



**República Federativa do Brasil**  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0214878-1 B1**

**(22) Data do Depósito:** 30/08/2002

**(45) Data de Concessão:** 18/04/2017



---

**(54) Título:** PROCESSO PARA DETECTAR UM ANALITO EM UMA AMOSTRA

**(51) Int.Cl.:** G01N 27/41

**(30) Prioridade Unionista:** 11/12/2001 US 10/013.972

**(73) Titular(es):** KIMBERLY-CLARK WORLDWIDE, INC.

**(72) Inventor(es):** ROSANN MARIE KAYLOR; DIFEI YANG; ZDRAVKO SAVOV ATANASSOV;  
MICHAEL EUGENE KNOTTS

**"PROCESSO PARA DETECTAR UM ANALITO EM UMA AMOSTRA"**

## CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere geralmente ao campo de detecção de analitos em um meio e, mais especificamente, a presente invenção se refere aos processos de visualização e/ou análise dos dispositivos de diagnóstico a base de difração que são capazes de indicar a presença do analito em um meio.

## HISTÓRICO DA INVENÇÃO

Existem muitos sistemas e dispositivos disponíveis para detectar uma ampla variedade de analitos em vários meios. A maioria destes sistemas e dispositivos é relativamente cara e requer um técnico treinado para realizar o teste. Existem muitos casos onde poderia ser vantajosa a determinação rápida e de forma barata da presença do analito. O que é necessário é um sistema que seja fácil e barato de ser fabricado e seja capaz de detectar os analitos de forma confiável e sensível.

Sandstrom e outros, 24 *Applied Optics* 472, 1985, descreve o uso de um substrato óptico de silício com uma camada de monóxido de silício e uma camada de silício formada como películas dielétricas. Eles indicam que uma mudança na espessura da película altera as propriedades do substrato óptico de modo a produzir cores diferentes relacionadas à espessura da película. A espessura da película está relacionada à cor observada e uma película provida na parte superior de um substrato óptico pode produzir uma alteração de cor visível. Os autores indicam que um modelo matemático pode ser empregado para

quantificar a alteração de cor e que "[c]álculos realizados usando o modelo de computador mostram que muito pouco pode ser obtido no desempenho óptico a partir do uso de uma estrutura de múltiplas camadas ... porém uma biocamada na  
5 superfície altera muito pouco a reflexão de tais estruturas, uma vez que as propriedades ópticas são determinadas, principalmente, pelas interfaces dentro da estrutura de múltiplas camadas. O sistema mais sensível para detectar as biocamadas é um revestimento de camada  
10 simples, enquanto na maioria das outras aplicações, o desempenho pode ser aperfeiçoado por camadas dielétricas adicionais."

Sandstrom e outros, indicam que slides formados de óxidos de metal em metal possuem determinados defeitos e  
15 que a presença de íons de metal pode também ser prejudicial em muitas aplicações bioquímicas. Eles indicam que a película dielétrica superior ideal é um dióxido de silício de 2-3 nm que é formado espontaneamente quando a camada de monóxido de silício é depositada na atmosfera ambiente, e  
20 que uma camada de dióxido de silício de 70-95 nm em uma camada de monóxido de silício de 40-60 nm pode ser usada em um substrato de vidro ou de plástico. Eles também descrevem a formação de uma cunha de monóxido de silício por gravação seletiva do monóxido de silício, tratamento da superfície  
25 de dióxido de silício com diclorodimetilsilano, e aplicação de uma biocamada de antígeno e anticorpo. A partir desta construção em cunha eles foram capazes de determinar a espessura da película com um elipsômetro, e observar que o "contraste máximo foi encontrado na região cerca de 65 nm  
30 onde a cor de interferência mudou de púrpura para azul".

A Patente US 5.512.131 emitida para Kumar e outros, descreve um dispositivo que inclui um substrato de polímero possuindo um revestimento de metal. Uma camada receptora específica de analito é estampada sobre o substrato  
5 revestido. O dispositivo é usado em um processo para estampar ou como um comutador. Uma imagem de difração é gerada quando um analito se liga ao dispositivo. Um dispositivo de visualização, tal como um espectrômetro, é então usado para determinar a presença da imagem de  
10 difração.

Contudo, o dispositivo descrito por Kumar e outros possui várias desvantagens. Uma desvantagem é que um aparelho de visualização complexo é necessário para visualizar qualquer imagem de difração.

15 A Patente US número 5.482.830 de Bogart e outros descreve um dispositivo que inclui um substrato que possui uma superfície opticamente ativa exibindo uma primeira cor em resposta a luz que incide sobre a mesma. A primeira cor é definida como uma distribuição espectral da luz que é  
20 emanada. O substrato também exhibe uma segunda cor que é diferente da primeira cor (por ter uma combinação de comprimentos de onda de luz que difere daquela combinação presente na primeira cor ou possuindo uma distribuição espectral diferente). A segunda cor é exibida em resposta a  
25 mesma luz quando o analito está presente na superfície. A alteração de uma cor para outra pode ser medida tanto por uso de um instrumento quanto pelos olhos. Tal detecção sensível é um avanço em relação aos dispositivos descritos por Sandstrom e Nygren, supra e permite o uso de  
30 dispositivos de modo comercialmente viável e competitivo.

Contudo, o processo e o dispositivo descritos na patente de Bogart e outros possuem várias desvantagens. Uma desvantagem é o alto custo do dispositivo. Outro problema com o dispositivo é a dificuldade de controlar as várias camadas que são colocadas no pedaço de modo a obter uma leitura confiável.

A Patente WO 94/13835 emitida para Bogdanski e outros, descreve um processo e um sistema para detectar macromoléculas. O sistema inclui uma sonda que é uma formadora de dimensões predeterminadas, tal que ela difrata a luz em um padrão conhecido. Mediante ligação por uma macromolécula (por exemplo, analito), a posição dos picos de difração mudará devido a sua ligação.

Assim, o sistema deve incluir um detector mais complexo e analisador para detectar alterações em um padrão de difração. Em comparação, o sistema à base de difração corrente descrito detecta a formação de um padrão de difração ou imagem, de modo que apenas a aparência da luz difratada deve ser detectada. Portanto, uma desvantagem do processo e do sistema descritos por Bogdanski e outros é que um aparelho mais complexo é necessário para detectar alterações no padrão de difração. Outra desvantagem são os processos complexos necessários para preparar a sonda, que envolvem múltiplas etapas com etapas de fotoresistência e/ou gravação conduzidas em uma superfície de dióxido de silício quebradiça; estes processos não são receptivos para um processo de fabricação em escala plena devido aos custos de capital em grande escala.

A Patente US número 5.196.350 de Backmann e outros, descreve um processo de detecção óptica que usa um

dispositivo de imunoensaio em conjunto com uma máscara que produz um padrão de difração. O dispositivo de imunoensaio é colocado entre a máscara e a fonte de luz, de modo que a ligação pelo analito causa uma alteração no padrão de difração ou de interferência causado pela máscara. Assim, esta patente possui desvantagens semelhantes às da patente de Bodganski, uma vez que usa um processo com base nas alterações de detecção em um padrão de difração, ao invés da formação de um, devido à ligação. Isto torna a análise mais complexa, uma vez que estas alterações são mais refinadas do que um simples sim/não de uma imagem de difração sendo formada em presença de um analito.

A Patente US número 4.992.385 de Godfrey e outros, descreve um processo para preparar uma grade de difração com uma película polimérica fina, para uso subsequente como um dispositivo sensor. O dispositivo sensor então requer o uso de uma técnica espectrofotométrica durante o ensaio para detectar alterações em suas propriedades ópticas devido à ligação do analito. Assim, como com as duas patentes anteriores, esta patente também envolve um processo de detecção mais complexo, uma vez que ele deve detectar alterações em um padrão de difração, ao invés da simples formação de um padrão devido ao analito.

Algumas tecnologias de fluxo lateral comerciais vem sendo usadas, as quais empregam tecnologia de gota de látex. Estas tecnologias são empregadas correntemente em muitos dos kits de diagnóstico domésticos disponíveis comercialmente (por exemplo, kits de gravidez e de ovulação). Estes kits são gotas coloridas que acumulam-se em uma "zona de captura" definida até a quantidade de gotas

tornar-se visível a olho nu. Contudo, estes sistemas não possuem a sensibilidade necessária para testar muitos analitos, uma vez que um número muito maior de gotas de látex deve ligar-se na zona de captura para ser visível a  
5 olho nu do que o necessário para causar difração na zona do mesmo tamanho. Teoricamente, o número de gotas necessárias é de cerca de 2 a 3 ordens de grandeza maior do que o número de gotas necessárias pelos sensores da presente invenção.

10 Tem surgido muitas novas invenções direcionadas ao uso de dispositivos biosensores para detectar analitos. Alguns destes biosensores possuem uma monocamada de auto-montagem e foram usados para detectar analitos. Estes tipos de dispositivos são descritos nas patentes US números  
15 5.992.550 e 6.060.256. Outros dispositivos possuindo uma monocamada de auto-montagem e usando tecnologia de micropartículas foram usados para detectar analitos menores e são estabelecidos na Patente US número 6.221.579 B1. Finalmente, alguns dispositivos sensores foram providos os  
20 quais incorporam materiais não auto-montáveis e novamente fornecem uma imagem de difração que pode ser vista a olho nu. Este tipo de dispositivo é descrito no Pedido de Patente US número 09/213.713. Contudo, a presente invenção melhora a facilidade de uso e/ou exatidão destes  
25 dispositivos biosensores por prover de modo geral uma interpretação mais rápida e mais exata dos resultados destes dispositivos.

Conseqüentemente, o que é necessário é um analisador que pode ser usado com vários sistemas de diagnóstico à  
30 base de difração para ajudar a determinar a presença de um

analito de uma maneira rápida e acurada. Também o que é necessário é um processo para uso deste analisador de modo a determinar rápida e acuradamente a presença de um analito em uma dada amostra.

5 BREVE RESUMO DA PRESENTE INVENÇÃO

A presente invenção provê um sistema e um processo para visualizar e/ou analisar os resultados de sistemas de diagnóstico à base de difração que são mais rápidos, mais acurados e/ou mais simples de serem usados do que os  
10 processos e os sistemas que requerem dispositivos de visualização complexos. A presente invenção pode ser usada com uma variedade de sistemas de diagnóstico diferentes e processos para melhorar a eficácia e/ou utilidade destes dispositivos na detecção de analitos menores que podem não  
15 ter sido detectados usando o sistema de diagnóstico sozinho.

Conseqüentemente, é um desejo da presente invenção prover um processo de visualização e/ou análise dos resultados de um sistema de diagnóstico à base de difração.

20 A presente invenção, também provê, de modo desejável, um sistema para visualizar e/ou analisar os resultados de um sistema de diagnóstico à base de difração.

Desejavelmente, a presente invenção também provê um processo para visualizar e/ou analisar os resultados de um  
25 sistema de diagnóstico à base de difração usando um dispositivo que provê resultados que são independentes da observação visual do usuário.

Adicionalmente, a presente invenção provê, desejavelmente, um processo para visualizar e/ou analisar  
30 os resultados de um sistema de diagnóstico à base de

difração que provê resultados acurados de uma maneira conveniente e reduz erros.

A presente invenção também provê, desejavelmente, um processo para visualizar e/ou analisar os resultados de um sistema de diagnóstico à base de difração que pode ser controlado automaticamente.

Desejavelmente, a presente invenção também provê um sistema para visualizar e/ou analisar os resultados de um sistema de diagnóstico à base de difração usando um analisador que é capaz de armazenar resultados passados na memória, pelo que permite que o usuário recupere os resultados das amostras mais recentes.

Adicionalmente, a presente invenção provê, desejavelmente um sistema para visualizar e/ou analisar os resultados de um sistema de diagnóstico à base de difração que permite acesso remoto aos dados.

A presente invenção realiza pelo menos um destes objetivos pela provisão de um novo visualizador e/ou analisador que pode ser usado em conjunto com sistemas de diagnóstico à base de difração para determinar a presença de um analito em uma dada amostra. O visualizador e/ou analisador pode ser usado para determinar a presença de um analito em uma amostra por visualização e/ou análise se uma imagem de difração foi gerada pelo analito quando introduzido no sistema de diagnóstico.

Adicionalmente, o visualizador e/ou analisador pode ser usado para análise quantitativa ou semi-quantitativa. Os dispositivos descritos nos documentos referidos acima podem ser produzidos por impressão de uma espécie que se ligará, reagirá ou de outra forma será associada ao analito

de interesse sobre uma superfície e é referida aqui como um "ligante". A espécie que se liga, reage ou de outra forma se associa a um analito de interesse é referida como um ligante e pode incluir qualquer espécie química, composto, 5 composição, porção, partícula, etc. que se ligará, reagirá ou de outra forma será associada ao analito de interesse.

Preferivelmente, o ligante é específico para o analito de interesse ou uma classe de analitos de interesse e apreciavelmente não ligará, reagirá ou de outra forma será 10 associado a outras espécies que podem ser ligadas na amostra de interesse.

De modo geral, o ligante é impresso no substrato, por exemplo, uma película plástica, em um padrão definido, tal que a película impressa por ligante não difrata radiação 15 eletromagnética quando a radiação eletromagnética é refletida ou transmitida através da película impressa por ligante, porém difrata radiação eletromagnética após a película impressa por ligante ser exposta ao analito e o analito tiver ligado, reagido ou de outra forma associado 20 ao ligante. Alternativamente, a película ou superfície impressa por ligante pode exibir um aumento ou uma diminuição mensurável na difração após exposição ao analito. Por exemplo, uma película pode ser impressa com um ligante, tal que a película impressa por ligante 25 inicialmente difrata luz, porém não difrata luz ou difrata menos quando um analito se liga, associa ou de outra forma reage com a superfície impressa por ligante. Em outro exemplo, a película pode ser impressa com um ligante, tal que a película impressa por ligante inicialmente difrata 30 luz, porém não difrata luz para uma extensão

mensuravelmente maior quando um analito se liga, associa ou de outra forma reage com a superfície impressa por ligante. A presença do analito pode ser determinada por uma alteração mensurável na difração da luz que é transmitida  
5 através ou refletida da superfície do substrato.

De modo geral, um analito pode ser qualquer estímulo incluindo, porém não limitado a qualquer espécie química ou biológica, composto, composição, porção, partícula, etc. que se ligará, reagirá ou de outra forma será associada ao  
10 ligante ou com a qual o ligante responderá. Os analitos que são contemplados como sendo detectáveis incluem, porém não estão limitados aos que se seguem: bactérias; leveduras; fungos; vírus; protozoários ou antígenos específicos para estes micróbios; fator reumatóide; anticorpos, incluindo  
15 porém não limitados aos anticorpos IgG, IgM, IgA e IgE; antígeno carcinoembriônico; antígeno de *Streptococcus* do Grupo A; antígenos virais; antígenos associados a doença autoimune; alergênicos; antígenos de tumor; antígeno *streptotoccus* do Grupo B; antígeno de HIV I ou HIV II; ou  
20 resposta hospedeira (anticorpos) para aqueles e outros vírus; antígenos específicos para RSV ou resposta do hospedeiro (anticorpos) ao vírus; um antígeno; enzima; hormônio; polissacarídeo; proteína; lipídeo; carboidrato; medicamento ou ácido nucléico; espécies de *Salmonella*;  
25 espécies de *Candida*, incluindo, porém não limitado a *Candida albicans* e *Candida tropicalis*; grupos de *Neisseria meningitides* A, B, C, Y e W sub 135, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* K1, *Haemophilus influenza* tipo B; um antígeno derivado de microorganismos; um hapteno, uma

droga; um medicamento terapêutico; um agente ambiente; antígenos específicos para Hepatite e assim por diante.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A figura 1 é uma vista em perspectiva de um visualizador de acordo com uma concretização da presente invenção.

A figura 2 é uma vista em perspectiva de um visualizador de acordo com outra concretização da presente invenção.

10 A figura 3 é um esquema de um analisador de acordo com uma concretização da presente invenção.

A figura 4 é um esquema de uma máscara útil para medir a intensidade da luz de zero e primeira ordem de uma imagem de difração que é uma fileira  $x, y$ .

15 A figura 5 é um esquema de uma máscara útil para medir a intensidade da luz de segunda ordem de uma imagem de difração que é uma fileira  $x, y$ .

A figura 6 é um esquema de uma máscara útil para medir a intensidade da luz de terceira ordem de uma imagem de difração que é uma fileira  $x, y$ .

20 A figura 7 é um esquema de uma máscara útil para medir a intensidade da luz de quarta ordem de uma imagem de difração que é uma fileira  $x, y$ .

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

25 A presente invenção provê um analisador, um sistema e um processo para visualizar e/ou analisar os resultados dos sistemas de diagnóstico à base de difração. A presente invenção pode ser usada em uma variedade de dispositivos de diagnóstico e sistemas diferentes para melhorar a eficácia e/ou utilidade destes dispositivos por detectar analitos

30

rápida e acuradamente, enquanto fazendo isto em um processo que provê facilidade de uso ao usuário.

A presente invenção provê primeiro um visualizador que usa uma fonte de luz para transmitir ou refletir luz  
5 através de uma amostra que foi conectada ao visualizador. Se um analito tiver se ligado ao dispositivo sensor à base de difração, a luz transmitida ou refletida gerará uma imagem ou padrão de difração. Esta imagem pode ser vista diretamente a olho nu. Ou a imagem pode ser projetada  
10 contra uma tela que permite ao usuário determinar se a difração ocorreu.

A presente invenção também provê um analisador que usa um algoritmo ou série de algoritmos e/ou software de computador para analisar um dispositivo sensor à base de  
15 difração, de modo a determinar se um analito ou analitos estão presentes no dispositivo sensor e, portanto, presentes em uma amostra que está sendo testada. Embora o dispositivo sensor à base de difração possa ser usado sem o analisador, o analisador desejavelmente provê resultados  
20 mais rápidos, mais facilmente e/ou mais acuradamente do que sem o uso do analisador.

O algoritmo ou algoritmos usados são desenvolvidos com base nos parâmetros do sistema no qual o analisador será usado. Adicionalmente, se um elemento de software for  
25 usado, ele pode ser ajustado, conforme necessário, tal que, o analisador torna-se mais simples e/ou mais acurado para determinar se o analito está presente na amostra.

O analisador desejavelmente converte a imagem de difração de uma amostra em um resultado sim/não para o  
30 usuário. Assim, o usuário não precisaria necessariamente

ver a imagem de difração, porém veria um visor fornecendo a interpretação: por exemplo, "analito presente" "analito não presente" ou "erro". As opções para o analisador incluem geradores de tom audíveis, lâmpadas iluminadas, LEDs ou visores LCD para indicar os resultados; uma impressora para fornecer a impressão dos resultados; memória para armazenar os resultados anteriores ou outras funções, tais como, aquecimento ou mistura que podem ser empregados para melhorar os resultados, confiabilidade e/ou comodidade do teste, entre outros.

Além do visualizador e/ou analisador, a presente invenção também inclui um processo para detectar um analito usando um visualizador e/ou analisador. Conforme discutido, o analisador pode usar um algoritmo ou algoritmos e/ou um elemento de software para determinar a presença do analito em uma dada amostra.

Também, a presente invenção inclui um sistema para detectar um analito usando um dispositivo sensor à base de difração e um visualizador ou um analisador. Conforme discutido, o analisador pode usar um algoritmo ou algoritmos e/ou um elemento de software para determinar a presença do analito em uma dada amostra.

A presente invenção também inclui uma substituição para os dispositivos de visualização da técnica anterior complexa, tais como, espectrômetros, que foram usados em alguns sistemas à base de difração. Ao invés de requerer que o usuário empregue um dispositivo de visualização complexo, tal como um espectrômetro, a presente invenção usa um visualizador simples que permite que o usuário veja a imagem de difração ou um analisador que mostra uma

facilidade para interpretar o sinal dependendo se o analito está presente, provendo facilidade de interpretação dos resultados. O dispositivo analisador trabalha por uso de um dispositivo para coletar luz das amostras de difração; se  
5 luz suficiente for difratada, isto dispara o dispositivo para indicar a presença de um analito. O pequeno dispositivo pode também aumentar a exatidão, uma vez que ele fornece a capacidade de calibrar resultados, tal que, os falsos positivos podem ser reduzidos. Isto pode ser  
10 realizado por projetar-se a unidade de modo que ela bloqueie os sinais de difração fraca, conforme visto com alguns controles. Assim, positivos verdadeiros de difração superior são detectados.

A presente invenção tem como base o uso de  
15 dispositivos sensores à base de difração. No sistema e nos processos da presente invenção, o analisador é contemplado sendo usado com estes dispositivos sensores à base de difração para expandir mediante utilidade destes dispositivos. Existem muitos e vários tipos de dispositivos  
20 sensores à base de difração e é contemplado que os analisadores da presente invenção podem ser usados com quaisquer destes dispositivos sensores à base de difração.

Conforme usado aqui, um "dispositivo sensor à base de difração" significa a inclusão de qualquer dispositivo  
25 sensor que, mediante ligação de um analito com o dispositivo, difratará luz transmitida ou refletida para formar uma imagem de difração. O dispositivo sensor à base de difração preferivelmente não difrata luz se o analito não estiver presente, porém difrata luz quando o mesmo está  
30 presente. Os versados na técnica reconhecerão que a medição

na diferença entre duas ou mais imagens de difração pode também ser usada para detectar a presença de um analito na presente invenção. Os versados na técnica também reconhecerão que o dispositivo sensor à base de difração  
5 pode incluir uma primeira imagem de difração e, após o analito ter se ligado ao dispositivo, uma segunda imagem de não difração.

Os dispositivos sensores à base de difração úteis na presente invenção geralmente fornecem um substrato, pelo  
10 que é colocado um material que se liga ao analito de escolha. Outros aspectos podem ser providos para melhorar a eficácia dos dispositivos sensores à base de difração, tais como, revestimentos adicionais, camadas de bloqueio, elementos de melhora de difração e assim por diante.

15 Conseqüentemente, um aspecto da presente invenção inclui um visualizador que permite ao usuário interpretar facilmente se um analito está presente em um sistema por permitir ao usuário visualizar se uma imagem de difração está presente. O visualizador geralmente inclui um  
20 dispositivo para prender o dispositivo sensor à base de difração, um dispositivo para transmitir ou refletir uma luz através do dispositivo sensor e, possivelmente, um alojamento para segurar o dispositivo de sustentação e o dispositivo de transmissão de luz. O visualizador pode  
25 também incluir dispositivos para ativar a luz e dispositivos para determinar mais facilmente se uma imagem de difração está presente, tal como uma tela de projeção.

As figuras 1 e 2 ilustram duas concretizações possíveis de um visualizador de acordo com a presente  
30 invenção. Na figura 1, o visualizador 100 inclui um

alojamento 110 que inclui uma fonte de luz (não mostrada). A fonte de luz pode ser uma luz laser, LED, um bulbo de luz ou qualquer outro dispositivo capaz de gerar uma luz. O alojamento inclui um orifício 120 através do qual o usuário  
5 pode olhar. O alojamento 110 inclui uma fenda 120, ou outro dispositivo, dentro do qual a amostra a ser visualizada é colocada. A amostra também pode ser mantida no lugar usando um grampo, bandeja ou outro dispositivo apropriado. Quando a amostra é colocada dentro da fenda 130, a fonte de luz  
10 pode ser automaticamente ativada ou um botão 140 ou outro dispositivo pode ser usado para ativar a fonte de luz. A luz é então tanto transmitida quanto refletida através da amostra. O usuário do dispositivo pode então simplesmente olhar através do orifício 120. Se o analito estiver  
15 presente, o usuário verá uma imagem de difração e se o analito não estiver presente, então o usuário visualizará apenas a fonte de luz.

A figura 2 ilustra uma concretização alternativa de um visualizador de acordo com a presente invenção. O  
20 visualizador 200 inclui um alojamento 210, uma fonte de luz (não mostrada) e uma fenda 230 ou outros dispositivos para prender a amostra, juntamente com um botão 240 ou outro dispositivo para ativar a fonte de luz. Contudo, ao invés do orifício 120 usado na figura 1, o visualizador 200  
25 inclui uma tela 250 contra a qual a luz transmitida ou refletida é projetada. Em uso, a fonte de luz é ativada e a luz é então tanto transmitida quanto refletida pela amostra. Se o analito estiver presente, o usuário verá uma imagem de difração projetada contra a tela 250, e se o

analito não estiver presente, então o usuário verá apenas a fonte de luz projetada contra a tela 250.

Um componente opcional para os visualizadores descritos acima seria usar um objeto opaco (por exemplo uma máscara) para bloquear a ordem zero ou feixe de luz não difratado. Desta forma, um usuário apenas veria as ordens difratadas se o analito estiver presente e não veria luz alguma se o analito não estivesse presente.

Ao invés de usar um visualizador que permita ao usuário ver, a olho nu, se uma imagem de difração foi gerada, a presente invenção também pode provê um analisador que permite ao usuário de um dispositivo sensor à base de difração determinar mais rápida e eficazmente a presença de um analito em uma dada amostra. Embora o usuário do dispositivo sensor à base de difração possa ser capaz de determinar a presença de um analito a olho nu e um visualizador, o analisador destina-se a confirmar a determinação feita pelo usuário ou ser usado para fazer a determinação inicial com o usuário possivelmente confirmando a olho nu, dependendo das capacidades do usuário e/ou tipo de imagem de difração gerada.

Se o analisador for usado sozinho ou se for usado para determinação inicial da presença do analito na amostra, então algoritmos de difração geralmente serão usados para determinar os padrões pelos quais um resultado positivo, indicando a presença do analito, é determinado ou um resultado negativo, indicando a ausência do analito é determinado. O tipo de algoritmo usado pode ter como base uma variedade de fatores, tanto sozinho quanto em combinação e incluindo, porém não limitado ao analito a ser

detectado, o tipo de dispositivo sensor à base de difração usado, a amostra a ser testada, a imagem de difração gerada, o tamanho dos aspectos na imagem de difração, a imagem de difração e/ou tamanhos e/ou formas naquele padrão, o tipo de analisador usado, o nível desejado de sensibilidade e o sistema total no qual o dispositivo é usado, entre outros. Conseqüentemente, os algoritmos providos aqui significam apenas exemplos representativos de algoritmos que podem ser usados na presente invenção. É antecipado que outros algoritmos podem ser usados a medida que eles são capazes de determinar a presença de um analito usando um dispositivo sensor à base de difração de um modo exato e confiável. Adicionalmente, é desejado que os algoritmos sejam capazes de determinar rapidamente a presença do analito, embora exatidão adequada seja mais desejável.

A estrutura do analito pode variar em vista de um ou mais fatores incluindo, porém não limitado ao analito a ser detectado, o tipo de dispositivo sensor à base de difração usado, a amostra a ser testada, a imagem de difração gerada, o nível desejado de sensibilidade e o sistema total no qual o dispositivo é usado, entre outros. De modo geral, o analisador inclui um alojamento para conter os componentes internos, um dispositivo para iluminar o dispositivo sensor à base de difração em uma maneira que gera uma imagem de difração, dispositivo para medir a quantidade de luz difratada e/ou não difratada, um dispositivo para converter a medição do dispositivo para medir a quantidade de luz difratada em um resultado indicando a presença ou falta do analito e/ou um

dispositivo para informar ao usuário se o analito está presente na amostra.

O dispositivo para iluminar o dispositivo sensor à base de difração em uma maneira que gere a imagem de difração pode incluir uma fonte de luz ou algumas fontes de iluminação correlatas. Desejavelmente, uma fonte de luz é usada. A fonte de luz pode ser interna (LED, diodo laser ou lâmpada halógena, por exemplo) ou externa (luz ambiente, por exemplo) ao alojamento. Adicionalmente, a fonte de luz pode estar no espectro visível ou invisível ao olho humano. A fonte de luz é escolhida, tal que o analisador é capaz de determinar se a difração da fonte de luz ocorreu devido a presença do analito no dispositivo sensor à base de difração. É contemplado que um LED, um laser ou qualquer fonte de luz focada serão as fontes de luz mais úteis na presente invenção, embora outras fontes de luz possam ser usadas. Adicionalmente, a fonte de luz pode ser transmitida diretamente através do dispositivo sensor à base de difração ou a luz da fonte de luz é iluminada na superfície do dispositivo, geralmente em um ângulo, tal que, a imagem de difração seja refletida da superfície.

O analisador pode empregar um ou mais fotodetectores como o dispositivo para medir a quantidade de luz difratada e/ou não difratada. Fotodetectores possíveis incluem junções semicondutoras fotovoltaicas ou de fotocondução (fotodiodo), bolômetros ou detectores piroelétricos. Os detectores podem ser dispostos individualmente ou em fileiras multiplexadas (tais como, dispositivos acoplados de carga ou fileiras de detector de interface CMOS).

Em uma concretização desejável, o analisador incorpora um microprocessador ou dispositivo semelhante como um dispositivo para converter a medição do dispositivo para medir a quantidade de luz difratada como um resultado  
5 indicando a presença ou ausência do analito.

Uma vez que um resultado, tanto positivo quanto negativo tenha sido determinado, este resultado pode ser indicado ao usuário através de um dispositivo para informar ao usuário se o analito está presente na amostra. Isto  
10 significa compreender, preferivelmente, um visor ou dispositivo semelhante capaz de informar o usuário. O visor pode ser qualquer visor padrão, tal como, um visor de cristal líquido (LCD). O visor poderia mostrar, possivelmente, a imagem de difração, pelo que, permitindo  
15 ao usuário visualizar se a difração ocorreu. Ou o visor simplesmente forneceria uma mensagem, tal como, "sim" ou "não" ou "analito presente" ou "analito não presente" ou alguma outra mensagem semelhante para permitir que o usuário saiba se o analito estava presente na amostra sem  
20 que o usuário tenha que interpretar se a difração ocorreu, desta forma reduzindo o erro humano. Ainda em outra concretização, no caso de um erro ou se o analisador for incapaz de determinar a presença do analito, então a mensagem para este efeito pode ser mostrada.

25 Alternativamente, pelo menos uma luz pode ser usada para sinalizar se o analito estava presente. Por exemplo, uma luz pode ser usada e a luz iluminaria apenas quando o analito estivesse presente ou não presente, dependendo da determinação desejada. Alternativamente, duas ou mais luzes  
30 podem ser usadas com uma luz rotulada "sim" e a outra luz

rotulada "não" e o analisador iluminaria a luz apropriada. Ou as luzes seriam codificadas por cor, tal que uma cor, tal como verde, poderia ser usada para indicar que o analito estava presente enquanto uma segunda cor, tal como  
5 vermelho, seria usada para indicar que o analito não estava presente.

O analisador pode incluir, adicionalmente, um ou mais aspectos adicionais para ajudar ao usuário na determinação mais precisa e/ou rápida da presença do analito. Por  
10 exemplo, o analisador pode incluir um dispositivo para prender a amostra no lugar, tal que um resultado mais acurado possa ser obtido ou para determinar mais rapidamente se o analito está presente. O dispositivo pode incluir uma bandeja, um grampo, uma fenda ou qualquer outro  
15 dispositivo semelhante capaz de prender a amostra no lugar.

O analisador pode também incluir dispositivos para direcionar, focalizar e/ou intensificar a fonte de luz. O dispositivo pode refletir a luz, conforme discutido previamente ou podem intensificar a luz, desta forma  
20 aumentando o nível de difração e, portanto, aumentando a sensibilidade e/ou exatidão do dispositivo. Os dispositivos para direcionar e/ou intensificar a luz podem incluir espelhos e/ou lentes ou quaisquer dispositivos semelhantes. Utilizando-se estes tipos de dispositivos, pode ser  
25 possível evitar o emprego de um microprocessador ou semelhante, a medida que a difração de luz melhorada pode permitir ao usuário determinar a presença do analito a olho nu.

Adicionalmente, a presente invenção pode usar uma  
30 máscara para ajudar a eliminar a possibilidade de um falso

positivo como um resultado do fotodiodo detectando luz difusa ao invés de luz difratada quando a luz é passada através ou refletida pelo dispositivo sensor. A máscara inclui um objeto opaco que possui orifícios que alinham-se com a imagem de difração ou alternativamente, orifícios que alinham-se a alguma porção da imagem de difração de interesse. A máscara pode ser usada para bloquear toda a luz, exceto a luz difratada de ser detectada pelos dispositivos para medir a quantidade de luz difratada, tal como fotodiodo. O suporte de máscara ou montagem pode também incluir dispositivos para girar a máscara, dependendo do dispositivo sensor à base de difração usado ou por qualquer outra razão desejada.

Em uso, a máscara é colocada entre o dispositivo sensor à base de difração e o fotodiodo ou outro dispositivo para medir a luz. A máscara inclui uma porção sólida e orifícios que permitem que a luz passe pelos mesmos. O padrão dos orifícios é escolhido para corresponder à imagem de difração gerada pelo dispositivo sensor à base de difração, se o analito tiver sido ligado ao dispositivo sensor. Como tal, a máscara bloqueia a luz de não difração enquanto deixa que a luz difratada passe; desta forma, a intensidade apenas da luz difratada pode ser medida.

Então, a máscara é girada tal que a luz difratada é bloqueada e a quantidade de intensidade de luz é medida novamente. Alguma luz difusa, se presente, passará através dos orifícios na máscara, enquanto a luz difratada será bloqueada. Como tal, quando uma segunda leitura de intensidade de luz é feita, uma comparação da quantidade de

luz detectada com a máscara no lugar para a quantidade de luz detectada quando a máscara é girada determinará se o analito está presente na amostra. O analisador comparará as leituras e, com base no algoritmo usado fornecerá um  
5 resultado. Se a máscara for usada no analisador, a máscara pode ser incluída no alojamento do analisador juntamente com um dispositivo para girar a máscara a uma quantidade desejada para medir a luz de difração e não difração.

Se um microprocessador for usado como o dispositivo  
10 para converter a medição do fotodiodo ou dispositivo semelhante para um resultado indicando a presença ou ausência do analito, então o microprocessador pode incluir capacidade de memória para permitir que o usuário seja capaz de recuperar os vários últimos resultados do  
15 analisador. O número de resultados recuperados pode variar conforme desejado. De modo geral, contudo, a memória seria capaz de recuperar pelo menos cerca de cinco resultados. Os versados na técnica apreciarão que dispositivos de memória que podem ser lidos por computador incluem RAM, ROM, EPROM,  
20 EEPROM, cartões de memória flash, discos de vídeo digitais, cartuchos Bernoulli e outros. Ainda, qualquer tipo de chip de computador incluindo uma memória pode ser incluído ou de outra forma associado ao analisador.

A figura 3 provê ainda outra concretização de um  
25 analisador da presente invenção, com esta concretização possuindo vários aspectos opcionais. Esta concretização provê um modo para direcionar a luz, tal que ela pode ser usada em um dispositivo de leitura compacto. Conforme mostrado na figura 3, uma amostra 310 é colocada em um  
30 prendedor 312 para prender a amostra 310 no lugar. Uma

fonte de luz 314 é transmitida através da amostra 310. Se a amostra contém o analito, então a luz é difratada e sai da fonte de luz como uma série de luz 316 que inclui a luz difratada e a não difratada. A luz difratada 316 é refletida em um espelho 318 e uma máscara 320 pode ser usada para bloquear qualquer luz 322, que consiste essencialmente de luz não difratada, que não é difratada. A luz restante 324, que consiste essencialmente na luz difratada, é novamente refletida em outro espelho 326 e coletada por um fotodiodo 328 e um microprocessador (não mostrado) interpreta o resultado e fornece o resultado apropriado no visor 330, que é uma série de luzes para esta concretização.

Em uma concretização, a máscara 320 é usada para bloquear a luz 322 que não é difratada. Assim, a máscara permite mais luz difratada para o fotodiodo, que mede a intensidade da luz. Ainda em outra concretização, a intensidade medida da luz é direcionada a um microprocessador que emprega um algoritmo. Um resultado do algoritmo é então alimentado ao visor 330, tal que um conjunto de luzes que poderiam iluminar como um modo simples de indicar ao usuário se a amostra é positiva ou negativa (por exemplo, luz vermelha = negativo; luz azul ou luz verde = positivo). Se nenhuma luz for difratada, então toda a luz seria bloqueada e o fotodiodo 328 não detectaria luz e, portanto, o analisador indicaria que o analito não está presente na amostra. Como tal, se o analito estiver presente no sistema, ditará a quantidade de luz detectada pelo fotodiodo 328. Contudo, como uma quantidade pequena de difração pode ocorrer no caso de erro, tal como entrada de

pó no sistema, o fotodiodo 328 detectará luz, mesmo que o analito não esteja presente na amostra 312. Conseqüentemente, quando se utiliza o analisador, o grau de difração pode ser levado em consideração quando se determina se o fotodiodo e o microprocessador indicam a presença ou ausência do analito na amostra.

Em uma concretização opcional, o processo para analisar as amostras de difração também utiliza uma máscara. Contudo, são feitas duas medições da intensidade da luz. A primeira medição é da luz difratada que clareia a máscara. A máscara é então girada, de modo que a luz difratada é bloqueada; resultando assim apenas em luz difusa, caso presente, passando através da máscara e sendo medida. A razão das duas medições é então usada para determinar se a amostra é positiva ("sim", o analito está presente) ou negativa ("não", o analito não está presente). Desta forma, o processo permite que a luz difusa seja contabilizada, tal que uma amostra "desordenada", que é definida como uma amostra que difunde a luz, porém não difrata, não cause uma leitura positiva.

Os tipos de algoritmos que podem ser usados são vários e podem variar dependendo de um ou mais fatores incluindo, porém não limitado ao analito a ser detectado, a amostra usada, os componentes do analisador, o grau de sensibilidade desejado, o sistema no qual o analisador é usado e outros. Em uma concretização da presente invenção, o algoritmo desejado para o sistema permitirá que o usuário manipule os dados (dados de intensidades de luz difratadas em várias ordens de difração), tal que, apenas as ordens de

difração mais elevadas sejam contadas como uma amostra de difração. Isto aumentaria a exatidão do sistema.

O algoritmo terá dois componentes básicos: 1) o processo pelo qual a intensidade da luz é medida e 2) o cálculo usado para disparar uma leitura "positiva" ou "negativa" ou "não" lido. O algoritmo é um dos componentes desejados da presente invenção, uma vez que ele provê um modo para aumentar a exatidão, especialmente por eliminação de falsos positivos.

Um exemplo de algoritmo seria:

$(\text{Intensidade da luz difratada} \geq \text{segunda ordem}) / (\text{intensidade da luz que entra})$

Em um caso, a luz que entra seria medida antes de passar pela amostra. Em uma concretização desejada, a luz que entra foi medida após transmissão através da amostra e coleta do feixe difratado e de ordem zero para esta leitura de intensidade. O algoritmo estabeleceria um valor de corte para esta razão, tal que as amostras medindo acima deste valor = "positivo" e amostras medindo abaixo deste valor = "negativo". Um exemplo de valor de corte seria de cerca de 0,3. Novamente, o valor de corte pode variar dependendo do analito a ser detectado, do tipo de dispositivo sensor à base de difração usado, a amostra a ser testada, a imagem de difração gerada, o tamanho dos aspectos na imagem de difração, a imagem de difração e/ou tamanhos e/ou formas naquele padrão, o tipo de analisador usado, o nível desejado de sensibilidade e/ou o sistema total no qual o dispositivo é usado.

Outros algoritmos e exemplos podem ser usados sendo providos nos exemplos a seguir.

A presente invenção também inclui sistemas e processos para determinar a presença de um analito em uma amostra. Nestes sistemas e processos, um dispositivo sensor à base de difração é usado em conjunto com o analisador. Uma amostra a ser testada é colocada no dispositivo sensor à base de difração. Dependendo do tipo de dispositivo sensor à base de difração usado, a amostra pode precisar descansar por vários minutos para permitir tempo para o analito, caso presente, se ligar ao dispositivo sensor à base de difração. Ou o dispositivo sensor à base de difração e a amostra podem ser visualizados imediatamente.

A luz é então transmitida tanto diretamente através do dispositivo, quanto refletida do dispositivo sensor à base de difração. Se o analito a ser detectado estiver presente na amostra, então o analito difrata a luz. Se o analito não estiver presente, então a luz não é difratada. Contudo, é contemplado que o dispositivo sensor à base de difração também poderia ser construído e disposto tal que a luz não difratará se o analisador estiver presente, porém difratará se o analito não estiver presente. Também, o dispositivo sensor à base de difração pode ser designado tal que se o analito não estiver presente, a luz será difratada em uma primeira quantidade e se o analito estiver presente a luz será difratada em uma segunda quantidade e o analisador é capaz de medir a diferença e determinar se o analito está presente.

Após a luz ter sido transmitida ou refletida através da amostra e difratada, a luz difratada é medida usando um detector apropriado, tal como um fotodiodo. O detector mede a intensidade da luz difratada. O detector pode medir,

opcionalmente, a intensidade de luz incidente tanto antes da amostra ser colocada no instrumento, quanto após a amostra ser removida. Alternativamente, o segundo detector e um dispositivo separador de feixe podem ser usados para  
5 medir a intensidade da luz incidente ao mesmo tempo que a luz difratada. Então, um dispositivo para determinar se o analito está presente, tal como um microprocessador é usado para determinar se a amostra é positiva ou negativa. Se um microprocessador for usado, então um código ou um programa  
10 de software incorporando um algoritmo é desejavelmente usado para analisar a entrada do fotodiodo. Para operar o algoritmo, um elemento de software pode ser instalado para operar os cálculos necessários e determinar o resultado final. Este resultado é então fornecido ao usuário usando  
15 um dispositivo para informar ao usuário se o analito está presente na amostra, tal como um visor LCD ou uma série de luzes.

Se um elemento de software for usado na presente invenção, ele desejavelmente fornece instruções executáveis  
20 pelo computador para interpretar a quantidade de luz medida pelo fotodiodo e gera uma saída representando se o analito está presente na amostra. O microprocessador executa as instruções executáveis pelo computador do elemento de software.

25 O sistema também provê uma interface de entrada e uma interface de saída. Usando a interface de entrada, o microprocessador pode receber dados relacionados a quantidade de luz do fotodiodo. O uso da interface de saída permite que o microprocessador, controlado pelo elemento de  
30 software, comunique-se com os dispositivos para informar ao

usuário se o analito está presente na amostra para prover um resultado ao usuário.

Os versados na técnica apreciarão que o elemento de software pode também ser executado por um sistema distinto, tal como um desktop, laptop ou sistema de computador manual, que está em comunicação com e é operado em conjunto com o analisador.

Os dispositivos sensores à base de difração podem incluir vários aspectos diferentes, dependendo de fatores previamente discutidos.

Em geral, os dispositivos sensores à base de difração utilizarão um substrato. O substrato pode incluir qualquer material que é substancial e opticamente transparente incluindo, porém não limitado ao vidro e ao plástico. Contudo, o substrato desejado é uma película de polímero. Adicionalmente, para ajudar na ligação ao substrato, o substrato desejavelmente possui uma película fina de um metal ou óxido de metal revestido na película. Contudo, se a luz refletida for usada, materiais não opticamente transparentes podem ser usados.

Qualquer película pela qual um revestimento de metal pode ser depositado é apropriada para a presente invenção. Estas incluem, porém não estão limitadas aos polímeros, tais como: tereftalato de polietileno (MYLAR®), estireno de acrilonitrila-butadieno, copolímero de acrilato de acrilonitrila-metila, celofane, polímeros celulósicos, tais como, etil celulose, acetato de celulose, butirato acetato de celulose, propionato de celulose, triacetato de celulose, polietileno, copolímeros de acetato de polietileno-vinila, copolímeros de ionômeros (polímeros de

etileno) de polietileno-náilon, polipropileno, polímeros de metil penteno, fluoreto de polivinila e polissulfonas aromáticas. Preferivelmente, a película plástica possui uma transparência óptica maior do que 80%. Outros plásticos  
5 apropriados e fornecedores podem ser encontrados, por exemplo, em trabalhos de referência, tais como, *Modern Plastics Encyclopedia* (McGraw-Hill Publishing Co., New York, 1923-1996).

Em uma concretização da invenção, a película com o  
10 revestimento de metal sobre a mesma, possui uma transparência óptica entre cerca de 5% e 95%. Uma transparência óptica mais desejada para a película com o revestimento de metal sobre a mesma usado na presente invenção está entre cerca de 20% e 80%. Em uma  
15 concretização desejada da presente invenção, a película possui pelo menos cerca de 80% de transparência óptica e a espessura do revestimento de metal é tal que mantém uma transparência óptica superior a 20%, de modo que as imagens de difração podem ser produzidas tanto por luz refletida  
20 quanto transmitida. Contudo, nas outras concretizações da invenção, a espessura do metal pode estar entre cerca de 1 nm e 2.000 nm.

Os metais que podem ser usados para deposição sobre a película incluem ouro, prata, alumínio, cromo, cobre,  
25 ferro, zircônio, platina e níquel, bem como óxidos destes metais.

Além do substrato, os dispositivos sensores à base de difração também incluem um material receptor, que é específico para o analito ou analitos de interesse. Este  
30 material receptor é geralmente colocado em um padrão sobre

o substrato, tal que, quando o analito se liga ao material receptor, uma imagem de difração específica é formada.

Em uma concretização possível, o material receptor é anexado a uma camada de anexação que está localizada no substrato. Em alguns casos, o material receptor pode ser aderido passivamente à camada de anexação. Caso desejado, os grupos funcionais livres introduzidos na superfície de teste pela camada de anexação podem ser usados para anexação covalente do material receptor à superfície de teste. Químicas disponíveis para anexação dos materiais receptores são bem conhecidas dos versados na técnica.

Em outra concretização, a proteína de ligação de anticorpo padronizada é usada como uma camada de anexação. As camadas de proteína de ligação de anticorpo padronizada com anticorpos ligados são responsáveis pela colocação padronizada ou ligação dos analitos sobre a mesma.

Em uma concretização da presente invenção, a camada de anexação é uma monocamada de automontagem. As monocamadas automontadas de compostos orgânicos sobre as superfícies inorgânicas ou de metal são um aspecto de uma concretização da presente invenção. Embora existam muitos sistemas diferentes de monocamadas automontadas com base nos componentes orgânicos e suportes diferentes, os sistemas desejados são aqueles de alcanotiolatos,  $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{R}$  em películas de ouro. Tipicamente, uma película de ouro de 1 a 2.000 nm de espessura, é suportada em uma bolacha de Si/SiO<sub>2</sub> revestida com titânio ou folha de vidro. O titânio serve como um promotor de adesão entre o ouro e o suporte. Os alcanotióis quimioabsorvem na superfície do ouro de uma solução onde a película de ouro é imersa e formam

alcanotiolatos adsorvidos com perda de hidrogênio. A adsorção pode também ocorrer do vapor. Uma ampla variedade de grupos funcionais (R) pode ser incorporada na superfície ou interior da monocamada.

5 As camadas de automontagem podem portanto ser talhadas para fornecerem uma ampla variedade de propriedades de material: tais como, umectabilidade e proteção contra corrosão por decapantes químicos. Adicionalmente, os grupos funcionais podem ser reativos de modo a permitir anexação  
10 covalente do material receptor a monocamada de automontagem.

Em outra concretização, o material receptor pode ser diretamente aplicado ao substrato. Em uma concretização específica, o material receptor é um anticorpo. O material  
15 receptor é caracterizado pela capacidade de ligar especificamente um analito ou analitos de interesse. Os vários materiais que podem ser usados como material receptor são limitados apenas pelos tipos de material que combinarão seletivamente (com relação a qualquer amostra  
20 escolhida) com um parceiro secundário. Subclasses de materiais que podem ser incluídos na classe total de materiais receptores incluem toxinas, anticorpos, antígenos, receptores de hormônio, parasitas, células, haptenos, metabolitos, alergenos, ácidos nucléicos,  
25 materiais nucleares, autoanticorpos, fragmentos celulares, enzimas, proteínas de tecido, substratos de enzima, coenzimas, transmissores de neurônio, vírus, partículas virais, microorganismos, proteínas, polissacarídeos, queladores, medicamentos e qualquer outro elemento de um  
30 par de ligação específico. A lista apenas incorpora alguns

dos muitos materiais diferentes que podem ser usados como o material receptor para produzir um sistema de ensaio de película fina. Qualquer que seja o material de analito de interesse, o material receptor é designado para ligar-se especificamente ao analito de interesse.

Os dispositivos sensores à base de difração com receptores padrão produzidos desta forma podem ser usados em quaisquer de dois modos, dependendo do tamanho do analito. Para analitos que são capazes de causar difração propriamente, tais como microorganismos, o sistema é usado primeiro por exposição do dispositivo sensor à base de difração a um meio que contenha o analito de escolha e então, após um período de incubação apropriado, transmissão de luz, tal como laser, através da película ou reflexão da mesma da película. Se o analito estiver presente no meio e for ligado a camada de receptor, a luz é difratada de modo a produzir uma imagem visível.

Opcionalmente, para analitos muito pequenos tais como proteínas, o sistema pode utilizar "elementos de melhora de difração" que são capazes de ligar-se ao analito alvo e são capazes de produzir uma alteração substancial na altura e/ou no índice de refração, desta forma aumentando a eficácia da difração do biosensor e permitindo a detecção de analitos menores. Em uso, um analito alvo anexa-se tanto ao elemento de melhora de difração, que então anexa-se ao dispositivo sensor à base de difração quanto diretamente as áreas de seleção da película de polímero, pelo que, o receptor é impresso, com o elemento de melhora de difração então ligando ao analito. Então a difração da luz transmitida e/ou refletida ocorre através das dimensões

físicas e definidas, colocação precisa do analito e/ou elemento de melhora de difração. Uma imagem de difração é produzida podendo ser facilmente vista a olho nu ou, opcionalmente, com um dispositivo sensor.

5 Outra opção para uso deste sensor envolve a detecção dos analitos que são anticorpos. O dispositivo sensor compreenderia apenas as proteínas de ligação de anticorpo padronizadas e então seria exposto ao meio possuindo partículas de melhora de difração que possuem um anticorpo  
10 específico para o anticorpo a ser detectado. A seleção do anticorpo na partícula é preferivelmente feita, de modo que ele não se liga especificamente a proteína de ligação de anticorpo padronizada, porém em vez disto, liga-se apenas quando o anticorpo do analito também é ligado. Desta forma,  
15 os elementos de melhora da difração causariam uma alteração substancial na altura e/ou no índice de refração se o anticorpo de analito estiver presente, desta forma fazendo com que uma imagem de difração seja formada.

As partículas de elemento de melhora da difração que  
20 podem ser usadas na presente invenção incluem, porém não estão limitadas ao vidro, celulose, polímeros sintéticos ou plásticos, látex, poliestireno, policarbonato, partículas metálicas (por exemplo, micropartículas de ouro, nanopartícula de ouro, agente de precipitação de prata ou  
25 micropartículas de prata, células de bactérias ou de fungos, e assim por diante. As partículas são preferível e substancialmente de forma esférica, porém a configuração estrutural e espacial da partícula não é importante para a presente invenção. Por exemplo, as partículas poderiam ser  
30 em forma de lascas, elipse, cubos e assim por diante. Os

tamanhos das partículas variam de um diâmetro de cerca de 0,1  $\mu\text{m}$  a cerca de 100,0  $\mu\text{m}$ , desejavelmente entre cerca de 0,3  $\mu\text{m}$  a cerca de 1  $\mu\text{m}$ . A composição da partícula do elemento não é importante para a presente invenção.

5 Preferivelmente, a diferença no índice de refração entre o meio e o elemento de melhora está acima de 0,1.

O dispositivo sensor à base de difração pode também incluir o uso de um agente de drenagem que é usado para remover as micropartículas rotuladas não ligadas, bem como  
10 líquido residual da amostra. O agente de drenagem evita a necessidade de qualquer enxágüe adicional. Adicionalmente, um pequeno orifício pode ser perfurado no centro do agente de drenagem, de modo que, uma vez que a amostra e as partículas em excesso são drenadas para fora, o orifício  
15 permite que o usuário verifique imediatamente a imagem de difração, sem remover o material de drenagem. Exemplos de agentes de drenagem incluem membranas de nitrocelulose, membranas de acetato de celulose, membranas de PVDF, polipropileno e estruturas de microfibra de vidro.

20 Além disto, o tamanho do poro da membrana de drenagem pode variar para controlar a razão e força de drenagem. Isto pode afetar a exatidão do dispositivo de diagnóstico e também pode trazer vantagem para criar um dispositivo de uma etapa. Para obter isto, o dispositivo de uma etapa  
25 inclui um anticorpo de captura impresso por contato sobre um substrato, tal como, ouro/MYLAR<sup>®</sup>, que então possui partículas rotuladas pré-secas em sua superfície. Adicionalmente, uma membrana de drenagem lenta com um orifício cortado é colocada na parte superior do  
30 dispositivo para completar o mesmo. O usuário simplesmente

adiciona a amostra a ser testada e então visualiza a imagem de difração uma vez que a drenagem tenha ocorrido. O uso de materiais de tamanhos de poro pequeno e/ou materiais hidrófobos ou revestimentos pode retardar a drenagem o bastante para permitir incubação adequada, tal como aquela necessária para que aconteçam interações de anticorpo-antígeno. Alternativamente, a drenagem pode ser retardada por uso de um reagente sujeito à erosão no limite externo do círculo do agente de drenagem. O reagente eventualmente dissolveria ou derivatizaria, de modo que permitiria a drenagem após um período de tempo específico.

Uma grande variedade de técnicas pode ser usada para aplicar o material receptor ao substrato. As superfícies de teste podem ser revestidas com o material receptor por aplicação da solução em fileiras separadas ou padrões, por aspersão, jato de tinta ou outros processos de impressão ou por impressão por contato. A técnica selecionada minimizaria a quantidade de material receptor necessária para revestir um grande número de superfícies de teste e manter a estabilidade/funcionalidade do material receptor durante aplicação. A técnica deve também aplicar ou aderir o material receptor ao substrato, em um modo muito uniforme e reproduzível.

Em uma tal concretização, o material receptor é impresso usando impressão por microcontato. Uma estampa elastomérica é usada para transferir o material receptor "tinta" para a superfície por contato; se a estampa for padronizada, é formada uma camada de material receptor padronizado. A estampa pode ser fabricada por fusão de polidimetilsiloxano (PDMS) em um gabarito possuindo o

padrão desejado. Os gabaritos são preparados por técnicas fotolitográficas padrão, processos de gravação ou construídas de materiais existentes possuindo aspectos de superfície em microescala.

5           Em outra concretização, o material receptor é impresso no substrato, tal como um substrato ouro/MYLAR® em um padrão definido, usando uma impressora de jato de tinta. Uma resolução de 720 dpi fornece uma fileira capaz de produzir uma imagem de difração mediante ligação por um  
10 analito alvo e micropartículas rotuladas. Contudo, outras resoluções podem ser usadas. A impressora de jato de tinta provê tamanhos adequadamente pequenos (diâmetro de 40-100 micra) para fornecer uma imagem de difração.

Os analitos que são contemplados como sendo detectados  
15 usando a presente invenção incluem, porém não estão limitados a bactérias; leveduras; fungos; vírus; fator reumatóide; anticorpos, incluindo porém não limitados a anticorpos IgG, IgM, IgA e IgE; antígeno carcinoembriônico; antígeno de *Streptococcus* do Grupo A; antígenos virais;  
20 antígenos associados a doença autoimune; alérgenos; antígenos de tumor; antígeno *Streptotoccus* do Grupo B; antígeno de HIV I ou HIV II; ou resposta hospedeira (anticorpos) para aqueles e outros vírus; antígenos específicos para RSV ou resposta do hospedeiro (anticorpos)  
25 ao vírus; um antígeno; enzima; hormônio; polissacarídeo; proteína; lipídeo; carboidrato; medicamento ou ácido nucléico; espécies de *Salmonella*; espécies de *Candida*, incluindo, porém não limitado a *Candida albicans* e *Candida tropicalis*; grupos de *Neisseria meningitides* A, B, C, Y e W  
30 sub 135, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* K1, *Haemophilus*

*influenza* tipo B; um antígeno derivado de microorganismos; um hapteno, uma droga; um medicamento terapêutico; um agente ambiental e antígenos específicos para Hepatite.

Esta invenção é adicionalmente ilustrada pelos  
5 exemplos que se seguem, que não são construídos como limitando o escopo da mesma. Pelo contrário, deve ficar claramente entendido que outras várias concretizações, modificações e equivalentes das mesmas podem ser usadas, as quais, após leitura da descrição, podem ser sugeridas pelos  
10 versados na técnica sem fugir do espírito da presente invenção.

#### EXEMPLOS

##### EXEMPLOS 1-3

Nos exemplos 1-3, foram determinados um algoritmo e um  
15 processo para provisão de uma resposta sim/não através de medição(ões) direta(s) de intensidade dos feixes difratados.

A estrutura experimental incluiu o seguinte: um feixe de laser como a fonte de luz, uma amostra sensora à base de difração, uma máscara, um fotodiodo e várias lentes. Quando  
20 a amostra preencheu as condições necessárias para difração (por exemplo, o analito estava presente), as ordens de feixes de luz difratadas são transmitidas através da máscara em sua posição de 0° (não girada) e a intensidade  
25 foi medida usando o fotodiodo. Então a máscara foi girada para bloquear os feixes difratados pela máscara, de modo que eles não foram registrados pelo fotodiodo; deste modo, a luz difusa foi medida. A medição da intensidade da luz em ambas as posições da máscara permitiu que a porção da luz

difusa e os feixes difundidos fossem excluídos por contabilização destes valores.

Os vários algoritmos foram avaliados quanto a exatidão com centenas de amostras. As ordens de difração foram medidas, iniciando com a 1ª ordem - a mais próxima da principal, feixe não difratado (feixe da ordem zero) e até a 2ª ordem, 3ª ordem, etc. Uma vez que algumas amostras de controle mostraram a 1ª ordem de difração, isto foi levado em consideração por colocação de mais peso na intensidade da luz difratada de 2ª ordem e superiores. Com base nos dados coletados para centenas de amostras estudadas, uma perda específica de intensidade com rotação da máscara foi selecionada para o nível de corte para uma decisão acertada sim/não. Uma correção artificial seria feita para fornecer uma zona neutra entre os resultados positivos e negativos. Uma fórmula genérica incluiria a razão de M para R, onde M é a intensidade da luz difratada e R é a intensidade da luz não difratada; assim, as fórmulas genéticas de  $X = (M-R)$  ou  $X = (M-R)/M$  seriam usadas, onde um valor para "X" acima de um determinado nível limite indicaria uma amostra contendo analito positiva que difrata luz.

Um exemplo mais específico teria M representando a intensidade da luz difratada de 2ª ordem e superiores da luz difratada na posição 0° da máscara e R é a intensidade da luz não difratada. Esta luz não difratada seria medida através da rotação da mesma máscara usada para coletar a 2ª ordem e superiores, tal que, a luz difratada é bloqueada pela máscara e apenas a luz difusa é medida através da máscara girada. Novamente, a fórmula seria  $X' = (M-R)$  ou

$X' = (M-R)/M$ . Também, a perda de intensidade (X) da fonte de luz total devido a rotação da máscara seria medida.

Em uma concretização, onde 30% da perda de intensidade foram usados, a fórmula que se segue foi empregada:

- 5        se  $X > 30\%$  -  $(M-R)^{1.6}$  - o resultado é "positivo",  
        se  $X \leq 30\%$  -  $(M-R)^{1.6}$  - o resultado é "negativo"

Em outra concretização, a fórmula que se segue foi usada:

- se  $((M-R) > 0,027 - (M-R)^{1.6})$  - o resultado é "positivo",  
 10        se  $((M-R) < 0,027 - (M-R)^{1.6})$  - o resultado é "negativo"

Outras concretizações usaram algoritmos de refinamento constante, que incluíram fatores com base no desvio padrão de médias de leitura de intensidade.

Um exemplo é:

- 15        se  $((M-R) > 0,014 - ((-1)(0,12-X)^{1.7}))$  para  $X \leq 0,12$  - o resultado é "positivo"

       se  $((M-R) > 0,014 - X^3)$  para  $X > 0,12$  - o resultado é "positivo"

- se os critérios acima para (M-R) não forem  
 20        satisfeitos, o resultado é "negativo".

#### EXEMPLO 4

- Conforme mostrado na figura 3, um analisador manual foi preparado com os seguintes componentes: um diodo a laser como a fonte de luz; um dispositivo para prender uma  
 25        amostra sensora à base de difração, tal que a luz é transmitida através da mesma; uma máscara que bloqueou toda a luz, exceto para as 1ª, 2ª, 3ª e 4ª ordens de difração; um fotodiodo; lentes e/ou espelhos para direcionar a luz; um microprocessador com capacidade de memória; ajustes das  
 30        luzes para indicarem os resultados e LCD. Todos estes

componentes estavam contidos dentro de um alojamento pequeno e manual.

A medida que o analisador é ligado, o LCD fornece ao usuário as etapas necessárias, tais como, "Inserir Amostra", então "Acertar o Botão de Teste". Se uma amostra de difração foi inserida no prendedor de amostra, então a intensidade da luz difratada foi coletada pelo fotodiodo e um microprocessador converteu o resultado como um "positivo".

10 O microprocessador foi programado com o seguinte algoritmo:

$$A = \text{canal de leitura 1} / \text{canal de leitura 2}$$

onde o canal 1 mediu a intensidade de 2ª ordem e superiores da luz difratada, enquanto o canal 2 mediu a intensidade de 15 1ª ordem da luz difratada.

Em uma concretização, onde um corte de 2,0 foi ajustado, a fórmula que se segue foi usada:

Se  $X > 2,0$  - o resultado é "positivo",

Se  $X <$  ou igual a 2,0 - o resultado é "negativo".

20 Em um conjunto de amostras, este valor de corte de 2,0 foi verificado como fornecendo resultados acurados para amostras perfuradas com 1 µg/ml de IgE (leitura = "positiva"), e controles com 0 µg/ml IgE (leitura = "negativa"). Uma leitura positiva foi indicada pela luz 25 vermelha que foi ativada, bem como a mensagem "Amostra Positiva" no LCD. Uma leitura negativa foi indicada pela luz verde que foi ativada, bem como a mensagem "Amostra Negativa" no LCD. As leituras poderiam ser obtidas dentro de cerca de 5 segundos da colocação da amostra no 30 prendedor.

Naturalmente, o microprocessador do analisador poderia ser programado para registrar amostras de difração como "negativas", se o tipo oposto de biosensor fosse configurado.

5 Os analisadores, processos e sistemas da presente invenção podem ser usados como um teste único para detectar um analito ou podem ser formatados como um dispositivo de teste múltiplo. Eles podem ser usados para detectar contaminação nos produtos absorventes, tal como, fraldas, e  
10 detectar contaminação de microorganismos.

Na presente invenção, o dispositivo sensor à base de difração pode ser anexado a uma etiqueta ou um decalque adesivo que pode então ser colocado sobre uma superfície rígida ou parede de recipiente. O dispositivo sensor à base  
15 de difração pode ser colocado sobre a superfície interna de um recipiente, tal como uma embalagem para alimentos ou frasco de vidro. O dispositivo sensor à base de difração pode então ser analisado para determinar a presença de um analito.

20 Conforme pode ser visto, a presente invenção provê um sistema aperfeiçoado e um processo para detectar um analito por aumento da exatidão do sistema, permitindo ao usuário uma visualização mais fácil da imagem de difração usando o visualizador ou por análise da imagem de difração gerada e  
25 provisão de uma leitura positiva ou negativa, dependendo se o analito está presente na amostra.

### REIVINDICAÇÕES

1. Processo para detectar um analito em uma amostra, compreendendo as etapas de:

5 introdução da amostra em um dispositivo sensor com base na difração;

transmissão de uma fonte de luz através ou refletindo uma fonte de luz fora dos dispositivos sensíveis com base na difração para gerar imagem de difração; e

10 visualização da imagem de difração com um analisador; onde o analisador é adaptado para transmitir ou refletir a fonte de luz; medir a intensidade da luz da imagem difratada; e usar um algoritmo para determinar se o analito está presente na amostra;

caracterizado por o dito algoritmo compreender:

15  $(\text{intensidade da luz difratada} \geq \text{segunda ordem}) / (\text{intensidade da luz que entra})$ .

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dispositivo sensor com base na difração compreende:

20 uma película de polímero;

uma camada de receptor padronizada impressa na película de polímero, em que a camada de receptor possui um material receptor no mesmo que liga especificamente um analito.

25 3. Processo, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o material receptor é selecionado a partir de antígenos, anticorpos, nucleotídeos, queladores, enzimas, bactérias, leveduras, fungos, vírus, pelos bacterianos, materiais flagelares  
30 bacterianos, ácidos nucleicos, polissacarídeos, lipídeos,

proteínas, carboidratos, metais, hormônios e receptores para os ditos materiais.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que são usados elementos de melhora de difração específicos ao analito.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o analito compreende:

uma fonte de luz;

um fotodetector;

10 um microprocessador;

um sistema visor; e

um alojamento para conter a fonte de luz, o fotodetector, o microprocessador e o sistema visor.

6. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a fonte de luz fornece luz no espectro visível.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a fonte de luz é selecionada a partir de uma luz de LED, uma luz de laser, um diodo de laser, através de fibra ótica, luz natural através de um orifício, ou uma lâmpada baseada em filamento ou não-filamento.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a fonte de luz compreende luz refletida.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que o microprocessador inclui ainda um elemento de software para operar o algoritmo para determinar se um analito está presente na amostra com base na medição do fotodetector.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que o sistema visor é selecionado a partir de um visor de cristal líquido (LCD), geradores de tom audível, lâmpadas iluminadas, LEDs, uma impressora para prover uma impressão dos resultados, materiais fotossensíveis, ou pelo menos uma luz para indicar os resultados.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato de que pelo menos uma luz compreende duas ou mais luzes.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um prendedor para prender a amostra no lugar.

13. Processo, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de que o prendedor é selecionado a partir de um suporte, um grampo, um encaixe, ou uma combinação de tais.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda um dispositivo para direcionar ou melhorar a luz selecionado a partir de espelhos, lentes, guias de onda, fibras ópticas, ou uma combinação de tais.

15. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda uma máscara específica para a imagem de difração e usada para bloquear luz específica.

16. Processo, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que a máscara é construída e disposta para permitir primariamente apenas luz difratada através da mesma.

17. Processo, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que a máscara inclui ainda dispositivo para girar a máscara.

18. Processo, de acordo com a reivindicação 15,  
5 **caracterizado** pelo fato de que a rotação da máscara a dispõe de tal modo que principalmente luz não difratada é permitida pela mesma e luz difratada é bloqueada.

19. Processo, de acordo com a reivindicação 15,  
10 **caracterizado** pelo fato de que a máscara possui pelo menos duas orientações, em que na primeira orientação, principalmente luz difratada é capaz de passar pela máscara e em uma segunda orientação, principalmente luz não difratada é capaz de passar pela máscara, em que a taxa ou a diferença entre as intensidades de luz difratada e não  
15 difratada indica se o analito está presente.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 19, **caracterizado** pelo fato de que uma maior quantidade de luz difratada em relação a luz não difratada indica a presença do analito.

20 21. Processo, de acordo com a reivindicação 19, **caracterizado** pelo fato de que uma maior quantidade de luz não difratada em relação a luz difratada indica a presença do analito.

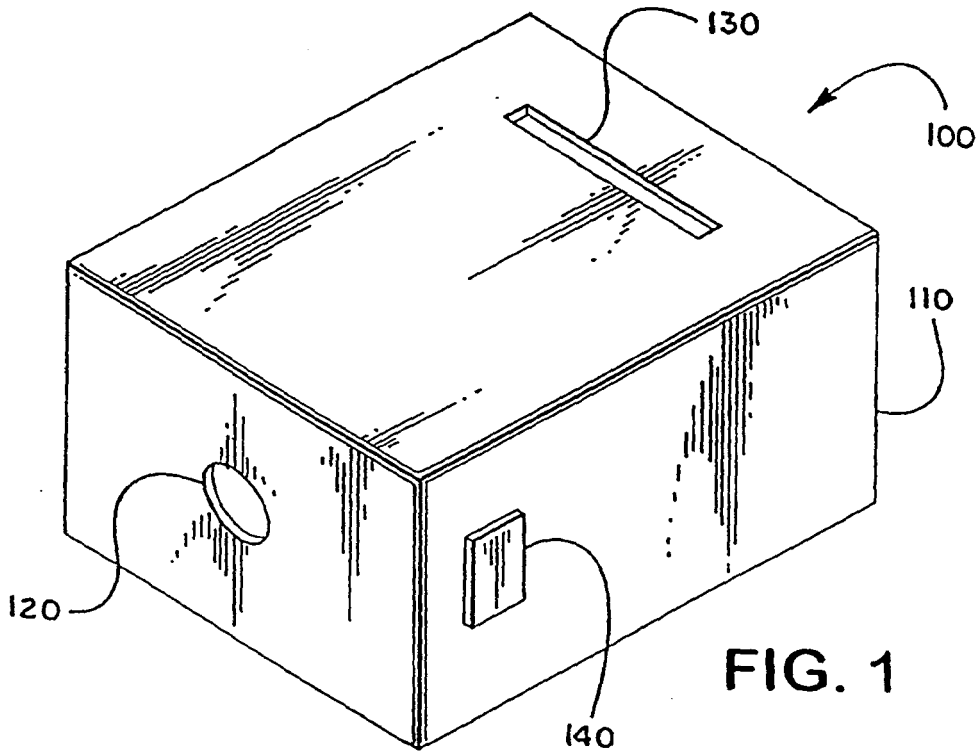


FIG. 1

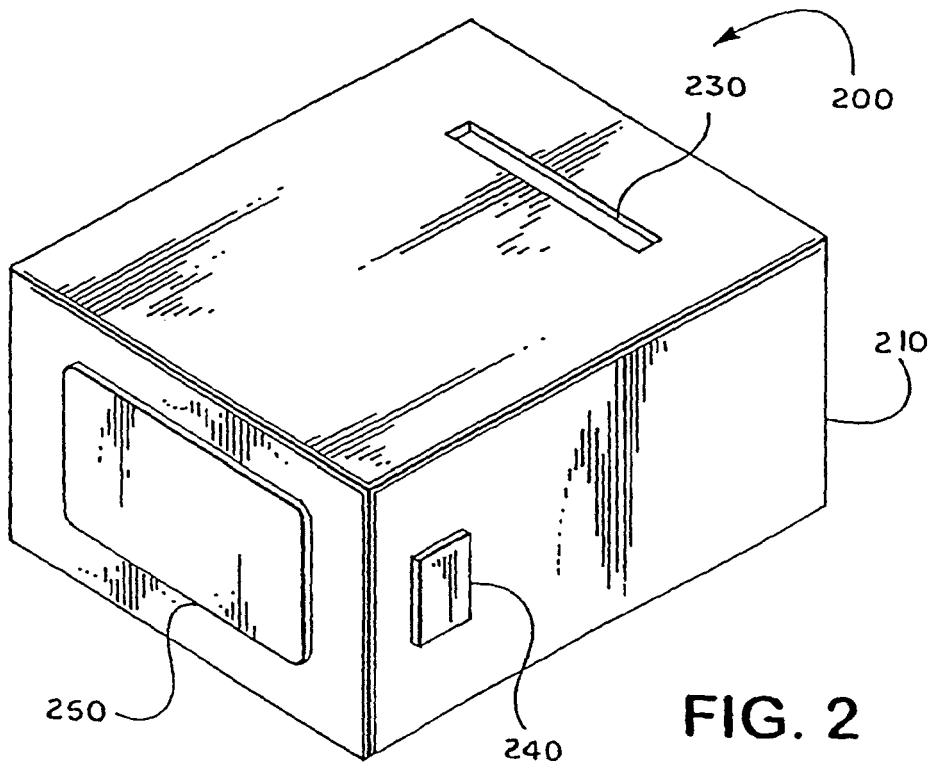


FIG. 2

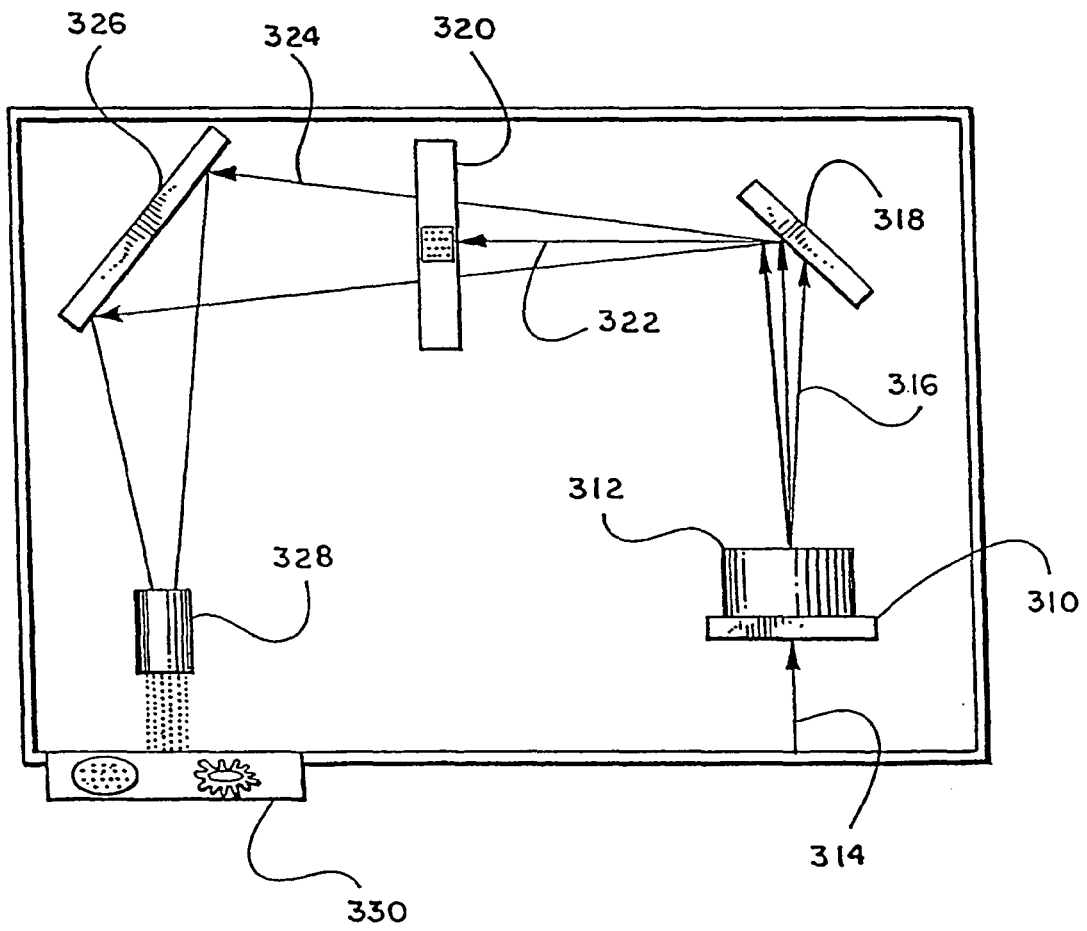


FIG. 3

ORDEM ZERO E PRIMEIRA ORDEM

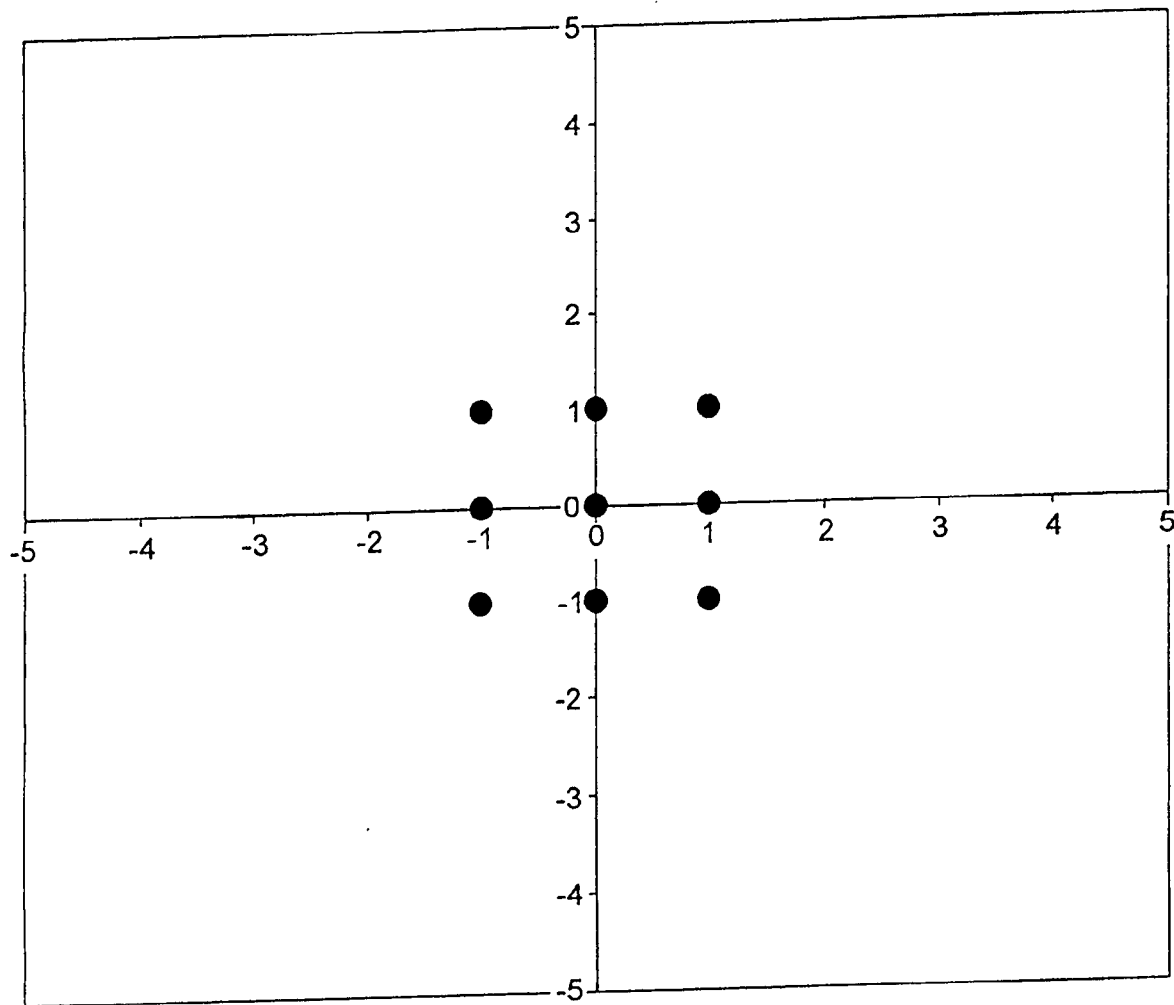


FIG. 4

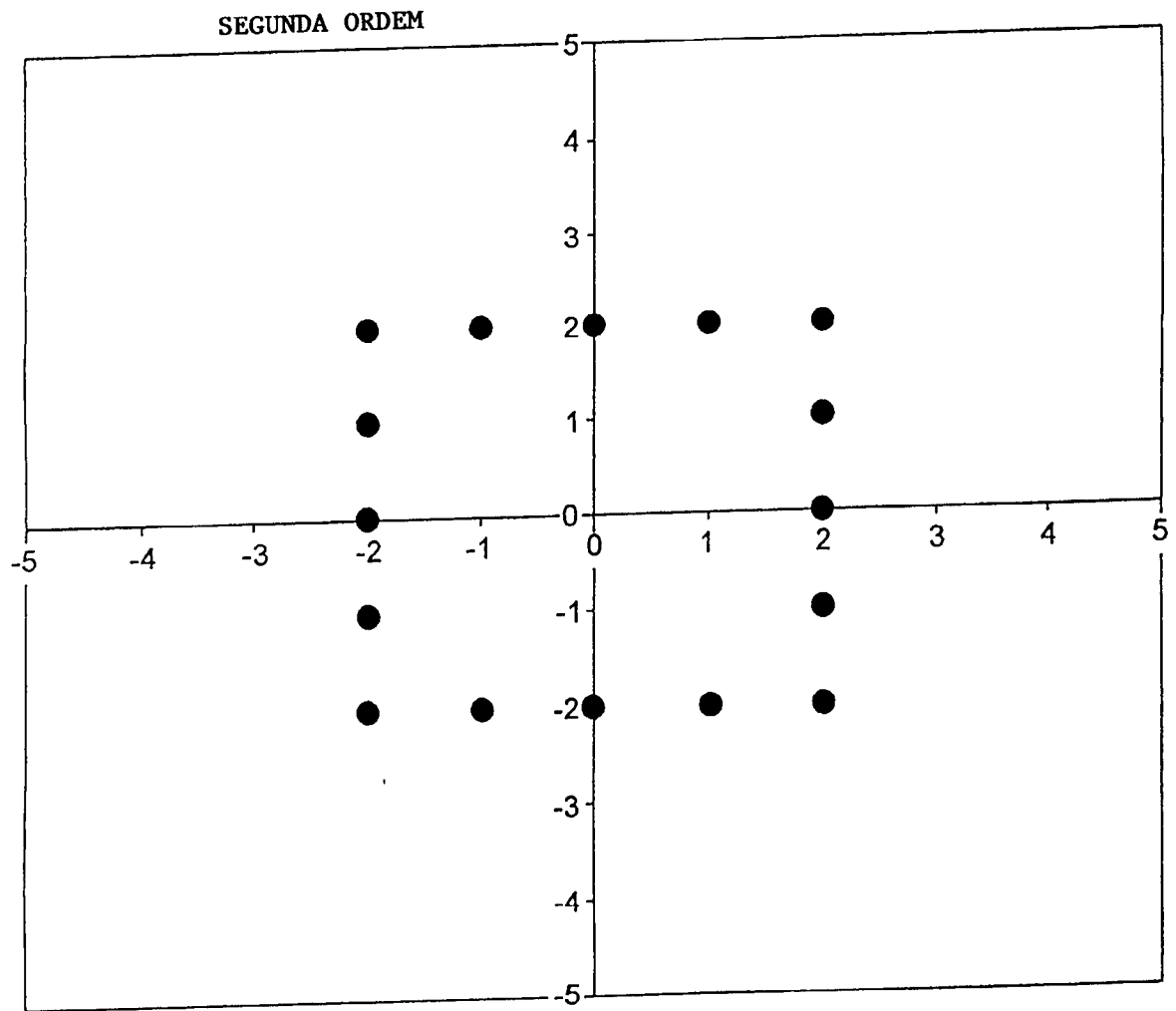


FIG. 5

TERCEIRA ORDEM

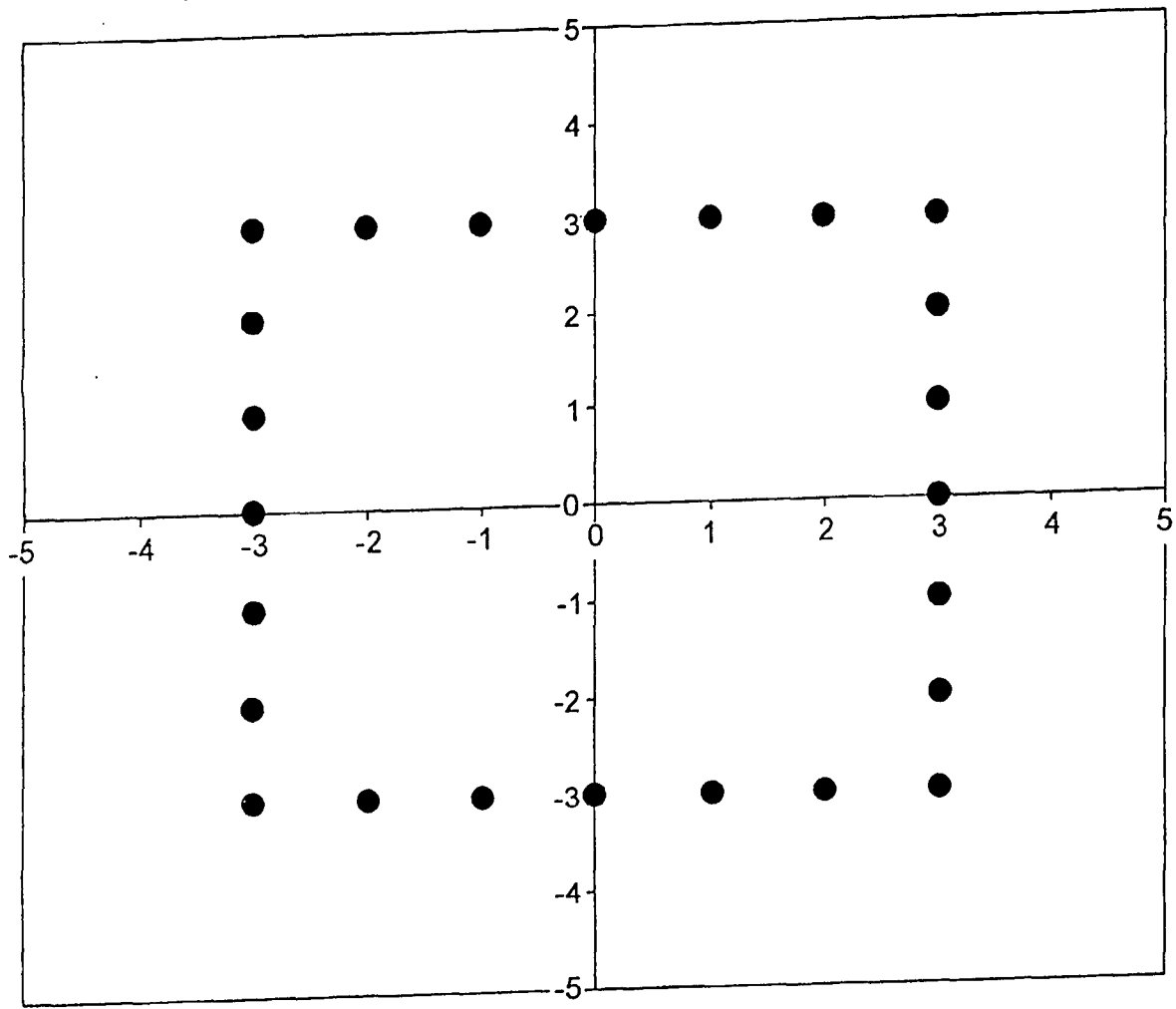


FIG. 6

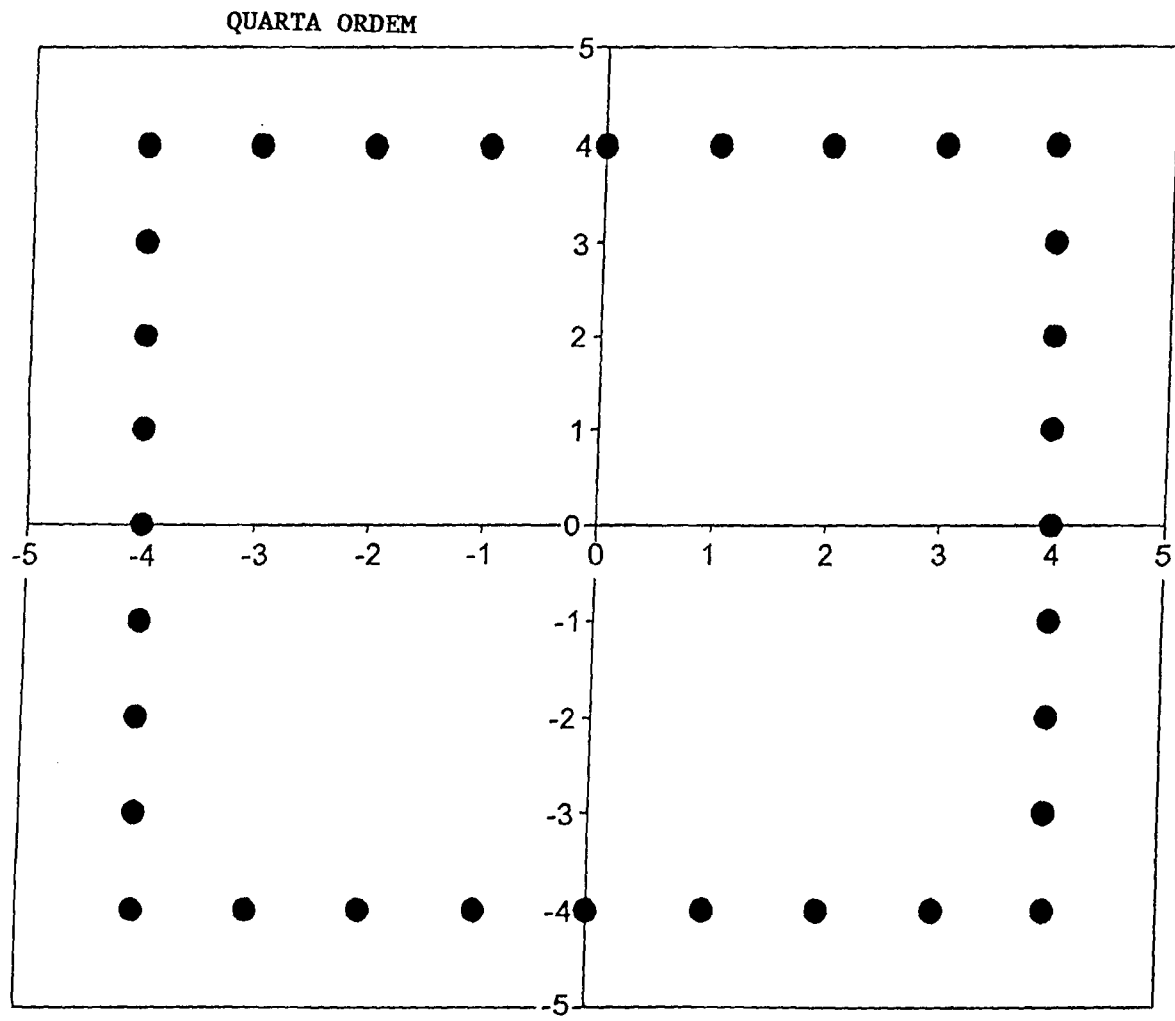


FIG. 7