sup> (IC), Lucimeire A. da Silveira<sup>3</sup> (PQ) e Wendell K. T. Coltro<sup>1,2</sup> (PQ)

\*E-mail: nrl\_quimica@hotmail.com

<sup>1</sup>Instituto de Química – Universidade Federal de Goiás – Goiânia/GO

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica (INCTBio), Campinas/SP

<sup>3</sup>Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) – Universidade Federal de Goiás – Goiânia/GO

**Palavras Chave:** análises clínicas, bioanalítica, microchips descartáveis, toner.

### Introdução

A fabricação dos dispositivos microfluídicos a partir do processo de impressão direta oferece inúmeras vantagens relacionadas ao tempo de fabricação, à instrumentação requerida bem como ao custo final dos dispositivos [1].

O presente trabalho teve como objetivo demonstrar a aplicabilidade bioanalítica dos dispositivos fabricados em poliéster-toner (PT). Neste ínterim, testes ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) foram realizados usando-se uma leitora convencional de placas ELISA.

### Experimental

Os dispositivos foram fabricados a partir do processo de impressão direta, usando-se um layout constituído de 96 reservatórios distribuídos em 12 colunas e 8 linhas. O layout foi desenhado no programa Corel Draw v. 11 e impresso em uma folha de transparência com uma impressora a laser policromática (1200 dpi).

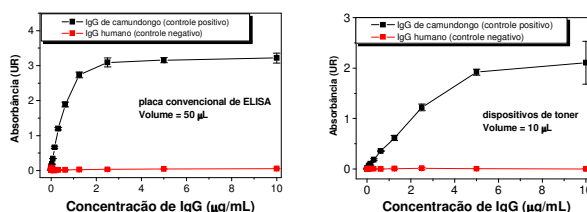
Para avaliar a aplicabilidade do teste ELISA nos microchips de PT, utilizou-se uma metodologia adaptada da referência 2. Resumidamente, a superfície do filme de poliéster foi sensibilizada com anticorpos IgG de camundongos (para o controle positivo) e IgG humano (para o controle negativo). O bloqueio foi realizado com PBS-T e leite mólico desnatado 5%. Após o bloqueio, adicionou-se o conjugado anti-IgG de camundongo, marcado com peroxidase, e incubou-se por 1 hora a 37 °C. Para promover a coloração, adicionou-se uma solução de substratos cromogênicos (ortofenilenodiamina, OPD, e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), deixando o dispositivo incubado por 30 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas a 492 nm.

### Resultados e Discussão

A fim de comparar o perfil de respostas no microchip e na placa comercial foram construídas curvas de absorbâncias em função da concentração do IgG. É importante mencionar que na placa convencional de ELISA o volume de amostra foi igual a 50 µL. No entanto, nos dispositivos de toner, o volume foi de 10 µL. Para os ensaios comparativos, utilizou-se o procedimento de ELISA direto, sensibilizando a placa (e o microdispositivo)

com diferentes concentrações conhecidas do anticorpo de camundongo. Conforme apresentado na Figura 1, o perfil das curvas, tanto da placa comercial de ELISA, como dos microchips foi similar.

No entanto, é notório que a sensibilidade nos dispositivos de toner é inferior às placas convencionais. Isso se deve principalmente às diferenças na área superficial bem como no comprimento do caminho óptico.



**Figura 1.** Leituras de absorbância para os testes ELISA realizados em placas convencionais (comerciais) e nos dispositivos de toner.

Além dos testes ELISA, outros fatores foram estudados como o volume de amostra adicionado (5–40 µL), o diâmetro (5–9 mm) dos reservatórios (ou zonas) bem como a espessura da linha (0,5–1,0 mm) de toner, que define a região das zonas (ou poços) de análise.

### Conclusões

A partir dos resultados apresentados, pode-se concluir que a inserção dos microchips de toner em instrumentos comerciais, comumente utilizados para diagnósticos clínicos, é perfeitamente viável, assim pode-se eliminar o uso de placas comerciais (R\$ 10,00/unidade). O sistema proposto é bastante atrativo uma vez que o custo é significativamente reduzido (< R\$ 0,10), o processo de fabricação é simples e rápido (2-3 min) e o volume necessário para os ensaios é pequeno, da ordem de 5-20 µL.

### Agradecimentos

Ao CNPq, pelo auxílio pesquisa (processo no. 477067/2010-7).

<sup>1</sup>Coltro, W.K.T.; de Jesus, D.P.; da Silva, J.A.F.; do Lago, C.L.; Carrilho, E. *Electrophoresis* **2010**, *31*, 2487.

<sup>2</sup>Cheng, C.M.; Martinez, A.W.; Gong, J.L.; Mace, C.R.; Phillips, S.T.; Carrilho, E.; Mirica, K.A.; Whitesides, G.M. *Angew. Chem.* **2010**, *49*, 4771.