



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102015026020-2

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102015026020-2

(22) Data do Depósito: 13/10/2015

(43) Data da Publicação Nacional: 02/05/2017

(51) Classificação Internacional: A61B 1/04; G02B 21/00.

(54) Título: MICROENDOSCÓPIO DE REFLETÂNCIA E FLUORESCÊNCIA PORTÁTIL ACOPLÁVEL A SMARTPHONES E SIMILARES, E SEUS USOS

(73) Titular: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 63025530000104. Endereço: RUA DA PRAÇA DO RELÓGIO, 109 - SALA 95 BUTANTÃ - CIDADE UNIVERSITÁRIA, SÃO PAULO, SP, BRASIL(BR), 05508-050

(72) Inventor: CRISTINA KURACHI; SEBASTIÃO PRATAVIEIRA; PABLO GOMEZ GARCIA; RAMON GABRIEL TEIXEIRA ROSA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 13/10/2015, observadas as condições legais

Expedida em: 13/12/2022

Assinado digitalmente por:

Liane Elizabeth Caldeira Lage

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados



**MICROENDOSCÓPIO DE REFLETÂNCIA E FLUORESCÊNCIA PORTÁTIL
ACOPLÁVEL A SMARTPHONES E SIMILARES, E SEUS USOS**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção se insere no campo da medicina, odontologia, física óptica e engenharia, e descreve um microendoscópio de refletância e fluorescência portátil acoplável a smartphones e similares, sendo principalmente utilizável para o diagnóstico de tecidos, esfregaço celular (citologia), análise de fluidos biológicos, ou de amostras teciduais em lâminas de microscopia.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[002] O diagnóstico clínico é um dos mais relevantes procedimentos médicos uma vez que resultará na necessidade ou não de exames de imagem ou laboratoriais complementares, como a biópsia, ressonância magnética, ultrassonografia, dentre outros, e posteriormente no planejamento do tratamento e prognóstico do paciente. Além da avaliação da presença ou não de uma patologia, o diagnóstico clínico também é empregado para avaliar a resposta ao tratamento.

[003] Atualmente, o diagnóstico clínico realizado com o paciente é baseado: (a) na observação visual macroscópica das alterações teciduais sob iluminação da luz branca, (b) na palpação do tecido afetado e de outras regiões de interesse, como dos linfonodos regionais e (c) na

anamnese, ou seja, informações verbais fornecidas pelo paciente e/ou acompanhante sobre o histórico de desenvolvimento da lesão e dos sintomas e o histórico clínico geral do paciente e familiar.

[004] Exames de diagnóstico complementares são solicitados quando o profissional da saúde necessita de informações adicionais que não podem ser obtidas clinicamente, especialmente para as lesões em tecidos moles suspeitas de câncer. A análise da morfologia celular é a informação mais importante para o diagnóstico do câncer, sendo considerado a histopatologia o padrão ouro para o diagnóstico tecidual. Quando o clínico tem suspeita de uma lesão maligna, uma biópsia é removida ou uma citologia aspirativa realizada. O material biológico é processado ea amostra tecidual ou o esfregaço celular avaliado em microscopia óptica. Essa avaliação diagnóstica não apresenta resposta rápida durante o exame clínico, pois depende de um processamento laboratorial das amostras. Nesse sentido, o profissional de saúde não tem essa informação durante o exame clínico do paciente.

ESTADO DA TÉCNICA

[005] Todos os microscópios portáteis encontrados no estado da técnica apresentam desvantagens em relação ao equipamento descrito na presente invenção. Por exemplo, os documentos CN 201497830U e US 5062697 descrevem microscópios exclusivamente de luz branca e não apresentam a possibilidade

de obtenção de imagens de fluorescência e nem a utilização de um feixe de fibras ópticas, nem tampouco a utilização de um smartphone para a aquisição de imagens.

[006] Os documentos US 2012050853 e o artigo intitulado "*Portable, battery-operated, low-cost, brightfield and fluorescence microscope*" não prevêem utilização de um feixe de fibras, não permitindo a utilização como microendoscópio. Além disso, não são adaptados para uso com smartphone e similares.

[007] Já o artigo intitulado "*A fiber-optic fluorescence microscope using a consumer-grade digital camera for in vivo cellular imaging*", não prevê utilização de smartphone, apenas de uma câmera fotográfica. Além disso, ele não permite a análise de lâminas e nem cita a utilização de luz branca. O microendoscópio proposto na presente invenção foi montado com peças customizadas para possibilitar a troca do sistema de iluminação e os filtros ópticos, resultando no uso com diferentes marcadores fluorescentes e biológicos. Além disso, possibilita a adaptação para smartphones e similares oferecendo uma maior portabilidade, menor custo e possibilidade de medicina a distância.

[008] Adicionalmente, existe um sistema para microendoscopia também empregando um feixe de fibras ópticas, mas ao contrário do microscópio da presente invenção, ele é um sistema portátil de bancada, ou seja, não

é um microscópio que possa realizar a imagem sendo manipulado com uma das mãos. Além disso, esse sistema não apresenta a configuração para análise de lâmina com esfregaço celular, nem possui adaptação para *smartphone* ou similares.

[009] Outro aparelho que tem similaridades ópticas com o microscópio desenvolvido na presente invenção é o fibroscópio e as suas diversas variantes. Este equipamento já é fabricado por vários fabricantes de equipamentos ópticos. Outro aparelho particularmente interessante é o boroscópio, usado para a inspeção de peças mecânicas não acessíveis (por exemplo, em motores de avião). O sistema desenvolvido também permite este tipo de análise através de sua iluminação LED própria e aquisição de imagens por fibra óptica. No entanto, ambos os equipamentos não apresentam as mesmas características técnicas e mecânicas, nem a mesma resolução óptica, ou os usos indicados. Dessa maneira, os dispositivos são bem distintos daquele descrito na presente invenção.

[010] Desse modo, a presente invenção tem por objetivo, a realização de uma avaliação microscópica durante o exame clínico de pacientes empregando um microendoscópio óptico portátil, que irá possibilitar ao clínico ter informações mais detalhadas da lesão, relevantes para o planejamento terapêutico do paciente, de maneira mais rápida e com a possibilidade de avaliação da totalidade superficial da lesão e não apenas uma amostra, como no caso de biópsia incisional, otimizando a detecção precoce do câncer e

minimizando o risco de subdiagnóstico. O clínico poderá utilizar o microendoscópio para a visualização com resolução celular do tecido biológico, através do uso de marcador fluorescente, e/ou da amostra obtida (esfregaço celular em lâmina de microscopia preparada com o marcador celular fluorescente ou corante) de uma citologia esfoliativa ou aspirativa. A análise em paciente é considerada um método de diagnóstico não invasivo e não destrutivo, pois não necessita da remoção de tecido para investigação e não promove nenhuma alteração no tecido, sendo seguro para o uso clínico.

[011] O equipamento para realizar o referido diagnóstico microscópico clínico foi desenvolvido para que a avaliação das características morfológicas celulares possa ser realizada de maneira *in situ* (no local da lesão) não invasiva, sem a necessidade de corte de tecido, através do uso de uma substância marcadora de núcleo celular e de um feixe de fibras ópticas, ou em amostras biológicas como de esfregaço de células obtidas através de citologia esfoliativa ou aspirativa, de coleta e preparo de fluidos biológicos (sangue, saliva, urina) com posterior marcação e preparo da lâmina.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[012] A presente invenção tem por objetivo propor um microendoscópio de refletância e fluorescência portátil acoplável a smartphones, e similares, apresentando a possibilidade de intercambiar duas configurações para

odiagnóstico da morfologia celular utilizando um marcador, tanto *in situ*, através de um feixe de fibras ópticas, quanto em esfregaço celular ou fluidos biológicos, através de um porta-amostras.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[013] A FIG. 1 é uma representação gráfica do microendoscópio portátil acoplado ao feixe de fibras ópticas para a análise *in situ*;

[014] A FIG. 2 é uma representação gráfica do microendoscópio portátil acoplado ao porta-amostra biológica;

[015] A FIG. 3 é uma representação gráfica do microendoscópio portátil e as possíveis configurações e adaptação a um *smartphone*;

[016] A FIG.4 é uma imagem digital de fluorescência marcada com acriflavina da mucosa labial inferior adquirida com um *smartphone* acoplado ao microendoscópio na configuração de feixe de fibras ópticas para a análise *in situ*;

[017] A FIG.5 é uma imagem digital de fluorescência marcada com acriflavina da mucosa labial inferior adquirida com um *smartphone* do microendoscópio na configuração porta-amostra biológica para lâmina de esfregaço celular;

[018] A FIG.6 é uma imagem digital de fluorescência marcada com acriflavina de uma amostra de sangue adquirida com um *smartphone* do microendoscópio na configuração porta-

amostra biológica para análise de fluido biológico (sangue).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[019] A presente invenção refere-se a um microendoscópio de refletância e fluorescência portátil acoplável a smartphones, e similares, apresentando a possibilidade de intercambiar duas configurações para o diagnóstico da morfologia celular utilizando um marcador, tanto *in situ*, através de um feixe de fibras ópticas, quanto em esfregaço celular ou fluidos biológicos, através de um porta-amostras. O referido microendoscópio é composto por três conjuntos: óptico, eletrônico e mecânico.

Conjunto óptico

[020] O referido microendoscópio utiliza como fonte de iluminação um diodo emissor de luz LED (*Light Emitting Diode*) com emissão centrada em diferentes regiões espectrais, dependendo do marcador celular empregado ou de luz branca (7), e alimentado, por exemplo, por uma bateria de 3,7 V (9).

[021] Os componentes ópticos, formados pelas lentes (1,8,11), filtros (3 e 4) e espelhos dicróico (2) são escolhidos e facilmente intercambiáveis dependendo da escolha dos parâmetros de iluminação e coleta de luz e do marcador celular.

[022] A lente objetiva (1) é a lente mais próxima à amostra, enquanto que a lente ocular (11) é a mais distante. Essas lentes em conjunto funcionam como um

microscópio composto e são responsáveis pela produção de uma imagem ampliada tendo resolução em nível celular. A lente (8) colima parcialmente a luz do LED (7) para aumentar a intensidade conduzida até a amostra.

[023] O espelho dicróico (2) direciona a luz de excitação proveniente do LED (7) para a amostra e permite que a fluorescência da amostra seja transmitida em direção à lente ocular (11).

[024] O filtro (3) seleciona a faixa de comprimentos de onda a ser transmitida em direção à lente ocular (11), permitindo a seleção da região espectral da fluorescência adquirida. Já o feixe (4) permite que apenas uma banda espectral estreita do LED (7) seja transmitida. Isto permite que o espelho dicróico (2) e o filtro (3) filtrem totalmente a luz de excitação.

[025] O orifício circular (5) bloqueia uma porção do feixe de luz mais externo (mais distante do eixo óptico) reduzindo as aberrações ópticas e aumentando a resolução da imagem.

[026] Para a configuração de análise *in situ*, é utilizado um feixe flexível (6) composto por um feixe de milhares de fibras ópticas coerentes espacialmente, responsável por guiar a luz de excitação até a amostra e por coletar a imagem e transporta-la até o plano focal da lente objetiva (1). O referido feixe (6) é rosqueado a um conector do tipo SMA do adaptador circular (12). Tal adaptador

possibilita um ajuste fino da distância da extremidade proximal do feixe e da lente objetiva (1), atuando como agente de ajuste do foco do microendoscópio.

Conjunto eletrônico

[027] O circuito eletrônico (10) controla o liga/desliga e a intensidade de iluminação produzida pelo LED (7), através de um botão. O botão tem a função liga/desliga, além de selecionar uma de 3 opções de intensidade. Essa característica é importante para adequar a iluminação para cada amostra avaliada (tecido ou citologia).

Conjunto mecânico

[028] Os conjuntos óptico e eletrônico estão alojados em uma estrutura metálica para a proteção e manutenção do posicionamento de cada componente, características importantes para a obtenção da imagem e adequado funcionamento do microendoscópio.

[029] O conjunto mecânico é basicamente composto por dois tubos (15, 16) e uma porção central de ligação (17). O tubo (15) e a porção central (17) alojam os componentes ópticos, enquanto que o tubo (16) aloja a fonte de iluminação e o circuito eletrônico. Tais componentes são rosqueáveis.

[030] O espelho dicróico (2) e os filtros (3,4) são alojados em peças individuais que são facilmente deslocadas quando da necessidade de substituição dos componentes ópticos e adequadamente posicionadas para a obtenção da

imagem, através de ranhuras.

[031] O desenho mecânico permite a apreensão e o manuseio confortável do microendoscópio por uma das mãos de um operador adulto. O material metálico possibilita a desinfecção química externa convencional para os equipamentos médicos de mesma categoria (uso de dispositivos clínicos não invasivos).

[032] Para a configuração em esfregaço celular ou fluidos biológicos, um porta amostras (14) contendo molas (13) para o alojamento de lâmina de vidro de diversos formatos de 1 a 4 cm de largura e qualquer comprimento, e espessuras no intervalo de 1 a 5 mm, é conectado ao microendoscópio. Essa peça retangular possibilita a centralização e a fixação da amostra.

[033] A troca entre o adaptador para feixe de fibras (6) e o porta amostras (14) é permitido pela rosca presente na extremidade do microendoscópio. A troca pode ser realizada rapidamente.

[034] Conforme pode ser observado na FIG. 3, o referido microendoscópio pode ser utilizado, além das duas configurações de diagnóstico (feixe de fibras ópticas e porta-amostras), com visualização a olho nu, ou com a obtenção de imagens digitais. No caso das imagens digitais, câmeras digitais, *smartphones* ou similares podem ser acoplados ao microendoscópio através de um adaptador (18) para centralização da câmera com o sistema óptico.

[035] A possibilidade de visualização direta da imagem (a olho nu) ou adaptação a um *smartphone* ou similar, também constitui uma vantagem do presente microendoscópio, especialmente porque reduz o custo do equipamento pela ausência de um sistema de aquisição de imagem, como uma câmera fotográfica, ou digital científica.

[036] A adaptação e aquisição da imagem digital por um *smartphone* ou similar possibilitam a análise computacional empregando algoritmos (tipo aplicativo) e avaliação quantitativa e qualitativa de características celulares importantes para o diagnóstico como a distribuição de tamanho e número de núcleos e células e razão núcleo/citoplasma. O envio das imagens digitais também possibilita a medicina à distância para a discussão do caso entre pares.

Aplicação

[037] Inicialmente, o tecido ou a amostra (esfregaço celular) devem ser corados com o marcador celular. Os exemplos de imagens apresentados nas FIGS. 4, 5 e 6 foram obtidos com marcação de acriflavina, um composto fluorescente para identificação de núcleo celular.

[038] A FIG. 4 apresenta uma imagem da mucosa labial normal de um voluntário, obtida com o microendoscópio na configuração de feixe de fibras ópticas para a análise *in situ*. Os pontos claros são os núcleos das células epiteliais. Os núcleos dessas células apresentam um diâmetro médio ao

redor de 2-3 μm , demonstrando a resolução do microendoscópio para imagens celulares com essa marcação. Outros exemplos de tecidos que podem ser investigados com esse procedimento são mucosas vaginal, do colo do útero, do colo retal, dentre outros.

[039] A FIG. 5 apresenta uma imagem obtida de um esfregaço de células epiteliais da mucosa jugal coradas com acriflavina. Esfregaços celulares de exame de Papanicolau, citologia aspirativa de tumores, dentre outros também podem ser analisados.

[040] A FIG. 6 apresenta uma imagem obtida de uma amostra de sangue e marcada com acriflavina.

Usos

[041] A morfologia e distribuição nuclear são importantes fatores para o diagnóstico do câncer, por isso o núcleo é a estrutura celular alvo da presente invenção. No entanto, a configuração do microendoscópio possibilita o uso de marcadores biológicos para outras estruturas celulares ou de microrganismos (bactérias, fungos e vírus) e de metabólitos, com apenas a modificação da fonte de iluminação LED e dos componentes ópticos (filtros e espelho).

[042] A configuração feixe de fibras é usada para realizar imagens *in situ*, imagens de mucosas vaginal, do colo do útero, do colo retal, do esôfago, dentre outros, de forma não invasiva, sem a necessidade de corte de tecido, através do uso de uma substância marcadora de estruturas

celulares.

[043] A configuração de porta amostras é usada para realizar imagens de esfregaço de células epiteliais da mucosa jugal, esfregaços celulares de exame de Papanicolau, citologia aspirativa de tumores, coradas com acriflavina ou outros marcadores, através de citologia exfoliativa ou aspirativa, de coleta e preparo de fluidos biológicos (sangue, saliva, urina) com posterior marcação e preparo da lâmina, ou de lâminas de tecido biopsiado e processado para avaliação em microscopia.

[044] No caso do seu uso para a citologia exfoliativa ou aspirativa, o enfoque principal é no diagnóstico de células neoplásicas. A citologia é usualmente empregada para um diagnóstico auxiliar de amostras obtidas de mucosa do colo uterino e boca e de nódulos em mama, tireoide e linfáticos. No caso do seu uso em fluidos biológicos, no sangue, por exemplo, pode-se usar o marcador fluorescente nuclear e avaliar semi-quantitativamente a distribuição das células brancas (linfócitos), relevantes para avaliação da resposta imunológica do paciente. Com o uso de marcadores para microrganismos, a aplicação é para a detecção de quadros de infecção em amostras obtidas de fluidos biológicos (sangue, saliva, urina).

[045] O potencial de obtenção do resultado da citologia na própria clínica é bastante relevante em função à resposta rápida através de um procedimento mais simples e

com menores riscos associados. O transporte de amostra biológica sempre requer procedimentos controlados e adequados para evitar a destruição do material, o esfregaço celular é bastante frágil, e a contaminação. Outro fator, econômico e ambientalmente, relevante é a minimização de reagentes e solução de preservação da amostra empregados para essa avaliação em laboratório, tornando-se um procedimento com uma menor geração de resíduos. O exame de citologia Papanicolau realizado para o diagnóstico precoce de lesões do colo uterino, incluindo o câncer, é o exame que possivelmente será de maior relevância do microendoscópio na configuração para o esfregaço celular.

[046] Embora a invenção tenha sido amplamente descrita, é óbvio para aqueles versados na técnica que várias alterações e modificações podem ser feitas visando aprimoramento do projeto sem que as referidas alterações não estejam cobertas pelo escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Microendoscópio de refletância e fluorescência portátil acoplável a smartphones e similares, que compreende os conjuntos óptico, eletrônico e mecânico, **caracterizado** pelo fato de o referido microendoscópio apresentar duas configurações intercambiáveis para o diagnóstico celular, sendo que o conjunto óptico compreende uma lente objetiva (1), espelho dicróico (2), filtros (3, 4), orifício circular (5), fonte de iluminação (7), lente (8), bateria (9) e lente ocular (11).

2. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a lente objetiva (1) em conjunto com a lente ocular (11) serem responsáveis pela produção de uma imagem tendo resolução em nível celular.

3. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a lente (8) colimar parcialmente a luz da fonte de iluminação (7).

4. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o espelho dicróico (2) direcionar a luz de excitação proveniente da fonte de iluminação (7) para a amostra e permitir que a fluorescência da amostra seja transmitida em direção à lente ocular (11).

5. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o filtro (3) selecionar a faixa de comprimentos de onda a ser transmitida em direção à lente ocular (11), permitindo a seleção da região espectral da

fluorescência adquirida, e o filtro (4) permitir que apenas uma banda espectral estreita da fonte de iluminação (7) seja transmitida.

6. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o orifício circular (5) bloquear uma porção do feixe de luz mais externo reduzindo as aberrações ópticas e aumentando a resolução da imagem.

7. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a fonte de iluminação (7) ser um diodo emissor de luz (LED) para fluorescência ou refletância, e ser alimentada por uma bateria (9) de 3,7 V.

8. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o conjunto eletrônico compreender um circuito eletrônico (10).

9. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de o circuito eletrônico controlar a intensidade de iluminação produzida pela fonte de iluminação (7) através de um botão liga/desliga, em que este seleciona uma de 3 opções de intensidade.

10. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o conjunto mecânico compreender os tubos (15, 16) e uma porção central de ligação (17).

11. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** de o tubo (15) e a porção central (17) alojarem os componentes ópticos, e o tubo (16) alojar o sistema de iluminação e o circuito eletrônico.

12. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de as configurações intercambiáveis para o diagnóstico celular compreenderem um feixe de fibras ópticas (6) e um porta amostras (14).

13. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de o feixe (6) ser rosqueado a um conector do tipo SMA ou similar do adaptador circular (12).

14. Microendoscópio, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado** pelo fato de o porta amostras (14) contendo molas (13) alojar lâmina de vidro em 1 a 4 cm de largura e 1 a 5 mm de espessura.

15. Microendoscópio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato de ser acoplado a smartphones, câmeras digitais ou similares através de um adaptador (18).

16. Uso do microendoscópio conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizado** pelo fato de na configuração feixe de fibras, realizar imagens in situ de mucosas vaginal, do colo do útero, do colo retal, do esôfago, dentre outros, de forma não invasiva, sem a necessidade de corte de tecido, através do uso de uma substância marcadora de estruturas celulares.

17. Uso do microendoscópio conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizado** pelo fato de na configuração porta amostras, realizar imagens de esfregaço de células epiteliais de mucosas, esfregaços

celulares de exame de Papanicolau, citologia aspirativa de tumores, coradas com acriflavina ou outros marcadores, através de citologia exfoliativa ou aspirativa, de coleta e preparo de fluidos biológicos (sangue, saliva, urina) com posterior marcação e preparo da lâmina, ou de lâminas de tecido biopsiado e processado para avaliação em microscopia.

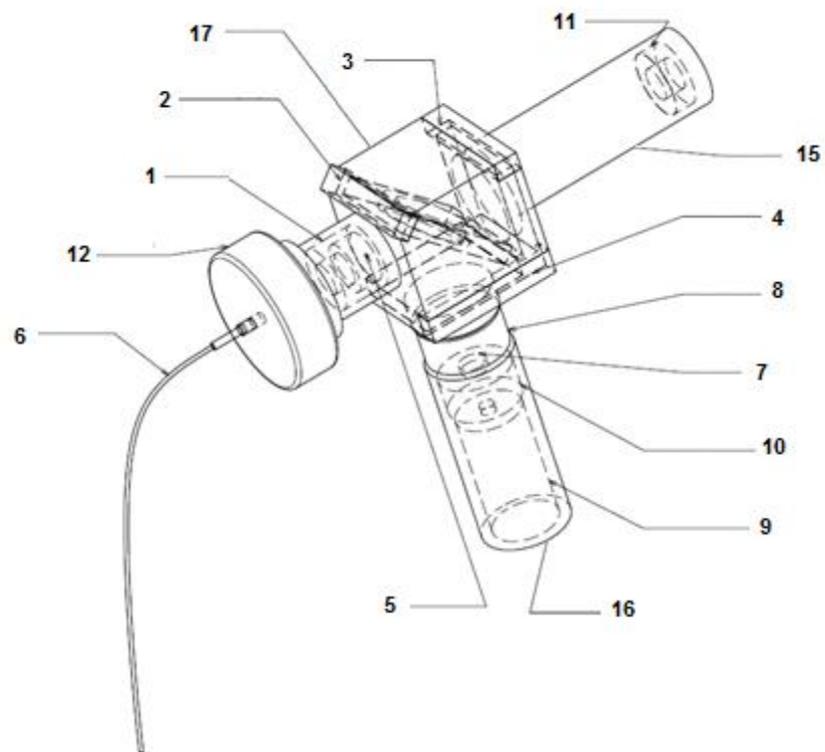


FIG. 1

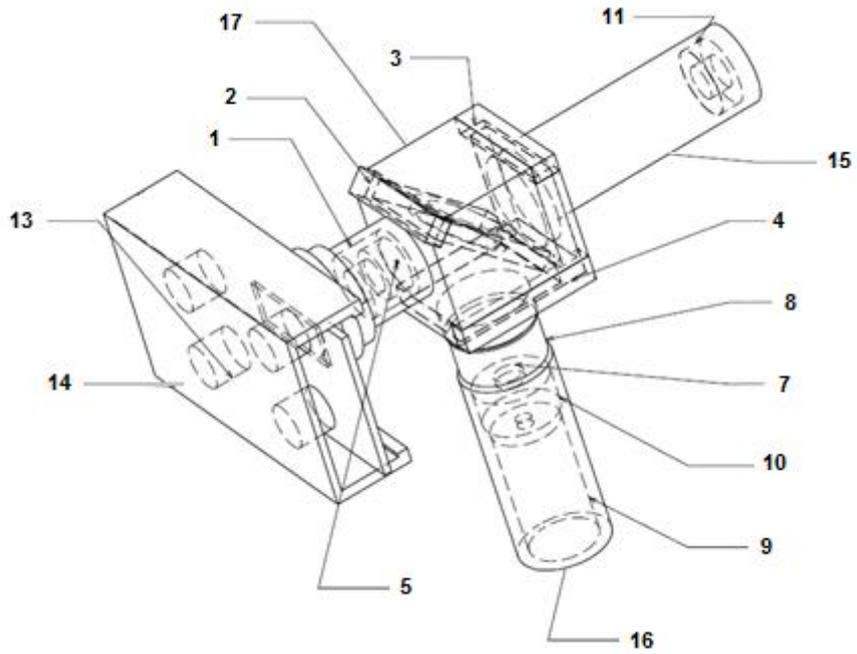


FIG. 2

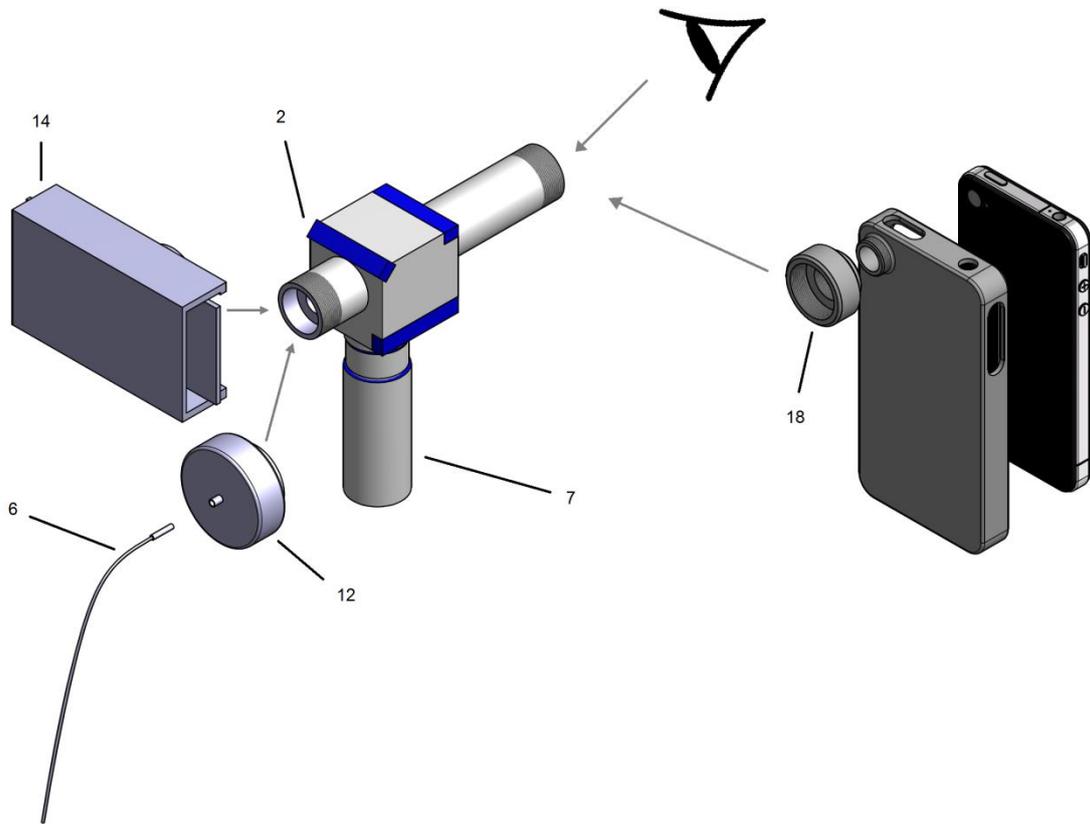


FIG. 3

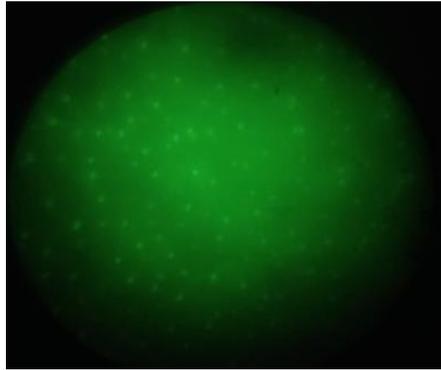


FIG. 4

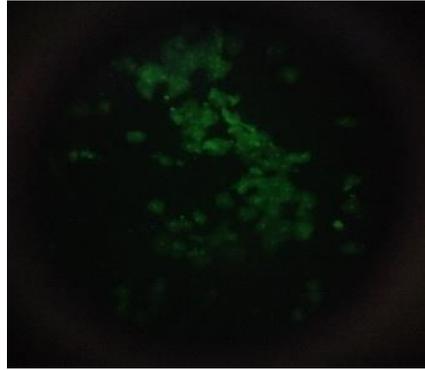


FIG. 5

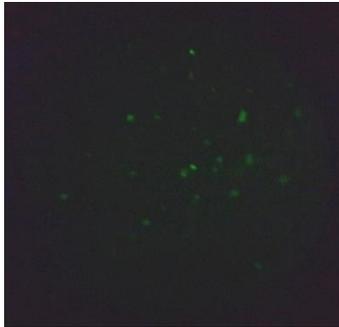


FIG. 6