



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0914352-1 B1



(22) Data do Depósito: 28/10/2009

(45) Data de Concessão: 09/07/2019

(54) Título: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UMA PLACA DE ANÁLISE VIRTUAL DE UMA AMOSTRA CITOLÓGICA OU HISTOLÓGICA COLOCADA SOBRE UMA PLACA DE ANÁLISE A FIM DE PERMITIR A ANÁLISE CELULAR DA REFERIDA AMOSTRA

(51) Int.Cl.: G02B 21/36; G02B 21/00; G01N 1/30.

(30) Prioridade Unionista: 31/10/2008 FR 0857438.

(73) Titular(es): NOVACYT.

(72) Inventor(es): ERIC PELTIER.

(86) Pedido PCT: PCT FR2009052086 de 28/10/2009

(87) Publicação PCT: WO 2010/049651 de 06/05/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 29/04/2011

(57) Resumo: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UMA PLACA DE ANÁLISE VIRTUAL DE UMA AMOSTRA CITOLÓGICA OU HISTOLÓGICA COLOCADA SOBRE UMA PLACA DE ANÁLISE A FIM DE PERMITIR A ANÁLISE CELULAR DA REFERIDA AMOSTRA A presente invenção trata de um processo de preparação de uma placa de análise virtual de uma amostra citológica ou histológica colocada sobre uma placa de análise a fim de permitir a análise celular da referida amostra, do tipo que compreende as etapas de realizar um tratamento da amostra, o qual tratamento é realizado para permitir diferenciar as células patológicas das células sadias da amostra; efetuar uma aquisição de imagens da amostra colocada sobre a placa de análise de modo a obter uma pluralidade de imagens cada uma delas representando uma área da placa de análise, as quais imagens colocadas lado a lado formam uma imagem da totalidade da amostra de modo a criar uma placa de análise virtual; e efetuar sobre a placa de análise virtual um tratamento das imagens adquiridas de modo a obter uma restituição virtual das cores e da intensidade das cores do citoplasma e/ou do núcleo, e as referidas cores e a referida intensidade podem ser modificadas de acordo com as preferências da (...).

“PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UMA PLACA DE ANÁLISE VIRTUAL DE UMA AMOSTRA CITOLÓGICA OU HISTOLÓGICA COLOCADA SOBRE UMA PLACA DE ANÁLISE A FIM DE PERMITIR A ANÁLISE CELULAR DA REFERIDA AMOSTRA”

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção trata de um processo de preparação de uma placa de análise virtual de uma amostra citológica ou histológica colocada sobre uma placa de análise a fim de permitir a análise celular da referida amostra, do tipo que compreende as seguintes etapas:

- realizar um tratamento da amostra, o qual tratamento é realizado para permitir diferenciar das células patológicas das células saudáveis da amostra,
- efetuar uma aquisição de imagens da amostra colocada sobre a placa de análise de modo a obter uma pluralidade de imagens, cada uma delas representando uma área da placa de análise, e as referidas imagens colocadas lado a lado formam uma imagem da totalidade da amostra de modo a criar uma placa de análise virtual.

[002] A presente invenção aplica-se particularmente a processos de análise citológica ou histológica.

[003] A presente invenção trata igualmente de um processo de preparação de uma placa de análise virtual a fim de permitir sua análise celular, em particular de acordo com um processo de análise tal como descrito acima.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[004] A análise de amostras é, por exemplo, utilizada para o diagnóstico de patologias, por exemplo, a partir de células obtidas por esfregaço (cervicais, vaginais ou outros), por punção de órgãos (seio, tireoide, gânglio ou outros) ou ainda por coleta (urina, lavagem bronquioalveolar ou outras), para detectar qualquer tipo de patologia e, mais particularmente, estados pré-cancerosos ou cancerosos.

[005] As amostras são examinadas por observadores especializados e treinados para detectar as células suscetíveis de serem patológicas em uma amostra colocada sobre uma placa ou lâmina de análise. A fim de permitir a detecção de células potencialmente patológicas, a amostra é submetida a um tratamento, tal como uma coloração que permite ressaltar entre outras coisas, as características do núcleo e do citoplasma das células a fim de auxiliar na identificação e no diagnóstico das células patológicas. Quando a amostra é observada, as células potencialmente patológicas mostram, então, diferenças de afinidades de tintura, de tamanho e de forma, tanto no núcleo quanto no citoplasma, em relação às células normais.

[006] A análise pode ser feita de modo manual, sem assistência particular. Nesse caso, o médico ou o técnico especializado coloca as placas de amostra sob o microscópio e observa cada uma delas a fim de detectar as anomalias morfológicas que indicam células patológicas que podem corresponder a um estado pré-canceroso ou canceroso por exemplo. Esse método de análise é trabalhoso e consome um tempo enorme. Além disso, ele não oferece resultados satisfatórios com, sobretudo, um número de “falsos negativos” estimados em aproximadamente 30%, ou seja, de amostras consideradas normais quando existe uma patologia no paciente, em particular pré-cancerosa ou cancerosa com riscos de evolução ulterior do câncer em uma paciente tranquilizado indevidamente.

[007] Para melhorar os resultados das análises, foi proposto melhorar a amostragem, ou seja, o número de células, sua fixação, sua coloração e seu espalhamento sobre a placa de análise, mas também auxiliar na análise do médico ou do técnico especializado, por exemplo, por meios informatizados de análise, tais como programas de tratamento de imagens e outros.

[008] Para esse fim, uma câmera ou um aparelho de filmagem é

utilizado para adquirir imagens das diferentes zonas da amostra disposta sobre a placa de análise e comunicar os dados dessas imagens a um sistema informatizado que trabalha então com uma placa de análise “virtual”.

[009] Esse sistema informatizado permite um tratamento do sinal, um pré-tratamento das imagens e uma análise comparativa das imagens com eventuais bases de dados recentemente criadas ou existentes a fim de acelerar o processo de análise e permitir, assim, analisar um número maior de amostras a fim de assistir o médico ou o técnico especializado. As imagens de uma amostra são, por exemplo, examinadas automaticamente e se certas zonas que apresentam uma anomalia são reveladas, as imagens correspondentes são comunicadas a um médico ou o técnico especializado que pode então determinar se essas zonas mostram ou não células patológicas. O médico ou o técnico especializado só observa zonas anormais sem analisar as zonas consideradas normais pelo sistema informatizado. Esse processo permite efetivamente acelerar a análise e aumentar a confiança nos diagnósticos.

[010] Entretanto, o médico ou o técnico especializado não tem mais a oportunidade de observar amostras normais ou que apresentam modificações morfológicas de menor importância, o que é prejudicial para sua apreciação das amostras e sobretudo para sua curva de aprendizagem e mesmo para a conservação de sua acuidade diagnóstica. De fato, a análise de amostras repousa sobre a formação e a prática do médico ou do técnico especializado de examinar amostras e de comparar zonas normais e zonas que apresentam anomalias. O fato de eliminar essa prática adotando uma análise assistida por computador pode levar os médicos ou técnicos especializados a perderem suas competências e acarretar assim erros de análise.

[011] Além disso, a operação de digitalização pode levar um tempo considerável em virtude dos tratamentos aplicados sobre a lâmina antes

da digitalização.

[012] A presente invenção visa corrigir os inconvenientes mencionados acima propondo um processo de análise que, ao mesmo tempo em que é assistido a fim de permitir um ganho de tempo considerável, em particular durante a operação de digitalização, permite também que os médicos ou técnicos especializados adquiram experiência na observação de amostras tanto normais quanto anormais.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[013] Para esse fim, a presente invenção trata de um processo do tipo precitado que compreende ainda a seguinte etapa:

- efetuar sobre a placa de análise virtual um tratamento das imagens adquiridas de modo a obter uma restituição virtual das cores e da intensidade das cores do citoplasma e/ou do núcleo, sendo que as referidas cores e a referida intensidade podem ser modificadas de acordo com as preferências da pessoa encarregada da análise.

[014] Esse processo permite realizar de modo particularmente simples uma imagem de uma amostra que permite detectar células eventualmente patológicas e adquirir um grande número de informações sobre a amostra, como será descrito ulteriormente.

[015] De acordo com outras características do processo de preparação:

- o processo compreende ainda uma etapa de superposição dos dados das imagens adquiridas durante a aquisição das imagens e os dados das imagens adquiridas modificadas durante o tratamento das imagens adquiridas,

- o tratamento da amostra é uma etapa de coloração nuclear ou uma coloração de citologia, e o referido tratamento está configurado para tornar o citoplasma quase transparente e acentuar o contraste entre o núcleo e/ou o

RNA citoplasmático das células e o citoplasma,

- o tratamento das imagens adquiridas corresponde à recoloração virtual de tipo Papanicolaou, Schorr, May Grunwald Giemsa ou Giemsa dessas imagens adquiridas,

- o nível de recoloração virtual das imagens adquiridas é regulável,

- o processo compreende uma etapa de exibição da placa de análise virtual,

- a exibição da placa de análise é acompanhada da exibição de informações sobre a zona de amostra exibida e/ou sobre a na totalidade da amostra e/ou sobre paciente no qual a amostra é efetuada e/ou sobre o resultado de exames complementares realizados na amostra,

- o processo compreende uma etapa de aumento da placa de análise virtual a fim de permitir a visualização de um detalhe da referida placa,

- o aumento é regulável.

[016] Mais aspectos e vantagens da presente invenção aparecerão com a leitura da descrição a seguir, dada a título de exemplo e feita em relação ao desenho anexo que é uma representação esquemática das diferentes etapas do processo de preparação de uma placa de análise virtual de acordo com a presente invenção.

DESCRIÇÃO DE REALIZAÇÕES DA INVENÇÃO

[017] Em relação aos desenhos, é feita uma descrição de um processo de preparação de uma placa de análise virtual em vista de sua análise celular assistida por um sistema informatizado. Por placa virtual, entende-se um conjunto de informações e de dados digitais agrupados referentes a uma amostra.

[018] A amostra é, por exemplo, obtida por esfregaços (cervicais, vaginais ou outros), por punção de órgãos (seio, tireoide, gânglio ou outros) ou

ainda por coleta (urina, lavagem bronquioalveolar ou outras). Durante uma primeira etapa A, a amostra é colocada em suspensão, por exemplo em um tubo ou um frasco de amostra.

[019] Durante uma etapa B, a amostra é colocada sobre uma placa de análise. De modo conhecido, o depósito das células sobre a placa é feito, por exemplo, por decantação. A amostra é vertida em uma câmara de decantação cujo fundo está aberto para a placa de análise. Meios de absorção permitem a absorção da solução à medida que as células se depositam sobre a placa de análise. Esse processo de depósito é conhecido e não será descrito detalhadamente aqui.

[020] Durante uma etapa C, a amostra é submetida a um primeiro tratamento que visa marcar/colorir os núcleos, o DNA e/ou o RNA das células acentuando de forma muito nítida o contraste em relação aos citoplasmas dessas mesmas células. Essa marcação permite segmentar corretamente os núcleos para fazer seu estudo morfológico e para fazer uma quantificação do DNA (para uma análise da ploidia por exemplo) e/ou do RNA a fim de identificar as células potencialmente patológicas.

[021] Essa marcação é, por exemplo, realizada de modo automático por meio de um autômato dotado de meios de pipetagem utilizados ao mesmo tempo para a colocação da amostra em solução e para o depósito da suspensão celular sobre uma placa de análise.

[022] A etapa de decantação da suspensão celular pode ser realizada antes, depois ou entre as etapas de marcação e/ou de coloração descritas acima.

[023] Outras colorações utilizadas no estado da técnica poderiam ser utilizadas, mas elas apresentam inconvenientes. Assim, seria possível considerar uma coloração estequiométrica, que oferece uma coloração das células proporcional à quantidade de DNA, o que permite sua quantificação, e

portanto identificar e analisar as células patológicas no âmbito da ploidia. Entretanto, essa coloração particular, quando se trata de uma coloração de Feulgen por exemplo, é incompatível “fisicamente” com a coloração de Papanicolaou e requer, portanto, refazer um espalhamento celular sobre a lâmina para a análise do médico ou do técnico especializado. Alguns industriais tentaram associar uma coloração estequiométrica com a coloração de Papanicolaou e utilizaram, portanto, uma coloração que contém uma tionina e que requer uma fixação com metanol que é tóxica, e sobretudo que modifica a coloração de Papanicolaou em sua interpretação, em particular com núcleos cuja cromatina aparece muito “preta” para uma análise fina da composição dos referidos núcleos, e portanto acarreta uma dificuldade de análise para o diagnóstico de estados pré-cancerosos ou cancerosos.

[024] Durante uma etapa D, a placa de análise que compreende a amostra, colorida por um corante nuclear conhecido ou por uma coloração citológica conhecida, mas modificada para tornar o citoplasma quase transparente, é submetida a uma iluminação em luz branca a fim de adquirir imagens da amostra por meio do dispositivo de aquisição de imagens. A aquisição de imagens em luz branca permite obter imagens da amostra colorida pela coloração nuclear ou pela coloração citológica modificada, que conserva citoplasmas quase transparentes a fim de aumentar o contraste com os núcleos.

[025] O aparelho de aquisição de imagens permite “varrer” a amostra com uma resolução muito fina e obter a partir de uma placa, imagens com luz branca. A placa de análise é varrida linha por linha ou campo por campo como propõem diversos industriais. Assim, cada imagem adquirida representa uma faixa de pequena largura da placa de análise ou campo de visão. As imagens lado a lado permitem obter uma imagem da totalidade da placa de amostra e, portanto, da totalidade da amostra a fim de formar uma

placa de análise virtual, tal como representado na etapa E do desenho. Assim, a imagem, obtida com um só e mesmo aparelho e de modo muito simples, é uma representação fiel da amostra que associa um grande número de informações em luz branca.

[026] Os dados digitais obtidos com o aparelho de luz branca são submetidos a um tratamento informatizado a fim de obter uma placa de análise virtual modificada formada pela imagem que sofreu uma recoloração virtual de tipo Papanicolaou, Schorr, May Grunwald Giemsa ou Giemsa que visa colorir as células tal como classicamente descrito e conhecido para uma análise citológica pelo técnico no assunto. De acordo com um modo de tratamento informatizado, a recoloração virtual de Papanicolaou, obtida do modo conhecido há muito tempo e cuja semiologia, amplamente descrita na literatura, permite o eventual reconhecimento de anomalias citoplásmicas e nucleares que correspondem, por exemplo, à presença de células pré-cancerosas ou cancerosas. Essa recoloração permite igualmente o reconhecimento dos diferentes tipos de células e de seu número a fim de determinar a qualidade representativa da amostra e, por exemplo definir si a amostra é representativa ou não. Essa recoloração virtual permite a análise de a placa virtual por um processo de análise celular descrito a seguir.

[027] A análise celular é feita por um exame das imagens da amostra pelo médico ou pelo técnico especializado encarregado de detectar as células patológicas, para propor um diagnóstico que dará origem eventualmente a exames mais aprofundados e mesmo a um tratamento. Por motivos de segurança, a presença do médico ou do técnico especializado é obrigatória de modo que a detecção de células eventualmente patológicas não pode ser inteiramente automatizada.

[028] Durante uma etapa F, as imagens da placa de análise virtual modificada formada pela imagem que foi submetida a uma recoloração

virtual são projetadas sobre um meio de exibição tal como uma tela. A restituição virtual das cores e de sua intensidade tanto para o citoplasma quanto para o núcleo, pode ser regulada de modo a corresponder com a maior precisão possível aos hábitos de cada leitor, ou seja, o médico ou o técnico especializado, em termos de intensidade e de qualidade de coloração.

[029] Em seguida, essas imagens passam sob os olhos do médico ou do técnico especializado para exame. Essa passagem é organizada pelo sistema informatizado e é feita de modo automático. Cada imagem é exibida durante um tempo predeterminado calculado para permitir que o médico ou o técnico especializado observem cada imagem projetada em sua totalidade e detectem uma eventual anomalia em uma imagem. O tempo de exibição de cada imagem pode ser regulado pelo médico ou pelo técnico especializado em função de suas competências ou em função de outras informações. As informações sobre o paciente podem estar associadas com a placa de análise virtual entrando essas informações em uma base de dados e associando-as com a imagem da amostra que corresponde ao paciente em que essa amostra foi efetuada.

[030] A exibição das imagens pode ser acompanhada pela exibição de informações sobre a zona de amostra exibida e/ou sobre a integralidade da amostra e/ou sobre o paciente em que a amostra foi efetuada e/ou sobre o resultado de exames complementares realizados sobre a amostra, em particular de exames de biologia molecular.

[031] As imagens que passam são, portanto, as da placa de análise virtual modificada, formada pela imagem que foi submetida a uma recoloração virtual de tipo Papanicolaou, Schorr, May Gruwald Giemsa ou Giemsa. As imagens sob essa coloração permitem detectar a eventual presença de anomalias que correspondem, por exemplo, à presença de células pré- cancerosas ou cancerosas e cuja semiologia conhecida há muito tempo

está amplamente descrita na literatura. Além disso, como indicado acima, a coloração de Papanicolaou permite verificar se a amostra corresponde exatamente aos critérios de Bethesda, para o caso do esfregaço do colo do útero, por exemplo, e é portanto uma amostra válida ou não. Os critérios de Bethesda podem ser verificados pelo sistema informatizado por meio de um programa de análise de imagens. Esse programa pode, por exemplo, efetuar uma contagem das células saudáveis ou patológicas. A contagem de todas as células na imagem permite verificar se pelo menos 5000 células foram realmente coletadas e se certos tipos de células para controle da boa qualidade da amostra, tais como células endocervicais ou da junção, foram coletadas. Esse programa pode igualmente adquirir outras informações sobre o espalhamento celular. Essas informações são associadas à imagem pelo sistema informatizado para completar a placa de análise virtual.

[032] A imagem exibida sob recoloração virtual, e para a qual a exibição foi interrompida, é associada com a imagem da mesma zona sem recoloração virtual. Essa exibição permite que o médico ou o técnico especializado apure sua análise das células exibidas e de confirme ou não se algumas delas são eventualmente patológicas. Além disso, com a exibição da imagem sem recoloração virtual, outras informações podem ser exibidas simultaneamente, tais como dados quantitativos, espectros ou informações sobre o paciente em que a amostra foi efetuada, etc. Essa análise mais apurada acoplada à interrupção automatizada da exibição permite diminuir o número de falsos negativos. Além disso, para o caso do esfregaço do colo do útero, por exemplo, o controle do diagnóstico pelo médico ou pelo técnico especializado das zonas selecionadas pelo sistema permite conservar o nível de especificidade do diagnóstico citológico, que está próximo de 95% nesse caso. Devido a isso, os critérios de sensibilidade e de especificidade do esfregaço de detecção se tornam mais próximos e elevados.

[033] Durante essa etapa, o médico ou o técnico especializado pode efetuar livremente um aumento de zonas particulares da imagem exibida, tanto na imagem com recoloração virtual quanto na imagem sem recoloração virtual. O médico ou o técnico especializado pode igualmente passar da imagem com recoloração virtual para a imagem sem recoloração virtual como melhor lhe parecer.

[034] O processo descrito acima permite uma análise rápida e eficaz de amostras, diminuindo o risco de “falsos negativos”.

[035] Além disso, a experiência dos médicos ou técnicos especializados em termos de qualidade diagnóstica e sobretudo de especificidade, fica preservada devido ao reconhecimento das cores e de sua intensidade ligada às imagens virtuais das preparações citológicas e/ou histológicas tratadas e exibidas.

[036] O processo permite igualmente adaptar a placa de análise às preferências do médico ou técnico especializado encarregado da análise. De fato, o médico ou técnico especializado pode escolher a intensidade e a coloração da placa de análise virtual a seu critério.

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UMA PLACA DE ANÁLISE VIRTUAL DE UMA AMOSTRA CITOLÓGICA OU HISTOLÓGICA COLOCADA SOBRE UMA PLACA DE ANÁLISE A FIM DE PERMITIR A ANÁLISE CELULAR DA REFERIDA AMOSTRA, que compreende as seguintes etapas:

- realizar um tratamento de marcação da amostra, o referido tratamento sendo realizado para permitir diferenciar as células patológicas das células sadias da amostra;

- efetuar uma aquisição de imagens da amostra colocada sobre a placa de análise de modo a obter uma pluralidade de imagens, cada uma delas representando uma área da placa de análise, e as referidas imagens colocadas lado a lado formam uma imagem da totalidade da amostra de modo a criar uma placa de análise virtual;

caracterizado por compreender ainda a seguinte etapa:

- efetuar sobre a placa de análise virtual um tratamento de recoloração das imagens adquiridas de modo a obter uma restituição virtual das cores e da intensidade das cores do citoplasma e/ou do núcleo, e as referidas cores e a referida intensidade podem ser modificadas de acordo com as preferências da pessoa encarregada da análise,

o tratamento das imagens adquiridas corresponde à recoloração virtual do tipo Papanicolau, Schorr, May Grunwald Giemsa ou Giemsa dessas imagens adquiridas.

2. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender ainda uma etapa de superposição dos dados das imagens adquiridas durante a aquisição das imagens e dos dados das imagens adquiridas, modificadas durante o tratamento das imagens adquiridas.

3. PROCESSO, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 2, caracterizado pelo tratamento da amostra ser uma etapa de coloração nuclear ou uma coloração de citologia, e o referido tratamento estar estruturado para tornar o citoplasma quase transparente e acentuar o contraste entre o núcleo e/ou o RNA citoplasmático das células e o citoplasma.

4. PROCESSO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo nível de recoloração virtual das imagens adquiridas ser regulável.

5. PROCESSO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado por compreender uma etapa de exibição da placa de análise virtual.

6. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pela exibição da placa de análise ser acompanhada da exibição de informações na área de amostra exibida e/ou na totalidade da amostra e/ou no paciente no qual a amostra foi efetuada e/ou nos resultados de exames complementares realizados na amostra.

7. PROCESSO, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por compreender uma etapa de aumento da placa de análise virtual a fim de permitir a visualização de um detalhe da referida placa.

8. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo aumento ser regulável.

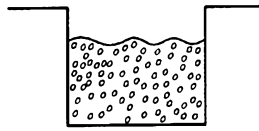


Fig. 1A

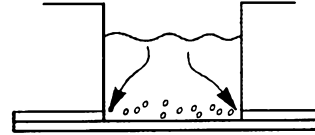


Fig. 1B

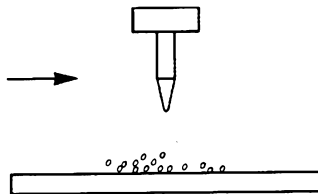


Fig. 1C

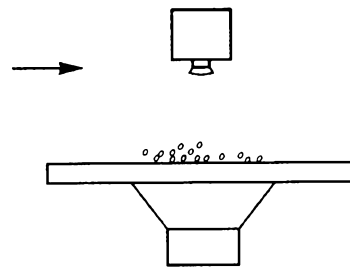


Fig. 1D

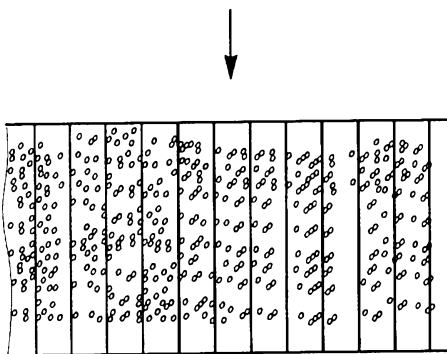


Fig. 1E

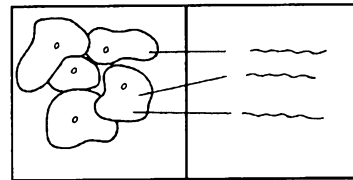


Fig. 1F