



Mestrado Integrado em Eng. BIOMÉDICA e Eng. FÍSICA

UC – BIOSSENSORES

Cap4 – Fatores de Desempenho



Factores de Desempenho

À medida que uma nova técnica é desenvolvida, é necessário estabelecer, tão rápido quanto possível, os critérios pelos quais o seu desempenho pode ser medido.

Estes critérios devem ser refinados continuamente à medida que as expectativas aumentam.

Isto é especialmente verdade para um dispositivo que contém material biológico.



Factores de Desempenho

Da validação de um método em laboratório, até à sua distribuição comercial de tal modo que seja fiável nas mãos de qualquer pessoa, ainda é um longo caminho.

Critérios necessários para fixar o desempenho de um biossensor:



Factores de Desempenho

Selectividade:

Este factor é fundamental porque o biossensor deve ter uma elevada afinidade para um único componente de interesse analítico e, assim, conseguir relacionar o sinal com a concentração do composto a analisar com total confiança.



Factores de Desempenho

Sensibilidade:

Este factor manifesta-se na variação do sinal por unidade de concentração do composto a analisar e na razão dos sinais da amostra e ruído (linha de base), que determina, por sua vez, o **limite de detecção do biossensor**.

Por exemplo um biossensor electroquímico pode medir analitos de concentrações $\approx 10^{-6}\text{M}$ (suficiente para glucose, ureia, colesterol, abuso de drogas, e para a maior parte das moléculas).

Contudo, estes biossensores têm dificuldades em medir concentrações de 10^{-9}M (necessário para hormonas e alguns componentes do soro sanguíneo).



Factores de Desempenho

Gama

Gama Linear

O sinal medido, nas diferentes amostras, deverá ser proporcional à quantidade da variação da propriedade fisico-química resultante da reacção enzimática, mas principalmente não deve ser afectado por histerese.



Factores de Desempenho

Rapidez:

- Tempo de resposta
- Tempo de recuperação
- Tempo de vida

Um tempo lento pode afectar drasticamente o intervalo ou gama de resposta da aplicação e, inclusivamente, limitar o seu uso em monitorização ou detecção de um composto em tempo real.



Factores de Desempenho

Estabilidade:

O biossensor deve ter uma elevada estabilidade, tanto de armazenagem como operacional, pois são os factores mais importantes para o custo efectivo de fabrico de um biossensor enzimático.

Reprodutibilidade:

O biossensor deve poder ser reutilizado inúmeras vezes, para minimizar os custos de fabrico. Para além disso, a utilização repetitiva do mesmo agente biológico geralmente assegura que amostras semelhantes dão respostas similares.

De fácil manuseamento

Custo:

Barato (de fácil fabrico): o verdadeiro teste para um biossensor ser competitivo com as técnicas tradicionais é o seu custo por teste.



Factores de Desempenho

Exemplos: Biossensores utilizados para ureia, glucose, ácido úrico e amino-ácidos

Type	Enzyme ^a	Sensor ^b	Stability	Response time (min)	Range (M)
Urea	Urease (25 U)	Cation (P)	3 weeks	0.5–1	10^{-1} – 5×10^{-5}
Urea	Urease (75 U)	Cation (P)	4 months	1–2	10^{-2} – 10^{-4}
Urea	Urease (100 U)	pH (P)	3 weeks	5–10	5×10^{-2} – 5×10^{-5}
Urea	Urease (10 U)	Gas (NH ₃)(C)	4 months	2–4	5×10^{-2} – 5×10^{-5}
Urea	Urease (25 U)	Gas (CO ₂)(P)	3 weeks	1–2	10^{-2} – 10^{-4}
Glucose	GOD (100 U)	pH (D)	1 week	5–10	10^{-1} – 10^{-3}
Glucose	GOD (10 U)	Iodide (C)	> 1 month	2–8	10^{-3} – 10^{-4}
L-Amino acids					
General	L-AA oxidase	Cation (P)	2 weeks	1–2	10^{-2} – 10^{-4}
		Iodide (C)	> 1 month	1–3	10^{-3} – 10^{-4}
L-Tyrosine	L-Tyrosine carboxylase	Gas (CO ₂) (P)	3 weeks	1–2	10^{-1} – 10^{-4}
L-Glutamine	Glutaminase	Cation (D)	2 days	1	10^{-1} – 10^{-4}
L-Glutamic acid	Glutamate dehydrogenase	Cation (D)	2 days	1	10^{-1} – 10^{-4}
L-Asparagine	Asparaginase	Cation (P)	1 month	1	10^{-2} – 5×10^{-5}
D-Amino acids					
General	D-AA oxidase	Cation (P)	1 month	1	10^{-2} – 5×10^{-5}
Penicillin	Penicillinase				
	(400 U)	pH (P)	1–2 weeks	0.5–1	10^{-2} – 10^{-4}
	(1000 U)	pH (D)	3 weeks	2	10^{-2} – 10^{-4}
Amygdalin	β -Glucooxidase	Cyanide (P)	3 days	10–20	10^{-2} – 10^{-5}
Nitrate	Nitrate reductase	Ammonium (D)	1 day	2–3	10^{-2} – 10^{-4}

^aU, units of enzyme (urease) activity.

^bP, physical entrapment in polyacrylamide gel; C, covalent bonding with glutaraldehyde and albumin to poly(acrylic acid) (or acrylamide), followed by physical entrapment; D, dissolution.



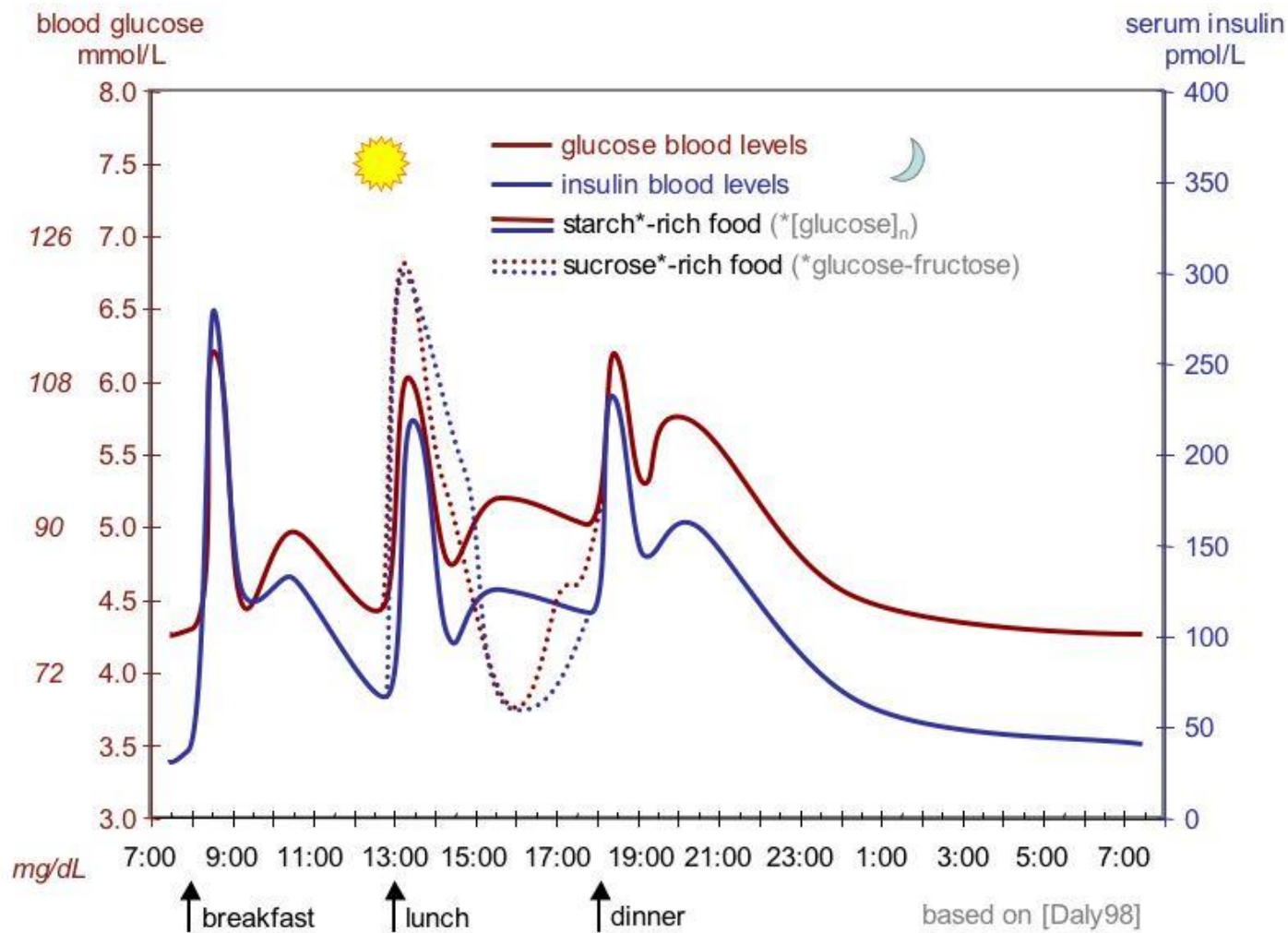
Factores de Desempenho

Comparação dos factores de desempenho de alguns biossensores de glucose.

DISCUSSÃO

Type	System	Range	Response time (min)	Lifetime
<i>Glucorecorder</i> (Analytical Instrument, Japan)	GOD-O ₂	0–5 mM (±2%)	0.5	—
<i>Radelkhis</i> (Hungary)	OP-G1–7113-S	1.7–2.0 mM (±5%)	1.5	8 months
<i>Yellow Springs Instruments, Model 23A</i> (USA)	GOD-H ₂ O ₂	1.0–45.0 mM (±2%)	1.5	300 samples
<i>Glukometer, GKM01</i> (ZWG Academy of Sciences, Germany)	GOD-H ₂ O ₂	0.5–50 mM (±1.5%)	0.7–1	1000 samples
<i>Glucose Analyser 5410</i> (Hofmann-LaRoche, Switzerland)	GOD-[Fe(CN) ₆] ³⁻	2.5–27.5 mM (±1.5%)	1	8 weeks
<i>ExacTech</i> (Medisense, UK)	GOD-ferrocene	1–30 mM (±1%)	0.5	> 1 year
	GOD-TTF-TCNQ	0.5–20 mM	—	100 days
	GDH-PQQ	1–70 mM	< 0.3	8 h
	Con A-fluorescent dextran (optode)	2.0–25 mM (±0.5%)	—	15 days
	Hexakinase-bacterial luciferase-ATP	2–100 pmol	—	—
	Hexokinase-O ₂ -thermistor	0.5–25 mM (±0.6%)	1.5	—





Factores de Desempenho

Alguns factores que afectam os factores de desempenho dos biossensores:

Quantidade da enzima
não são consumidas
transporte de massa

Método de imobilização

pH ou buffer



Biossensores

Quais são os principais factores a considerar quando se projecta um novo biossensor?

Algun critério especial para a aplicação

Tomar decisões sobre o elemento selectivo

Seleccionar o transdutor

Decidir o método de imobilização

Quais os factores de desempenho necessários

Fabrico do dispositivo

Operação do biossensor

Testar o biossensor

