

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PLATAFORMA PORTÁTIL DE BIOENSAIO
ELETROQUÍMICO PARA RASTREAMENTO DE HEPATITE
DELTA BASEADA EM APRENDIZAGEM DE MÁQUINA E
NUVEM

PEDRO VICTOR EUGÊNIO DE SOUZA

UBERLÂNDIA

2024

PEDRO VICTOR EUGÊNIO DE SOUZA

**PLATAFORMA PORTÁTIL DE BIOENSAIO
ELETROQUÍMICO PARA RASTREAMENTO DE HEPATITE
DELTA BASEADA EM APRENDIZAGEM DE MÁQUINA E
NUVEM**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Robinson Sabino-Silva

Co- Orientador: Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho

Co- Orientador: Dr. Cleumar da Silva Moreira

UBERLÂNDIA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S729p
2024

Souza, Pedro Victor Eugênio de, 1986-
Plataforma portátil de bioensaio eletroquímico para rastreamento de
hepatite delta baseada em aprendizagem de máquina e nuvem [recurso
eletrônico] / Pedro Victor Eugênio de Souza. - 2024.

Orientador: Robinson Sabino-Silva.

Coorientador: Luiz Ricardo Goulart Filho.

Coorientador: Cleumar da Silva Moreira

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-graduação em Ciências da Saúde.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.5052>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Ciências médicas. I. Sabino-Silva, Robinson, 1981-, (Orient.). II.
Goulart Filho, Luiz Ricardo, 1962-, (Coorient.). III. Moreira, Cleumar da
Silva, 1974-, (Coorient.). IV. Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. V. Título.

CDU: 61

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-6/3408



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências da Saúde				
Defesa de:	Tese de Doutorado Nº 17/PPGCSAUDE				
Data:	30.09.2024	Hora de início:	14:00h	Hora de encerramento:	18:00h
Matrícula do Discente:	12013CSD016				
Nome do Discente:	Pedro Victor Eugênio de Souza				
Título do Trabalho:	PLATAFORMA PORTÁTIL DE BIOENSAIO ELETROQUÍMICO PARA RASTREAMENTO DE HEPATITE DELTA BASEADA EM APRENDIZAGEM DE MÁQUINA E NUVEM				
Área de concentração:	Ciências da Saúde				
Linha de pesquisa:	3: Fisiopatologia das Doenças e Agravos à Saúde				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Desenvolvimento de Plataformas Diagnósticas pela saliva				

Reuniu-se em sala virtual, em web conferência pela plataforma Google Meet, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, assim composta: Professores Doutores: Ulysses Roberto Chaves Vitor (UFJF), Thiago da Costa Oliveira (UFU), Arlene Bispo dos Santos (UFU), Lincoln Machado de Araújo (IFPB) e Robinson Sabino da Silva (UFU), orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr. Robinson Sabino da Silva, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença dos membros da banca, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Lincoln Machado de Araújo, Usuário Externo**, em 30/09/2024, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Robinson Sabino da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/09/2024, às 16:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Arlene Bispo dos Santos Nossol, Usuário Externo**, em 30/09/2024, às 23:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago da Costa Oliveira, Usuário Externo**, em 01/10/2024, às 08:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ulysses Roberto Chaves Vitor, Usuário Externo**, em 03/10/2024, às 11:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5740607** e o código CRC **A919B199**.

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho ao meu filho João
Eduardo que me ensinou o que é o amor
verdadeiro.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e sabedoria para seguir sempre em frente. Obrigado por ser a minha força e o meu guia em todos os momentos.

Aos meus pais, Verônica Eugênio e Pedro Corrêa, pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Por acreditarem em mim, e não medirem esforços para a concretização dos meus sonhos. Sem vocês, nada seria possível. Amo vocês com amor eterno!

À minha esposa Janaína Santos pelo apoio e por passarmos juntos por tantas dificuldades durante nossa trajetória durante essa fase de nossas vidas.

Agradeço ao professor e meu querido orientador Robinson Sabino - Silva a oportunidade de tê-lo como orientador. Tenho muito orgulho de citá-lo como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, pela dedicação e paciência. O senhor é um exemplo de simplicidade, compreensão e competência. Obrigado pela oportunidade de aprender com o senhor! Minha eterna gratidão e admiração.

Agradeço imensamente ao meu primeiro orientador Luiz Ricardo Goulart Filho que foi uma fonte inspiradora e que deu a mim o apoio para que pudesse enfrentar tamanho desafio. Seus sonhos e sua visão de mundo sempre estarão comigo.

Agradeço ao meu coorientador Cleumar da Silva Moreira pelo apoio durante a pesquisa e incentivo acreditando sempre em meu potencial para entregar este trabalho.

Meus profundos agradecimentos aos amigos do Laboratório de Nanobiotecnologia, mas em especial agradeço à Ana Flávia Notário, à Fabiane Rielo, por terem se doado e me ajudado em um momento crucial em minha vida, à Iara Soares que sempre esteve me ajudando, ao Mário, Arlene, Murilo, a Fabiana, que sempre traz serenidade e alegria, e ao Abel que compartilha comigo pensamentos e planos.

EPÍGRAFE

*“Se você quiser descobrir os segredos
do Universo, pense em termos de energia,
frequência e vibração”.*

Nikola Tesla

RESUMO

Introdução: Biossensores eletroquímicos são altamente eficazes na detecção de uma ampla gama de analitos em diversos biofluidos. No entanto, os sistemas de potenciostato de bancada tradicionais costumam ser caros e carecem de integração completa. Esta pesquisa concentra-se no desenvolvimento de uma plataforma eletroquímica inovadora e totalmente integrada, que apresenta um potenciostato portátil e econômico. O dispositivo é projetado para analisar dois eletrodos simultaneamente em tempo real, através de cinco análises eletroquímicas distintas, e inclui interfaces de comunicação como USB, Bluetooth e Wi-Fi. Essas capacidades permitem uma interação com computadores, dispositivos móveis e ambientes em nuvem, facilitando a aplicação de algoritmos de Inteligência Artificial para análise de dados eletroquímicos e classificação de amostras. **Materiais e Métodos:** A plataforma, denominada Bioconnect, foi avaliada em comparação com o potenciostato de bancada EMSTAT3+ Blue da PalmSens. A validação utilizou Voltametria Cíclica em uma solução de $[K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6]$ com eletrodos modificados com Rodamina 6G e Nanotubos de Carbono, bem como eletrodos não modificados. Além disso, foi explorada a integração do Bioconnect com uma aplicação de aprendizado de máquina baseada em AWS para a detecção da hepatite delta, uma forma severa de hepatite que é tradicionalmente diagnosticada através de métodos de quimiluminescência e RT-PCR. O biossensor foi testado em soro de 40 indivíduos (20 positivos e 20 negativos para hepatite delta). **Resultados:** A análise comparativa de desempenho, baseada nas medições dos picos de corrente anódica e catódica, revelou que o Bioconnect obteve desvios-padrão menores do que o EMSTAT3+ Blue, indicando maior precisão nas medições. Para a distinção da hepatite delta, a análise de Regressão Logística obteve uma especificidade de 89.5% e uma sensibilidade de 85.7%, enquanto o algoritmo de aprendizado de máquina alcançou uma especificidade de 80% e uma sensibilidade de 100%. Esses resultados destacam o potencial do Bioconnect como uma ferramenta precisa e integrada para análise eletroquímica avançada e detecção de doenças. **Conclusão:** Os resultados confirmam a eficácia da plataforma, não apenas para aplicações biológicas, mas também para outras aplicações. A comparação mostra que o hardware da plataforma fornece medições mais precisas, e sua capacidade de distinguir entre sujeitos normais e positivos para hepatite delta comprova sua aplicabilidade como dispositivo de *Point of Care*. Além disso, a incorporação de algoritmos de aprendizado de máquina prova ser uma melhoria valiosa para análises eletroquímicas.

Palavras-chave: Biossensores eletroquímicos, Potenciostato Portátil, Análise Eletroquímica, Aprendizado de Máquina, Detecção de Hepatite Delta.

ABSTRACT

Introduction: Electrochemical biosensors are proficient in detecting a wide range of analytes within various biofluids. Traditional benchtop potentiostat systems, however, are often costly and lack full integration. This research focuses on the development of a novel, fully integrated electrochemical platform that features a portable and cost-effective potentiostat. This device is designed to simultaneously analyze two electrodes in real time across five distinct electrochemical analyses, and includes communication interfaces such as USB, Bluetooth, and Wi-Fi. Such capabilities enable seamless interaction with computers, mobile devices, and cloud-based environments, facilitating the application of Artificial Intelligence algorithms via AWS cloud for electrochemical data analysis and sample classification. **Materials and Methods:** The platform, named Bioconnect, was validated against the benchtop potentiostat EMSTAT3+ Blue from PalmSens. The validation involved Cyclic Voltammetry using a $[K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6]$ solution with both Rhodamine 6G and Carbon Nanotube-modified electrodes, as well as non-modified electrodes. Furthermore, Bioconnect's integration with an AWS-based machine learning application was explored for the detection of hepatitis delta, a severe form of hepatitis traditionally diagnosed through chemiluminescence and RT-PCR methods. The biosensor was evaluated using a cohort of 40 subjects (20 positive and 20 negative) for hepatitis delta. **Results:** The performance comparison, based on the anodic and cathodic current peak measurements, demonstrated that Bioconnect achieved smaller standard deviations compared to the EMSTAT3+ Blue, indicating superior precision in measurements. With respect to distinguishing hepatitis delta using a Univariate Logistic Regression analysis yielded a specificity of 89.5% and a sensitivity of 85.7%, while a machine learning algorithm achieved a specificity of 80% and a sensitivity of 100%. This underscores the potential of Bioconnect as a precise, integrated tool for advanced electrochemical analysis and disease detection. **Conclusion:** Results confirm the efficacy of the platform and using it not only biological applications, but also for other types of applications. The comparison shows that the platform hardware has more precise measurements, and its use to distinguish normal subjects from those who are positive for hepatitis delta proves its applicability to be used as a Point of Care device. Besides that, the use of machine learning algorithms also proved a valuable tool to enhance electrochemical analysis.

Palavras-chave: Electrochemical Biosensors, Portable Potentiostat, Electrochemical Analysis, Machine Learning, Delta Hepatitis Detection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Arquitetura básica de um biossensor.	16
Figura 2 - Esquema de um biossensor óptico.	17
Figura 3 - Esquema de um biossensor magnético.	18
Figura 4 - Índices de prevalência global das hepatites B e D. Com destaque para a região da bacia amazônica com índice de 25%.	21
Figura 5 - Ciclo do aprendizado não-supervisionado.	23
Figura 6 - Ciclo de aprendizagem por reforço.	24
Figura 7 - Ciclo do aprendizado supervisionado.	25
Figura 8 - Modelo de árvore de decisão.	27
Figura 9 - Hiperplano de separação de uma Máquina de Vetores de Suporte. Ilustrando as margens maximizadas e os respectivos vetores de suporte.	27
Figura 10 - Ilustração do classificador Random Forest.	28
Figura 11 - Arquitetura de uma Rede Neural MLP.	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	BIOSSENSORES	16
2.1.1	<i>Classificação dos Biossensores</i>	<i>16</i>
2.2	BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS	18
2.2.1	<i>Classificação dos Biossensores Eletroquímicos</i>	<i>19</i>
2.3	HEPATITE DELTA	20
2.3.1	<i>Transmissão.....</i>	<i>21</i>
2.3.2	<i>Diagnóstico.....</i>	<i>22</i>
2.4	APRENDIZAGEM DE MÁQUINA	22
2.4.1	<i>Classificação dos Algoritmos de Aprendizagem de Máquina</i>	<i>23</i>
2.4.2	<i>Tipos de Tarefas em Aprendizagem de máquina.....</i>	<i>25</i>
2.4.3	<i>Principais Algoritmos de Aprendizagem de Máquina.....</i>	<i>26</i>
3	OBJETIVOS.....	30
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4	PATENTE: PLATAFORMA PORTÁTIL INTEGRADA COM ENVIO DE DADOS DIRETAMENTE A UM SISTEMA EM NUVEM PARA ANÁLISE DE BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS	31
5	ARTIGO 2: BIOCONNECT – A WIRELESS ELECTROCHEMICAL POTENTIOSTAT PLATFORM FOR BIOSSENSORS ANALYSIS BASED ON MACHINE LEARNING ALGORITHMS.....	58
6	CONCLUSÃO	89
7	REFERÊNCIAS	90

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de sensores eletroquímicos portáteis e vestíveis tem revolucionado o campo das análises *in loco* e permitindo análises em tempo real com uma grande diversidade de aplicações (WANG, W. *et al.*, 2020). As plataformas compactas e versáteis que utilizam princípios de análise eletroquímica podem fornecer detecção rápida, sensível e seletiva de diversas moléculas alvo (KOUDELKA-HEP; VAN DER WAL, 2000; MADURAVEERAN; JIN, 2017).

Neste contexto, o desenvolvimento de uma plataforma eletroquímica sem fio, portátil e integrada com análise de dados por meio de aprendizagem de máquina oferece uma abordagem bastante promissora. Esta solução atende à crescente demanda por análises clínicas que possuam execução simples, tenham interface de usuário intuitiva e que sejam equipadas com avançadas ferramentas de análise de dados (HUBBLE; WANG, 2019; XU *et al.*, 2023).

Estas plataformas eletroquímicas apresentam os seguintes componentes principais: um sensor eletroquímico miniaturizado, um módulo de comunicação sem fio e uma unidade computacional capaz de executar um algoritmo de aprendizagem de máquina (MONDAL *et al.*, 2021). Geralmente, a unidade de processamento consome muitos recursos de memória e bateria, o que muitas vezes são recursos limitados em plataformas portáteis, por isso essas plataformas possuem comunicação e integração com dispositivos externos que apresentam maior capacidade computacional.

Os biossensores possuem papel fundamental na construção de uma plataforma eletroquímica. Um biossensor é definido como um dispositivo que possui um elemento de reconhecimento biológico, o qual pode envolver uma reação bioquímica, enzimas, um antígeno ou anticorpo e até mesmo organelas celulares. Muitos avanços têm ocorrido em relação a modificações de eletrodos de trabalho com o objetivo de elevar a sensibilidade e especificidade destas plataformas eletroquímicas (SUHITO; KOO; KIM, 2020).

Estas modificações podem ser realizadas utilizando-se nanopartículas metálicas, nanotubos de carbono e grafeno para elevar a condutividade elétrica e propriedades eletrocatalíticas dos sensores como também serem adicionadas biomoléculas como: DNA, antígenos/anticorpos, proteínas, enzimas, aptâmeros ou lipídeos para elevar a especificidade do biossensor. Além disto, algumas opções *label-free*, as quais não possuem um elemento biológico específico para detecção da molécula-alvo, têm sido desenvolvidas para a detecção de doenças virais como COVID-19, hepatite e outras (AHANGAR; MEHRGARDI, 2017; CABRAL *et al.*, 2016; JO *et al.*, 2017; WU, 2022).

Ao incorporar funções avançadas de processamento de sinais e reconhecimento de padrões por meio de algoritmos de aprendizagem de máquina ou aprendizagem profunda em plataformas eletroquímicas, torna-se possível melhorar significativamente a performance das análises e interpretações dos sinais eletroquímicos, o que permite o desenvolvimento de aplicações mais robustas e tomadas de decisão mais precisas (CHEN, H.; KÄTELHÖN; COMPTON, 2023).

Os algoritmos de IA têm sido utilizados em uma grande variedade de análises eletroquímicas desde a detecção de poluentes em água até análises de substâncias proibidas como: explosivos e entorpecentes (DEAN *et al.*, 2019; MOLINARA *et al.*, 2022). Quando utilizados para análise qualitativa, ou seja, em tarefas de classificação, os algoritmos de IA podem combinar as análises eletroquímicas em conjunto com sintomas clínicos para um diagnóstico mais preciso de doenças (ALIYAR VELLAMEERAN; BRINDHA, 2022; ZHANG, T. *et al.*, 2022).

A detecção rápida e precisa de doenças tem se tornado prioridade para a saúde mundial, pois um diagnóstico precoce é determinante para o prognóstico do paciente. Além de ajudar a determinar com eficiência políticas de saúde pública. Nesse contexto a hepatite é uma doença viral que possui alta prevalência no mundo e que causa inflamação no fígado com possibilidade de evolução para condições mais graves como: câncer, cirrose e falência hepática (FATTOVICH, 2000; RIZZETTO, MARIO, 2015; SAGNELLI *et al.*, 2021).

Devido a alta prevalência e morbidade da hepatite delta, métodos rápidos de diagnóstico e biossensores para a detecção dos diversos tipos de vírus da hepatite têm sido fabricados. Como principais alvos de pesquisa, tem-se biossensores eletroquímicos capazes de detectar o vírus da hepatite A, hepatite B, hepatite C, e hepatite E (ANTIPCHIK *et al.*, 2021; CAI *et al.*, 2023; CHOWDHURY *et al.*, 2019; DE CASTRO *et al.*, 2022).

Embora muitos biossensores tenham sido desenvolvidos para detecção dos vírus das hepatites A, B, C, e E, a hepatite D é uma doença que tem sido pouco explorada em relação a métodos de diagnóstico rápido. Isso se deve ao fato do vírus da hepatite D precisar do vírus da hepatite B ativo para que uma infecção seja estabelecida (SAUSEN *et al.*, 2022). Apesar da complexidade de manifestação da hepatite D, ela é uma doença com alta prevalência no mundo. No Brasil, ela possui maior prevalência na bacia amazônica e em algumas regiões do estado do Maranhão. As populações cujo índice de infecção é mais alto são: populações isoladas geograficamente, usuários de drogas injetáveis e pessoas com comportamento sexual inseguro (SCARPONI *et al.*, 2019).

Além de ser bastante prevalente em populações de difícil acesso, a hepatite D é a forma

mais severa de hepatite em humanos. Ela contribui significativamente para morbimortalidade dos pacientes, evoluindo para quadros de falência hepática, cirrose e carcinoma hepático em pacientes crônicos (SAGNELLI *et al.*, 2021).

Os métodos mais comuns e padrão-ouro para diagnóstico de doenças virais assim como a hepatite delta são os métodos sorológicos, os quais detectam de forma indireta antígenos ou anticorpos para esse vírus. Além disso, os métodos baseados em PCR são muito utilizados devido às suas altas sensibilidade e especificidade (CHEN, L.-Y. *et al.*, 2021).

No entanto, tais métodos são demorados, necessitam de pessoal treinado e equipamento laboratorial de alto grau de complexidade. Portanto, esses métodos de detecção e diagnósticos não suprem a realidade dos grupos populacionais atingidos pela hepatite D. Logo é necessária uma plataforma de detecção portátil, de fácil manuseio, com custo acessível e que forneça alto grau de sensibilidade e especificidade com o objetivo de rastrear a hepatite D, impedir a disseminação do vírus e tratar rapidamente os sujeitos infectados.

Este trabalho trata do desenvolvimento de uma plataforma completa para análise de biossensores eletroquímicos que pode funcionar tanto como dispositivo final quanto como equipamento de apoio à pesquisa de sensores eletroquímicos. A plataforma é composta por um potenciostato portátil com capacidade de comunicação com ou sem fio através dos protocolos de comunicação USB, Bluetooth e Wi-Fi e ainda foi desenvolvido um programa Desktop para plataforma Windows, para que ela funcione como apoio à pesquisa e um aplicativo Mobile para Android, com o objetivo de comunicar com um dispositivo portátil para integração à nuvem.

Além disso, foi desenvolvido um biossensor eletroquímico e um teste que utiliza algoritmos de aprendizagem de máquina capaz de discriminar indivíduos portadores de hepatite delta de indivíduos portadores da hepatite B com uma acurácia de 92%. Esse algoritmo foi hospedado em um servidor EC2 da nuvem da Amazon, AWS, para testes posteriores e validação da integração entre o hardware e um serviço em nuvem.

1.1 Organização do Trabalho

Este trabalho está organizado conforme as seguintes seções: introdução, fundamentação teórica, capítulo 1, capítulo 2, conclusão e referências. A introdução contém uma revisão da literatura sobre plataformas de análise eletroquímica e os avanços no diagnóstico das doenças causadas pelos vírus da hepatite, problemática acerca do diagnóstico rápido da hepatite delta, uma breve apresentação do trabalho desenvolvido e dos resultados obtidos e por fim uma descrição de suas seções.

A fundamentação teórica possui uma seção destinada a abordar a teoria sobre biossensores, principalmente biossensores eletroquímicos, uma seção para a hepatite D e suas características em termos de transmissão, quadro clínico e diagnóstico, além de conter uma seção sobre aprendizagem de máquina e os algoritmos que foram utilizados neste trabalho.

O capítulo 1 contém a patente intitulada “Plataforma Portátil Integrada Com Envio De Dados Diretamente A Um Sistema Em Nuvem Para Análise De Biossensores Eletroquímicos”. O capítulo 2 possui o artigo referente à aplicação da plataforma em conjunto com um biossensor eletroquímico e algoritmos de aprendizagem de máquina com o objetivo de classificar indivíduos contaminados por hepatite delta por meio de amostras de soro de pacientes infectados.

A conclusão contém uma análise crítica do trabalho destacando os resultados obtidos e a contribuição deste trabalho para a ciência bem como trabalhos futuros que possam ser desenvolvidos a partir deste. E nas referências têm-se o referencial teórico utilizado como fonte de pesquisa e embasamento para o desenvolvimento deste trabalho.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biossensores

Os biossensores são dispositivos que quantificam e qualificam uma substância biológica e convertem o sinal de resposta da interação entre o analito e um receptor em um sinal elétrico. Esses dispositivos combinam uma entidade biológica tal qual: moléculas de DNA e RNA, proteínas/enzimas a um elemento transdutor com o objetivo de observar ou detectar certos elementos biológicos como: uma ligação antígeno-anticorpo, uma molécula de um vírus ou até o produto promovido por ação de bactérias (ALI *et al.*, 2017). A Figura 1 ilustra a arquitetura básica de um biossensor.

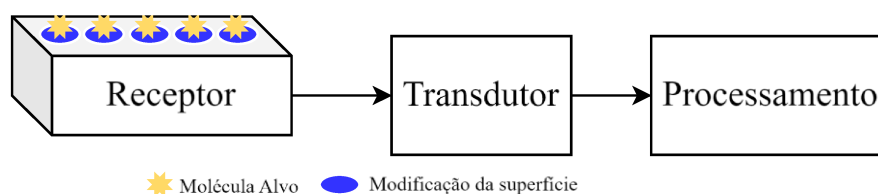


Figura 1 - Arquitetura básica de um biossensor.

Fonte: (acervo do autor).

O receptor é a parte do biossensor que geralmente é modificada para que seja sensível e específica a uma determinada substância. Nos biossensores, a molécula-alvo é um composto biológico. É no receptor que ocorre o fenômeno físico-químico causado pela interação entre a molécula-alvo e a superfície modificada. Tal fenômeno é convertido em um sinal elétrico como uma corrente ou uma tensão pelo transdutor e processado por circuitos eletrônicos (ARYA; DATTA; MALHOTRA, 2008).

2.1.1 Classificação dos Biossensores

Os biossensores podem ser classificados de acordo com o tipo de transdutor utilizado para detectar o fenômeno físico-químico que ocorre na superfície receptora. Portanto, eles podem ser dos tipos: óptico, magnético, piezoelétrico, eletroquímico e termométrico. (ALHADRAMI, 2018; DAMBORSKÝ; ŠVITEL; KATRLÍK, 2016).

Os biossensores ópticos são o tipo mais comum de biossensor, pois oferecem medição direta, em tempo real e *label-free* de muitas substâncias químicas e biológicas. Esses dispositivos exploram a interação da luz com o elemento de bio-reconhecimento, ou seja, ele possui um elemento de sensoriamento biológico e um transdutor óptico que produz um sinal

proporcional à concentração da molécula-alvo (DAMBORSKÝ; ŠVITEL; KATRLÍK, 2016).

Os biossensores ópticos ainda são subdivididos em duas subcategorias: *label-free* e *label-based*. Na primeira categoria, o sinal é obtido pela interação direta entre o material analisado e o transdutor, enquanto na segunda categoria um material ligante (*label*) é utilizado para fixar ao transdutor o material que será analisado. A resposta dá-se por meio da existência, ou não, da ligação entre a molécula-alvo e material ligante ou de um subproduto de uma reação que ocorre na superfície do receptor. O transdutor faz a medição do sinal produzido por um método colorimétrico, fluorescente ou luminescente (DAMBORSKÝ; ŠVITEL; KATRLÍK, 2016). A Figura 2 ilustra um esquema básico de um biossensor óptico.

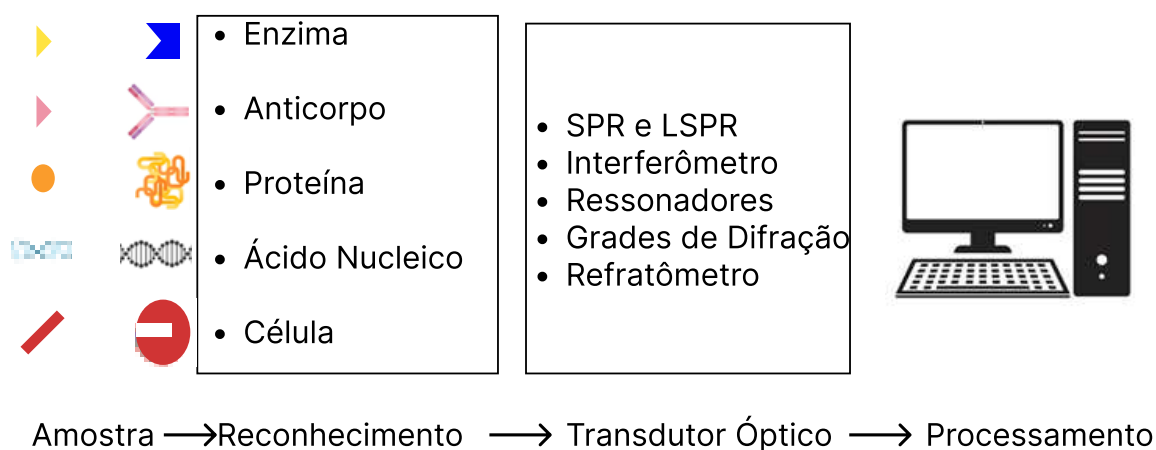


Figura 2 - Esquema de um biossensor óptico.

Fonte: (modificada de DAMBORSKÝ; ŠVITEL; KATRLÍK, 2016).

Os biossensores magnéticos são baseados na exposição a um campo magnético de biomoléculas modificadas com nanopartículas magnéticas que interagem com uma molécula complementar ligada a um sensor de campo magnético. A Figura 3 ilustra um esquema de um biossensor magnético (NABAEI; CHANDRAWATI; HEIDARI, 2018).

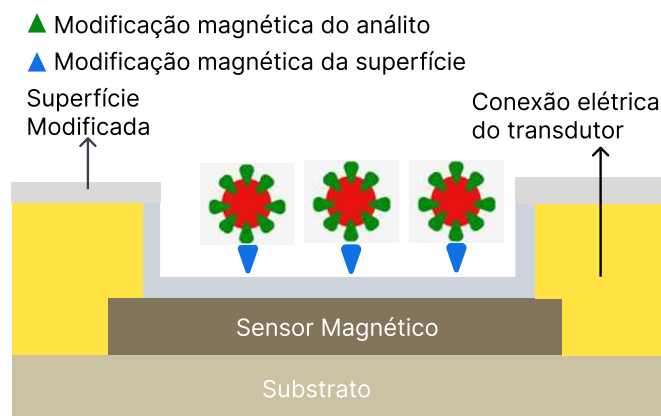


Figura 3 - Esquema de um biossensor magnético.

Fonte: (modificada de NABAEI; CHANDRAWATI; HEIDARI, 2018).

Já os biossensores térmicos são biossensores que monitoram a quantidade de calor liberada em uma reação bioquímica. A quantidade total de calor produzida é proporcional ao número de moléculas e à entalpia do sistema. Alguns biossensores térmicos são utilizados para monitoramento de poluentes em água através da concentração de oxigênio oxidado, já outros utilizam a especificidade do conjunto enzima-substrato para medir o calor produzido por essa reação (LAMMERS; SCHEPER, 1999; RAMANATHAN, K, 1999; RAMANATHAN, KUMARAN; DANIELSSON, 2001).

Além de serem classificados quanto à natureza do fenômeno de transdução, os biossensores podem ser classificados de acordo com a interação entre o analito e a superfície do sensor, neste caso os biossensores podem ser diretos, ou seja, o sensor detecta a reação química ou o fenômeno físico diretamente em sua superfície, ou indiretos, os quais necessitam de uma molécula fixada na superfície do sensor para que o analito possa ligar-se. O primeiro tipo é mais simples de implementar e mais estável, enquanto o segundo tipo é mais sensível, possui menores custo e tempo de processamento (ETEZADI *et al.*, 2017).

2.2 Biossensores Eletroquímicos

Os biossensores eletroquímicos são dispositivos que se baseiam na transdução de eventos eletroquímicos em um sinal elétrico. Nesses dispositivos, o eletrodo de trabalho possui papel fundamental, já que ele serve para imobilizar as biomoléculas e captar a movimentação de elétrons em sua superfície. Esses biossensores são bastante utilizados devido a sua grande variedade de aplicações, custo baixo de implementação e baixo limites de detecção dos sinais que se originam das diferenças entre as correntes Faradaicas e não-Faradaicas (BARANWAL

et al., 2022; CHO; KIM; PARK, 2020).

Uma célula eletroquímica de três eletrodos é a configuração de estudo eletroquímico mais comumente utilizada em análise eletroquímicas. Nesta configuração, ocorre o monitoramento do potencial do eletrodo de trabalho (WE) em relação ao potencial do eletrodo de referência (RE), porém a corrente passa entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar, contra-eletrodo (CE), tal corrente é devido aos processos de oxidação e redução dos compostos presente na célula eletroquímica. Uma vez que nenhuma ou uma pequena quantidade de corrente circula pelo eletrodo de referência ele torna-se uma fonte segura para controlar o potencial do eletrodo de trabalho, normalmente esses eletrodos são compostos por prata/cloreto de prata [Ag/AgCl] (WANG, JOSEPH, 2001; ZOSKI, CYNTHIA G., 2007).

A performance do elemento de transdução é influenciada pelas modificações realizadas na superfície dele. Tais modificações permitem que um elemento biológico se ligue à superfície do eletrodo e a concentração do elemento seja medida, de forma proporcional ou não, em uma resposta de um sinal elétrico (GRIESHABER *et al.*, 2008).

A seletividade desses dispositivos é alcançada através do acoplamento entre a molécula ligada à superfície do eletrodo e a molécula biológica alvo. Tal ligação pode ser realizada de diversas formas como: ligação enzimática, antígeno-anticorpo, moléculas de DNA, aptâmeros, proteínas específicas entre outros componentes (GRIESHABER *et al.*, 2008).

2.2.1 Classificação dos Biossensores Eletroquímicos

Os biossensores eletroquímicos podem ser classificados em relação ao tipo de sinal que medido no transdutor e ao tipo de modificação da superfície. Em relação ao sinal medido eles podem ser classificados em amperométricos, potenciométricos, condutimétricos, impedimétricos e de efeito de campo (BARANWAL *et al.*, 2022).

Biossensores amperométricos medem o fluxo de corrente entre os eletrodos. O sensor amperométrico mais investigado é o biossensor de glicose. A resposta desse tipo de sensor é uma corrente elétrica em função da concentração do analito ou da concentração de produtos formados pela reação entre a substância-alvo e uma molécula específica fixada na superfície do eletrodo de trabalho (JO *et al.*, 2017; ULIANA *et al.*, 2008).

Biossensores potenciométricos tem como princípio fundamental a medição da diferença de potencial devido ao acúmulo de cargas na superfície do eletrodo de trabalho. O método mais comum utilizado é eletrodo seletivo a íons, muito utilizados para medir o pH de substâncias ou o acúmulo de íons na superfície modificada do eletrodo de trabalho. Outro método utilizado é através da utilização de transistores de efeito de campo (FET – *Field Effect Transistor*) com o

GATE modificado com moléculas sensíveis a substâncias biológicas específicas. A variação de potencial no GATE dos transistores de efeito de campo gera uma variação de corrente mensurável no terminal de DRENO que pode ser processada para determinar a concentração da substância investigada (WALKER *et al.*, 2021).

Em relação a biossensores condutimétricos, esses dispositivos baseiam-se na medição da condutividade entre um par de eletrodos metálicos como consequência da ligação de um componente biológico à superfície de um dos eletrodos ou por adição enzimática ao meio liberando ou consumindo íons durante a reação, e dessa forma, modificando a condutância do meio. Esse tipo de biossensor é sensível à variação da temperatura do meio, o que prejudica sua estabilidade (JAFFREZIC-RENAULT; DZYADEVYCH, 2008).

Os biossensores impedimétricos utilizam a variação da resistência no eletrodo em função do fenômeno de bioreconhecimento entre o analito e o bioreceptor. O bioreceptor pode ser do tipo enzimático, utilizar moléculas de ácidos nucleicos, anticorpos ou antígenos, células, microorganismos entre outros. A técnica empregada é a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS – *Electrochemical Impedance Spectroscopy*) (BAHADIR; SEZGINTÜRK, 2016).

Em relação à modificação da superfície do eletrodo, ou seja, a camada em que ocorre o reconhecimento da substância biológica e interação com o analito formada por um bioreceptor com alta seletividade, os biossensores eletroquímicos podem ser classificados de acordo com o tipo de elemento biológico. Esse elemento pode ser uma enzima, ácidos nucleicos, anticorpos, microorganismos ou tecidos orgânicos (GRIESHABER *et al.*, 2008). Em se tratando de detecção do vírus da hepatite os mais comumente utilizados são os que utilizam anticorpos ou antígenos, proteínas e ácidos nucleicos.

2.3 Hepatite Delta

A hepatite delta é uma doença causada pelo vírus HDV, o qual foi primeiramente identificado como sendo um vírus diferente da hepatite B na cidade de Torino, Itália. Desde então, a combinação de coinfeção de hepatite B e hepatite delta é a mais severa forma de hepatite crônica o que eleva o risco de desenvolver complicações como: cirrose e carcinoma hepatocelular (RIZZETTO, M *et al.*, 1977; RIZZETTO, MARIO, 2015).

Essa doença apresenta prevalência distribuída em regiões do Mediterrâneo, Oriente Médio, Norte e Leste Asiáticos. As populações com maior índice de infecção são usuários de drogas injetáveis, imigrantes de regiões endêmicas e pessoas que têm comportamento sexual inseguro (SAUSEN *et al.*, 2022). No Brasil, a região com maior prevalência de casos de

infecção pelo vírus da hepatite D é a região da Bacia Amazônica, uma região peculiar devido ao isolamento geográfico de parte da sua população e dificuldade de acesso a meios eficazes de diagnóstico (SCARPONI *et al.*, 2019). A Figura 4 mostra a distribuição de infectados pelos vírus das hepatites B e D.

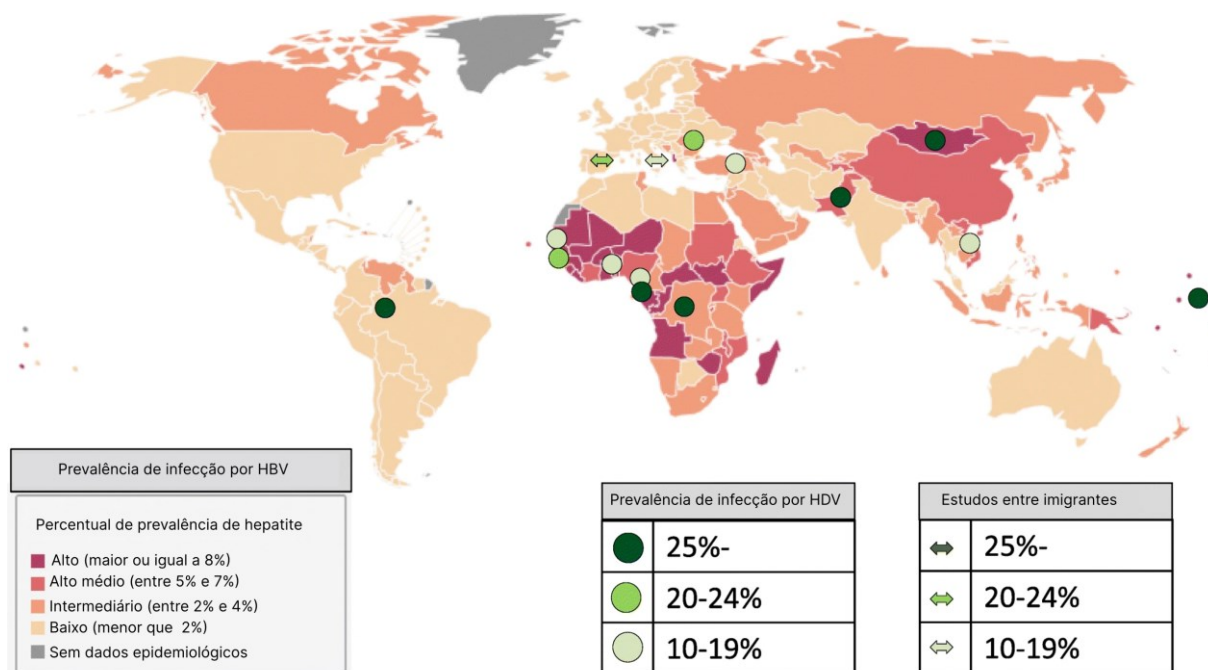


Figura 4 - Índices de prevalência global das hepatites B e D. Com destaque para a região da bacia amazônica com índice de 25%.

Fonte: modificada de (HAYASHI *et al.*, 2021).

2.3.1 Transmissão

A rota de transmissão do vírus da hepatite D é a mesma rota que a do vírus da hepatite B, ou seja, pela via parenteral. O contato com a barreira da pele rompida é umas das maneiras mais comuns, ou seja, o contato com instrumentos perfurocortantes contaminados e relações sexuais sem proteção com indivíduos portadores crônicos são maneiras de contrair o vírus da hepatite D (WHO, 2017). Apesar desses vírus possuírem mesma via de transmissão, o vírus da hepatite D é um vírus defeituoso, pois necessita do vírus da hepatite B para conseguir estabelecer uma infecção, portanto não há infecção em indivíduos que não são portadores da hepatite B, ou seja, apenas em portadores agudos ou crônicos da hepatite B podem desenvolver uma infecção por hepatite D (SAUSEN *et al.*, 2022).

O quadro clínico dos pacientes portadores de hepatite delta varia de acordo com o tipo de exposição do paciente. No entanto, observa-se que pacientes superinfectados, ou seja, aqueles indivíduos que são portadores crônicos do vírus hepatite B e contraem o vírus da hepatite D, progridem mais rápido para as formas mais severas da doença como falência

hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular, pois esses pacientes têm maior chance de tornarem-se portadores crônicos do vírus da hepatite delta (WRANKE *et al.*, 2023).

2.3.2 Diagnóstico

Do ponto de vista clínico, a hepatite D é indistinguível da hepatite B, já que os sintomas de ambas resultam da degradação e morte das células hepáticas. Portanto, o diagnóstico é realizado por meio de teste sorológico específico que revela marcadores para o vírus da hepatite D, uma vez que eles coexistem com marcadores para o vírus da hepatite B e variam de acordo com o grau do vírus e expressão da doença (FARCI, 1986).

Os marcadores para hepatite B são HBs-Ag e IgM anti-HBc. A presença de IgM anti-HBc em altas concentrações é um requisito para o diagnóstico de uma coinfeção. No entanto, esses marcadores não são detectáveis na fase inicial da doença, pois as concentrações deles elevam-se à medida que a infecção avança. Outro marcador, o anticorpo IgG geralmente aumenta várias semanas após a elevação do IgM que se eleva duas semanas após a coinfeção (FARCI, 1986).

Em casos de superinfecção, o diagnóstico é baseado na presença, em estágios iniciais, de HD-antigenemia e viremia e no aumento rápido de ambos os anticorpos IgM e IgG para o vírus da hepatite D, no entanto o anticorpo IgM para HBcAg normalmente permanece ausente ou em pequenas titulações (FARCI, 1986).

Essa dificuldade da diferenciação de uma coinfeção, superinfecção ou apenas uma infecção simples de hepatite B faz com que o diagnóstico seja lento e necessite de equipamentos mais sofisticados. No entanto, a inteligência artificial tem evoluído e pode ser um mecanismo valioso não só para diagnóstico da hepatite D, mas também para o diagnóstico de outras enfermidades.

2.4 Aprendizagem de Máquina

A Aprendizagem de máquina surgiu como uma poderosa ferramenta para lidar com problemas complexos em diferentes áreas do conhecimento, desde reconhecimento de imagens a processamento de linguagem natural. A eficácia dos algoritmos de aprendizagem de máquina consiste nas diversas estratégias de treinamento, as quais permitem que sistemas aprendam a partir dos dados e melhorem com a experiência, facilitando a aplicação desses algoritmos em diversas áreas do saber, incluindo análises preditivas e descobertas de conhecimento alinhando medicina e tecnologia (WATT; BORHANI; KATSAGGELOS, 2016).

A escolha da estratégia de treinamento e algoritmo impacta de forma significativa na performance do modelo, uma vez que cada algoritmo performa diferentemente de acordo com a natureza dos dados, e o tipo de tarefa de aprendizado, necessitando de conhecimento prévio das peculiaridades, capacidades e limitações de cada algoritmo para que seja realizada uma boa implementação em cenários do mundo real (SARKER, 2021).

2.4.1 Classificação dos Algoritmos de Aprendizagem de Máquina

Os algoritmos de aprendizagem de máquina podem ser classificados, de acordo com o tipo de treinamento, em quatro categorias: aprendizagem supervisionada, aprendizagem não-supervisionada, aprendizagem semi-supervisionada, e aprendizagem por reforço (ELSAYED; EROL-KANTARCI, 2019).

2.4.1.1 Aprendizagem não-supervisionada

As técnicas de aprendizagem não-supervisionada são técnicas em que os dados não são rotulados previamente. Elas são bastante importantes para realização de análises exploratórias, já que elas podem descobrir padrões e estruturas no conjunto de dados os quais resultam em informações que posteriormente podem gerar análises mais aprofundadas. Os principais algoritmos de aprendizagem não-supervisionada são: Análise de Componentes Principais (PCA), *k-means clustering*, e os mapas auto-organizáveis-SOM (HEARTY, 2016).

Os algoritmos de aprendizagem não-supervisionada baseiam-se no agrupamento dos dados com base em similaridades ou dissimilaridades entre as variáveis extraídas dos dados. A Figura 5 ilustra o ciclo da aprendizagem não-supervisionada.

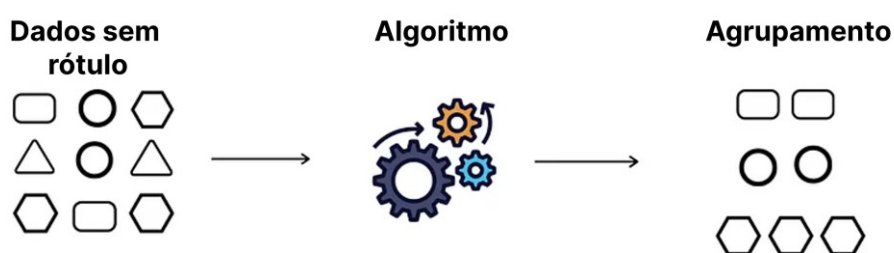


Figura 5 - Ciclo do aprendizado não-supervisionado.

Fonte: modificada de (KOZAN, 2021).

2.4.1.2 Aprendizagem semi-supervisionada

As técnicas de aprendizagem semi-supervisionada consistem na utilização de dados parcialmente rotulados, já que o processo de rotulagem é extenso, há a necessidade de bastante

mão-de-obra o que é passível de erro devido a interferência do processo manual de rotulagem, o que faz com que esse erro se propague para a saída do algoritmo (BI *et al.*, 2022).

2.4.1.3 Aprendizagem por Reforço

Aprendizagem por reforço é uma abordagem em que um programa inteligente, o agente, trabalha em um ambiente conhecido ou desconhecido para constantemente aprender com a experiência baseando-se em um sistema de recompensa/punição. Caso o agente execute uma ação que seja em prol do objetivo, ele recebe uma recompensa, caso contrário, ele recebe uma punição. A partir do sistema de recompensa/punição, o agente aprende qual o melhor caminho para chegar ao objetivo final (NANDY; BISWAS, 2018).

Do ponto de vista de interação com os dados, aprendizagem por reforço não é centrada nos dados, mas sim na observação do ambiente pelo agente. A Figura 6 ilustra o ciclo de interação da aprendizagem por reforço.

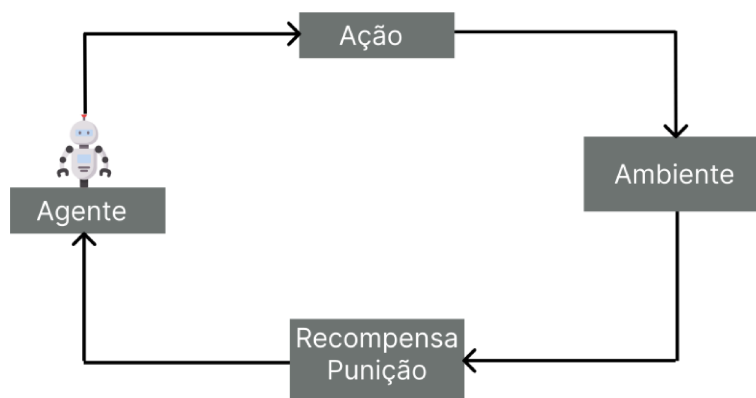


Figura 6 - Ciclo de aprendizagem por reforço.

Fonte: (acervo do autor)

2.4.1.4 Aprendizagem Supervisionada

O método de aprendizagem supervisionada é o tipo de aprendizagem mais utilizado. Ele consiste em rotular os dados com as devidas saídas e o algoritmo aprende uma função que mapeia os dados de entrada para as saídas correspondentes, ou seja, os dados consistem em um conjunto de variáveis de entrada (*features*) e suas saídas correspondentes (KOZAN, 2021).

O conjunto de dados é preparado e rotulado previamente para então o algoritmo aprender uma função que mapeia as entradas a suas respectivas saídas. Assim, que o processo de treinamento é finalizado, o algoritmo pode executar previsões em dados novos como ilustra a Figura 7.

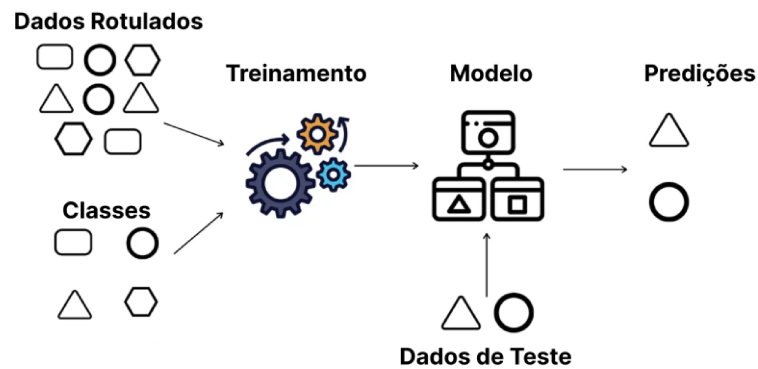


Figura 7 - Ciclo do aprendizado supervisionado.

Fonte: (modificada de KOZAN, 2021)

O método de aprendizagem supervisionada pode ser utilizado tanto para tarefas de regressão quanto para tarefas de classificação. Os algoritmos e as métricas de avaliação são escolhidos de acordo com o tipo de tarefa e natureza do conjunto de dados (KOZAN, 2021).

2.4.2 Tipos de Tarefas em Aprendizagem de máquina

Existem dois tipos de tarefas mais comuns para a área de aprendizagem de máquina: regressão e classificação. Nas tarefas de regressão, o algoritmo tenta aprender uma relação entre as variáveis de entrada e a variável de saída a partir de dados cuja relação entre as entradas e a saída é conhecida. O objetivo de um algoritmo de regressão é reduzir o erro na saída com base no treinamento. As métricas de erro mais comumente utilizadas são o erro médio quadrático, o erro relativo e o erro absoluto (STULP; SIGAUD, 2015).

As tarefas de classificação consistem em fazer com que o algoritmo, com base em um conjunto de dados previamente conhecido e rotulado em pares formado pelo conjunto de características dos dados e as classes as quais os dados pertencem. Portanto, o objetivo do modelo de predição é assinalar um conjunto de características de uma instância em sua entrada a um elemento do conjunto de classes ao qual ele foi treinado. O modelo de classificação resultante é avaliado com base em várias métricas como: acurácia, especificidade, sensibilidade, precisão, *recall*, entre outras (KOTSIANTIS; ZAHARAKIS; PINTELAS, 2006).

2.4.3 Principais Algoritmos de Aprendizagem de Máquina

2.4.3.1 Regressão Logística

A Regressão Logística é um algoritmo de classificação o qual relaciona uma variável independente X a uma variável dependente e dicotômica Y , ou seja, ela assume apenas dois valores: zero “0” ou “1”. Normalmente o zero é utilizado para representar a classe controle ou negativa e o um é utilizado para representar a classe de interesse ou positiva. Como a variável Y é uma variável dicotômica, a regressão logística é um algoritmo que aprende uma função que vai relacionar a variável de entrada X a uma probabilidade de que ela pertença a uma das classes com base no conjunto de características dessa variável, caso a probabilidade seja maior que um *threshold*, o qual é normalmente fixado em 0.5, a instância é classificada na classe positiva, caso contrário, a instância pertence à classe negativa (BONNEY, 1987).

2.4.3.2 Árvores de Decisão

Uma árvore de decisão é um algoritmo preditivo que é tanto utilizado para tarefas de regressão, quanto para tarefas de classificação. Uma árvore de decisão divide o conjunto de dados em vários subconjuntos baseando-se nas características dos dados de entrada com o objetivo de criar ramos que geram uma decisão. Os principais componentes de uma árvore de decisão são: o nó raiz, nós de decisão, ramos e os nós-folha (QUINLAN, 1986). A Figura 8 representa um exemplo de árvore de decisão.

- **Raiz:** esse nó representa o conjunto de dados inteiro. Ele fica no topo da árvore e é normalmente dividido em dois ou mais conjuntos homogêneos.
- **Nós de Decisão:** os nós de decisão são nós intermediários nos quais uma decisão é tomada com base nas características dos dados de entrada. Cada nó decisão representa uma regra de inferência aprendida durante o processo de treinamento.
- **Folhas:** Esses nós são os nós que representam a decisão final da árvore. Em caso de uma tarefa de classificação cada nó-folha representa uma classe dos dados, enquanto em tarefas de regressão as folhas representam um intervalo de uma variável contínua.
- **Ramos:** os ramos representam a ligação entre os nós da árvore.

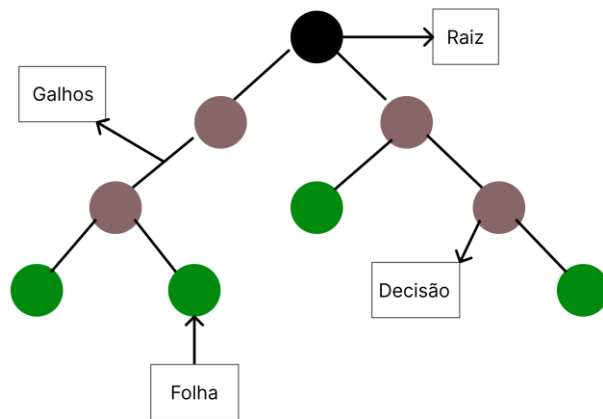


Figura 8 - Modelo de árvore de decisão.

Fonte: acervo do autor.

2.4.3.3 Máquinas de Vetores de Suporte

As Máquinas de Vetores de Suporte (*Support Vector Machines - SVM*) são um conjunto de algoritmos de aprendizagem supervisionada utilizados tanto para tarefas de classificação quanto para tarefas de regressão. Esses algoritmos funcionam traçando um hiperplano n -dimensional que melhor separa as classes dos dados utilizados no processo de treinamento, ou seja, o algoritmo aprende uma função que separa os dados no espaço e o critério de separação são os vetores de suporte (MAMMONE; TURCHI; CRISTIANINI, 2009).

O melhor plano que segrega as classes é o hiperplano que possui a maior margem entre as fronteiras de decisão, como ilustra a Figura 9.

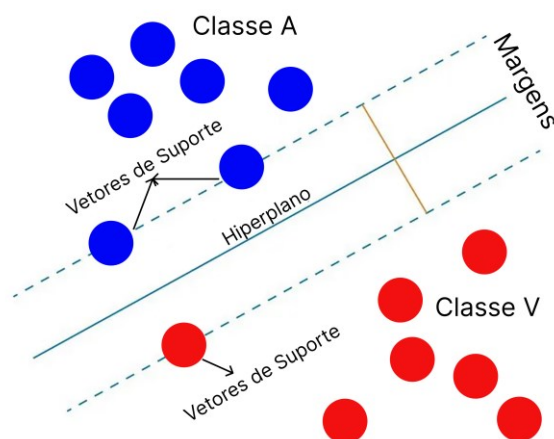


Figura 9 - Hiperplano de separação de uma Máquina de Vetores de Suporte. Ilustrando as margens maximizadas e os respectivos vetores de suporte.

Fonte: acervo do autor.

2.4.3.4 Random Forest

O algoritmo de *Random Forest* é um algoritmo supervisionado que utiliza um agrupamento de várias árvores de decisão que pode ser utilizado para tarefas de classificação e regressão. A tomada de decisão desse algoritmo é realizada por meio de voto majoritário ou média dos resultados, ou seja, cada árvore de decisão da floresta realiza uma predição e a decisão final é a que mais apareceu entre todos os classificadores da floresta (BREIMAN, 2001). A Figura 10 ilustra o diagrama de um algoritmo de *Random Forest*.

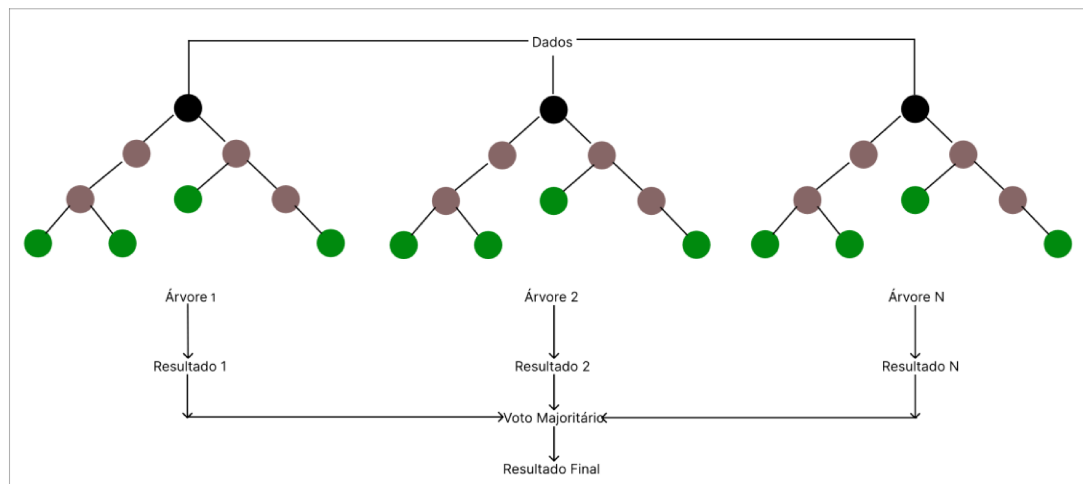


Figura 10 - Ilustração do classificador Random Forest.

Fonte: acervo do autor.

2.4.3.5 XGBoost

O algoritmo XGBoost ou (*Extreme Gradient Boost*) é um algoritmo de aprendizagem supervisionada que pode ser utilizado para tarefas de regressão e classificação que utiliza uma versão otimizada de *Gradient Boosting*, uma técnica de combinação de modelos mais simples. O XGBoost utiliza árvores de decisão treinadas utilizando o gradiente descendente, que é um algoritmo que utiliza o gradiente do erro com o objetivo de otimizar a função de perdas (LU; MA, 2020).

2.4.3.6 KNN – K-Nearest Neighbors

O KNN é um algoritmo de aprendizagem supervisionada simples de ser implementado e que é utilizado para tarefas de regressão e classificação. O KNN assume que elementos semelhantes possuem um espaço de características semelhantes, ou seja, o algoritmo baseia-se na similaridade entre elementos para realizar as tarefas de classificação ou regressão. Para calcular a similaridade entre os elementos, normalmente é utilizada uma função de similaridade, a mais comumente utilizada é a distância Euclidiana (ZHANG, Z., 2016).

O KNN não necessita de treinamento prévio, no entanto ele consome muita memória para grande quantidade de dados. O único parâmetro de ajuste desse algoritmo é o número de vizinhos (k) uma vez que a decisão em tarefas de classificação é dada pela moda dos resultados dos vizinhos mais próximos e em tarefas de regressão a decisão é a média dos vizinhos mais próximos (ZHANG, 2016).

2.4.3.7 Multilayer Perceptron (MLP)

As redes neurais MLP são um método de aprendizagem supervisionada para ambos os tipos de tarefa: regressão ou classificação. Elas são formadas por neurônios dispostos em camadas, as quais se dividem em três tipos: a camada de entrada, as camadas escondidas e as camadas de saída (MURTAGH, 1991). A Figura 11 ilustra a topologia de uma MLP e suas devidas camadas.

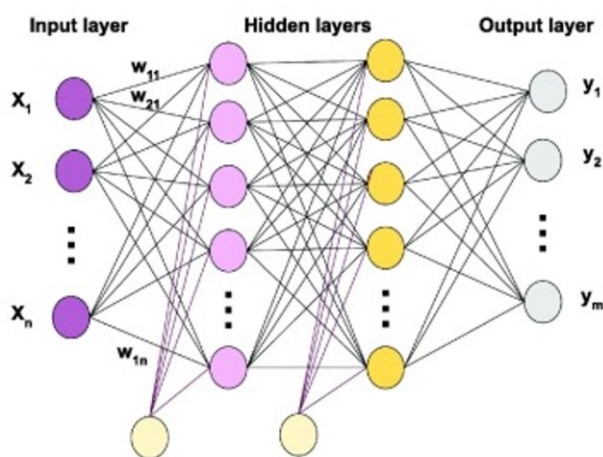


Figura 11 - Arquitetura de uma Rede Neural MLP.

Fonte: modificada de (CHAN *et al.*, 2023).

Como ilustrado na Figura 11, a entrada de uma MLP é um vetor $X [x_1, x_2, x_3, \dots, x_n]$ formado por n características, a qual entra nos neurônios da camada de entrada, tais neurônios possuem uma função de ativação, a qual propaga o sinal das entradas para as camadas subsequentes da rede, ou seja, camadas escondidas. A camada de saída $Y [y_1, y_2, y_3, \dots, y_m]$ é composta pelo número de classes na tarefa de classificação ou por apenas um neurônio de saída em tarefas de regressão (MURTAGH, 1991).

As redes neurais multicamadas apresentam os neurônios da camada totalmente conectados aos neurônios da camada subsequente por meio de pesos W e a saída de cada neurônio é composta pela combinação linear de todos os neurônios da camada anterior. Tal saída passa pela função de ativação, a qual tem a função de inserir não-linearidade ao resultado da combinação linear e prevenir problemas de generalização do algoritmo. O processo de

treinamento de uma rede neural utiliza o algoritmo de *Backpropagation* em conjunto com o Gradiente Descendente para atualização dos pesos em todas as camadas da rede para minimizar a função de perdas (CHAN *et al.*, 2023; MURTAGH, 1991).

3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma plataforma para realização de ensaios eletroquímicos de baixo custo, sem fio, integrada a dispositivos móveis e a computadores com sistema operacional Windows. Adicionalmente, a plataforma deverá operar como dispositivo autônomo para análise imediata de biofluidos e outras substâncias químicas, integrando-se a uma API em nuvem para executar algoritmos de aprendizagem de máquina em tempo real.

Como meta de desenvolvimento inovador, esta plataforma eletroquímica suportada por algoritmos de inteligência artificial foi aplicada para detecção da hepatite delta com o objetivo de fornecer um bioensaio eletroquímico capaz de diferenciar sujeitos com hepatite delta de sujeitos contaminados apenas com o vírus da hepatite B.

3.1 Objetivos Específicos

- Desenvolver o hardware da plataforma;
- Desenvolver o firmware do microcontrolador;
- Desenvolver os programas para integração com dispositivo Android e computadores com sistema operacional Windows;
- Comparar as medidas do sinal eletroquímico do potenciostato desenvolvido com um potenciostato comercial de referência;
- Desenvolver uma plataforma eletroquímica capaz de diferenciar sujeitos com hepatite delta de sujeitos contaminados apenas com o vírus da hepatite B;
- Avaliar o desempenho de diversos algoritmos de aprendizagem de máquina com base na sensibilidade e especificidade na detecção da hepatite delta;
- Hospedar o modelo de algoritmo selecionado em uma nuvem privada para realização de detecção da hepatite D remotamente.

4. PATENTE: PLATAFORMA PORTÁTIL INTEGRADA COM ENVIO DE DADOS DIRETAMENTE A UM SISTEMA EM NUVEM PARA ANÁLISE DE BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS

RESUMO

O presente modelo de utilidade refere-se ao desenvolvimento de uma plataforma integrada portátil para obtenção e análise, em tempo real, de sinais eletroquímicos com suporte à comunicação sem fio, integrada com uma infraestrutura em ambiente de nuvem. Essa plataforma pode realizar a leitura eletroquímica de até dois eletrodos descartáveis de forma independente ou diferencial. Esta plataforma pode realizar a leitura da resposta eletroquímica da amostra e enviar os dados do sinal eletroquímico, por meio de comunicação com ou sem fio, para um dispositivo hospedeiro como um computador, um celular ou um tablet para que esses dados sejam armazenados e analisados. Além disso, esta plataforma pode comunicar-se diretamente a uma aplicação hospedada em ambiente de nuvem sem a necessidade de intercessão com um dispositivo hospedeiro. Considerando sua característica única de integração de um sistema para envio e análise de dados diretamente para um ambiente em nuvem, comunicação sem fio, integrado com ferramentas de análise de sinais eletroquímicos de até dois eletrodos por meio de algoritmos de inteligência artificial permite-se relevante potencial para inserção desta tecnologia no setor industrial de diversas áreas como saúde, controle de qualidade de produtos e processos, indústria química, agricultura e monitoramento ambiental.

Relatório Descritivo da invenção:

"PLATAFORMA PORTÁTIL INTEGRADA COM ENVIO DE DADOS DIRETAMENTE A UM SISTEMA EM NUVEM PARA ANÁLISE DE BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS"

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] Este modelo de utilidade está relacionado ao campo de sistemas e métodos para análise, processamento e transmissão de dados recebidos de um sensor eletroquímico. Particularmente, este modelo de utilidade proporciona a adição inovadora de um sistema para envio das análises diretamente para um ambiente em nuvem, com comunicação sem fio, integrado com ferramentas de análise de sinais eletroquímicos, que podem incluir algoritmos de inteligência artificial e algoritmos de processamento de sinais. O ambiente em nuvem oferece recursos computacionais superiores para realização de análises mais complexas dos sinais obtidos, como algoritmos de aprendizagem de máquina, redes neurais profundas e infraestrutura escalável, o que possibilita: maior acurácia das análises, melhor reprodutibilidade de discriminação em testes de validação, armazenamento seguro dos dados com redução de custos com infraestrutura local sem necessidade de uso de computadores fixos, acessibilidade aos dados das análises em tempo real, interoperabilidade com outros sistemas operacionais, atualização contínua dos métodos de análise permitindo utilização de algoritmos de fronteira-do-conhecimento, escalabilidade, portabilidade, melhor relação custo-benefício, liberação ágil de resultados e simplicidade de operação do sistema, dessa forma permitindo eficiente aplicabilidade industrial.

[0002] Esta plataforma eletroquímica apresenta comunicação e integração a um ambiente de nuvem, o que permite utilizá-la integrada com eletrodos acoplados a potenciostatos para detecção de doenças com base na resposta eletroquímica obtida através de inteligência artificial. Os dados podem ser

obtidos por meio de análise eletroquímica de fluidos biológicos como sangue, urina, saliva, suor e outros.

ESTADO DA TÉCNICA

[0003] Biossensores eletroquímicos são sensores que utilizam os princípios da eletroquímica para detecção e quantificação de substâncias biológicas. Um sistema de biossensor normalmente possui quatro componentes fundamentais: o elemento de reconhecimento biológico, o transdutor, o circuito de mensuração eletroquímica, ou seja, o potenciostato e o circuito de análise e transmissão do sinal medido.

[0004] O elemento de reconhecimento biológico é responsável por reconhecer a molécula-alvo. Esse elemento pode ser uma enzima, uma molécula de DNA ou RNA, um peptídeo, um carboidrato, um anticorpo ou antígeno. O elemento de reconhecimento é fixado na superfície do transdutor por meio de uma modificação na superfície do eletrodo de trabalho. O transdutor tem a função de converter a reação química entre o elemento biológico e o analito de interesse em um sinal elétrico, ou seja, uma corrente ou uma tensão.

[0005] O eletrodo de trabalho pode ser fabricado em diversos materiais tais como: ouro, platina, carbono, grafeno, entre outros. Além disso, ele pode ter a sua superfície modificada de diferentes maneiras com o objetivo de fixar a molécula-alvo na sua superfície. O analito é normalmente um fluido corporal, o qual pode ser um fluido biológico ou uma substância química orgânica ou inorgânica. Em caso de fluidos biológicos, estes podem ser processados previamente ou serem utilizados diretamente após sua coleta. A reação química que ocorre na superfície do eletrodo de trabalho gera uma resposta que pode ser lida por meio de uma técnica eletroquímica, a qual detecta os processos de oxidação e redução das substâncias que ocorrem na superfície deste eletrodo.

[0006] O potenciostato é o elemento responsável por aplicar as técnicas de análise eletroquímica e realizar a leitura

eletroquímica dos sinais gerados pelo processo de oxirredução dos elementos localizados na superfície do eletrodo de trabalho. O processo de oxirredução ocorrido no eletrodo de trabalho pode ser quantificado utilizando-se diversas técnicas de análise eletroquímica como: voltametria, amperometria, espectroscopia de impedância e potenciometria.

[0007] Os sensores eletroquímicos podem ser aplicados não apenas como biossensores na área da saúde, mas também serem utilizados em uma grande quantidade de áreas, tais como controle de qualidade de combustíveis fósseis, detecção de entorpecentes e explosivos, análise de componentes do solo para agricultura, análise da qualidade do ar para monitoramento de gases como Oxigênio, Amônia, Monóxido e Dióxido de Carbono, entre outros.

[0008] Devido à grande versatilidade e alta sensibilidade das técnicas eletroquímicas são apresentadas diversas aplicações de biossensores. Em JP2007003280A foi desenvolvido um biossensor enzimático para medição de ácido fosfórico em fluidos corporais modificando a estrutura do eletrodo, no entanto, este sensor não apresenta integração a nuvem para armazenamento, análise e liberação de resultados em tempo real.

[0009] Na patente US10048221B1, os inventores criaram um sistema para detecção eletroquímica de explosivos através da detecção de cloreto em amostras de solo dissolvidas em um solvente. O potenciostato é ligado a um dispositivo com capacidade para analisar os dados de voltametria cíclica. Neste caso, a limitação e diferença do sistema descrito no presente pedido de patente dá-se pelo uso de um aparelho fixo, o que dificulta a usabilidade do sistema em ambientes de difícil acesso, além de não permitir integração com ambiente em nuvem.

[00010] Existem diversas modificações de biossensores para análise de fluidos corporais, no entanto muitas tratam apenas da construção e concepção do biossensor, mas não integram em uma plataforma completa para análise dos dados, ou seja, os

dados devem ser analisados de forma convencional utilizando um aparelho comercial aplicando pequenas transformações nos sinais eletroquímicos para subsequente inserção manual dos valores obtidos em uma equação de caracterização manualmente como em JP2007003280A e US10048221B1, ou seja, não ocorre o acoplamento a um aparelho portátil capaz de transmitir os dados para um dispositivo hospedeiro que identifica e analisa os dados automaticamente. Além disso, elas também não possuem nenhuma possibilidade de embarcar a análise no próprio aparelho, o que inviabiliza o uso destes sensores em aplicações de *Point of Care*.

[00011] A patente PI05073227A2 também trata de um biossensor eletroquímico para análise de fluidos com o objetivo de detectar uma concentração de analito em uma amostra fluida baseado em um eletrodo impresso em tela por meio de uma ação enzimática para dispositivos de *Point of Care*. Esta inovação também não aborda a integração do sistema a um ambiente de nuvem para análise e armazenamento dos dados.

[00012] O documento BR102022005191-7 A2 é um sistema portátil de monitoramento de contaminantes microbiológicos para indústrias de bebidas e biotecnologia usando imuno-ensaio eletroquímico. Esse sistema realiza um ensaio eletroquímico combinando nanopartículas magnéticas para ancoragem de proteínas específicas que se ligam às substâncias produzidas por microrganismos presentes nos alimentos, formando assim um bioconjugado. O sistema da patente supra-citada foca em inovações ocorridas no eletrodo, o que difere do presente modelo de utilidade, o qual foca na integração do potenciostato com diferentes protocolos de comunicação permitindo integração com uma variedade maior de dispositivos hospedeiros como tablets, computadores, celulares ou transmissão dos dados diretamente para um ambiente em nuvem como AWS, Microsoft Azure ou Google Cloud.

[00013] O documento BR102012021611-6 A2 é um sistema portátil para detecção de cocaína que utiliza um sensor

eletroquímico para análise do sinal de voltametria cíclica em eletrodos quimicamente modificados com complexos metálicos de estrutura Salen e Salcn. Embora esse sistema seja portátil, ele não possui possibilidade de multianálise, análise diferencial de compostos e utiliza outros tipos de análises eletroquímicas como voltametria de pulso diferencial, amperometria ou espectroscopia de impedância.

[00014] Em US11166653B2, o inventor descreve um biossensor portátil, configurável quanto a técnica eletroquímica com suporte de leitura de até dois canais simultaneamente e com suporte à comunicação sem fio e acesso à nuvem. No entanto, tal plataforma somente funciona conectada a um dispositivo hospedeiro e transmite os dados apenas via comunicação sem fio. Além disso, toda a análise é realizada no dispositivo hospedeiro fazendo com que o potenciostato seja apenas para captura e envio de dados, ao contrário desse modelo de utilidade que dispõe de múltiplos protocolos de conexão como USB, Wi-Fi e Bluetooth, o que permite integração com uma variedade maior de dispositivos.

[00015] Os documentos US11179069B2 e EP3942289A4 descrevem invenções cujas aplicações descrevem dois sistemas de monitoramento contínuo de analitos baseado em dois componentes principais: um sensor transcutâneo e um módulo para realizar análises eletroquímicas e enviar os dados, por meio de comunicação sem fio, para dispositivos móveis como um celular. No entanto, tais sistemas são limitados a um único tipo de fluido biológico, o suor, e não tem capacidade de leitura de dois eletrodos simultaneamente. Em contrapartida, o presente modelo de utilidade não se limita a um único fluido biológico, ou seja, ele pode ser utilizado com diferentes tipos de biossensores, apenas realizando modificação na superfície do eletrodo de trabalho, no método de análise e no algoritmo de análise do sinal eletroquímico, pois a plataforma proposta neste modelo de utilidade suporta diferentes tipos de análises eletroquímicas e dispõe de integração com dispositivos de apoio a análise e

caracterização do biossensor. Além disso, este modelo de utilidade com sua integração com ambiente em nuvem permite coletar dados de forma mais célere com o objetivo de treinar novos algoritmos e implementar novas análises de fronteira-do-conhecimento.

[00016] O documento de patente BR102022005191-7 A2 utiliza um método para detecção rápida de contaminantes em alimentos utilizando nanopartículas magnéticas, embora haja semelhanças com o presente modelo de utilidade em relação a algumas funcionalidades percebe-se que essa invenção não possui suporte a dois canais de análise, ou seja, as amostras são analisadas uma por vez. A utilização de uma amostra por vez reduz de forma relevante a aplicação industrial para determinados ensaios e reduz a escalabilidade das análises, fato determinante para aplicação industrial. Além disso, tal invenção apresenta limitações no que se refere a sua utilização em conjunto com um dispositivo externo para controle da plataforma e análise dos dados externamente. Ao contrário do presente modelo de utilidade que dispõe de um controlador robusto para executar os algoritmos de análise independentemente de um dispositivo externo, desde que seja realizado a implementação e caracterização prévia do sensor. Além do mais, a plataforma descrita pelo documento supracitado não possui possibilidade de integração a uma infraestrutura de nuvem, o que limita a sua utilização a análises locais, em contrapartida do presente modelo que prevê integração em nuvem através de um dispositivo de apoio ou sem dispositivo de apoio.

[00017] O documento de patente BR102012021611-6 A2 utiliza voltametria cíclica para detecção de cocaína em amostras líquidas. As características desse documento diferem do presente modelo de utilidade, pois não possui integração com ambiente de nuvem, é limitada à leitura de uma célula eletroquímica convencional e não possui suporte à comunicação com outros dispositivos como Bluetooth, USB e Wi-Fi. Diferentemente do

presente modelo de utilidade que pode ser utilizado tanto com células eletroquímicas convencionais quanto com eletrodos impressos e descartáveis.

[00018] Novamente, as características dos documentos supracitados diferem completamente ou em partes relevantes de interação da aplicação no setor industrial em comparação com o presente pedido de modelo de utilidade. O presente modelo de utilidade possui a capacidade de integração com diversos dispositivos móveis e não-móveis devido aos recursos de comunicação USB, Bluetooth e Wi-Fi contidos em um único dispositivo permitindo maior versatilidade e diversidade de aplicações para o presente modelo de utilidade, além de especificações técnicas únicas de forma integrada.

[00019] Os processos citados acima também não apresentam integração com ambiente em nuvem, o que permite que as análises sejam integradas e monitoradas em tempo real remotamente. Adicionalmente, sabe-se que o presente modelo de utilidade pode ser integrado a sistemas de *Big Data* para atualização dos algoritmos de análise e/ou desenvolvimento de novas análises baseadas em novos dados utilizando soluções inovadoras de inteligência artificial.

[00020] Dessa forma, de forma diferente de outras plataformas que não são completamente integradas, o presente pedido de patente tem como vantagens: ser uma técnica rápida, custo-efetiva, portátil, reproduzível e escalonável, possuir possibilidade de integração em ambientes de nuvem e utilizar recursos de *Big Data* e algoritmos de inteligência artificial. Desta forma, possibilita-se maior versatilidade e sua aplicação em cenários e áreas variadas como: saúde, agropecuária, indústria alimentícia, segurança, entre outros.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[00021] O presente modelo de utilidade é apresentado e caracterizado nas reivindicações independentes, enquanto as reivindicações dependentes descrevem outras características da

invenção ou modalidades relativas à ideia de modelo de utilidade principal.

[00022] Em um primeiro aspecto, o presente modelo de utilidade provê uma plataforma que realiza análises eletroquímica focada na inclusão de um sistema integrado ao potenciostato que permite envio de dados eletroquímicos de forma direta, com ou sem fio, para análise integrada ao dispositivo ou com auxílio de um dispositivo externo, para utilização de algoritmos de inteligência artificial e aprendizagem de máquina, a partir do potenciostato. A integração direta às plataformas em nuvem permite sua utilização em larga escala, portátil e embarcada com algoritmo de inteligência artificial. Neste modelo de utilidade a plataforma desenvolvida é denominada como Bioconnect.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00023] A Figura 1 ilustra a arquitetura integrada da plataforma eletroquímica de análise de fluidos biológicos contendo o equipamento de aquisição e os dispositivos com os quais ela pode comunicar-se com ou sem fio e a plataforma em nuvem.

[00024] A Figura 2 ilustra o diagrama de blocos do dispositivo de análise eletroquímica. Ele é o responsável pelas análises eletroquímicas e envio dos dados obtidos pela leitura do biossensor.

[00025] A Figura 3 demonstra o circuito que tem a função de chavear a alimentação do sistema de análise eletroquímica entre fonte externa e bateria.

[00026] A Figura 4 demonstra a aquisição das curvas de voltametria cíclica em dois tipos de eletrodos, modificado e não-modificado, por meio do presente modelo de utilidade e do potenciostato comercial da PalmSens, Emstat3+ Blue.

[00027] A Figura 5 ilustra os histogramas da corrente anódica e corrente catódica medidas pelo Emstat3+ Blue e o presente modelo de utilidade.

[00028] A Figura 6 ilustra a arquitetura da rede neural proposta para classificar os voltamogramas lidos pelo presente modelo de utilidade e o Emstat3+ Blue entre eletrodos modificados e não-modificados com Rodamina 6G e Nanotubos de Carbono.

[00029] A Figura 7 ilustra o processo de separação das amostras para validação da Rede Neural Convolucional proposta pela Figura 6.

[00030] A Figura 8 ilustra o fluxograma de tratamento dos dados e de inferência na API hospedada.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[00031] Os inventores do presente modelo de utilidade denominado de Bioconnect demonstraram, por meio de experimentos utilizando um experimento comparativo entre eletrodos impressos de carbono não modificados e modificados com Rodamina 6G, que é possível detectar a corrente anódica em μA e corrente catódica μA utilizando um dispositivo host e uma API com os algoritmos de análise hospedados na Amazon Web Service (AWS) provando a inovação para o sistema integrado a um ambiente de nuvem, com comunicação sem fio, que pode ser integrado com ferramentas de *Big Data*, e processamento de sinais, incluindo algoritmos de inteligência artificial e aprendizagem de máquina.

[00032] O presente modelo de utilidade denominado Bioconnect possui três componentes principais que são pioneiramente abordados de forma combinada para alcançar o resultado desejado: i) biossensor com eletrodo de trabalho modificado; ii) plataforma de análises eletroquímicas configurável e portátil; iii) sistema para envio direto de dados eletroquímicos para uma plataforma em nuvem ou dispositivo hospedeiro que permite o armazenamento e análise dos sinais das amostras por meio de algoritmos de processamento de sinais, algoritmos de inteligência artificial e aprendizagem de máquina.

[00033] Frente a estes fatos, o presente pedido de modelo de utilidade descreve atributos pioneiros da plataforma Bioconnect que inclui a capacidade de mensuração de sinais

eletroquímicos em até dois eletrodos dotada de comunicação com ou sem fio para realização de ensaios eletroquímicos e processamento dos sinais obtidos embarcado no próprio dispositivo, com utilização de um dispositivo hospedeiro, utilizado para controle remoto da plataforma e análise dos dados lidos dos sensores, ou utilização integrada diretamente a uma plataforma em nuvem proprietária ou de terceiros.

[00034] A integração com um dispositivo hospedeiro ou a uma plataforma de nuvem oferece recursos computacionais superiores para análises complexas de os sinais obtidos pela análise eletroquímica, como algoritmos de inteligência artificial, aprendizagem de máquina ou técnicas de processamento de sinais tradicionais, proporcionando: (i) Armazenamento seguro dos dados na nuvem, redução de custos com infraestrutura local e sem necessidade de uso de estações de trabalho e processamento fixas; (ii) acessibilidade aos dados em tempo real, permitindo interoperabilidade com outros sistemas e atualização contínua dos algoritmos. (iii) personalização da análise conforme o tipo de elemento que se deseja detectar ou quantificar, escalabilidade para atender às necessidades de usabilidade; (iv) portabilidade, custo-efetividade, liberação ágil de resultados e simplicidade de operação, permitindo aplicação industrial do presente modelo de utilidade.

[00035] Nesse sentido, sugere-se a utilização desta plataforma na triagem de doenças orais e sistêmicas por meio de fluidos biológicos, inclusive a hepatite delta, o que pode permitir a detecção precoce e proporcionar maior qualidade de vida ao paciente. Destaca-se que é possível utilizar a plataforma Bioconnect para outros fluidos derivados de processos industriais, controle de qualidade de alimentos e do controle da qualidade da água de rios, mananciais e afins.

[00036] O presente modelo de utilidade, ilustrado pela Figura 1, trata de um sistema de coleta e análise eletroquímica com Internet das Coisas e integrado à nuvem. Ele possui um módulo

de aquisição e análise eletroquímica (1), o qual utiliza eletrodos descartáveis impressos (2), e LEDs indicadores de ligado, comunicação e posição correta dos eletrodos (3). O módulo pode se comunicar com um dispositivo *host*, i.e., um computador de mesa (4), um tablet (5), ou diretamente com um serviço em nuvem (6), o qual tem as funções de executar a análise da amostra por meio de processamento de sinais ou executar algoritmos de Inteligência Artificial (IA), armazenar dados da análise e encaminhar as respostas das análises aos dispositivos *host*. Além disso, o módulo permite a execução do algoritmo em nuvem ou executar algoritmos de aprendizagem de máquina no próprio módulo de análise eletroquímica, no caso de funcionamento independente, ou conectado a um dispositivo auxiliar.

[00037] O diagrama interno do dispositivo de coleta e análise eletroquímica está descrito na Figura 2. Esse dispositivo pode ser ligado a uma fonte externa de 5.5 V (7) através do conector USB (8), que também possui a função de transferir os dados, este módulo possui um circuito que chaveia automaticamente a alimentação (10) geral do módulo quando uma fonte externa é conectada ao módulo de análise por meio do conector USB, o qual está descrito na Figura 3, ou seja, a alimentação externa passa a ser a responsável pelo fornecimento de energia do módulo e a bateria (12) passa a ser carregada através do circuito de carregamento (11).

[00038] A bateria de alimentação do módulo pode ser uma bateria de íons de Lítio (Li-íon) ou outro material. O circuito de controle de carga pode ser utilizado um circuito integrado TP4056, fabricado pela TPOWER ou outro de similar funcionalidade. Além disso foi utilizado um circuito de proteção para baterias, o qual pode ser implementado utilizando o circuito integrado DW01A da fabricante Eletrodex ou outro que possua igual funcionalidade.

[00039] O microcontrolador (14), é responsável por gerenciar as entradas e saídas, comunicar-se com os dispositivos

auxiliares, por meio dos protocolos de comunicação Bluetooth, Wi-Fi e USB, e controlar qual a técnica de análise eletroquímica que o potenciostato (13) deve executar para realizar a leitura da amostra por meio do circuito (16). O bloco de comunicação Wireless (15) pode utilizar rádios de comunicação Bluetooth ou Wi-Fi ou outro tipo de comunicação sem fio para conectar-se aos dispositivos auxiliares e trocar mensagens e dados com o objetivo de integração com o usuário ou uma plataforma em nuvem.

[00040] O potenciostato (13) é o módulo responsável por executar as técnicas eletroquímicas. Esse circuito integrado realiza técnicas como voltametria cíclica (CV), voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria de onda quadrada (SWV), técnicas de amperometria e espectroscopia de impedância elétrica. Para isso, foi utilizado o módulo OEM com suporte à análise de dois canais de leitura (17), técnica de análise configurável por meio comunicação serial com um microcontrolador ou outro dispositivo que disponha de comunicação serial RS-232.

[00041] **Exemplo 1**

[00042] Este exemplo descreve experimentos de validação da plataforma Bioconnect descrita neste modelo de utilidade acoplada com eletrodos não-modificados e modificados com Rodamina 6G. Este experimento tem como principal objetivo validar as medidas eletroquímicas realizadas pela plataforma configurável de análise eletroquímica e a comunicação entre a plataforma e um dispositivo host.

[00043] **Metodologia Empregada**

[00044] Para validar as mensurações efetuadas pelo potenciostato, realizou-se um ensaio comparativo entre o Bioconnect, presente modelo de utilidade, e o modelo Emstat3+ Blue, fabricado e comercializado pela PalmSens. Neste experimento, foram utilizados eletrodos de carbono impressos da DropSens, modelo 11L. Para isto, foram analisados cinco eletrodos cuja superfície do eletrodo de trabalho foi modificada com Nanotubos de Carbono (NTC) e Rodamina 6G e cinco eletrodos sem

nenhuma modificação.

[00045] O processo de modificação da superfície do eletrodo de trabalho tem o objetivo de aumentar a área ativa deste eletrodo elevando a corrente do sinal elétrico obtido pelo transdutor e estabilizar as leituras tornando-as mais reprodutíveis, este processo de modificação foi idêntico para as duas plataformas em processo experimental realizado no Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho.

[00046] A Rodamina 6G foi previamente diluída em água desmineralizada até uma concentração de 0.5 mg/mL e aplicada ao eletrodo uma quantidade de 5 μ L na superfície do eletrodo em conjunto com nanotubos de carbono. Subsequentemente, esperou-se a secagem da superfície do eletrodo de trabalho ao ar livre, ou seja, sem utilização de fluxo contínuo de ar ou outros mecanismos de ventilação. Uma vez seco, foram realizados cinco ciclos de voltametria cíclica para fixar a Rodamina na superfície do eletrodo. Para isso foi utilizada como solução eletroativa o Ferricianeto de Potássio e Ferrocianeto de potássio, ambos em concentração molar de 5 mmol.L⁻¹ em conjunto com Cloreto de Potássio (KCl) em concentração molar de 0.5 mol.L⁻¹ para transferência de carga a um volume de 100 μ L.

[00047] Os parâmetros da análise de voltametria cíclica foram ajustados como os seguintes parâmetros: tempo de equilíbrio 2s, potencial inicial -0.5 V, potencial do vértice 1 -0.5 V, potencial final +0.7 V, velocidade de varredura de 0.1 V/s, degrau de potencial 0.02 V e número de ciclos igual a 5. Na etapa final dos 5 ciclos o eletrodo é lavado com água e posto para secar.

[00048] A leitura dos eletrodos foi realizada intercaladamente, ou seja, o mesmo eletrodo foi analisado no Emstat3+ Blue, lavado com água destilada e seco ao ar livre. Após a etapa de secagem foi realizada leitura na plataforma com os mesmos parâmetros de análise. Para o eletrodo seguinte, a

ordem do processo foi invertida, ou seja, a leitura foi iniciada pelo presente modelo, ou seja, o Bioconnect.

[00049] A Figura 4 ilustra todas as curvas de voltametria cíclica obtidas pelo processo experimental separadas por eletrodo modificado e por equipamento. Dessas curvas de voltametria cíclica foram extraídas as correntes de pico da fase anódica e da fase catódica de cada grupo, e calculados a média, o desvio-padrão (SD) e o intervalo de confiança (IC) para ambas as plataformas. Essas medidas estão representadas pelas Tabelas 1 e 2. O histograma das correntes anódica e catódica foi extraído com o objetivo de demonstrar a distribuição das medidas conforme ilustrado pela Figura 5.

[00050] Os dados das análises eletroquímicas são empacotados e enviados para a nuvem onde são processados e armazenados. Para posteriormente serem aplicados em um pipeline de extração, transformação e carregamento e aplicados em treinamento de algoritmos de aprendizagem de máquina.

[00051] Tabela 1 - Estatística descritiva das medidas da corrente anódica em μA .

Tipo de Eletrodo	Corrente Anódica em (μA)					
	Emstat3+ Blue			Bioconnect		
	Média	SD	IC (95%)	Média	SD	IC (95%)
Modificado	204.52	9.20	± 3.606	199.16	7.20	± 2.822
Não - Modificado	164.43	5.11	± 2.003	163.83	4.51	± 2.187

[00052] Tabela 2 - Estatística descritiva das correntes catódicas em μA .

Tipo de Eletrodo	Corrente Catódica (μA)					
	Emstat3+ Blue			Biconnect		
	Média	SD	IC (95%)	Média	SD	IC (95%)
Modificado	-209.26	5,16	± 2.023	-198.41	4.67	± 1.831
Não - Modificado	-157.97	6.51	± 2.552	-152.28	5.58	± 2.187

[00053] Em resumo, esses resultados indicam que as medidas realizadas pelo presente modelo de utilidade são foram mais precisas que o produto comercial, portanto podendo ser utilizada para fins de análises mais elaboradas de biossensores proporcionando diversas vantagens em relação às metodologias vigentes para aplicações nas áreas de *Point of Care*, segurança alimentar, análise de qualidade de água, combustíveis fósseis, entre outras substâncias químicas.

[00054] **Exemplo 2**

[00055] Esse exemplo trata-se de um teste de integração da plataforma de *hardware* a uma plataforma em nuvem que hospeda um algoritmo de rede neural cujo objetivo é classificar as amostras obtidas no exemplo anterior em dois grupos: eletrodo não-modificado e modificado.

[00056] **Metodologia Empregada**

[00057] Para validação foram utilizadas tanto as amostras coletadas pelo Emstat3+ Blue e a plataforma Bioconnect, ou seja, totalizando 100 amostras, 50 para eletrodos sem modificação e 50 para eletrodos modificados com Rodamina 6G.

[00058] Para classificação das curvas de voltametria cíclica dos eletrodos não-modificados e modificados foi utilizado uma arquitetura de rede neural convolucional (CNN) de

uma dimensão desenvolvida em linguagem Python utilizando o Tensorflow 2.0. As amostras foram divididas em treinamento e teste na proporção de 50% e 50% respectivamente. A Tabela 3 ilustra o resumo da rede neural utilizada. A Figura 6 ilustra a arquitetura da Rede Neural Convolutacional Utilizada e a Figura 7 ilustra o processo de treinamento e separação das amostras. O processo de normalização dos dados utilizado foi a normalização min-max para que as amostras fiquem em um intervalo $[0,1]$.

[00059] Embora o envio de dados do Bioconnect para análise no algoritmo CNN seja rápido e de forma direta por comandos instalados dentro deste presente modelo de utilidade, no caso da plataforma comercial utilizada foi necessário realizar as seguintes etapas: i) envio de dados para tabulação de tabelas, ii) pré-processamento manual dos dados, iii) conversão dos dados para o formato JSON; iv) envio dos dados para o algoritmo utilizando um programa externo. O treinamento foi realizado com as amostras obtidas pelas leituras realizadas no Emstat3+ Blue e o teste foi realizado pelas amostras obtidas das leituras realizadas no Bioconnect para indicar a qualidade do sinal eletroquímico obtido associado a diversas vantagens com aplicações tecnológicas supracitadas.

[00060] Tabela 3 - Resumo da rede neural treinada para classificar as curvas de voltametria cíclica.

Camada	Entrada/Saída	Parâmetros
Convolutional 1D	(1115, 8)	64
Max Pooling 1D	(557, 8)	0
Dropout	(557, 8)	0
Flatten	(,4456)	0
Full-connected	(,128)	570496
Full-connected	(,64)	8256
Full-connected	(,32)	2080
Full-connected	(,1)	33
Total de Parâmetros		580,929

[00061] A rede neural foi treinada com 100 curvas de voltametria cíclica, 50 do presente modelo e 50 oriundas do Emstat3+ Blue. Para medir a eficiência do modelo, a acurácia foi a métrica utilizada como critério de seleção do algoritmo. Após a realização dos testes, obteve-se a matriz de confusão, a qual está ilustrada na Tabela 4.

[00062] Tabela 4 - Matriz de confusão do algoritmo de Rede Neural Convolutacional unidimensional comparando o sinal de eletrodos sem modificação e modificados com rodamina 6G.

	Modificado (Predito)	Não-Modificado (Predito)
Modificação (Verdadeiro)	25	0
Não-Modificado (Verdadeiro)	1	24

[00063] A Tabela 4 é a matriz de confusão obtida através dos testes. A partir dela pode-se concluir que o algoritmo obteve uma acurácia de 98%, uma especificidade de 100% e uma sensibilidade de 96%.

[00064] Após treinamento e validação do algoritmo, foi desenvolvida uma API em *Flask* de exemplo utilizando a linguagem Python e hospedada na *Amazon Web Services* (AWS), plataforma de serviços em nuvem da Amazon utilizando o serviço EC2 com licença de utilização gratuita por 12 meses. O fluxograma da API está descrito na Figura 8.

Reivindicações

1. Sistema de análise eletroquímica integrado **caracterizado por** aparelho de análise eletroquímica (1) de dois canais para análise em tempo real de eletrodos de superfície (2), com comunicação USB, Bluetooth e Wi-Fi para comunicação com computador (4), dispositivos móveis (5), e ambiente de nuvem (6) para utilizar algoritmos de Inteligência Artificial e Banco de Dados nas análises eletroquímicas para classificação de amostras.

2. O aparelho descrito na reivindicação 1 é **caracterizado por** poder ser alimentado por uma fonte externa (7) proveniente

de um aparelho com comunicação USB ou fonte carregadora de bateria de dispositivos móveis com tensão de 5V, um circuito regulador de tensão (9), um circuito que chaveia automaticamente a origem da fonte de alimentação do sistema entre bateria (12) e a fonte externa (7), um circuito de carregamento de bateria de Íons de Lítio (11), um potenciostato (13) que possui a função de realizar as análises eletroquímicas, um microcontrolador (14) que tem a função de controlar o potenciostato através de comunicação serial e realizar envio dos dados das análises eletroquímicas por meio de comunicação USB (8) ou um rádio sem fio (15), o microcontrolador ainda tem a função de identificar o canal de leitura por meio da presença ou não de eletrodos (17) através do circuito de leitura de presença de eletrodos (16).

3. O circuito para controle de chaveamento entre os tipos de alimentação descrito na reivindicação 2 está descrito na Figura 3 e **é caracterizado** por um transistor MOSFET canal P e um diodo Schottky arrançados de forma a chavear a corrente de alimentação do circuito entre a fonte externa e a bateria.

4. O circuito de detecção de eletrodo descrito na reivindicação 2 **é caracterizado** por ter duas chaves de fim de curso de 1 pólo e 1 posição com o terminal comum ligado ao GND do circuito e o normalmente aberto ligado a dois resistores de pull-up (R1 e R2), dois capacitores (C1 e C2) e a dois pinos do microcontrolador devidamente configurados como entrada.

5. Processo de análise das curvas de voltametria de pulso diferencial **caracterizado pelas seguintes etapas:** aplicação de normalização da curva com base no valor mínimo, transformação do sinal para o domínio do tempo com base na velocidade de varredura, eliminação das amostras iniciais, cálculo da área sob a curva, transformação do sinal para o domínio da frequência utilizando a Transformada Discreta de Fourier, Extração de Features do domínio do tempo e da frequência, Aplicação de

algoritmo de PCA para redução de dimensionalidade e treinamento dos modelos de Machine Learning e Inteligência Artificial.

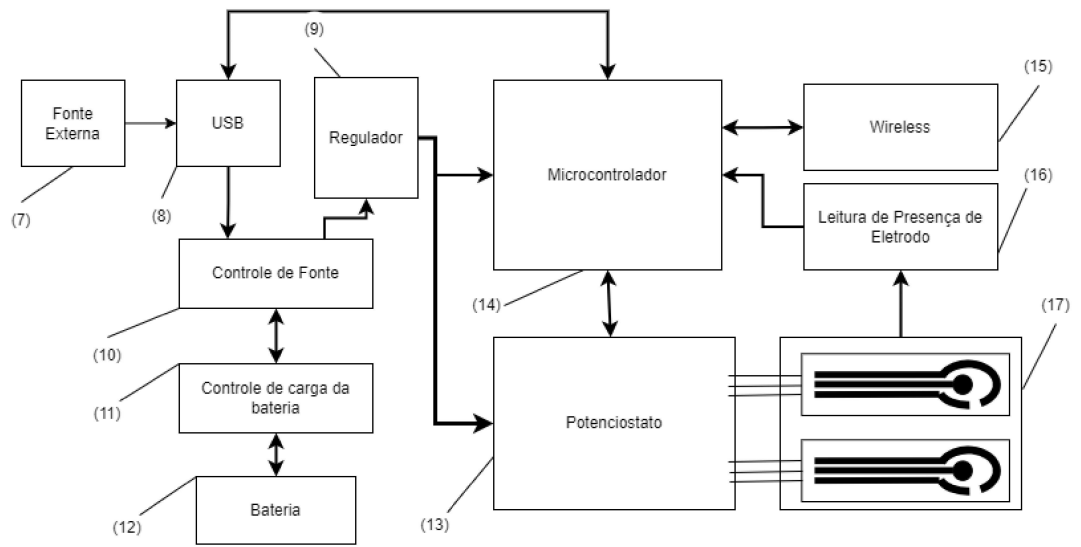


Figura 2

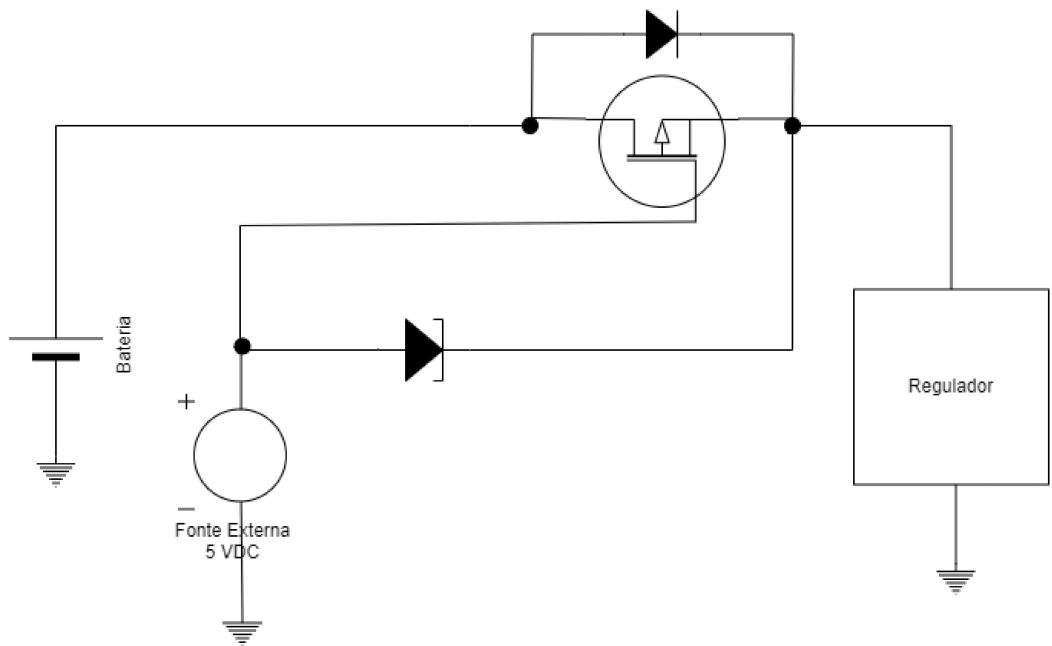


Figura 3

EMSTAT3+ Blue Vs Bioconnect

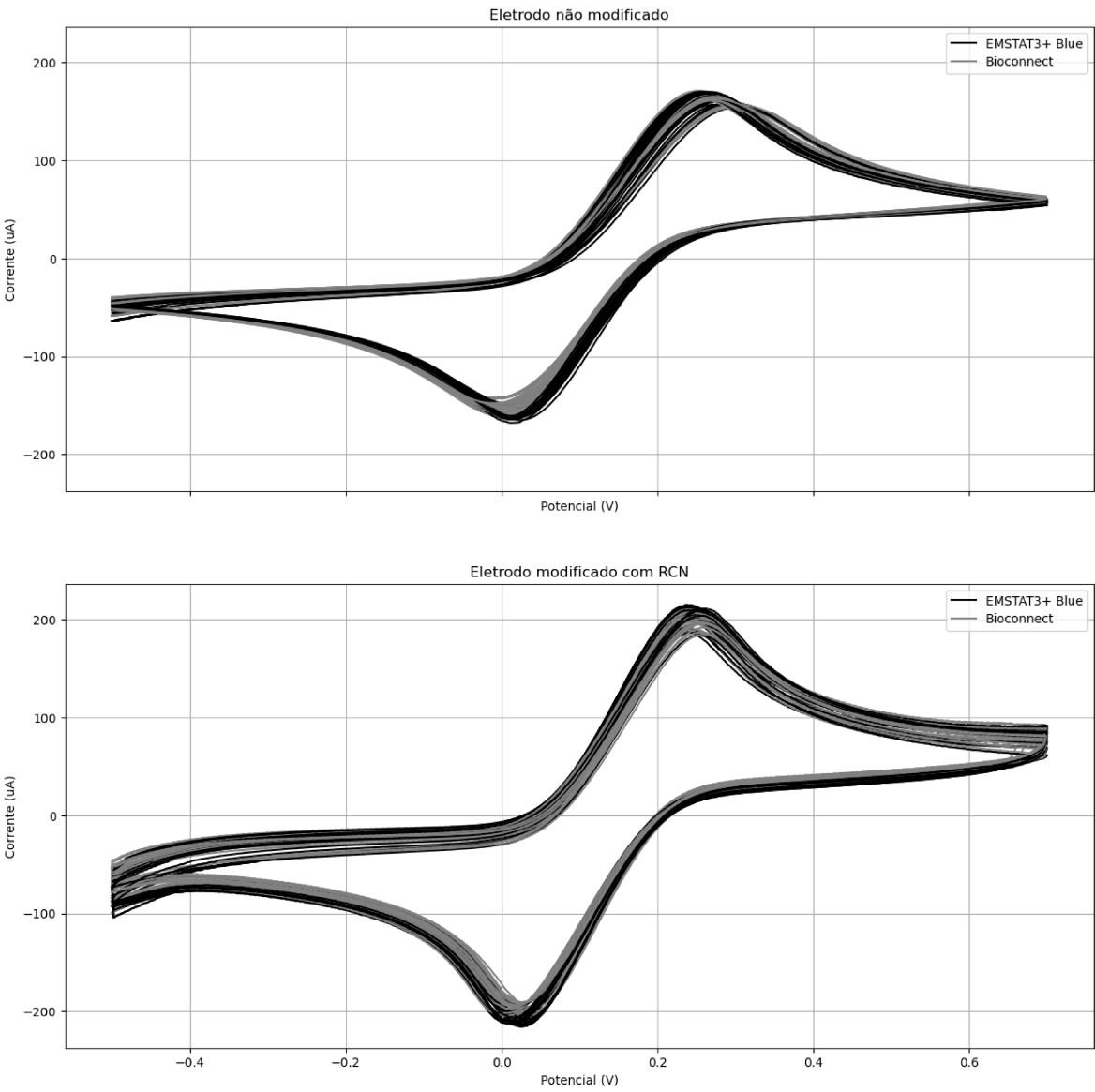


Figura 4

Histograma de Medidas de corrente anódica e catódica

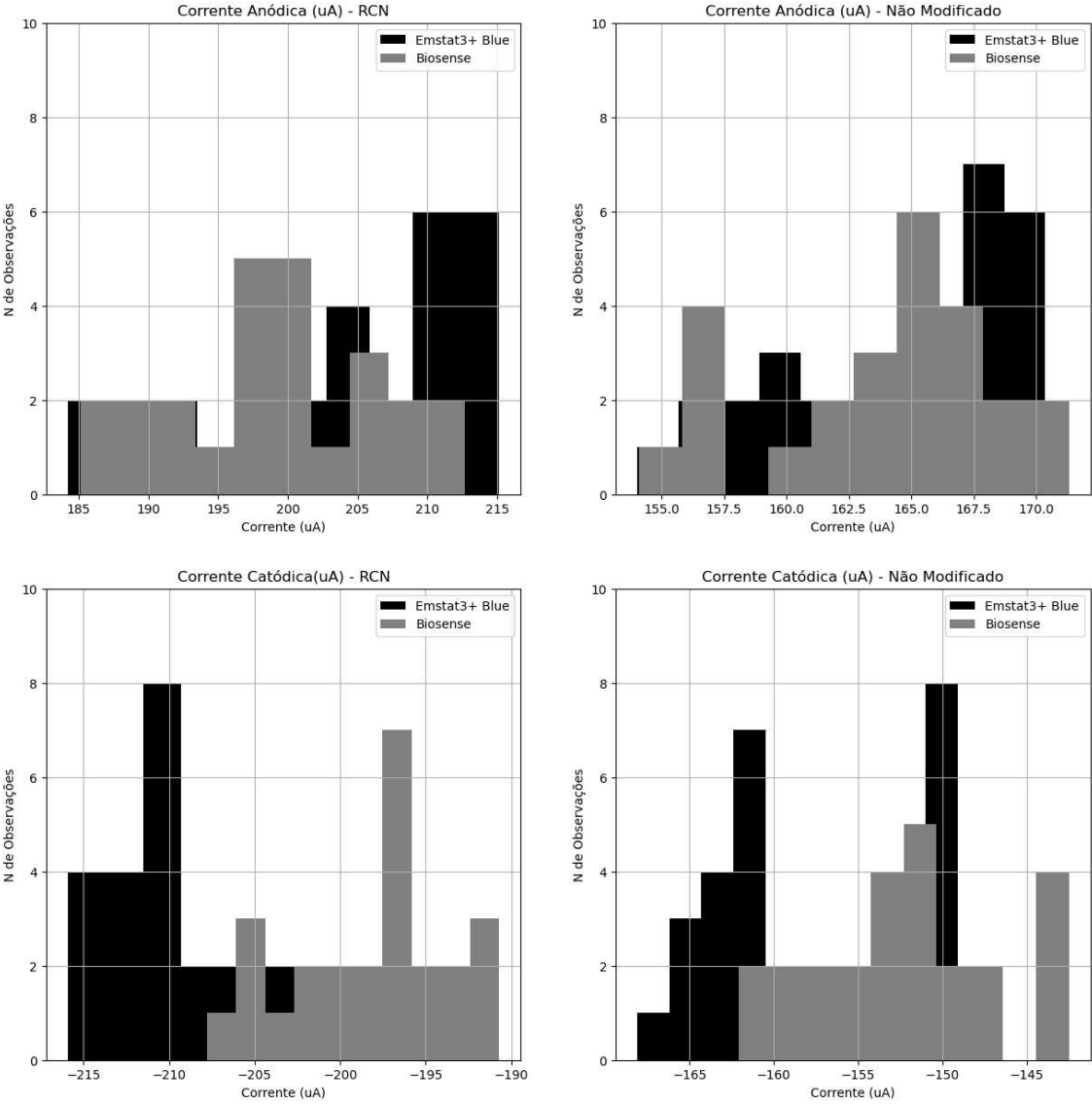


Figura 5

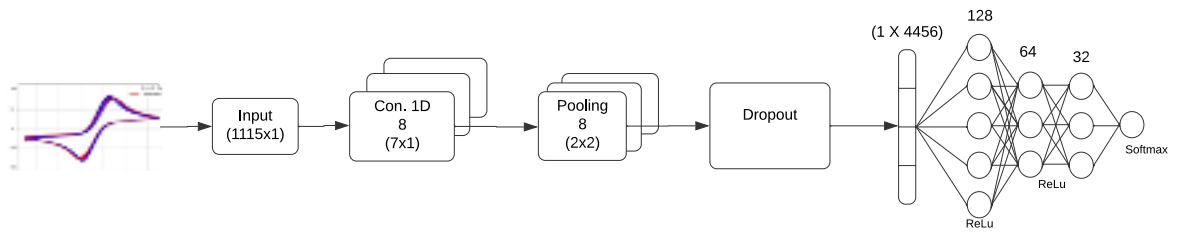


Figura 6

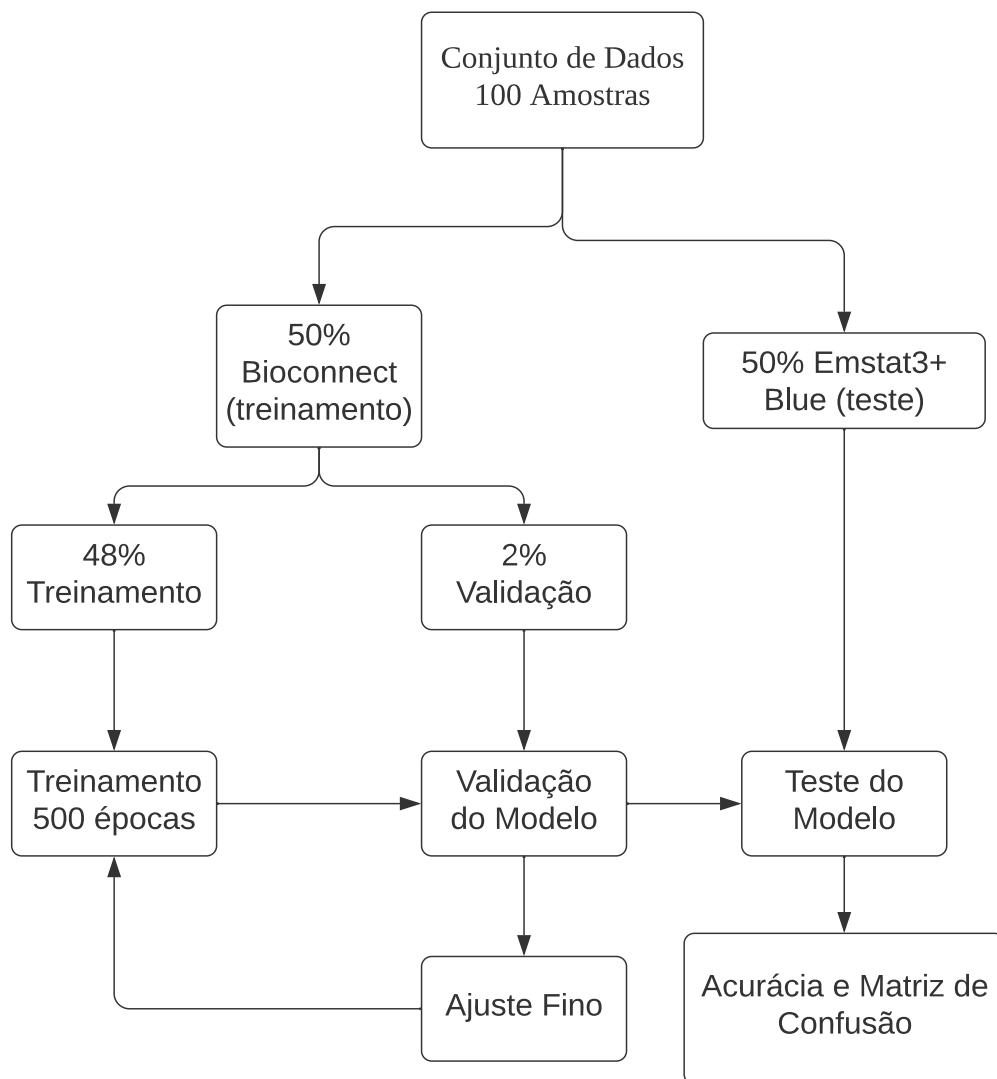


Figura 7

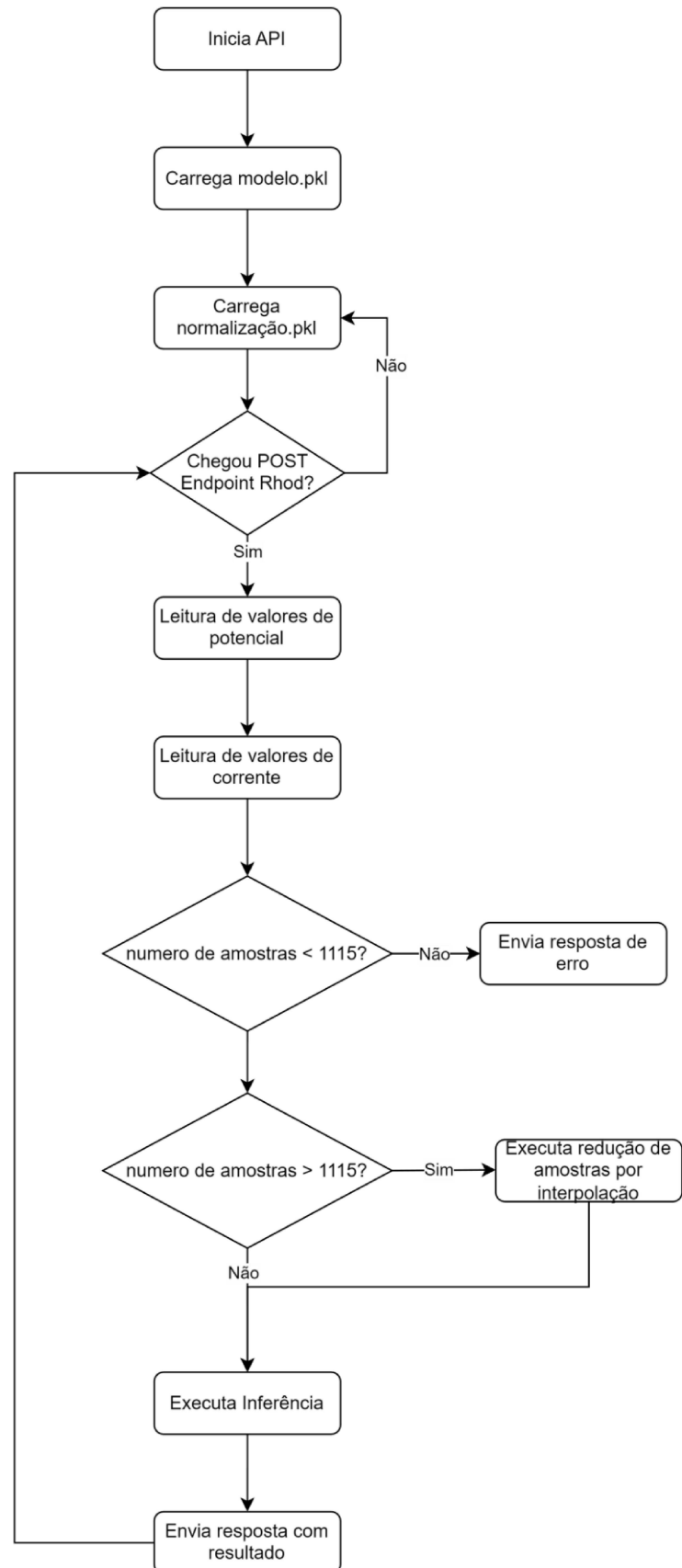


Figura 8

5. ARTIGO 2: BIOCONNECT – A WIRELESS ELECTROCHEMICAL POTENTIOSTAT PLATFORM FOR BIOSSENSORS ANALYSIS BASED ON MACHINE LEARNING ALGORITHMS

Pedro de Souza^{1,2,3}, Ana Flavia Notario¹, Iara Pereira Soares¹, Mariana Araújo Costa^{1,2}, Ana Paula Lima^{1,2}, Fabiana de Almeida Araujo Santos¹, Fabiane Nunes Rielo¹, Kaline do Nascimento Ferreira¹, Eliton Souto Medeiros¹, Cleumar da Silva Moreira³, Thulio Marquez Cunha¹, Mario Machado Martins¹, Luiz Ricardo Goulart¹, Robinson Sabino-Silva^{1,2}

¹Nanobiotechnology Laboratory Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlandia, Uberlandia, Minas Gerais, Brazil

² Innovation Center in Salivary Diagnostic and Nanobiotechnology, Department of Physiology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil.

³ Academic Unit III, Federal Institute of Paraiba, Joao Pessoa, Paraiba, Brazil.

Corresponding authors:

Robinson Sabino-Silva; Federal University of Uberlandia (UFU), Institute of Biomedical Sciences (ICBIM), ARFIS, Av. Pará, 1720, Campus Umuarama, CEP 38400-902, Uberlandia, MG, Brazil. E-mail: robinsonsabino@gmail.com

&

Pedro de Souza, Federal Institute of Paraíba (IFPB), Academic Unit III, Av. Primeiro de Maio, 720 - Jaguaribe, João Pessoa - PB, CEP: 58015-435, Joao Pessoa, Paraíba, Brazil. E-mail: pvesouza@gmail.com

ABSTRACT

Electrochemical biosensors can detect many types of analytes present in different biofluids. The current benchtop potentiostat platforms are expensive and not fully integrated. This work aimed to develop a fully integrated electrochemical platform with a portable and low-cost potentiostat capable of analyzing two electrodes in real time, perform five different types of electrochemical analysis, connect with other devices using USB, Bluetooth, and Wi-Fi protocols, what enables the interaction with computers, mobile devices, and cloud environments for the application of Artificial Intelligence algorithms via AWS cloud in electrochemical signals for sample classification. As proof of concept, this platform called Bioconnect was compared with a benchtop potentiostat (EMSTAT3+ Blue). This comparison was accomplished using Cyclic Voltammetry in a solution of $[K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6]$ with modified electrodes with Rhodamine 6G and Carbon Nanotubes and non-modified electrodes. Comparing these two groups in terms of Anodic current peak and Cathodic current peak means and standard deviation the Bioconnect obtained

standard deviations smaller than Emstat3+ Blue from PalmSens in all categories, what makes the measures of Bioconnect more precise. Moreover, this platform is integrated with an AWS application which runs a machine learning algorithm capable of detecting hepatitis delta, one of the most severe forms of hepatitis which the current standard diagnostic methods are based on chemiluminescent and RT-PCR. To accomplish this, a group of 40 subjects were used for the biosensor design. The platform obtained a specificity of 89.5% and a sensitivity of 85.7% by applying the Univariate Logistic Regression and a specificity of 80% and a sensitivity of 100% by applying a machine learning algorithm approach.

Keywords: Electrochemical platform, Machine Learning, Biosensor, Hepatitis Delta, Cloud

1 INTRODUCTION

2 Electrochemical devices can detect various analytes present in biofluids to
3 perform diagnosis of several diseases. Disease detection can be based on electrochemical
4 analysis that detects peptides, metabolites, lipids, nucleic acids, or pathogens
5 differentially expressed in biofluids (1). The technological application of portable
6 electrochemical sensors has caused a revolution in health and industrial applications (2).
7 Miniaturized, versatile, and compact electrochemical platforms provide rapid, portable,
8 sensitive, selective, and user-friendly disease detection (3–6).

9 The potentiostat is an essential instrument for performing several electrochemical
10 analyses to detect a broad range of analytes. It consists of electronic circuits that control
11 electrical current and perform the measurement of voltage or current. Commercial
12 benchtop potentiostats present critical limitations, including high costs and sophisticated
13 circuit designs, making them less accessible in low-resource settings or public health
14 systems. Besides, some potentiostats are difficult to operate and non-portable causing
15 issues to democratize access to high-throughput tests in precision medicine (7).

16 In contrast to these benchtop devices, a portable wireless electrochemical platform
17 integrated with machine learning analysis provides a promising solution to address the
18 high demand for decentralized, user-friendly, and data-driven analytical tools (8).
19 Miniaturized electrochemical biosensors can provide real-time monitoring of biomarkers
20 associated with a wireless communication module, and a computational unit capable of
21 executing machine learning algorithms, enabling novel healthcare applications (9). The
22 incorporation of advanced signal processing and pattern recognition algorithms in
23 electrochemical platforms can significantly facilitate the framework interpretation and
24 enhance the performance of electrochemical devices, enabling robust decision-making
25 for diagnostic purposes (10).

26 These electrochemical platforms can also be used in environmental chemical
27 monitoring (11) food safety (12), biofluids monitoring (13), and biological element
28 recognition (14–17). Some applications require portability and low-cost designs for *in-*
29 *situ* analysis, thus making use of wireless communication potentiostats with Bluetooth
30 communication (18–22), WiFi (11,13,23), and Near Field Communication – NFC (24),
31 or Smartphone controlled potentiostats using USB (25).

32 This work presents the development of a portable, scalable, and low-cost platform

for detecting Hepatitis D virus (HDV) in positive patients, based on an immunoassay electrochemical biosensor integrated with Bluetooth, USB, and Wi-Fi communication protocols based on Machine Learning algorithms (Bioconnect). This allows full integration with mobile devices and cloud platforms, enabling analysis using not only conventional methods but also machine learning algorithms.

Hepatitis Delta was chosen as a proof-of-concept test for the Bioconnect. This choice is because hepatitis D has a high prevalence index in Brazil, mainly in the Amazon Basin Region (26). The HDV infection is associated with hepatitis B infection and international guidelines recommend testing HDV in hepatitis B positive patients (27). However, there is a large burden on the availability of tests, especially in low and middle-income countries, leading to underdiagnosis, being necessary to increase the strategies for HDV testing (28). The HDV gold standard diagnostic method is RT-qPCR (29) which requires trained professionals, expensive laboratory equipment, and much time to provide results. Making the screening of hepatitis D a hard task in geographically isolated regions such as the Amazon basin. Besides that, while electrochemical biosensors platforms have been developed for hepatitis A detection (30), hepatitis B (31–36), hepatitis C (37–39), hepatitis D electrochemical biosensors remain little unexplored.

To proof the platform efficiency, one comparison between the Bioconnect a benchtop potentiostat using 100 Cyclic Voltammetry readings in a solution of $[K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6]$, the reading performed by Bioconnect obtained smaller standard deviations in all categories what brings more precision to the reading in comparison to Emstat3+ Blue. We also developed a biosensor for hepatitis D detection which used the serum of 40 patients, 20 anti-HBsAg positive and anti-HDV negatives (control class), and 20 anti-HBsAg positive and anti-HDV positives (interest class) achieving a detection accuracy of 87.5% by applying a Univariate Logistic Regression (ULG), and 92% using a machine learning approach. Besides that, a Windows desktop software and an Android mobile application were also developed to control and store data from the potentiostat to be used in further analysis. The machine learning algorithm was hosted in a Flask API in the Amazon Web Services Cloud platform to be consulted from every place with a Wi-Fi connection. Table 1 is a comparison between Bioconnect and other devices.

64

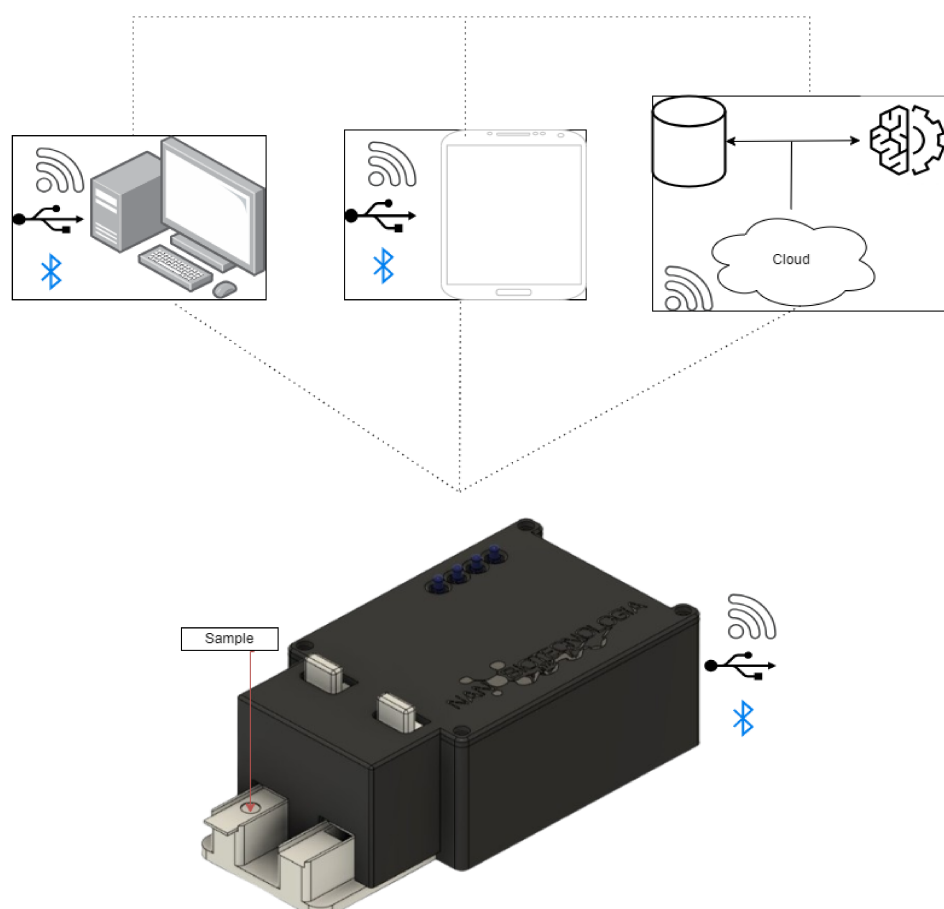
Table 1. Comparative between Bioconnect and other state-of-the-art platforms.

Platform	Techniques	Channels	Comm	Windows	Android	Cloud API/Web	Battery
Bioconnect	Cyclic Voltammetry, Differential Pulse Voltammetry	2	Bluetooth, Wi-Fi, USB	Yes	Yes	Yes	Yes
NanoStat (2)	Cyclic Voltammetry, Square Wave Voltammetry, Chronoamperometry, Pulse Voltammetry	1	Wi-Fi	No	No	Yes	Yes
ACEstat (25)	Cyclic Voltammetry, Pulse Voltammetry, Electrochemical Impedance Spectroscopy	2	USB	No	Yes	No	No
Bianchi et al. (23)	Pulse Differential Voltammetry	1	Wi-Fi	Yes	No	No	Yes
TBISTAT (19)	Electrochemical Impedance Spectroscopy	2-3	Bluetooth	No	Yes	No	Yes

65

66 MATERIALS AND METHODS

67 The smart biosensor is a portable biosensor platform composed of a modified
 68 electrochemical biosensor, a hardware platform for electrochemical analysis, a mobile
 69 application and a desktop software, and a Machine Learning application that receives and
 70 processes all data acquired from the sample. The general structure of the Bioconnect
 71 platform is depicted in Figure 1.



74 **Figure 1 - Bioconnect platform diagram.**

75 Hardware Platform Design

76 The hardware has the function of executing the electrochemical analysis of the
 77 sample and sending all data acquired to a general computer, or a mobile device such as a
 78 tablet or a smartphone, or directly to an API hosted in a cloud environment. To send data
 79 to these devices, the smart biosensor uses USB, Bluetooth, and Wi-Fi communications

protocols, as Figure 1 illustrates. The hardware was designed to be portable, accessible, and support the Internet of Things (IoT).

The potentiostat was designed to read at least two samples and execute at least five types of Electrochemical measurements, including Cyclic Voltammetry (CV), Differential Pulse Voltammetry (DPV), Square Wave Voltammetry (SWV), Amperometry and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS). Figure 2 shows the internal diagram of the platform hardware and its logical links.

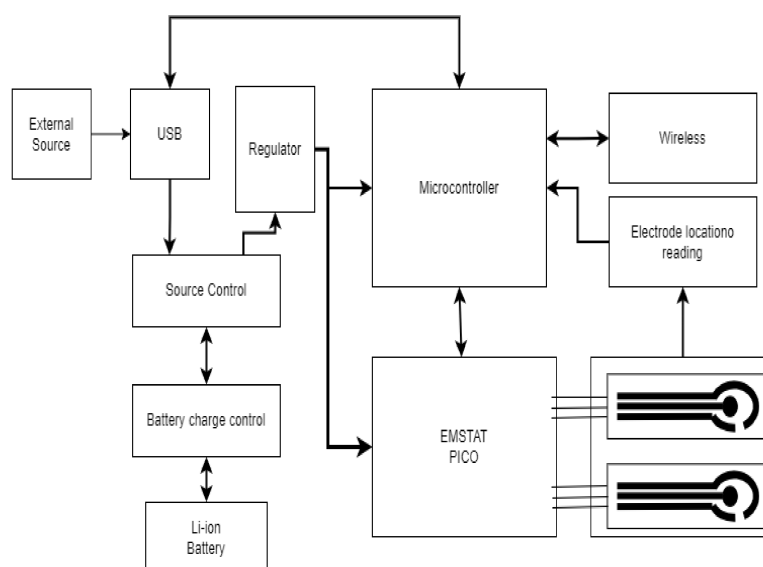


Figure 2. Hardware block diagram of the platform.

Hardware Communication and Potentiostat

The Bioconnect hardware platform was designed into two blocks. The first block was composed of the EMSTAT Pico OEM chip potentiostat from PalmSens. This component provided essential electrochemical measurement capabilities for the biosensor operation and can be operated using MethodScript language (“EmStat Pico Module”, [S.d.]). To implement the MethodScript and control the Emstat Pico as well as communicating with host devices, the microcontroller module chosen was Raspberry Pico W. The Raspberry Pico W provided versatility and accessibility to the Bioconnect platform due to its communication capabilities, programming easiness and low current consumption and great processing power (40,41).

Hardware Platform Evaluation

To evaluate Bioconnect hardware, an experiment was performed using screen-

printed carbon electrodes from Dropsens. For this experiment, 10 commercial electrodes were used and divided into two groups: modified and non-modified electrodes. The two types of electrodes were evaluated using both proposed Bioconnect platform and a commercial potentiostat Emstat Blue (PalmSens). For this purpose, the surface modification process of the Working Electrode (WE) followed the procedure described in (42). The measurements were conducted using both the Bioconnect platform and the Emstat3+ Blue from PalmSens alternately. It was performed five cycles of cyclic voltammetry (CV) using these two devices resulting in a total of 100 voltammograms. These analyses were conducted in a solution of Potassium Ferri-/Ferrocyanide, $[K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6]$, and Potassium Chloride, KCl, with concentrations of 5 mmol.L⁻¹ and 0.5 mol.L⁻¹ respectively. Table 2 shows the CV parameters configured in both pieces of equipment.

Table 2. Cyclic Voltammetry parameters were used to compare the equipment.

Parameter	Value
t_0	2s
E_i	-0.4V
E_{vertex}	0 V
E_f	+0.6V
E_{step}	20 mV
scan rate	100 mV/s

The CV signals were processed using the Python 3.7 programming language and its libraries for data analysis and digital signal processing to extract the anodic peak current (I_{pa}) value and the cathodic peak current value (I_{pc}). Figure 3 illustrates the process of extracting the I_{pa} and I_{pc} currents from the voltammogram. Subsequently, the extracted values from each type of electrode were compared using the mean and standard deviation to determine if the two groups were equal. The analysis was performed using Python 3.7 programming language and its libraries: Matplotlib version 3.5.3, Scipy version 1.7.3, and Numpy 1.21.5 and consisted of comparing the values of I_{pa} and I_{pc} acquired in both equipment.

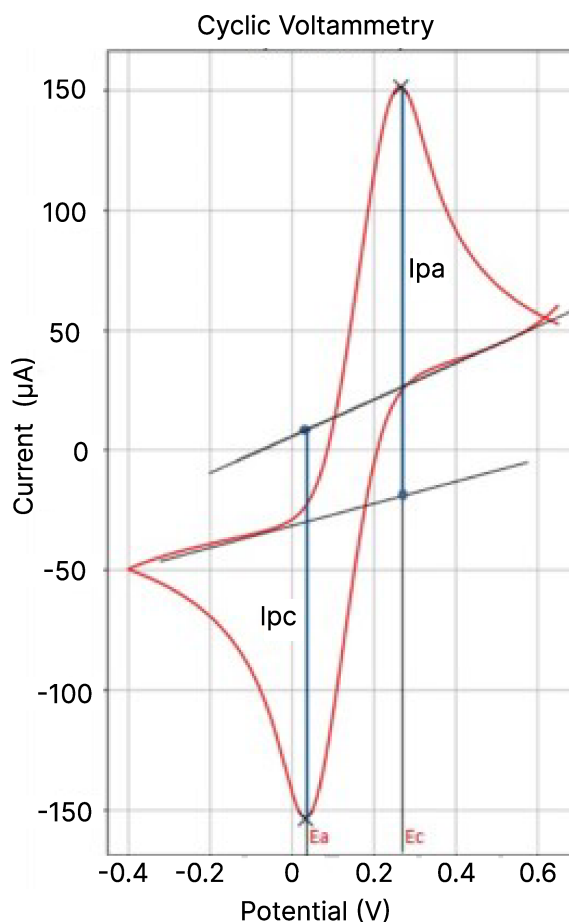


Figure 3. Anodic and Cathodic peak currents extracted from voltammogram.

Delta Hepatitis Biosensor Characterization

Ethical approval and consent to participate

The present study was approved by the Human Research Ethics Committees of the Federal University of Uberlandia under number 4.592.670, CAAE: 44208621.2.0000.5152 following the resolution of the National Council of Health 466/12 and based on the Helsinki Declaration.

Samples, Materials, and Reagents Preparation

For this proof-of-concept test, a total of 40 patients serum samples (20 anti-HDV negatives and HBsAg positives and 20 anti-HDV positives and HbSAg positives). The serum was diluted in PBS 1X at a 1:100 proportion.

To prepare the electrode surface modification, the following materials were used: rhodamine 6G, potassium Ferri-/Ferrocyanide; potassium chloride; disposable carbon screen printed electrodes from Dropsens model 11L, recombinant protein developed at

the Nanobiotechnology Laboratory at the Federal University of Uberlandia using phage-display technology according to (43), secondary HDV antibodies, anti-IgG and anti-IgM conjugate with HRP, and a solution of o-phenylenediamine dihydrochloride (OPD).

To perform the experiments, the recombinant protein was diluted in distilled water at a proportion of 1:100. Subsequently, the secondary antibodies anti-IgG and anti-IgM were diluted in distilled water at proportions of 1:5000 and 1:1000, respectively. After that, the OPD solution was prepared by dissolving 2 mg of OPD in 5 ml of a buffer solution of citrate-phosphate. Then, 2 ml of hydrogen peroxide was added to the solution, which was shaken for 10 seconds and covered with aluminum foil to prevent light incidence to prevent oxidation.

Electrode Surface Modification

All electrochemical measurements were conducted using the Emstat3+ Blue potentiostat from Palmsens. Rhodamine 6G was diluted in demineralized water to a concentration of 0.5 mg.ml^{-1} . The solution of Potassium Ferri/Ferrocyanide and Potassium Chloride was prepared using 5 mmol.L^{-1} and 0.5 mol.L^{-1} respectively.

The process for modifying the surface of the Working Electrode (WE) involves the application of $5 \mu\text{l}$ of Rhodamine 6G onto the WE surface and subsequently dry at room temperature. Then, apply $100 \mu\text{l}$ of Potassium Ferri/Ferrocyanide and Potassium Chloride onto the work electrode surface and perform 5 cycles of CV with the parameters described in Table 3. This process is needed to bind Rhodamine 6G onto the WE surface.

Table 3. Cyclic voltammetry parameters used in electrode modification.

Parameter	Value
tequilibration	2 s
Ebegin	-0.5 V
Evertex1	-0.5 V
Evertex2	+ 0.5 V
Scan Rate	100 mV/s
Estep	0.02 V
n of cycles	5

The Cyclic Voltammetry (CV) parameters are described as follows:

- $t_{\text{equilibration}}$: The time the program waits before starting the CV cycles.
- E_{begin} : The initial potential applied in CV reading.
- E_{vertex1} : The first vertex of the potential, which is the same value as E_{begin} .
- E_{vertex2} : The final potential in CV reading.
- Scan rate: The rate at which the potential is applied to the electrochemical cell.
- E_{step} : The step at which the potential increases.
- n of cycles: The number of cycles until finishing the CV analysis.

After five cycles of CV, the electrode is washed with demineralized water and dried naturally. After the functionalization process, the biosensor is constructed using the recombinant protein, patient serum, antibody conjugated with HRP, OPD, and PDV electrochemical analysis. The steps are described as follows:

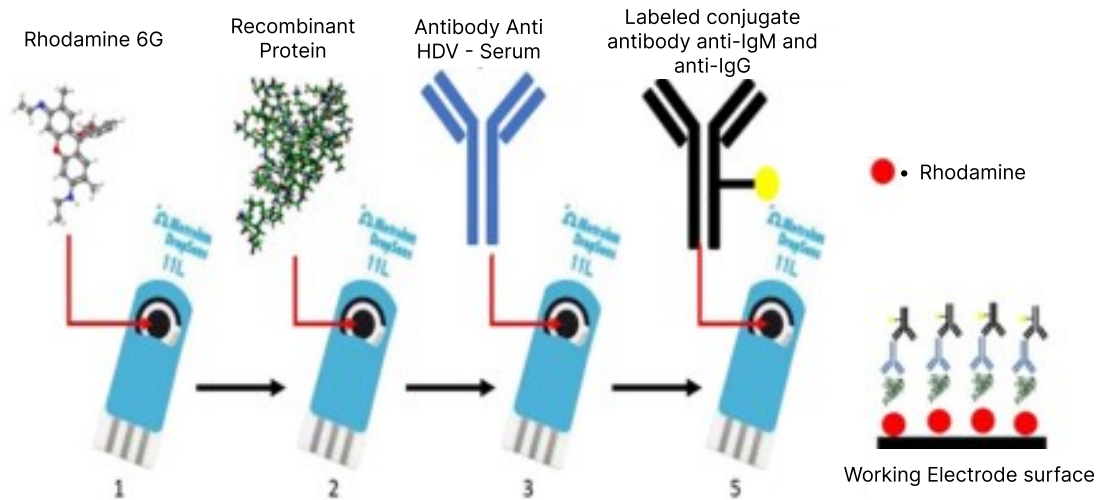
1. Apply 50 ng of recombinant protein on the electrode surface evenly.
2. Let the recombinant protein dry freely.
3. Wash the electrode with demineralized water and allow it to dry naturally.
4. Apply 5 μL of diluted patient serum in PBS1X evenly and let it dry naturally.
5. Wash the electrode with demineralized water and allow it to dry naturally.
6. Apply 5 μL of secondary antibody conjugate labeled with peroxidase (HRP) anti-IgM and anti-IgG in proportions of 1:1000 and 1:5000, respectively, onto the WE surface evenly and let it dry naturally.
7. Wash the electrode with demineralized water and allow it to dry naturally.

Apply 100 μL of the OPD solution and perform a DPV analysis using the parameters listed in Table 4.

190 **Table 4. Differential Pulse Voltammetry Parameters.**

Parameter	Value
<i>tequilibration</i>	0 s
<i>Ebegin</i>	-0.7 V
<i>Eend</i>	0.7 V
<i>Estep</i>	0.01 V
<i>Epulse</i>	0.05 V
<i>tpulse</i>	0.02 s
Scan rate	0.1 V/s

191
192 The process of building the electrochemical biosensor is illustrated in Figure 4.



193
194 **Figure 4. Biosensor construction steps.**

195 **Patient data processing and Features Extraction**

196 The electrochemical data was obtained using the Bioconnect potentiostat running
197 a DPV analysis for every patient in a single process. Figure 5 illustrates the experiment
198 diagram, including the acquisition process and the application of machine learning
199 classifiers.

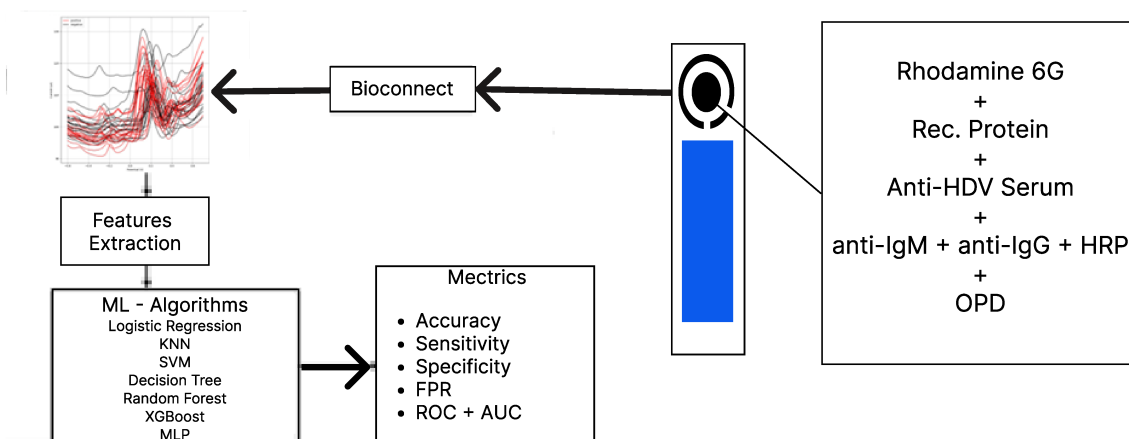


Figure 5. Scheme of the acquisition process and application to ML classifiers.

Features Extraction Process

The process of feature extraction consisted of the following steps:

1. Conversion of the curves to the time domain.
2. Base alignment of all curves.
3. Application of Discrete Fourier Transform (DFT).
4. Extraction of frequency domain features.
5. Extraction of time domain features.

The DPV signal measures the current as a function of the potential applied to the electrochemical cell. To transform the electrochemical to the time domain, Equation 1 was applied. Subsequently, baseline standardization was used and in the last the Discrete Fourier Transform (DFT) algorithm was applied. The time domain features used were mean, maximum, minimum, standard-deviation, range, first quartile, median, third quartile, energy, and kurtosis. The frequency domain features extracted were the first Fourier coefficient, mean, and interquartile range of the coefficients.

$$t[n+1]=t[n]+\frac{E_{final}-E_{begin}}{N \times \text{scan_rate}} \quad (1)$$

where $n = 0, 1, 2, \dots, N-1$, and N is the total number of samples that form the DPV signal. E_{begin} , E_{final} , and scan rate are DPV parameters set on the potentiostat analysis.

The baseline standardization aims to bring all DPV curves to a zero baseline for better analysis of their characteristics. It involves finding the minimum value of the signal and subtracting this value from all samples of the signal, as described in Equation 2.

$$Y[n]=Y[n]-\text{Min}(Y) \quad (2)$$

All features were joined into one dataset containing 40 rows corresponding to the patients and 13 columns. Figure 6 shows the DPV processing steps, where the red means positive for anti-HDV and black means negative.

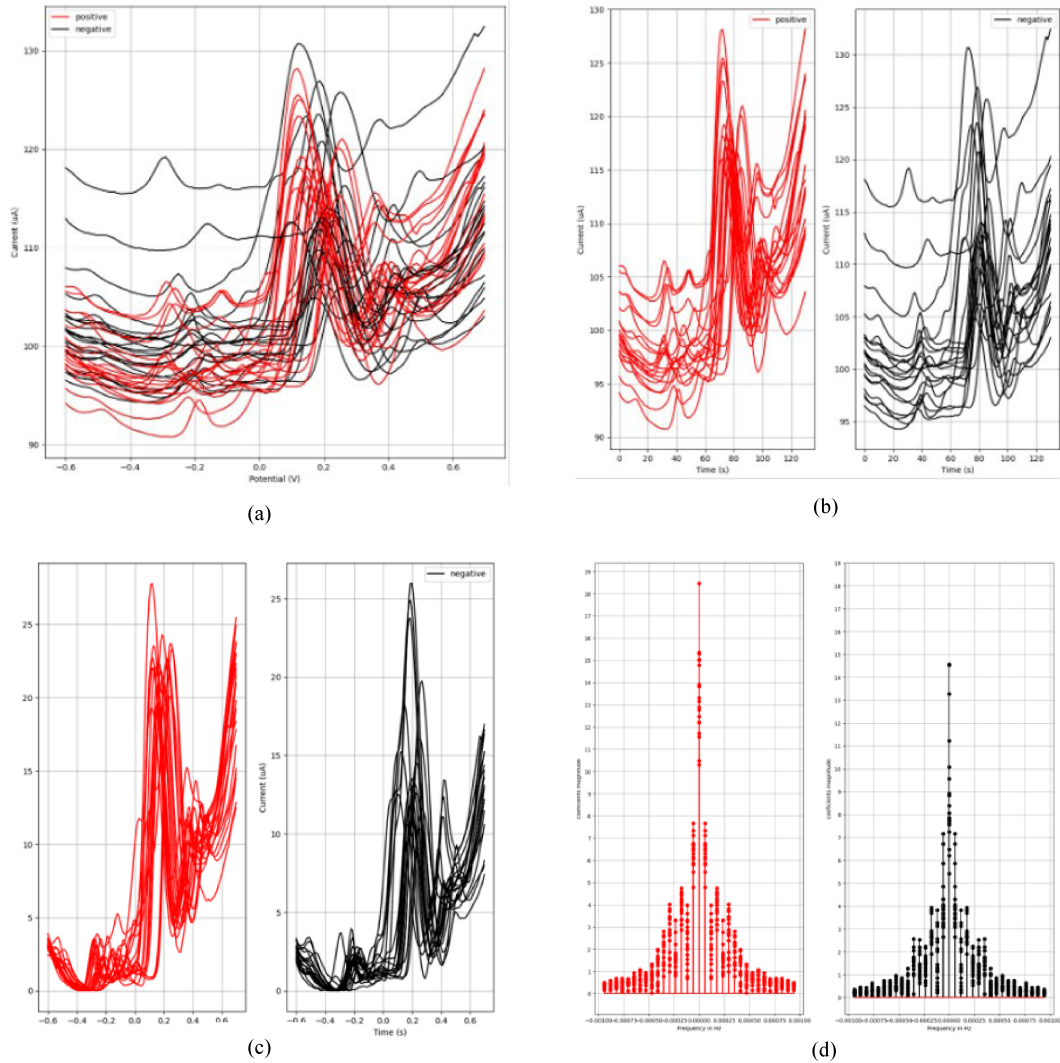


Figure 6 - PDV signal processing steps. a) Original Signal. b) PDV signal in the time domain. c) Base standardization. d) Magnitude of the Fourier's signal coefficients.

Statistical Analysis

The statistical analysis was performed based on the area under the PDV curve using GraphPad Prism 9. Firstly, the anti-HDV negative and anti-HDV positive samples were tested against normal distribution using Shapiro-Wilk test and then the t-Student test was applied to verify the difference between the groups, then a Logistic Regression was applied to find a classification function. The area under the curve was chosen because it represents the total charge involved in the electrochemical reaction. Which can be observed in Equation 3 (44).

$$Q = \int_{t_0}^{t_f} i(t)dt \quad (3)$$

Machine Learning Algorithms

The algorithms used in this experiment were Logistic Regression, K-Nearest Neighbors, Decision Tree, Support Vector Machine, Multilayer Perceptron, Random Forest, and XGBoost. All algorithms were evaluated according to accuracy, sensitivity, specificity, false positive rate, ROC (Receptor Operation Curve) curve, and Area under the ROC curve (AUC).

Training Process

The experiment is a classification task, and the used training strategy was holdout with k-fold with k equals to 5. The data were separated into 70% for training and 30% for testing. Both sets contained negative and positive patients. The seed used to split the sets was 12345.

The k-fold cross-validation strategy was used, and the best classifier was chosen based on evaluating sensitivity and specificity metrics, as well as other metrics such as ROC curve, AUC, confusion matrix, and accuracy. The next sections present all the classifiers evaluated and their respective parameters. All the classifiers implemented used Python 3.7 and scikit-learn libraries. The features selected were those whose Pearson's correlation coefficients were greater than 0.7. The selected features were mean, standard deviation, maximum value, area, energy, interquartile interval, mean of discrete Fourier coefficients, and zero frequency value.

The parameters used in the grid search for each algorithm are described in Table 5.

255 Table 5. Algorithm parameters used in the training process.

Algorithm	Parameters and Values
Logistic Regression	Bias: 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1000 Penalty: L1, L2, Elastic net, No-Penalty Solver: Liblinear, Newton-Cholesky
K-Nearest Neighbors	Number of neighbors: 2,3,4,5,6,7,8,9,10,20,30,40,50
Support Vector Machine	Kernel: Linear, Polynomial, RBF, Sigmoid Degree: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 Gamma: scale, auto
Random Forest	Criterion of Decision: Gini, Entropy, Log-Loss Number of trees: 10, 100, 200, 300
Multilayer Perceptron	Activation Function: tanh, relu Solver: lbfgs, sgd, adam Hidden Layer Neurons: 10,20,30,40,50,100,200 Alpha: 0.0001, 0.001, 0.1, 1.0
Decision Tree	Criterion of Decision: Gini, Entropy, Log-Loss
XGBoost	Loss: Log Loss, Exponential Learning rate: 0.0001, 0.001, 0.1, 1.0 N of estimators: 10 - 100 Criterion: Friedman MSE, Squared Error

256

257 RESULTS

258 Desktop Platform Application

259 The desktop application is used to acquire the electrochemical response signal and
 260 select the type of electrochemical technique applied. This software was developed in C++
 261 language using Qt framework. The communication protocol between the hardware and
 262 the computer is the USB protocol and the data is stored in JSON, CSV archive formats,
 263 and in a PostgreSQL database. The Qt version used was 5.6 and the PostgreSQL version
 264 used was 16.3.

265 The main purpose of the desktop application is to analyze, store, and label data to
 266 build a dataset for signal processing, features extraction, and features engineering to train
 267 machine learning algorithms. Figure 7 illustrates some CV cycles read from the
 268 Bioconnect platform. The data is read using the class QSerialPort from Qt, converted to

JSON and CSV formats and finally stored on the local computer disk.

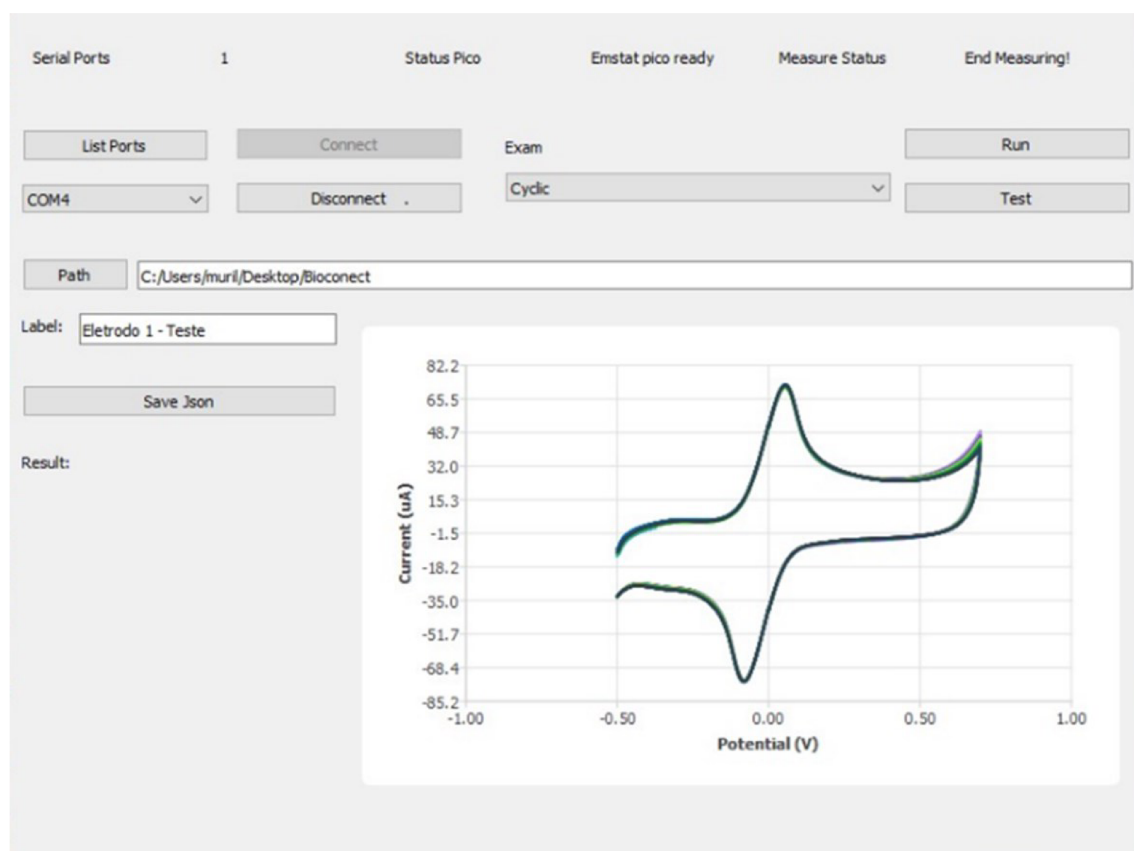


Figure 7. Desktop application.

Mobile Application

The mobile application is an end-user application. It has the objective of interfacing the biosensor platform with the operator in a transparent way. This application was developed for Android API 33 devices and tested in the target device Samsung Galaxy Tab 6. It was designed to communicate with the hardware platform using Bluetooth protocol 2.1 version and communicate with the cloud AWS application using an API interface. The data is stored in the Android application files and synchronized with the cloud API in case of a lack of Internet connection. Figure 8 shows the exam choice screen of the application. For more details, refer to the support information section.

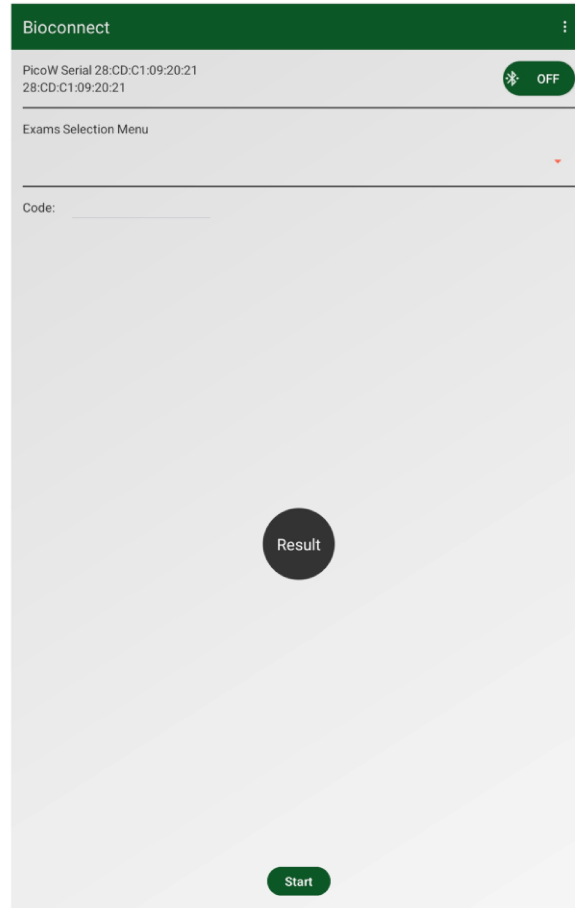


Figure 8. Screen of Bioconnect application.

Circuit Power and Battery Management

Another requirement of the platform is portability. To match this requirement the Bioconnect hardware was equipped with an 1800 mAh Ion-Li battery and a circuit that controls the power source of the system automatically. Thus, when the device is connected to an external USB source, the circuit charges the battery while supplying power to the other components simultaneously. If the external source is removed, the circuit automatically switches to using the Ion-Li battery as the main power source.

The power consumption of the board was calculated by summing up the individual contributions of every active circuit component. Table 6 details the consumption of each component and the total consumption of the board, considering the mean consumption of the active circuit components. For the calculation, it was assumed that each LED consumes approximately 5 mA, and the board incorporates 6 LEDs.

Table 6. Bioconnect hardware consumption.

Components	Consumption (mA)
LEDs	30 mA
Emstat Pico	15 mA
Raspberry Pico W	70 mA
TP4056 Module	22 mA
Total	137 mA

This should allow a time function of approximately 13 hours. Considering a 5-minute measurement, it is possible to perform approximately 156 exams until recharging. The hardware potentiationstat has the following characteristics:

- DC potential range: -1.2V to 2.0V.
- Maximum reading current: 3mA.
- EIS range: 0.016Hz to 200kHz.
- Current detection range: 100 η A to 1mA.

Emstat3+ Blue Vs Hardware Platform Comparative

Figure 8 shows the 100 voltammograms read by the two devices, 50 using modified electrodes and 50 using non-modified electrodes. From these voltammograms, the anodic and cathodic current descriptive statistics are shown in Table 7 and 8 respectively.

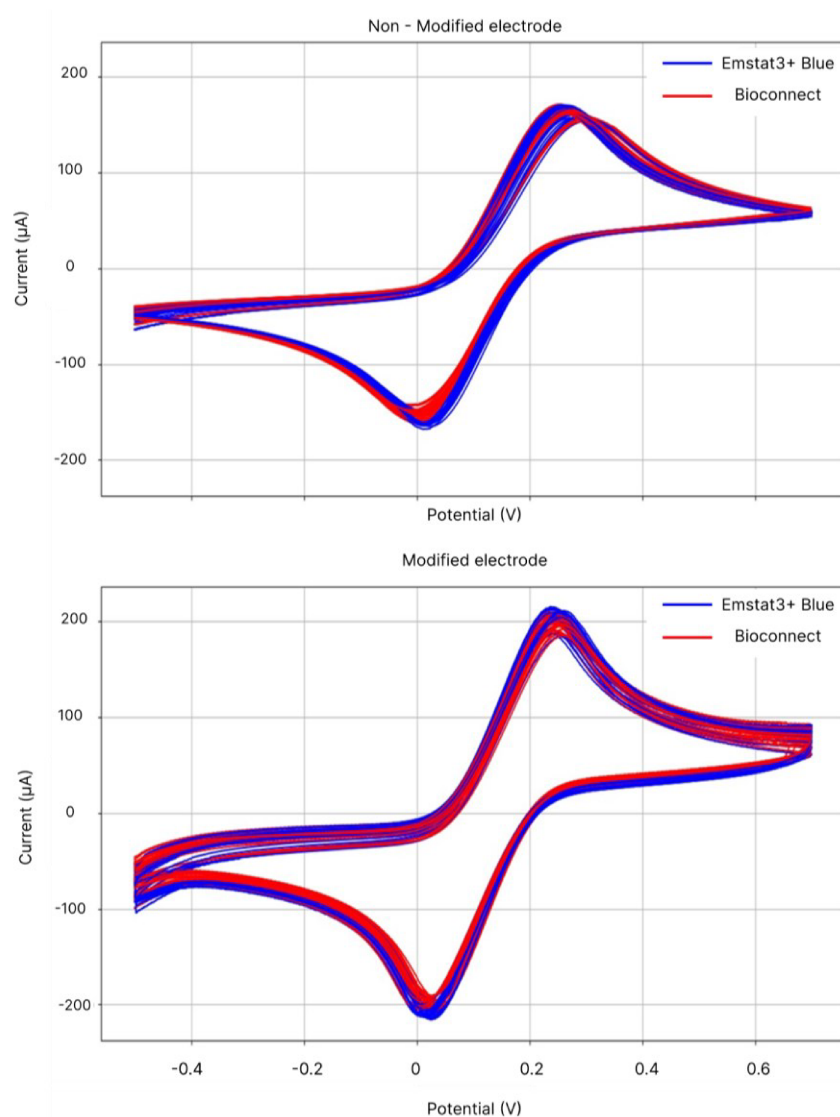


Figure 8. Comparative CV curves between Emstat3+ Blue and Bioconnect.

Table 7 - Anodic current measures descriptive statistics

Electrode Type	Emstat3+ Blue			Bioconnect		
	Mean	SD	IC(95%)	Mean	SD	IC(95%)
Modified	204.52	9.18	± 3.61	199.16	7.20	± 2.82
Non-modified	164.43	5.11	± 2.00	163.83	4.51	± 1.77

Table 8 - Cathodic current descriptive statistics.

	Emstat3+ Blue			Bioconnect		
Electrode Type	Mean	SD	IC(95%)	Mean	SD	IC(95%)
Modified	-209.26	5.16	± 2.02	-198.41	4.67	± 1.83
Non-modified	-157.97	6.11	± 2.55	-152.28	5.58	± 2.19

According to Tables 7 and 8, it is possible to observe that the standard deviations and intervals of confidence were smaller for Bioconnect measures than those measured by Emstat3+ Blue. This means that the measures were more reproducible in Bioconnect than in Emstat3+ Blue for the same conditions revealing more precision in Bioconnect readings.

Statistical Analysis Hepatitis Delta Samples

Table 9 shows the results obtained using the Shapiro-Wilk test.

Table 9. Result of the Shapiro Wilk Test of the two sample groups.

Group	p-value
Control	0.0082
HDV-positive	0.4670

The t-Student test was used to verify the difference between the groups. This test obtained a p-value less than 0.0001, which means that groups were statistically different. Finally, a Logistic Regression was applied using the 40 subjects (20 anti-HDV negative and 20 anti-HDV positive). Table 10 is the confusion matrix obtained by applying logistic regression.

Table 10. Confusion Matrix of the univariate logistic regression.

	True predicted	False predicted	Accuracy (%)
Observed True	17	3	85.00
Observed False	2	18	90.00
Total	19	21	87.50

Logistic regression obtained a specificity of 85.7% and a sensitivity of 89.5%.

Equation 4 is the logistic regression with a threshold of 0.5,

$$P = \frac{e^{-8.279+0.01137x}}{1 + e^{-8.279+0.01137x}} \quad (4)$$

where x is the area under the curve.

Models Evaluation

Features Selection Criteria

The features selected were those whose Pearson's correlation were greater than or equals to 0.7. Of all features extracted from the PDV signal, only **dc**, **time_area**, **dft_mean**, **iqr**, **energy**, **time_max**, **time_std**, and **time_mean** obtained coefficients greater than 0.7.

Where:

- **dc** is the continuous component of the signal or mean value.
- **time area** is the area under the DPV signal.
- **dft mean** is the mean of the Discrete Fourier Transform coefficients.
- **energy** is the signal energy.
- **time max** is the maximum value of the DPV signal in the time domain.
- **time std** is the standard deviation of the DPV values in the time domain.
- **time mean** is the mean of the values of the DPV signal in the time domain.
- **iqr** is the interquartile range.

The metrics used to evaluate the model performance were accuracy, sensitivity, specificity, false positive rate, and ROC curve. Accuracy, sensitivity, specificity, and false positive rate (FPR) are defined in Equations 5, 6, 7 and 8 respectively (45).

The primary goal of the algorithms is to classify HDV seropositive subjects from control subjects, where the positive class indicates subjects infected by the hepatitis D virus and the negative class indicates the absence of any type of hepatitis infection.

$$\text{Accuracy} = \frac{TP+TN}{TP+TN+FP+FN} \quad (5)$$

$$\text{Sensitivity} = \frac{TP}{TP+FN} \quad (6)$$

$$\text{Specificity} = \frac{TN}{TN+FP} \quad (7)$$

$$\text{FPR} = 1 - \text{Specificity} \quad (8)$$

Where TP and FP represent true-positive and false-positive cases, and FN and FP represent false-positive and false-negative cases, respectively.

The best algorithm was chosen based on the means of accuracy, sensitivity, and specificity and tested with the test set. These values are shown in Table 11.

Table 11. Mean of the cross-validation experiment with machine learning classifiers.

Classifier	Accuracy	Sensitivity	Specificity	FPR
Logistic Regression	0.92	0.80	1	0
KNN	0.88	0.96	0.83	0.17
Random Forest	0.85	1	0.74	0.26
SVM	0.83	1	0.71	0.29
Decision Tree	0.83	0.96	0.74	0.26
MLP	0.83	1.0	0.71	0.29
XGBoost	0.83	0.96	0.74	0.29

The classifiers were also evaluated using the ROC curve and AUC. Figure 9 shows the ROC curves and AUC using only the test set and best classifier of the cross-validation.

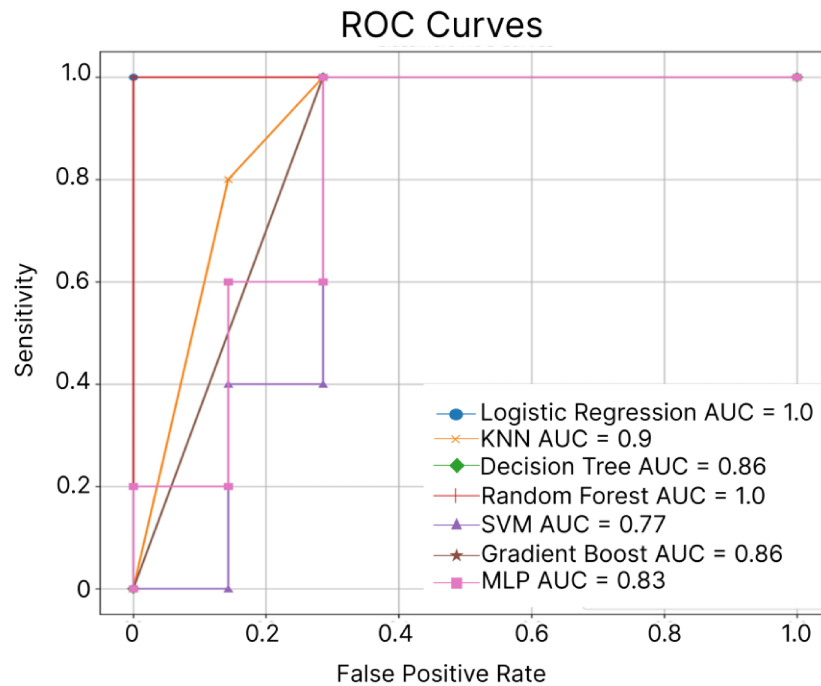


Figure 9. ROC curves classifiers.

Table 11 shows that the Multivariate Logistic Regression and KNN algorithms had the best performance based on accuracy and sensitivity criteria. In terms of ROC curve Figure 9 shows that the Logistic Regression and Random Forest classifiers performed better both presenting an AUC of 1.0. ROC curve and AUC are crucial for diagnostic methods as they correlate the specificity and sensitivity tradeoff of the method. Because of that the Multivariate Logistic Regression classifier was chosen as the best classifier.

The parameters of the best Multivariate Logistic Regression algorithm are described in Table 12.

Table 12. Parameters of Multivariate Logistic Regression obtained after the training and evaluation process.

Parameter	Value
C	0.001
Penalty	L2
Solver	Llinear

Upon evaluating the performance of various classifiers, the Multivariate Logistic Regression was identified as the superior model. Consequently, it was selected for integration into the API, facilitating inferences in a cloud environment when the device is online. Additionally, this integration supports scenarios where a Bluetooth connection is established with a host device, ensuring versatility in its application.

SUPPORT INFORMATION

All the programming source code, data, data analysis, desktop application and Android Application, circuit and printed circuit board schemas are described in <https://github.com/pvesouza/Bioconnect>.

DISCUSSION

The development of the Bioconnect means great advancement in integrated and portable electrochemical biosensors systems, once it brings improvements with respect of traditional potentiostats. More than that it brings new analysis using machine learning and AI algorithms.

The bioconnect is a versatile and low-cost platform, compared with state-of-the-art systems such as NanoStat (2), TBISTAT (20), Bianchi et al. (22), and ACEstat (24) it is possible to conclude that Bioconnect has differences that highlight its strengths.

Comparison with other works

The NanoStat is a wireless and open source potentiostat. Its strengths are flexibility and connectivity, however Bioconnect is a totally flexible platform because it not only has wireless capabilities with Wi-Fi and Bluetooth protocols, but also has a USB connection which is used for charging the battery and sending data to a desktop computer. Besides that, Bioconnect uses machine learning algorithms for data analysis, bringing more agility for qualitative tasks.

Comparing to Burgos-Flórez et al.'s TBISTAT Bioconnect can perform until five electrochemical analysis including cyclic voltammetry, pulse differential voltammetry, chronoamperometry, square wave voltammetry, and electrochemical impedance spectroscopy (EIS), while TBISTAT is designed to perform only EIS which can restrict biosensor applications.

While Bianchi et al.'s developed a Wi-Fi Cloud-Bases portable potentiostat which uses the cloud capabilities for data storage and processing, Bioconnect not only offers

AWS cloud capabilities and integration via Wi-Fi, but also offers other options like USB and Bluetooth for integration with other devices and besides that can perform two channels reading simultaneously.

ACEstat, as described by Brown et al., is an open source potentiostat which is cost-effective and is more suitable for academic purposes. In contrast, Bioconnect fills the gap between academic and educational uses for high-performance diagnostics, making it suitable for clinical applications.

Precision and Integration

The comparative analysis with the EMSTAT3+ Blue potentiostat demonstrated that Bioconnect had a higher precision, presenting smaller standard deviations in anodic and cathodic current peaks what makes Bioconnect suited for high resolution applications.

Application of Machine Learning

Bioconnect uses a machine learning algorithm hosted in an AWS EC2 cloud instance to analyze electrochemical measurements. This represents a pioneering approach in electrochemical biosensing. This ability to integrate with cloud-based AI tools can enhance diagnostic speed and precision for patients' classification. While the evaluation of hepatitis delta patients achieved a specificity of 89.5% and a sensitivity of 85.7% with Univariate Logistic Regression, the AI approach achieved a better sensitivity (100%) and better accuracy (92%).

Clinical and Practical Implications

Bioconnect proved that it can be used not only for academic and educational purposes, but also for clinical trials once it could distinguish positive anti-HDV and HBsAg subjects from control samples with HBsAg positive and anti-HDV negative with accuracy of 92% using machine learning techniques and an accuracy of 87.5% using Univariate Logistic Regression.

Future Directions

More research is necessary to understand the full potential of Bioconnect platform. For instance, it is needed to test the platform performance with more diseases and analytes, test the performance of different AI algorithms and Deep Learning

approaches. With respect to the Delta hepatitis trial, it is necessary to test the influence of other clinical diseases using other interferents into the sample and different electrochemical methods to enhance the specificity and sensitivity of biosensor.

Thus, Bioconnect represents a significant advancement in the electrochemical biosensing area because it combines high precision, machine learning connectivity and cloud computing in one device which make it suitable for not only educational purposes, but also for commercial applications in different areas.

CONCLUSION

In this work, a new platform for electrochemical biosensors utilizing wireless communication and cloud integration for real-time detection of delta hepatitis subjects using machine learning algorithms was developed. The platform potentiostat was designed to be portable, scalable, and support both wireless and wired communication using USB, Bluetooth, and Wi-Fi protocols. Besides that, it was tested against a commercial potentiostat to verify measurement reproducibility.

The electrode modification process and bio essay showed efficiency in immobilizing the recombinant protein to retain HDV antibodies in a reproducible process. This was tested using 40 blood samples, 20 HbSAg positive and anti-HDV negative and 20 HbSAg positive and anti-HDV positive. Statistical analysis and logistic regression obtained a specificity of 85.71% and a sensitivity of 89.47% and the Multivariate Logistic Regression algorithm obtained a specificity of 80% and sensitivity of 100% with an overall accuracy of 92% in the test set. This showed that the application of machine learning algorithms and features engineering processes improved the performance of the detection of HDV viruses in real patients.

As demonstrated, the platform offers an innovative, rapid, simple, and scalable way of detecting HDV viruses in the field in difficult access regions. Furthermore, this platform can be used for detecting other targets and diseases by adapting the biosensor modification and retraining the machine learning algorithms scaling the process for new diseases.

ACKNOWLEDGMENTS

The Authors would like to acknowledge the FAPEMIG, INCT, IFPB, and UFU for the funding and infrastructure support and especially for the PhD. Luiz Ricardo Goulart Filho.

REFERENCES

1. Wang, Joseph. *Analytical Electrochemistry*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2001.
2. Lee SCH, Burke PJ. NanoStat: An open source, fully wireless potentiostat. *Electrochimica Acta*. 2022 Aug;422:140481.
3. Lopes LC, Santos A, Bueno PR. An outlook on electrochemical approaches for molecular diagnostics assays and discussions on the limitations of miniaturized technologies for point-of-care devices. *Sensors and Actuators Reports*. 2022 Nov;4:100087.
4. Campuzano S, Pingarrón JM. Electrochemical Affinity Biosensors: Pervasive Devices with Exciting Alliances and Horizons Ahead. *ACS Sens*. 2023 Sep 22;8(9):3276–93.
5. Maduraiveeran G, Jin W. Nanomaterials based electrochemical sensor and biosensor platforms for environmental applications. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 2017 Jan;13:10–23.
6. Koudelka-Hep M, Van Der Wal PD. Microelectrode sensors for biomedical and environmental applications. *Electrochimica Acta*. 2000 May;45(15–16):2437–41.
7. Vidotto LHB, Wachholz Junior D, Kubota LT. A simple and low-cost portable potentiostat with real-time data sharing for wireless electrochemical analyses. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2023 May;937:117414.
8. Hubble LJ, Wang J. Sensing at Your Fingertips: Glove-based Wearable Chemical Sensors. *Electroanalysis*. 2019;31(3):428–36.
9. Mondal S, Zehra N, Choudhury A, Iyer PK. Wearable Sensing Devices for Point of Care Diagnostics. *ACS Appl Bio Mater*. 2021 Jan 18;4(1):47–70.
10. Beniczky S, Karoly P, Nurse E, Ryvlin P, Cook M. Machine learning and wearable devices of the future. *Epilepsia* [Internet]. 2021 Mar [cited 2021 Nov 19];62(S2). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epi.16555>
11. Zhou AY, Baruch M, Ajo-Franklin CM, Maharbiz MM. A portable bioelectronic sensing system (BESSY) for environmental deployment incorporating differential microbial sensing in miniaturized reactors. Senko JM, editor. *PLoS ONE*. 2017 Sep 15;12(9):e0184994.

- 507 12. Ge Y, Liu P, Xu L, Qu M, Hao W, Liang H, et al. A portable wireless intelligent
508 electrochemical sensor based on layer-by-layer sandwiched nanohybrid for
509 terbutaline in meat products. *Food Chemistry*. 2022 Mar;371:131140.
- 510 13. Promsuwan K, Soleh A, Samoson K, Saisahas K, Wangchuk S, Saichanapan J, et al.
511 Novel biosensor platform for glucose monitoring via smartphone based on battery-
512 less NFC potentiostat. *Talanta*. 2023 May;256:124266.
- 513 14. Guo H, Zhang J, Xiao P, Nie L, Yang D, He N. Determination of Cardiac Troponin I
514 for the Auxiliary Diagnosis of Acute Myocardial Infarction by Anodic Stripping
515 Voltammetry at a Carbon Paste Electrode. *J Nanosci Nanotech*. 2005 Aug
516 1;5(8):1240–4.
- 517 15. Jo H, Her J, Lee H, Shim YB, Ban C. Highly sensitive amperometric detection of
518 cardiac troponin I using sandwich aptamers and screen-printed carbon electrodes.
519 *Talanta*. 2017 Apr 1;165:442–8.
- 520 16. Ma J, Feng L, Li J, Zhu D, Wang L, Su S. Biological Recognition-Based
521 Electrochemical Aptasensor for Point-of-Care Detection of cTnI. *Biosensors*. 2023
522 Jul;13(7):746.
- 523 17. Silva BVM, Cavalcanti IT, Silva MMS, Dutra RF. A carbon nanotube screen-printed
524 electrode for label-free detection of the human cardiac troponin T. *Talanta*. 2013 Dec
525 15;117:431–7.
- 526 18. Barragan JTC, Kubota LT. Minipotentiostat controlled by smartphone on a
527 micropipette: A versatile, portable, agile and accurate tool for electroanalysis.
528 *Electrochimica Acta*. 2020 May;341:136048.
- 529 19. Burgos-Flórez F, Rodríguez A, Cervera E, Zucolotto V, Sanjuán M, Villalba PJ.
530 TBISTAT: An open-source, wireless portable, electrochemical impedance
531 spectroscopy capable potentiostat for the point-of-care detection of S100B in plasma
532 samples. Mukherjee K, editor. *PLoS ONE*. 2022 Feb 7;17(2):e0263738.
- 533 20. Fotouhi M, Seidi S, Razeghi Y, Torfinezhad S. A dual-mode assay kit using a portable
534 potentiostat connected to a smartphone via Bluetooth communication and a potential-
535 power angle-based paper device susceptible for low-cost point-of-care testing of
536 iodide and dopamine. *Analytica Chimica Acta*. 2024 Jan;1287:342127.
- 537 21. Saha T, Songkakul T, Knisely CT, Yokus MA, Daniele MA, Dickey MD, et al.
538 Wireless Wearable Electrochemical Sensing Platform with Zero-Power Osmotic
539 Sweat Extraction for Continuous Lactate Monitoring. *ACS Sens*. 2022 Jul
540 22;7(7):2037–48.
- 541 22. Xu Y, Ning H, Yu S, Liu S, Zhang Y, Niu C, et al. Portable Multi-Channel
542 Electrochemical Device with Good Interaction and Wireless Connection for On-Site
543 Testing. *Micromachines*. 2023 Jan 5;14(1):142.

- 544 23. Bianchi V, Boni A, Fortunati S, Giannetto M, Careri M, De Munari I. A Wi-Fi Cloud-
545 Based Portable Potentiostat for Electrochemical Biosensors. *IEEE Trans Instrum*
546 *Meas.* 2020 Jun;69(6):3232–40.
- 547 24. Rosa RL, Zoppi G, Di Donato L, Sorbello G, Di Carlo CA, Livreri P. A Battery-Free
548 Smart Sensor Powered with RF Energy. In: 2018 IEEE 4th International Forum on
549 Research and Technology for Society and Industry (RTSI) [Internet]. Palermo: IEEE;
550 2018 [cited 2021 Nov 24]. p. 1–4. Available from:
551 <https://ieeexplore.ieee.org/document/8548509/>
- 552 25. Brown EW, Glasscott MW, Conley K, Barr J, Ray JD, Moores LC, et al. ACEstat: A
553 DIY Guide to Unlocking the Potential of Integrated Circuit Potentiostats for Open-
554 Source Electrochemical Analysis. *Anal Chem.* 2022 Mar 29;94(12):4906–12.
- 555 26. Scarponi CF de O, Silva RDN da, Souza Filho JA de, Guerra MRL, Pedrosa MAF,
556 Mol MPG. Hepatitis Delta Prevalence in South America: A Systematic Review and
557 Meta-Analysis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019 Jan 24;52:e20180289.
- 558 27. Pan C, Gish R, Jacobson IM, Hu KQ, Wedemeyer H, Martin P. Diagnosis and
559 Management of Hepatitis Delta Virus Infection. *Dig Dis Sci.* 2023 Aug;68(8):3237–
560 48.
- 561 28. Vanwolleghem T, Armstrong PA, Buti M, FitzSimons D, Valckx S, Hendrickx G, et
562 al. The elimination of hepatitis D as a public health problem: Needs and challenges.
563 *Journal of Viral Hepatitis.* 2024 Jan;31(1):47–50.
- 564 29. Chen LY, Pang XY, Goyal H, Yang RX, Xu HG. Hepatitis D: challenges in the
565 estimation of true prevalence and laboratory diagnosis. *Gut Pathog.* 2021
566 Dec;13(1):66.
- 567 30. Manzano M, Viezzi S, Mazerat S, Marks RS, Vidic J. Rapid and label-free
568 electrochemical DNA biosensor for detecting hepatitis A virus. *Biosensors and*
569 *Bioelectronics.* 2018 Feb;100:89–95.
- 570 31. Ahangar LE, Mehrgardi MA. Amplified detection of hepatitis B virus using an
571 electrochemical DNA biosensor on a nanoporous gold platform. *Bioelectrochemistry.*
572 2017 Oct;117:83–8.
- 573 32. Boonkaew S, Yakoh A, Chuaypen N, Tangkijvanich P, Rengpipat S, Siangproh W, et
574 al. An automated fast-flow/delayed paper-based platform for the simultaneous
575 electrochemical detection of hepatitis B virus and hepatitis C virus core antigen.
576 *Biosensors and Bioelectronics.* 2021 Dec;193:113543.
- 577 33. Cabral DGA, Lima ECS, Moura P, Dutra RF. A label-free electrochemical
578 immunosensor for hepatitis B based on hyaluronic acid–carbon nanotube hybrid film.
579 *Talanta.* 2016 Feb;148:209–15.
- 580 34. De Castro ACH, Kochi LT, Flauzino JMR, Soares MMCN, Alves VA, Da Silva LA,
581 et al. Electrochemical Biosensor for Sensitive Detection of Hepatitis B in Human
582 Plasma. *Appl Biochem Biotechnol.* 2022 Jun;194(6):2604–19.

35. Shakoory Z, Salimian S, Kharrazi S, Adabi M, Saber R. Electrochemical DNA biosensor based on gold nanorods for detecting hepatitis B virus. *Anal Bioanal Chem.* 2015 Jan;407(2):455–61.
36. Teengam P, Tangkijvanich P, Chuaypen N, Chailapakul O. An innovative wireless electrochemical card sensor for field-deployable diagnostics of Hepatitis B surface antigen. *Sci Rep.* 2023 Mar 2;13(1):3523.
37. Antipchik M, Korzhikova-Vlakh E, Polyakov D, Tarasenko I, Reut J, Öpik A, et al. An electrochemical biosensor for direct detection of hepatitis C virus. *Analytical Biochemistry.* 2021 Jul;624:114196.
38. Pusomjit P, Teengam P, Chuaypen N, Tangkijvanich P, Thepsuparungsikul N, Chailapakul O. Electrochemical immunoassay for detection of hepatitis C virus core antigen using electrode modified with Pt-decorated single-walled carbon nanotubes. *Microchim Acta.* 2022 Sep;189(9):339.
39. Wang Y, Li L, Dong Z, Yu Y, Zhou A, Zhao X, et al. Ultrasensitive electrochemical detection of hepatitis C virus core antigen using terminal deoxynucleotidyl transferase amplification coupled with DNA nanowires. *Microchim Acta.* 2021 Aug;188(8):285.
40. PalmSens. EmstatBlue [Internet]. 2021 [cited 2021 Oct 28]. Available from: <https://www.palmsens.com/product/emstat-blue/>
41. Pico-series Microcontrollers - Raspberry Pi Documentation [Internet]. [cited 2024 Oct 11]. Available from: <https://www.raspberrypi.com/documentation/microcontrollers/pico-series.html>
42. Notário AF. Modificações de Eletrodos com Nanomateriais para Detecção de Infarto Agudo do Miocárdio em Biossensor Eletroquímico [Tese]. [Uberlândia-MG]: Universidade Federal de Uberlândia; 2020.
43. Costa MA. Seleção e caracterização de biomarcadores por phage display e desenvolvimento de plataformas imunoenzimática e biofotônica para detecção da doença hepatite delta. [Minas Gerais]: Universidade Federal de Uberlândia; 2023.
44. Halliday D, Resnick R. Fundamentos de Física. 10th ed. Vol. 3. Ltc; 1996.
45. Canbek G, Sagiroglu S, Temizel TT, Baykal N. Binary classification performance measures/metrics: A comprehensive visualized roadmap to gain new insights. In: 2017 International Conference on Computer Science and Engineering (UBMK) [Internet]. Antalya: IEEE; 2017 [cited 2024 Oct 18]. p. 821–6. Available from: <http://ieeexplore.ieee.org/document/8093539/>

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi desenvolvida uma plataforma para biossensores eletroquímicos, utilizando comunicação sem fio e integração com a nuvem para a detecção em tempo real de pacientes com hepatite delta, empregando algoritmos de aprendizagem de máquina. O potenciostato da plataforma foi projetado para ser portátil, escalável e compatível com comunicação sem fio e cabeada, utilizando protocolos USB, Bluetooth e Wi-Fi. Além disso, foi testado em comparação com um potenciostato comercial para verificar a reprodutibilidade das medições. O processo de modificação do eletrodo e o bioensaio demonstraram eficiência na imobilização da proteína recombinante para reter anticorpos contra o HDV em um processo reprodutível.

A eficácia da plataforma foi testada comparando o Bioconnect com um potenciostato da PalmSens, modelo Emstat3+ Blue, por meio de medições de voltametria cíclica em eletrodos de Carbono. O Bioconnect apresentou medidas mais precisas que o modelo comercial apresentando desvios-padrão menores, o que indica a viabilidade técnica do dispositivo. Além disso, foi realizado um experimento com 40 amostras de soro de pacientes, sendo 20 positivos para hepatite B e negativos para hepatite D e 20 positivos para as hepatites B e D.

A análise estatística e a regressão logística obtiveram uma especificidade de 85.7% e uma sensibilidade de 89.5%. O algoritmo de Regressão Logística Multivariada alcançou uma especificidade de 80% e sensibilidade de 100%, com uma precisão geral de 92% no conjunto de teste. Esses resultados demonstram que a aplicação de algoritmos de aprendizado de máquina e processos de engenharia de características melhorou o desempenho na detecção de vírus HDV em pacientes reais. Como demonstrado, a plataforma proposta oferece um método inovador, rápido, simples e escalável para a detecção de vírus HDV em campo e em regiões geograficamente isoladas. Além disso, essa plataforma pode ser adaptada para a detecção de outros alvos e doenças, mediante a modificação do biossensor e o retreinamento dos algoritmos de aprendizado de máquina, escalando o processo para novas doenças.

7. REFERÊNCIAS

- AHANGAR, L. E.; MEHRGARDI, M. A. Amplified detection of hepatitis B virus using an electrochemical DNA biosensor on a nanoporous gold platform. *Bioelectrochemistry*, v. 117, p. 83–88, out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2017.06.006>
- ALHADRAMI, H. A. Biosensors: Classifications, medical applications, and future prospective. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 65, n. 3, p. 497–508, maio 2018. <https://doi.org/10.1002/bab.1621>
- ALI, J. *et al.* Biosensors: Their Fundamentals, Designs, Types and Most Recent Impactful Applications: A Review. *Journal of Biosensors & Bioelectronics*, v. 08, n. 01, 2017. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/open-access/biosensors-their-fundamentals-designs-types-and-most-recent-impactful-applications-a-review-2155-6210-1000235.php?aid=85357>>. Acesso em: 10 ago. 2024. <https://doi.org/10.4172/2155-6210.1000235>
- ALIYAR VELLAMEERAN, F.; BRINDHA, T. A new variant of deep belief network assisted with optimal feature selection for heart disease diagnosis using IoT wearable medical devices. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, v. 25, n. 4, p. 387–411, 12 mar. 2022. <https://doi.org/10.1080/10255842.2021.1955360>
- ANTIPCHIK, M. *et al.* An electrochemical biosensor for direct detection of hepatitis C virus. *Analytical Biochemistry*, v. 624, p. 114196, jul. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2021.114196>
- ARYA, S. K.; DATTA, M.; MALHOTRA, B. D. Recent advances in cholesterol biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 23, n. 7, p. 1083–1100, fev. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2007.10.018>
- BAHADIR, E. B.; SEZGINTÜRK, M. K. A review on impedimetric biosensors. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, v. 44, n. 1, p. 248–262, 2 jan. 2016. <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.942456>
- BARANWAL, J. *et al.* Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. *Chemosensors*, v. 10, n. 9, p. 363, 9 set. 2022. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>
- BARRAGAN, J. T. C.; KUBOTA, L. T. Minipotentostat controlled by smartphone on a micropipette: A versatile, portable, agile and accurate tool for electroanalysis. *Electrochimica Acta*, v. 341, p. 136048, maio 2020. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136048>
- BENICZKY, S. *et al.* Machine learning and wearable devices of the future. *Epilepsia*, v. 62, n. S2, mar. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epi.16555>>. Acesso em: 19 nov. 2021. <https://doi.org/10.1111/epi.16555>

BI, H. *et al.* An active semi-supervised deep learning model for human activity recognition. *Journal of Ambient Intelligence and Humanized Computing*, 20 mar. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/10.1007/s12652-022-03768-2>>. Acesso em: 9 maio 2023.

BIANCHI, V. *et al.* A Wi-Fi Cloud-Based Portable Potentiostat for Electrochemical Biosensors. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, v. 69, n. 6, p. 3232–3240, jun. 2020. <https://doi.org/10.1109/TIM.2019.2928533>

BONNEY, G. E. Logistic Regression for Dependent Binary Observations. *Biometrics*, v. 43, n. 4, p. 951, dez. 1987. <https://doi.org/10.2307/2531548>

BOONKAEW, S. *et al.* An automated fast-flow/delayed paper-based platform for the simultaneous electrochemical detection of hepatitis B virus and hepatitis C virus core antigen. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 193, p. 113543, dez. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113543>

BREIMAN, L. Random Forests. *Machine Learning*. *Machine Learning*, v. 45, n. 1, p. 5–32, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>

BROWN, E. W. *et al.* ACEstat: A DIY Guide to Unlocking the Potential of Integrated Circuit Potentiostats for Open-Source Electrochemical Analysis. *Analytical Chemistry*, v. 94, n. 12, p. 4906–4912, 29 mar. 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04226>

BURGOS-FLÓREZ, F. *et al.* TBISTAT: An open-source, wireless portable, electrochemical impedance spectroscopy capable potentiostat for the point-of-care detection of S100B in plasma samples. *PLOS ONE*, v. 17, n. 2, p. e0263738, 7 fev. 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263738>

CABRAL, D. G. A. *et al.* A label-free electrochemical immunosensor for hepatitis B based on hyaluronic acid–carbon nanotube hybrid film. *Talanta*, v. 148, p. 209–215, fev. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.083>

CAI, G. *et al.* A point-to-point “cap” strategy to construct a highly selective dual-function molecularly-imprinted sensor for the simultaneous detection of HAV and HBV. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 219, p. 114794, jan. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114794>

CHAN, K. Y. *et al.* Deep neural networks in the cloud: Review, applications, challenges and research directions. *Neurocomputing*, v. 545, p. 126327, ago. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2023.126327>

CHEN, H.; KÄTELHÖN, E.; COMPTON, R. G. Machine learning in fundamental electrochemistry: Recent advances and future opportunities. *Current Opinion in Electrochemistry*, v. 38, p. 101214, 1 abr. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2023.101214>

CHEN, L.-Y. *et al.* Hepatitis D: challenges in the estimation of true prevalence and laboratory diagnosis. *Gut Pathogens*, v. 13, n. 1, p. 66, dez. 2021. <https://doi.org/10.1186/s13099-021-00462-0>

CHOWDHURY, A. D. *et al.* Electrical pulse-induced electrochemical biosensor for hepatitis E virus detection. *Nature Communications*, v. 10, n. 1, p. 3737, 19 ago. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11644-5>

DAMBORSKÝ, P.; ŠVITEL, J.; KATRLÍK, J. Optical biosensors. *Essays in Biochemistry*, v. 60, n. 1, p. 91–100, 30 jun. 2016. <https://doi.org/10.1042/EBC20150010>

DE CASTRO, A. C. H. *et al.* Electrochemical Biosensor for Sensitive Detection of Hepatitis B in Human Plasma. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 194, n. 6, p. 2604–2619, jun. 2022. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03829-4>

DEAN, S. N. *et al.* Machine Learning Techniques for Chemical Identification Using Cyclic Square Wave Voltammetry. *Sensors*, v. 19, n. 10, p. 2392, jan. 2019. <https://doi.org/10.3390/s19102392>

ELSAYED, M.; EROL-KANTARCI, M. AI-Enabled Future Wireless Networks: Challenges, Opportunities, and Open Issues. *IEEE Vehicular Technology Magazine*, v. 14, n. 3, p. 70–77, set. 2019. <https://doi.org/10.1109/MVT.2019.2919236>

EmStat Pico Module. Disponível em: <<https://www.palmsens.com/product/oem-emstat-pico-module/>>. Acesso em: 11 out. 2024.

FARCI, P. Diagnostic and Prognostic Significance of the IgM Antibody to the Hepatitis Delta Virus. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, v. 255, n. 11, p. 1443, 21 mar. 1986. <https://doi.org/10.1001/jama.1986.03370110065022>

FATTOVICH, G. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. *Gut*, v. 46, n. 3, p. 420–426, 1 mar. 2000. <https://doi.org/10.1136/gut.46.3.420>

FOTOUHI, M. *et al.* A dual-mode assay kit using a portable potentiostat connected to a smartphone via Bluetooth communication and a potential-power angle-based paper device susceptible for low-cost point-of-care testing of iodide and dopamine. *Analytica Chimica Acta*, v. 1287, p. 342127, jan. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.342127>

GE, Y. *et al.* A portable wireless intelligent electrochemical sensor based on layer-by-layer sandwiched nanohybrid for terbutaline in meat products. *Food Chemistry*, v. 371, p. 131140, mar. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131140>

GRIESHABER, D. *et al.* Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. *Sensors*, v. 8, n. 3, p. 1400–1458, 7 mar. 2008. <https://doi.org/10.3390/s80314000>

GUO, H. *et al.* Determination of Cardiac Troponin I for the Auxiliary Diagnosis of Acute Myocardial Infarction by Anodic Stripping Voltammetry at a Carbon Paste Electrode. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 5, n. 8, p. 1240–1244, 1 ago. 2005. <https://doi.org/10.1166/jnn.2005.217>

HAYASHI, T. *et al.* The global hepatitis delta virus (HDV) epidemic: what gaps to address in order to mount a public health response? *Archives of Public Health*, v. 79, n. 1, p. 180, 19 out. 2021. <https://doi.org/10.1186/s13690-021-00693-2>

HEARTY, J. *Advanced Machine Learning with Python*. Birmingham, UK: Sonail Vernekar, 2016.

HUBBLE, L. J.; WANG, J. Sensing at Your Fingertips: Glove-based Wearable Chemical Sensors. *Electroanalysis*, v. 31, n. 3, p. 428–436, 2019. <https://doi.org/10.1002/elan.201800743>

JAFFREZIC-RENAULT, N.; DZYADEVYCH, S. V. Conductometric Microbiosensors for Environmental Monitoring. *Sensors*, v. 8, n. 4, p. 2569–2588, 11 abr. 2008. <https://doi.org/10.3390/s8042569>

JO, H. *et al.* Highly sensitive amperometric detection of cardiac troponin I using sandwich aptamers and screen-printed carbon electrodes. *Talanta*, v. 165, p. 442–448, 1 abr. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.091>

KOTSIANTIS, S. B.; ZAHARAKIS, I. D.; PINTELAS, P. E. Machine learning: a review of classification and combining techniques. *Artificial Intelligence Review*, v. 26, n. 3, p. 159–190, nov. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10462-007-9052-3>

KOUDELKA-HEP, M.; VAN DER WAL, P. D. Microelectrode sensors for biomedical and environmental applications. *Electrochimica Acta*, v. 45, n. 15–16, p. 2437–2441, maio 2000. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(00\)00331-5](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(00)00331-5)

KOZAN, M. *Supervised and Unsupervised Learning (an Intuitive Approach)*. . [S.l: s.n.]. Disponível em: <<https://medium.com/@metehankozan/supervised-and-unsupervised-learning-an-intuitive-approach-cd8f8f64b644>>. Acesso em: 26 ago. 2024. , 2021

LU, H.; MA, X. Hybrid decision tree-based machine learning models for short-term water quality prediction. *Chemosphere*, v. 249, p. 126169, jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126169>

MA, J. *et al.* Biological Recognition-Based Electrochemical Aptasensor for Point-of-Care Detection of cTnI. *Biosensors*, v. 13, n. 7, p. 746, jul. 2023. <https://doi.org/10.3390/bios13070746>

MADURAIVEERAN, G.; JIN, W. Nanomaterials based electrochemical sensor and biosensor platforms for environmental applications. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, v. 13, p. 10–23, jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2017.02.001>

MAMMONE, A.; TURCHI, M.; CRISTIANINI, N. Support vector machines. *WIREs Computational Statistics*, v. 1, n. 3, p. 283–289, nov. 2009. <https://doi.org/10.1002/wics.49>

MANZANO, M. *et al.* Rapid and label-free electrochemical DNA biosensor for detecting hepatitis A virus. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 100, p. 89–95, fev. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.08.043>

MOLINARA, M. *et al.* A Deep Learning Approach to Organic Pollutants Classification Using Voltammetry. *Sensors*, v. 22, n. 20, p. 8032, jan. 2022. <https://doi.org/10.3390/s22208032>

MONDAL, S. *et al.* Wearable Sensing Devices for Point of Care Diagnostics. *ACS Applied Bio Materials*, v. 4, n. 1, p. 47–70, 18 jan. 2021. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00798>

MURTAGH, F. Multilayer perceptrons for classification and regression. *Neurocomputing*, v. 2, n. 5–6, p. 183–197, jul. 1991. [https://doi.org/10.1016/0925-2312\(91\)90023-5](https://doi.org/10.1016/0925-2312(91)90023-5)

NABAEI, V.; CHANDRAWATI, R.; HEIDARI, H. Magnetic biosensors: Modelling and simulation. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 103, p. 69–86, abr. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.12.023>

NANDY, A.; BISWAS, M. *Reinforcement Learning with Open AI, TensorFlow and Keras Using Python*. India: Todd Green, 2018. https://doi.org/10.1007/978-1-4842-3285-9_5

PAN, C. *et al.* Diagnosis and Management of Hepatitis Delta Virus Infection. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 68, n. 8, p. 3237–3248, ago. 2023. <https://doi.org/10.1007/s10620-023-07960-y>

Pico-series Microcontrollers - Raspberry Pi Documentation. Disponível em: <<https://www.raspberrypi.com/documentation/microcontrollers/pico-series.html>>. Acesso em: 11 out. 2024.

PROMSUWAN, K. *et al.* Novel biosensor platform for glucose monitoring via smartphone based on battery-less NFC potentiostat. *Talanta*, v. 256, p. 124266, maio 2023. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124266>

PUSOMJIT, P. *et al.* Electrochemical immunoassay for detection of hepatitis C virus core antigen using electrode modified with Pt-decorated single-walled carbon nanotubes. *Microchimica Acta*, v. 189, n. 9, p. 339, set. 2022. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05400-8>

QUINLAN, J. R. Induction of decision trees. *Machine Learning*, v. 1, n. 1, p. 81–106, mar. 1986. <https://doi.org/10.1007/BF00116251>

RIZZETTO, M. *et al.* Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut*, v. 18, n. 12, p. 997–1003, 1 dez. 1977. <https://doi.org/10.1136/gut.18.12.997>

RIZZETTO, MARIO. Hepatitis D Virus: Introduction and Epidemiology. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 5, n. 7, p. a021576, 1 jul. 2015. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021576>

ROSA, R. L. *et al.* A Battery-Free Smart Sensor Powered with RF Energy. In: 2018 IEEE 4TH INTERNATIONAL FORUM ON RESEARCH AND TECHNOLOGY FOR SOCIETY AND INDUSTRY (RTSI), set. 2018, Palermo. *Anais...* Palermo: IEEE, set. 2018. p. 1–4. Disponível em: <<https://ieeexplore.ieee.org/document/8548509/>>. Acesso em: 24 nov. 2021. <https://doi.org/10.1109/RTSI.2018.8548509>

SAGNELLI, C. *et al.* HBV/HDV Co-Infection: Epidemiological and Clinical Changes, Recent Knowledge and Future Challenges. *Life*, v. 11, n. 2, p. 169, 22 fev. 2021. <https://doi.org/10.3390/life11020169>

SAHA, T. *et al.* Wireless Wearable Electrochemical Sensing Platform with Zero-Power Osmotic Sweat Extraction for Continuous Lactate Monitoring. *ACS Sensors*, v. 7, n. 7, p. 2037–2048, 22 jul. 2022. <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c00830>

SARKER, I. H. Machine Learning: Algorithms, Real-World Applications and Research Directions. *SN Computer Science*, v. 2, n. 3, p. 160, maio 2021. <https://doi.org/10.1007/s42979-021-00592-x>

SAUSEN, D. G. *et al.* Hepatitis B and Hepatitis D Viruses: A Comprehensive Update with an Immunological Focus. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 24, p. 15973, 15 dez. 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms232415973>

SCARPONI, C. F. DE O. *et al.* Hepatitis Delta Prevalence in South America: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 52, p. e20180289, 24 jan. 2019. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0289-2018>

SHAKOORI, Z. *et al.* Electrochemical DNA biosensor based on gold nanorods for detecting hepatitis B virus. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 407, n. 2, p. 455–461, jan. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8303-9>

SILVA, B. V. M. *et al.* A carbon nanotube screen-printed electrode for label-free detection of the human cardiac troponin T. *Talanta*, v. 117, p. 431–437, 15 dez. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.08.059>

STULP, F.; SIGAUD, O. Many regression algorithms, one unified model: A review. *Neural Networks*, v. 69, p. 60–79, set. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2015.05.005>

SUHITO, I. R.; KOO, K.-M.; KIM, T.-H. Recent Advances in Electrochemical Sensors for the Detection of Biomolecules and Whole Cells. *Biomedicines*, v. 9, n. 1, p. 15, 26 dez. 2020. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9010015>

TEENGAM, P. *et al.* An innovative wireless electrochemical card sensor for field-deployable diagnostics of Hepatitis B surface antigen. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 3523, 2 mar. 2023. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30340-5>

ULIANA, C. V. *et al.* Optimization of an amperometric biosensor for the detection of hepatitis C virus using fractional factorial designs. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, n. 4, p. 782–787, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532008000400024>

VANWOLLEGHEM, T. *et al.* The elimination of hepatitis D as a public health problem: Needs and challenges. *Journal of Viral Hepatitis*, v. 31, n. 1, p. 47–50, jan. 2024. <https://doi.org/10.1111/jvh.13891>

VIDOTTO, L. H. B.; WACHHOLZ JUNIOR, D.; KUBOTA, L. T. A simple and low-cost portable potentiostat with real-time data sharing for wireless electrochemical analyses. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 937, p. 117414, maio 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2023.117414>

WALKER, N. L. *et al.* Recent advances in potentiometric biosensing. *Current Opinion in Electrochemistry*, v. 28, p. 100735, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100735>

WANG, JOSEPH. *Analytical Electrochemistry*. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2001

WANG, W. *et al.* Recent advances in nanomaterials-based electrochemical (bio)sensors for pesticides detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 132, p. 116041, nov. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116041>

WANG, Y. *et al.* Ultrasensitive electrochemical detection of hepatitis C virus core antigen using terminal deoxynucleotidyl transferase amplification coupled with DNA nanowires. *Microchimica Acta*, v. 188, n. 8, p. 285, ago. 2021. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04939-2>

WATT, J.; BORHANI, R.; KATSAGGELOS, A. *Machine Learning Refined: Foundations, Algorithms, and Applications*. 1. ed. [S.l.]: Cambridge University Press, 2016. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/product/identifier/9781316402276/type/book>>. Acesso em: 26 ago. 2024. <https://doi.org/10.1017/CBO9781316402276>

WRANKE, A. *et al.* Clinical long-term outcome of hepatitis D compared to hepatitis B monoinfection. *Hepatology International*, v. 17, n. 6, p. 1359–1367, dez. 2023. <https://doi.org/10.1007/s12072-023-10575-0>

WU, C.-C. Silicon Nanowires Length and Numbers Dependence on Sensitivity of the Field-Effect Transistor Sensor for Hepatitis B Virus Surface Antigen Detection. *Biosensors*, v. 12, n. 2, p. 115, 12 fev. 2022. <https://doi.org/10.3390/bios12020115>

XU, Y. *et al.* Portable Multi-Channel Electrochemical Device with Good Interaction and Wireless Connection for On-Site Testing. *Micromachines*, v. 14, n. 1, p. 142, 5 jan. 2023. <https://doi.org/10.3390/mi14010142>

ZHANG, T. *et al.* GCN-GENE: A novel method for prediction of coronary heart disease-related genes. *Computers in Biology and Medicine*, v. 150, p. 105918, nov. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2022.105918>

ZHANG, Z. Introduction to machine learning: k-nearest neighbors. *Annals of Translational Medicine*, v. 4, n. 11, p. 218–218, jun. 2016. <https://doi.org/10.21037/atm.2016.03.37>

ZHOU, A. Y. *et al.* A portable bioelectronic sensing system (BESSY) for environmental deployment incorporating differential microbial sensing in miniaturized reactors. *PLOS ONE*, v. 12, n. 9, p. e0184994, 15 set. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184994>

ZOSKI, CYNTHIA G. *Handbook of Electrochemistry*. 1^a ed. [S.l.]: Elsevier, 2007.