



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE**

**CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“IL MICROSCOPIO OPERATORIO: ORIGINI, EVOLUZIONE  
ED INNOVAZIONI DELLA TECNOLOGIA NELLE  
PROCEDURE CHIRURGICHE”**

**Relatore: Prof. Tomaso Erseghe**

**Laureanda: Camilla Meneghetti**

**ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023**

**Data di laurea 21/11/2023**



*Alla mia famiglia e ai miei amici,  
che mi hanno sostenuta e circondata di affetto,  
questo percorso non sarebbe stato lo stesso senza.*

## INDICE

INTRODUZIONE.....	1
<b>1 – PRINCIPI DI OTTICA E ORIGINI DEL MICROSCOPIO OPERATORIO.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 La fisica del microscopio.....</b>	<b>3</b>
<i>1.1.1 Introduzione allo strumento.....</i>	<i>3</i>
<i>1.1.2 Le aberrazioni.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.3 L'ingrandimento angolare.....</i>	<i>5</i>
<i>1.1.4 La Point Spread Function.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.5 La Optical Transfer Function.....</i>	<i>7</i>
<i>1.1.6 La risoluzione.....</i>	<i>7</i>
<b>1.2 La storia del microscopio.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Il microscopio entra in sala operatoria.....</b>	<b>9</b>
<b>2 – L'EVOLUZIONE DEI MICROSCOPI OPERATORI, I MODELLI PIÙ RECENTI.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Panoramica delle evoluzioni.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 I nuovi modelli e le nuove tecnologie.....</b>	<b>13</b>
<i>2.2.1 M530 OHX.....</i>	<i>14</i>
<i>2.2.2 OPMI Pentero 800.....</i>	<i>16</i>
<i>2.2.3 OPMI Neuro NC4.....</i>	<i>17</i>
<b>2.3 Caratteristiche comuni e differenze tra i modelli analizzati.....</b>	<b>19</b>
<b>3 – INNOVAZIONE TECNOLOGICA: LA VISIONE IN FLUORESCENZA.....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Principi di fluorescenza.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Sostanze fluorescenti e auto fluorescenti.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Il funzionamento del microscopio in fluorescenza.....</b>	<b>23</b>
<i>3.3.1 I filtri ottici.....</i>	<i>24</i>
<i>3.3.2 Lo specchio dicroico.....</i>	<i>24</i>
<i>3.3.3 Il filtro bloccante.....</i>	<i>25</i>
<b>3.4 Sostanze usate per la fluorescenza nei microscopi operatori moderni.....</b>	<b>25</b>

3.4.1 <i>L'acido cinque-aminolevulinico (5-ALA) e la protoporfirina IX</i> .....	25
3.4.2 <i>L'indocianina green</i> .....	28
<b>4 – ACQUISTO DI NUOVI STRUMENTI NELL'AZIENDA OSPEDALE – UNIVERSITÀ DI PADOVA</b> .....	31
<b>4.1 L'esperienza di tirocinio</b> .....	31
<b>4.2 La procedura di gara</b> .....	31
4.2.1 <i>Come si avvia un acquisto di nuovi macchinari</i> .....	31
4.2.2 <i>La suddivisione dei lotti</i> .....	32
4.2.3 <i>La tabella dei punteggi in un caso concreto</i> .....	33
<b>4.3 Il collaudo dei nuovi macchinari</b> .....	37
<b>4.4 L'inserimento dei macchinari nel server ospedaliero</b> .....	38
<b>5 – IL MODELLO KINEVO 900, I SUOI ACCESSORI E CONCLUSIONI DELLO STUDIO</b> .....	39
<b>5.1 Il microscopio KINEVO 900</b> .....	39
5.1.1 <i>Le caratteristiche tecniche</i> .....	39
5.1.2 <i>La robotizzazione con IA</i> .....	40
5.1.3 <i>Un confronto con Pentero</i> .....	40
<b>5.2 Gli accessori di KINEVO 900</b> .....	43
5.2.1 <i>QEVO per l'endoscopia</i> .....	43
5.2.2 <i>La telecamera 4K</i> .....	45
5.2.3 <i>I moduli di visualizzazione</i> .....	45
<b>5.3 Valutazioni del microscopio KINEVO 900 e dei suoi accessori</b> .....	46
<b>5.4 Conclusioni</b> .....	48
<b>BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA</b> .....	51



## **INTRODUZIONE**

L'oggetto del seguente elaborato è una tipologia di strumentazione biomedica: i microscopi operatori, trattati dalle loro origini alle ultime innovazioni. In particolare si pone l'attenzione sulla nascita di questa tecnologia, sulla sua evoluzione e sulle novità riguardanti i sistemi di diagnostica intraoperatoria e la robotizzazione integrata con sistemi di intelligenza artificiale.

La scelta di trattare tale argomento viene a seguito dello svolgimento dell'attività di tirocinio curricolare presso l'Azienda Ospedale Università di Padova, durante questo periodo sono stati collaudati due microscopi operatori KINEVO 900 acquistati per i reparti di neurochirurgia, chirurgia vascolare e ORL a seguito di una procedura di gara. L'obiettivo a cui si mira nello studio è fornire una panoramica generale sul microscopio operatorio e sulle sue caratteristiche, descrivere le sue applicazioni principali e presentare gli aspetti migliorativi che si possono ottenere dal punto di vista clinico grazie al suo impiego durante le procedure di intervento. È stata condotta un'indagine di tipo bibliografico, ricorrendo ad articoli e manuali, è stato effettuato un incontro con l'azienda produttrice del microscopio operatorio modello KINEVO 900 per raccogliere del materiale riguardante le schede tecniche del macchinario e delle informazioni più precise sulla tecnologia, infine si è potuto osservare il collaudo delle apparecchiature presso il reparto di neurochirurgia dell'ospedale di Padova.

La tesi è articolata in cinque capitoli, il primo riguarda la genesi del microscopio operatorio, i suoi principi fisici di funzionamento e le prime tecnologie ad esso associate, il secondo espone un'evoluzione dei modelli ed esamina le innovazioni più recenti, il terzo descrive nel dettaglio una delle tecnologie menzionate, ovvero la visualizzazione in fluorescenza, il quarto è di carattere tecnico e descrive le procedure di gara e di collaudo, infine, il quinto tratta della tecnologia del microscopio operatorio KINEVO 900 in particolare, presentando anche alcuni casi di studio clinici e commentando i loro risultati. Il lavoro nel suo complesso ha il proposito di evidenziare l'importanza dei microscopi operatori nell'assistenza al chirurgo in sala operatoria e quella della loro continua evoluzione.





# 1 – PRINCIPI DI OTTICA E ORIGINI DEL MICROSCOPIO OPERATORIO

## 1.1 La fisica del microscopio

### 1.1.1 Introduzione allo strumento

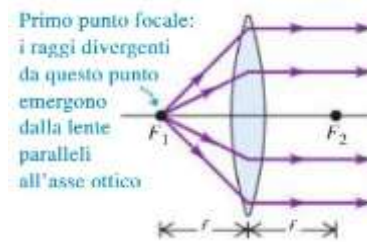
Quando è necessario un ingrandimento di un campione lo strumento maggiormente adatto essere utilizzato è certamente il microscopio, a volte detto microscopio composto perché è un sistema formato da più lenti.

Si definisce in primo luogo il concetto di lente: essa è un sistema ottico con due superfici rifrangenti, ovvero in grado di deviare i raggi incidenti. I raggi in oggetto sono raggi di luce e per essi si definiscono dei punti particolari: il primo è il punto oggetto, ovvero un punto senza estensione fisica che è la sorgente di tali raggi, il secondo è il punto immagine, ovvero la sorgente apparente. Questo ultimo viene definito perché l'osservatore, che vede raggi riflessi e rifratti da una superficie, è portato a credere che essi siano originati dal punto immagine.

La tipologia di lente utilizzata nell'ottica è la lente sottile, cioè quella in cui le due superfici sferiche sono talmente vicine che è possibile trascurare la distanza tra loro, non è rilevante dunque lo spessore della lente. Entrando ancora più nello specifico si ha la lente convergente avente la proprietà che, quando un fascio di raggi paralleli all'asse ottico vi passa attraverso, questi convergono verso un punto  $F_2$  e formano un'immagine reale in quel punto, come mostrato nella Fig. 1.1(a). Analogamente, i raggi che passano per il punto  $F_1$  emergono dalla lente come un fascio di raggi paralleli, come si può vedere dalla Fig. 1.1(b). Questi due punti sono detti primo e secondo punto focale e la loro distanza  $f$  misurata dal centro della lente è detta lunghezza (o distanza) focale. Le lenti convergenti possono essere di 3 tipi: menisco, piano – convessa, doppio – convessa. [1]



*Fig. 1.1(a) Lente convergente con raggi entranti paralleli all'asse ottico*



*Fig. 1.1(b) Lente convergente con raggi entranti divergenti*

In ciascun dispositivo una lente viene utilizzata per formare un'immagine reale, è la lente primaria o obiettivo, mentre l'altra lente viene impiegata per costruire un'immagine ingrandita virtuale ed è detta oculare. L'analisi del sistema si può effettuare usando il principio che un'immagine formata da un elemento ottico, come una lente o uno specchio, può servire come oggetto per un secondo elemento. L'oggetto da osservare viene posto al di là del primo punto focale dell'obiettivo, una lente convergente che forma un'immagine reale e ingrandita. Questa immagine si troverà a una distanza poco più piccola di quella del primo punto focale di una seconda lente convergente della oculare. L'oculare agisce come una lente di ingrandimento e forma un'immagine virtuale finale della prima immagine. La posizione di questa nuova immagine può essere ovunque tra il punto prossimo e il punto remoto dell'occhio (ovvero gli estremi dell'intervallo all'interno del quale è possibile ottenere una visione distinta). Sia l'obiettivo che l'oculare del microscopio sono tipicamente composti da una combinazione di lenti per ridurre le aberrazioni. [1]

### *1.1.2 Le aberrazioni*

Le aberrazioni possono essere di natura cromatica oppure sferica. L'aberrazione cromatica deriva dalla dispersione negli oculari di elementi che vengono rifratti. Si possono distinguere due tipologie di aberrazione cromatica: la variazione cromatica nelle proprietà di formazione di immagini parassiali del sistema ottico e la dipendenza della lunghezza d'onda dell'aberrazione monocromatica. Solo il primo tipo di

aberrazione cromatica è stata caratterizzata dall'occhio umano e classificata in due componenti: l'aberrazione cromatica longitudinale o assiale e quella trasversa o laterale. La prima è la dipendenza della potenza refrattiva dell'occhio con la lunghezza d'onda; la seconda è la differenza nella disposizione angolare dell'immagine della retina per diverse lunghezze d'onda. [2]

Le aberrazioni sferiche invece, sono il risultato della forma inappropriata della superficie della lente. Infatti, per diametri di lenti che non sono piccole in confronto con il fuoco, le lenti sferiche non sono adeguate a produrre un'onda sferica in uscita. Queste lenti non fanno convergere i raggi periferici allo stesso punto sull'asse delle z come fanno invece con i raggi vicini all'asse. [3] Ciò accade perché risultato di una superficie sferica è la mancata formazione di un punto immagine preciso: l'immagine del punto oggetto viene spalmata lungo l'asse ottico. [1]

### 1.1.3 L'ingrandimento angolare

Un parametro di particolare interesse per l'osservatore è l'ingrandimento angolare  $M$ . L'ingrandimento complessivo è dato dal prodotto di due fattori: l'ingrandimento dell'obiettivo  $m_1$  e l'ingrandimento angolare dell'oculare  $M_2$ . Il primo determina la dimensione lineare dell'immagine reale, il secondo correla dimensione angolare dell'immagine virtuale vista attraverso l'oculare alla dimensione angolare dell'immagine virtuale vista attraverso l'oculare della dimensione angolare che l'immagine reale avrebbe se osservata senza oculare. Si ottiene

$$M = m_1 M_2 = \frac{25cm \cdot s'_1}{f_1 f_2} \quad (1.1)$$

Dove  $s'_1$  è la distanza immagine per l'obiettivo mentre  $f_1$  e  $f_2$  sono lunghezze focali rispettivamente dell'obiettivo e dell'oculare. Tutte le grandezze vengono misurate in centimetri e l'immagine finale prodotta è capovolta rispetto all'oggetto. L'equazione mostra che l'ingrandimento angolare del microscopio è inversamente proporzionale alle lunghezze focali, quindi può essere aumentato usando un obiettivo con lunghezza focale più piccola in modo che aumenti l'ingrandimento dell'obiettivo e con esso le dimensioni dell'immagine reale e lo stesso ragionamento è valido per massimizzare l'ingrandimento dell'oculare. [1]

#### 1.1.4 La Point Spread Function

Un'onda sferica divergente di luce che irradia da una sorgente puntiforme all'origine di un piano focale viene rifratta da una lente convessa a produrre un'onda sferica convergente in uscita. La luce converge a produrre un piccolo punto all'origine del piano dell'immagine, la forma del punto è detta point spread function (psf), come mostrato nella Fig. 1.2. Se il sistema è a fuoco la funzione assume il proprio minimo valore, cioè se l'equazione:

$$\frac{1}{d_f} + \frac{1}{d_i} = \frac{1}{f} \quad (1.2)$$

È soddisfatta, ovvero se la somma dei reciproci delle distanze dal piano focale  $d_f$  e dal piano dell'immagine  $d_i$  dà il reciproco della lunghezza focale  $f$  della lente, la point spread function assume il proprio minor valore in dimensione. [3]

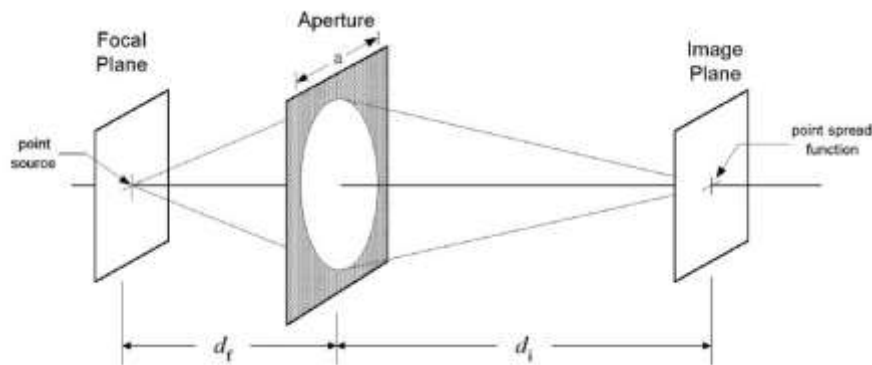


Fig. 1.2 Sistema ottico costituito di un'unica lente

Si considera l'elemento a destra dell'uguaglianza nell'Eq. (1.2): appare il reciproco della distanza focale, definita nel paragrafo 1.1.1 e proprietà intrinseca di ogni particolare lente. Questo reciproco è detto potenza della lente e se la distanza focale viene fornita in metri, la potenza si misura in diottrie.

Si considerano poi gli elementi a sinistra dell'uguaglianza nell'Eq. (1.2): appaiono i reciproci delle distanze dai piani. Per definizione il piano focale è il piano nello spazio in obiettivo dove il punto oggetto forma un'immagine a fuoco sul piano di immagine data una particolare distanza  $d_i$ . Il rapporto tra la distanza dal piano immagine e la distanza focale è detto ingrandimento, parametro già definito nel paragrafo 1.1.3 tramite l'Eq. (1.1)

$$M = \frac{d_i}{d_f} \quad (1.3)$$

se la sorgente si muove dall'origine a una nuova posizione allora il punto immagine si sposta ad una nuova posizione data dal prodotto della posizione della sorgente per l'ingrandimento. [3]

### *1.1.5 La Optical Transfer Function*

Le lenti sono un sistema bidimensionale lineare, in quanto aumentare l'intensità della sorgente provoca un incremento proporzionale nell'intensità del punto immagine, segue che due sorgenti puntiformi produrrebbero un'immagine in cui i due punti vengono sommati.

Il sistema si può assumere come isoplanatico oltre che lineare, la point spread function è quindi la risposta impulsiva di un sistema lineare e invariante rispetto alla traslazione. Questo implica che le proprietà di imaging del sistema possono essere specificate sia dalla point spread function che dalla sua transfer function. La optical transfer function è la trasformata di Fourier della point spread function. [3]

### *1.1.6 La risoluzione*

Uno dei parametri più importanti del microscopio è la risoluzione, ovvero la capacità di riprodurre nell'immagine piccole strutture del campione in osservazione. Nell'ottica la definizione di risoluzione è la minor distanza che deve separare due sorgenti puntiformi in modo che esse possano essere riconosciute come distinte. Questa distanza non si determina necessariamente in modo univoco. [3]

## **1.2 La storia del microscopio**

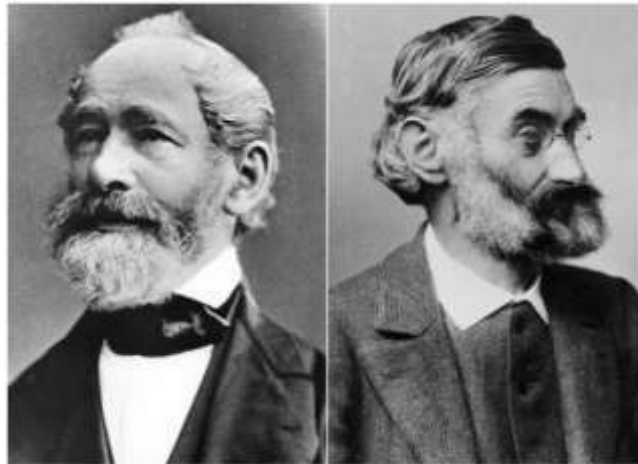
Note a questo punto le basi della microscopia, dai principi fisici fondamentali alla terminologia specifica, è possibile procedere in questo e nei paragrafi che seguono nella lettura di una narrazione riguardante la storia del microscopio allo scopo di comprendere come e quando quest'ultimo abbia fatto il suo ingresso nel mondo della chirurgia.

Inventato oltre 400 anni fa, il microscopio ottico ha segnato molti miglioramenti nella medicina clinica e sono aumentati i suoi utilizzi nelle ricerche biomediche. [3]

Esso si basa sulla combinazione di lenti aventi lo scopo di produrre un'immagine magnificata del campione in esame. La prima prova storica dell'invenzione di uno strumento per l'ingrandimento risale al X secolo e appartiene allo studioso arabo Alhazen che basa il proprio apparecchio sull'utilizzo di lenti convesse, mentre sono due ottici danesi Hans e Zacharias Janssen a creare l'archetipo del microscopio, combinando due lenti all'interno di un tubo nel 1590. Nel 1624 Galileo Galilei sviluppa un microscopio composto di 2 lenti convesse e lo denomina "Occhialino", ma l'origine del termine "microscopio" si deve a Giovanni Faber che conia la parola combinando dal greco "micros", che significa piccolo e "skopein" che significa vedere, osservare. Nel 1660 Robert Hooke usa 3 lenti nella progettazione di un microscopio per raggiungere livelli maggiori di ingrandimento e migliorare la precedente versione galileiana ed è Giuseppe Campani, ottico e astronomo, il primo ad impiegare un microscopio per l'osservazione di ferite umane. Tra i padri di questo strumento va certamente citato Anton von Leeuwenhoek, mercante di stoffe che nel tentativo di costruire un dispositivo che gli permettesse di contare il numero di fili per pollice quadrato di tessuto, produsse uno strumento in grado di aumentare le dimensioni di un oggetto fino a 270 volte. Un problema dei primi microscopi è l'ingombro che essi costituiscono, soprattutto mano a mano che vengono aggiunte lenti. La soluzione che Leeuwenhoek propone è il primo microscopio trasportabile: egli costruisce delle piccole ma potenti lenti con un'elevata curvatura che oltre a essere più funzionali a livello di spazio occupato, causano minori aberrazioni e permettono perfino di raggiungere maggiori livelli di ingrandimento. [4], [5]

L'avvocato inglese Chester Moore Hall è il primo a riuscire a gestire le aberrazioni cromatiche inventando lenti acromatiche, risultato di una combinazione di lenti concave e convesse, e John Dollond produsse un microscopio acromatico nel 1759. Tuttavia, la soluzione per l'aberrazione cromatica viene fornita nel 1830 da Joseph Jackson Liste: egli combina lenti realizzate con vetro flint e lenti realizzate con vetro crown posizionandole a distanze specifiche per permettere la correzione della rifrazione l'una dell'altra. Per quanto riguarda le migliorie a livello meccanico si cita ancora Robert Hooke che introduce l'utilizzo di giunti sferici tra le componenti del microscopio. Infine, il problema delle vibrazioni derivanti dall'utilizzo manuale del microscopio vengono ovviate con la costruzione di un supporto. [5]

Nel 1846 il meccanico tedesco Carl Zeiss, che appare nella Fig. 1.3, apre il primo laboratorio di microscopi e produce il proprio primo microscopio un anno dopo. Egli nel 1866 inizia a collaborare con il fisico Ernst Abbe, mostrato sempre nella Fig.1.3, che deriva nuovi principi matematici e teorie rivoluzionarie per il mondo della produzione di lenti. [4]



*Fig. 1.3 Fotografia di Carl Zeiss (sinistra) e Ernst Abbe (destra)*

Tra le proposte di Abbe, nel 1877, si ha il primo microscopio realizzato con lenti immerse in un magno di olio, che ne migliora la risoluzione. Successivamente, nel 1889, egli introduce l'utilizzo di monobromonaftalene come materiale di immersione poiché rende la risoluzione della lente ancora migliore. Nel 1881 il chimico Frederick Otto Schott, sviluppa un nuovo vetro basato al litio e inizia una collaborazione con Abbe, quest'ultima porta alla produzione di un microscopio con lenti apocromatiche in grado di ridurre ancora di più l'aberrazione cromatica rispetto al risultato che era stato ottenuto con le lenti acromatiche. [5]

### **1.3 Il microscopio entra in sala operatoria**

Nel 1921 l'otorino Carl Olof Nylen costruisce il primo microscopio con scopo chirurgico che viene impiegato per trattare un caso di otite cronica che colpiva l'orecchio medio del paziente. È uno strumento molto basilare, infatti l'aggiunta di una sorgente luminosa è una miglioria tecnica successiva, mentre un anno dopo viene prodotto il primo microscopio binoculare.

Negli anni '50 il progresso tecnico dei microscopi ha permesso l'avanzamento della microchirurgia. Il primo nome da citare è quello di Hans Littmann che inventa una struttura ottica che permetta il cambio degli ingrandimenti senza che sia necessario modificare anche la lunghezza focale. A questo punto i microscopi iniziano ad essere impiegati in tutti i campi che necessitano di avanzata precisione, a partire dalle procedure chirurgiche riguardanti orecchie, gola e occhi.

Si noti che i microscopi usati inizialmente in chirurgia presentano ancora svariati svantaggi, primo tra tutti la collocazione dello strumento durante la procedura di intervento: esso viene posizionato sulla testa del chirurgo, fattore che determina una diminuzione di stabilità e limita la visione del medico a un'area di circa 6-12 mm. Il microscopio operatorio per come è conosciuto nell'immaginario collettivo odierno viene lanciato sul mercato nel 1953 dal marchio Zeiss, si chiama Zeiss – OPMI 1 (Zeiss Operating Microscope Number 1) e lo si può vedere nella Fig. 1.4.

L'anno 1957 rappresenta un punto di svolta per la medicina: Theodore Kurze, neurochirurgo americano, esegue il primo intervento di neurochirurgia assistito da un microscopio. Egli rimuove un neurilemmoma (tipologia di tumore benigno perineurale ed incapsulato che si forma dalle cellule di Schwann della guaina neurale dei nervi motori e sensitivi periferici, detto anche Schwannoma [6]) da un paziente dell'età di 5 anni, dando il via all'era della micro-neurochirurgia.

Nel 1958 Keeler Instrument Co. produce un supporto su misura per i microscopi Zeiss, quest'ultimo viene presto seguito da una sua versione motorizzata ed entro il 1959 viene installata una sedia che utilizza sia un sistema elettrico che uno idraulico per offrire diverse opzioni di regolazione su un microscopio Zeiss, un anno dopo invece viene installato un obiettivo con lo zoom motorizzato su un microscopio Bausch & Lomb. Cominciano così a venir prodotti degli accessori per i microscopi operatori.

Un altro ramo che si sviluppa notevolmente grazie all'introduzione del microscopio operatorio è la chirurgia vascolare. Nel 1961 J. Lawrence Pool pubblica il primo report di un intervento intracranico su un aneurisma concluso con successo grazie all'assistenza di un microscopio operatorio, mentre M. G. Yaşargil a Zurigo e R. M. P. Donaghy negli Stati Uniti operano efficacemente i primi bypass tra arteria temporale e arteria cerebrale media pazienti umani.



Una limitazione che viene superata nel 1964 è l'impossibilità di permettere la visione a un secondo chirurgo: Zeiss disegna un microscopio adattando un divisore di fascio alla sua tecnologia, necessario appunto a dividere un raggio di luce in più raggi permettendo a un secondo chirurgo di osservare l'area operata. Questo nuovo modello viene chiamato "diploscopio", Fig. 1.4. Nel 1965, poi, viene prodotto un prototipo di microscopio operatorio in cui le fonti luminose ruotano intorno al microscopio e nello stesso anno Zeiss manifattura OPMI 2 che include ingrandimento e fuoco motorizzati, anche di questo si riporta una foto nella Fig. 1.4. Nel 1966 viene prodotto OPMI 3 a cui in seguito vengono attaccati degli accessori come un prisma rotante, reticolazioni per la sutura negli oculari, una scala di misurazione nella fenditura, il sistema di rotazione galileiano del modello OPMI 1 per permettere cambi di ingrandimento e un dispositivo di sterilizzazione dell'apparecchio.



*Fig. 1.4 Zeiss OPMI 1 (A), Zeiss Diploscope (B), Zeiss OPMI 2 (C)*

Negli anni '70 Zeiss produce un accessorio di osservazione stereoscopica per dare la possibilità a un terzo chirurgo di lavorare contemporaneamente agli altri e nel 1972 Yaşargil riesce a risolvere il problema dell'ingombro del microscopio e della difficoltà nel maneggiarlo: costruisce un sistema di pesi aggiustabili secondo diversi assi per controbilanciare il microscopio, attacca dei freni elettromagnetici a ogni giunzione del microscopio per fornire stabilità senza intaccare la mobilità. Attraverso tale tecnologia il chirurgo può muovere il microscopio lungo l'asse orizzontale e quello verticale e controllare il fuoco tramite un interruttore azionato con la bocca. Sempre Yaşargil successivamente suggerisce un sistema di riscaldamento per gli oculari in modo da prevenire l'appannamento. Nel 1997 sempre Zeiss introduce il modello OPMI Neuro e lo equipaggia con Multivision nel 2000, sistema che proietta avanzate tecniche di imaging direttamente negli oculari. [4], [5]



## **2 – L'EVOLUZIONE DEI MICROSCOPI OPERATORI, I MODELLI PIÙ RECENTI**

### **2.1 Panoramica delle evoluzioni**

Ad oggi il microscopio operatorio è uno strumento altamente avanzato a livello tecnologico: offre ingrandimenti di qualità senza aberrazioni significative, un'adeguata illuminazione senza surriscaldamento del macchinario e soddisfacente stabilità senza compromettere la flessibilità dei giunti. Entrando nello specifico dell'aspetto della stabilità, il controllo del sistema di frenata è generalmente applicato a delle specifiche manopole oppure a dei pedali. Inoltre alcuni microscopi hanno un sistema di focalizzazione automatico.

È importante osservare che il progresso attuale per quanto riguarda i microscopi operatori è spesso dovuto all'impianto sul corpo ottico, o su altre componenti del microscopio, di accessori. Ad esempio, con l'aggiunta di dispositivi appropriati è possibile per 2 assistenti visualizzare lo stesso campo operatorio del primo chirurgo.

[5] Tra le apparecchiature addizionali, i microscopi operatori odierni possiedono una videocamera che permette alle procedure chirurgiche di essere registrate in alta definizione. Un ulteriore accessorio utilissimo introdotto recentemente è il sistema di neuro navigazione: un set di tecnologie complete di un computer che proiettano accuratamente tomografie e/o risonanze magnetiche sul campo operativo del microscopio, permettendo al chirurgo di operare entro margini predefiniti basati su dati registrati prima dell'operazione stessa. [4]

L'evoluzione del microscopio ha permesso ulteriori progressi nella microchirurgia, dando la possibilità alle procedure minimamente invasive di svilupparsi. Dunque, procedendo nella lettura di questo capitolo si presenterà la tecnologia di alcuni microscopi operatori per poter comprendere più nel dettaglio le tecnologie presenti sul mercato.

### **2.2 I nuovi modelli e le nuove tecnologie**

In questi paragrafi vengono descritti 3 modelli diversi di microscopio operatorio, appartenenti a diverse case produttrici. L'obiettivo di questa analisi è quello di

esplorare le tecnologie differenti impiegate in ciascun modello, considerate sia separatamente che nel loro insieme.

### *2.2.1 M530 OHX*

Il primo modello in oggetto è M530 OHX, che si può osservare nella Fig. 2.1. Questo microscopio introduce una tecnologia ottica di precisione per una visione più dettagliata dell'immagine: esso sfrutta le diverse informazioni provenienti da entrambi i percorsi ottici, destro e sinistro, dello strumento. Il percorso ottico sinistro fornisce la massima risoluzione, mentre quello destro la massima profondità di campo, è il cervello umano poi che fonde le due immagini creandone una unica ottimale con una zona di messa a fuoco più ampia. Questo comporta un vantaggio in termini di tempo impiegato per la rifocalizzazione.

Ulteriori caratteristiche del corpo ottico di questo microscopio sono:

- La possibilità DI applicare un 40 % di ingrandimento aggiuntivo
- La messa a fuoco è rapida grazie ai due raggi laser che fungono da riferimento e forniscono rapidamente un punto focale definito per le tre porte di osservazione (chirurgo, assistente e videocamera)
- La presenza di una messa a fuoco micrometrica indipendente per l'assistente posteriore, con una gamma di +/- 5 diottrie
- La presenza di una gamma di tubi binoculari, tutti con rotazione completa di 360°, adattabili alle diverse altezze ed esigenze di posizionamento; non è necessario cambiare i tubi binoculari. Questa caratteristica permette diverse posizioni operatorie e l'adattamento alle diverse fisionomie degli operatori.

Per quanto riguarda i movimenti e le inclinazioni del supporto ottico sono presenti cavi inseriti internamente e i freni elettromagnetici consentono di manovrare il microscopio con facilità e senza sforzo, riducendo così la fatica dovuta a movimenti bruschi. Per garantire la flessibilità di posizionamento il corpo ottico offre un'ampia gamma di movimenti. La stabilizzazione rapida infine riduce le interruzioni del flusso di lavoro: è presente un sistema di auto bilanciamento controllato da un pulsante e anche il bilanciamento intraoperativo è controllato da un pulsante.



*Fig. 2.1 M530 OHX*

Il microscopio possiede una tecnologia molto recente e altrettanto importante che verrà trattata più nello specifico nel capitolo 4: la fluorescenza. In particolare FL400 è un modulo che provvede un'illuminazione a luce blu che permette al chirurgo di visualizzare gliomi maligni in pazienti che hanno assunto l'acido 5 – amminolevulinico, distinguendo il tessuto tumorale da quello sano. Inoltre il microscopio può essere dotato di fluorescenza vascolare integrata FL800 e fluorescenza per realtà aumentata GLOW800; il modulo FL800 offre angiografie intraoperatorie grazie alla indocianina verde iniettata per via intravenosa e GLOW800 cattura l'alto contrasto dell'infrarosso dell'immagine con l'indocianina verde, la combina con la luce bianca e si ottiene una visione unica a colore naturale dell'anatomia cerebrale aumentata dal flusso vascolare in tempo reale. [5]

L'illuminazione del sistema è data da due lampade ad arco allo xeno da 400 watt indipendenti, se necessario il microscopio passa automaticamente al secondo sistema di illuminazione. Sempre per quanto riguarda l'aspetto dell'illuminazione il microscopio possiede un sistema di intelligenza artificiale che ottimizza l'intensità luminosa relativamente alla distanza di lavoro (che ha un range di 225 – 600 mm) per proteggere il paziente e uno che regola automaticamente il diaframma in modo da illuminare solo l'area visibile escludendo un'illuminazione periferica che possa causare bruciature ai tessuti. [7]

### 2.2.2 OPMI Pentero 800

Il secondo microscopio operatorio oggetto di questa analisi è OPMI Pentero 800, riportato nella Fig. 2.2. Questo modello permette la visualizzazione nitida dei dettagli sia nell'oculare che nel display, grazie alle ottiche apocromatiche (cioè che riducono le aberrazioni cromatiche), all'illuminazione allo xeno e a una catena video completamente integrata.



*Fig. 2.2 OPMI Pentero 800, chirurgia della colonna vertebrale e neurochirurgia*

Questo microscopio è dotato di un diaframma a doppia iride integrato a controllo elettronico, questo permette ai chirurghi di scegliere tra luce massima e risoluzione oppure profondità di campo. Anche in questo modello è possibile potenziare l'ingrandimento di un ulteriore 50%.

La videocamera, il registratore, l'editor e il monitor sono completamente integrati nel microscopio operatorio, in questo modo le immagini vengono fornite costantemente senza la necessità di dispositivi esterni; inoltre grazie a un'interfaccia di navigazione, sempre integrata, si possono visualizzare eventuali informazioni supplementari direttamente attraverso gli oculari.

Per ridurre il sovraffaticamento fisico del chirurgo e dell'assistente sono presenti delle funzioni quali la sospensione free – float che permette lo spostamento del sistema in qualunque posizione in totale assenza di peso e un tubo pieghevole dinamico per facilitare sia un maggiore ingrandimento che la flessibilità di posizionamento e consente la regolazione istantanea del piano focale per avere sempre un'immagine nitida. Per ottimizzare invece i tempi in sala operatoria, questo microscopio è dotato

di funzioni di auto bilanciamento ed evacuazione automatica dell'aria dal telo sterile. È possibile un ulteriore bilanciamento di precisione con un comando attivato a bocca. Anche la manovrabilità è facilitata grazie a un sistema di intelligenza artificiale, rendendo più rapido il trasferimento del sistema tra le sale operatorie e il suo posizionamento in base alle necessità.

L'illuminazione è allo xeno e permette di ridurre al minimo le ombre dei canali profondi e delle cavità. Le lampade sono due e sono da 300 watt e viene indicata la durata residua della lampada, è presente un sistema automatico di regolazione dell'illuminazione in base al campo visivo e un altro di regolazione dell'intensità della luce in base alla distanza operativa (che è compresa nell'intervallo 200 – 500 mm).

Anche questo microscopio, come quello descritto nel paragrafo precedente possiede un sistema di autofocus con due punti laser visibili. [8]

### *2.2.3 OPMI Neuro NC4*

Il terzo e ultimo modello oggetto di questa analisi è un microscopio disegnato specificatamente per la neurochirurgia: OPMI Neuro NC4 (Fig.2.3).



*Fig. 2.3 OPMI Neuro NC4*

Il corpo ottico è interamente rivestito apocromaticamente in modo da assicurare fedeltà per quanto riguarda i colori in assenza di distorsioni dell'immagine. Lo zoom di questo microscopio inoltre permette di osservare l'intero campo chirurgico a fuoco anche a

livelli di ingrandimento medi, offrendo il beneficio di ridurre lo stress a cui è sottoposto l'occhio di chi lo utilizza; inoltre la minore necessità di rifocalizzazione e una documentazione nitida di ciò che si sta osservando contribuiscono al miglioramento del flusso di lavoro. Quando è necessario rimettere a fuoco entra in gioco un sistema di intelligenza artificiale che automaticamente produce l'immagine definita indipendentemente dalle impostazioni di ingrandimento.

Per assicurare che i movimenti della struttura siano il più fluidi e richiedano il minor sforzo possibile, questo microscopio è completo di una tecnologia di contro bilanciamenti che fa in modo che il microscopio si possa muovere in assenza di peso, riducendo una parte significativa di massa a terra ma anche l'inerzia prodotta. Un'altra caratteristica della struttura è quella di potersi posizionare ovunque in base alla posizione assunta dal chirurgo, questo è possibile grazie alla rotazione di entrambi i binoculari in modo da poterli posizionare ergonomicamente in base alle altezze diverse dei chirurghi. L'ampio range di movimento permette allo strumento di essere versatile sia sulla base del chirurgo che della procedura di intervento: ad esempio, in casi che necessitano altezza minima il binoculare standard può essere sostituito con uno più piccolo.

Questo modello possiede anche un sistema di navigazione di immagini integrato (IGS), cioè un sistema che permette di utilizzare immagini esterne durante la procedura. Inoltre il display possiede la funzione di proiettare informazioni dal sistema IGS direttamente negli oculari, senza che il chirurgo debba distogliere il proprio sguardo dall'area dell'operazione.

Il sistema di messa a fuoco automatica è guidato da laser ad alta precisione, questa tecnologia riesce a risolvere il problema dell'ambiguità della profondità di campo, individuando l'area di interesse entro una frazione di millimetro.

L'illuminazione di questo microscopio è allo xeno con una lampada da 300 watt, se quest'ultima si scarica un'altra sorgente alogena di scorta è disponibile immediatamente. Inoltre, per ridurre le ombre nelle cavità profonde, l'illuminazione prevede un percorso a due vie, questo facilita le procedure che richiedono esposizione minima. La buona trasmissione luminosa infine offre benefici al paziente in quanto minor luce si traduce in minor energia depositata sul tessuto: per assicurare che solo



l'area di interesse sia illuminata il sistema prevede che la luce possa essere trasmessa come un cono. [9]

### **2.3 Caratteristiche comuni e differenze tra i modelli analizzati**

Questo paragrafo ha come obiettivo quello di confrontare i tre modelli trattati nelle sezioni precedenti che sono stati scelti come esempio di tecnologie recenti e innovative, al fine di determinare quali siano gli aspetti chiave che l'ingegneria si propone di potenziare così da ottenere microscopi operatori sempre più performanti.

In primo luogo si consideri la componente del corpo ottico: tutti e tre i modelli si propongono di ridurre le aberrazioni. Questo significa che uno degli aspetti su cui le aziende puntano è la risoluzione dell'immagine, l'assenza di distorsioni, in breve una visualizzazione dei dettagli che sia la migliore possibile. Si osservi poi che i primi due modelli trattati forniscono la possibilità di aumentare ulteriormente l'ingrandimento, quindi anche la magnificazione rappresenta un aspetto chiave nelle ricerche di mercato.

Per quanto riguarda invece la struttura, tutti i modelli puntano sul fatto che essa sia maneggevole, ergonomica e funzionale: aspetti molto importanti per la buona riuscita di un intervento in quanto agevolano i movimenti dello strumento e di conseguenza quelli del chirurgo che sta operando.

Infine per quanto riguarda l'illuminazione tutti e tre i modelli descritti possiedono lampade allo xeno, esse sono caratterizzate dall'indipendenza del funzionamento dalla temperatura, dall'altissima resa cromatica e dalla tonalità calda, ma soprattutto la loro emissione luminosa avviene in tutte le direzioni, evitando zone d'ombra. Si osservi che l'ultimo modello prevede una lampada alogena di scorta, le lampade di questo tipo emettono luce bianca con una buona resa dei colori. [10]

Per concludere si osservi che tutti questi microscopi propongono accessori e integrazioni per migliorare la loro resa. Si può dedurre dunque che, al di là delle migliorie sempre più avanzate che vengono applicate al corpo ottico, è fondamentale lo sviluppo delle tecnologie aggiuntive che rendono lo strumento più versatile e performante. Una tecnologia accessoria in costante evoluzione è la visualizzazione in fluorescenza, un'altra invece è il potenziamento delle funzioni di movimento e di imaging intraoperatorio grazie a sistemi di intelligenza artificiale.



## 3 – INNOVAZIONE TECNOLOGICA: LA VISIONE IN FLUORESCENZA

### 3.1 Principi di fluorescenza

Per parlare di fluorescenza si deve considerare l'assorbimento di energia luminosa da un indicatore, ovvero l'assorbimento di un fotone; tale processo è seguito dall'emissione parziale dell'energia assorbita, sempre sotto forma di fotone, pochi nanosecondi dopo. Noto che parte di questa energia assorbita viene dispersa nel processo, il fotone emesso possiede minor energia di quello assorbito. Si osserva anche che la luce con una lunghezza d'onda minore (che vira sui toni del blu) ha maggior energia di quella a lunghezza d'onda più lunga (che vira verso il colore rosso); pertanto, la luce emessa da un indicatore solitamente possiede una lunghezza d'onda maggiore rispetto a quella assorbita, cioè rispetto alla luce di eccitamento. Questo fenomeno viene denominato spostamento di Stokes.

Riformulando quanto appena descritto si può affermare che la fluorescenza sia un fenomeno ottico per cui la radiazione luminosa viene assorbita da un fluoroforo (raggruppamento atomico a cui si deve la fluorescenza di un composto chimico organico [11]) e riemessa ad una lunghezza d'onda maggiore. Il fluoroforo in questione, esposto alla radiazione luminosa incidente o di eccitazione, assorbe energia che porta gli elettroni degli orbitali esterni ad un livello energetico più alto. Il ritorno allo stato fondamentale avviene con una perdita di energia sotto forma di luce emessa ad una lunghezza d'onda maggiore. Per quanto riguarda la luce, ogni fluorocromo (sostanza contenente un fluoroforo in grado di far diventare fluorescente un'altra sostanza con la quale è posta a contatto [12]) è caratterizzato da un tipico spettro di assorbimento e di emissione di essa e da una determinata efficienza quantica, definita come il rapporto tra l'energia emessa e quella assorbita. L'utilizzo dei fluorocromi è il metodo più indicato per lo studio dei campioni biologici per la vasta gamma di sostanze auto fluorescenti presenti in natura. [13]

Si osservi che un indicatore può assorbire energia da più fotoni contemporaneamente ed emettere invece un singolo fotone. È importante sottolineare che l'energia di ognuno dei due fotoni assorbiti sia minore di quella del fotone emesso, quindi, la luce rossa può essere utilizzata per generare luce verde. Questo principio è alla base della

microscopia detta “a due fotoni” oppure “multifotone”. Per ottenere il processo appena descritto è necessario possedere un’altissima densità spaziale e temporale di fotoni, perché i due che vengono assorbiti devono arrivare contemporaneamente al marcatore. Tramite un laser specializzato e potente si può creare questa situazione, in quanto le pulsazioni luminose permettono di “impacchettare” i fotoni.

Per concludere, si osservano i vantaggi dell’utilizzo della luce verde al posto di quella blu come fonte di eccitamento, ovvero l’impiego del metodo multifotone rispetto a quello che prevede l’impiego di un solo fotone comporta:

- Una lunghezza d’onda maggiore può penetrare più in profondità nei tessuti perché subisce minor effetto di scattering (spargimento dei fotoni).
- L’assorbimento di luce verde è meno dannoso per le cellule rispetto a quello di luce blu ad alta energia. [14]

### **3.2 Sostanze fluorescenti e auto fluorescenti**

Molte sostanze auto fluorescenti sono presenti all’interno dei tessuti, per questo motivo essi si possono osservare direttamente in microscopia confocale senza l’ausilio di ulteriori trattamenti. Inoltre, alcune sostanze si possono convertire in fluorofori chimicamente; il processo si chiama fluorescenza indotta. La formaldeide, ad esempio, induce fluorescenza tramite condensazione, nella noradrenalina, adrenalina e dopamina. Un secondo esempio è la glutaraldeide, la quale ad alta concentrazione induce fluorescenza nei composti aromatici. Anche gli enzimi presenti nei tessuti, se convertono substrati non fluorescenti in prodotti fluorescenti, possono essere evidenziati.

Nelle applicazioni biomediche la tecnica di maggior impiego è l’immunofluorescenza ed è basata su reazioni specifiche antigene-anticorpo. Gli anticorpi possono essere legati covalentemente ai fluorocromi senza perdita di specificità. Si distinguono due metodi: uno diretto, costituito da un anticorpo già coniugato con un marker, l’altro indiretto, in cui all’anticorpo primario si lega un anticorpo secondario coniugato al fluorocromo. L’utilizzo del metodo indiretto comporta un segnale di fluorescenza molto più forte, questo perché, dato che l’antigene si lega a più anticorpi, il numero di siti per legame con il marcatore è superiore rispetto a quanto lo sia nel metodo diretto.

Siccome molti fluorocromi hanno in comune una banda di eccitazione ma non di emissione, antigeni diversi possono essere osservati simultaneamente. Ciò consente, con opportuni specchi dicroici, filtri di emissione e più fotomoltiplicatori, l'osservazione contemporanea della distribuzione di più antigeni nello stesso campione. Si cita dunque, in esempio, l'uso simultaneo di fluoresceina, che emette nel verde, e di ioduro di propidio, che emette nel rosso, che possono essere eccitati entrambi a 488 nm. I due segnali vengono divisi otticamente su due fotomoltiplicatori, registrati allo stesso momento nella memoria del computer, ed elaborati indipendentemente per ottimizzare l'immagine. [13]

### **3.3 Il funzionamento del microscopio in fluorescenza**

Il microscopio in fluorescenza deve separare la luce emessa da quella eccitata e per raggiungere questo risultato gli indicatori di fluorescenza con ampi spostamenti di Stokes costituiscono un impiego vantaggioso. La separazione della luce viene generalmente conseguita grazie a filtri ottici e un buon imaging si ottiene con la loro selezione in base ai marcatori utilizzati. [14]

Si ricorda che la microscopia in fluorescenza è stata sviluppata in modo che sia le immagini di eccitazione che di fluorescenza vengano visualizzate insieme come un'unica immagine. Infatti, l'immagine in fluorescenza considerata singolarmente contiene solamente alcuni particolari che aiutano a individuare le parti di interesse per il chirurgo nell'immagine nel visibile, grazie anche a dei punti di riferimento fissati su quest'ultima. Tipicamente, il canale in fluorescenza viene visualizzato in colori come il verde acceso allo scopo di produrre un notevole contrasto cromatico tra i tessuti e le parti fluorescenti, come nel caso delle vene sanguigne che così possono essere riconosciute facilmente e rapidamente. La registrazione delle immagini sarebbe un'operazione complessa a livello computazionale, ma questo problema può essere ovviato impiegando un divisore di fascio, ovvero uno specchio dicroico che divide e filtra il fascio in due componenti: la prima destinata alla fotocamera nel visibile e la seconda a quella nell'infrarosso (NIR). Si consideri anche che è fondamentale l'impiego di filtri per la fotocamera NIR poiché la luce di eccitazione non si deve mescolare con il segnale di fluorescenza in quanto entrambe le componenti vengono sommate al sensore e risultano inseparabili nell'immagine elettronica finale. [15]

### *3.3.1 I filtri ottici*

Gli indicatori, specialmente le proteine fluorescenti codificate geneticamente, possiedono uno spettro di lunghezze d'onda ampio, sia per l'eccitazione che per l'emissione, anche se spesso viene riportato che un particolare indicatore abbia una singola lunghezza d'onda. Inoltre, come è già stato affermato nel paragrafo riguardante le sostanze fluorescenti, lo spettro delle lunghezze d'onda per diversi indicatori si può sovrapporre, quindi è importante considerare l'appropriata lunghezza d'onda quando si impiegano più indicatori.

La scelta del filtro deve ricadere sul miglior compromesso tra la luce emessa che passa e quella di eccitazione che viene bloccata. Per allineare i filtri nel percorso luminoso di eccitazione ed emissione, in molti microscopi in fluorescenza l'elemento che viene impiegato è il cubo filtrante che dirige la luce dalla fonte di eccitazione al campione e dal campione al detettore. Quello tradizionale possiede un filtro di eccitazione, uno specchio dicroico a 45° e un filtro barriera/emissione. L'orientamento dei filtri nel cubo costituisce un aspetto importante: molti filtri lavorano per interferenza riflessa, quindi è fondamentale assicurarsi che il filtro sia correttamente orientato nella direzione del percorso della luce. Il lato di questa riflessione è la superficie frontale dello specchio dicroico.

Attualmente però, in molti sistemi di imaging in fluorescenza i filtri di eccitazione ed emissione non sono collocati nel cubo ma in un cambiafiltri automatico. In questo modo essi si possono spostare rapidamente all'interno e all'esterno del percorso della luce. Infine, è possibile selezionare con dispositivi come monocromatori o modulatori acustici la luce di eccitazione, cosicché si possa evitare l'impiego di un filtro per l'eccitazione. [14]

### *3.3.2 Lo specchio dicroico*

Lo specchio dicroico è un elemento ottico primario che separa le luci di eccitazione ed emissione. Esso funziona generalmente riflettendo verso il campione la lunghezza d'onda di eccitazione (più corta) e trasmettendo la lunghezza d'onda emessa (più lunga). Tuttavia gli specchi dicroici possono essere utilizzati anche in maniera opposta, ovvero per riflettere le lunghezze d'onda maggiori e trasmettere quelle minori. [14]

### *3.3.3 Il filtro bloccante*

I filtri di emissione ed eccitazione vengono aggiunti allo scopo di migliorare la selezione delle lunghezze d'onda appropriate, già discriminate comunque dallo specchio diecrico. Il filtro di eccitazione garantisce solo la trasmissione delle lunghezze d'onda richieste.

Solitamente si sceglie un filtro passa – banda che fornisca, al di fuori delle lunghezze d'onda passabanda specificate, un buon blocco. Tuttavia, si deve considerare che per ottenere un'immagine in fluorescenza che sia utile è necessaria luce sufficiente e il suo passaggio attraverso i filtri provoca sempre una perdita di intensità luminosa. Le moderne sorgenti risolvono questo problema per i filtri di eccitazione in quanto la loro intensità luminosa è elevata, ma bisogna considerare questa problematica quando si scelgono i filtri di emissione. A determinare la luminosità dell'immagine sono la percentuale della luce trasmessa dal filtro selezionato e la larghezza di banda, ovvero l'intervallo spettrale che passa attraverso un filtro.

Nel caso in cui si impieghi un singolo indicatore si ha un'unica fonte di fluorescenza, pertanto, il ruolo del filtro di emissione è semplicemente quello di bloccare qualsiasi luce di eccitazione spuria. A questo scopo si sceglie solitamente un filtro passa – lungo che possiede il vantaggio di poter raccogliere tutta la luce dello spettro di emissione.  
[14]

## **3.4 Sostanze usate per la fluorescenza nei microscopi operatori moderni**

### *3.4.1 L'acido cinque-aminolevulinico (5-ALA) e la protoporfirina IX*

L'acido cinque-aminolevulinico (5-ALA) è un precursore di protoporfirina IX (PpIX) fluorescente e fototossica nella via della biosintesi dell'eme. Questa sostanza può essere impiegata come agente diagnostico in fluorescenza, ma anche terapeutico sfruttando la fototossicità, infatti possiede proprietà ottiche e la sua sintesi è sensibile all'attività metabolica intracellulare. Ciò che accade è un accumulo di PpIX nelle cellule del glioma maligno, quando queste ricevono 5-ALA. La fluorescenza della protoporfirina IX si può visualizzare intraoperativamente con facilità e serve a guidare la chirurgia in tempo reale.

In questo paragrafo, in primo luogo, viene trattato il processo di formazione della PpIX. Nei globuli rossi (eritrociti) è presente l'eme, come parte dell'emoglobina; nella

loro fase di sviluppo iniziale vengono prodotte grandi quantità di eme che devono poi essere incorporate nell'emoglobina e che hanno il compito di legare e rilasciare molecole di ossigeno. Si noti che, se negli eritrociti maturi la formazione di eme termina, in tutte le altre cellule del corpo esso continua ad essere sintetizzato. Qui, sono le molecole dell'eme a mediare il trasferimento di elettroni nella catena respiratoria mitocondriale: l'eme è infatti la componente funzionale in 3 dei 5 complessi della catena respiratoria. Questi complessi impiegano l'energia acquisita dall'ossidazione dell'idrogeno dall'acqua e formano ATP da ADP e fosfato. Il processo appena descritto inizia nei mitocondri con la formazione di 5-ALA dal succinilcoenzima A e dalla glicina da ALA sintasi (ALA-S). Quando il 5-ALA è formato viene rilasciato nel citosol e poi forma, combinando 8 sue molecole in passaggi enzimatici, una molecola di PpIX.

A questo punto, noto il funzionamento della produzione di PpIX, si procede nella descrizione della visione in fluorescenza attraverso un microscopio operatorio con l'utilizzo di un modulo basato su 5-ALA. La prima considerazione da effettuare è che nella chirurgia guidata in fluorescenza l'obiettivo è quello di non produrre deficit funzionali e di non compromettere la qualità della vita, tale scopo è realizzabile se la rimozione del glioblastoma è efficace.

La differenza principale tra l'imaging a fluorescenza basato su 5-ALA rispetto a tutti gli altri metodi è il fatto che ciò che viene somministrato al paziente non è il fluorocromo, ovvero la protoporfirina, bensì il suo precursore non fluorescente, cioè il 5-ALA. Questa particolarità consente un contrasto più elevato, perché non è presente alcun fondo di fluorescenza non specifica nella circolazione né nello spazio interstiziale. La somministrazione di 5-ALA avviene tra le 3 e le 4 ore precedenti all'anestesia: 20 mg/kg di peso corporeo vengono disciolti in 50 ml di acqua, che viene poi ingerita dal paziente.

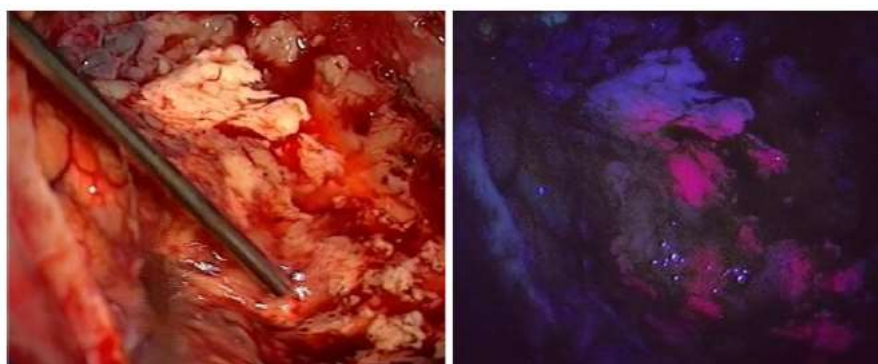
Inoltre, la PpIX è molto selettiva quando si accumula, ovvero si concentra sulle cellule tumorali. A livello teorico con la fluorescenza PpIX si potrebbero identificare le singole cellule di glioblastoma isolate e circondate dal cervello sano. Tuttavia rimuovere queste cellule chirurgicamente non è possibile poiché i deficit funzionali sarebbero inevitabili. Infatti, la densità cellulare del tumore diminuisce gradualmente



nella zona in cui è infiltrato, dunque l'intervento va fermato non appena si incontra il cervello sano, anche se potrebbe essere ancora infiltrato di cellule maligne.

Sono molteplici i produttori di microscopi chirurgici che hanno implementato i loro dispositivi con modalità di fluorescenza compatibili con la PpIX e il funzionamento è molto simile tra tutti essi: una sorgente luminosa a banda larga viene filtrata in modo da emettere luce viola che copra l'assorbimento di PpIX. Il filtro ha estensione nel blu per quanto riguarda la larghezza di banda spettrale, in modo da emettere luce a 440 - 460 nm a livello dell'1%. Quando lavora in fluorescenza, l'obiettivo del microscopio è dotato di un filtro passa - lungo a 440 nm, così da bloccare tutta l'eccitazione della PpIX e allo stesso tempo trasmettere la luce a bassa intensità a circa 450 nm. Dunque ciò che viene osservato dal chirurgo o da una macchina fotografica a questo punto è:

- Luce blu a circa 450 nm emessa dalla sorgente di eccitazione e mandata alla superficie del tessuto
- Una fluorescenza verde proveniente da fluorofori endogeni
- La fluorescenza PpIX in rosso, come si può osservare nella Fig. 3.1



*Fig. 3.1 Immagini intraoperatorie con 5-ALA: a sinistra in luce bianca, a destra in fluorescenza*

Per avere l'intensità della luce blu più forte rispetto all'auto fluorescenza verde prodotta e anche rispetto a qualunque luce rossa non specifica, essa viene messa in scala. Il cervello normale, dunque, appare sempre in blu e la PpIX assorbita dal tumore fa apparire il tessuto in rosso. Si osservi che nella zona di infiltrazione l'intensità della fluorescenza rossa diminuisce gradualmente col diminuire delle cellule tumorali. [16]

### 3.4.2 L' indocianina green

L'indocianina green (ICG) è un colorante tricarbocianinico solubile in acqua con peso molecolare di 751,4 Da che si lega all'albumina nel sangue e si distribuisce in modo veloce ed uniforme a seguito di una sua iniezione intravenosa. [17] È uno ione carico negativamente appartenente alla famiglia dei coloranti cianidrici e da secco è stabile a temperatura ambiente.

Dal punto di vista ingegneristico, l'indocianina costituisce una nuova frontiera per l'elaborazione di immagini e video, come nell'analisi delle dinamiche di fluorescenza. Come è già stato dichiarato sia nei capitoli precedenti che all'interno di questo stesso capitolo, l'imaging fluorescente è un metodo recente e in fase di sviluppo; a questo proposito il caso dell'indocianina green (ICG) costituisce un esempio, infatti, essa solo recentemente è stata introdotta nella medicina chirurgica, anche se è presente nella medicina clinica da quasi sessant'anni, ad esempio per le angiografie retiniche. Essa, a differenza della tradizionale fluoresceina, che viene impiegata allo stesso scopo nell'oftalmologia, operando vicino all'infrarosso è in grado di fornire informazioni sui vasi sanguigni più profondi.

Il principio di fluorescenza che viene usato nell'imaging con ICG è semplice: il tessuto viene illuminato con luce avente lunghezza d'onda di eccitazione tra i 750 e gli 800 nm, mentre l'osservazione viene fatta a una luce di emissione di lunghezza d'onda superiore agli 800 nm, quindi maggiore. Nonostante la fluorescenza sia solamente una piccola frazione dell'intensità di eccitazione, il rapporto che si ottiene tra segnale e rumore è molto buono: i vasi sanguigni contenenti ICG possono essere visti chiaramente su uno sfondo quasi nero, come si può osservare nella Fig. 3.2.



*Fig. 3.2 Immagine intraoperatoria con ICG: il cuore di un ratto, sono visibili le arterie coronarie*

Si intuisce anche che siano necessari dei filtri per ottenere questa qualità di immagine, infatti, in assenza di essi il forte riflesso della luce di eccitazione sovrasterebbe l'immagine data dalla fluorescenza.

L'indocianina green è stata inclusa nelle applicazioni cliniche grazie alle sue molteplici proprietà, se ne citano brevemente alcune:

- Rimane confinata all'interno dei vasi sanguigni grazie al suo legame con le lipoproteine plasmatiche, questo la rende ideale per le angiografie.
- La sua tossicità è bassa e non è ionizzante, quindi garantisce la sicurezza del paziente.
- La sua escrezione è rapida e avviene quasi esclusivamente nella bile, inoltre la sua permanenza nella circolazione è breve, caratteristica che permette ripetute iniezioni durante una stessa operazione.
- Possiede un massimo di assorbimento (circa 800 nm): la ICG è fluorescente a circa 800 nm e a lunghezze d'onda maggiori, ma si deve ricordare che sono l'ambiente chimico e le condizioni di temperatura e concentrazione delle molecole a determinare esattamente gli spettri. Infatti i valori delle lunghezze d'onda presenti nelle letterature cambiano a seconda di essi e dei filtri impiegati.

Siccome la ICG è solubile in acqua ma non in soluzione salina, se è necessaria una sua soluzione isotonica, prima della somministrazione essa deve essere disciolta in acqua e successivamente diluita con soluzione salina. Inoltre, se è necessario stabilizzare l'indocianina in acqua e nelle soluzioni ematiche, nel caso in cui i campioni di sangue debbano essere conservati per più giorni, si possono usare sostanze chimiche come il poliaspartato di sodio (PASP).

Solitamente, nel caso di somministrazione di indocianina a un paziente chirurgico, essa viene introdotta direttamente nella circolazione sanguigna sistemica e la sua visualizzazione attraverso il microscopio viene effettuata in un periodo di pochi minuti dopo l'iniezione. Generalmente un nuovo bolo può essere dato dopo circa 15 minuti.

A questo punto si passa alla trattazione dell'impiego della ICG nella microscopia. C'è una differenza sostanziale tra il microscopio tradizionale della fluorescenza e quello operatorio che possiede un modulo per la rappresentazione in fluorescenza di ICG: la

proiezione episcopica prodotta dal divisore di fascio viene sostituita da una semplice telecamera a colori e l'illuminazione può provenire da una sorgente luminosa esterna. Recentemente è esploso l'interesse per l'ICG dovuto alle nuove applicazioni in chirurgia, soprattutto in quella vascolare, dove è necessario il monitoraggio intraoperatorio della circolazione sanguigna. Dei rami chirurgici in cui l'impiego dell'indocianina può essere d'aiuto sono la neurochirurgia, la chirurgia coronarica di bypass, la chirurgia ricostruttiva, la chirurgia traumatologica e quella laparoscopica, in cui è fondamentale il monitoraggio della circolazione che deve essere recuperata correttamente. [15]

## **4 – ACQUISTO DI NUOVI STRUMENTI NELL’AZIENDA OSPEDALE UNIVERSITÀ DI PADOVA**

### **4.1 L’esperienza di tirocinio**

In questo capitolo sono oggetto di analisi le procedure adottate dall’Azienda Ospedale Università di Padova per la scelta, l’acquisto e il collaudo di macchinari nuovi, in particolare quelle seguite per l’acquisizione di microscopi operatori destinati ai reparti di neurochirurgia, neurochirurgia pediatrica, chirurgia vascolare e otorinolaringoiatria. La scelta di trattare anche questo argomento all’interno di questa tesi è dovuta all’attività di tirocinio da me svolta tra maggio e luglio di quest’anno presso il reparto di Ingegneria Clinica dell’ospedale di Padova. Durante questo periodo ho potuto affiancare gli ingegneri clinici nel loro lavoro sia a livello burocratico che visitando i reparti dell’ospedale: il mio ruolo è stato quello di assistere nelle procedure di acquisizione, collaudo e dismissione di strumentazione medica. Tra le varie aziende con cui sono entrata in contatto è presente un produttore di microscopi operatori, acquistati dall’ospedale seguendo un percorso che verrà descritto nel dettaglio nei paragrafi successivi.

### **4.2 La procedura di gara**

#### *4.2.1 Come si avvia un acquisto di nuovi macchinari*

Per avviare l’acquisizione di nuovi materiali è necessario innanzitutto attuare una procedura di gara: l’azienda interessata al prodotto, in questo caso l’ospedale che necessita di nuovi microscopi operatori, definisce dei criteri di valutazione che i competitor devono soddisfare e viene indetta una gara attraverso una deliberazione del Direttore Generale. Questi criteri servono a determinare la qualità dello strumento e sono suddivisi in specifiche tecniche minime, specifiche tecniche opzionali e conformità. Le prime specifiche in oggetto devono essere soddisfatte dai prodotti di tutte le aziende che competono per aggiudicarsi la fornitura, pena l’esclusione. Esse vengono valutate in 3 modalità: lineare, discrezionale e tabellare, ovvero ogni caratteristica tecnica presente all’interno delle specifiche viene valutata con un punteggio, che viene assegnato in uno dei 3 modi citati. Nel caso in cui il criterio di valutazione sia lineare il punteggio viene attribuito linearmente in funzione del

parametro che si sta esaminando, entro i limiti (ad esempio, se il massimo ottenibile da una caratteristica è 5 punti, l'azienda sulla base di quanto efficacemente provvede alla specifica richiesta riceve un punteggio da 1 a 5); nel caso di valutazione discrezionale invece, è la commissione di gara a determinare la percentuale di punti che una data azienda raggiunge per il proprio prodotto nella caratteristica in esame; infine, nel caso di punteggio tabellare, l'attribuzione è netta, cioè la caratteristica tecnica solitamente ha un punteggio basso (ad esempio un paio di punti) che viene assegnato totalmente o non viene assegnato a seconda del fatto che il prodotto possieda tale caratteristica o meno. Insieme alle specifiche tecniche minime vengono valutate anche le specifiche tecniche opzionali, secondo lo stesso criterio di ripartizione dei punti utilizzato per le prime. A differenza delle specifiche tecniche minime, però, quelle opzionali non rappresentano motivo di esclusione di un costruttore dalla gara. Infine, per quanto riguarda le conformità, queste ultime sono normative e/o articoli che l'azienda e il prodotto devono rispettare per poter partecipare alla gara.

In una gara per l'aggiudicazione di una fornitura di strumenti, insieme alla qualità, viene valutato il costo proposto dall'azienda per il proprio prodotto. Fino ad ora in questa sezione si è parlato di punteggi ma bisogna considerare che, per quanto riguarda la qualità di uno strumento, l'ammontare massimo di questi, dato dalla somma di tutte le categorie, è 70. Infatti, il criterio di aggiudicazione di una fornitura prevede che quest'ultima avvenga, lotto per lotto, dalla ditta offerente il miglior rapporto qualità prezzo ai sensi dell'articolo 95 del Decreto Legislativo n. 50/2016 che definisce la ripartizione dei punti dedicandone 70 alla qualità del prodotto e 30 al suo prezzo. [11]

#### *4.2.2 La suddivisione dei lotti*

Come precedentemente menzionato, tra i soggetti che operano in una procedura di gara è presente una commissione composta da rappresentanti di diverse categorie di dipendenti dell'azienda interessata all'acquisto. Il compito di tale commissione è quello di esaminare e valutare le proposte delle aziende secondo i criteri già descritti. L'esito di questa analisi è una classifica delle aziende che hanno partecipato alla competizione e sulla base di tale graduatoria vengono assegnate le ripartizioni della fornitura oggetto della gara. Dunque il contratto di un acquisto che viene disposto a

seguito di una gara non è necessariamente assegnato integralmente ad una singola azienda vincitrice, ma è possibile che i prodotti di cui l'ospedale ha bisogno vengano suddivisi tra più competitor. Questo approccio consente all'ospedale di soddisfare al meglio le proprie esigenze per ogni campo di utilizzo e reparto in cui verranno impiegati i macchinari acquistati.

Per permettere questa suddivisione la procedura di gara prevede una ripartizione della fornitura in lotti. Nello specifico, nel caso della procedura di gara per microscopi operatori ed esoscopi aperta dall'ospedale di Padova nel 2022 i lotti che sono stati definiti sono 5:

- Microscopio per oftalmologia
- Microscopi per neurochirurgia
- Esoscopio per neurochirurgia
- Microscopi per chirurgia ricostruttiva vascolare e otoneurochirurgia
- Esoscopio per otorinolaringoiatria

[11] Ogni lotto viene valutato secondo i criteri descritti nel paragrafo precedente, dunque per ogni lotto viene valutato il rapporto qualità prezzo, secondo il criterio dell'offerta "economicamente più vantaggiosa", dove 70 punti vengono suddivisi nei criteri che valutano la qualità e 30 sono dedicati al prezzo. Per ogni lotto si elegge quindi un vincitore, che si aggiudica la sua fornitura in quanto primo in graduatoria. L'OEPV è uno dei criteri di aggiudicazione dell'appalto (l'altro è il minor prezzo). L'offerta economicamente più vantaggiosa ha la finalità di premiare le offerte non solo da punto di vista economico (a cui viene dato un peso meno rilevante), ma soprattutto dal punto di vista tecnico - qualitativo. L'offerta che si aggiudica l'appalto dovrà dimostrare il miglior rapporto qualità prezzo.

#### *4.2.3 La tabella dei punteggi in un caso concreto*

Dopo aver trattato genericamente la suddivisione dei punti e i metodi in cui questi vengono assegnati per quanto riguarda le qualità di un prodotto, per comprendere al meglio quanto trattato precedentemente, questo paragrafo descrive lo specifico caso di una tabella reale in cui vengono analizzati e giudicati gli aspetti del lotto denominato "Microscopi per neurochirurgia" appartenente alla gara aperta dall'ospedale di Padova nel 2022 per la fornitura di microscopi operatori ed esoscopi.

La tabella seguente (Tab. 4.1 [18]) è strutturata in 4 colonne: le prime due definiscono i criteri di giudizio e la ripartizione dei 70 punti totali per ogni categoria, le ultime due descrivono come i prodotti dei due competitor A e B rispondono alle richieste dell'azienda. Per ogni requisito per entrambe le aziende partecipanti, in tabella viene anche riportato il punteggio, sul totale disponibile, assegnato dalla commissione di gara.

Caratteristiche	Punti	Competitor A	Competitor B
Specifiche costruttive. A titolo esemplificativo verranno valutati: gradi di libertà di movimento, stabilità e facilità di posizionamento, sistemi di controllo e di illuminazione	10	Gradi di libertà di movimento, fluidità, facilità di illuminazione adeguati al tipo di chirurgia necessaria. Con riferimento alla stabilità il dispositivo proposto dispone di un sistema di smorzamento automatico delle vibrazioni	Gradi di libertà di movimento, fluidità, facilità di illuminazione adeguati al tipo di chirurgia necessaria.
		10	8
Specifiche funzionali e visualizzazione. A titolo esplicativo verranno valutati: corpo ottico, modalità di visualizzazione, terzo osservatore, tubo binoculare	15	Modalità di visualizzazione: il dispositivo proposto presenta tubo binoculare per primo osservatore e osservatore contrapposto ad inclinazione ed estensione variabile. Inoltre autofocus a doppio raggio laser. Terzo osservatore: co-osservazione laterale con movimento antero-	Limitazioni in estensione del tubo binoculare, terzo osservatore vincolato al movimento del corpo ottico



		posteriore svincolato dal corpo ottico	
		15	11
Caratteristiche tecniche e funzionali dei sistemi di diagnostica intraoperatoria. A titolo esplicativo: filtri disponibili, modalità di visualizzazione, letteratura a supporto	10	I sistemi presentano i medesimi sistemi di diagnostica intraoperatoria	I sistemi presentano i medesimi sistemi di diagnostica intraoperatoria
		10	10
Requisiti tecnici preferenziali non a pena di esclusione: visualizzazione ibrida, messa a fuoco robotizzata, gestione robotizzata del corpo ottico, memorizzazione posizione e modalità di richiamo, software analisi flusso sanguigno	10	Visualizzazione ibrida ed endoscopica, messa a fuoco robotizzata, gestione robotizzata del corpo ottico, memorizzazione e modalità di richiamo della posizione, software analisi quantitativa del flusso sanguigno	Visualizzazione ibrida endoscopica, analisi qualitativa del flusso sanguigno
		10	4
Prova pratica. A titolo esplicativo nel corso della prova pratica verranno valutati: ergonomia, qualità immagini nelle varie modalità funzionali, illuminazione,	20	A seguito delle prove effettuate in sala il prodotto proposto dalla ditta è risultato migliore per ergonomia (utilizzo più intuitivo, meno ingombrante sul tavolo operatorio,	A seguito delle prove effettuate il prodotto proposto è risultato di più difficile adattamento e meno intuitività nel

movimentazione, sistemi di controllo, punti osservazione, sistemi diagnostici		movimentazione facilitata) e livelli di robotizzazione. La presenza di un particolare filtro fornisce immagini con definizione superiore. Sistemi diagnostici: possibilità di aggiornamento con microscopio confocale intraoperatorio	corso degli interventi
		20	8
Servizio di assistenza tecnica nel periodo di garanzia, garanzia superiore a 12 mesi	5	Il problema viene risolto in 32 ore lavorative	Il problema viene risolto in 24 ore lavorative
		4	5
		69	46

*Tab. 4.1 Suddivisione dei punteggi del lotto "Microscopi per neurochirurgia"*

Dalla tabella si deduce facilmente che il vincitore sia il competitor A, in quanto totalizza un punteggio finale maggiore poiché il suo prodotto risponde meglio alle richieste dell'ospedale. Le differenze più marcate si osservano soprattutto in due categorie: nei requisiti tecnici preferenziali il microscopio del competitor A propone più accessori e quindi possiede funzioni più incrementate e/o incrementabili, mentre nella prova pratica il competitor B propone un prodotto meno ergonomico, versatile, maneggevole o intuitivo, motivazioni che spingono la commissione a valutarlo in modo notevolmente inferiore rispetto alla proposta del competitor A.

Entrando più nel dettaglio di queste categorie si possono fare ulteriori osservazioni su come esse siano state valutate e sulle suddivisioni dei punteggi nella Tab. 4.1. La prima riflessione riguarda l'attuale importanza delle funzioni accessorie dei microscopi operatori: nonostante queste non siano motivo di esclusione dei competitor dalla gara, la loro valutazione segna un grande distacco tra i prodotti proposti. Infatti, l'azienda

A, che possiede un microscopio tecnologicamente avanzato e fornito di tutti gli accessori richiesti, riceve un punteggio superiore rispetto all'azienda B, che propone uno strumento completo di solamente due dei requisiti tecnici preferenziali richiesti. La seconda considerazione è relativa alla categoria "Prova pratica" dove vengono valutate l'ergonomia del dispositivo, la sua intuitività nell'utilizzo e la sua resa complessiva. Emerge dunque la fondamentale importanza della comodità del microscopio operatorio per il personale che lo adopera: innanzitutto l'ammontare del punteggio acquisibile in questa sezione è maggiore rispetto a quello delle altre categorie, dopodiché si osserva come la commissione abbia valutato severamente questa sezione, segnando un ampio vantaggio del costruttore A su B.

Alla luce delle indagini svolte e ripetendo ciò che è stato precedentemente affermato, si può concludere in maniera molto ovvia che la motivazione che porta l'azienda A ad aggiudicarsi l'approvvigionamento dei microscopi operatori oggetto del lotto della gara sia il fatto che il microscopio operatorio da essa proposto abbia garantito più soddisfacentemente i requisiti posti dall'ospedale.

#### **4.3 Il collaudo dei nuovi macchinari**

Al termine della procedura di gara vengono decretate le aziende vincitrici e vengono stipulati i contratti di acquisto. L'ospedale dunque procede alla stesura dell'ordine degli strumenti che viene trasmesso all'azienda e quest'ultima provvede a inviarli insieme alla seguente documentazione:

- Documento di trasporto della ditta che trasferisce il macchinario dal venditore all'acquirente.
- Documentazione amministrativa a supporto, ovvero l'ordine a cui fa riferimento l'acquisto delle attrezzature.
- Verbale delle verifiche di sicurezza elettrica effettuate sul dispositivo, che certifica che il dispositivo sia stato testato e sia elettricamente in sicurezza, ovvero non presenti difetti che possano condurre a perdite dannose e/o pericolose.
- Certificazione CE, ovvero il documento che conferma che il prodotto venduto sia concorde con le direttive o i regolamenti di marcatura applicabili della Comunità Europea.

- Scheda tecnica del prodotto, che ne descrive le caratteristiche tecniche.
- Manuale d'uso del prodotto, che spiega come utilizzare lo strumento nel dettaglio, dai comandi di base fino alle funzioni accessorie.

Quando la strumentazione richiede una particolare attenzione nel suo funzionamento in quanto delicata, costosa, ingombrante e molto importante per l'uso a cui è predisposta, come nel caso di microscopi operatori, il collaudo del macchinario avviene in loco, cioè presso il reparto a cui è destinato. Qui sono presenti i tecnici che effettuano il collaudo, un rappresentante della ditta fornitrice (o costruttrice) e gli ingegneri clinici che supervisionano la procedura. Al termine della prova viene rilasciato un verbale.

La ditta fornitrice deve sempre offrire un corso di formazione per il personale sanitario e per i medici destinati a utilizzare il macchinario. In questo incontro vengono spiegate le funzioni dello strumento e tutto ciò che è necessario sapere per adottarlo come ausilio nelle procedure: ad esempio, vengono spiegate le competenze di base per manovrarlo, le funzioni di un eventuale display e come controllarlo.

#### **4.4 L'inserimento dei macchinari nel server ospedaliero**

Al termine del percorso documentale amministrativa e pratico operativo descritto in questo capitolo, l'attrezzatura acquistata viene inserita dagli ingegneri clinici in InfoHealth, un software gestionale che funge da archivio che contiene le informazioni su tutti i beni presenti sia in acquisto che in comodato o noleggio.

Inserire uno strumento in questo server significa inventariarlo, ovvero ad esso vengono assegnati un numero e un'etichetta con cui poi viene riconosciuto univocamente. Tale sistema permette in caso di malfunzionamento, necessità di sostituzione di un componente, o qualunque altra evenienza di individuare rapidamente il macchinario. Assieme all'inventario vengono registrati dati quali il numero di matricola, il costruttore, il fornitore, le informazioni del collaudo (come la data e l'esito), il reparto di destinazione dello strumento, il centro di costo, (ovvero il reparto che lo ha acquistato), l'estensione della garanzia e la forma di presenza del dispositivo, che non necessariamente è stato acquistato dall'ospedale in quanto può averlo acquisito anche sotto forma di noleggio oppure comodato.

## 5 – IL MODELLO KINEVO 900, I SUOI ACCESSORI E CONCLUSIONI DELLO STUDIO

### 5.1 Il microscopio KINEVO 900

Precedentemente è stata discussa la procedura di gara indetta dall'azienda Ospedale – Università di Padova riguardante i microscopi operatori, sono stati definiti i criteri secondo cui un produttore si aggiudica una fornitura ed è stato fornito un esempio di una tabella di valutazione delle prestazioni di alcuni prodotti. Dunque, in questo ultimo capitolo, viene descritto dettagliatamente il microscopio operatorio KINEVO 900 (Fig. 5.1), modello vincitore della procedura di gara, viene analizzato brevemente un caso clinico in cui è stato utilizzato tale microscopio e infine vengono tratte le conclusioni riguardanti l'intero studio svolto in questa tesi.



*Fig. 5.1 Microscopio operatorio KINEVO 900*

#### *5.1.1 Le caratteristiche tecniche*

Per quanto riguarda l'ottica del KINEVO 900, il microscopio possiede zoom e messa a fuoco motorizzati con distanza di lavoro che va dai 200 ai 625 mm; inoltre, come altri microscopi descritti all'interno del secondo capitolo, possiede un sistema di autofocus regolato con due punti laser visibili e controllato nella modalità automatica con freni magnetici.

L'illuminazione del sistema è regolata da 2 lampade allo xeno, che si ricorda essere un'altra caratteristica comune ai microscopi M530 OHX e Pentero, analizzati nel secondo capitolo. Il cambio delle lampade è automatico. Inoltre, il microscopio

possiede un sistema di intelligenza artificiale per la regolazione automatica dell'illuminazione del campo visivo e la soglia di illuminazione può essere impostata individualmente. Un altro software è disposto per regolare l'intensità della luce in base alla distanza di lavoro, mentre la regolazione del diametro del campo di illuminazione è manuale. In aggiunta è presente un fascio di illuminazione per le zone d'ombra, anche questo è motorizzato.

Per quanto riguarda la struttura nella sua totalità, il sistema è dotato di frizioni magnetiche per tutti i suoi assi, il movimento è robotizzato ed è dotato di smorzamento attivo. È presente una funzione che permette di bloccare il microscopio in una data posizione, che è anche memorizzabile. [19]

### *5.1.2 La robotizzazione con IA*

Per facilitare il posizionamento di precisione, il microscopio KINEVO 900 utilizza un sistema di robotica controllato dal chirurgo che permette di mettere a fuoco e muoversi intorno a una struttura, grazie agli assi completamente motorizzati, per visualizzare l'anatomia di interesse riducendo gli interventi manuali. Inoltre è presente una funzione che consente di visualizzare un'area maggiore all'interno di una cavità, vantaggiosa nel caso di aree il cui accesso è ristretto.

Per ovviare problemi che possono essere causati da piccole vibrazioni il microscopio è dotato di un sistema di smorzamento attivo che le minimizza in modo da assicurare la stabilità.

KINEVO 900 è completo anche di un software che permette di memorizzare delle posizioni in modo da poter tornare in aree di interesse già visualizzate in precedenza mantenendo esattamente gli stessi valori di ingrandimento, distanza di lavoro e messa a fuoco; non è dunque necessario il riposizionamento manuale. Questo è possibile grazie a una traiettoria pre – mappata a cui il microscopio si allinea utilizzando tutti gli assi di movimento. Il posizionamento automatico si può utilizzare anche in punti di riferimento anatomici predefiniti tramite una pianificazione preoperatoria dei dati. [19]

### *5.1.3 Un confronto con Pentero*

Nel secondo capitolo tra i microscopi presentati per rappresentare l'evoluzione delle tecnologie si trova Pentero, ideato dalla stessa azienda produttrice di KINEVO 900,

oggetto dell'analisi di questo capitolo; dunque, in questo paragrafo si confrontano i due modelli per comprendere le loro differenze. A tale scopo nella tabella seguente (Tab. 5.1 [20]) vengono riassunte le caratteristiche dei due microscopi:

	OPMI Pentero	KINEVO 900
Data di commercio	2004	2017
Tubo ripieghevole	–	Sì, permette un'estensione da 15 a 22 cm e una funzione per un ulteriore ingrandimento del 50%
Distanza di lavoro	200 – 500 mm	200 – 625 mm
Illuminazione supplementare per le cavità profonde	Attivato manualmente	Attivato elettronicamente
Interfaccia di controllo	Monitor a 15'' con un unico snodo di rotazione	Monitor a 24'' con 3 snodi di rotazione
Memoria dati interna	120 Gb	1 Tb
Telecamera incorporata	Una sola tipologia	4 possibili telecamere: bidimensionale a triplo sensore, bidimensionale 4K a triplo sensore, doppia telecamera tridimensionale a triplo sensore, doppia telecamera tridimensionale 4K a triplo sensore
Registrazione parallela in alta e bassa definizione	–	Sì
Videoregistrazione 3D	Semi-integrata con colonna esterna	Integrata nello strumento
Smart recording	–	Sì, permette di avviare la registrazione 5 minuti prima

		della pressione del pulsante di registrazione
Fluorescenze intraoperatorie	2 possibili: BLUE 400 (tumorale) e IR 800 + FLOW 800 (vascolare)	4 possibili e tutte installabili contemporaneamente: YE 560, BLUE 400, IR 800, FLOW 800
Fluorescenza con indocianina green	INFREARED 800	INFRARED 800 con possibilità di overlay che evita la fase di setup e iniezione negli oculari in tempo reale
Smorzamento attivo	–	Sì, il sistema annulla ogni vibrazione
Point lock	–	Sì, viene mantenuta la messa a fuoco anche durante lo spostamento del corpo ottico
Point lock pivot	–	Sì, per osservare l'oggetto da diverse angolazioni mantenendo la distanza focale
Posizionamento del telo	–	Sì, la vestizione del microscopio è memorizzata e richiamabile dall'interfaccia
Posizione di parcheggio	–	Sì, porta il microscopio nella posizione ideale per essere messo a riposo
3D	Semi-integrata con colonna esterna	Sistema incorporato completo, direttamente dal monitor

*Tab. 5.1 Confronto tra OPMI Pentero e KINEVO 900*



Attraverso l'analisi delle caratteristiche dei due microscopi in oggetto, si evince chiaramente che il modello KINEVO 900 presenta funzionalità complessivamente più avanzate e, in alcuni casi, caratteristiche e proprietà assenti completamente nel modello Pentero. Indubbiamente, uno dei fattori chiave che contribuisce a tale divario è l'anno di produzione: il microscopio KINEVO 900 è stato introdotto sul mercato più di un decennio dopo il Pentero, questione che ha consentito alla tecnologia di progredire notevolmente durante tale periodo.

Tra le differenze più evidenti tra i due microscopi spiccano le funzionalità che fanno uso dell'intelligenza artificiale. Il microscopio KINEVO 900 è ampiamente robotizzato attraverso l'impiego dell'IA in vari aspetti che governano la sua struttura, come nel caso dello smorzamento attivo, del blocco della messa a fuoco e nelle funzioni di memorizzazione di posizioni della struttura e/o del corpo ottico. Il modello Pentero, invece, non dispone di questo tipo di tecnologia. Inoltre, il microscopio KINEVO 900 è notevolmente più avanzato anche in termini di funzionalità legate alla fluorescenza, altro aspetto che nel corso del tempo è stato sviluppato e potenziato per la migliore riuscita degli interventi.

In conclusione, il microscopio KINEVO 900 rappresenta una scelta più avanzata e tecnologicamente sofisticata rispetto al Pentero.

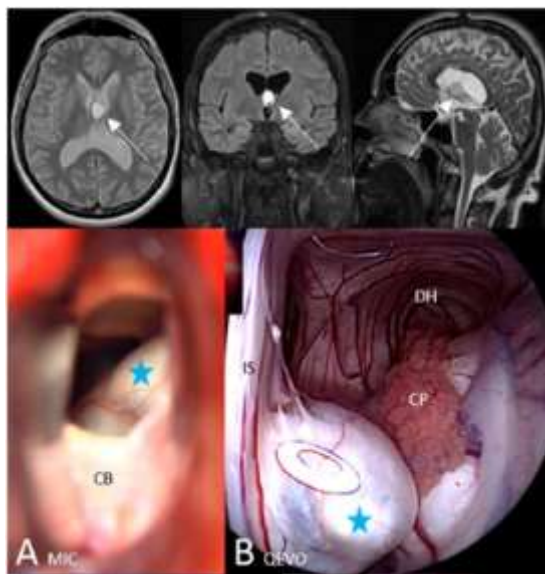
## **5.2 Gli accessori di KINEVO 900**

### *5.2.1 QEVO per l'endoscopia*

Siccome la visualizzazione dalla prospettiva esterna di un microscopio è limitata a una linea retta, mancano le informazioni relative alle aree dietro ai tessuti o agli angoli, dunque è stato sviluppato un accessorio di micro-ispezione che integra la visualizzazione microchirurgica intraoperatoria consentendo di osservare anche aree che la visualizzazione classica del microscopio non permette di raggiungere, eliminando i punti ciechi. Grazie a questo dispositivo, denominato QEVO, il chirurgo può raccogliere un maggior numero di informazioni e compiere meglio le decisioni sul caso clinico in oggetto.

Questo accessorio è completamente integrato per il microscopio KINEVO 900, dunque non sono necessari ulteriori dispositivi durante l'intervento. [19]

Per comprendere al meglio il funzionamento e l'utilità di questo accessorio, si fa riferimento a uno studio svolto su 25 pazienti con 26 lesioni craniche complesse per cui è stato impiegato QEVO. Il dispositivo è stato utilizzato in ogni operazione ma mai per più di 10 minuti totali per paziente; in 19 pazienti è stato impiegato per dei controlli finali sulle asportazioni effettuate, in 17 pazienti è stato impiegato per osservare dietro al tumore e rilevare la presenza di eventuali nervi, vasi o tessuti aderenti, in 16 pazienti è stato utilizzato per ispezionare le aree più remote di ventricoli e spazi subdurali per assicurarsi dell'assenza di perdite sanguigne anormali. In 8 casi, grazie all'impiego di questo strumento l'equipe chirurgica ha modificato l'approccio all'intervento in base a quanto rilevato dall'endoscopio, mentre in 5 pazienti lo strumento è stato utilizzato per rilevare lesioni piccole e nascoste. Per evidenziare al meglio l'importanza dell'utilizzo di QEVO si osserva il caso clinico di uno dei pazienti sopra citati: un uomo di 43 anni che presentava una ciste a livello del canale che collega i due ventricoli laterali del cervello al terzo ventricolo e che permette il flusso di liquido cerebrospinale tra essi. [21]



*Fig. 5.2 Immagine MRI della ciste in alto, visualizzazione con KINEVO 900 (A), visualizzazione con QEVO (B)*

Come si può vedere dalla figura Fig. 5.2, dalla visione che offre il microscopio la ciste è solo parzialmente visibile, mentre con l'impiego dell'endoscopio essa è visibile

chiaramente e se ne possono comprendere le proporzioni, consentendo al chirurgo di poter decidere al meglio come operare.

Nelle conclusioni di questo studio viene riportato che lo strumento QEVO è sempre stato flessibile e non ha mai comportato problemi tecnici, inoltre la sua qualità di immagine è sempre stata eccellente. Più sommariamente si può concludere affermando che l'impiego di un accessorio per l'assistenza endoscopica come QEVO può essere cruciale per un approccio sicuro alla lesione, alla sua dissezione e alla sua rimozione. [21]

### *5.2.2 La telecamera 4K*

Uno degli aspetti fondamentali per avere un buon microscopio operatorio è l'ergonomia, ovvero il chirurgo deve poter evitare di assumere posizioni scomode e non si deve affaticare utilizzandolo. Il microscopio KINEVO 900 offre la possibilità al chirurgo di lavorare in assenza degli oculari, in modo da permettere senza fatica visualizzazioni da angolazioni complesse. Tale miglioramento è possibile grazie a un sistema di visualizzazione digitale ibrida con una telecamera 4K integrata che permette anche la scelta delle configurazioni ottiche in funzione delle necessità applicative. Un ulteriore vantaggio che si ottiene dalla possibilità di visualizzare il campo operativo con la videocamera 4K è che tutti gli assistenti e lo staff in sala operatoria possono condividere la stessa immagine digitale ad alta risoluzione e seguire la procedura. [19]

### *5.2.3 I moduli di visualizzazione*

Il microscopio KINEVO 900 è dotato di 4 modalità di visualizzazione che permettono di analizzare la dinamica del flusso sanguigno in tempo reale, visualizzare tessuti tumorali, visualizzare le strutture mediante fluorescenza e in colori naturali.

Per la valutazione intraoperatoria del flusso sanguigno e della pervietà dei vasi durante gli interventi di aneurisma e bypass, ma anche durante la chirurgia delle malformazioni vascolari, è possibile impiegare INFRARED 800 che consente la visione anche di vasi di dimensioni inferiori al millimetro grazie alla tecnologia a infrarossi.

Questo primo metodo di visualizzazione può essere implementato combinandolo con FLOW 800, per analizzare il flusso sanguigno. Quest'ultimo infatti identifica

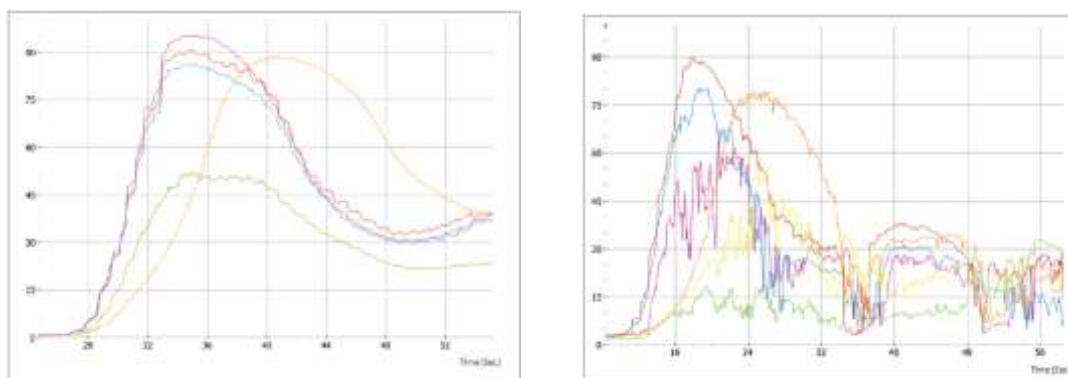
dettagliatamente il flusso vascolare dalle sequenze video ottenute da INFRARED 800 e in seguito genera dati sulla sua dinamica.

Inoltre, nel caso di necessità di visualizzare intraoperativamente il tessuto tumorale durante un intervento di glioma si può utilizzare a supporto il modulo BLUE 400<sup>2</sup>. Infine, per la visualizzazione in fluorescenza in ulteriori campi di applicazione della ricerca, si può utilizzare YELLOW 560<sup>2</sup> che evidenzia in giallo le strutture fluorescenti lasciando quelle non fluorescenti del loro colore naturale. [19]

### 5.3 Valutazioni del microscopio KINEVO 900 e dei suoi accessori

In questo paragrafo si analizzano le esperienze di più chirurghi che hanno utilizzato nei loro interventi e nei loro studi il microscopio KINEVO 900 e i suoi accessori, come QEVO e le visualizzazioni in fluorescenza.

I primi autori della recensione del microscopio presentano un caso di aneurisma di biforcazione dell'arteria cerebrale media destra operato tramite craniotomia pterionale destra e clipping. L'equipe chirurgica ha eseguito uno studio attraverso FLOW 800 a seguito di una somministrazione del colorante ICG, sia prima che dopo il clipping dell'aneurisma. Questo ha permesso di guidare il flusso sanguigno nella sacca dell'aneurisma e nelle arterie circostanti attraverso una rappresentazione grafica, come si può vedere dalla figura Fig. 5.3.



*Fig. 5.3 Grafici ottenuti da FLOW 800: il significativo flusso sanguigno nella sacca dell'aneurisma (a sinistra), l'annientamento del flusso sanguigno nella sacca dell'aneurisma (a destra)*

In questo caso, il grafico della regione di interesse posizionato sulla sacca dell'aneurisma indica chiaramente che il flusso nella sacca è stato eliminato dopo il clipping dell'aneurisma, come si può osservare sempre nella figura Fig. 5.3.

Il team di Belykh et al., invece, ha valutato le prestazioni del modello KINEVO 900 e le ha confrontate con il modello precedente del microscopio operatorio. In un laboratorio di ricerca in neurochirurgia, gli autori hanno effettuato dissezioni anatomiche e esaminato le caratteristiche robotiche, esoscopiche, endoscopiche e di fluorescenza. Queste funzionalità e la comodità d'uso sono state testate in sala operatoria per un anno. Il microscopio nuovo ha dimostrato una maggiore sensibilità alla fluoresceina (composto chimico che, colpito da raggi ultravioletti, emette fluorescenza a una lunghezza d'onda compresa tra 520 e 530 nm, con colorazione giallo verde [23]) del sodio, ha permesso una visualizzazione più dettagliata su uno sfondo non fluorescente e ha registrato/presentato immagini con una qualità del colore simile all'osservazione attraverso gli oculari. La visualizzazione della protoporfirina IX, invece, è risultata simile a quella che si ottiene attraverso il microscopio precedente. La riproduzione dell'imaging ICG nel vicino infrarosso ha consentito una valutazione più accurata del flusso sanguigno nel nuovo modello. Per quanto riguarda la mobilità del microscopio, le funzioni di blocco e di rotazione sono state utilizzate nelle dissezioni per creare dimostrazioni di anatomia microchirurgica in realtà virtuale tridimensionale. Da queste si è potuto evincere che il controllo del punto di rotazione sia particolarmente utile nei corridoi chirurgici profondi. La funzione esoscopica tridimensionale è stata utilizzata con successo nei casi di tumore cerebrale e colonna vertebrale, mentre l'assistenza endoscopica è stata utilizzata per visualizzazioni angolate in approcci minimamente invasivi. Dunque, i miglioramenti della piattaforma di visualizzazione robotica includono la visualizzazione intraoperatoria in fluorescenza, l'attrezzatura di micro-ispezione integrata (QEVO), la chiarezza dell'immagine osservata attraverso gli oculari e la modalità esoscopica.

Al termine di questa ricerca si può affermare anche che i nuovi movimenti robotici, essendo ergonomici, assistono il chirurgo positivamente fornendogli un buon comfort intraoperatorio con conseguente potenziale per migliorare la qualità della visione. In aggiunta, però, si deve tenere conto del fatto che le nuove modalità operative comportano un significativo impatto nell'istruzione: con l'aumento del numero e della

complessità delle funzioni, i chirurghi dovrebbero ricevere una formazione aggiuntiva per poter beneficiare delle numerose nuove caratteristiche.

Infine si analizza un'ultima valutazione effettuata da Schebesch et al., che hanno riportato nell'articolo la loro esperienza in uno studio su cadaveri e in una serie di casi clinici utilizzando il nuovo strumento di micro-ispezione QEVO, accessorio integrato nel microscopio KINEVO 900. Il vantaggio nell'impiego di QEVO è stato evidente sia nello studio su cadaveri che nella serie di casi clinici che sono stati affrontati: si ha un miglioramento nella qualità della visualizzazione delle strutture sottili e in quella di dettagli anatomici nascosti. La sua maneggevolezza, inoltre, risulta buona e il flusso di lavoro non viene complicato dall'aggiunta di tale strumento. Quindi, la valutazione dei chirurghi per questo prodotto è positiva: essi affermano che migliori il range della tecnologia neurochirurgica moderna.

Gli autori concludono che, con l'avvento di ottiche avanzate e robotica, il KINEVO 900 sia un microscopio che riduce al minimo il tempo necessario per piccoli aggiustamenti con grande precisione nella visualizzazione delle strutture vascolari. Più nel dettaglio, FLOW 800 è una funzione che potenzia la visualizzazione attraverso ICG, ciò rende più efficace l'identificazione della sacca di aneurisma parzialmente chiusa e aiuta la prevenzione del clipping accidentale di piccoli rami arteriosi adiacenti, mentre QEVO migliora la visualizzazione chirurgica integrando la vista microchirurgica e consentendo di osservare zone che altrimenti risulterebbero punti ciechi. Questi vantaggi del KINEVO 900 portano a un miglior esito chirurgico con la minimizzazione delle complicazioni intraoperatorie. [22]

#### **5.4 Conclusioni**

Al termine di questo studio si riassumono brevemente gli aspetti trattati nei loro punti salienti per poter poi trarre le considerazioni finali. Il primo capitolo di questa tesi ha presentato i principi di ottica fondamentali e ha descritto le origini del microscopio delineando l'importanza della sua introduzione in sala operatoria. Nel secondo capitolo è stata esaminata l'evoluzione della tecnologia conducendo un confronto tra vari modelli di microscopi operatori presenti sul mercato al fine di valutare le diverse proposte disponibili. Successivamente, nel terzo capitolo, è presente l'approfondimento di una delle tecnologie più avanzate, ovvero la visualizzazione in

fluorescenza. Il quarto capitolo invece, ha messo in luce l'esperienza di tirocinio e il suo scopo era quello di introdurre l'ultimo capitolo, in cui è stato presentato il microscopio operatorio acquisito dall'Azienda Ospedale di Padova, descritto in modo dettagliato nella sua interezza. Ciò ha permesso di comprendere le ragioni alla base della scelta di KINEVO 900 e di esaminare la sua tecnologia per confrontarla con quanto è stato esposto nelle sezioni precedenti.

Sulla base quanto trattato, per iniziare queste conclusioni si parte da una valutazione del modello KINEVO 900 rispetto alle prime tecnologie al fine di segnare quali sono gli aspetti che sono stati migliorati. Innanzitutto, considerando la struttura del microscopio operatorio, il progresso è notevole: dal 1958, quando è stato prodotto il primo supporto per microscopi operatori, le tecnologie sono migliorate sia sotto il punto di vista dell'ergonomia, come viene descritto nel primo paragrafo di questo capitolo in cui si afferma che il microscopio KINEVO 900 è sviluppato per assicurare il comfort del chirurgo, che dal punto di vista dell'incremento delle funzioni di cui la struttura dispone, come la memorizzazione delle posizioni di lavoro e lo smorzamento delle vibrazioni, una problematica che era presente fin dagli albori della tecnologia e che ha trovato la sua soluzione. Anche le messe a fuoco, che erano già state motorizzate negli anni '60, vengono migliorate con l'ausilio dell'intelligenza artificiale, così come l'illuminazione del campo operativo. Per quanto riguarda il corpo ottico invece, dai primi microscopi operatori il salto di qualità è impressionante: la visualizzazione attuale, come nel caso del KINEVO 900, è stata implementata da funzioni come quella della telecamera 4K che permette all'intera equipe medica di osservare l'intervento, quando originariamente solo il primo chirurgo poteva farlo, e da accessori come QEVO per l'endoscopia.

A questo punto si consideri quanto trattato nel secondo capitolo: sono presenti molteplici modelli di microscopi e uno di questi, Pentero, è già stato confrontato con KINEVO 900. Volendo però ampliare questo confronto si considerino gli altri due che vengono presentati. Nel caso di M530 OHX si può osservare come l'illuminazione sia ancora comune con KINEVO 900, dunque si può concludere che la soluzione con le lampade allo xeno sia la migliore attualmente disponibile sul mercato; un'altra caratteristica condivisa è la possibilità di aumentare l'ingrandimento, così come la messa a fuoco tramite laser è disponibile per tutti e due i modelli. Ciò che KINEVO

900 possiede in aggiunta rispetto a M530 OHX è il sistema di smorzamento delle vibrazioni, mentre entrambi i microscopi offrono una vasta gamma di movimenti per garantire la facilità di utilizzo. Nel caso, invece, di un confronto con OPMI Neuro NC4 la differenza che era presente tra quest'ultimo e gli altri microscopi analizzati nel secondo capitolo persiste anche con il modello KINEVO 900 ed è l'illuminazione, che nel caso di OPMI Neuro NC4 prevede sia una lampada allo xeno che una alogena di scorta.

Si procede poi fino al terzo capitolo che si concentra sulla fluorescenza, in particolare su due sostanze: l'acido 5-ALA, precursore della protoporfirina IX e l'indocianina green. Il modello KINEVO 900 offre moduli di visualizzazione in fluorescenza per entrambe queste sostanze: il BLUE 400<sup>2</sup> e INFRARED 800, entrambi valutati positivamente dai chirurghi, come è possibile notare nel paragrafo precedente a questo. In aggiunta però, questo microscopio possiede altre due opzioni, ovvero FLOW 800 e YELLOW 560<sup>2</sup>. La prima di queste due è un'implementazione della visualizzazione con ICG per determinare l'andamento del flusso sanguigno, mentre la seconda evidenzia solamente le strutture fluorescenti. Dunque anche sotto il punto di vista della visualizzazione in fluorescenza si può concludere che il microscopio operatorio KINEVO 900 sia molto avanzato e offra molte possibilità a seconda delle esigenze del chirurgo e dell'intervento in atto.

Quanto appena affermato fa comprendere le motivazioni che hanno portato l'Azienda Ospedale – Università di Padova a decretare KINEVO 900 la migliore scelta: complessivamente il microscopio possiede un insieme di tecnologie all'avanguardia che lo rendono versatile e performante.

Un ultimo aspetto che è doveroso menzionare all'interno di queste conclusioni è la continua evoluzione del microscopio operatorio in qualità di strumento a disposizione del personale sanitario: come si è potuto osservare in questo lavoro di tesi, il dispositivo ha raggiunto livelli di ingegnerizzazione elevatissimi e nonostante ciò i produttori lanciano sul mercato innovazioni continue, facendo comprendere che la ricerca non è assolutamente finita. Ci si può dunque aspettare che, con l'avvento dell'intelligenza artificiale sul mercato, saranno ancora molte le funzioni che verranno implementate, sia a livello della struttura che per quanto riguarda il corpo ottico.



## BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

- [1] Young H. D., Freedman R. A., Lewis Ford A. (2016), *Principi di Fisica. vol.2 Elettromagnetismo e Ottica*, Milano – Torino, Pearson Italia
- [2] Marcos S., Burns S.A., Moreno-Barriusop E., Navarro R. (1999), *A new approach to the study of ocular chromatic aberrations*, *Vision Research*, 39 (26): 4309 – 4323, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(99\)00145-5](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(99)00145-5)
- [3] Wu Q., Merchant F. A., Castleman K. R. (2008), *Microscope Image Processing*, Academic Press, DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372578-3.X0001-3>
- [4] Liczbik O., Goertz S., Wiśniewski J., Kurlandt P., Libionka W., Adamski S., Kloc W. (2019), *From magnifying glass to operative microscope – the past and the present of microsurgery*, *Pol J Pathol*, 70 (1): 14 – 20, DOI: <https://doi.org/10.5114/pjp.2019.84457>
- [5] Uluç K., Kujoth G. C., Başkaya M. K. (2009), *Operating microscopes: past, present, and future*, *Neurosurg Focus* 27 (3):E4, DOI: <https://doi.org/10.3171/2009.6.FOCUS09120>
- [6] Chiapasco M., Ronchi P., Scola G. (1993), *Neurilemmoma (schwannoma) of the oral cavity. A report of 2 clinical cases*, *Minerva Stomatologica*, 42(4):173 – 178, <https://europepmc.org/article/med/8413099>
- [7] *M530 OHX<sup>®</sup> con FusionOptics<sup>®</sup>* (2021) [Brochure], Leica Microsystems<sup>®</sup>
- [8] *OPMI<sup>®</sup> PENTERO 800 di ZEISS* (2014) [Brochure], Carl Zeiss Meditec AG<sup>®</sup>

- [9] OPMI® Neuro/NC 4 System. *The Standard of Excellence* [Brochure], Carl Zeiss Meditec AG®
- [10] Zarpellon C., *Proprietà illuminotecniche delle lampade a LED*, tesi di laurea, Università degli Studi di Padova, 2010, Relatore: Tenti P.
- [11] <https://www.treccani.it/vocabolario/fluoroforo/>
- [12] [https://www.treccani.it/enciclopedia/fluorocromo\\_%28Enciclopedia-della-Scienza-e-della-Tecnica%29/](https://www.treccani.it/enciclopedia/fluorocromo_%28Enciclopedia-della-Scienza-e-della-Tecnica%29/)
- [13] Sanderson M. J., Smith I., Parker I., Bootman M. D. (2014), *Fluorescence Microscopy*, Cold Spring Harb Protoc., DOI: <https://doi.org/10.1101/pdb.top071795>
- [14] Santi S., Maraldi N.M., (1995) *Microscopia confocale: una visione introduttiva*, GNOSEIS Organo ufficiale della Fondazione Aloisi-Pertini. (pp.18-25), Bologna, Conti, <https://www.researchgate.net/publication/309732775>
- [15] Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A., Pätilä T., Spillmann T., Tuchin V.V., Venermo M., Välisuo P., (2012) *A Review of Indocyanine Green Fluorescence Imaging in Surgery*, International Journal of Biomedical Imaging, Hindawi Publishing Corporation, DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/940585>
- [16] Stepp H., Stummer W., (2018), *5-ALA in the Management of Malignant Glioma*, *Lasers in Surgery and medicine*, 50: 399 – 419, Wiley Periodicals LLC, DOI: <https://doi.org/10.1002/lsm.22933>
- [17] Karanicolas P.J., (2017), *Chapter 3 - Assessment of hepatic function: Implications for the surgical patient*, Editor: William R. Jarnagin, *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas, 2-Volume Set (Sixth Edition)*, Elsevier, Pages 60-65, DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-34062-5.00003-0>

- [18] Delibera del Direttore Generale 17/01/2023, n. 65, *Fornitura di "Microscopi e esoscopi" per reparti vari dell'Azienda Ospedale – Università Padova.*
- [19] *KINEVO 900 di ZEISS. Il progresso della sicurezza chirurgica* (2019) [Brochure], Carl Zeiss Meditec AG<sup>®</sup>
- [20] *Comparazione. OPMI<sup>®</sup> Pentero<sup>®</sup>/ ZEISS KINEVO 900.* (2018) [Revisione], Carl Zeiss Meditec AG<sup>®</sup>
- [21] Schebesch K.M., Doenitz C., Höhne J., Haj A., Schmidt N.O., (2021), *Endoscopic Assistance in the Deep and Narrow Spaces of the Brain—Microscopic Tumor Surgery Supported by the New Micro-Inspection Tool QEVO<sup>®</sup> (Technical Note)*, *Frontiers in Surgery*, DOI: <https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.648853>
- [22] Nakao K., Tahavara B.D., Tanaka R., Yamada Y., Joshi G., Miyatani K., Kawase T., Kato Y., (2020), *Surgeon Experience of the Surgical Safety with KINEVO 900 in Vascular Neurosurgery: The Initial Experience*, *Asian Journal of Neurosurgery*, 15: 464 – 7, Wolters Kluwer – Medknow, DOI: [https://doi.org/10.4103/ajns.AJNS\\_40\\_20](https://doi.org/10.4103/ajns.AJNS_40_20)
- [23] [https://www.treccani.it/enciclopedia/fluoresceina\\_%28Dizionario-di-Medicina%29/](https://www.treccani.it/enciclopedia/fluoresceina_%28Dizionario-di-Medicina%29/)