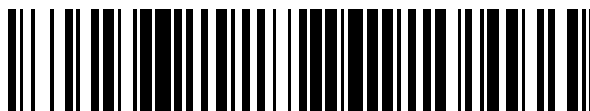


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 410 538**

51 Int. Cl.:

A61B 1/00 (2006.01)

G02B 21/00 (2006.01)

G02B 23/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2007 E 07731377 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2020896**

54 Título: **Cabezal óptico miniaturizado de alta resolución espacial y alta sensibilidad, particularmente para el diagnóstico por imagen de fluorescencia confocal fibrada**

30 Prioridad:

05.05.2006 FR 0604019

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

02.07.2013

73 Titular/es:

**MAUNA KEA TECHNOLOGIES (100.0%)
9, RUE D'ENGHIE
75010 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

**GENET, MAGALIE;
MATHIEU, GILLES;
VIELLEBOBE, BERTRAND;
DOUSSOUX, FRANÇOIS;
BOULAROT, NICOLAS y
LAVILLONNIERE, NICOLAS**

74 Agente/Representante:

DÍAZ NUÑEZ, Joaquín

ES 2 410 538 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Cabezal óptico miniaturizado de alta resolución espacial y alta sensibilidad, particularmente para el diagnóstico por imagen de fluorescencia confocal fibrada

- 5
- [0001]** La invención presente se refiere a un cabezal óptico miniaturizado previsto para equipar un extremo distal de un haz de fibras ópticas flexibles, dicho cabezal está destinado a entrar en contacto con una superficie de análisis y a adaptarse para enfocar una señal de excitación transportada por dicho haz de fibras en un punto focal de excitación que puede estar situado en diferentes profundidades con respecto a la superficie de contacto del cabezal.
- 10 El cabezal óptico está también adaptado para tomar una señal retroemitida que proviene del punto focal de excitación subsuperficial para que sea enviado por el haz de fibras particularmente hacia medios de detección y de los medios de análisis y de tratamiento digital de señal.
- 15 **[0002]** Los campos de aplicación en cuestión son los dispositivos de análisis subsuperficial de carácter confocal, las señales transportadas que pueden ser particularmente del ámbito del diagnóstico por imagen y/o de la espectroscopia según la o las fuentes de excitación y los medios de detección aplicados. El carácter confocal resulta de la utilización de la misma fibra para transportar la señal de excitación y la señal retroemitida, y de una dimensión espacial muy reducida de la fibra. Puede tratarse de análisis biológicos in situ, en humanos o animales, externos por ejemplo del campo de la dermatología, o internos y accesibles con ayuda de un canal operador de endoscopia en el cual se puede introducir el haz de fibras ópticas y el cabezal óptico. También puede tratarse de análisis celulares realizados *ex vivo* en muestras. Además, el cabezal óptico puede ser aplicado para el análisis del interior de un dispositivo manufacturado.
- 20 **[0003]** Actualmente se contemplan los ámbitos médicos de la gastroenterología, la neumología, la ginecología, la urología, la ORL, la dermatología, la oftalmología, la cardiología y la neurología.
- 25 **[0004]** Los medios de análisis y de tratamiento de señal previstos cerca del extremo próximo del haz de fibras ópticas permiten obtener una imagen o un gráfico interpretable por un usuario.
- 30 **[0005]** El documento WO 2004/065994 describe un cabezal óptico miniaturizado para un microscopio confocal.
- [0006]** El documento US 2004 / 02 522 380 describe una lente para objetivo que tiene una transmitancia por lo menos del 50% a unas longitudes de onda de 300 nm para un espesor de 10 mm.
- 35 **[0007]** Conocemos el documento WO 03 / 056379 que describe un cabezal óptico miniaturizado previsto para equipar el extremo distal de una guía de imagen. Este cabezal óptico consiste en un tubo portaóptica de sección circular en el que se introducen por un lado la parte final distal de la guía de imagen y por el otro los medios ópticos de enfoque. Los medios ópticos constan de lentes dispuestas en planos extrafocales. Las lentes están dispuestas para optimizar la relación señal / ruido minimizando la reflexión parásita en la salida de guía de imagen, optimizando, a cambio, el índice de acoplamiento y optimizando la transmisión del conjunto del cabezal. La invención presente tiene como objeto un cabezal óptico que ofrece una buena calidad de imagen particularmente para sistemas de fluorescencia.
- 40 **[0008]** También conocemos el documento. A.R. Rouse, A. Kano, J.A. Udovich, S.M. Kroto and A.F. Gmitro, «Design and demonstration of a miniature catheter for a confocal microendoscope», Applied Optics, vol. 43, N° 31, págs. 5763-5771, 2004. Este documento describe un cabezal óptico que se coloca en la parte distal de una guía de imagen. Este cabezal óptico presenta las particularidades siguientes:
- 45 - Aumento = 1.6, lo que es bastante y no debería permitir obtener una gran resolución lateral;
- 50 - Apertura numérica sobre el tejido = 0,46, lo que es un inconveniente para el conjunto de los fotones que provienen de la fluorescencia del tejido; la sensibilidad no puede ser muy importante con dicha solución óptica;
- Diámetro del cabezal = 3 mm;
- Longitud del cabezal = 13 mm, lo que es compatible con el paso por el canal operador de un endoscopio;
- 55 - Resolución axial puntual = 10 μm , lo que es un valor bastante grande para un cabezal óptico que con un diseño óptico relativamente complicado;
- Resolución axial planar = 25 μm (es decir para un campo entero de imágenes), lo que es un valor importante para un cabezal óptico que con un diseño óptico complicado;
- Resolución lateral = 3 μm , bastante degradada para un cabezal óptico de este tipo.
- 60 **[0009]** El cabezal óptico según la técnica anterior no tiene rendimientos ópticos que permitan cualificarlo de cabezal óptico de alta resolución y de alta sensibilidad. Por otro lado, el documento Rouse describe un sistema de barrido línea por línea directamente y no un sistema de barrido punto por punto inyectando el haz óptico uno a uno en cada una de las fibras ópticas que constituyen la guía de imagen.
- 65 **[0010]** La invención presente tiene por objeto remediar los inconvenientes del cabezal óptico de la técnica anterior proponiendo un cabezal óptico en miniatura de alta calidad óptica: alta resolución (resolución lateral y resolución

- axial) y alta sensibilidad, particularmente para el diagnóstico por imagen confocal de fluorescencia fibrada de barrido láser *in vivo*. La miniaturización debe permitir particularmente la inserción de toda la guía de imagen (haz de fibras ópticas o «bundle») y cabezal óptico en el canal operador de un endoscopio o bien ser lo menos invasivo posible en animales pequeños. La necesidad de una gran calidad óptica reside en la voluntad de detectar con una resolución muy buena los objetos pequeños (membranas, dendritas, orgánulos) y con una sensibilidad muy buena. Así, sería posible detectar de manera más fácil objetos situados más en profundidad en el tejido.
- 5
- [0011]** Otro objetivo de la invención es un cabezal de alta calidad particularmente adaptado para capturas en tiempo real.
- 10
- [0012]** Alcanzamos por lo menos uno de los objetivos citados anteriormente con un cabezal óptico miniaturizado según la reivindicación 1.
- [0013]** Más concretamente, el bloque de corrección de las aberraciones esféricas corrige también las aberraciones de coma y de astigmatismo.
- 15
- [0014]** Ventajosamente, el haz de fibras ópticas es barrido por el haz láser en tiempo real para obtener por lo menos doce imágenes por segundo.
- 20
- [0015]** Con el cabezal óptico según la invención, conseguimos rendimientos de calidad de frente de onda y de diagnóstico de imagen de gran apertura numérica, preferentemente superior a 0,8, sin añadir necesariamente meniscos correctores:
- Una sola lente divergente así dispuesta permite alcanzar rendimientos muy buenos. De modo general podemos considerar que una apertura numérica es grande a partir de un valor de 0,6. Una gran apertura numérica de imágenes permite obtener una alta sensibilidad. En un primer momento, permite enfocar el haz de excitación que proviene de la fibra de iluminación en un volumen de excitación muy limitado, lo que permite maximizar la densidad de energía en el punto focal y así excitar la muestra o el tejido de manera óptima. Por ejemplo, permite también maximizar el conjunto del número de fotones de fluorescencia que son emitidos de manera isotrópica en la muestra. Una apertura numérica superior a 0,8 puede obtenerse por la utilización de una lente o de un grupo de lentes convergentes que presentan radios de curvatura muy pequeños como por ejemplo un grupo de lentes muy convergentes que terminan por una lente esférica o semiesférica. La lente semiesférica presenta la ventaja de poderse fabricar con diámetros muy pequeños, y garantiza un buen contacto con la muestra con el fin de minimizar el movimiento inherente al operador o al sujeto analizado y de realizar una buena adaptación de índice para librarse de la señal que proviene de la superficie de análisis.
- 25
- 30
- 35
- [0016]** Por otro lado, el cabezal óptico según la invención presenta un gran aumento. El aumento del cabezal óptico se calcula como la relación entre:
- La apertura numérica del primer bloque óptico que sirve para la corrección de las aberraciones, una de cuyas funciones es adaptar la apertura numérica de las fibras ópticas; su valor está comprendido entre 0,3 y 0,32; y
 - La apertura numérica (>0,8) del segundo bloque óptico de enfoque, lado tejido, cuya función principal es el enfoque del haz en el tejido.
- 40
- [0017]** Así, los valores de aumento en este caso están comprendidos entre 2,5 y 4. Esto permite obtener una resolución espacial mucho mejor que otras cabezas ópticas utilizadas en la técnica anterior. Esta ventaja importante en cuanto a la resolución es efectiva en la medida en que el cabezal óptico no es aberrante ópticamente.
- 45
- [0018]** Más precisamente, el bloque de corrección de las aberraciones esféricas comprende una tercera lente convergente; los espesores de la primera y tercera lente convergentes están determinados para corregir la aberración esférica acumulada sobre las dioptras convergentes de dichas lentes convergentes del cabezal óptico.
- 50
- [0019]** Ventajosamente, el espesor de la tercera lente convergente se determina además para adaptar la pupila a la segunda lente convergente, para minimizar las aberraciones.
- 55
- [0020]** Según un modo de realización de la invención, el espesor, el radio de curvatura (o potencia óptica) y la naturaleza de esta tercera lente (L2) se adaptan para adaptar la pupila a un plano situado lo más próximo posible a dicho haz de fibras ópticas. Adaptar la pupila lo más próximo posible a la salida de las fibras permite tener una imagen pequeña en el plano pupilar, por lo tanto el diámetro del cabezal óptico se reduce, lo que favorece una miniaturización optimizada.
- 60
- [0021]** Preferentemente, el vaso de la tercera lente se determina con un constringencia suficientemente débil para minimizar la potencia de corrección cromática necesaria, y con un índice de refracción suficientemente elevado para limitar el efecto de aberración esférica y de coma. Podemos por ejemplo utilizar cristales de tipo «FLINT».
- 65
- [0022]** Según una característica ventajosa de la invención, dicho doblete está colocado en un plano pupilar que da características de aberraciones débiles, particularmente de poco astigmatismo. Ventajosamente, determinamos un

espesor suficiente de la segunda lente convergente para alejar la lente divergente a la distancia justa de la pupila para la cual las condiciones de acromización laterales coinciden con las condiciones de acromización axial. Además, la combadura o la curvatura de la lente divergente está en sobre la pupila para minimizar el astigmatismo en la salida de la lente divergente; la pupila es una superficie (no necesariamente plana) común a los haces que vienen de todos los puntos del campo. De manera general, razonamos siempre en el sentido de la propagación de la luz: en la excitación, la luz emana de las fibras. El campo es, por tanto, el haz en sí mismo. Los puntos del campo son, por lo tanto, las fibras mismas. Si se razona en conjunto, volvemos de la muestra, el campo es el campo observado.

[0023] Por otro lado, el doblete contiene una pareja de cristales de desviación de índice débil pero con una desviación fuerte de dispersión cromática para compensar las aberraciones cromáticas de las lentes convergentes. Podemos llevar la elección de los cristales del doblete en una pareja de cristales de desviación de índice débil para reducir los efectos de aberración geométrica inducida en la interfaz entre ambas lentes del doblete, pero con una desviación fuerte de dispersión cromática. El doblete así obtenido es sobre corregido del cromatismo axial para compensar las aberraciones cromáticas de los elementos convergentes. A modo de ejemplo, podemos utilizar la pareja de cristales siguientes: cristal 1 (LAK21, $n_d = 1,6405$, $V_d = 60,1$) y cristal 2 (SF6, $n_d = 1,8052$, $V_d = 25,4$), que presentan una desviación de índice débil, y una desviación fuerte de constringencia.

[0024] La primera y tercera lentes convergentes pueden obtenerse cada una a partir de una lente con un pequeño radio y un gran radio, dicho radio grande se hace plano para obtener una lente planoconvexa.

[0025] Según la invención, la primera lente convergente está diseñada y dispuesta para rechazar la imagen de la pupila suficientemente lejos hacia adelante para reducir el astigmatismo generado por la lente esférica o semiesférica en el campo de imágenes.

[0026] La calidad óptica del cabezal según la invención es un parámetro que permite obtener una imagen de alta resolución espacial. Esta calidad de imágenes está muy cerca del límite de difracción. El WFE («Wave Front Error» en lengua inglesa) es del orden de $\lambda/15$ en el centro de campo y en el centro de $\lambda/10$ en el borde de campo. Estos valores de WFE permiten librarse de la presencia de aberraciones ópticas demasiado importantes que podrían degradar:

1. La resolución lateral que es estimada por la energía abarcada. Por definición, para resolver una tarea de diámetro ϕ , hace falta que el 50% de la energía esté contenida por lo menos en este diámetro. En el caso de una sonda altamente resuelta, el 50% de la energía debe estar contenida en un diámetro del orden de la micra. En este caso, no es el cabezal óptico lo que limita la resolución lateral, sino la distancia entre los núcleos de las fibras que constituyen la guía de imagen. La resolución lateral se determina por la distancia entre los núcleos dividida por el aumento del cabezal óptico, es decir una resolución óptica lateral inferior a $1,5 \mu\text{m}$ para sondas utilizadas según la invención presente, lo que es mucho mejor que en los sistemas de la técnica anterior.

2. La resolución axial que depende de la apertura numérica de imágenes, y que puede verse degradada por la aparición de aberraciones esféricas. Con el fin de garantizar por ejemplo una imagen confocal de fluorescencia de alta resolución, la resolución axial es preferentemente inferior a $5 \mu\text{m}$. Dado que la obtención de una alta sensibilidad pasa por la utilización de una gran apertura numérica y, por tanto, de lentes convergentes de radios de pequeña curvatura descritos con ángulos de campo importantes que inducen aberraciones, la obtención de una resolución muy buena que sea lateral o axial pasa por la utilización de un bloque óptico por encima (situado entre la guía de imagen y el bloque óptico de enfoque) que consta de lentes correctoras que permiten corregir las aberraciones tales como el coma y el astigmatismo que degradan la resolución lateral, y la aberración esférica que degrada la resolución axial.

[0027] Según la invención, la lente semiesférica puede ser fabricada en una bola, cuya cara de salida plana se obtiene mediante la abrasión en un pulidor plano.

[0028] El espesor de la lente semiesférica puede ajustarse para obtener un frontal predeterminado del cabezal óptico. Además, la posición axial de la lente semiesférica, es decir el espesor de aire entre la lente que la precede (primera lente convergente) y la lente semiesférica, se determina en función del espesor de dicha lente semiesférica (L5) con el fin de optimizar los rendimientos ópticos (resoluciones axiales y laterales) del cabezal óptico para dicha área frontal.

[0029] Ventajosamente, el cabezal óptico según la invención consta además de una lámina de caras planas para eliminar la reflexión parásita que se produce en la salida del haz de fibras ópticas.

[0030] Según la invención, la señal recogida por el cabezal óptico procedente de la muestra puede ser una señal de fluorescencia o una señal de reflectancia. Para la obtención de imagen en modo de fluorescencia, el cabezal óptico es acromático en una banda espectral entre 450 nm y 800 nm. Dicha acromaticidad en una banda ancha espectral permite también una utilización en espectroscopia y en multimarcación. Por tanto, este cabezal óptico es también

compatible con una utilización en diagnóstico por imagen de reflectancia ya que ésta se produce en el rojo infrarrojo cercano cubierto por la banda ancha espectral de trabajo del cabezal óptico.

5 **[0031]** En cuanto al muestreo del tejido, el cabezal óptico según la invención permite obtener una buena función de escalonamiento de punto (PSF) o mancha focal, del orden de la micra. Además, el aumento óptico es tal que la resolución de imagen es mejor que para las sondas clásicas. Dicho muestreo según la invención permite obtener imágenes de mejor resolución.

10 **[0032]** El cabezal óptico según la invención permite alcanzar particularmente los siguientes rendimientos:

- Un barrido láser con captura rápida en tiempo real, de algunas imágenes por segundos, por lo menos, a 12 imágenes por segundo;
- Una miniaturización suficiente: diámetro comprendido entre 2 y 4,5 mm y una longitud de cabezal comprendida entre 10 y 27 mm;
- 15 - Un cabezal confocal con una muy buena resolución axial ($<5 \mu\text{m}$) y lateral ($<1.5 \mu\text{m}$);
- Una gran sensibilidad para capturar fotones de fluorescencia con una apertura numérica lado tejido $> 0,8$.

20 **[0033]** La invención presente es particularmente notable por el hecho de que permite conciliar criterios difícilmente compatibles, a saber una adquisición por barrido láser en tiempo real con una gran sensibilidad. También, una miniaturización suficiente con una gran resolución (gran apertura numérica).

[0034] Otras ventajas y características de la invención aparecerán en el examen de la descripción detallada de un modo de aplicación en absoluto limitativo, y dibujos adjuntos, en los cuales:

- 25 - La figura 1 es un esquema simplificado de los elementos ópticos de un cabezal en miniatura con un aumento de 2,5 según la invención,
- La figura 2 es un esquema simplificado de los elementos optomecánicos del cabezal óptico de la figura 1,
- La figura 3 es un esquema simplificado de los elementos ópticos de un cabezal en miniatura con un aumento de 4.

30 **[0035]** Vamos ahora a describir un cabezal optomecánico miniaturizado previsto para equipar en el extremo distal de un haz de fibras ópticas flexibles, diseñado para estar puesto en contacto con la superficie de análisis y que consta de medios ópticos que permiten enfocar el haz de excitación a una profundidad determinada bajo la superficie de análisis y capturar de manera óptima la señal de fluorescencia que proviene del mismo volumen que el volumen de excitación (Carácter confocal).

35 **[0036]** De modo general el cabezal optomecánico está constituido:

- 40 - por una asociación de varias ópticas (refractivas, difractivas o de gradiente de índice) que constituyen un conjunto acromático y permiten iluminar la superficie de análisis garantizando una buena calidad óptica necesaria para la obtención de una imagen de fluorescencia confocal altamente resuelta, y
- por un conjunto mecánico que permite:
 - 45 1. mantener y alinear las ópticas con tolerancias de centrado y de inclinación muy apretadas con el fin de no apartarse de la posición nominal, y, de este modo, no inducir aberraciones que puedan degradar la calidad óptica y por consiguiente la resolución espacial, y
 2. conectar el cabezal optomecánico con la guía de imagen.

50 **[0037]** Este conjunto mecánico puede realizarse con un material metálico biocompatible como por ejemplo el acero inoxidable 316L y con espesores mínimos con el fin de no obtener los haces descritos por las fibras en el borde de la guía de imagen, y no aumentar de manera demasiado significativa las dimensiones del cabezal óptico. Debido al volumen reducido del cabezal óptico según la invención, las piezas mecánicas que mantienen las ópticas presentan un espesor de «piel» (Diferencia entre diámetro interior y diámetro exterior) mínimo (inferior a $300 \mu\text{m}$). Por otro lado, con el fin de no degradar la calidad óptica que tiene un impacto directo sobre la sensibilidad y la resolución espacial, el ensamblaje del cabezal se realiza con tolerancias de centrado y de inclinación de algunas micras. Esto requiere por ejemplo un ajuste de las lentes en banco óptico.

55 **[0038]** De manera más precisa, en la figura 1 vemos un esquema simplificado por un conjunto de elementos ópticos de un cabezal óptico según la invención. Este dispositivo permite elaborar un cabezal en miniatura como el representado en la figura 2 con un aumento de 2,5.

60 **[0039]** En la figura 1, el conjunto óptico consta de un bloque de enfoque constituido por un doblete 3, una lente 4 convergente y una lente convergente semiesférica 5. También consta de una lente correctora por encima representada por la lente convergente 2. El bloque óptico de enfoque tiene como función enfocar el haz de excitación en un punto focal de excitación situado en un plano de análisis subsuperficial. A modo de ejemplo, este bloque óptico de aumento igual a 2,5, sea una apertura numérica lado tejido de 0,8, está constituido por el doblete 3 acromático de cristal N-LAK21 y N-SF6, por la lente 4 biconvexa de cristal SK16, y por la lente semiesférica 5 de cristal BK7 que permite garantizar un enfoque importante y un buen contacto con la superficie de análisis.

- 5 **[0040]** En este ejemplo, el bloque óptico de corrección que permite corregir las aberraciones inducidas por el bloque óptico de enfoque consta de la lente 2 biconvexa de cristal SK16. Este bloque óptico de corrección tiene por lo menos tres funciones. La primera función es crear una aberración esférica apta que compense las aberraciones esféricas producidas por otras lentes colocadas por debajo en el sentido de la excitación; esto se obtiene particularmente gracias a un espesor importante de cristal de la lente L2; la ventaja es que no es necesario añadir una nueva lente para corregir las aberraciones de las lentes situadas por debajo. La segunda función es que el cristal de la tercera lente L2 se determina con un constringencia lo bastante débil para minimizar la fuerza de corrección cromática necesaria, y con un índice de refracción lo bastante elevado para limitar el índice de aberración esférica y de coma. La tercera función es adaptar la pupila de las fibras ópticas a un plano pupilar lo más próximo posible a estas fibras ópticas para obtener una pupila de pequeña medida, es decir con un pequeño diámetro para el cabezal óptico.
- 10
- 15 **[0041]** De modo general ambos bloques ópticos de enfoque y de corrección participan a la vez en el enfoque y en la corrección de las aberraciones, pero el bloque óptico de enfoque es preponderante en el enfoque mientras que el bloque óptico de corrección es preponderante en la corrección de las aberraciones. Más precisamente, se deja libre la aberración en el bloque óptico de enfoque y se elabora un bloque óptico de corrección en el cual la aberración se calcula para corregir la aberración del bloque óptico de enfoque.
- 20 **[0042]** La elección de los cristales del sistema óptico se hace para plasmar el sistema acromático en una banda ancha espectral [488 nm; 700 nm] y así hacerlo compatible con una utilización en diagnóstico por imagen de fluorescencia.
- 25 **[0043]** Una lámina 1 de caras planas y paralelas de cristal BK7, o K10, tiene como función rechazar la reflexión parásita que se produce en la salida de la guía de imagen (elemento 6 en la figura 2) realizando una adaptación de índice entre el índice de los núcleos que constituye la guía de imagen y el índice del cristal BK7, y desplazando la reflexión cristal-aire en un plano extrafocal. Además, la elección de la posición (plano extrafocal), de la curvatura y de un tratamiento antirreflejo óptimo permite minimizar las reflexiones parásitas que pueden venir de otras lentes. Esto permite no parasitar la señal útil que proviene de la muestra de análisis en el caso de la utilización de este cabezal en miniatura en el marco del diagnóstico por imagen de reflectancia.
- 30 **[0044]** La figura 1 muestra esquemáticamente el trayecto óptico de haces de excitación que provienen de la guía de imagen, uno centrado en el eje óptico del sistema, los otros dos emergentes de la fibra óptica en medio y al borde del campo con respecto al eje óptico del sistema.
- 35 **[0045]** El haz que emerge del cabezal converge en un punto focal de excitación situado en un plano de análisis subsuperficial. La señal de fluorescencia (o de reflectancia) reemitida por la muestra toma el mismo camino óptico en sentido opuesto antes de ser principalmente reacoplada en la fibra óptica de iluminación.
- 40 **[0046]** Las características detalladas (radio de curvatura, espesor, tolerancias de alineación) de las diferentes lentes así como de la lámina de este primer ejemplo de realización se dan en la tabla 1 de más abajo:

Tabla en página siguiente

	Diámetro (mm)			Espesor (mm)		Radio (mm)			Cristal	Descentra- lización (mm)	Inclina- ción
	Nomi- nal	Util	Tolerancia Sobre la lente +/-	Nominal	Tol. +/-	Nominal	Tol. +/- Número de franjás	Tol. +/- (mm)			
Elemen- to 1	1,80	0,6 5	-	0,500	0,020	Inf			BK7	0,100	0,35
Aire 1				1,200	0,010	Inf					
Elemen- to 2	3,40	2,8 3	-	3,600	0,050	13,277	2,000	0,060	SK16	0,016	0,20
Aire 2				3,592	0,020	-3,235	2,000	0,004			
Elemen- to 3a	3,40	2,8 8	-	3,000	0,050	5,424	2,000	0,010	N- LAK21	0,016	0,20
Elemen- to 3b	3,40	3,0 4	-	1,500	0,020	-2,016	2,000	0,001	N-SF6		
Aire 3				0,254	0,020	-10,972	2,000	0,041			
Elemen- to 4	3,40	3,0 4	-	2,977	0,010	2,554	2,000	0,002	SK16	0,0215	0,50
Aire 4				0,050	0,005	-17,810	2,000	0,107			
Elemen- to 5	1,30	1,2 5	-	0,948	0,005	0,677	2,000	0,001	BK7	0,015	0,40
						Inf					

Tabla 1

Notas: (1) irregularidades de superficie = +/- 0.2 lambda
 (2) tolerancia del índice de refracción = +/- 1.10⁻³
 (3) tolerancia del número de Abbe = +/- 0.5

- 5
- [0047]** Este ejemplo de realización permite conseguir una muy buena calidad óptica y por ello una alta resolución espacial y una alta sensibilidad. Sus rendimientos son los siguientes:
- 10 - Aumento = 2,5
 - Apertura numérica de imagen = 0,8 en el agua
 - Calidad de imágenes muy próxima al límite de difracción. El error de frente de onda (WFE «Wave Front Error» en inglés) está de $\lambda/15$ en el centro del campo y $\lambda/10$ en el borde del campo en toda la gama de longitudes de onda entre 488 nm y 700 nm. Esta óptima calidad de imágenes garantiza una buena tasa de acoplamiento de retorno en la fibra de excitación (90%).
- 15 - Energía abarcada: permite estimar la resolución lateral que podemos esperar. En este caso, el 50% de la energía que proviene del punto objeto está contenido en un diámetro de 0,5 μm en el centro del campo, y de 1 μm en el borde del campo. En este caso, no es el cabezal óptico lo que limita la resolución lateral, sino la distancia entre los núcleos de las fibras que constituyen la guía de imagen. La resolución lateral se determina por la distancia entre los núcleos dividida por el aumento del cabezal óptica, es decir una resolución óptica lateral de 1,3 μm .
- 20 - Resolución axial: comprendida entre 3 y 5 μm
 - Cromatismo axial: 2 μm entre [488 nm; 700 nm]. Éste es inferior a la resolución axial, lo que engendra, por tanto, una pérdida mínima de flujo de fluorescencia.
 - Cromatismo lateral: <0,5 mm entre [488 nm; 700 nm]. Es inferior a la distancia entre dos fibras dividida por el aumento, por lo tanto, la fibra que sirve para la excitación es la misma que la fibra de conjunto.
- 25 - Frontal: se trata de la distancia entre la última dioptra óptica y el punto de enfoque, lo que corresponde a la distancia de observación en el tejido, ya que la última lente cuya superficie es plana está colocada en contacto con la superficie de análisis. En el ejemplo de realización, ésta vale 30 μm +/- 10 μm . Diferentes valores de frontal pueden alcanzarse únicamente modificando el espesor de la última lente L5, y conservando el cabezal óptico sus rendimientos. A partir del ejemplo de realización detallado en la tabla 1, conseguimos un aumento frontal de 10 μm para una disminución del espesor geométrico de la lente L5 de aproximadamente 10 μm .
- 30 - Campo de observación: el campo de observación se define como el diámetro útil total de la guía de imagen dividido por el aumento del sistema óptico, es decir en este caso un campo de observación de un diámetro de 240 μm .
 - Transmisión: es del orden del 95% gracias a la utilización de un tratamiento antirreflejo óptimo en la banda [488 nm; 700 nm].
- 35

[0048] Los medios ópticos de la figura 1 se han de integrar en un tubo portaóptica, formando el cabezal óptico, como el ilustrado en la figura 2. El conjunto mecánico representado en la figura 2 consta de:

- 5 - un tubo metálico 4,2 mm de diámetro y 22,7 mm de longitud que presenta un primer saliente en el cual va a insertarse la guía de imagen 6 con una férula de silicio 8 en su extremo, y un segundo saliente en el cual van a insertarse los elementos ópticos 2 y 3. La tolerancia H6 (-0, +8 μm) en el diámetro interior del tubo permite garantizar un centrado y una inclinación del elemento óptico 3 compatible con las especificaciones dadas en la tabla 1 anterior.
- 10 - un tirante mecánico cuya tolerancia en el diámetro exterior de (-4, -9 μm), la coaxialidad y la perpendicularidad de 5 μm permiten garantizar el centrado y el posicionamiento en inclinación del elemento óptico 2.
- 10 - una pieza mecánica 10 que permite alinear las lentes 4 y 5 con resto del conjunto óptico. La tolerancia H6 (-0, +8 μm) en el diámetro interior y g5 (-4, -9 μm) en el diámetro exterior del tubo permite garantizar el centrado de la lente 4 que se apoya a nivel del saliente y luego se fija por encolado. Con el fin de respetar las tolerancias de alineación en inclinación de la lente 5, ésta se ajusta en un banco por autocolimación en su cara plana.
- 15 - un soporte metálico 7 cuyo aterrajado es idéntico al realizado dentro del tubo lado guía de imagen permite juntar la guía de imagen equipada con una férula 8 de silicio con el cabezal optomecánico. Todas estas piezas mecánicas se realizan en acero inoxidable 316L (material biocompatible).
- 15 **[0049]** Las dimensiones del cabezal optomecánico presentado en este ejemplo son 4,2 mm de diámetro y 27 mm de longitud de parte rígida, lo que presenta una miniaturización suficiente para una manipulación simple y un invasividad mínima, es decir nula en el caso de un diagnóstico por imagen por contacto con la superficie de análisis.
- 20 **[0050]** En la figura 3, vemos un esquema óptico de un cabezal en miniatura de aumento 4.
- 20 **[0051]** Este ejemplo comparativo de dimensiones más pequeñas que el primer ejemplo presenta la ventaja de poder utilizarse *in vivo* por inserción en el canal operador de un endoscopio. Además, el aumento de 4 (a saber, una apertura numérica de 1,2 en el agua) permite obtener:
- 25 - Una mejor resolución espacial (tanto lateral como axial) del orden de 1 μm ,
- 25 - Una mejor sensibilidad vinculada a una apertura numérica de imagen más grande (Apertura numérica de 1,2 en el agua).
- 30 **[0052]** Esta solución es más compleja ya que trabaja en una apertura numérica más fuerte y en un volumen más reducido que, a priori, es contrario a la utilización con una gran apertura numérica. La utilización de un gran número de lentes permite alcanzar los rendimientos requeridos llevando progresivamente el haz en el bloque de enfoque para darle la buena apertura numérica de iluminación.
- 35 **[0053]** El cabezal óptico representado en la figura 3 consta de un conjunto óptico de nueve lentes y de una lámina 11 de caras planas y paralelas. Este conjunto óptico es escindido en dos bloques
- 40 - El bloque de enfoque consta de un doblete 17 acromático de cristal BK7 y SF6, de una lente 18 planoconvexa de cristal BK7, de una lente 19 biconvexa de BK7 y de una lente semiesférica 10 de cristal BK7 que permite garantizar un enfoque importante y un buen contacto con la superficie de análisis.
- 40 - El bloque óptico de corrección que permite corregir las aberraciones inducidas por el bloque óptico de enfoque consta de una lente 12 bicóncava de SF6, de una lente 13 biconvexa de cristal BK7, de una lente 14 bicóncava de cristal SF6, de una lente 15 planocóncava de SF6, y de una lente 16 planocóncava de BK7. Este bloque óptico corrector es mucho más complejo ya que el cabezal presenta una apertura numérica muy fuerte, el mismo campo de observación y un volumen más reducido.
- 45 **[0054]** La elección de los cristales del sistema óptico se hace para plasmar el sistema acromático en una banda ancha espectral [488 nm; 700 nm] y así hacerlo compatible con una utilización en diagnóstico por imagen de fluorescencia.
- 50 **[0055]** Del mismo modo que para el ejemplo anterior, la lámina de caras planas y paralelas de BK7 tiene como función rechazar la reflexión parásita que se produce en la salida de la guía de imagen realizando una adaptación de índice entre el índice de los núcleos que constituye la guía de imagen y el índice del BK7, y desplazando la reflexión cristal-aire en un plano extrafocal. Además, la elección de la posición (plano extrafocal), de la curvatura y de un tratamiento antirreflejo óptimo permite minimizar las reflexiones parásitas que pueden venir de otras lentes. Esto
- 55 permite no parasitar la señal útil que proviene de la muestra de análisis en el caso de la utilización de este cabezal en miniatura en el marco del diagnóstico por imagen de reflectancia.
- 60 **[0056]** La figura 3 muestra esquemáticamente el trayecto óptico de haces de excitación que provienen de la guía de imagen, uno centrado sobre el eje óptico del sistema, los otros dos emergentes de la fibra óptica en medio y en el borde del campo con respecto al eje óptico del sistema.
- 65 **[0057]** El haz que emerge de la lámina converge en un punto focal de excitación situado en un plano de análisis subsuperficial. La señal de fluorescencia (o de reflectancia) reemitida por la muestra toma el mismo camino óptico en sentido opuesto antes de ser principalmente reacoplado a la fibra óptica de iluminación.

[0058] Las características detalladas (radio de curvatura, espesor, etc.) de las diferentes lentes así como la lámina de este segundo ejemplo de realización se dan en el cuadro 2 de más abajo.

5 **[0059]** Este ejemplo comparativo permite obtener una muy buena calidad óptica y por tanto, una alta resolución espacial y una alta sensibilidad. Sus rendimientos son los siguientes:

- Aumento = 4
- Apertura numérica de imágenes = 1,2 en el agua
- Calidad de imágenes muy próxima al límite de difracción. El error sobre el frente de onda (WFE «Wave Front Error» en inglés) está de $\lambda/30$ en el centro de campo y $\lambda/15$ en el borde de campo en toda la gama de longitudes de onda entre 488 nm y 700 nm. Esta óptima calidad de imágenes garantiza un índice de acoplamiento de retorno en la fibra de excitación superior al 90%.
- Energía abarcada: en este ejemplo, el 50% de la energía que proviene del punto objeto está contenida en un diámetro de 0,34 μm en el centro del campo y de 0,52 μm en el borde del campo.
- Resolución axial: del orden de 2 μm
- Cromatismo axial: 1,2 μm entre [488 nm; 700 nm]. Éste es inferior a la resolución axial, lo que engendra, por tanto, un mínimo de pérdida de flujo de fluorescencia.
- Cromatismo lateral: 0,1 μm
- Frontal: vale 30 μm +/-10 μm . Del mismo modo que la realización precedente, esta realización aplica un cabezal óptico con una frontal o una distancia de observación fija.
- Campo de observación: en este caso es de diámetro 150 μm .
- Transmisión: teniendo en cuenta el número de lentes, es del orden del 80% gracias a la utilización de un tratamiento antirreflejo óptimo en la banda [488 nm; 700 nm].
- Diámetro óptico: 2 mm
- Longitud óptica: 8,6 mm.

[0060] Estas dimensiones hacen que esta solución sea compatible con las dimensiones de la inmensa mayoría de los canales operadores de los endoscopios.

	Diámetro (mm)	Espesor (mm)	Radio (mm)	Cristal
Elemento				
Elemento 1	1,8	0,300	Inf	BK7
Aire 1		0,300	Inf	
Elemento 2	1,2	0,500	-1,031	SF6
Aire 2		1,190	-0,838	
Elemento 3	2,0	0,500	1,569	BK7
Aire 3		0,391	2,000	
Elemento 4	2,0	0,800	-1,000	SF6
Aire 4		0,100	-2,128	
Elemento 5	2,0	0,390	Inf	SF6
Aire 5		0,223	8,006	
Elemento 6	2,0	0,600	Inf	BK7
Aire 6		0,100	-1,776	
Elemento 7a	2,0	0,700	3,176	BK7
Elemento 7b	2,0	0,300	-1,535	SF6
Aire 7		0,100	-11,055	
Elemento 8	2,0	0,600	2,338	BK7
Aire 8		0,100	Inf	
Elemento 9	2,0	0,550	1,258	BK7
Aire 9		0,100	6,802	
Elemento 10	2,0	0,745	0,500	BK7
		0,030	Inf	

30 **[0061]** El cabezal óptico según la invención proporciona una corrección del cromatismo que permite optimizar la sensibilidad dos ejes siguiente:

35 1. Corrección del cromatismo lateral

40 **[0062]** Esta corrección es necesaria con el fin de que la señal de fluorescencia sea acoplada al retorno en la fibra óptica que haya servido para la iluminación de la muestra, y no en una fibra adyacente que es filtrada espacialmente por el agujero de filtración que se encuentra delante del detector del dispositivo al cual será conectada la sonda. Por ello, el cromatismo lateral es inferior a la distancia entre los núcleos dividida por el aumento del cabezal óptico.

2. Corrección del cromatismo axial

- 5 [0063] Una presencia de cromatismo axial en el cabezal óptico se traduciría directamente por una pérdida de sensibilidad por acoplamiento de retorno en la fibra óptica de iluminación, ya que los fotones de fluorescencia provendrían de una posición Z que sería diferente de la posición Z del haz de iluminación, y serán así filtrados por la fibra de iluminación. Con el fin de librarse de esta pérdida de sensibilidad, el cromatismo axial es inferior a la resolución axial.
- 10 [0064] El cabezal óptico también permite una transmisión óptima y una minimización de las reflexiones parásitas. En efecto, la alta sensibilidad del cabezal óptico también pasa por la optimización de la transmisión de ida a las longitudes de onda de excitación y de la transmisión de retorno a las longitudes de onda de fluorescencia, lo que es tanto más importante para soluciones que aplican soluciones ópticas complejas constituidas por varias lentes. Con este fin, cada lente posee un tratamiento antirreflejo óptimo ($R < 0,5\%$) a las longitudes de onda de trabajo. Además, cada lente está colocada en un plano extrafocal y presenta una curvatura que permite rechazar la señal reflejada en la longitud de excitación fuera de la fibra de excitación. El índice de acoplamiento de la señal reflejado por las lentes es inferior a 10^{-5} con respecto a la señal en la salida de fibra con el fin de evitar que la señal que provenga de la muestra observada sea parasitada por la señal reflejada. Este último punto es necesario sobre todo en el marco del diagnóstico por imagen de reflectancia.
- 15 [0065] En cuanto a la miniaturización, las exigencias en término de dimensiones son diferentes en función del campo de aplicación. Distinguimos dos casos:
- 20
- 25 1. Diagnóstico por imagen celular *ex vivo* o *in vivo* en animales pequeños o en hombres que necesiten un diagnóstico por imagen por contacto o de invasividad reducida (laparoscopia) Sin embargo, esta necesidad requiere un dimensionamiento mínimo (inferior a las dimensiones de un objetivo de microscopio) por razones de facilidad de manipulación, a saber un diámetro inferior a 5 mm y una longitud de la parte rígida del cabezal inferior a 27 mm.
 - 30 2. Diagnóstico por imagen *in vivo* en animales pequeños o en hombres por vía endoscópica. Esta necesidad requiere dimensiones compatibles con las dimensiones del canal operador del endoscopio en el cual será insertada la sonda. Una sonda cuyas dimensiones son inferiores a 2,8 mm en diámetro y 15 mm en longitud de parte rígida es compatible con la inmensa mayoría de los canales operadores de los endoscopios (gastroscopia, colonoscopia).
- 35 [0066] De modo general las sondas elaboradas según la invención presente presentan numerosas calidades:
- Alta sensibilidad:
- 40 [0067] Son sondas que pueden trabajar en profundidad garantizando una muy buena captura de la señal de fluorescencia. En efecto, en su apertura numérica de lado de la muestra muy elevada y un conjunto de ópticas que corrigen las aberraciones, estas sondas permiten excitar la muestra con una densidad importante de energía y también permiten captar el máximo de fotones de fluorescencia de retorno.
- Alta resolución espacial:
- 45 [0068] El aumento óptico y la presencia de un conjunto de ópticas que corrigen las aberraciones en el centro y en el borde del campo permiten iluminar los tejidos con un PSF («Point Spread Function») del orden de la micra.
- 50 [0069] Una gran apertura numérica de imagen combinada con la utilización de ópticas que corrigen la aberración esférica permite iluminar la muestra con un plano de corte de algunas micras de espesor, lo que confiere sobre las sondas una muy buena resolución axial de la imagen (capacidad de plano de corte confocal). Estas nuevas sondas tienen, por tanto, una resolución axial mucho mejor, inferior a 5 μm , contrariamente a las sondas Grins por ejemplo que alcanzan valores de 15 a 20 μm .
- 55 Acromático:
- 60 [0070] Los problemas de cromatismo inherentes al trabajo en fluorescencia son totalmente tomados en consideración por la utilización de cristales específicos. Las sondas a base de lentes Grins que constituyen la base tecnológica de varios actores del ámbito no permiten corregir estos efectos de cromatismo, lo que lleva a pérdidas de sensibilidad ya que el plano de excitación y el plano de emisión de fluorescencia se desplazan espacialmente, lo que se traduce, por tanto, en una pérdida de acoplamiento de retorno en la fibra óptica.

[0071] Miniatura son sondas que presentan un diseño compatible de una miniaturización importante y necesaria para las aplicaciones *in vivo* y para ser insertada particularmente en el canal operador de un endoscopio.

5 **[0072]** Por supuesto, la invención no se limita a los ejemplos que acaban de ser descritos y se pueden aportar numerosas modificaciones a estos ejemplos sin salir del marco de la invención.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Cabezal óptico miniaturizado previsto para equipar el extremo distal de un haz de fibras ópticas flexibles barrido por un haz láser, estando dicho cabezal óptico destinado a entrar en contacto con una muestra y excitar dicha muestra de manera confocal; comprendiendo este cabezal óptico un bloque óptico de corrección de aberraciones esféricas y un bloque óptico de enfoque; **caracterizado porque** el bloque de enfoque comprende:
- 10 - al menos una primera lente convergente (4; 18, 19) asociada con una lente esférica o semiesférica (5; 10) dispuesta en el extremo distal del cabezal óptico, y
- medios de corrección del cromatismo axial y lateral que se proporcionan con una sola lente divergente (3b) que tiene una curvatura centrada sobre la pupila del haz de fibras ópticas; estando esta lente divergente asociada con una segunda lente convergente (3a) en forma de un doblete (3; 17)
- 15 comprendiendo el bloque de corrección de las aberraciones esféricas una tercera lente convergente (2); estando los espesores de la primera (4) y tercera (2) lentes convergentes dispuestos para corregir la aberración esférica acumulada sobre las dioptrías convergentes, estando también el espesor de la tercera lente convergente (2) dispuesto para obtener imágenes de la pupila sobre la segunda lente convergente (3).
- 20 **2.** Cabezal óptico según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el vidrio de la tercera lente (2) está determinado con una constringencia que minimiza la potencia de corrección cromática necesaria, y con un índice de refracción que limita el efecto de aberración esférica y de coma.
- 25 **3.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** dicho doblete (3) contiene un par de cristales con una desviación de índice y una dispersión cromática que compensan las aberraciones cromáticas de las lentes convergentes.
- 30 **4.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la lente divergente está curvada para obtener una abertura numérica superior a 0,8.
- 35 **5.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** cada una de la primera (4) y tercera (2) lentes convergentes se obtienen a partir de una lente que tiene un pequeño radio y un gran radio, haciéndose dicho gran radio plano para obtener una lente plano-convexa.
- 40 **6.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la primera lente convergente (4) está diseñada y dispuesta para rechazar la imagen de la pupila con anticipación para minimizar el astigmatismo generado por la lente esférica o semiesférica (5) en el campo de imágenes.
- 45 **7.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la lente semiesférica (5) es fabricada en una bola, cuya cara de salida plana se obtiene por abrasión sobre un pulidor plano.
- 8.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el espesor de la lente semiesférica (5) se ajusta para obtener un área frontal predeterminado del cabezal óptico.
- 50 **9.** Cabezal óptico según la reivindicación 8, **caracterizado porque** la posición axial de la lente semiesférica (5) se determina de acuerdo con el espesor de dicha lente semiesférica (5) con el fin de optimizar los rendimientos ópticos del cabezal óptico para dicha área frontal.
- 55 **10.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** comprende además de una placa (1) de caras planas para eliminar la reflexión parásita que se produce a la salida del haz de fibras ópticas.
- 11.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la señal recogida por el cabezal óptico procedente de la muestra es una señal de fluorescencia.
- 12.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado porque** la señal recogida por el cabezal óptico procedente de la muestra es una señal de reflectancia.
- 60 **13.** Cabezal óptico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el haz de fibras ópticas se barre por el haz láser en tiempo real para adquirir al menos doce imágenes por segundo.
- 65

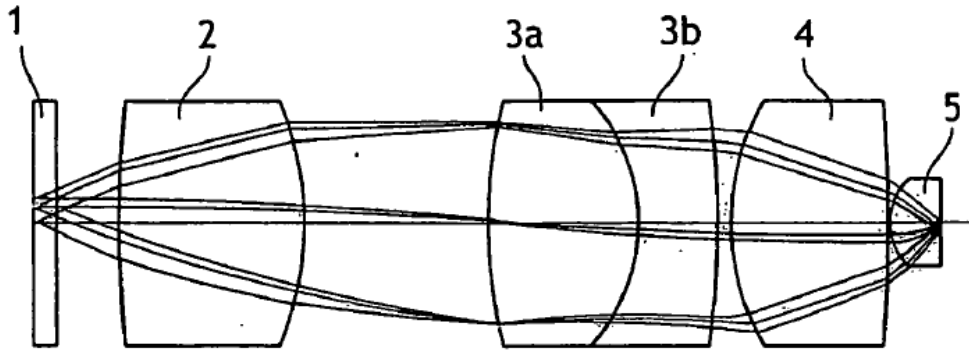


FIG.1

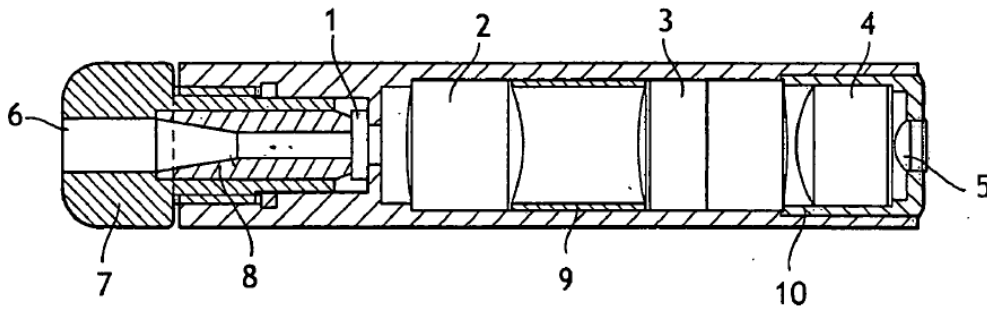


FIG.2

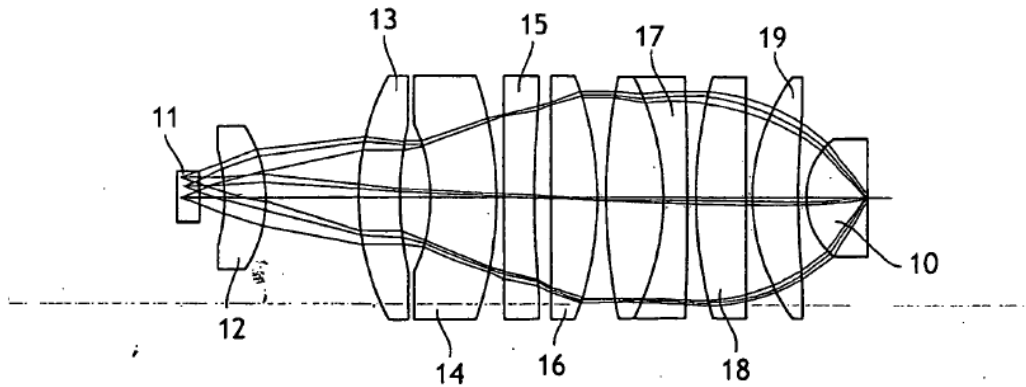


FIG.3