



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102018001577-0

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 102018001577-0

(22) Data do Depósito: 25/01/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 13/08/2019

(51) Classificação Internacional: A61B 10/02.

(52) Classificação CPC: A61B 10/0283.

(54) Título: PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO - UFES. CGC/CPF: 32479123000143.
Endereço: AVENIDA FERNANDO FERRARI, 514, GOIABEIRAS, CAMPUS I, VITÓRIA, ES, BRASIL (BR), 29075910

(72) Inventor: FAUSTO EDMUNDO LIMA PEREIRA; MARIA CARMEN LOPES FERREIRA SILVA SANTOS; CARLOS MUSSO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 25/01/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 11/11/2025

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

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

“PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA”

[001] Refere-se a presente patente de invenção a um processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina, mais especificamente a uma técnica de concentração de células e preparação de emblocados, permitindo a obtenção do pellet para a confecção do cell block. Desta forma, com o exame anatomopatológico integrado a citologia do esfregaço com o corte histológico do cell block eleva significativamente a acurácia do diagnóstico.

[002] Um dos processos diagnósticos em Medicina é a obtenção de amostras de células e/ou fragmentos de tecido (componentes dos diversos órgãos que compõem o organismo humano), para que sejam processados e analisados por um médico especialista, o Anátomo-Patologista. O produto final deste processamento é geralmente uma lâmina de vidro transparente sobre a qual se colocou um esfregaço, sedimento de células ou um corte histológico, que é então levado ao microscópio óptico de campo claro. Desta maneira, por meio de transiluminação e diversos tipos de ampliação com lentes, as células e tecidos podem ser diretamente observados e, de acordo com as anormalidades encontradas, se pode estabelecer um diagnóstico da lesão que foi o alvo da obtenção da amostra de células e tecidos.

[003] Agulha fina é o tipo de agulha descartável geralmente utilizada para obtenção de amostras de sangue ou para injeções intramusculares, tendo calibre ou diâmetro não superior a 0,7mm.

[004] O material obtido pela punção de diferentes alvos, geralmente nódulos, tumores, cistos etc, é ejetado sobre lâmina de vidro e esfregaços são confeccionados e corados por diferentes técnicas para a visualização de células ao microscópio óptico. Além dos esfregaços, o material obtido por punção e que fica naturalmente aderido às paredes da agulha ou no interior da seringa utilizada para a aspiração, pode ser suspenso em solução fisiológica. Ao se enxaguar a seringa e a agulha por meio de fluxo e refluxo do soro fisiológico, a intenção é que todo o material obtido seja recuperado de dentro da agulha e da seringa para posterior concentração por meio de centrifugação.

[005] Após centrifugação em tubo de ensaio, o concentrado celular “peletizado” e fixado é processado como tecido até a parafina para obtenção dos cortes histológicos.

[006] Corte histológico é uma fatia muito fina de tecido, obtido em equipamento especial para fatiamento denominado micrótomo, pois é capaz de obter fatias com espessura de poucas micra, geralmente 3 a 5 micra. Para que isso seja possível a técnica para processamento de amostras ou biópsias dos tecidos é feita em material previamente fixado em formol a 10%. O material fixado é então desidratado em banhos sucessivos de álcool, depois perfundido com solvente do tipo xileno para que possa ser penetrado por parafina refinada derretida a 58°C. O material emblocado e resfriado permite a realização de cortes/fatias com espessura de 3 a 5 micrômetros com o uso de aparelho denominado micrótomo rotativo.

[007] O dispositivo que se pretende patentear (“cotton block”) elimina o processo de suspensão de células, enxágue da agulha e da seringa seguido de concentração de células por centrifugação e construção do “pellet” de células, este denominado de “cell block”. Tais procedimentos são dependentes de técnicas específicas e são demorados. Cada uma destas etapas envolve manipulação de diversas amostras, pessoal especializado e/ou equipamentos automatizados de pipetagem, concentração de células por sedimentação ou filtração e finalmente a obtenção do “pellet” para ser incluído em parafina e então fatiado. Só em nosso serviço são processados 35 casos por semana.

[008] Resumidamente, o “cell block” é um bloco de parafina preparado a partir de qualquer suspensão de células em um líquido, seja por material aspirado ou lavado e que após concentração por centrifugação ou filtração, do aglomerado celular obtido são confeccionados cortes histológicos convencionais para coloração e análise ao microscópio óptico.

[009] “Cotton block” é um tipo de “cell block” em que a concentração do material aspirado com a seringa, atravessa uma mecha de algodão (ponta de um cotonete) introduzido no canhão da agulha permitindo a concentração do aspirado na

superfície da mecha de algodão e conseqüentemente a obtenção simultânea do “pellet” para inclusão em parafina.

[010] Atualmente, o processo mais utilizado para concentração de células e preparação de emblocados chama-se Cytology: Cell Clock Technique. Tal qual corresponde à suspensão de células (alíquota de fluido) é obtida diretamente de líquidos cavitários (cavidades do corpo humano), de lavados de vias aéreas ou ainda das punções feitas com agulha e cujos aspirados são suspensos em líquido pela lavagem da seringa e da agulha. Neste último caso o fluxo e refluxo de líquido fisiológico através da seringa e agulhas utilizadas para punção aspirativa têm a intenção de recuperar todo o material coletado e que ficou preso nas paredes do dispositivo de punção. A suspensão de células é então centrifugada e o sobrenadante descartado. O sedimento é pipetado e a cada alíquota é adicionado Agar derretido (tipo de gelatina) e depois resfriado para endurecer criando o pellet. Ou, ao sedimento adiciona-se plasma e depois trombina para coagular o “pellet”. Por fim, o pellet é então fixado em formol e depois processado até parafina, para a realização dos cortes.

[011] No entanto, os processos utilizados atualmente compreendem alguns inconvenientes, tais como o tempo despendido para a confecção do pellet, o custo do material utilizado, o número de etapas a cumprir até a confecção do pellet. E se considerar a utilização de sistemas automatizados, o custo seria ainda maior se incluirmos manutenção do equipamento e pessoal especializado para seu manejo. Portanto, com o intuito de superar e até mesmo sanar tais inconvenientes, foi desenvolvido o processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina, em que permitirá a obtenção do pellet para a confecção do cell block. O exame anatomopatológico integrando a citologia do esfregaço com o corte histológico do cell block eleva significativamente a acurácia do diagnóstico.

[012] O processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina poderá ser indicado para qualquer tipo de fluido corpóreo contendo células poderia ser concentrado com o sistema aqui demonstrado. Outra possibilidade, além do convencional processamento em parafina, seria a rapidez na obtenção do pellet e ainda a obtenção imediata de cortes histológicos no criostato

(sistema de microtomia que dispensa o emblocamento em parafina e permite a obtenção de cortes histológicos em poucos minutos).

[013] Tal técnica permitirá uma maior rapidez e o extremo baixo custo para a obtenção do “pellet” que é simultâneo à obtenção da amostra para confecção dos esfregaços. O excedente, resíduo material que permanece no interior da agulha, nas suas paredes e ancorado no algodão, é imediatamente aspirado com pressão negativa utilizando-se a própria seringa do procedimento de punção, forçando pelo fluxo do líquido fixador aspirado, o deslocamento de todo o material para o ápice da mecha de algodão, obtendo-se o concentrado e ao mesmo tempo fixando o pellet. Logo após fixação, o pellet já pode seguir o processamento até parafina dentro do próprio canhão da agulha. A manutenção do pellet no interior do canhão da agulha facilita o processamento já que a sua remoção poderia afetar a integridade do concentrado celular no ápice da mecha de algodão. O cinturão plástico ao seu redor lhe dá firmeza para manipulação sem deformar o pellet. A agulha é removida do canhão antes do processamento, simplesmente efetuando-se o corte da sua base de implantação com uma navalha.

[014] A tecnologia se refere aqui àquela utilizada para um dos processos diagnósticos em Medicina e envolve: a obtenção de preparados citológicos concentrados (esfregaços que são corados para exame direto ao microscópio óptico); e, a confecção decell block aqui denominado de cotton block, pois o concentrado de células é ancorado e fixado em algodão para então ser emblocado em parafina.

[015] Ao se realizar a aspiração de qualquer alvo por meio de punção com agulha, o material coletado é forçado a passar por uma mecha de algodão (ponta de uma haste flexível de algodão - *cotonete*®) interposta entre a seringa e a agulha. Todo o fluido que atravessa o algodão é consequentemente filtrado e na ponta do algodão fica o concentrado. A primeira gota ejetada do interior do dispositivo para a confecção dos esfregaços e, portanto, de material já concentrado, aumenta a celularidade dos preparados citológicos, condição ótima para diagnósticos mais específicos e com maior sensibilidade.

[016] Para a obtenção do cell block podem ser utilizadas várias técnicas e a que se pretende patentear é aquela denominada de “cotton block”, pois utiliza como substrato para confecção do pellet, a ponta de uma haste flexível de algodão, a mesma que já está introduzida no canhão da agulha e está pronta para processamento simultaneamente com os preparados citológicos. Na ponta do algodão ficam ancoradas as células e os diminutos fragmentos de tecido que foram aspirados durante a punção, sendo imediatamente fixados aspirando-se o líquido fixador com o mesmo dispositivo utilizado para a punção com agulha. O líquido fixador é o mesmo utilizado para fixar os esfregaços.

[017] A seguir, serão citadas algumas das possíveis vantagens da utilização do processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina, tais como:

- Acessibilidade: Todo o material utilizado para a confecção do dispositivo de aspiração seria de uso corrente em qualquer unidade de saúde e se o dispositivo da agulha contendo a mecha de algodão fosse produzido industrialmente, talvez com diferentes tipos de porosidade, potencializaria a sua utilidade para diferentes tipos de fluido a concentrar;
- Transporte: O pellet obtido e já fixado poderia ser enviado a grandes distâncias sem depender de sistemas especiais de fixação ou de fluidos transportadores em volumes maiores. O canhão da agulha, já desconectado da sua porção metálica perfurante, ocupa espaço menor que 1cc. Seria fácil de embalar e despachar;
- Concentração do aspirado: Os alvos aspirados fornecem variadas quantidades de fluidos corpóreos como derrames, exsudatos e sangue, que podem diluir o material diagnóstico, neste caso os diminutos fragmentos teciduais e células. O dispositivo concentra todo o material aspirado simultaneamente à sua obtenção;
- Rapidez: O dispositivo elimina várias etapas do processo de obtenção do cell block. Elimina as fases de concentração celular com centrífuga, a aliquotagem do sedimento após centrifugação e a confecção do pellet com agar aquecido ou do plasma coagulado.

[018] O processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina, poderá ser melhor compreendido através da descrição detalhada em consonância com a figura em anexo, onde:

FIGURA 01 Apresenta uma vista lateral de uma seringa com a mecha de algodão do processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina.

[019] Conforme as figuras acima observa-se que o processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina é semelhante àquele observado em uma ferramenta maior denominada de vazador. A agulha metálica utilizada para o procedimento (agulha descartável) apresenta em uma extremidade o bisel cortante e o orifício central cujas bordas são extremamente afiadas. Durante o procedimento de punção, a agulha já introduzida no alvo é movimentada para dentro e para fora em vai-e-vem de tal maneira que o impacto do bisel corta e raspa, ao longo de sua trajetória, os tecidos, arrancando-lhe células e diminutos fragmentos que são coletados através do orifício central. A pressão negativa simultânea realizada com a tração do êmbolo da seringa auxilia a captação do material para dentro da haste metálica e, além disso, a pressão negativa exerce sucção das paredes do alvo tunelizado, aproximando-as das bordas cortantes do bisel da agulha. O material ascende progressivamente na haste metálica e acaba atingindo o canhão da agulha na extremidade oposta.

[020] Neste sentido, ao se observar que entre a extremidade posterior da haste metálica e a ponta da seringa já conectada no canhão da agulha permanece um espaço vazio, surgiu a ideia de introduzir uma mecha de algodão interposta entre a haste metálica e a seringa. O processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina, juntamente com o dispositivo, assim criado permite a concentração do material aspirado e simultaneamente a confecção do pellet para ser emblocado em parafina.

[021] Mesmo após a introdução da mecha de algodão (1), persiste uma pequena câmara (seta) de concentração (pequeno espaço cônico na ponta da seta) no interior do canhão (D), entre a pontada seringa (A) e a haste metálica (B) que serve para coletar e

concentrar o aspirado. As duas linhas paralelas (C), na Figura 01, indicam os níveis de corte do canhão (D) para que somente este segmento prossiga no processamento histológico. O pellet de algodão já parafinado é facilmente deslocado do cinturão plástico com o auxílio de um estilete.

[022] Para o funcionamento do processo de concentração de células simultâneas à obtenção de citologia aspirativa com agulha fina utiliza-se os seguintes componentes:

- O pellet de algodão, cujo calibre e dimensão, permitam o acoplamento com as paredes do canhão (D) da agulha evitando o vazamento/fuga de material aspirado ao redor do algodão (1). O aspirador precisa ser forçado através da mecha de algodão (1).
- O comprimento do pellet de algodão que deve ser adequado para manter a câmara de concentração entre ele e a haste metálica (B) e também evitando a compressão excessiva do algodão (1), reduzindo o poder de aspiração pela compactação da mecha.
- A densidade da mecha de algodão (1). É necessária a densidade suficiente para evitar a passagem de células pequenas (cerca de 7 micrômetros). Diferentes marcas de hastes flexíveis disponíveis no mercado possuem porosidades e densidade de fibras muito diferentes.
- Bisel cortante da agulha permite a excelência do material aspirado. Também aqui diferentes marcas apresentam a afiação do bisel muito variável.
- O segmento do canhão (D) que protege e faz o cinturão ao redor da mecha de algodão (1), mantendo-o compacto e protegendo o material ancorado na mecha. A demarcação e/ou sulcagem deste segmento no canhão (D) da agulha facilitaria o corte feito com navalha.
- A fibra de algodão (1) que permite corte em micrótomo rotativo convencional. A dureza do algodão é dependente da concentração de lignina na celulose da fibra. O amolecimento da fibra é facilmente adquirido com vapor ácido. Utilizamos uma câmara de plástico translúcido e vedada com tampa. Em seu interior colocam-se as hastes flexíveis dentro de suas próprias caixas de papelão e algumas gotas de ácido nítrico puro no fundo da câmara. Para que as caixas de papelão não sejam afetadas pelo contato com o ácido, ficam suspensas em tubos de vidro. O tempo de permanência das hastes

flexíveis nesta câmara é de um pernoite ou mais ou menos 12h. A descoloração da tinta das embalagens é um ótimo indicador do tempo ideal.

- A ponta do pellet que concentra o maior número de células e fragmento deve ser orientada para a base do bloco de parafina permitindo a obtenção de cortes da melhor área do pellet (o ápice). O ápice do pellet é tingido naturalmente durante o processamento histológico adicionando-se algum corante do líquido fixador. Também a própria mecha de algodão pode ter a fibra do ápice marcada com um indicador colorido.

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA, **caracterizado por** introduzir uma mecha de algodão (1) interposta entre a haste metálica (B) e a seringa (A), dentro do canhão (D), de modo a:

a) reter e concentrar o aspirado em uma câmara de concentração definida entre a extremidade posterior da haste metálica (B) e a face anterior da mecha de algodão (1);

b) impedir a passagem de células com diâmetro mínimo de 7 µm em virtude da densidade controlada das fibras da mecha de algodão (1);

c) manter, pelo comprimento predeterminado da mecha de algodão (1), espaço que evita sua compactação excessiva e mantém a pressão negativa necessária ao fluxo do aspirado;

d) possibilitar a fixação imediata do pellet por aspiração de líquido fixador através da própria seringa (A) imediatamente após a coleta;

e) facultar o processamento histológico subsequente mantendo-se o pellet no interior do canhão (D), o qual apresenta segmento sulcado para facilitar o corte e a remoção da agulha antes da inclusão em parafina.

2. PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** calibre externo da mecha de algodão (1) ser dimensionado para acoplamento estanque às paredes internas do canhão (D), evitando vazamento de material aspirado.

3. PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizado pelas** fibras de algodão (1) serem previamente submetidas a vaporização em atmosfera ácida contendo ácido nítrico, por período de aproximadamente 12 horas, para amolecimento da fibra e melhoria do corte em micrótomo.

4. PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizado pelo** líquido fixador aspirado ser uma solução de formalina tamponada a 10 %.

5. PROCESSO DE CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS SIMULTÂNEO À OBTENÇÃO DE CITOLOGIA ASPIRATIVA COM AGULHA FINA de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, **caracterizado pelo** ápice do pellet ser marcado com corante - adicionando-se corante ao líquido fixador para orientação durante o embutimento em parafina.

FIGURA 01

