



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA MECÂNICA

DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTA COM  
ARRANJO GEOMÉTRICO EQUIDISTANTE, PARA  
DETECÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NO  
DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS

Matheus André Coutinho Ferreira  
NATAL- RN, 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA MECÂNICA

DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTA COM  
ARRANJO GEOMÉTRICO EQUIDISTANTE, PARA  
DETECÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NO  
DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS

Matheus André Coutinho Ferreira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte como parte dos requisitos para a obtenção do título de Engenheiro Mecânico, orientado pelo Prof. Dr. Ricardo Alexandro de Medeiros Valentim.

NATAL - RN  
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE ENGENHARIA MECÂNICA

DESENVOLVIMENTO DE FERRAMENTA COM  
ARRANJO GEOMÉTRICO EQUIDISTANTE, PARA  
DETECÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NO  
DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS

Matheus André Coutinho Ferreira

Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso

Prof. Dr. Ricardo Alessandro de Medeiros  
Valentim.

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Orientador

DocuSigned by:

*Ricardo Alessandro de Medeiros Valentim*

E39423EFAE634D7...

Prof. Dr. Agnaldo Souza Cruz

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - Avaliador Interno

DocuSigned by:

*Agnaldo Souza Cruz*

4B85BC230EAB439...

Prof. Dr. Antônio Higor Freire de Moraes

Instituto Federal do Rio Grande do Norte - Avaliador Externo

DocuSigned by:

*Antônio Higor Freire de Moraes*

DB9DC0B33973433...

Prof. Dr. Guilherme Medeiros Machado

Universidade de Lorraine - Avaliador Externo

DocuSigned by:

*Guilherme Medeiros Machado*

5352597ECC0748D...

Prof. MsC. Marcel da Câmara Ribeiro Dantas

Instituto Curie - Avaliador Externo

DocuSigned by:

*Marcel da Câmara Ribeiro Dantas*

28AEAE80373476...

DocuSigned by:

*Leonardo Judson Galvão de Lima*

FF2141A170A84B0...

Prof. Dr. Leonardo Judson Galvão de Lima

Laboratório de inovação Tecnológica em Saúde - Avaliador Externo

NATAL, 18 de Dezembro de 2020.

## **Agradecimentos**

Primeiramente, agradeço a Deus por iluminar meu caminho e por ajudar a ultrapassar todos os obstáculos ao longo dessa trajetória.

Dedico esta conquista à minha família, em especial aos meus avós, Romualdo e Josete, à minha mãe, Karla, minhas tias, Karilany e Karol, que desde criança estiveram ao meu lado, apoiando, cuidando e acima de tudo educando. Pessoas que jamais mediram esforços para tornar meus objetivos em realidade, sempre com muito carinho e amor.

Agradeço a minha irmã Leticia e ao meu primo Pedro, que mesmo sendo crianças me ajudaram no sentido de dar animo, alegria e impulsionar a conquistar meus objetivos.

Agradeço aos meus tios, Marcelo e Gustavo, que sempre me deram o suporte necessário e aconselharam em momentos difíceis.

Agradeço à minha namorada Carol, que apesar de ter chegado no decorrer dessa trajetória, fez diferença, me incentivando e dando confiança o tempo todo.

Agradeço de coração ao professor e orientador Ricardo Valentim pelas oportunidades na minha vida acadêmica.

Sou grato ao Laboratório de Inovação Tecnológica em Saúde (LAIS) do qual eu tenho orgulho de fazer parte e por toda a oportunidade de crescimento tanto profissional quanto pessoal.

Aos meus amigos que obtive desde inicio da minha graduação, que sempre estiveram dispostos a ajudar uns os outros. Agradeço a grandes amigos que tive oportunidade de conhecer e sei que carregarei estas amizades por todo o resto da minha vida, em especial, Bruno, Caio, Gabriel, Iago, João Lucas, Luiz, Marcelo e Tiago.

FERREIRA, M.A.C. **Desenvolvimento de ferramenta com arranjo geométrico equidistante, para detecção com potenciais biomarcadores no diagnóstico de sífilis.** 2020. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2020.

## **Resumo**

A sífilis é uma Infecção Sexualmente Transmissível (IST) causada pela bactéria *Treponema pallidum*, que apresenta diferentes graus de infecção. Apesar de ser considerada uma doença de simples manejo clínico, caso não haja o tratamento adequado, pode resultar na morte ou no desenvolvimento de sequelas irreversíveis. Nos últimos anos, países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento apresentaram um aumento significativo de casos, constatando assim uma nova onda epidêmica. Diante disso, a importância dos testes de diagnóstico, que são classificados por métodos imunológicos ou moleculares, que confirmam a presença de anticorpos ou de fragmentos da bactéria do *Treponema pallidum*. Sendo assim, esses testes são subdivididos em duas formas, não-treponêmico e treponêmico. Para a realização de triagem e identificação de sífilis é comumente utilizado os testes não-treponêmicos, devido ao seu baixo custo e rápida execução, no entanto apesar de apresentar essas vantagens, o mesmo possui certas desvantagens em relação aos testes treponêmicos, visto que apenas 1% da população apresenta reatividade nos testes sem que possua a infecção. além disso, o resultado do teste não garante a identificação dos pacientes que possuem sífilis. Portanto, o custo gerado em todo o processo e admitindo os erros possíveis podem onerar o Sistema Único de Saúde (SUS). Nesse sentido, a proposta desse projeto é o desenvolvimento de eletrodos impressos a carbono e prata que sejam capazes de detectar simultaneamente os três principais biomarcadores utilizados no diagnóstico da sífilis a ser incorporado em um dispositivo biomédico atualmente em desenvolvimento pelo Laboratório de Inovação Tecnológica em Saúde (LAIS/UFRN) em parceria com o Ministério da Saúde (MS) e startup americana ConquerX/UMass Boston.

Palavras-chave: Sífilis Não, Detecção, Biossensor, Eletrodo, Biomarcadores

FERREIRA, M.A.C. **Tool development with equidistant geometric arrangement for detection of potential biomarkers in syphilis diagnosis.** 2020. 35 p. Conclusion work project (Graduate in Mechanical Engineering) - Federal University of Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2020.

## **Abstract**

Syphilis is a Sexually Transmitted Infection (STI) caused by the bacterium *Treponema pallidum*, which has different degrees of infection. Despite being considered a disease of simple clinical management, if it is not properly treated, it can result in death or the development of irreversible sequels. In recent years, underdeveloped or developing countries have shown a significant increase in cases, thus witnessing a new epidemiological wave. Therefore, the importance of diagnostic tests comes in, which are classified by immunological or molecular methods, which confirm the presence of antibodies or the *Treponema pallidum* bacteria. Therefore, these tests are subdivided into two levels, non-treponemic and treponemic. Non-treponemal tests are commonly used for screening and identification of syphilis, due to their low cost and rapid execution, however despite presenting these advantages, it has disadvantages in relation to the treponemal test, such as the occurrence of false-positive and false-negative, and the confirmation of the result is not enough to confirm whether the patient actually has syphilis. Thus, the cost generated in the entire process and admitting possible errors can burden the Unified Health System (SUS). In this sense, the proposal of this project is the development of electrodes printed in carbon and silver that are capable of simultaneously detecting the three main biomarkers for diagnosing syphilis to be incorporated into a biomedical device under development by the Laboratory of Technological Innovation in Health (LAIS / UFRN) in partnership with the Ministry of Health (MS) and the American startup ConquerX / UMass Boston.

Keywords: Sífilis Não, Detection, Biosensor, Electrode, Biomarkers

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Diagrama de blocos de um biossensor .....	4
<b>Figura 2:</b> Esquema ilustrativo de eletrodo impresso de carbono .....	6
<b>Figura 3:</b> Fluxograma da Metodologia Proposta.....	9
<b>Figura 4:</b> Eletrodo versão 1 .....	11
<b>Figura 5:</b> Eletrodo versão 2.....	12
<b>Figura 6:</b> Eletrodo versão 3 .....	13
<b>Figura 7:</b> Eletrodo Versão 4.....	14
<b>Figura 8:</b> Eletrodo Versão 3 com PBS 1X .....	15
<b>Figura 9:</b> Eletrodo Versão 3 com PBS 1X e azul de metileno .....	16
<b>Figura 10:</b> Comparativo gráfico entre eletrodo de ouro e eletrodo versão 3: (a) Voltametria cíclica em solução de PBS 1X no eletrodo de ouro; (b) Voltametria cíclica em PBS 1X e azul de metileno no eletrodo versão 3.....	16
<b>Figura 11:</b> Modelamento CAD do Case.....	18
<b>Figura 12:</b> Impressão do Case na impressora 3D.....	18
<b>Figura 13:</b> Case impresso por impressora 3D .....	19
<b>Figura 14:</b> Inserção de Raspberry PI 4 no case .....	19
<b>Figura 15:</b> Inserção de placa de circuito impressa no case.....	20
<b>Figura 16:</b> Primeiro protótipo funcional .....	20

**Lista de Tabelas**

<b>Tabela 1:</b> Transdutores empregados em biossensores.....	5
<b>Tabela 2:</b> Condutividade elétrica das ligas metálicas.....	7
<b>Tabela 3:</b> Comparativo entre eletrodo versão 3 e eletrodos disponíveis no mercado .....	17

## Lista de abreviaturas e siglas

APS	Atenção Primária em Saúde
CAD	Desenho Assistido por Computador
IST	Infecção Sexualmente Transmissível
LAIS	Laboratório de Inovação Tecnológica em Saúde
MS	Ministério da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PH	Potencial Hidrogeniônico
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
SERS	Espectroscopia Raman amplificada por superfície
SPR	Ressonância Plasmônica de Superfície
SUS	Sistema Único de Saúde
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
VDRL	Veneral Disease Research Laboratory

## Sumário

<i>Agradecimentos</i> .....	<i>i</i>
<i>Resumo</i> .....	<i>ii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>iii</i>
<i>Lista de Figuras</i> .....	<i>iv</i>
<i>Lista de Tabelas</i> .....	<i>v</i>
<i>Lista de abreviaturas e siglas</i> .....	<i>vi</i>
<b>1</b> <i>Introdução</i> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <i>Objetivos</i> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b> <i>Geral</i> .....	<b>3</b>
<b>2.2</b> <i>Específico</i> .....	<b>3</b>
<b>3</b> <i>Revisão bibliográfica</i> .....	<b>3</b>
<b>3.1</b> <i>Biossensores</i> .....	<b>4</b>
<b>3.2</b> <i>Tintas condutivas</i> .....	<b>6</b>
<b>3.3</b> <i>Processo de fabricação dos eletrodos impressos</i> .....	<b>7</b>
<b>4</b> <i>Metodologia</i> .....	<b>8</b>
<b>5</b> <i>Resultados e Discussões</i> .....	<b>10</b>
<b>5.1</b> <i>Projeto e desenvolvimento dos Eletrodos</i> .....	<b>10</b>
<b>5.2</b> <i>Validação do Produto</i> .....	<b>14</b>
<b>5.3</b> <i>Desenvolvimento de um case para o produto</i> .....	<b>17</b>
<b>6</b> <i>Conclusões</i> .....	<b>21</b>
<b>7</b> <i>Referências</i> .....	<b>22</b>

## 1 Introdução

A sífilis é uma Infecção Sexualmente Transmissível (IST) causada pela bactéria *Treponema pallidum*, podendo apresentar diversos tipos de manifestações clínicas e diferentes graus de infecção (sífilis primária, secundária, latente e terciária). O grau primário e secundário, apresentam maior possibilidade de transmissão. Apesar de ser considerada uma doença simples, que possua cura sem deixar sequelas ao paciente a partir do diagnóstico e tratamento adequado, nos últimos anos países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento apresentaram um aumento significativo de casos de sífilis (CHEN, 2017; MARQUES DOS SANTOS et al., 2020; NEWMAN et al., 2015).

Conforme portaria nº 542 do Gabinete do Ministro do Ministério da Saúde, de 22 de dezembro de 1986, os casos de sífilis começaram a ser obrigatoriamente notificados e monitorados pelo governo. Nos últimos anos, os casos de sífilis cresceram na população brasileira e a sífilis voltou a ser uma epidemia, com alto número de infectados, preocupando especialistas da saúde. O desuso de preservativos e a falta de continuidade dos tratamentos por parte dos pacientes, são fatores determinantes para o ressurgimento desse caso epidêmico, dificultando assim o combate à doença que se tornou uma das ISTs mais frequente entre jovens, adultos, gestantes e idosos no país (DE FIGUEIREDO et al., 2020).

De acordo com dados do ministério da saúde (BRASIL,2018), é notório o número crescente de sífilis adquirida entre os anos de 2010 a 2018 no Brasil. Sendo em 2010 constatado 3.929 casos e no ano de 2018 percebido um aumento de mais de 40 vezes, apresentando desta maneira 158.051 casos. Os números continuam alarmantes quando são analisados os indicadores de sífilis em gestantes, sendo este em 2010 o valor de 10.059 casos e no ano de 2018 o número de casos subiu para 62.599. Esse fator é primordial para o aumento de sífilis congênita, que por sua vez aumentou de 6.949 para 26.219.

Na região nordeste do Brasil, os indicadores de casos de sífilis acompanharam o crescimento do país. No ano de 2018 o nordeste foi a terceira região a registrar mais casos de sífilis adquirida, com 26.644. Dentre as gestantes com sífilis foram detectados 14.705 casos, fato que implicou em 7.877 casos de sífilis congênita em crianças menores de um ano de idade, sendo desses, 77 chegaram ao estado de óbito. No Estado do Rio Grande do Norte, no ano de 2010, foram registrados apenas 16 casos de sífilis adquirida, entretanto no ano de 2018 obteve-se a marca de 1.713 casos (BRASIL, 2018).

Diante desses dados alarmantes, foi estabelecida no ano de 2018 uma parceria entre o Laboratório de Inovação Tecnológica em Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (LAIS/UFRN), o Ministério da Saúde (MS) e a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), dando início ao projeto SÍFILIS NÃO, cujo intuito é realizar ações efetivas através de pesquisas aplicadas ao combate de sífilis. O projeto atua em quatro eixos distintos, sendo eles: gestão e governança; vigilância; cuidado integral; fortalecimento da educação e comunicação.

Atualmente o diagnóstico da sífilis pode ser realizado por métodos imunológicos ou moleculares, que confirmam a presença de anticorpos ou da bactéria do *Treponema pallidum*. Os métodos imunológicos são classificados de duas formas, não-treponêmico e treponêmico. Os testes não-treponêmicos identificam a infecção de maneira indireta, através da presença de anticorpos não especificados para o *Treponema pallidum*, porém presentes na sífilis. Esse teste é dividido em duas classes: qualitativos, utilizado para especificar se a amostra é reagente ou não; e quantitativos, utilizado para determinar os anticorpos presentes nas amostras que reagiram no teste qualitativo. Outra maneira de classificar é utilizando os testes treponêmicos, que detectam anticorpos contra antígenos do *Treponema pallidum*, sendo realizado apenas qualitativamente (KUBANOV; RUNINA; DERYABIN, 2017).

Para a realização da triagem e identificação da sífilis são comumente utilizados os testes não-treponêmicos, devido ao seu baixo custo e rápida execução. Atualmente, o teste não-treponêmico mais utilizado é o Veneral Disease Research Laboratory (VDRL). Apesar de apresentar vantagens devido ao seu baixo custo e tempo de execução, o mesmo apresenta certas desvantagens em relação aos testes treponêmicos, visto que apenas 1% da população apresenta reatividade nos testes sem que possua a infecção (BRASIL, 2010). Outro fator relevante é a presença de falsos negativos. Desta forma, o custo gerado em todo o processo e admitindo os possíveis erros, podem onerar o Sistema Único de Saúde (SUS).

Neste contexto, atrelado ao eixo de vigilância do projeto "Sífilis Não", têm-se como objetivo desse trabalho projetar e desenvolver eletrodos que sejam capazes de detectar simultaneamente os três principais biomarcadores para diagnóstico da sífilis para ser implementado em dispositivo biomédico com altos índices de sensibilidade e especificidade (CARDOSO, 2020). Esses eletrodos tem arranjo geométrico equidistante, são impressos de carbono e prata, utilizando máquina de corte combinada com técnica de *screen-printing*, e

curagem de tinta. O desenvolvimento desse projeto faz parte de uma cooperação entre o LAIS/UFRN, o Ministério da Saúde (MS) e a startup americana ConquerX/UMass Boston.

A opção de se projetar eletrodos capazes de detectar 3 biomarcadores simultaneamente, justifica-se pelo fato de que para ser confirmada a presença de sífilis em uma pessoa é necessária a análise de no mínimo 3 biomarcadores, podendo eles serem de RNA, DNA ou de Proteína, evitando assim, a incidência de casos de falsos-positivos e falsos-negativos.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Projetar e desenvolver eletrodos com arranjo geométrico equidistante como ferramenta para detecção simultânea de 3 potenciais biomarcadores para integração com dispositivo biomédico que realiza diagnóstico de sífilis.

### **2.2 Específico**

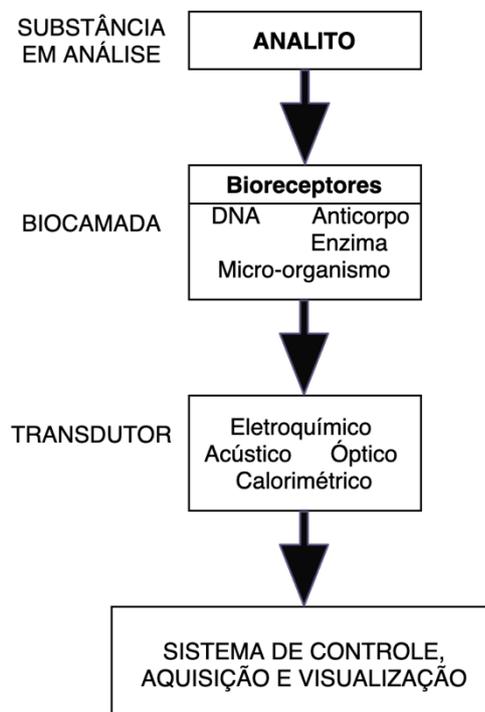
- Projetar eletrodos capazes de realizar detecção simultânea de biomarcadores de RNA, DNA e Proteínas;
- Prototipar eletrodos com software de modelagem 3D e 2D;
- Confeccionar eletrodos com máquina de corte;
- Testar e validar produto final.

## **3 Revisão bibliográfica**

### 3.1 Biossensores

Os biossensores são dispositivos que utilizam bioativos e transdutores com métodos analíticos, que são associados a elementos de condicionamento e processamento do sinal elétrico. Conforme é observado na **Figura 1**. O analito ao entrar em contato com o bioreceptor, gera uma variação físico-química, que pode ser uma variação de calor, capacitância, refração entre outras. Essa variação pode ser identificada pelo transdutor, podendo assim processar o sinal elétrico detectado. Já o sistema de controle é responsável por processar esses dados e informar se o analito foi detectado e a quantidade presente (MOREIRA et al., 2010). Portanto, seu objetivo é produzir um sinal elétrico que seja diretamente proporcional a magnitude de concentração do analito. Atualmente, esses dispositivos estão sendo utilizados no diagnóstico de doenças por vírus ou bactérias. Para os biossensores que são baseados em nanomateriais, utiliza-se a variação de intensidade ou a posição de pico de absorção óptica, reflexão, emissão de fluorescência, ressonância plasmônica de superfície (do inglês, *Surface Plasmon Resonance*, SPR), Espectroscopia Raman amplificada por superfície (do inglês, *Surface-Enhanced Raman Scattering*, SERS) e potencial eletroquímico (LI, 2011).

**Figura 1:** Diagrama de blocos de um biossensor



Fonte:(MOREIRA et al., 2010)

Os biossensores são classificados de 4 maneiras e dependem diretamente do transdutor utilizado, como ilustrado na **Tabela 1**. Portanto, o transdutor é um componente eletrônico que identifica o analito e converte o sinal biológico em sinal elétrico. Apresentam vantagens por seu baixo custo, alta sensibilidade e rápida resposta.

**Tabela 1:** Transdutores empregados em biossensores

Biossensor	Sistema de transdução	Medição	Aplicações típicas
Eletroquímico	Amperométrico	Corrente	Substratos Enzimáticos
	Potenciométrico	Voltagem	Íons e espécies redox
	Condutimétrico	Condutância	Reações catalíticas
	Impedimétrico	Impedância	Imunossensores
Acústicos	Piezoelétricos	Massa	Gases voláteis
Ópticos	Fibras ópticas	Luminosidade	pH, enzimas
Calorimétricos	Termistores, diodos	Calor	Organelas, Vitaminas

Fonte: (AMADOR SALOMÃO, 2018)

Os biossensores ópticos realizam a análise do analito por meio de alteração de luz em um sistema de reação biológica ou química. As principais variações observadas são em relação ao comprimento de onda, fluorescência, índice de refração e refletividade, que comparado com os demais biossensores, esse modelo apresenta um tempo de resposta menor (JIN et al., 2016).

Os biossensores classificados como calorimétricos, se baseiam na detecção de calor gerado por reações. Porém certa parcela do calor geralmente não é quantificada, ocasionando assim em uma menor sensibilidade (YANG et al., 2017).

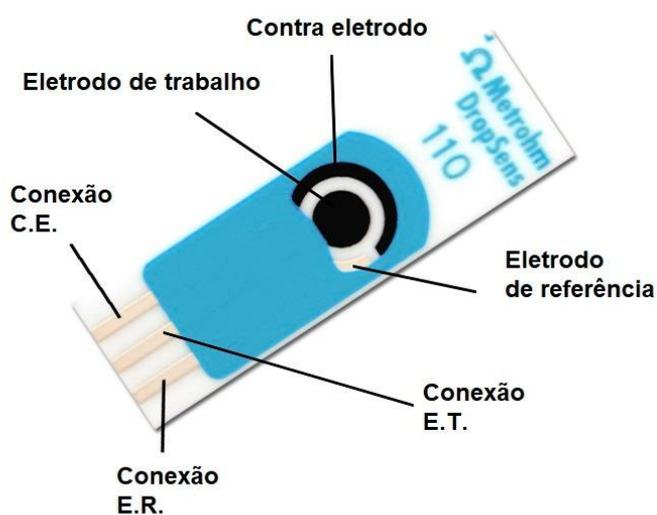
Os biossensores acústicos, são aqueles que possuem transdutores piezoelétricos, que apresentam sensibilidade devido a alteração de massa e alta faixa de frequência. Portanto ao imergir no meio de contato do analito, obtém-se um aumento da massa de quartzo e de maneira inversamente proporcional é verificado a diminuição da frequência de ressonância de um material (JIN et al., 2017).

Enquanto os biossensores eletroquímicos, são caracterizados por realizar a análise eletroquímica através de ganhos e perdas de elétrons durante a biointeração. Essas análises incluem a estequiometria, velocidade de transferência de carga e massa, entre outras. Dessa forma, apresentando grandes vantagens em seu uso, devido ao fato de que as células eletroquímicas são na maioria dos casos específicas para o estado de oxidação, não necessitem de tratamento prévio na amostra, rápida resposta, boa sensibilidade e a instrumentação

necessária para o desenvolvimento desses biossensores serem de baixo custo (CASTILHO, 2003; RONKAINEN; HALSALL; HEINEMAN, 2010; TELES; FONSECA, 2008).

Conforme pode ser verificado na **Tabela 1**, os biossensores eletroquímicos são subdivididos de acordo com o transdutor utilizado. Portanto, os sistemas são compostos por eletrodos de trabalho, referência e contra eletrodo (**Figura 2**), diferenciando-se apenas pela técnica responsável de gerar energia.

**Figura 2:** Esquema ilustrativo de eletrodo impresso de carbono



Fonte: dropsens.com

De acordo com a **Figura 2**, a solução biológica é depositada no biossensor de maneira que o contra eletrodo possa injetar uma tensão e o referencial mensurar esse valor de tensão, enquanto o eletrodo de trabalho afere a corrente elétrica presente na solução depositada.

### 3.2 Tintas condutivas

As tintas condutivas fazem parte de uma composição química que é comumente utilizada na área eletrônica. Apresentam como fatores determinantes para sua utilização a não toxicidade, capacidade de condução elétrica, temperatura de cura e o custo associado (KNOPF et al., 2016).

Além das propriedades eletroquímicas, é de suma importância que as tintas condutivas apresentem viscosidade adequada, aderência ao suporte, flexibilidade e menor resistividade elétrica (NASCIMENTO, 1998). Devido às propriedades dessas tintas, as possibilidades de

desenvolvimento de ferramentas e dispositivos foram aumentando ao passar do tempo (HU et al., 2015).

A propriedade viscosidade é a medida da resistência oferecida por um fluido ao seu escoamento. Portanto, quanto maior a viscosidade maior será a resistência ao escoamento, ou seja, menor a fluidez (CARRETEIRO, RONALD P.; BELMIRO, 2006).

Em relação a flexibilidade, é necessário que as tintas apresentem uma boa flexibilização para evitar rachaduras na superfície do eletrodo e conseqüentemente interferirem na condutibilidade elétrica.

Já no quesito da resistividade elétrica, é de alta importância que esse valor seja o menor possível. Pelo fato de que a resistividade ser diretamente relacionada com a capacidade de um determinado material permitir a passagem de corrente elétrica. Portanto, quanto maior a resistividade do material, mais difícil será a passagem de corrente. Desta forma, podemos observar na **tabela 2** os valores de condutividade elétrica de algumas ligas metálicas e constatar que a prata apresenta maior condutividade elétrica e conseqüentemente menor resistividade.

**Tabela 2:** Condutividade elétrica das ligas metálicas

Metal	Condutividade Elétrica [ $(\Omega \cdot m)^{-1}$ ]
Prata	$6,8 \times 10^7$
Cobre	$6,0 \times 10^7$
Ouro	$4,3 \times 10^7$
Alumínio	$3,8 \times 10^7$
Latão (70Cu - 30Zn)	$1,6 \times 10^7$
Ferro	$1,0 \times 10^7$
Platina	$0,94 \times 10^7$
Aço-carbono	$0,6 \times 10^7$
Aço inoxidável	$0,2 \times 10^7$

Fonte:(WILLIAM D. CALLISTER, 2000)

### 3.3 Processo de fabricação dos eletrodos impressos

O processo para fabricação de eletrodos impressos pode ser realizado através do screen-printing, esse processo consiste em forçar a tinta a passar através da camada para ser alocada sobre um substrato plano. A modelagem do desenho e aplicação de capas protetoras irá definir

as partes abertas a serem reproduzidas no substrato, podendo assim utilizar uma combinação de tintas condutivas no desenvolvimento do eletrodo. De modo geral, ao final é aplicada uma camada parcial isolante para realizar a definição da área a ser utilizada como contato elétrico e a outra área como a própria superfície do eletrodo. Portanto, têm-se como etapas básicas de confecção a seleção da tinta condutiva, modelagem do eletrodo, impressão, secagem e cura. Sendo esse processo repetido de acordo com a quantidade de camadas do eletrodo (NASCIMENTO, 1998)

A secagem e a cura são muitas vezes realizadas em uma mesma etapa com temperaturas que variam do ambiente até 1000°C. Para se obter uma melhora na condutividade térmica, a primeira aplicação de tinta é a de metais condutores, sendo essas camadas para as linhas de condução e o eletrodo de referência (NASCIMENTO, 1998).

A modelagem do eletrodo é definida de acordo a análise de requisitos. Portanto, sendo analisado a aplicação a qual o eletrodo será submetido, para então definir como será seu arranjo geométrico e quantos eletrodos de trabalho serão necessários.

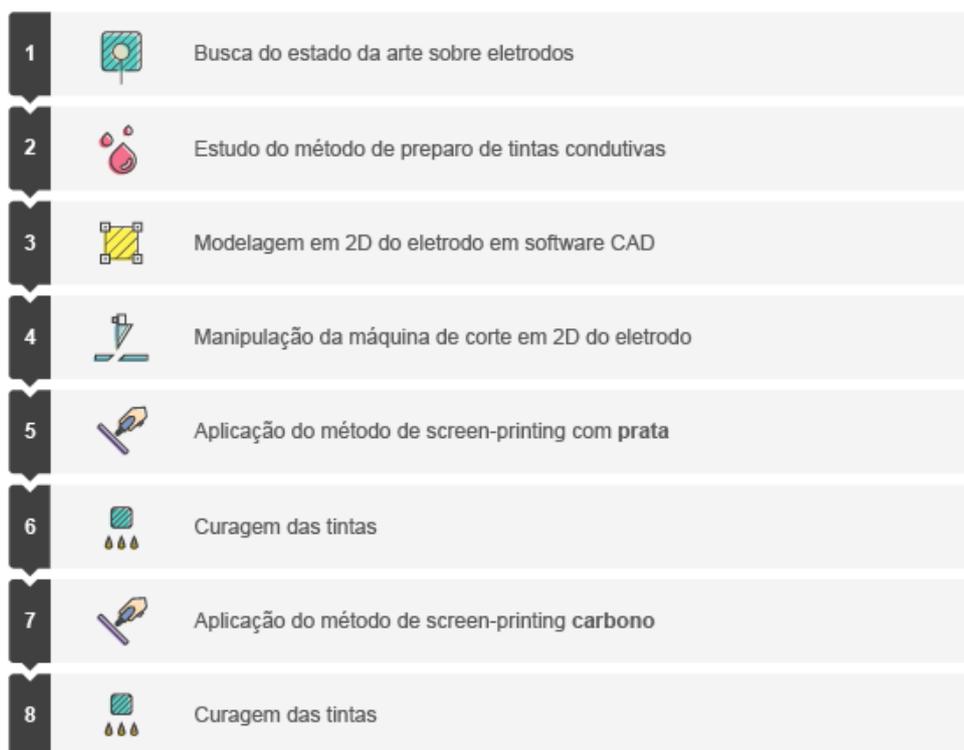
Apesar do carbono apresentar baixa condutividade elétrica se comparada aos demais metais, é importante utiliza-lo no revestimento da superfície do contra eletrodo e do eletrodo de trabalho, devido as suas propriedades mecânicas, ampla faixa de potencial, inércia química, conseqüentemente resistência a oxidação, além de apresentar baixo custo. Desta forma, provocando modificações que aumentam de forma significativa a sensibilidade de análise (KÁSSIO LEME SILVA, 2019; ZHANG et al., 2013)

## 4 Metodologia

A metodologia que foi aplicada baseou-se em estudos práticos de construção de eletrodos com ênfase em análises geométricas. O trabalho iniciou com uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados, GOOGLE SCHOLAR, SCIENCE DIRECT, NATURE, IEEE e SCIELO além de catálogos de fabricantes que tratam da temática da pesquisa, a fim de embasar o método de produção.

A **figura 3** representa o Fluxograma da metodologia aplicada para o desenvolvimento dos eletrodos.

**Figura 3:** Fluxograma da Metodologia Proposta



**Fonte:** Autoria própria.

O método de construção de eletrodos realizou-se por meio de técnicas como modelagem 2D e 3D, em software de Desenho Assistido por Computador (do inglês, *Computer Aided Design*, CAD). Com a utilização do software foi possível manter a equidistância dos eletrodos de trabalho e das fiações diminuindo o máximo de interferências elétricas.

Um segundo passo foi a manipulação da máquina de corte (Cricut), na qual se deu o primeiro formato do eletrodo e suas camadas de proteção. Feito isso, foi realizada as aplicações de tintas condutivas, através do método de *screen-printing*, com prata e carbono, no intuito de projetar o eletrodo com boa condutividade elétrica e menor irregularidade da superfície.

Após a pintura das tintas condutoras de corrente, foi realizada o método de curagem de tintas em um forno, a fim de se obter uma melhor espessura de camada e consequentemente, um melhor acabamento superficial. Para a prata, foi realizada uma cura com temperatura de 60 graus, durante 1 (uma) hora e; para o carbono, também foi realizado uma cura a 60 graus, porém, durante 30 minutos.

Após essa etapa, foi aplicado uma camada parcial isolante para definir a área a ser utilizada como contato elétrico e a outra área como a própria superfície do eletrodo. Por fim, foram realizados testes para validação do produto. Os testes foram desenvolvidos a partir da utilização de um potenciostato e da técnica de voltametria cíclica. Dessa forma, basearam-se em comparações de comportamento gráfico de amostras já conhecidas. Portanto, foram utilizados reagentes conhecidos, como por exemplo o azul de metileno com solução salina tamponada com fosfato (PBS 1x) nos eletrodos desenvolvidos.

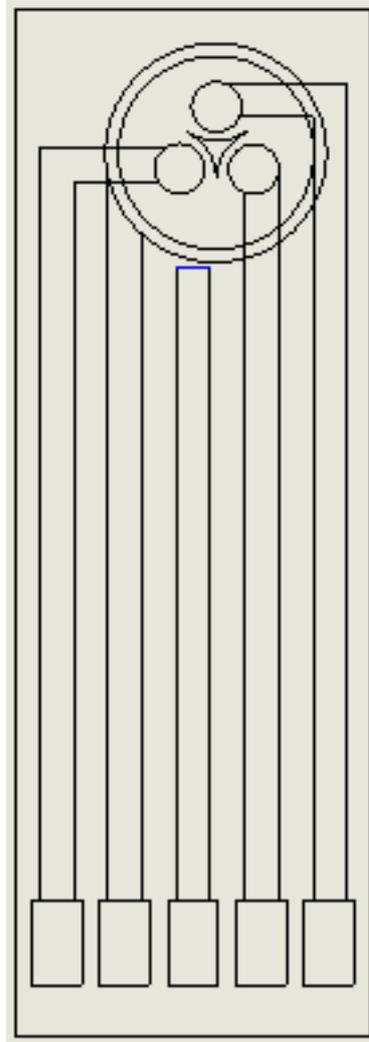
## 5 Resultados e Discussões

### 5.1 Projeto e desenvolvimento dos Eletrodos

Ao total de todo o processo foram confeccionadas quatro versões de eletrodos, cada um contendo seu arranjo geométrico específico e respeitando a questão da equidistância.

As principais dificuldades foram relacionadas ao manuseio do software da máquina de corte, devido ao mesmo possuir certas limitações; a deficiência maquinaria, que dificultava a projeção de eletrodos com mais de uma camada e; ao suporte dos conectores, que acarretaram em redimensionamentos dos eletrodos.

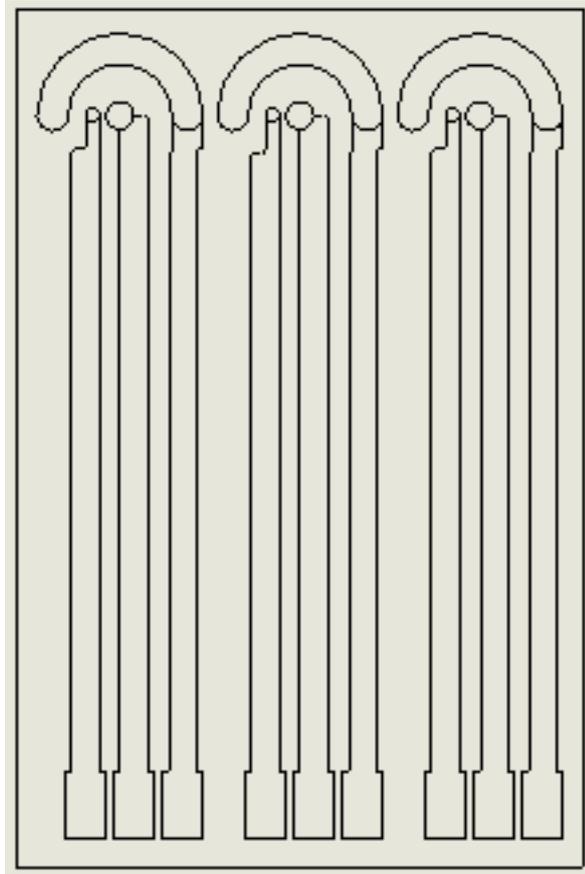
Superando essas limitações citadas, foram respeitados todos os pré-requisitos para a criação de um eletrodo. O eletrodo versão 1 (**Figura 4**) foi o primeiro a ser desenvolvido e possuía um arranjo inovador no quesito de modelagem dos eletrodos de trabalho, contra eletrodo e eletrodo de referência. Entretanto, por necessitar de mais de uma camada, não foi possível realizar sua confecção, devido ao maquinário utilizado.

**Figura 4:** Eletrodo versão 1

**Fonte:** Autoria própria.

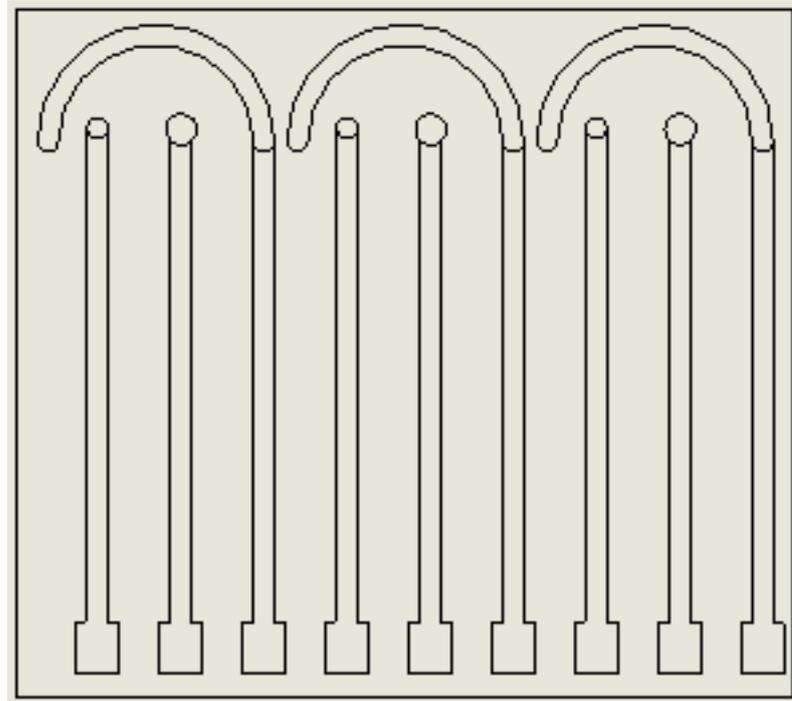
Necessitando do desenvolvimento de um eletrodo que utilizasse apenas uma camada, foi projetado o eletrodo versão 2 (**Figura 5**). Não havendo assim dificuldade maiores em seu desenvolvimento e confecção. Entretanto, por sua vez, no período de validação foi possível testar apenas um eletrodo de trabalho por vez, devido ao espaçamento final das linhas de corrente, isso porque o conector disponível em laboratório apresentava dimensões superiores, ocasionando assim contato entre eles e conseqüentemente, curto circuito.

**Figura 5:** Eletrodo versão 2



**Fonte:** Autoria própria.

Com a validação inicial do eletrodo versão 2 (**Figura 5**) de forma individualizada, foi possível remodelar um terceiro eletrodo, reprojetoando e otimizando o espaçamento entre as linhas de condução de corrente elétrica. Feito isso, foi possível realizar a detecção simultânea dos três biomarcadores com o material disponível em laboratório. Ver **Figura 6**.

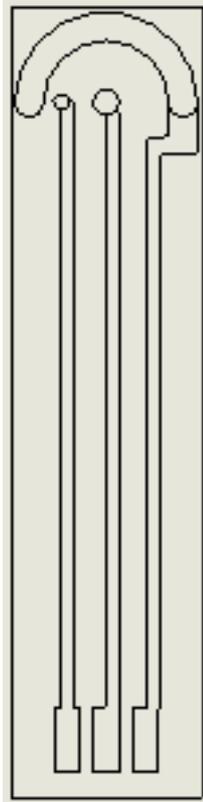
**Figura 6:** Eletrodo versão 3

**Fonte:** Autoria própria.

Diante dos bons resultados e validação do potencial do dispositivo aqui desenvolvido, a equipe de pesquisadores envolvidas no projeto

Em conformidade com o andamento do desenvolvimento do dispositivo biomédico a ser aplicado na atenção primária em saúde (APS) com alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de sífilis congênita, objeto do projeto "Sífilis Não", que teve a aprovação da Plataforma Brasil por meio do Certificado de Apresentação de Apreciação Ética de número 10772919.0.0000.5292 para realizar a coleta de amostras biológica em ser humano e posteriormente realizar os testes de validação, foi necessário o desenvolvimento de um novo eletrodo com tais especificações, versão 4 (**Figura 7**), de análise de apenas um biomarcador para a primeira versão de protótipo. O desenvolvimento do eletrodo versão 4 se deu para a realização de testes iniciais do sistema embarcado e da placa de circuito. Portanto, sendo utilizado para validações iniciais do processo de desenvolvimento do dispositivo biomédico, para que posteriormente fosse evoluído e realizasse a análise simultânea de 3 biomarcadores.

A diferença deste último eletrodo dos demais se dá pelo fato de apresentar apenas um eletrodo de trabalho, ou seja, capaz de analisar um biomarcador por vez.

**Figura 7:** Eletrodo Versão 4

**Fonte:** Autoria própria.

## 5.2 Validação do Produto

Para os testes de validação do produto, primeiramente foram inseridas soluções contendo PBS 1x (**Figura 8**) e azul de metileno (**Figura 9**) no eletrodo desenvolvido e em eletrodos disponíveis no mercado, a fim de verificar e comparar os requisitos de condutibilidade.

O uso das soluções contendo PBS 1x e azul de metileno se deu pelo fato de serem soluções inertes e apresentarem Potencial Hidrogeniônico (pH) próximo de 7 - 7,4, servindo assim, para testar o funcionamento inicial do eletrodo.

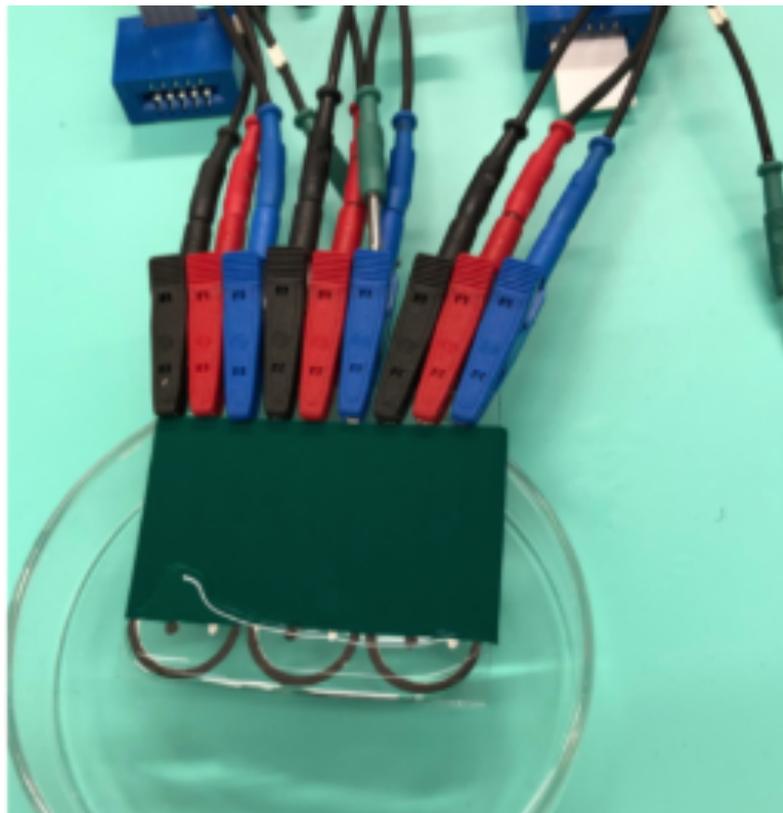
Após o preparo dos eletrodos, foi utilizado um equipamento denominado de potenciostato, que aplica um potencial no contra eletrodo, fazendo com que o mesmo injete tensão na solução presente no biossensor, após isso o eletrodo de referência realiza a medição da tensão presente na solução, e por fim, os eletrodos de trabalho de forma simultânea aferem a corrente resultante do sistema eletroquímico. Desta forma, foi possível comparar a qualidade do eletrodo tanto em sua versão 3 e 4 na detecção de biomarcadores com os já existentes no mercado.

Os resultados foram satisfatórios, de forma com que os eletrodos desenvolvidos apresentaram bom acabamento superficial proveniente da curagem tanto da tinta de carbono como da tinta de prata e boa condutibilidade, ou seja, o método de *screen-printing* foi eficaz e não ocorreu interferências no circuito.

Os requisitos de equidistância entre as linhas de condução também foram atendidos.

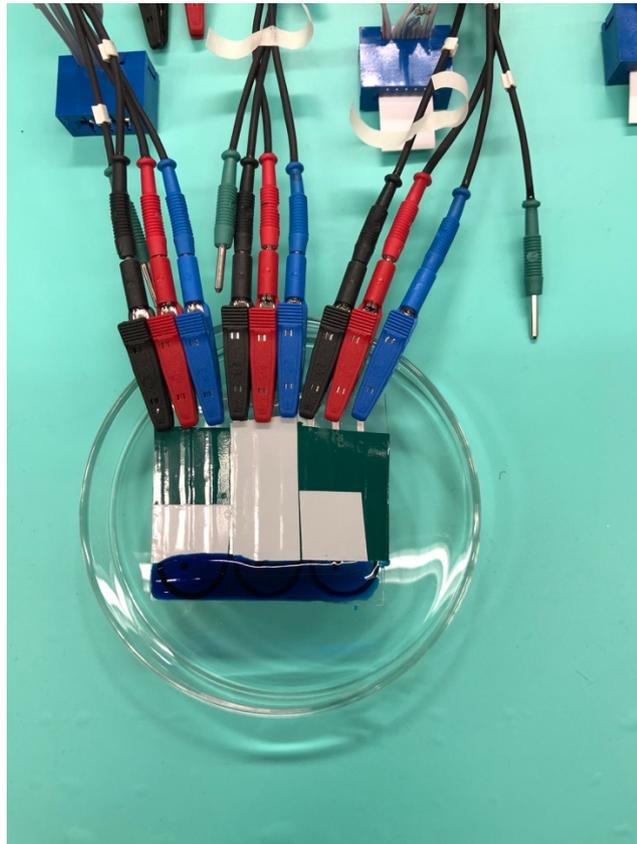
Por fim, foi realizado um comparativo gráfico (**Figura 10**) utilizando a técnica de voltametria cíclica entre o eletrodo versão 3 e um eletrodo de ouro, confirmando assim a eficiência do eletrodo desenvolvido. A diferenciação presente na **Figura 10** se dá pelo fato da análise simultânea de três biomarcadores e da tensão aplicada. Para os eletrodos de versão 1, 2 não foi possível realizar a validação devido às dificuldades apontadas anteriormente, para os demais, a leitura mostrou-se satisfatória.

**Figura 8:** Eletrodo Versão 3 com PBS 1X



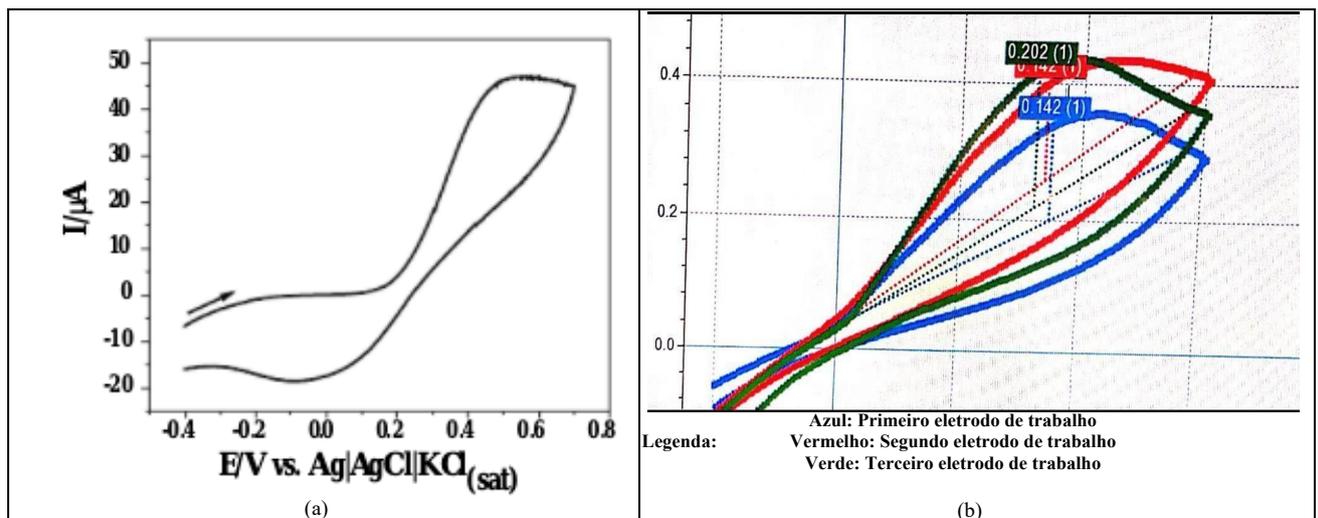
**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 9:** Eletrodo Versão 3 com PBS 1X e azul de metileno



**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 10:** Comparativo gráfico entre eletrodo de ouro e eletrodo versão 3: (a) Voltametria cíclica em solução de PBS 1X no eletrodo de ouro; (b) Voltametria cíclica em PBS 1X e azul de metileno no eletrodo versão 3



**Fonte:** (a) (FOGUEL et al., 2018); (b) Autoria própria.

Analisando o comparativo entre os eletrodos existentes no mercado e o desenvolvido no referente trabalho, podemos observar as vantagens do eletrodo desenvolvido para a especificidade de diagnóstico de sífilis (**Tabela 3**).

**Tabela 3:** Comparativo entre eletrodo versão 3 e eletrodos disponíveis no mercado

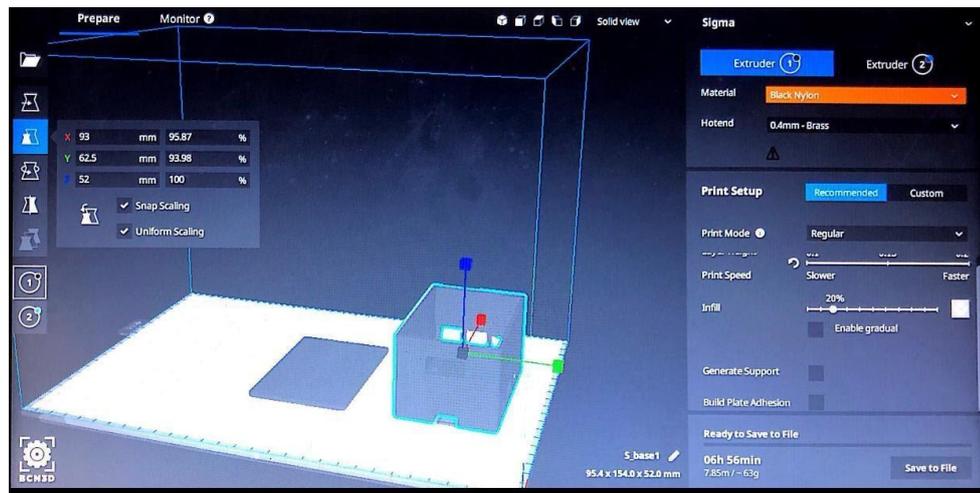
	Eletrodo versão 3:	Eletrodos existentes no mercado		
Quantidade de eletrodo de trabalho	3	1	2	4 ou mais
Funções	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diminui a incidência de casos de falsos positivos e falsos negativos</li> <li>• Não apresenta desperdício de amostra biológica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detecta apenas 1 biomarcador por vez, fato que resultaria no aumento da incidência de casos de falsos negativos/positivos;</li> <li>• Para o projeto da sífilis seria necessário utilizar 3 eletrodos, fato que implicaria em um gasto maior no produto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detecta apenas 2 biomarcadores simultaneamente;</li> <li>• Para o projeto da sífilis seria necessário utilizar 2 eletrodos, fato que implicaria em um gasto maior no produto;</li> <li>• Aumento da superfície de contato entre eletrodo e amostra biológica, de maneira a ocasionar desperdício.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Detecta simultaneamente 4 biomarcadores</li> <li>• Aumento da superfície de contato entre eletrodo e amostra biológica, de maneira a necessitar de uma maior quantidade de amostra biológica. Portanto, estando relacionado com a economicidade de amostra biológica.</li> </ul>

**Fonte:** Autoria própria.

### 5.3 Desenvolvimento de um *case* para o produto

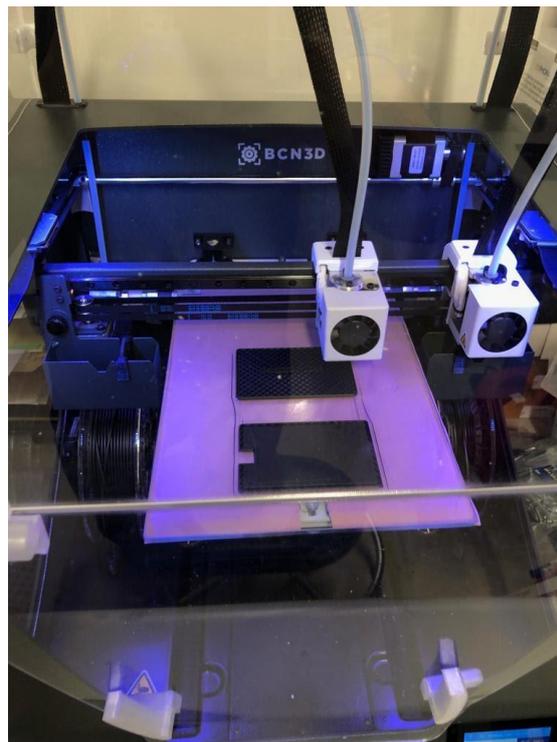
Após a etapa de construção do eletrodo, desenvolveu-se o projeto de um *case* a fim de realizar a integração dos produtos. O mesmo foi modelado em software CAD e impresso em uma impressora 3D. A **Figura 11** e a **Figura 12**, apresentam o modelamento da peça e o momento da impressão, respectivamente.

**Figura 11:** Modelamento CAD do Case



Fonte: Autoria própria.

**Figura 12:** Impressão do Case na impressora 3D



Fonte: Autoria própria.

A **Figura 13** apresenta o *case* após impressão na impressora 3D. E as **Figura 14** e **Figura 15** representam respectivamente a sequência de montagem do primeiro protótipo funcional do dispositivo biomédico de diagnóstico de sífilis congênita a ser aplicado na APS (**Figura 16**).

**Figura 13:** Case impresso por impressora 3D



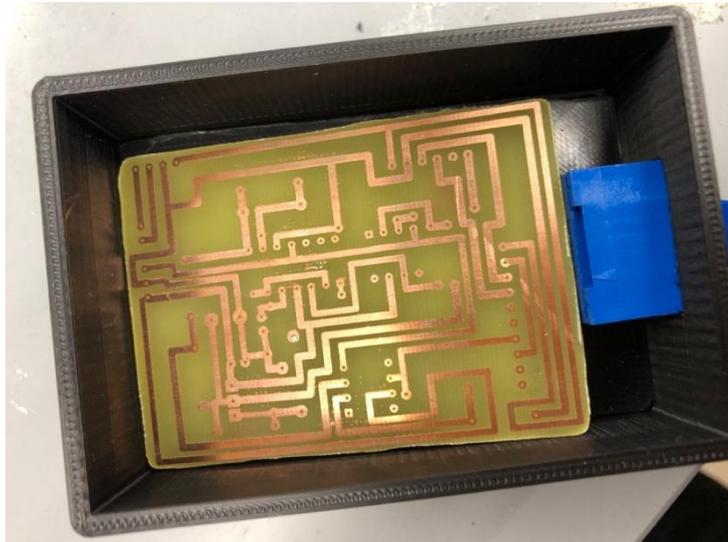
**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 14:** Inserção de Raspberry PI 4 no case



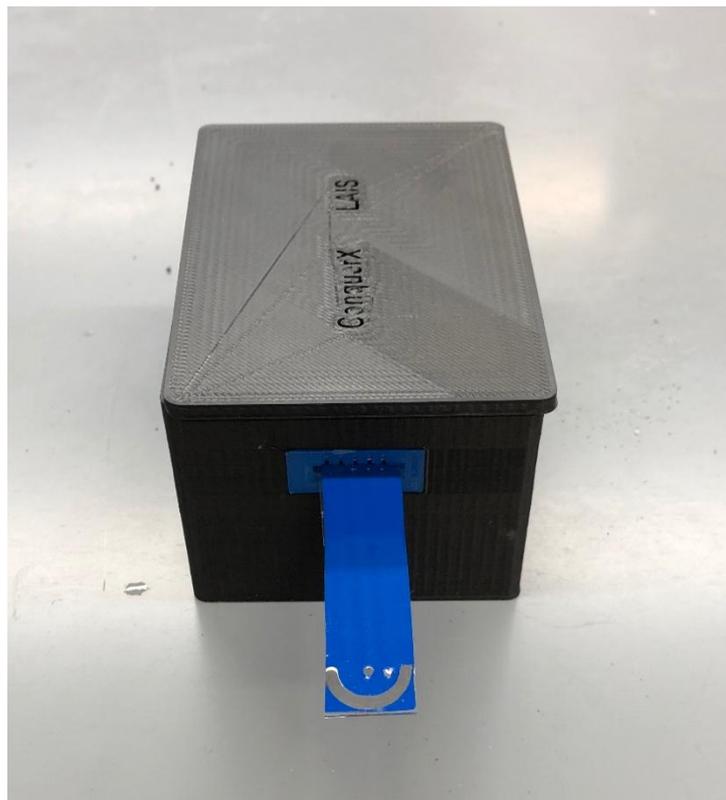
**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 15:** Inserção de placa de circuito impressa no case



**Fonte:** Autoria própria.

**Figura 16:** Primeiro protótipo funcional



**Fonte:** Autoria própria.

## 6 Conclusões

O desenvolvimento de eletrodos impressos a carbono e prata que sejam capazes de detectar simultaneamente os três principais biomarcadores para diagnóstico da sífilis para ser incorporado em dispositivo biomédico em desenvolvimento pelo LAIS/UFRN em parceria com o Ministério da Saúde e startup americana ConquerX/UMass Boston obtiveram resultados satisfatórios para o projeto da Rede de Resposta Rápida à Sífilis.

O processo de modelagem em software CAD e a aplicação do método de *screen printing* mostrou-se eficiente para a confecção de eletrodos impressos com reprodutibilidade adequada para a reprodução em escala e com baixo custo.

A capacidade de realizar 3 leituras de forma simultânea, proporcionou diminuir as incidências de casos de falso positivo e falso negativo.

O arranjo geométrico específico para o diagnóstico de sífilis, evitou o desperdício de amostras biológicas, devido a existência de uma proporcionalidade entre a área de contato do eletrodo e a quantidade de amostra biológica necessária para realização dos testes.

Os eletrodos desenvolvidos, diferem-se dos existentes no mercado, visto que só é encontrado eletrodos capazes de ler simultaneamente 1, 2, 4 ou mais biomarcadores. Causando assim, casos de falsos positivos, falsos negativos ou de desperdício de amostra biológica.

Por fim, para o desenvolvimento do primeiro protótipo funcional (**Figura 16**) foi necessário a junção de uma equipe multidisciplinar, formada por médicos infectologistas e epidemiologistas, biomédicos, imunologista, engenheiros e pesquisadores de diversas áreas do conhecimento. O produto foi elaborado com componentes de baixo custo e facilmente encontrado no mercado, no intuito de ganhar aplicabilidade e escalabilidade no SUS.

## 7 Referências

AMADOR SALOMÃO, Pedro Emílio. Produção e Aplicação de Biossensores: Uma Breve Revisão. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. e1373282, 2018. DOI: 10.17648/rsd-v7i3.282.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sífilis: Estratégias para diagnóstico no Brasil 2010. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/sifilis\\_estrategia\\_diagnostico\\_brasil.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/sifilis_estrategia_diagnostico_brasil.pdf). Acesso em: 05 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Indicadores e dados básicos da Sífilis nos municípios brasileiros 2018. Disponível em: <http://indicadoressifilis.aids.gov.br/>. Acesso em: 05 fev. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM no 542 de 22 de dezembro de 1986. 1986; Disponível em: [http://www3.crt.saude.sp.gov.br/arquivos/arquivos\\_biblioteca\\_crt/Portarian542de22dez86.pdf](http://www3.crt.saude.sp.gov.br/arquivos/arquivos_biblioteca_crt/Portarian542de22dez86.pdf). Acesso em: 1 nov. 2020.

CARDOSO, Pablo Holanda. **Desenvolvimento de um dispositivo biomédico para o diagnóstico da sífilis: uma tecnologia para indução da política nacional de testagem nas redes de atenção**. 2020. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, [S. l.], 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/30402>. Acesso em: 18 dez. 2020.

CARRETEIRO, RONALD P.; BELMIRO, Pedro Nelson A. .. **Lubrificantes e lubrificação industrial**. [s.l: s.n.].

CASTILHO, Tania Jacometo De. Desenvolvimento e avaliação de um biossensor amperometrico a base de peroxidase para determinação de neurotransmissores. [S. l.], 2003. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/248407>. Acesso em: 1 nov. 2020.

CHEN, Xiang Sheng. **Challenges in responses to syphilis epidemic***The Lancet Infectious Diseases* Lancet Publishing Group, , 2017. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30327-4. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309917303274>. Acesso em: 1 nov. 2020.

DE FIGUEIREDO, Daniela Cristina Moreira Marculino; DE FIGUEIREDO, Alexandre Medeiros; DE SOUZA, Tanise Kely Bezerra; TAVARES, Graziela; DE TOLEDO VIANNA, Rodrigo Pinheiro. Relationship between the supply of syphilis diagnosis and treatment in primary care and incidence of gestational and congenital syphilis. **Cadernos de Saude Publica**, [S. l.], v. 36, n. 3, 2020. DOI: 10.1590/0102-311X00074519. Disponível em: <http://datasus.saude.gov.br/>. Acesso em: 18 dez. 2020.

FOGUEL, Marcos Vinicius; ULIANA, Carolina Venturini; TOMAZ, Paulo Roberto Ussoni; DE OLIVEIRA MARQUES, Paulo Roberto Brasil; YAMANAKA, Hideko; PUPIM FERREIRA, Antonio Aparecido. Avaliação da limpeza de CD trocados construídos a partir de CD de ouro gravável/fita adesiva de galvanoplastia. **Eclética Química Journal**, [S. l.], v. 34, n. 2, p. 59, 2018. DOI: 10.26850/1678-4618eqj.v34.2.2009.p59-66.

HU, Yougen; ZHU, Pengli; ZHAO, Tao; LIANG, Xianwen; SUN, Rong; WONG, Ching Ping. P(St-AA)/Ag nano-composite particles as electrical conductive filler for conductive ink in printed electronics. *In*: 16TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON ELECTRONIC PACKAGING TECHNOLOGY, ICEPT 2015 2015, **Anais [...]**. : Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., 2015. p. 283–287. DOI: 10.1109/ICEPT.2015.7236593.

JIN, Yulong; XIE, Yunfeng; WU, Kui; HUANG, Yanyan; WANG, Fuyi; ZHAO, Rui. Probing the Dynamic Interaction between Damaged DNA and a Cellular Responsive Protein Using a Piezoelectric Mass Biosensor. **ACS Applied Materials and Interfaces**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 8490–8497, 2017. DOI: 10.1021/acsami.6b15077. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.6b15077>. Acesso em: 1 nov. 2020.

JIN, Zhao; GUAN, Weiming; LIU, Chang; XUE, Tianyu; WANG, Qiyu; ZHENG, Weitao; CUI, Xiaoqiang. A stable and high resolution optical waveguide biosensor based on dense TiO<sub>2</sub>/Ag multilayer film. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 377, p. 207–212, 2016. DOI:

10.1016/j.apsusc.2016.03.123.

KÁSSIO LEME SILVA, Martin DA. **DESENVOLVIMENTO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS PARA A DETECÇÃO DE METAIS PESADOS**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/191123>. Acesso em: 1 nov. 2020.

KNOPF, George K.; SINAR, Dogan; ANDRUSHCHENKO, Anatoly; NIKUMB, Suwas. Flexible electrical circuits printed on polymers using graphene-cellulose inks. *In: PROCEEDINGS - IEEE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CIRCUITS AND SYSTEMS 2016, Anais [...]*. : Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., 2016. p. 854–857. DOI: 10.1109/ISCAS.2016.7527375. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/7527375>. Acesso em: 1 nov. 2020.

KUBANOV, Aleksey; RUNINA, Anastassia; DERYABIN, Dmitry. **Novel Treponema pallidum Recombinant Antigens for Syphilis Diagnostics: Current Status and Future Prospects** *BioMed Research International* Hindawi Limited, , 2017. DOI: 10.1155/2017/1436080. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28523273/>. Acesso em: 1 nov. 2020.

LI, Ming. Electrochemical and optical biosensors based on nanomaterials and nanostructures: A Review. **Frontiers in Bioscience**, [S. l.], v. S3, n. 1, p. 1308, 2011. DOI: 10.2741/228. Disponível em: <http://www.bioscience.org/2011/v3s/af/228/list.htm>. Acesso em: 1 nov. 2020.

MARQUES DOS SANTOS, Marquiony; LOPES, Ana Karla Bezerra; RONCALLI, Angelo Giuseppe; LIMA, Kenio Costa De. Trends of syphilis in Brazil: A growth portrait of the treponemic epidemic. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. e0231029, 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0231029. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0231029>. Acesso em: 1 nov. 2020.

MOREIRA, Cleumar S.; LIMA, Antonio M. N.; NEFF, H.; BARRETO NETO, Arlindo G.; LOUREIRO, Fernanda C. C. L.; DE SOUZA FILHO, Carlos A.; LIMA JUNIOR, Luis H. C. **Biosensores: Tecnologia e Aplicações**, 2010.

NASCIMENTO, Valberes B. **ELETRODOS FABRICADOS POR “SILK-SCREEN”**. [s.l: s.n.].

NEWMAN, Lori et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. e0143304, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0143304. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0143304>. Acesso em: 1 nov. 2020.

RONKAINEN, Niina J.; HALSALL, H. Brian; HEINEMAN, William R. Electrochemical biosensors. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 39, n. 5, p. 1747–1763, 2010. DOI: 10.1039/b714449k. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2010/cs/b714449k>. Acesso em: 1 nov. 2020.

TELES, F. R. R.; FONSECA, L. P. **Trends in DNA biosensors** *Talanta* Elsevier, , 2008. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.07.024.

WILLIAM D. CALLISTER, Jr. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução** . 7. ed. [s.l: s.n.]. Disponível em: [https://www.academia.edu/40719585/Ciência\\_e\\_E engenharia\\_de\\_Materiais\\_uma\\_introdução\\_William\\_D\\_Callister\\_Jr](https://www.academia.edu/40719585/Ciência_e_E engenharia_de_Materiais_uma_introdução_William_D_Callister_Jr). Acesso em: 1 nov. 2020.

YANG, Ning; HUANG, Jun Steed; MAO, Hanping; ZUO, Zhiqiang; YAN, Yuting. A Microfluidic Colorimetric Biosensor for Chlorpyrifos Determination based on Peroxidase-like CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/GQDs Magnetic Nanoparticles A Microfluidic Colorimetric Biosensor for Chlorpyrifos Determination based on Peroxidase-like CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/GQDs Magnetic Nanoparticles. [S. l.], 2017. DOI: 10.12783/issn.1544-8053/14/1/30. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/314112437>. Acesso em: 1 nov. 2020.

ZHANG, Yu; ZHU, Pengli; SUN, Rong; WONG, Chingping. A simple way to prepare large-scale copper nanoparticles for conductive ink in printed electronics. *In: PROCEEDINGS - 2013 14TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON ELECTRONIC PACKAGING TECHNOLOGY, ICEPT 2013 2013*, **Anais [...]**. : IEEE Computer Society, 2013. p. 317–320. DOI: 10.1109/ICEPT.2013.6756479.