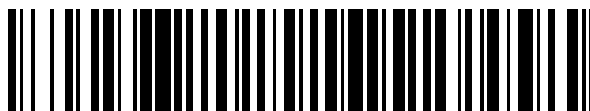


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 520 140**

51 Int. Cl.:

**G02B 21/34** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

**G01N 21/03** (2006.01)

**G02B 21/33** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2000** **E 00907306 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014** **EP 1161702**

54 Título: **Portador de muestras de tejido**

30 Prioridad:

**17.02.1999 US 120470 P**

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

**11.11.2014**

73 Titular/es:

**LUCID, INC. (100.0%)**  
**2320 BRIGHTON-HENRIETTA TOWNLINE ROAD**  
**ROCHESTER, NY 14623, US**

72 Inventor/es:

**GREENWALD, ROGER J. y**  
**ZAVISLAN, JAMES M.**

74 Agente/Representante:

**CANELA GIMÉNEZ, María Teresa**

ES 2 520 140 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).

DESCRIPCION

La presente invención se refiere a un portador de  
5 muestras de tejidos o bandeja para su uso en microscopía  
y especialmente en microscopía confocal por barrido  
láser para explorar secciones de muestras extirpadas  
quirúrgicamente. La invención es especialmente adecuada  
al proporcionar una bandeja para tejidos que ayuda en la  
10 formación de imágenes de una gran variedad de muestras  
de tejido, las cuales pueden ser muestras extirpadas o  
biopsias de diferentes tejidos, tales como, hígado,  
riñón, cérvix, etcétera.

15 Se ha propuesto que la formación de imágenes de tejidos  
se produzca en un líquido de inmersión cuyo índice de  
refracción coincida con el del tejido (Véase la Patente  
Estadounidense 5,719,700, concedida el 17 de febrero de  
1998 a P. Corcuff, et al. y la Patente Estadounidense  
20 4,208,101, concedida el 17 de junio de 1980 a L. Trapp,  
et al.). La manipulación de las muestras de tejido y del  
líquido de inmersión es dificultosa. Las muestras son  
pequeñas y el líquido pueden resbalar por la platina  
sobre la que el espécimen está colocado. En resumen, la  
25 manipulación y preparación de muestras para la formación  
de imágenes de las mismas es, con los sistemas  
propuestos, una operación caótica. Además, las  
variaciones en la ruta óptica entre la sección del  
especimen de interés y el sistema de formación de  
30 imágenes pueden distorsionar la imagen. Tales  
distorsiones son exacerbadas por la superficie corrugada

presente en la superficie del espécimen. Para un escaneo de alta fidelidad, el fluido de inmersión debe coincidir en gran medida con el índice del tejido. Hacer coincidir el índice de refracción del fluido de inmersión con el  
5 tejido reduce enormemente el poder de refracción óptica del tejido y por tanto la diferencia en la ruta óptica introducida por el tejido.

Es una característica de la invención el proporcionar  
10 portadores de muestras o bandejas de tejidos optimizadas para diferentes tejidos que sean utilizables con el mismo sistema de formación de imágenes, y sin la sustitución o ajuste de las lentes del objetivo. La bandeja provista por la invención puede ser utilizada  
15 para contener el espécimen durante un plazo corto o largo de almacenamiento o para transportar el tejido para un tratamiento adicional. La bandeja puede ser desechada después de su uso. La bandeja contiene y además tiene asociados líquidos de adaptación del  
20 índice. La bandeja facilita el uso de tales líquidos evitando operaciones caóticas y sin afectar de modo desfavorable la formación de imágenes (transmisión de distorsión a la imagen debido a la presencia de los líquidos de adaptación del índice.

25

Los sistemas confocales de formación de imágenes mediante microscopio por barrido láser provistos de lentes de objetivo capaces de formar imágenes de diferentes secciones con diferentes orientaciones dentro  
30 de un espécimen pueden ser del tipo descrito en la solicitud de Patente Estadounidense aceptada con número de serie 08/683,607 solicitada el 15 de julio de 1996 a

nombre de R. Rox Anderson et al., actualmente Patente Estadounidense No. 5,880,880, concedida el 9 de marzo de 1999, y la Patente Estadounidense 5,788,639, solicitada a nombre de James Zavislan y Jay Eastman y concedida el  
5 4 de agosto de 1998.

Descrito sucintamente, un portador de muestras de acuerdo con la presente invención incluye un recipiente provisto de una tapa y una ventana a través de la cual  
10 pasa un haz óptico hasta una muestra dispuesta en el recipiente situado sobre la ventana. El recipiente puede tener la forma de una bandeja para muestras. La muestra se mantiene preferiblemente sujeta en su posición mediante fijaciones que pueden aplicarse automáticamente  
15 cuando la tapa del recipiente es cerrada. Durante su uso, el recipiente incluye un líquido de inmersión que coincide en gran medida con el índice del tejido. La adaptación puede realizarse hasta alcanzarse el índice medio en la superficie del tejido que interactúa con la  
20 ventana. La superficie del tejido puede ser corrugada debido a su textura superficial provocada de modo natural o quirúrgico. Tal corrugación puede alterar el frente de onda del haz (provocar que el frente de onda se aleje de una sección de una esfera) el cual penetra  
25 el tejido y se concentra en la sección de tejido de interés. La distorsión provocada por tales variaciones queda reducida de acuerdo con la invención en virtud de la minimización de la variación de la longitud de la ruta óptica, pese a que la sección sobre la que el haz  
30 está concentrado puede encontrarse en la superficie del tejido o dentro del mismo (por ejemplo a una distancia de hasta aproximadamente 3mm de la superficie) mediante

el uso de líquidos de inmersión y líquidos de acoplamiento y otros elementos de transmisión, incluyendo la ventana, a través de la cual el haz de formación de imágenes pasa. El medio de acoplamiento  
5 queda confinado en una bolsa fuera del recipiente y de cara a la ventana. La bolsa está fabricada de material de transmisión elástica, tal como un polímero, por ejemplo polietileno, pero posee un espesor mínimo para que no tenga ningún efecto material sobre la ruta óptica  
10 a través de la bolsa. La bolsa contiene un medio de acoplamiento líquido. Montada sobre la bolsa se encuentra una placa estabilizadora de material transmisivo. La placa se encuentra opuesta a la ventana, y preferiblemente contiene una unidad de enclavamiento  
15 tal como un imán o un anillo magnético que se aloja en una entalladura en la parte superior de un cilindro que contiene la lente del objetivo del sistema de formación de imágenes. La lente del objetivo y la bandeja se apoyan en un accesorio que queda montado sobre una  
20 estructura común con la lente del objetivo a través de un mecanismo de translación que desplaza el accesorio y el recipiente en direcciones nominalmente ortogonales, una de las cuales se encuentra a lo largo del eje óptico de la lente. El índice del medio de acoplamiento es  
25 preferiblemente el mismo que el índice del líquido de inmersión. La bandeja posee un conducto que es perforado por una protuberancia situada sobre la tapa de la bandeja a fin de permitir que el líquido de acoplamiento llene la bandeja y se suministre el líquido de  
30 inmersión. El acoplamiento estabilizante de la placa con la lente del objetivo previene el basculamiento y mantiene la placa perpendicular al eje óptico pese al

movimiento del recipiente para enfocar secciones de la muestra de interés y explorar la muestra en el plano de la sección. A fin de minimizar la distorsión óptica, debida a cambios en la ruta óptica entre la pupila de salida de la lente del objetivo y la sección de la muestra cuya imagen está siendo formada, a pesar de las corrugaciones causadas por la superficie, la diferencia entre el índice de refracción del líquido de inmersión y el índice medio de refracción del tejido en su superficie, multiplicada por la altura entre los picos de las colinas y los fondos de los valles de las corrugaciones, es seleccionada para ser igual o inferior a un cuarto de la longitud de onda en la longitud de onda del rayo láser utilizado para la formación de las imágenes. Al ser el índice medio una función del tipo de tejido y la situación clínica del paciente, los fluidos de adaptación del índice pueden ser seleccionados en la preparación de la bandeja en función del tejido concreto cuya imagen debe formarse. Además, el espesor e índice de la ventana y la placa pueden variarse dependiendo del tipo de tejido en la bandeja a fin de reducir la aberración esférica de la lente del objetivo utilizado en el sistema de formación de imágenes.

Todo lo anterior y otras características y ventajas de la invención resultarán más evidentes de una lectura de la siguiente descripción considerada en relación con los dibujos que se acompañan, en los que:

La figura 1 es un diagrama que muestra esquemáticamente el sistema de formación de imágenes, su lente del objetivo y un recipiente que

incluye una bandeja con la bandeja en una de las dos posiciones alternativas, donde la sección se encuentra próxima a la superficie de la muestra de tejido, la figura 1B muestra la posición en la que la sección se encuentra dentro de la muestra de tejido (espécimen);

la figura 1A es una vista ampliada de la sección mostrada dentro de las líneas discontinuas denominadas 1A-1A en la figura 1;

la figura 1B muestra la lente del objetivo y la bandeja donde el haz es enfocado en un plano de imagen dentro de la muestra, donde se encuentra situada la sección cuya imagen se está formando;

la figura 2 es un diagrama que ilustra el accesorio de la bandeja y el mecanismo para ajustar la posición de la bandeja en tres direcciones ortogonales, X, Y y Z;

la figura 3 es un diagrama que muestra la bandeja durante su proceso de preparación;

la figura 4 es una vista ampliada que ilustra uno de los mecanismos de fijación utilizados en la bandeja;

la figura 5 es un diagrama que ilustra la bandeja donde la tapa se encuentra en proceso de ser cerrada;

la figura 6 es una vista similar a la figura 5 que muestra la bandeja tras el cierre de la misma;

la figura 7 es una vista superior en sección tomada a lo largo de la línea 7-7 en la figura 6;

la figura 8 es una vista ampliada que ilustra esquemáticamente las corrugaciones formadas por la textura superficial en la superficie de la bandeja.

Respecto más concretamente a las figuras 1, 1A, 1B, 2 y 7, se muestra un portador de muestras o bandeja 10 montado sobre una plataforma de soporte 12. La plataforma de soporte 12 es movible mediante un  
5 mecanismo de traslación 14 que es montado sobre un soporte 16 que sujeta un conjunto formado por una lente del objetivo 18 en una posición nominalmente fija. La plataforma 12, el mecanismo de traslación 14 y el soporte 16 componen un accesorio para el soporte de  
10 bandejas que permite la recepción de varias bandejas. El conjunto de la lente 18 incluye un cilindro para lentes 20 y una lente 22 montada dentro del cilindro. El extremo superior del cilindro dispone de una entalladura anular 24 en la que se aloja y encaja una parte de la  
15 bandeja 10, tal como se describirá con más detalle posteriormente.

La bandeja o portador de tejidos 10 es un conjunto provisto de un recipiente o compartimento para muestras  
20 generalmente abierto con una bandeja dotada de una base 26, paredes laterales 28 y una tapa 30 que puede estar embisagrada a una de las paredes laterales. La forma del compartimento es mostrada rectangular pero puede ser circular u oblonga. La base posee una abertura que  
25 contiene una ventana 32 de material transparente. El espesor y el índice de refracción de esta ventana se selecciona para acomodar el diseño de la lente 18 y el índice de refracción de la muestra de tejido 34. La muestra puede ser extirpada quirúrgicamente.

30

Una bolsa deformable 44 de material fino y ópticamente transparente queda unida a la cara inferior de la base

26 de la bandeja 10. Esta bolsa inicialmente es rellena con un medio de acoplamiento óptico que puede también proporcionar un medio de inmersión para la muestra 34. Para preparar la bandeja, la muestra 34 es  
5 colocada sobre la ventana 32, tal como se muestra en la figura 3. Se utilizan a continuación mecanismos de fijación 40 para retener la muestra de tejido sobre la ventana para su observación, tal como se muestra en la figura 5. Los mecanismos son mostrados enganchando la  
10 muestra 34 en la figura 5, pero pueden enganchar automáticamente la muestra cuando la tapa está cerrada, tal como se muestra en relación con la figura 4. Cuando la tapa está cerrada, un perno 50 dispuesto en la tapa, perfora un tapón 45 en una abertura 46 que proporciona  
15 un conducto para el flujo del medio de acoplamiento hasta la bandeja a través de la abertura perforada 46. Cuando la bandeja 10 es colocada sobre la plataforma de soporte, una placa estabilizadora transparente 52, que está unida a la bolsa 44 en una posición próxima al  
20 fondo de la bolsa opuesta a la ventana 32, es capturada en la entalladura 24 en el extremo superior del cilindro de la lente. Las alturas relativas de la plataforma 12 y el cilindro 24 de la lente, que están apoyados en el accesorio 16, es tal que la bolsa 44 queda comprimida  
25 por el cilindro de la lente y su forma cambia de la forma mostrada en la figura 5 a la forma mostrada en la figura 6. A continuación, el medio líquido de acoplamiento óptico 39 fluye a través del orificio 46 y rodea la muestra. El líquido de acoplamiento, por tanto,  
30 funciona como un líquido de inmersión. En otra realización práctica de la invención, la bandeja puede ser rellena con el líquido de inmersión, y, cuando el

tapón es perforado, el líquido de inmersión fluye hasta el interior la bolsa. En otra realización práctica, la bolsa y la bandeja son rellenos de manera independiente. Cuando el tapón 45 es abierto los fluidos  
5 pueden mezclarse.

En cualquiera de los dos casos, la altura del líquido sobre la lente y sobre la base depende de la posición relativa de la bandeja y puede variar en función del  
10 desplazamiento de la bandeja para seleccionar el foco sobre la sección de muestra cuya imagen debe ser formada, véase la figura 1B. La configuración de la bolsa también cambia mientras la bandeja se desplaza con respecto a la lente 18 del objetivo para escanear la  
15 sección.

La lente del objetivo 18 puede ser una lente genérica cuyas aberraciones esféricas son corregidas por un cubreobjetos de un cierto índice  $N_T$  y espesor  $T$ . La  
20 aberración esférica presente en la lente del objetivo es igual y opuesta a la aberración esférica introducida por el medio de cobertura o cubreobjetos. Cuando el foco es ajustado hasta la superficie superior o ventana 32, el medio de cobertura incluye la placa 52, el medio de  
25 acoplamiento 39 y la ventana 32. La aberración esférica puede ser descrita mediante varias representaciones tales como la aberración de haces longitudinales, las aberraciones de rayos transversales o la aberración del frente de onda. Utilizando la aberración de haces  
30 longitudinales, la aberración esférica =  $LA_T$ . La aberración longitudinal puede ser minimizada mediante una única placa de índice  $N_T$  y espesor  $T$  o una serie de

placas de modo que donde la placa está en el aire,

$$LA_T(N_T, T) = \sum_{i=1}^{i=N} LA_T(N_i, t_i)$$

donde,

$$LA(N_i, t_i) = \frac{t_i}{N_i} \left[ \frac{1 - N_i \cos U}{\sqrt{N_i^2 - \sin^2 U}} \right]$$

5 y donde U es el ángulo en el aire con respecto al eje óptico del rayo marginal en el haz convergente.  $N_i$  y  $t_i$  son el índice y espesor de cada una de las placas. Las relaciones cuando la placa es líquida son similares, véase Warren Smith, Optical Engineering, páginas 96-99  
10 publicado por McGraw Hill (1990) para más información sobre las ecuaciones proporcionadas anteriormente.

La aberración es introducida por la muestra y en concreto por la textura superficial de la muestra en la  
15 ruta óptica (a lo largo del eje de la lente 18). Un rayo láser procedente de un sistema de formación de imágenes confocal 36 pasa a través de la lente por la ruta óptica y es enfocado sobre el muestra. El tejido define una superficie corrugada, tal como se muestra en la figura  
20 8. Existe variación del índice entre la superficie del tejido y la ventana 32, que puede ser anulada en parte mediante una selección del índice y del espesor en la dirección del rayo (a lo largo del eje óptico) a través de la ventana 32. Los otros índices de refracción de los  
25 elementos en la trayectoria del haz son también tenidos en cuenta en la determinación del espesor e índice de la

ventana 32, placa 52, o ambos. El principal factor determinante del índice y espesor de la ventana 32 es el índice del tejido de la muestra 34. Así pues, el índice y espesor de la ventana 32 (o placa 52) dependerá del  
 5 tipo de muestra cuya imagen se esté formando. Se prevén diferentes bandejas 10 para diferentes tipos de muestras (riñón, hígado, cervix, etcétera) y cada una deberá poseer su propio espesor de ventana e índice a fin de reducir la aberración esférica.

10

La bandeja contiene un líquido de inmersión 38 con un índice que en términos generales coincide con el índice medio del tejido de la muestra 34. Este líquido puede tener una función de conservante del tejido o fijador.

15

Cuando la muestra de tejido 34 es colocada en la bandeja en la base 26 y sobre la ventana 32, tal como se muestra en la figuras 3 y 4, la muestra 34 queda sujeta por el mecanismo de fijación 40. El mecanismo de fijación que  
 20 es ilustrado posee dedos con ganchos o púas que son enbisagrados a las paredes laterales 28 en puntos espaciados. Los mecanismos incluyen muelles 42 que proporcionan cierres centrales, de modo que cuando los dedos son presionados de forma descendente más allá de  
 25 su eje de rotación, éstos son retenidos por los muelles 42. Pueden utilizarse otros mecanismos de fijación tales como mallas o una membrana de recubrimiento o una bolsa permeable o perforada. Pueden preverse marcas de referencia, que pueden ser visualizadas o cuya imagen  
 30 puede ser formada, en el caso de las mallas o membranas. El uso de una membrana o malla puede ser preferible ya que la muestra 34 puede ser desplazada por debajo de la

membrana. La bandeja de membrana para muestras o casete constituye el objeto de una solicitud asociada presentada simultáneamente a la presente a nombre de Bill Fox, et al. en la actualidad Patente Estadounidense

5 No. 6,411,434. Aparece información adicional acerca del uso de marcas sobre el mecanismo de fijación (la malla o membrana) para marcar posiciones del tejido cuya imagen es formada en la Solicitud de Patente Internacional también en tramitación No. PCT/US99/21116, y en la

10 Solicitud de Patente Estadounidense, solicitada a nombre de Roger J. Greenwald y James M. Zavislan, número de serie 60/100,176, solicitada el 14 de septiembre de 1998, actualmente Patente Estadounidense No. 6,745,067. La función de las fijaciones es mantener inmóvil el

15 tejido durante su examen y además proporcionar un medio para comprimir ligeramente la superficie del tejido contra la ventana. Alternativamente, las fijaciones pueden proporcionar tensión para atirantar la superficie del tejido. La sujeción del tejido, bien con compresión

20 normal contra la ventana o con tensión paralela a la ventana (o ambas), tiende a reducir el pico de textura superficial, o corrugación, hasta una profundidad de valle.

25 Tal como se muestra en la figura 1, la bolsa deformable fina 44 queda unida a la base 26 y rodea la ventana 32 y la abertura 46 inicialmente taponada. La bolsa es rellena con el medio de acoplamiento óptico 39, el cual puede poseer un índice seleccionado para reducir la

30 distorsión de imagen debida a las corrugaciones formadas por la superficie de la textura de la muestra 34 a través de la cual pasa el haz óptico formativo de

imágenes. Preferiblemente el líquido de acoplamiento es el mismo que el líquido de inmersión 38 y el líquido de acoplamiento puede fluir a través de la abertura 46, la cual puede disponer inicialmente de un tapón 45 y puede  
 5 ser taponada y, a continuación, ser abierta por el perno 50 dispuesto en la tapa 30, cuando la tapa es cerrada, tal como se muestra en la figura 6.

La placa estabilizadora 52 está unida a la bolsa 44  
 10 opuesta a la ventana 32. La placa tiene un índice de refracción y un espesor que es tenido en cuenta al seleccionar el espesor e índice de la ventana 32. Un imán o anillo magnético 56 rodea la placa 52, véase la figura 1A. La placa 52 puede estar sujeta mediante  
 15 fusión, soldadura, cementación, fricción o un tornillo dispuesto en el anillo 56. El anillo está permanentemente unido, mediante una unión fundida o cementada, a la bolsa 44 o a una abertura en la bolsa. El diámetro del anillo 52 es adaptado para que éste  
 20 encaje en una entalladura 58 en el extremo superior del cilindro de la lente del objetivo. El cilindro puede estar fabricado de material magnético para que pueda fijar la bolsa 44 en su lugar sobre el conjunto de la lente del objetivo 18. La unión es removible ya que la  
 25 fuerza de sujeción es magnética. Pueden utilizarse otros enganches removibles o separables para mecanismos, tales como cierres de resorte. La placa 52 puede ser curvada o con forma de menisco para proporcionar potencia óptica a la potencia del objetivo, si así se desea.

30

El sistema de formación de imágenes confocal 36 puede ser del tipo descrito en las patentes antes mencionadas

de Anderson y Zavislan. Los sistemas de formación de imágenes que utilizan microscopía de doble fotón o tomografía de coherencia óptica pueden asimismo ser utilizados, véase Denk et al., Patente Estadounidense 5 No. 5,034,613 y Schmitt et al., Proc. SPIE, volumen 1889 (1993). Asociado con el sistema de formación de imágenes se encuentra un monitor o indicador 60 que proporciona una representación de la imagen de la sección. La imagen además puede ser almacenada digitalmente en la memoria mostrada como almacenador de imágenes 62. La situación de la sección cuya imagen está siendo formada se obtiene mediante controles de usuario 64 que pueden proporcionar señales para el accionamiento de motores directos u otros accionadores en el mecanismo de translación 14 que selecciona la sección cuya imagen debe formarse y puede escanear la sección. Alternativamente, la fase de translación puede controlarse manualmente mediante el uso de micrómetros. El almacenador de imágenes 62 o el sistema de formación de imágenes pueden estar conectados a través de un conmutador 66 a un sistema de transmisión telepatológica 68 que transmite la imagen a un lugar remoto. Un sistema 68 así es objeto de la Patente Estadounidense 5,836,877 concedida el 17 de noviembre de 1988 a J. Zavislan.

25 Tal como se muestra en las figuras 1 y 1B, la lente 18 puede enfocar el haz en la superficie o dentro de la muestra desplazando el soporte 12 con lo que se varía la distancia entre la lente y la bandeja. A medida que la distancia a lo largo del eje óptico varía respecto a la distancia dentro del tejido, varía el espesor a lo largo de dicho eje del medio de acoplamiento 39 en sentido

opuesto. Ello mantiene la ruta óptica constante incluso aunque la sección se encuentre bastante introducida dentro de la muestra. La relación inversa de espesor de bolsa con respecto a la profundidad de foco tiene lugar  
5 en una dirección que compense la aberración debida a las variaciones físicas de longitud entre la lente y la sección del medio cuya imagen se está formando.

Tal como se muestra en la figura 8, las corrugaciones debidas a la textura superficial de la muestra 34 crean  
10 corrugaciones con una profundidad (h) (desde el ápice de los picos de corrugación hasta el fondo de los valles de las corrugaciones) que pueden tener aproximadamente una longitud de 200 micrones. El índice de refracción del  
15 tejido es  $n_T$ , mientras que el índice de refracción del fluido de inmersión, que llena las corrugaciones proporcionando la textura superficial de la muestra 34, es un índice  $n_I$ . El haz es enfocado sobre un foco f en la sección cuya imagen debe ser formada. El frente de onda,  
20 que puede ser esférico, puede ser distorsionado debido a una diferencia en la ruta óptica  $\phi$  grabada en el frente de onda que converge en el foco F. Esta diferencia de ruta es una función del producto de la altura de corrugación h y la diferencia entre  $n_T$  y  $n_I$ . El uso del  
25 fluido de adaptación del índice reduce la diferencia de la ruta óptica con lo que el grabado se minimiza. La diferencia en la ruta óptica  $\phi$  es mostrada ampliada en 63 en la figura 8. La diferencia de la ruta óptica puede también ser representada mientras el frente de onda se  
30 propaga hasta el foco F. Este frente de onda puede ser esférico y parte de una esfera, tal como se muestra en 68 antes de pasar a través las corrugaciones en la

superficie de la muestra 34. La distorsión de la ruta óptica después de la transmisión a través de la superficie del tejido es aproximada mediante la relación

$$5 \quad \varphi = h (n_T - n_I)$$

donde  $h$  es la profundidad mecánica de la textura superficial. Con objeto de corregir la distorsión del frente de onda del haz (que puede ser un frente de onda esférico) en virtud de la variación en el índice de refracción exhibida por las corrugaciones, es deseable que la diferencia de índice del líquido de inmersión 38 y el índice medio de refracción del tejido multiplicados por la altura  $h$  de la corrugación, que es la distancia de la ruta óptica entre las colinas y los valles de la corrugación), no exceda un cuarto de la longitud de onda del rayo láser usado para la formación de imágenes por parte del sistema de formación de imágenes 36. Por tanto, el medio de inmersión es seleccionado en función del tipo de tejido que es colocado en la bandeja y corrige sustancialmente la distorsión óptica debida a la textura superficial de la muestra.

25 Durante su funcionamiento, la bandeja y la muestra son preparados mediante la colocación del tejido en su interior y el posicionamiento del tejido. A continuación la bandeja es situada en el soporte 12 y el cierre de imán en 56 conecta la bandeja con la lente del objetivo. 30 La tapa se cierra, perforando la membrana o tapón que cubre la abertura 46, permitiendo que el medio de acoplamiento fluya hacia arriba desde la bolsa 44 unida

a la parte inferior de la bandeja 10. En una realización práctica alternativa la bandeja puede ser llenada con el líquido de inmersión antes de cerrar la tapa y fluye hacia abajo hasta la bolsa 44 tras el cierre de la tapa.

5 A continuación, mediante el accionamiento de los controles del usuario 64, el haz es enfocado en la sección y escanea a lo largo de la sección a fin de obtener imágenes de dicha sección. Un código de barras, u otra marca, puede ser aplicado a la bandeja 10, bien  
10 en su tapa o en una pared lateral, a efectos de identificar y efectuar el seguimiento de la muestra, lo cual resulta especialmente útil cuando la bandeja y la muestra están archivadas (almacenadas para un examen posterior u otro uso).

15

A los expertos en la materia sin duda se les ocurrirán variaciones y modificaciones en el aparato descrito en el presente documento y en su método de funcionamiento dentro del ámbito de protección de la invención tal como  
20 queda definida por la reivindicaciones adjuntas. En consecuencia, la precedente descripción debe considerarse como ilustrativa y no en un sentido limitativo.

25

30

REINVINDICACIONES

1. Un portador de muestras (10) que comprende:

- 5           un recipiente provisto de una tapa (30) y dotado de una superficie interior sobre la cual se dispone una muestra de tejido (34), una ventana (32) en dicho recipiente que muestra al menos parte de dicha superficie interna a través de la cual se  
10       propaga un haz óptico para formar la imagen de al menos una sección de la muestra de tejido (34) o una superficie de la muestra de tejido, medios (40) para fijar la muestra de tejido (34) sobre dicha ventana (32),  
15       una bolsa deformable (44) unida al exterior del recipiente y opuesta a la superficie interior sobre la que la muestra de tejido (34) es dispuesta, un medio de inmersión (38) dispuesto con la muestra de tejido (34) que posee un índice de refracción  
20       que se hace coincidir sustancialmente con el índice de refracción de la muestra de tejido (34) y/o un medio de acoplamiento (39) en dicha bolsa, y un conducto (46) entre dicha bolsa (44) y dicho recipiente, el cual es abierto mediante perforación  
25       por una protuberancia (50) sobre dicha tapa (30) cuando la tapa (30) está siendo cerrada y dicho conducto (46) cuando es abierto permite el flujo de dicho medio de acoplamiento (39) desde dicha bolsa (44) hasta dicho recipiente y/o el flujo de dicho  
30       medio de inmersión (38) desde dicho recipiente hasta dicha bolsa (44).

2. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 1, en el que el índice de refracción del medio de acoplamiento (39) es el mismo que el índice de refracción del medio de inmersión (38), o que además  
 5 comprende un sistema de formación de imágenes compuesto de al menos una lente del objetivo (18) que enfoca un haz óptico en la sección de la muestra de tejido (34) cuya imagen debe ser formada, estando dispuesta la bolsa deformable (44) en una relación acoplada físicamente con  
 10 la lente.

3. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 2, donde se define un sistema de formación de imágenes, que además comprende un soporte (12) en el que el  
 15 portador (10) está dispuesto, un accesorio que conecta el soporte (12) con la lente del objetivo (18), y medios para variar la relación posicional del soporte (12) y el portador (10) de su interior con respecto a la lente del objetivo (18), en el que dicha lente del objetivo (18)  
 20 está fija y dicho medio está operativo para desplazar dicho soporte (12) en direcciones a lo largo de un eje óptico de la lente (22) y en direcciones mutuamente perpendiculares entre sí y respecto al eje óptico, o que además comprende una placa estabilizadora transparente  
 25 (52) unida a la bolsa (44) opuesta a la ventana (32) y medios para montar la placa (52) y la lente del objetivo (18) de forma desmontable, o en el que dicho recipiente, incluyendo dicho líquido de inmersión (38) y dicha bolsa (44), es separable de dicha lente del objetivo (18) y  
 30 removible de dicho soporte (12) para su eliminación tras la formación de la imagen de la muestra de tejido (34).

4. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 1, en el que el recipiente dispone de un puerto capaz de ser abierto que proporciona dicho conducto (46) a través del cual un medio líquido bien desde el recipiente hasta el interior de la bolsa (44) o desde la bolsa (44) hasta el interior del recipiente a fin de proporcionar el medio de inmersión (38) y el medio de acoplamiento (39).
5. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 1, que además comprende:
- ópticas dirigidas hacia el tejido extirpado a través de dicha ventana (32).
6. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 5, en el que dicha bolsa (44) se encuentra entre dicho recipiente y dichas ópticas, que presenta un medio entre dicho recipiente y dichas ópticas las cuales ópticamente acoplan dichas ópticas a dicho recipiente, o además comprende marcas aplicadas sobre dicho recipiente para la identificación de dicho tejido extirpado dispuesto en su interior.
7. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 1, que además comprende medios para formar la imagen de dicha muestra de tejido (34) a través de dicha ventana (32) cuando dicha muestra de tejido (34) se encuentra sobre dicha ventana (32).
8. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 7, en el que dicha bolsa (44) es ópticamente transparente para dichos medios de formación de

imágenes.

9. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 1, en el que dicho medio de inmersión y dicho medio de  
5 acoplamiento poseen índices de refracción que coinciden sustancialmente.

10. El portador de muestras (10) según la Reivindicación 7, en el que dicho medio para la formación de imágenes  
10 dispone de una lente del objetivo (18) que enfoca un haz óptico a través de dicha ventana (32) hasta la muestra de tejido (34) en cuya señal de respuesta a dicho medio de formación de imágenes se representa una sección de dicha muestra de tejido (34), o en el que dicho medio de  
15 formación de imágenes es un microscopio confocal, o en el que dicho medio de formación de imágenes es operativo mediante tomografía de coherencia óptica y microscopia de doble fotón, o en el que dicha muestra de tejido (34) posee al menos una superficie sustancialmente planar  
20 contra dicha bandeja (10).

11. El portador de muestras (10) según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicho medio (40) de fijación tiene uno de sus dedos elástico y  
25 polarizado, con malla, o membrana, con capacidad para mantener dicha muestra de tejido (34) sobre dicha ventana (32).

12. El portador de muestras (10) según cualquiera de las  
30 reivindicaciones precedentes, en el que dicho medio de inmersión (38) es seleccionado para corregir sustancialmente la distorsión óptica debida a la textura

superficial de la muestra de tejido (34).

13. Un método para la formación de imágenes de tejido extirpado que comprende:

5

prever un recipiente provisto de una tapa (30) y proporcionar una superficie interior para la colocación de dicha muestra de tejido (34);

10

sujetar dicha muestra de tejido (34) sobre dicha superficie interior de dicho recipiente;

formar la imagen de al menos una sección de dicha muestra de tejido (34) a través de dicho recipiente;

15

situar una bolsa (44) en el exterior del recipiente y opuesta a la superficie interior;

prever en dicho recipiente un medio para un líquido de inmersión (38) con un índice de refracción que sustancialmente coindice con la muestra de tejido (34) y/o proporcionar un medio de acoplamiento (39)

20

en dicha bolsa; en el que dicha fase de formación de imágenes forma la imagen de dicha muestra de tejido (34) a través de al menos dicho recipiente y dicho fluido de acoplamiento óptico (39) de dicha bolsa (44); y

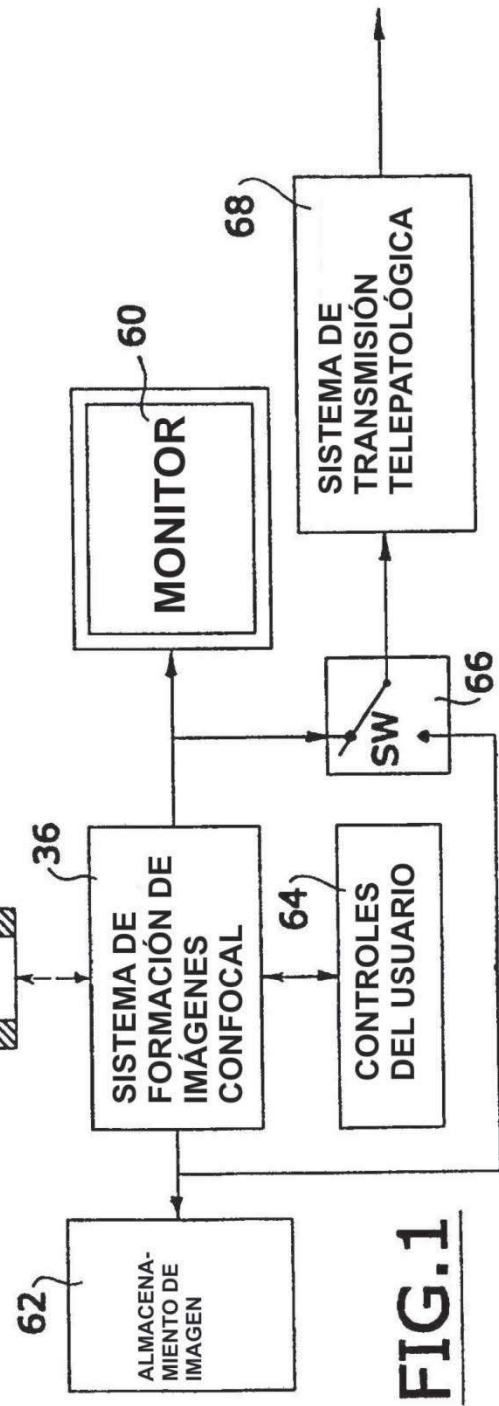
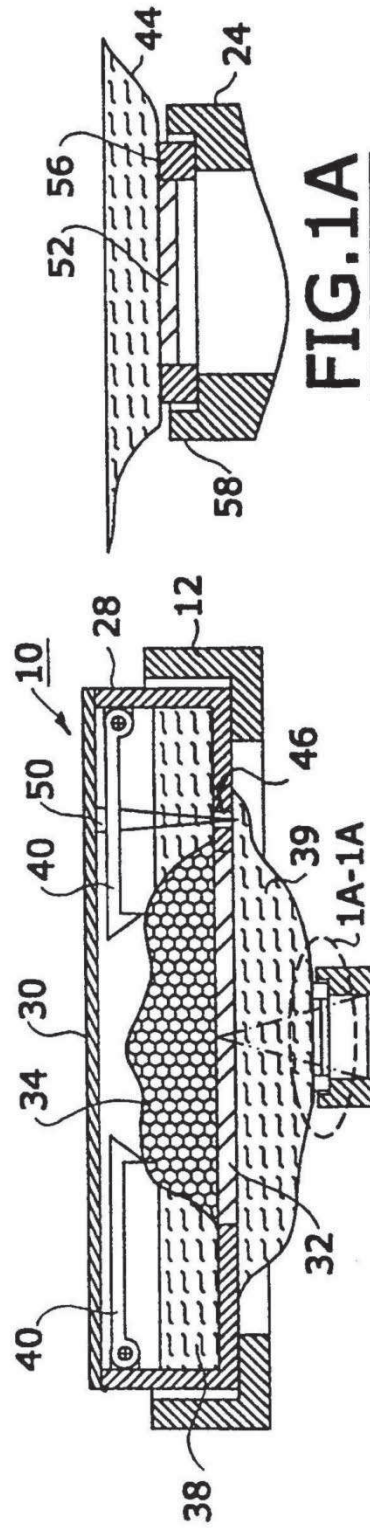
25

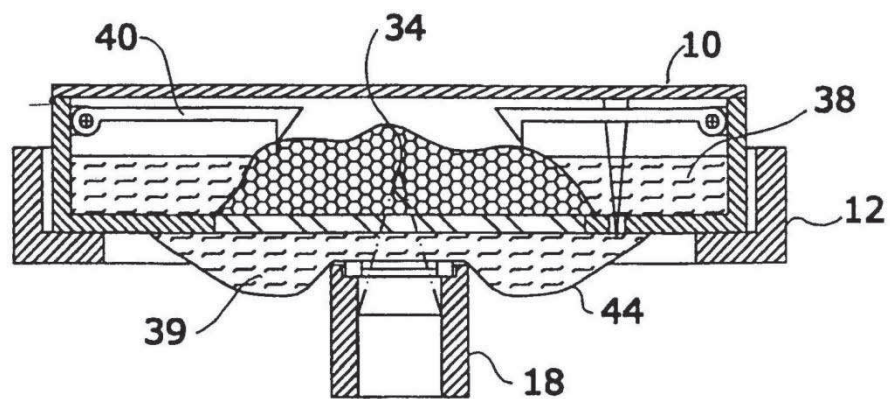
prever un conducto entre dicha bolsa (44) y dicho recipiente, el cual es abierto mediante perforación por una protuberancia (50) en la tapa (30) cuando la tapa está siendo cerrada a fin de

30

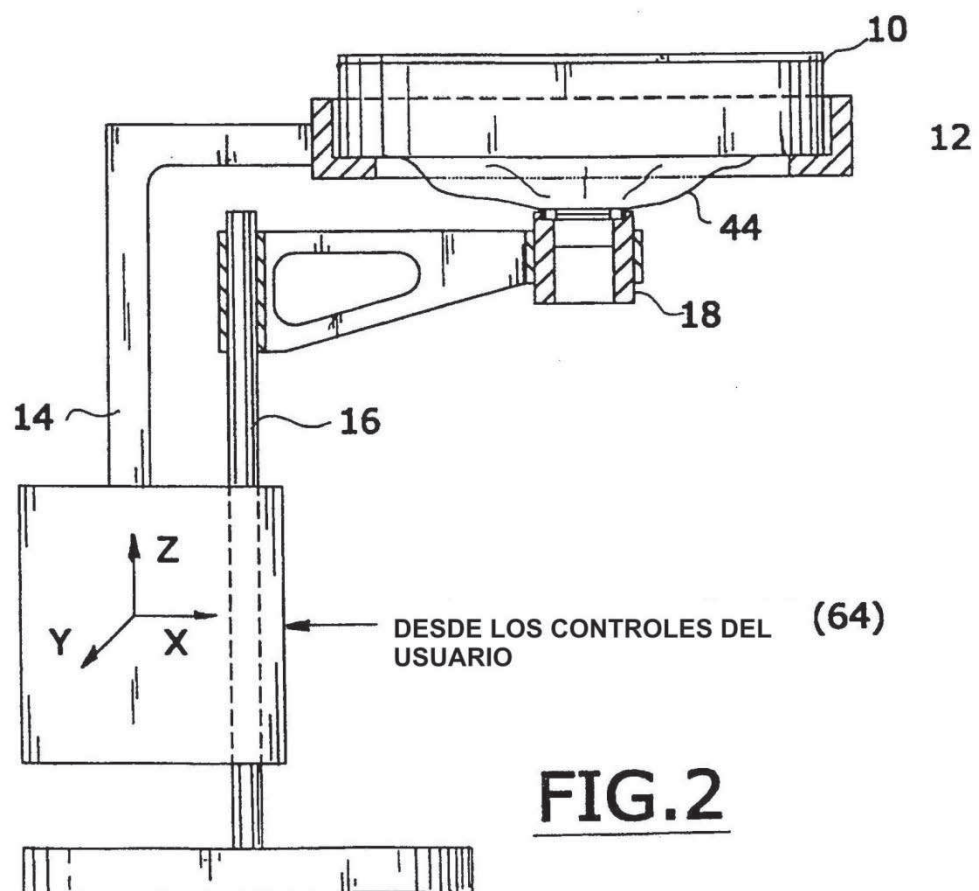
permitir el flujo de dicho medio de acoplamiento (39) desde dicha bolsa (44) hasta dicho recipiente y/o dicho medio de inmersión (38) desde dicho recipiente hasta dicha bolsa (44) cuando dicho

conducto (46) es abierto.

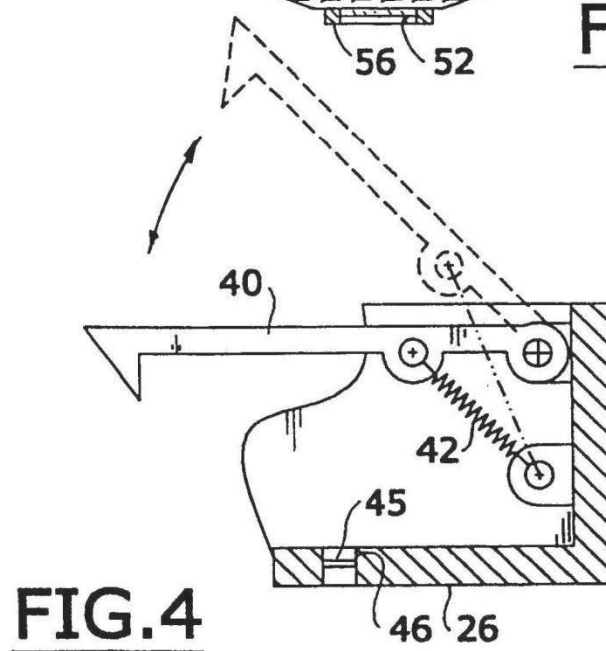
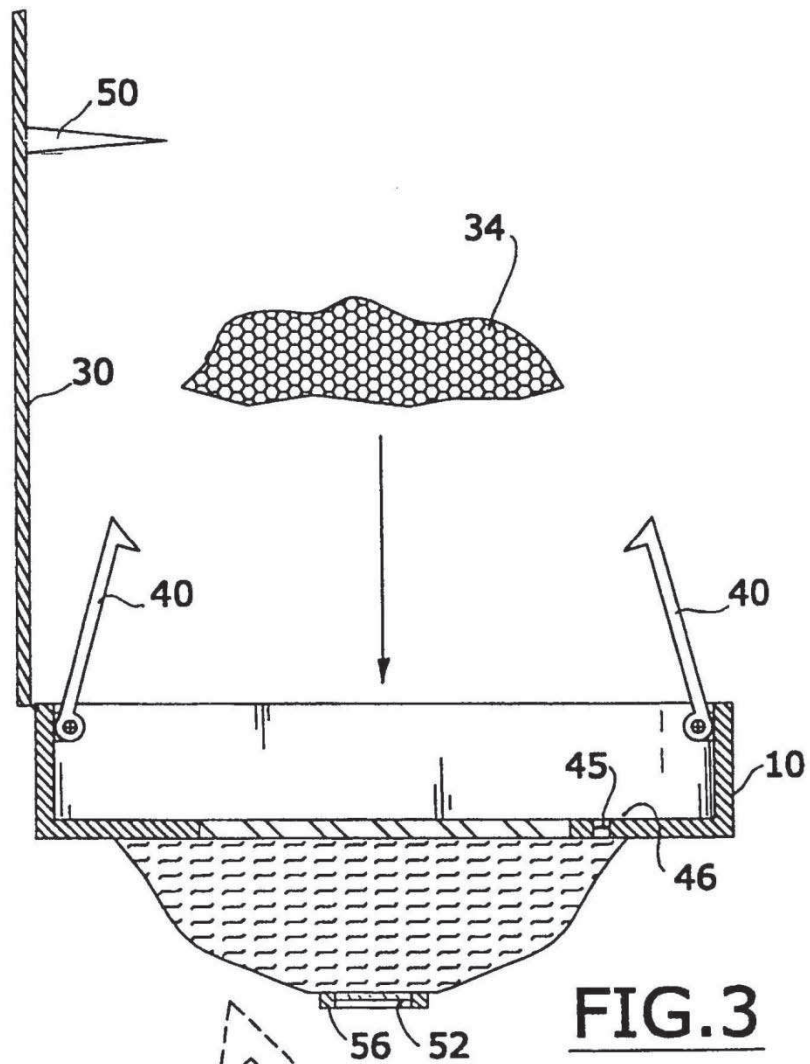


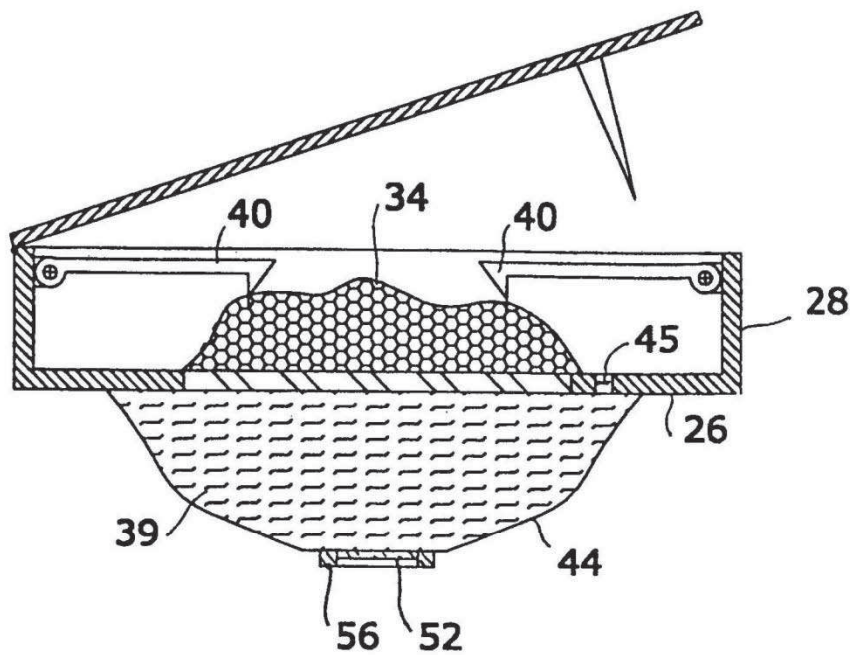


**FIG.1B**

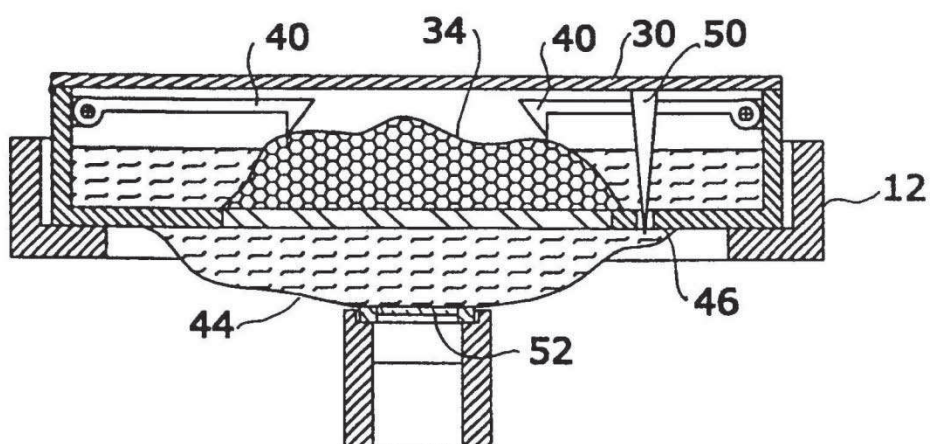


**FIG.2**

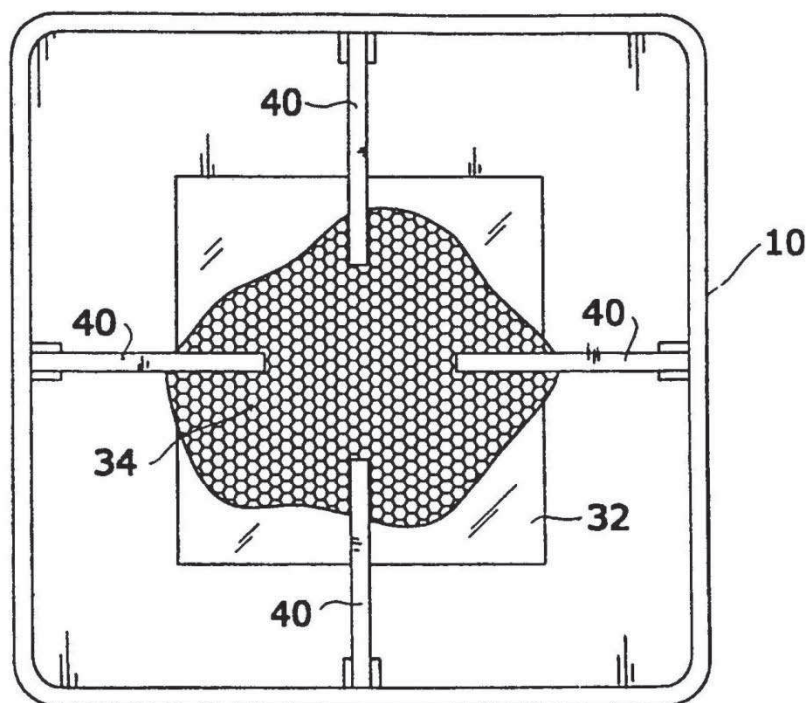




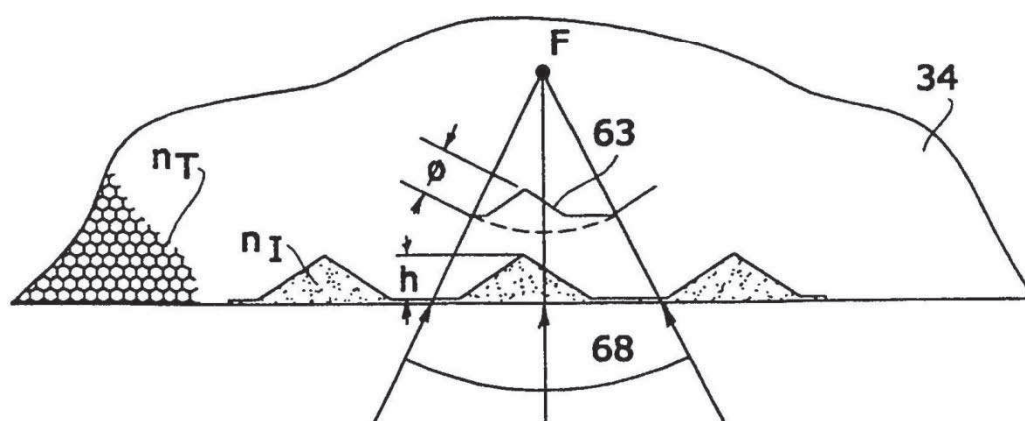
**FIG. 5**



**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**