

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da
Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional
24 de Fevereiro de 2022 (24.02.2022) **WIPO | PCT**

(10) Número de Publicação Internacional
WO 2022/038586 A2

(51) Classificação Internacional de Patentes:
G01N 21/55 (2014.01) *G01N 33/68* (2006.01)

(21) Número do Pedido Internacional:
PCT/IB2021/059537

(22) Data do Depósito Internacional:
15 de Outubro de 2021 (15.10.2021)

(25) Língua de Depósito Internacional: Português

(26) Língua de Publicação: Português

(30) Dados Relativos à Prioridade:
PCT/BR2020/167812
17 de Agosto de 2020 (17.08.2020) BR

(71) Requerente: **COR SYNC DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS LTDA** [BR/BR]; Rua Professor Pedro Viriato Parigot De Souza, n.º 4554, andar 03, apartamento 301, 81280330 Curitiba (BR).

(72) Inventores: **DE MACEDO QUEIXADA, Raul**; Rua Frederico Cantarelli, n.º 567, apartamento 103, 80710-240 Curitiba (BR). **GARCIA DE SÁ, Paulo Henrique**; Rua Professor Pedro Viriato Parigot de Souza, n.º 4554, apartamento 301., 81280-330. Curitiba (BR).

(74) Mandatário: **CEMIN, RÖSE E RODRIGUES ADVOGADOS**; José Carlos Daux Road, number 5500, Bloco Campeche A, Room 333, Saco Grande, 88.032-005 Florianópolis (BR).

(81) Estados Designados (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

(54) Title: DEVICE AND METHOD FOR MEASURING THE LEVEL OF BIOMARKERS AND PATHOGENS IN SUBSTANCES

(54) Título: DISPOSITIVO E MÉTODO PARA MEDIÇÃO DO NÍVEL DE BIOMARCADORES E PATÓGENOS EM SUBSTÂNCIAS

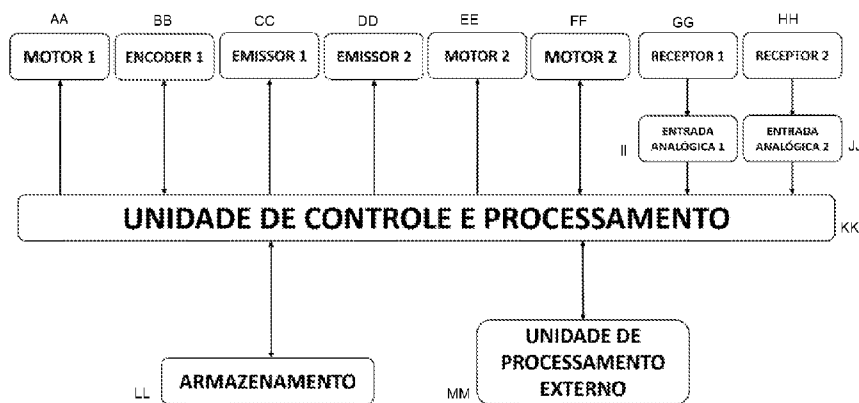


Figura 3

AA MOTOR 1
BB ENCODER 1
CC EMITTER 1
DD EMITTER 2
EE MOTOR 2
FF MOTOR 2
GG RECEIVER 1
HH RECEIVER 2
II ANALOG INPUT 1
JJ ANALOG INPUT 2
KK PROCESSING AND CONTROL UNIT
LL STORAGE
MM EXTERNAL PROCESSING UNIT

(57) Abstract: The present invention relates to a small device for measuring the concentration level of troponin and other biomarkers and pathogens in substances using an optical method based on surface plasmon resonance, pertaining to the technical field of diagnosis/identification of biomarkers for detecting cardiac diseases.

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a um dispositivo de pequeno porte para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores e patógenos em substâncias por meio de um método ótico baseado em ressonância de plasmons de superfície, o qual destina-se ao campo técnico do diagnóstico/identificação de biomarcadores para detecção de doenças cardíacas.

(Continua na página seguinte)



WO 2022/038586 A2



SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Estados Designados** (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarações sob a Regra 4.17:

- *relativa à identidade do inventor (Regra 4.17(i))*

Publicado:

- *sem relatório de pesquisa internacional; será republicado após receção do mesmo (Regra 48.2(g))*
- *com informação relativa a pedido de restabelecimento do direito de prioridade em relação a uma (ou mais) reivindicação de prioridade (Regras 26bis.3 e 48.2(b)(vii))*
- *em preto e branco; o pedido internacional tal como depositado contém cores ou níveis de cinza e pode ser baixado do PATENTSCOPE*

DISPOSITIVO E MÉTODO PARA MEDIÇÃO DO NÍVEL DE BIOMARCADORES E PATÓGENOS EM SUBSTÂNCIAS

Campo da invenção

[001] A presente invenção refere-se a um dispositivo de pequeno porte para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores e patógenos em substâncias por meio de um método ótico baseado em ressonância de plasmons de superfície, o qual destina-se ao campo técnico do diagnóstico/identificação de biomarcadores para detecção de doenças cardíacas. A invenção também pode ser aplicada ao campo técnico do diagnóstico/identificação de biomarcadores para detecção de outros tipos de doenças, bem como a identificação de patógenos.

Fundamentos da invenção

[002] O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma das principais causas de morte do mundo, juntamente com o restante do grupo de doenças arteriais coronarianas, chegando ao número de 7,4 milhões em 2015 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017). Em 2018 o número de óbitos por infarto agudo do miocárdio no Brasil chegou a 93.272 mortes no ano de 2016 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

[003] Segundo os estudos realizados no ano 2000 (ANTMAN et al., 2000; BERTRAND, 2000; KERN; PARASKOS, 2000), os protocolos de estratificação de risco utilizados (à época) deveriam ser melhorados, pois havia evidências de que cerca de 75% das admissões de pacientes presumidamente com quadro de IAM eram incorretas. O uso de biomarcadores foi estabelecido como passo essencial para embasar o diagnóstico, sempre que disponível. O uso da troponina cardíaca (cTn) em suas duas isoformas, cTnI e cTnT, foi reportado como o novo padrão, proporcionando sensibilidade maior que a CK-MB (ANTMAN et al., 2000; BERTRAND, 2000; KERN; PARASKOS, 2000).

[004] Ainda assim, o eletrocardiograma (ECG) continua sendo a principal ferramenta para diagnóstico de infarto do miocárdio. Novas, ou presumidamente novas mudanças significativas na onda T do segmento ST (ST-T), novos bloqueios do ramo esquerdo do feixe de His (LBBB ou BRE) e desenvolvimento de ondas patológicas Q são listadas

como indicadores de infarto do miocárdio. O termo infarto agudo do miocárdio com supradesnívelamento do segmento ST (STEMI ou IAMCSST) é utilizado quando, em vigência de uma dor torácica característica, estas ondas patológicas são identificáveis no ECG do paciente.

[005] Quando não existem ondas patológicas identificáveis, o termo infarto agudo do miocárdio sem supradesnívelamento do segmento ST (NSTEMI ou IAM SSST) é utilizado, assim como o termo mais genérico, doença coronariana aguda sem supra desnívelamento do segmento ST (NSTE-ACS), que inclui um espectro maior de doenças (THYGESEN et al., 2012). O manejo preconizado dos casos confirmados de STEMI inclui o encaminhamento imediato do paciente para o laboratório de hemodinâmica, onde será realizado o cateterismo cardíaco e, quando indicado, a angioplastia coronariana a fim de desobstruir a artéria ocluída e reestabelecer o fluxo sanguíneo local (reperusão coronária).

[006] Quando o exame de angiografia não estiver disponível, é recomendado o tratamento trombolítico e o acompanhamento dos critérios de reperusão, definidos como a diminuição do supradesnívelamento do segmento ST, alívio da dor e queda precoce do nível de troponina cardíaca. O encaminhamento para uma instituição de saúde com estrutura para realizar o cateterismo cardíaco é mandatório, já que em casos onde o tratamento medicamentoso com trombolíticos não mostra melhoria dos critérios de reperusão, o paciente deve ser encaminhado para o cateterismo o quanto antes. Para casos onde o tratamento trombolítico promove reperusão, a janela de tratamento é estendida para 24 horas (IBANEZ et al., 2017). Já para casos de NSTEMI, a identificação de ondas patológicas no ECG se torna mais complexa e a medição do nível de cTn se torna uma ferramenta fundamental para o diagnóstico, junto ao histórico clínico, fatores de risco e perfil do paciente avaliados em escores de risco como o TIMI, GRACE e HEART (ROFFI et al., 2016).

[007] A realização de testes laboratoriais para medição do nível de troponina por métodos como o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) possuem tempo de incubação de cerca de 1 hora, além do tempo de transporte até o laboratório e do tempo de preparação do ensaio, tendo assim um elevado tempo de resposta (turn around time

- TAT), conflitando com a necessidade de início do imediato do tratamento de IAM (BHATNAGAR D, PALIT S, SINGH MP, KAUR I, 2016; PERIYAKARUPPAN et al., 2013). A diretriz brasileira, com o objetivo de promover o início do tratamento no menor tempo possível, recomenda que “Os marcadores não devem ser utilizados com a finalidade diagnóstica em pacientes com SCACST (Síndrome Coronariana Aguda Com Supra desnivelamento do segmento ST) e não se devem aguardar seus resultados para iniciar o tratamento dos pacientes. Seu maior valor em pacientes com SCACST é prognóstico” (PIEGAS et al., 2015).

[008] A preocupação com o tempo de atendimento se mostra fundamentada por evidências indicando que o diagnóstico rápido de doenças coronarianas e infarto agudo do miocárdio podem diminuir os índices de morbidade e mortalidade (NEUMANN et al., 2017). No entanto, cerca de 36% dos pacientes com suspeita de STEMI que são submetidos ao exame por cateterismo apresentam angiografia coronária normal, o que normalmente indica que não há infarto de causa aterosclerótica, indicando a existência de custos desnecessários para o sistema de saúde (MCCABE et al., 2012).

[009] Aproximadamente 70% dos casos de doenças coronarianas agudas são NSTEMI-ACS nos Estados Unidos da América, o que representa cerca de 540 mil pessoas por ano (AMSTERDAM et al., 2014). Já de acordo com a “Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST” a alteração no seguimento ST possui sensibilidade de apenas 45 a 60% para diagnóstico do infarto agudo do miocárdio, e cerca de 50% dos pacientes apresentam ECG normal ou não diagnóstico (PIEGAS et al., 2015).

[0010] A solução mais promissora para proporcionar a medição do nível de troponina cardíaca com TAT abaixo de 1 hora é o teste no ponto de atendimento (point of care - PoC). Dispositivos PoC são definidos como aparelhos portáteis ou aparelhos de mesa que efetuam testes sem necessidade de preparação de amostras do paciente, em locais como o posto de triagem do atendimento de emergência ou o consultório médico (BHATNAGAR D, PALIT S, SINGH MP, KAUR I, 2016; HAN et al., 2016; JINJIE; WEI, 2016), tornando possível o atendimento segundo recomendações de que as instalações que recebem pacientes devem ter a capacidade de realizar o ECG e dosar os níveis de

troponina cardíaca com encaminhamento imediato para o departamento de emergência quando identificada uma SCA (AMSTERDAM et al., 2014). Segundo a diretriz brasileira, “Marcadores bioquímicos de lesão miocárdica devem ser mensurados em todo paciente com suspeita de SCA. As troponinas são os marcadores bioquímicos de escolha.” com evidência de nível A classe I (PIEGAS et al., 2015).

[0011] Diversos dispositivos para a identificação e medição dos níveis de biomarcadores de lesão cardíaca ou outras lesões isquêmicas foram elaborados, utilizando diversas técnicas. A patente AU 2012200505 A1 mostra um dispositivo que transporta a amostra usando micro fluídica ativa até uma câmara onde é realizada uma análise ótica (PHAN et al., 2015). A patente US5747274A mostra um sistema que identifica três biomarcadores de lesão cardíaca por meio de ligação dos biomarcadores com seus respectivos anticorpos e posterior alteração de cor visível ao olho humano (JACKOWSKI, 1998). A patente WO2009047283A2 descreve um método de diagnóstico de doenças cardíacas isquêmicas baseado na medição de biomarcadores associado ao tratamento medicamentoso da condição (HESS; HORSCH; ZDUNEK, 2008).

[0012] Já a patente WO2008089282A2 descreve um sistema de circulação extracorpórea que para monitorar a concentração de óxido nítrico por meio de associações antígeno-anticorpo (SILVER; MOSTOWFI, 2005). A patente WO2018222783A1 descreve um método de avaliação de lesão cerebral utilizando a medição do nível de cTnI em conjunto com outros biomarcadores (MCQUISTON et al., 2018). A patente WO2017011329A1 descreve um método, materiais e um dispositivo para identificar ácidos nucleicos livres em amostras para o diagnóstico de acidente vascular cerebral (BARR; GIERSCHE; GRANT O’CONNELL, 2016).

[0013] A patente US20180100862A1 descreve um sistema e método de alta sensibilidade para análise de cTnI utilizando fluorescência (GOIX et al., 2018). A patente BR102012003901A2 descreve um dispositivo para a detecção de cTnT utilizando luminescência (MONTE, ADAMO FERREIRA GOMES DOMADURRO et al., 2012). A patente WO2010127001A1 descreve um sistema de detecção de biomarcadores utilizando guias de ondas e atuadores piezoelétricos (DUEK, REUVEN, 2010). A patente

WO2007058872A2 descreve um sensor implantável intravenoso para detecção de biomarcadores de derrame cerebral, isquemia e infarto.

[0014] O uso de ressonância de plasmons de superfície para a construção de biossensores vem crescendo nos últimos 20 anos e hoje é capaz de analisar matrizes complexas, como sangue, saliva e urina. A evolução tecnológica na área de nanopartículas é uma das protagonistas na viabilização de dispositivos de diagnóstico baseados no fenômeno de ressonância de plasmons de superfície (HOMOLA, 2003; HOMOLA; PILIARIK, 2006; LIEBERG; NYLANDER; LUNDSTRÖM, 1995; MARIANI; MINUNNI, 2014).

[0015] O uso de SPR com o auxílio de nanofilme de ouro funcionalizado com anticorpos é reportado como um método viável para o fornecimento de medições precisas e rápidas de troponina cardíaca I (cTnI) (WU; LI; *et al.*, 2017) e troponina cardíaca T (cTnT) (PAWULA; ALTINTAS; TOTHILL, 2016). A patente WO2011106322 A1 descreve um dispositivo de imagem que utiliza ressonância de plasmons de superfície para capturar imagem de partículas muito pequenas (FINE; MACAULAY; KREPLAK, 2014).

[0016] A patente WO2013084074A2 mostra um sistema de medição de troponina I utilizando espectroscopia e nanopartículas metálicas diluídas em uma solução aquosa para medir a ressonância de plasmons de superfície localizada, que é alterada conforme a presença do biomarcador (FARIAS *et al.*, 2012). Já a patente US20040186359A1 descreve um sistema de ressonância de plasmons de superfície que utiliza fibras óticas para conduzir a luz da fonte de luz até a superfície de reação e desta até um espectrofotômetro que mede o comprimento de onda, podendo ser utilizada *in vitro* ou *in vivo*. Para o sistema *in vivo* é descrito também a existência de duas regiões de medição, sendo uma das regiões sem os elementos de ligação e a outra região com os elementos de ligação (BEAUDOIN *et al.*, 2002).

[0017] A patente WO1992021973A1 apresenta o método e sensores para uso de ressonância de plasmons de superfície para detecção de biomarcadores de infarto em uma amostra conduzida por uma ou mais células de fluxo de acordo com a ligação de analitos em anticorpos específicos, bem como sua posterior remoção pela circulação de

um líquido regenerativo (PEDERSEN; STÅLBERG, 1991). A patente JPH11211725A descreve um método de ligação entre anticorpos, antígenos e filme metálico utilizando ligação hidrofóbica ou ligação eletroestática para a construção de um sensor para ressonância de plasmons de superfície utilizada para a medição de biomarcadores de infarto (NAGATA, RYOHEINAKAGAWA *et al.*, 1998). A patente US7212692B2 descreve um sensor utilizando guias de ondas e ressonância de plasmons de superfície e detecção por interferometria ou detecção da amplitude da onda eletromagnética (MING YAN, 2007).

[0018] O método SPR é uma solução viável conforme demonstrado em diversos estudos e patentes, alcançando baixos coeficientes de variação e baixo tempo de teste, mesmo com o desafio de identificar moléculas de cTn em substâncias complexas como o sangue. As moléculas de cTn possuem um diâmetro menor que 10nm (aproximadamente 4,5nm para cTnI e 6,3nm para cTnT), podendo ser detectadas com uma penetração do campo evanescente em cerca de 100nm para um laser infravermelho em uma película de 5nm de AuNP e camada tridimensional de ligantes de até 80nm (incluindo o anti-cTn). A dificuldade de diferenciação entre as moléculas alvo e outras moléculas presentes em substâncias complexas (efeito *bulk*) pode ser superada com a utilização de diversas técnicas, como uso de anti-cTn de alta especificidade, arranjos de ligantes, uso de marcadores, entre outros.

[0019] Diante dos equipamentos que realizam a medição de biomarcadores em substâncias complexas, como sangue, plasma, saliva, urina, entre outros, um dos principais desafios é o já citado efeito bulk. No método de ressonância de plasmons de superfície a variação na concentração de diferentes moléculas no organismo de cada indivíduo pode aumentar a susceptibilidade do sistema à erros que geram perda de sensibilidade e especificidade.

[0020] A presente invenção apresenta o uso de medida diferencial da mesma amostra em duas ou mais regiões distintas na face do biossensor, onde a primeira apresenta um nanofilme funcionalizado com elementos ligantes e anticorpos do biomarcador de interesse, enquanto a segunda apresenta um nanofilme não funcionalizado, realizando a medição do ângulo de ressonância da mesma substância com a presença do

biomarcador ou patógeno de interesse e sem sua presença. A amostra pode receber marcadores diluídos para aumentar a especificidade e sensibilidade do teste.

[0021] A presente invenção apresenta também um ganho de sensibilidade e especificidade, eliminando a necessidade de circulação micro fluídica da amostra. A redução da complexidade do equipamento permite sua miniaturização e redução de custo, tornando viável seu uso em locais onde anteriormente seria inviável, como salas de triagem e atendimento de emergência em hospitais, clínicas, ambulâncias, entre outros. Por outro lado, a presente invenção, por não possuir circulação da amostra, pode não apresentar resultados ótimos quando aplicada à análise da dinâmica de ligação entre antígenos e anticorpos em função do tempo.

Breve descrição dos desenhos

A Figura 1 apresenta uma ilustração simplificada do biossensor, sua reação com a amostra e o sistema de emissão, reflexão e medição do feixe laser passando pelo prisma onde 1.1 representa a Amostra; 1.2 representa a Parte funcionalizada; 1.3 representa os Anticorpos; 1.4 representa os Ligantes; 1.5 representa Nanofilme de ouro; 1.6 representa o Biossensor; 1.7 representa a Parte não funcionalizada; 1.8 representa o Prisma.

A Figura 2 apresenta o desenho esquemático do processo de deposição da substância de amostra, onde 2.1 representa o ponto de inserção da amostra, 2.2 uma câmara e 2.3 o biossensor.

A Figura 3 apresenta o diagrama de blocos de tráfego de dados e sinais de controle de uma das possíveis configurações da presente invenção.

A Figura 4 apresenta o ângulo de incidência do feixe laser 4.2 e o ângulo de leitura do elemento receptor 4.3. Outros elementos presentes na figura são: 4.1 que representa o campo evanescente, 4.4 a penetração do campo evanescente e 4.5 uma placa de material com índice de refração conhecido.

A Figura 5 apresenta a plotagem gráfica do valor de intensidade relativa refletida (*Reflectivity*) lido pelo elemento receptor e o ângulo de incidência/leitura (*Angle, degrees*) de um ciclo de escaneamento.

A Figura 6 apresenta uma visão geral do dispositivo, onde 6.1 representa Fontes externas ao sistema; 6.2 a Unidade de controle e processamento; 6.3 o Conversor analógico digital; 6.4 e 6.5 Elementos receptores; 6.6 e 6.7 Emissores; 6.8 Nanofilme de ouro; 6.9 Placa de material com índice de refração conhecido; 6.10 Prisma; 6.11 Parte funcionalizada do biossensor; 6.12 Parte não funcionalizada do biossensor; 6.13 Amostra / substância a ser analisada; 6.14 e 6.15 Feixes laser; 6.16 Cabo para transmissão de dados; 6.17 Representação para transmissão de dados sem fio;

A Figura 7 apresenta uma representação dos mecanismos mecânicos da invenção, onde 7.1 e 7.5 representam o Motor; 7.2 e 7.6 o Encoder; 7.3 e 7.7 o Braço para movimentação; 7.4 o Emissor; 7.8 o Elemento Receptor; 7.9 representa a Interpretação

e conversão de sinais do encoder; 7.10 a Unidade de controle e processamento; e 7.11, 7.12, 7.13 e 7.14 as Chaves de acionamento;

A figura 8 apresenta uma representação frontal da parte externa da invenção, onde 8.1 representa o botão liga/desliga, 8.2 botão para abertura do compartimento do sensor, 8.3 mostrador numérico, 8.4 botão para início e parada do teste, 8.5 posição aproximada dos componentes internos, 8.6 é o encapsulamento.

A Figura 9 apresenta uma representação lateral da parte externa da invenção, onde 9.1 é o prisma, 9.2 o compartimento do sensor, 9.3 o sensor, 9.4 o encapsulamento, 9.5 baterias, 9.6 o cabo para ser conectado à rede elétrica.

Descrição da invenção

[0022] A presente invenção refere-se a um dispositivo e método que realiza a medição do nível de troponina e outros biomarcadores ou patógenos em substâncias como, e não restritas a, sangue, plasma, saliva e urina, bem como seu método de funcionamento e operação.

[0023] Entende-se um biomarcador como uma molécula consistentemente modificada ou presente em concentrações anormais em decorrência de uma doença ou condição clínica, sendo estes explorados pela disciplina da proteômica, responsável por analisar a composição proteica de fluídos biológicos, tecidos e outros espécimes. A definição de um biomarcador para determinada doença é um processo complexo que envolve diversas disciplinas como a proteômica, genômica e patofisiologia, além de testes até que este seja aceito e adotado como parâmetro para o diagnóstico de uma determinada doença.

[0024] A troponina é definida como o biomarcador de maior especificidade e sensibilidade para o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio com injúria cardíaca. A troponina é um complexo de três unidades: troponina I, T e C, localizadas no filamento de actina junto a tropomiosina, sendo responsável pela regulação mediada por cálcio da contração muscular esquelética e cardíaca. Ela também pode ser encontrada de forma

não ligada na piscina citosólica dos miócitos. A troponina C cardíaca é compartilhada com músculos esqueléticos de contração lenta, e por isso não é indicada para o uso como biomarcador de infarto agudo do miocárdio. Já a isoforma de troponina I cardíaca possui uma dissimilaridade de 42 e 45% em relação a outras isoformas. Já a troponina T possui quatro isoformas, sendo apenas uma delas comum no tecido cardíaco de adultos, mas apresentando uma dissimilaridade menor em relação a outras isoformas. Ainda assim, são reportados testes de especificidade equivalente entre a troponina I e C. Ambas as isoformas são liberadas de forma aguda durante o evento de injúria cardíaca.

[0025] Patógenos são definidos como microrganismos causadores de doenças, como bactérias, vírus, protozoários, fungos e helmintos. Os agentes patogênicos são estudados pela disciplina de microbiologia e suas subdisciplinas como a patologia, fisiopatologia e virologia. A identificação da presença de um patógeno no organismo de um hospedeiro pode ser utilizada para o diagnóstico de doenças causadas por agentes infecciosos.

[0026] Em um aspecto principal, a presente invenção é endereçada ao problema técnico diagnóstico de infarto agudo do miocárdio no atendimento de emergência, podendo ser aplicada ao diagnóstico de outras doenças.

[0027] A presente invenção é composta por um dispositivo de medição ótica do efeito de ressonância de plasmons de superfície por modulação angular em um biossensor que recebe uma amostra estática da substância a ser analisada.

[0028] Conforme o método da presente invenção, entende-se o efeito de ressonância de plasmons de superfície como a excitação de polaritons de plasmon de superfície, que por sua vez são definidos como ondas eletromagnéticas propagadas na interface entre um material metálico e um material dielétrico, ou de forma mais genérica, um material de permissividade negativa e um material de permissividade positiva. A excitação pode ser realizada por meio de fótons ou elétrons, sendo a primeira escolhida para a presente invenção. A incidência de um feixe de luz na interface metal-dielétrica, em um ângulo específico (4.2) acima da condição de reflexão interna total, gera a ressonância de

elétrons na direção paralela a interface. O campo gerado pela excitação é um campo evanescente (4.1), penetrando no meio dielétrico com intensidade de decaimento exponencial. A penetração (4.4) do campo evanescente, bem como o ângulo de ressonância, é dependente dos materiais aplicados na interface, da espessura do metal, do comprimento de onda do feixe de luz, entre outros fatores.

[0029] Na presente invenção o uso do fenômeno de ressonância de plasmons de superfície para biossensores se baseia na alteração do índice de refração do meio dielétrico pela presença de biomarcadores ou patógenos imobilizados por anticorpos na faixa de penetração do campo evanescente, gerando assim uma modulação angular mensurável utilizando os mecanismos e métodos descritos.

[0030] O biossensor (1.6) é composto por uma placa de material com índice de refração conhecido, com nanofilme de ouro ou outro material de permissividade similar (1.5). O biossensor possui uma ou mais partes de sua face funcionalizadas (1.2) com ligantes (1.4) e anticorpos (1.3) aptos a serem ligados a superfície e realizar a ligação antígeno-anticorpo do biomarcador de interesse. O biossensor possui ainda uma ou mais partes de sua face não funcionalizadas (1.7), que serve como base para a medição diferencial, medindo apenas a densidade *bulk* (massa) da amostra (1.1) sem reação antígeno-anticorpo.

[0031] A placa de material com índice de refração conhecido tem a função de acoplar os fótons nos polaritons de plasmon de superfície coincidindo seus vetores e momentos. Este elemento é necessário pois fótons livres não possuem o mesmo fator de dispersão do que os polaritons de plasmon de superfície em determinadas frequências, tendo assim seus momentos desalinhados. O material da placa pode ser vidro BK-7, vidro SF11 ou outro material com índice de refração conhecido (4.5). A espessura da placa também deve ser conhecida, e o ângulo de incidência deve ser compensado de acordo com a espessura e índice de refração. O uso de diferentes materiais pode influenciar no ângulo de ressonância, sensibilidade e especificidade do sistema.

[0032] O nanofilme (1.5) de ouro, ou outro material de permissividade similar, possui a função de um material de permissividade negativa na interface metal-dielétrico, tornando

possível a presença de plasmons de superfície. O material deve possuir a parte real de sua constante dielétrica negativa e de magnitude maior do que a do dielétrico, sendo possível o uso de ouro, prata, alumínio, cobre, entre outros. O material condutivo, junto ao comprimento de onda, pode influenciar no ângulo de ressonância, especificidade e sensibilidade do sistema.

[0033] Conforme a presente invenção, as partes funcionalizadas (1.2) com ligantes (1.4) podem possuir ou não uma camada de carboximetil dextrana em hidrogel de ligação covalente, uma monocamada de polietilenoglicol, uma monocamada de tiol, ou outro componente com a função de aumentar a capacidade de associação da superfície cobrindo a película metálica de maneira uniforme, possibilitando a imobilização com ligações fortes entre a superfície e os ligantes e anticorpos necessários para capturar os biomarcadores ou patógenos presentes na substância. Para que o efeito de ressonância de plasmons de superfície seja efetivamente aplicado, a camada deve ser uniforme e de índice de refração conhecido, com uma espessura tal que junto aos ligantes, anticorpos e moléculas alvo, não ultrapasse a profundidade (4.4) de penetração do campo evanescente (4.1).

[0034] Conforme a presente invenção, os ligantes (1.4) são definidos como uma camada de funcionalização contendo proteínas, enzimas e anticorpos aptos a serem ligados a superfície e realizar a ligação antígeno-anticorpo do biomarcador ou patógeno de interesse é entendida como a imobilização de agentes capazes de capturar a molécula de interesse na superfície do biossensor dentro da região de penetração (4.4) do campo evanescente (4.1). A funcionalização pode ser feita por meio da ativação de grupos carboxílicos do anticorpo e deposição no sensor com uma monocamada de tioureia, com os anticorpos (1.3) se ligando por meio das aminas presentes na tioureia. Outra configuração possível é o uso de uma camada de carboximetil dextrana em hidrogel de ligação covalente funcionalizada com estreptavidina e anticorpos biotinados. O anticorpo pode ser uma anti-troponina da isoforma analisada ou o anticorpo do biomarcador ou patógeno a ser analisado, ou ainda uma proteína para identificar a resposta imunológica existente na amostra.

[0035] Conforme o método da presente invenção, para a realização do teste, a amostra (6.13) deve ser depositada sobre a superfície do biossensor (6.8 e 6.9), que por sua vez é posicionado sobre um prisma de vidro (6.10) de índice de refração conhecido. Um emissor (6.6) gera um feixe de laser de comprimento de onda adequado para a aplicação (6.14), e é incidido em uma das faces do prisma, atingindo a parte funcionalizada do biossensor (6.12) e sendo refletido para um elemento receptor (6.5) ligado à entrada analógica de uma unidade de controle e processamento (6.2), que realiza a conversão do valor analógico em um valor numérico (6.3), podendo armazenar e enviar o valor numérico que representa a intensidade do feixe laser refletido, além de outros dados que possam ser relevantes. Outro emissor posicionado deslocado em relação ao primeiro (6.6) emite um feixe laser de mesmo comprimento de onda (6.14) é então incidido na mesma face do prisma, atingindo por sua vez a parte não funcionalizada do biossensor (6.11) e sendo refletido para outro elemento receptor (6.4), lido da mesma maneira que o anterior. Ambos os resultados são armazenados e enviados. Parâmetros podem ser recebidos de fontes externas (6.1).

[0036] Conforme o método da presente invenção, a amostra da substância a ser analisada é depositada na superfície do biossensor e permanece estática, sem a necessidade de circulação micro fluídica.

[0037] Conforme o método da presente invenção, durante o processo de deposição da substância na superfície do biossensor, esta passa por uma ou mais câmaras (2.2) onde pode ocorrer a mistura da amostra com reagentes de diferentes funções, como anticoagulante, agente tampão (buffer), marcadores para metodologia sanduíche, entre outros. A presença de reagentes anticoagulantes como heparina, heparina lítio e EDTA tem a função de manter a viscosidade baixa quando a substância a ser analisada é sangue ou plasma, consequentemente promovendo uma boa difusão molecular, acelerando assim a associação antígeno-anticorpo.

[0038] O agente tampão possui a função de controle de pH da solução por meio de ligações químicas, evitando reações indesejadas. A metodologia sanduíche pode ser aplicada na presente invenção para aumentar a sensibilidade e especificidade do teste, tendo nanopartículas de ouro ou outro material diluída em uma solução neutra e ligadas

à anticorpos específicos para ligação com epítomos de um região determinada da molécula do biomarcador ou patógeno a ser analisado. A ligação dessas nanopartículas com o analito aumenta a densidade deste, elevando assim a magnitude da alteração no índice de refração quando o analito é capturado na superfície do biossensor. Adicionalmente a ligação com nanopartículas de ouro ou outros materiais gera uma ressonância adicional por LSPR. A presença de reagentes na câmara pode ou não existir em decorrências da aplicação específica da presente invenção.

[0039] Após a deposição da substância, que é inserida no ponto de inserção (2.1), ela passará pela câmara (2.2) onde pode ocorrer a mistura da amostra com reagentes. As setas de linha tracejada apresentam a direção de entrada da amostra, que após ser depositada permanece estática sobre o biossensor (2.3).

[0040] Conforme a presente invenção, o prisma (6.10) é definido como um componente com a função de acoplar os fótons com os polaritons de plasmon de superfície coincidindo seus vetores e momentos. O prisma deve ter um índice de refração conhecido e similar ao do biossensor, sendo necessário pois os fótons livres não possuem o mesmo fator de dispersão do que os polaritons de plasmon de superfície em determinadas frequências, tendo assim seus momentos desalinhados. O uso de diferentes materiais vítreos pode influenciar no ângulo de ressonância, sensibilidade e especificidade do sistema.

[0041] Conforme a presente invenção, entende-se o emissor (6.6 e 6.7) responsável por gerar um feixe de laser de comprimento de onda adequado para a aplicação como um diodo emissor de luz ou lâmpada capaz de emitir um feixe de luz de comprimento de onda definido e adequado para realizar a excitação dos polaritons de plasmon de superfície na interface metal-dielétrica, sendo este comprimento de onda comumente no espectro visível ou infravermelho próximo, com comprimento de 850nm, mas podendo utilizar outros espectros de acordo com o material condutivo utilizado.

[0042] A luz emitida é colimada com um ângulo de saída pequeno o suficiente para que não exista detecção indesejada do feixe em elementos receptores ao qual este não é direcionado, sendo este ângulo comumente na ordem de magnitude de 1° a 6°, mas

podendo ser diferente de acordo com o posicionamento dos emissores e elementos receptores. A luz emitida possui polarização conhecida para que ao atingir a interface metal-dielétrica tenha seu vetor e momento alinhado com o dos polaritons de plasmon de superfície.

[0043] O emissor tem uma intensidade de emissão controlada e conhecida, permitindo sua compensação para evitar a inserção de erros associados. A limitação de comprimento de onda, colimação, polarização, controle de intensidade e qualquer outro controle da luz emitida pode ser realizada pelo componente emissor ou componentes externos a este que em seu conjunto podem ser considerados como um sistema emissor. Existe um ou mais emissores em cada construção da presente invenção.

[0044] O elemento receptor (6.4 e 6.5) é definido como um componente de medição da intensidade do feixe laser refletido pelo biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície. O elemento receptor possui a banda de detecção controlada para que apenas o comprimento de onda do feixe de interesse seja detectado, garantindo que o sistema não sofra interferência de ondas oriundas do ambiente e não pertinentes ao teste. O ângulo de detecção (4.3) do elemento receptor também é controlado, sendo colimado e específico na direção do feixe refletido, evitando assim a detecção de ondas interferentes, que na faixa do infravermelho podem ser geradas não só por fontes de luz, mas também fontes de calor.

[0045] O circuito associado ao elemento receptor (6.2 e 6.3) possui controle de tensão e corrente com a função de estabilização da detecção, promovendo blindagem contra variações na rede elétrica à qual este é ligado. O elemento receptor pode ser concebido através do uso de fotodiodos, fototransistores, LDR, sensores CMOS, entre outros. Existe um ou mais elementos receptores em cada construção da presente invenção.

[0046] A entrada analógica (6.3) é entendida como um canal de leitura de nível de tensão contínua ou variável em relação ao plano de referência, podendo ou não ter um circuito condicionador de sinal como filtros passivos ou ativos, divisor de tensão, ponte de Weathstone, ponte de Kelvin, ponte de Maxwell, ponte de Anderson, ponte de Hay, ponte de Owen, ponte de Cambell, ponte de Schering, amplificador operacional, amplificador

de instrumentação, transladores de níveis, entre outros. O circuito condicionador possui a função de filtrar, ajustar a referência, resolução, entre outros parâmetros, e é considerado como parte do sistema de entrada analógica. O conversor analógico digital, responsável pela conversão do valor de tensão, corrente, impedância ou frequência em um valor discreto digital, é parte da entrada analógica e pode ser integrado ou não à unidade de controle e processamento.

[0047] Conforme a presente invenção, entende-se unidade de controle e processamento (6.2) como a unidade de processamento e controle do sistema, onde o algoritmo ou outro tipo de programação de controle e processamento é executado.

[0048] A unidade de controle e processamento realiza o controle em malha aberta ou fechada dos emissores (6.6 e 6.7) de feixe laser, leitura e interpretação dos elementos receptores (6.4 e 6.5), controle em malha fechada de motores de posicionamento e cálculo matemático de conversão de parâmetros lidos em valores de concentração do biomarcador ou patógeno na substância analisada (6.13), além do armazenamento, envio e recebimento de informações. A unidade de controle e processamento pode possuir entradas e saídas analógicas e digitais para controle direto das funções às quais é destinado ou utilizar periféricos para a adequação do nível de tensão, corrente, impedância, frequência ou qualquer outra característica relevante para o desempenho das funções às quais é destinado. A unidade de controle pode ser concebida através do uso de microcontroladores (single ou multi-core), microprocessadores (single ou multi-core), FPGA, GPU, ASIC, ULA, através de lógica combinacional, ou multi-arquiteturas (que incluam o uso de duas ou mais arquiteturas descritas previamente).

[0049] Conforme a presente invenção, o armazenamento dos valores é compreendido como o processo de armazenar os dados em uma memória volátil ou não volátil, que pode ser interna (6.2) ou externa (6.1) à unidade de controle e processamento, desde que possa ser acessada com permissão de gravação, alteração e leitura por este, independentemente do intervalo de tempo compreendido entre as ações de gravação, alteração e leitura.

[0050] Conforme a presente invenção, o envio dos valores é entendido como o processo de enviar dados para outras unidades de processamento ou armazenamento por meio de conexão cabeada (6.16) ou não (6.17). Exemplos de unidades de processamento ou armazenamento são computadores, telefones celulares, servidores locais ou em nuvem, entre outros.

[0051] Os dados podem ser enviados em tempo real ou em pacotes contendo valores referentes a um período.

[0052] Os dados podem incluir, mas não são limitados a: mensagem de inicialização (handshake), hora de envio da mensagem de inicialização (timestamp), número de série do dispositivo, valores de calibração, data de calibração, atividade atual (status), valor numérico que representa a intensidade do feixe laser refletido, ângulo de incidência do laser, resultado numérico da concentração de moléculas do biomarcador ou patógeno, hora de coleta do parâmetro, hora de envio do parâmetro, confirmação de recebimento de mensagens (acknowledgement) e código de conferência de integridade de mensagens (checksum). Os dados são organizados conforme protocolo de comunicação proprietário e compactados e enviados segundo o protocolo de comunicação aplicável na camada utilizada. O meio de envio pode ser, mas não é limitado a: TTL, RS232, modbus, ethernet, wi-fi e GSM.

[0053] Conforme a presente invenção, o recebimento de parâmetros é o processo de receber dados de outras unidades de processamento ou armazenamento por meio de conexão cabeada ou não. Exemplos de unidades de processamento ou armazenamento são computadores, telefones celulares, servidores locais ou em nuvem, entre outros. Os dados podem ser recebidos em tempo real ou em pacotes contendo valores referentes a um período. Os dados podem incluir, mas não são limitados a: mensagem de inicialização (handshake), hora de envio da mensagem de inicialização (timestamp), confirmação de recebimento de mensagens (acknowledgement), hora de envio do parâmetro e código de conferência de integridade de mensagens (checksum). Os dados são organizados conforme protocolo de comunicação proprietário e compactados e enviados segundo o protocolo de comunicação aplicável na camada utilizada. O meio de envio pode ser, mas não é limitado a: TTL, RS232, modbus, ethernet, wi-fi e GSM. A

Figura 3 apresenta um diagrama esquemático simplificado do tráfego de dados e sinais de controle para uma das possíveis configurações da presente invenção.

[0054] Conforme a presente invenção, os emissores (7.4) são montados sobre um braço (7.3) fixado ao eixo de um motor (7.1) com controle de movimento angular. Os elementos receptores (7.8) são montados sobre outro braço (7.7) fixado a outro motor (7.5) com controle de movimento angular posicionado do lado oposto do prisma. Os motores realizam a alteração do ângulo de incidência do laser e do ângulo de leitura do elemento receptor, e o procedimento de emissão do feixe laser e leitura analógica do elemento receptor é repetida a cada alteração de ângulo. Os valores de todas as leituras (escaneamento) são plotados em relação ao ângulo de leitura para formar um gráfico de ressonância de plasmons de superfície (5) permitindo a análise do ângulo de ressonância para a parte funcionalizada e não funcionalizada do biossensor.

[0055] O motor com controle de movimento angular é definido como um sistema composto por um motor de movimentação angular e um sensor de posicionamento angular. O motor pode ser do tipo motor de passo, servomotor ou outro com capacidade de incremento angular controlado e acionamento elétrico. O sensor de posicionamento angular é um encoder (7.2 e 7.6) rotativo que produz pulsos elétricos a cada incremento angular realizado pelo eixo do motor, podendo ser do tipo incremental ou absoluto. O incremento angular necessário para gerar um pulso no encoder é definidor por sua resolução. Os pulsos podem ser interpretados e convertidos para valores numéricos (7.9) representando o ângulo atual do motor em uma unidade de processamento dedicada ou na unidade de controle e processamento (7.10). Ao iniciar o funcionamento, o motor com controle de movimento angular realiza um procedimento de inicialização, onde este é movimentado até ângulos conhecidos, indicados por chaves de acionamento binário (7.11, 7.12, 7.13 e 7.14). A unidade de controle e processamento recebe a alteração de valor das chaves e realiza a associação da posição de acionamento com o ângulo conhecido. O motor com controle de movimento angular é controlado em malha fechada por um algoritmo com base na leitura do encoder e na atuação de incremento angular. Existe um ou mais motores com controle de movimento angular em cada construção da presente invenção. O incremento angular de cada motor altera o ângulo de incidência do laser ou o ângulo de leitura do elemento receptor.

[0056] Conforme a presente invenção, define-se ângulo de incidência do laser (4.2 e 4.3) como o ângulo formado pela linha imaginária do centro do feixe laser emitido, centralizada com o emissor, e a linha imaginária perpendicular à face do biossensor e passando pela aresta inferior do prisma. O ângulo de leitura do elemento receptor é definido como o ângulo formado pela linha imaginária do centro do campo de detecção do elemento receptor, centralizada com o elemento receptor, e a linha imaginária perpendicular à face do biossensor e passando pela aresta inferior do prisma. Os ângulos de incidência do laser e de leitura do elemento receptor são controlados em malha fechada pelo motor com controle de movimento angular. A Figura 4 apresenta uma ilustração do ângulo de incidência do laser e do ângulo de leitura do elemento receptor.

[0057] Conforme a presente invenção, o procedimento de escaneamento é entendido como um conjunto de ações de controle e leitura necessárias para a análise do ângulo de ressonância para cada parte funcionalizada (6.11) e cada parte não funcionalizada do biossensor (6.12). Entre essas ações, destaca-se a sucessão da sequência: posicionamento angular do emissor laser (6.6 e 6.7) e do elemento receptor (6.4 e 6.5), leitura (6.3) e armazenamento (6.1 e 6.2) do ângulo de incidência do laser e do ângulo de leitura do elemento receptor (4.2 e 4.3 na Figura 4), emissão do feixe laser na parte funcionalizada do biossensor (6.4), leitura pelo elemento receptor (6.4) da intensidade do feixe laser refletido pela parte funcionalizada do biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície, emissão do feixe laser na parte não funcionalizada do biossensor (6.12), leitura pelo elemento receptor (6.5) da intensidade do feixe laser refletido pela parte não funcionalizada do biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície, armazenamento e envio de dados. A sequência descrita é repetida até que toda a faixa angular de interesse tenha sido coberta. A faixa angular de interesse normalmente compreende de 45° a 90° , podendo variar de acordo com diversos parâmetros, como o comprimento de onda do feixe emitido, o material do prisma e da placa do biossensor, o material de permissividade negativa do biossensor, a substância a ser analisada, entre outros. A sequência pode ser repetida com incremento angular negativo para realizar a conferência e compensação de efeitos de histerese, sendo considerada parte do escaneamento.

[0058] Conforme a presente invenção, a plotagem é compreendida como a compilação e mostra organizada dos valores de leitura do elemento receptor em relação ao ângulo de incidência do feixe laser. A compilação e mostra organizada pode ser realizada de forma gráfica como mostrado na Figura 2 ou em forma de tabela, matriz ou outro formato. A função da plotagem no sistema é a posterior identificação do ângulo de ressonância de cada parte funcionalizada e não funcionalizada do biossensor e análise e tratamento de dados. A Figura 5 representa a plotagem gráfica de um ciclo de escaneamento.

[0059] Conforme a presente invenção, o ângulo com menor valor de leitura do elemento receptor é o ângulo de ressonância, sendo este o valor de maior interesse no processo de escaneamento. O ângulo de ressonância é o ângulo de incidência do feixe laser onde existe o menor valor de leitura pelo elemento receptor da intensidade do feixe laser refletido pelo biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície.

[0060] Os ângulos de ressonância lidos serão aplicados como variáveis em uma série de equações matemáticas que os relaciona com constantes conhecidas, como: o índice de refração do ar, prisma, nanofilme de ouro, polímero, proteína, enzima, anticorpo e antígeno; intensidade do campo evanescente gerada pela ressonância; e alteração do ângulo de ressonância; fornecendo resultados numéricos de densidade da amostra na parte funcionalizada e não funcionalizada, sendo realizada então uma subtração entre elas, para obter-se então o valor numérico da concentração de moléculas do biomarcador ou patógeno de interesse na amostra analisada.

[0061] Conforme a presente invenção, o dispositivo onde as partes descritas são encapsuladas possui dimensões pequenas o suficiente para que o dispositivo seja usado sobre uma mesa ou bancada, ou carregado por uma pessoa. O encapsulamento (8.6) é feito por um ou mais componentes que formam um invólucro ao redor das partes descritas (8.5). O invólucro deve ser construído em material condutivo ligado ao plano neutro ou de aterramento, de forma a blindar o dispositivo contra interferências eletromagnéticas, bem como impedir que emissões eletromagnéticas geradas internamente possam afetar o ambiente. O invólucro condutivo pode ou não possuir peças de acabamento ao seu redor.

[0062] A interface de operação do usuário deve possuir: um seletor de estado ligado ou desligado com indicador de estado ou não (8.1); um botão de início e parada de teste (8.4); e um mostrador numérico para visualização do resultado do teste e outras informações (8.3). Adicionalmente, a interface pode ou não possuir um botão para abertura do compartimento de inserção do sensor (8.2). Os componentes da interface podem ser mecânicos, eletromecânicos, eletrônicos ou virtuais, acoplados ao dispositivo ou externos a este.

[0063] A inserção do sensor (9.3) contendo a amostra a ser analisada é feita de forma manual ou automática no dispositivo (9.4), contanto que existam meios para otimizar o contato da superfície do sensor com a superfície do prisma (9.1). A inserção pode ser direta ou contar com um mecanismo de abertura do compartimento de inserção do sensor (9.2), acionado por um botão na interface (8.2) ou de abertura manual.

[0064] O dispositivo é alimentado por energia elétrica proveniente de uma fonte externa ou interna. No caso de alimentação por fontes externas, o dispositivo é ligado à rede elétrica por meio de um cabo (9.6), e a corrente elétrica é condicionada para o uso por um circuito interno ou externo, podendo este conter um conversor de corrente alternada para corrente contínua, filtros contra interferências, sistema de detecção contra curto circuito, sobrecorrente e sobretensão, entre outros. No caso de alimentação por fontes internas, o dispositivo possui uma ou mais unidades de baterias descartáveis ou recarregáveis (9.6) que podem ou não passar por um circuito de condicionamento para uso.

REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, caracterizado por conter biossensores, câmaras de reações, prisma, emissores, receptores, entradas analógicas, unidades de controle e processamento e motores com controle angular.
2. Dispositivo para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 1, caracterizado pelo biossensor (1.6) ser composto por uma placa de material com índice de refração conhecido (4.5), com nanofilme de ouro ou outro material de permissividade similar (1.5) com uma ou mais partes funcionalizadas (1.2) e uma ou mais partes não funcionalizadas (1.7), destinado à medição diferencial por método de ressonância de plasmons de superfície.
3. Dispositivo para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 2, caracterizado pelas partes funcionalizadas (1.2) conterem elementos ligantes (1.4) e anticorpos (1.3) para a medição da reação antígeno-anticorpo com o biomarcador ou patógeno de interesse e as partes não funcionalizadas (1.7) terem a superfície do nanofilme exposta para a medição da densidade bulk (massa) da amostra (1.1).
4. Dispositivo para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 1, caracterizado por conter uma ou mais câmaras (2.2) pela qual a amostra passa durante seu processo de inserção no biossensor e onde pode ocorrer sua mistura com reagentes.
5. Dispositivo para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os emissores (6.6 e 6.7) emitem um ou mais feixes laser que passam pelo prisma (6.10) e atingem o biossensor, sendo refletidos e lidos pelos receptores (6.4 e 6.5), que emitem sinais tratados nas entradas analógicas (6.3) e interpretado pelas unidades de controle

e processamento (6.2), sendo o ângulo de incidência do emissor (4.3) e o ângulo de leitura do receptor (4.2) controlados por motores com controle angular (7.1 e 7.5).

6. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, caracterizado por realizar uma medição ótica diferencial do efeito de ressonância de plasmons de superfície por modulação angular em um biossensor com uma amostra/substância estática, seguindo as etapas de inserção da amostra, passagem pelas câmaras, reação antígeno-anticorpo, escaneamento, plotagem e obtenção do resultado numérico.

7. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 6, caracterizado pela medição diferencial ser realizada através escaneamento e identificação dos ângulos de ressonância da amostra aplicada nas partes funcionalizadas (1.2) e não funcionalizadas (1.7), sua posterior aplicação em equações e subtração dos resultados para obter o resultado numérico da concentração de moléculas do biomarcador ou patógeno de interesse na amostra analisada.

8. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 7, caracterizado pelo escaneamento e identificação dos ângulos de ressonância da amostra aplicada nas partes funcionalizadas ser dependente da reação antígeno-anticorpo que ocorre faixa de penetração do campo evanescente (4.4) nas partes funcionalizadas e pelo escaneamento e identificação dos ângulos de ressonância da amostra aplicada nas partes não funcionalizadas ser dependente da densidade *bulk* da amostra presente na faixa de penetração do campo evanescente nas partes não funcionalizadas.

9. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a amostra/substância a ser analisada é inserida no ponto de inserção (2.1), passa por uma ou mais câmaras (2.2) e é finalmente depositada sobre o biossensor (2.3), onde permanece estática durante a reação antígeno-anticorpo, escaneamento, plotagem e obtenção do resultado numérico, sem a necessidade de circulação micro fluídica.

10. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 6, caracterizado pelo escaneamento consistir na sequência de posicionamento angular, leitura e armazenamento do ângulo de incidência do emissor e do ângulo de leitura do receptor (7.9), seguido da emissão do feixe (6.14) em uma parte funcionalizada do biossensor (6.11), leitura pelo receptor (6.4) da intensidade do feixe refletido pela parte funcionalizada do biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície, emissão do feixe (6.15) em uma parte não funcionalizada do biossensor (6.12), leitura pelo receptor (6.5) da intensidade do feixe laser refletido pela parte não funcionalizada do biossensor após interagir com o campo eletromagnético da ressonância de plasmons de superfície, armazenamento e envio dos dados de leitura (6.16 e 6.17).

11. Método para medição do nível de concentração de troponina e outros biomarcadores ou patógenos, conforme a reivindicação 10, caracterizado pela sequência do escaneamento se repetir para tantas partes funcionalizadas e não funcionalizadas existentes no biossensor, em toda a faixa angular de interesse e podendo ser realizada com incremento ou decremento angular, com a função de levantamento de valores numéricos, que são plotados de forma gráfica (5), ou não, para identificação do ângulo de ressonância de cada parte funcionalizada e não funcionalizada do biossensor, necessários para a aplicação do método de medição diferencial.

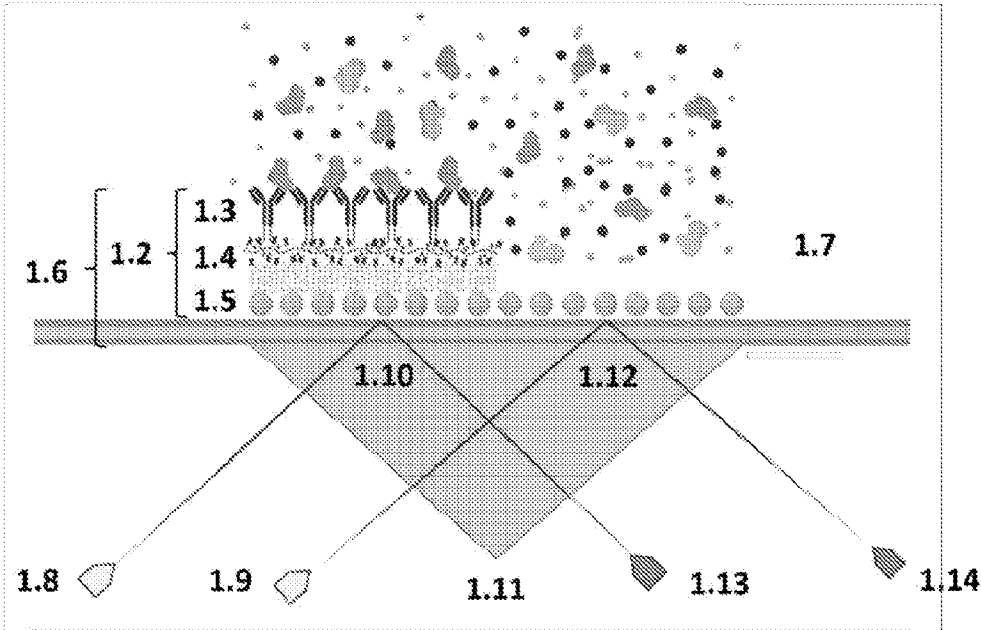


Figura 1

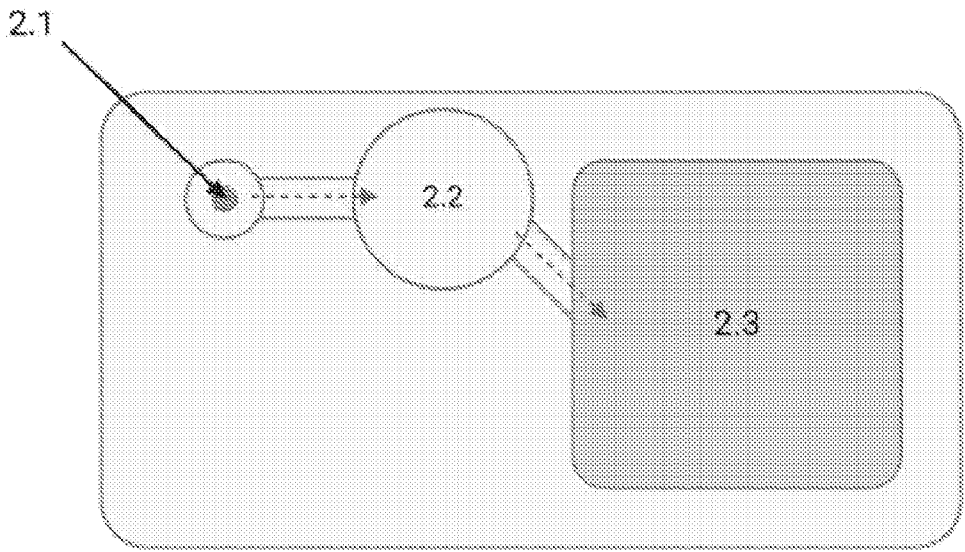


Figura 2

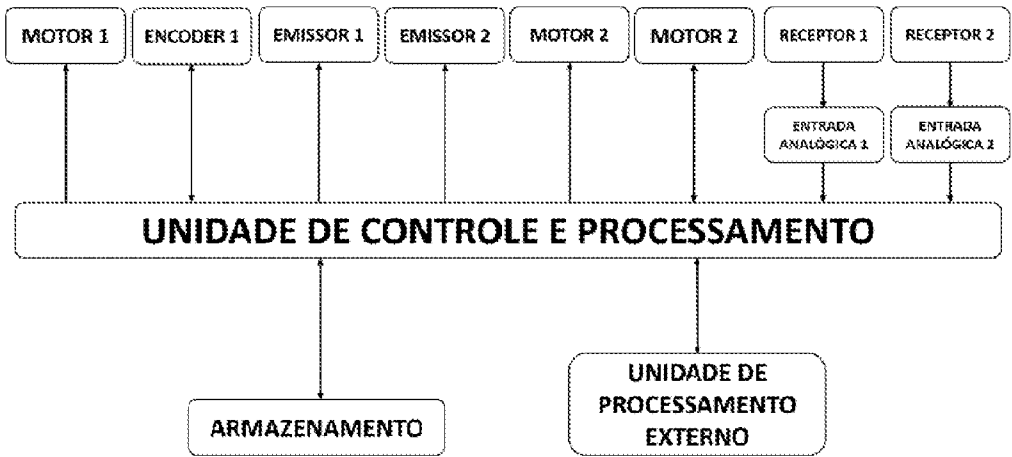


Figura 3

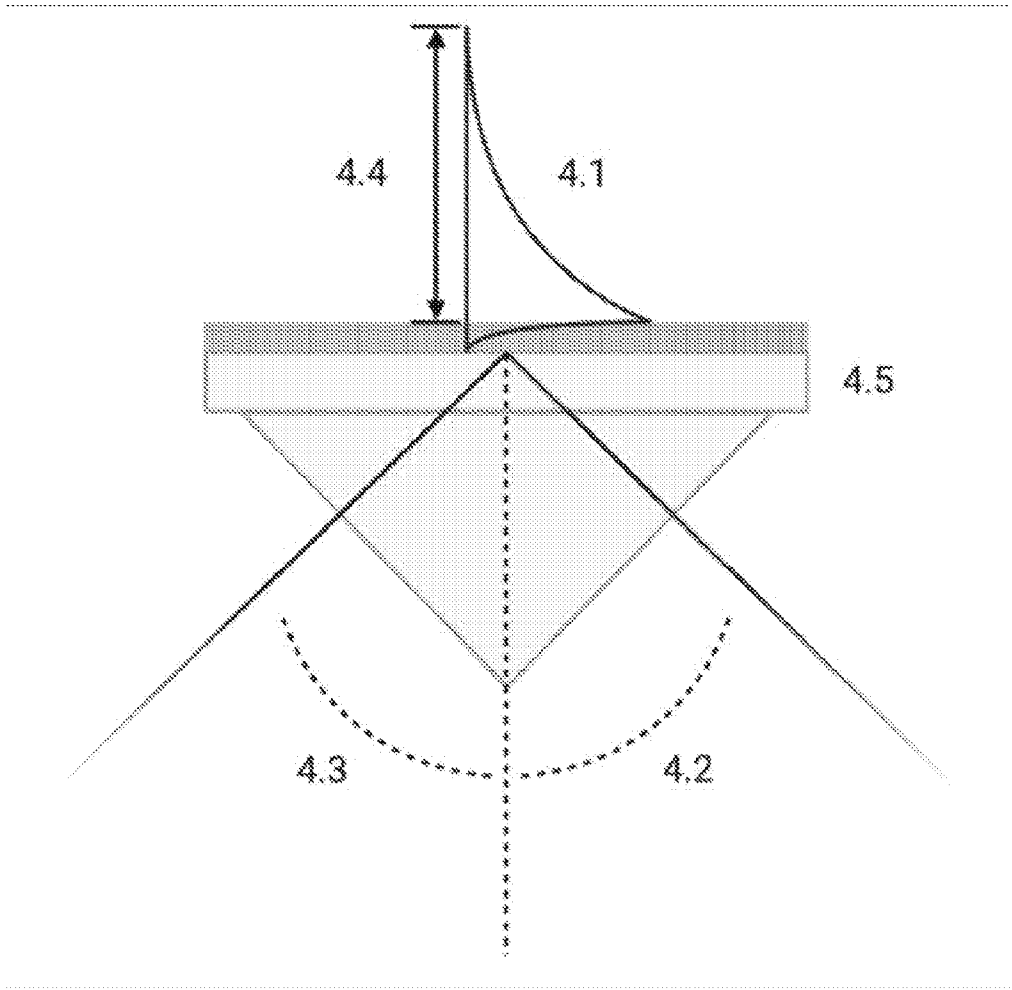


Figura 4

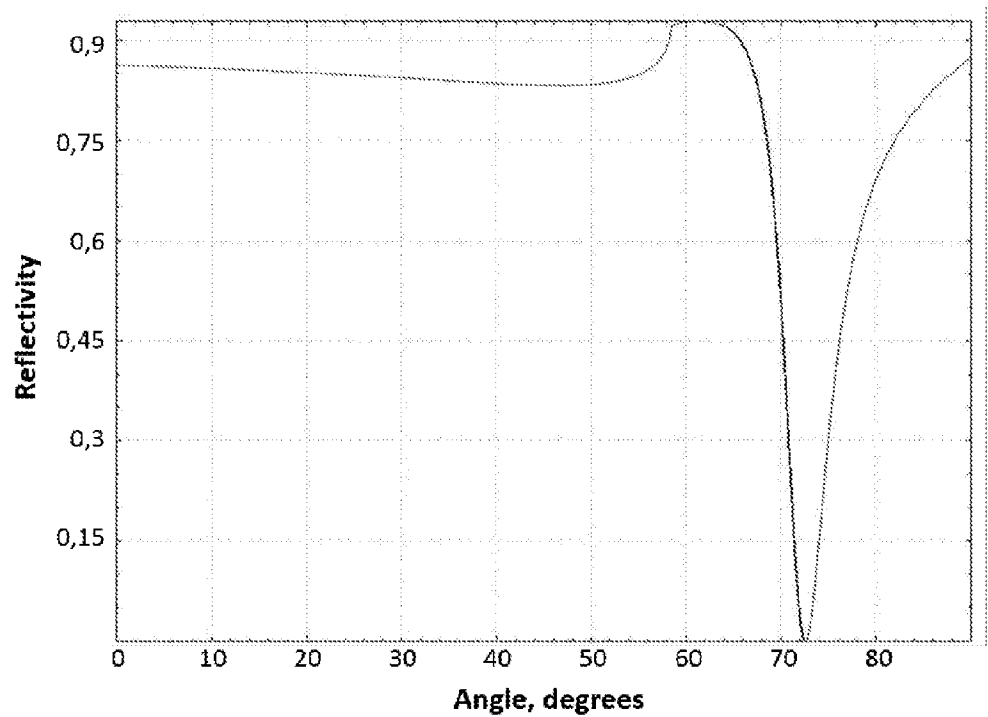


Figura 5

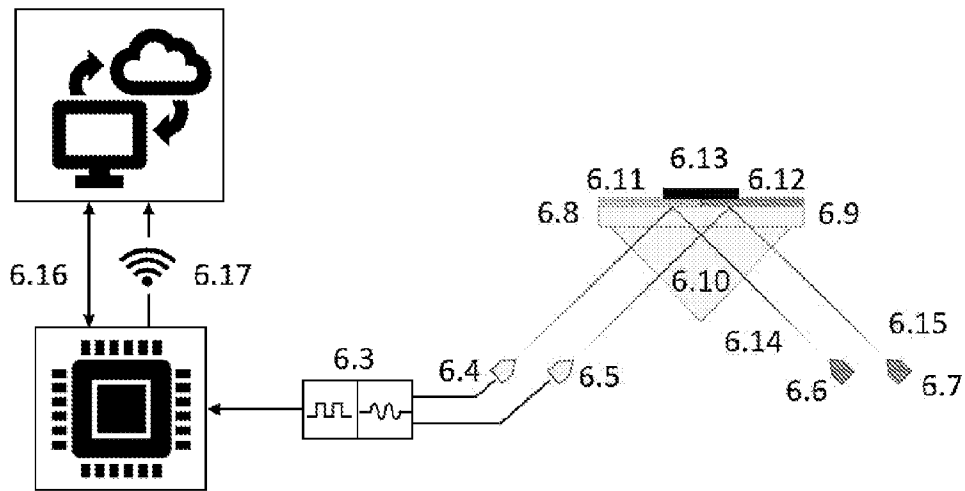


Figura 6

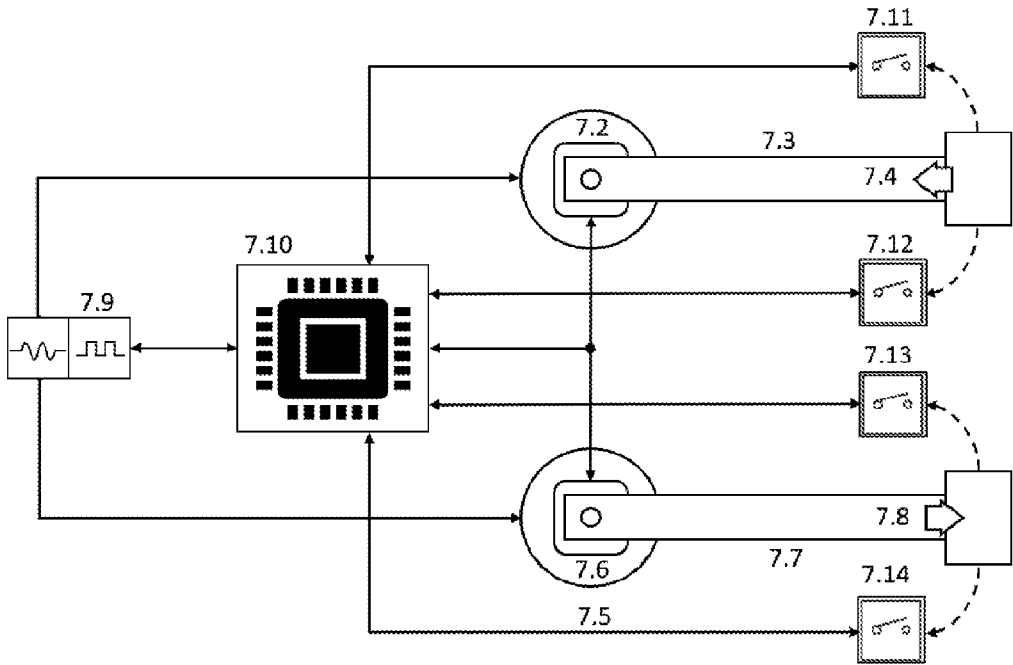


Figura 7

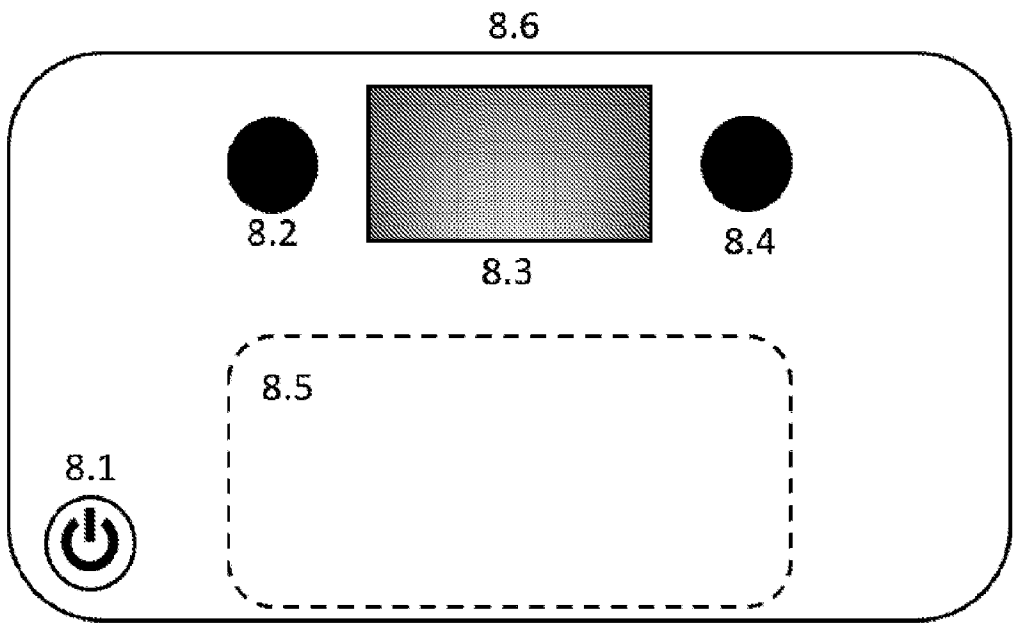


Figura 8

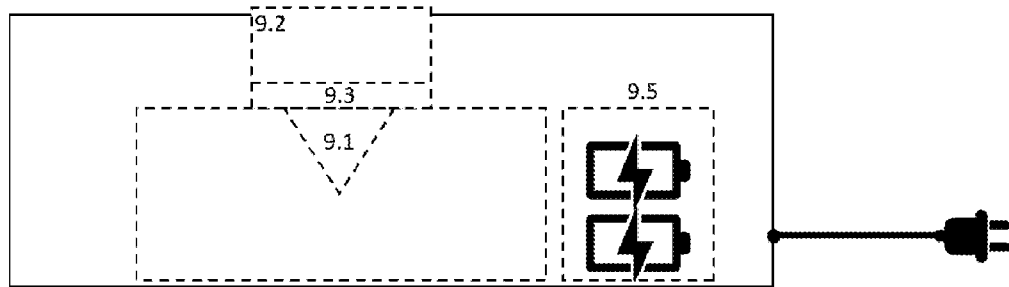


Figura 9