

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 203**

51 Int. Cl.:

G01N 33/543 (2006.01)

G01J 3/50 (2006.01)

G06T 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2008 E 08794169 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 2181334**

54 Título: **Método y aparato de lectura**

30 Prioridad:

22.08.2007 SE 0701899

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

25.02.2016

73 Titular/es:

**PHADIA AB (100.0%)
BOX 6460
751 37 UPPSALA, SE**

72 Inventor/es:

LJUNG, ARNE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 561 203 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

Método y aparato de lectura

La presente invención se refiere a un método para obtener una lectura fiable a partir de una señal compuesta representada por una zona coloreada de un elemento de ensayo, obteniéndose el color como respuesta a un analito.

5 Antecedentes de la invención

Para muchas aplicaciones de diagnóstico se utiliza el color o el cambio de color como indicación de la presencia o ausencia de un analito en una muestra analítica biológica tal como sangre (suero, plasma, sangre entera), saliva, fluido lagrimal, orina, líquido cefalorraquídeo, sudor, etc.

10 En aplicaciones cercanas al paciente (denominadas en inglés "Point-of-Care", abreviado "PoC", literalmente "en el punto de cuidados"), donde es deseable obtener una lectura rápida de un análisis, es esencial que la lectura sea clara e inequívoca. Existen muchas aplicaciones comercialmente disponibles que se basan en simples tiras de ensayo sobre las que se aplica una muestra, tras de lo cual la migración de la muestra en la tira pone a los analitos en contacto con un reactivo, siendo la respuesta un color en el caso de una reacción positiva, es decir, presencia del analito en cuestión.

15 En el documento US-7,560,288 (Home Diagnostics, Inc.) se describe un ejemplo de estos dispositivos de la técnica anterior. Se reivindica que se trata de una tira multicapa de ensayo diagnóstico sanitario mejorada, destinada a recibir un fluido heterogéneo, por ejemplo sangre entera, para determinar la presencia y/o cantidad de un presunto analito en el fluido gracias a facilitar un cambio de color de la tira que corresponde a la cantidad del analito en el fluido. La tira de ensayo mejorada comprende no más de dos capas operativas y una membrana de reacción que
20 contiene un reactivo capaz de reaccionar con el analito de interés para producir un cambio medible en dicha membrana. También comprende una capa superior de soporte que define una abertura receptora de muestra para recibir en ella la muestra de fluido, una o más estructuras para dirigir la muestra que contiene el analito de interés a través de al menos una parte de dicha membrana de reacción, y una capa inferior de soporte que tiene una abertura para observar la reacción.

25 No hace falta decir que la respuesta es mejor cuanto más fiable, es decir, más clara e inequívoca. A veces, una prueba es de naturaleza binaria, como en el caso de una prueba de embarazo, donde sólo puede darse un resultado positivo o uno negativo. Por el contrario, para pruebas tales como pruebas de alergia puede darse una gama de niveles de respuesta en función del nivel de concentración de anticuerpos en el suero del paciente.

30 Un marcador común para el uso en, por ejemplo, pruebas de alergia o autoinmunitarias es el llamado conjugado de oro, que comprende una partícula coloidal de oro con un tamaño del orden de nanómetros, a la cual está acoplada ("conjugada") una proteína (anticuerpo o antígeno). El conjugado da lugar a cierta señal detectable cuando, durante el ensayo, se acopla al mismo el analito deseado.

35 Con algunas muestras en las que normalmente se obtiene una clara indicación de color si hay una respuesta positiva, puede suceder a veces que otras especies presentes (con frecuencia los mismos alérgenos) originan líneas grises que pueden ser difíciles de distinguir de líneas de color rosa. Esto "desdibuja" la verdadera señal. Por tanto, se pueden obtener resultados positivos falsos o negativos falsos, lo que naturalmente puede tener consecuencias si la prueba se utiliza para constituir la base de un régimen de tratamiento.

40 El artículo "Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns", por Eisen *et al.* en Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 95, 1998, págs. 14863-14868, describe la medición de una matriz de ADN utilizando una muestra de referencia con una marca fluorescente y una muestra experimental con otra marca fluorescente de diferente longitud de onda, utilizando más de una longitud de onda para la medición. En particular, el cálculo del cociente entre las señales a diferente longitud de onda se utiliza como uno de los pasos en el cálculo matemático de los resultados. Por tanto, los resultados se basan en el cociente entre las señales de las muestras para cada celda de la matriz de ADN.

45 Compendio de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar un método y uso de un dispositivo en dicho método para proporcionar lectura fiable de sistemas analíticos del tipo discutido en el preámbulo, es decir, que eliminen el problema de lecturas erróneas.

Este objeto se consigue en un primer aspecto con el método que se define en la reivindicación 1.

50 En un segundo aspecto, la invención proporciona un sistema de lectura como se define en la reivindicación 7, que comprende un dispositivo de iluminación capaz de proporcionar al menos luz de dos distintas longitudes de onda, un dispositivo de captura de imagen en color y una unidad de control para calcular un valor de saturación (S) de color en imágenes grabadas por el dispositivo de captura de imagen en color.

La principal ventaja de la presente invención es que no se necesita personal especializado o especialmente formado

para realizar lecturas del ensayo.

El alcance adicional de aplicabilidad de la presente invención será evidente a partir de la descripción detallada que se expone en lo que sigue y los dibujos adjuntos, que se ofrecen solamente a modo de ilustración y por lo tanto no deben considerarse limitantes de la presente invención, y en los cuales

- 5 la Figura 1 ilustra esquemáticamente una primera realización de una configuración de lectura según la invención; la Figura 2 ilustra esquemáticamente una segunda realización de una configuración de lectura según la invención; la Figura 3 es un gráfico de una comparación entre dos "lectores visuales" experimentados; y la Figura 4 es un gráfico de "Lector visual" frente a "Lector automatizado" según la invención.

Descripción detallada de realizaciones preferidas

- 10 Primeramente se ofrecerá un breve repaso de distintos sistemas de color (espacios de color).

El modelo de color RGB es un modelo aditivo en el que se combinan de distintas maneras rojo, verde y azul (utilizados frecuentemente en modelos de iluminación aditiva) para reproducir otros colores. El nombre del modelo y su abreviatura RGB proviene de los nombres en inglés ("Red", "Green", "Blue") de los tres colores primarios, es decir, respectivamente rojo, verde y azul. Estos tres colores no deben confundirse con los pigmentos primarios de rojo, azul y amarillo, conocidos en el mundo artístico como "colores primarios".

- 15 En sí mismo, el modelo de color RGB no define qué se entiende por "rojo", "verde" o "azul", y el resultado de mezclarlos no es exacto a menos que se defina la composición espectral exacta del rojo, verde y azul primarios.

El modelo HSV (siglas del inglés "Hue, Saturation, Value", es decir, "Matiz, Saturación, Valor"), también conocido como HSB ("Hue, Saturation, Brightness", es decir, "Matiz, Saturación, Brillo"), define un espacio de color en términos de tres componentes constitutivos:

- 20 Matiz, el tipo de color (por ejemplo, rojo, azul o amarillo): varía entre 0-360° (aunque se normaliza a 0-100% en algunas aplicaciones)

Saturación, la "vitalidad" del color: varía entre 0-100%. También denominada a veces "pureza", por analogía con las magnitudes colorimétricas de pureza de excitación y pureza colorimétrica. Cuanto menor sea la saturación de un color, más "grisura" habrá y más desvaído parecerá el color, por lo que es útil definir la desaturación como el inverso cualitativo de la saturación.

- 25 Valor, el brillo del color: varía entre 0-100%.

El modelo HSV es una transformación no lineal del espacio de color RGB, y puede utilizarse en progresiones de color. Téngase en cuenta que HSV y HSB son lo mismo, pero HSL es distinto.

- 30 El espacio de color HSL, también denominado HLS o HSI, recibe su nombre de las siglas del inglés "Hue, Saturation, Lightness (también Luminance o Luminosity) / Intensity", es decir, "Matiz, Saturación, Claridad (también Luminancia o Luminosidad) / Intensidad". Mientras que el modelo HSV (Matiz, Saturación, Valor) se puede ver gráficamente como un cono o pirámide hexagonal de color, el modelo HSL se puede representar como un doble cono o doble pirámide hexagonal, y también como una esfera. Ambos sistemas son deformaciones no lineales del cubo de color RGB.

La definición del modelo de color HSV no es independiente del dispositivo. El modelo HSV se define únicamente en relación con las intensidades RGB - sin definiciones físicas de sus cromaticidades y punto blanco. Para una representación precisa e independiente del dispositivo, se debe usar el modelo CIE L*a*b u otro modelo de color basado en el método CIE.

- 40 En los distintos programas de software se suele presentar al usuario un modelo (HSV o HSL) de color basado en el matiz, en forma de un selector lineal o circular de matiz y una superficie bidimensional (por lo general un cuadrado o un triángulo), donde se puede elegir la saturación y el valor o luminosidad para el matiz seleccionado. Con esta representación, la diferencia entre HSV y HSL es irrelevante. Sin embargo, muchos programas también permiten seleccionar un color a través de cursores lineales o campos de entrada numérica, y para ese tipo de control se utiliza habitualmente HSL o HSV (pero no ambos). Tradicionalmente es más común el HSV.

La presente invención emplea la noción de saturación de color, y se utiliza el modelo HSV para analizar una imagen. La invención es aplicable en general al análisis de "manchas" coloreadas en tiras de ensayo, por ejemplo, y se pasa a describir en lo que sigue, ejemplificada por dos realizaciones.

- 50 La presente invención tiene utilidad particular para los denominados dispositivos analíticos cercanos al paciente (denominados en inglés "Point-of-Care", abreviado "PoC", literalmente "en el punto de cuidados"), para la detección de alergias. Tales dispositivos analíticos consisten típicamente en una carcasa de plástico que tiene dispuesta en la misma una tira absorbente (porosa) que queda al descubierto a través de una ventana de la carcasa. Se coloca en un pocillo para muestra una muestra líquida (por ejemplo, sangre, plasma o cualquier otro líquido adecuado), y se le hace migrar por fuerzas capilares a lo largo de la tira, donde se encuentra y reacciona con alérgenos en ubicaciones

predefinidas, por lo común estrechas líneas transversales que cruzan la tira. También se provee un reactivo que provoca un cambio de color a fin de que la reacción se haga visible.

5 Para determinar la posición de la ventana se podrían utilizar coordenadas fijas para dicha ventana. Sin embargo, esto plantea requisitos muy elevados en cuanto a la precisión mecánica del dispositivo de lectura y del dispositivo analítico.

Como alternativa, y preferiblemente, se pueden utilizar métodos de tratamiento de imagen para localizar la posición de la ventana.

En las Figuras, a elementos que son comunes a ambas realizaciones se les ha asignado el mismo número de referencia.

10 En las Figuras 1 y 2 se representa una configuración o aparato de detección para obtener una lectura de un dispositivo analítico según la invención, mostrando, cada una, una realización respectiva de ello.

15 El sistema de lectura, designado en general con el número 10, comprende según la primera realización de la invención mostrada en la Figura 1 una o más (se muestran dos) fuentes 12 de luz blanca, un sensor 14 de imagen, convenientemente una cámara digital (aunque por supuesto también son posibles otros tipos de sensor de imagen), una unidad 16 de filtro que comprende al menos dos filtros seleccionables para distintas longitudes de onda. La unidad de filtro puede estar integrada en el sensor de imagen (la cámara) o bien se puede disponer por separado. También se muestra en la Figura 1 la tira 17 de ensayo con su zona 18 de detección.

20 En esta primera realización, se ilumina la zona 18 de detección de la tira de ensayo, como indican las flechas, y se hace pasar a través de un filtro la luz reflejada desde la zona de detección, también indicada con flechas, y se graba la imagen resultante. Se graba una imagen por cada filtro utilizado, con el fin de obtener dos imágenes con diferente saturación de color.

En la segunda realización del sistema 10 de lectura según la invención, mostrada en la Figura 2, no existe unidad de filtro. En su lugar se utilizan dos fuentes luminosas 21, 22 de diferente longitud de onda, y se graba una imagen por cada longitud de onda.

25 La elección de las longitudes de onda depende del marcador utilizado, y deberían seleccionarse de manera que una longitud de onda λ_1 sea una que presente máxima absorción por el marcador utilizado. La otra longitud de onda λ_2 (en el caso de dos marcadores) debe presentar una baja absorción por el marcador, pero situarse relativamente cerca de la primera longitud de onda, convenientemente a no más de 300 nm de la primera longitud de onda, es decir, λ_2 está dentro del intervalo $\lambda_1 \pm 300$ nm, preferiblemente a no más de 100 nm de la primera longitud de onda, es decir, λ_2 está dentro del intervalo $\lambda_1 \pm 100$ nm.

Para el tratamiento y evaluación de la imagen grabada se provee una unidad de control, por ejemplo un ordenador personal o una unidad de control dedicada en forma de un microprocesador 19. La unidad de control está programada para realizar un cálculo de un valor de saturación (S) de la imagen grabada.

35 En general, el método según la invención comprende grabar una o más imágenes de la zona 18 de respuesta del dispositivo analítico 17. Después se calcula un valor de saturación (S) de color para dichas imágenes, utilizando al menos dos colores (longitudes de onda) distintos. Finalmente, se utiliza el valor de S para determinar un resultado del análisis.

Para evaluar las imágenes grabadas se puede utilizar un método basado en el sistema de color HSV, que se ha discutido más arriba.

40 En particular, el valor de S viene dado por

$$S = \frac{\text{MAX} - \text{MIN}}{\text{MAX}} = 1 - \frac{\text{MIN}}{\text{MAX}}$$

45 utilizando el sistema HSV; en donde MAX es el valor máximo de la intensidad para las dos longitudes de onda grabadas, y MIN es el mínimo.

En una realización específica del sistema de lectura, la fórmula para calcular S se puede simplificar a

$$S = 1 - \text{Verde/Rojo}$$

Esto es posible en caso de que se sepa en qué gama de matiz estarán las líneas de respuesta que contienen conjugado de oro y que también se sepa en qué gama de matiz y saturación estará el fondo.

50 En esta fórmula, "Verde" es el valor del canal verde en un sistema de color RGB y "Rojo" es el valor del canal rojo en ese sistema de color RGB.

En particular, para que esta simplificación sea válida, el matiz debe cumplir con el requisito de $300^\circ < \text{Matiz} < 60^\circ$.

En un ensayo del tipo al que se refiere la presente invención pueden presentarse varias causas de error. Existen tres causas principales de error, a saber:

- 1) flujo insuficiente de plasma sobre la tira - valores pico más bajos
- 2) flujo insuficiente de conjugado - valores pico más bajos
- 3) lavado insatisfactorio - fondo más alto

Estos fenómenos pueden adquirir, en particular, distinta magnitud a lo largo de la tira, es decir, darán lugar a un grado variable de reacción en las zonas con alérgeno, originando así una intensidad de color variable a lo largo de la tira.

- 10 También pueden producirse en la dirección del flujo sobre la tira bandas de colores interfirientes, lo que hará que el fondo sea demasiado alto. La causa de dichas bandas puede ser la presencia de conjugado que haya quedado en la matriz debido a un lavado insuficiente.

Sin embargo, todos estos posibles errores provocarán un descenso en los valores de color de las líneas de ensayo reales, lo que se puede utilizar ventajosamente.

- 15 En concreto, para abordar los susodichos posibles errores, cuando se ha determinado la posición exacta de la ventana de la tira y se ha convertido la imagen a una imagen de saturación de color, se subdivide la imagen de la tira en la zona de respuesta en diversas sub-tiras. El número de sub-tiras puede variar desde unas pocas hasta, por ejemplo, 20 o 30. Convenientemente, el número de tiras es 5-25, más preferiblemente 8-20, lo más preferido 10-15. En una realización práctica se han utilizado 13 tiras.

- 20 Para cada sub-tira se determinan valores pico para todas las líneas de alérgeno del ensayo, junto con valores de fondo. Se calcula para cada línea y banda la diferencia entre pico y fondo. Se comparan todas las sub-tiras y se elige como valor "verdadero" para esa línea el valor más alto de una línea respectiva.

- 25 La invención es aplicable a cualquier tipo de dispositivo analítico que proporcione una respuesta visible (coloreada). Preferiblemente, el dispositivo analítico comprende una tira de ensayo en la que una muestra puede migrar desde un punto de aplicación de la muestra, pasando por una zona de reacción, hasta una zona de detección en la cual la respuesta coloreada es visible como una mancha o una banda. Son posibles otros tipos de ensayo, siempre que den como resultado una entidad coloreada que pueda ser grabada como una imagen, o cuya saturación de color se pueda medir.

- 30 En particular, se puede utilizar para evaluar la presencia o ausencia de un analito en una muestra analítica biológica tal como sangre (suero, plasma, sangre entera), saliva, fluido lagrimal, orina, líquido cefalorraquídeo, sudor, etc.

La invención también es aplicable, por supuesto, a otros tipos de muestras, tales como soluciones de fermentación, mezclas de reacción, etc. Sin embargo, la muestra es, en particular, un suero sin diluir o una muestra de sangre entera.

- 35 El marcador que se utiliza en el ensayo podría ser en principio cualquier tipo de marcador que proporcione una respuesta coloreada. Preferiblemente, el marcador es un conjugado de oro. El marcador está inmovilizado en una zona de detección de una tira reactiva y, cuando un analito migra a lo largo de la tira y entra en contacto con el marcador, se produce un cambio de color.

Ejemplos

- 40 En los ejemplos que siguen se empleó una configuración consistente en una cámara Canon EOS 350D como sensor de imagen. Proporcionó la iluminación una lámpara de diodo electroluminiscente (LED) Luxeon Star LXHL-LW3C que emite luz blanca. Se utilizaron dos filtros, uno que trabajaba a 530 nm y el otro a 610 nm (los filtros verde y rojo del sensor de imagen de la Canon 350D).

El dispositivo analítico fue un análisis PoC de alergia (ImmunoCAP Rapid Wheeze/Rhinitis Child).

Ejemplo 1

- 45 Se aplicaron en tiras de ensayo PoC una pluralidad de muestras procedentes de distintos pacientes con sospecha de padecer alergia al polen de abedul, y se generaron lecturas visuales.

Se entregaron las lecturas a un panel de personas (A, B, C, D) de prueba para su evaluación visual, y los resultados se exponen en la Tabla 1 a continuación.

- 50 Se analizaron las mismas tiras de ensayo con una configuración según la invención, y el resultado fue una lectura inequívoca. En la Tabla se ofrece el resultado como comparación con las evaluaciones visuales.

Ejemplo 2

5 La Figura 3 es un gráfico que muestra una comparación entre dos "lectores visuales" experimentados que evalúan los mismos dispositivos analíticos, donde las lecturas se realizan en una escala de 0-12, y cada dispositivo tiene 12 manchas. La lectura del "Lector visual 1" se representa gráficamente frente a la lectura del mismo dispositivo analítico por el "Lector visual 2". Para presentar los valores visuales (números enteros), se ha añadido ruido para diseminar los valores, al objeto de mostrar la densidad de lectura en distintas zonas del diagrama. Esta figura ilustra claramente el grado de incertidumbre de las lecturas visuales, y evidencia la necesidad de métodos y medios para obtener lecturas más consistentes con el fin de evitar interpretaciones erróneas.

Ejemplo 3

10 La Figura 4 es un gráfico que muestra lecturas realizadas por el dispositivo según la invención representadas frente a lecturas realizadas por un "lector visual" experimentado.

La Tabla siguiente muestra promedios de aproximadamente 1.000 lecturas (de la Figura 3) de un lector visual y de un lector automatizado según la invención. La Tabla muestra el valor medio del Lector automatizado (LA) según la invención para cada una de las lecturas visuales (LV) con valores enteros de 0 a 11.

LV	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
LA	0,22	0,93	2,08	2,95	3,94	4,79	5,81	6,44	7,42	8,43	9,56	10,98

15

Esto indica que el método y el dispositivo según la invención son comparables a lectores visuales experimentados.

REIVINDICACIONES

1. Un método para detectar la presencia y/o cantidad de un analito en una muestra mediante la obtención de una lectura a partir de una señal compuesta representada por una zona coloreada en un elemento de ensayo, obteniéndose el color como respuesta a un analito, comprendiendo el método
 5 proporcionar como dicho elemento de ensayo un sustrato de lectura en forma de una tira absorbente que tiene al menos una zona de respuesta y al menos un marcador en dicha zona de respuesta, provocando el marcador un cambio de color como una indicación de la presencia o ausencia de dicho analito;
 10 aplicar una muestra líquida, sangre o plasma que contiene un analito, en dicha tira, con lo que se hace migrar dicha muestra por fuerzas capilares a lo largo de la tira, y experimenta una reacción en ubicaciones predefinidas de dicha tira;
 iluminar la tira de ensayo;
 grabar una imagen de dicha tira;
 calcular un valor de saturación (S) de color para dicha imagen utilizando al menos dos gamas de longitud de onda; en donde el valor de S se calcula como

15
$$S = \frac{MAX - MIN}{MAX} = 1 - \frac{MIN}{MAX}$$

utilizando el sistema "Matiz, Saturación, Valor" (HSV); en donde MAX es el valor máximo de la intensidad para las al menos dos longitudes de onda grabadas, y MIN es el mínimo; y
 20 utilizar el valor de S para determinar un resultado del ensayo mediante la comparación de los valores de S con un valor umbral G seleccionado, y correlacionar el valor de S con una cantidad física; en donde las longitudes de onda se seleccionan de manera que una longitud de onda presenta un máximo de absorción para el marcador utilizado en el ensayo y las otras longitudes de onda presentan una absorción significativamente menor para el marcador.

25 2. El método según la reivindicación 1, en donde se utilizan dos longitudes de onda.
 3. El método según la reivindicación 1, en donde el marcador es un conjugado de oro.
 4. El método según la reivindicación 3, en donde la imagen de la zona de respuesta se subdivide en un número de sub-tiras.
 5. El método según la reivindicación 4, en donde el número de sub-tiras está entre 20 y 30, convenientemente el
 30 número de tiras es 5-25, más preferiblemente 8-20, lo más preferido 10-15.
 6. El método según la reivindicación 3 o 4, en donde se determinan valores pico para cada sub-tira y para todas las respuestas junto con valores de fondo, se calcula la diferencia entre pico y fondo para cada respuesta y tira, y se comparan todas las sub-tiras y se elige como valor "verdadero" para esa respuesta el valor máximo para una respuesta respectiva.

35 7. Uso de un sistema (10) de lectura para un dispositivo analítico (17, 18) de alergia, cercano al paciente, con el fin de detectar la presencia y/o la cantidad de un analito según el método de la reivindicación 1 mediante el uso de cambio de color en un elemento de ensayo como una indicación de la presencia o ausencia de un analito, comprendiendo el sistema
 un dispositivo (12; 21, 22) de iluminación capaz de proporcionar al menos dos distintas longitudes de onda de luz;
 40 un dispositivo (14) de captura de imagen en color;
 una unidad (19) de control para calcular un valor de saturación (S) de color en imágenes grabadas por el dispositivo de captura de imagen en color, estando adaptada la unidad de control para calcular el valor de S como

45
$$S = \frac{MAX - MIN}{MAX} = 1 - \frac{MIN}{MAX}$$

utilizando el sistema HSV; en donde MAX es el valor máximo de la intensidad para las al menos dos longitudes de onda grabadas, y MIN es el mínimo.

8. El uso del sistema de lectura según la reivindicación 7, en donde el dispositivo de iluminación comprende al menos dos fuentes luminosas (21, 22) que proporcionan luz de distinta longitud de onda.
 50 9. El uso del sistema de lectura según la reivindicación 7, en donde el dispositivo de iluminación comprende una fuente de luz blanca y al menos dos filtros para eliminar por filtrado longitudes de onda seleccionadas de una imagen.

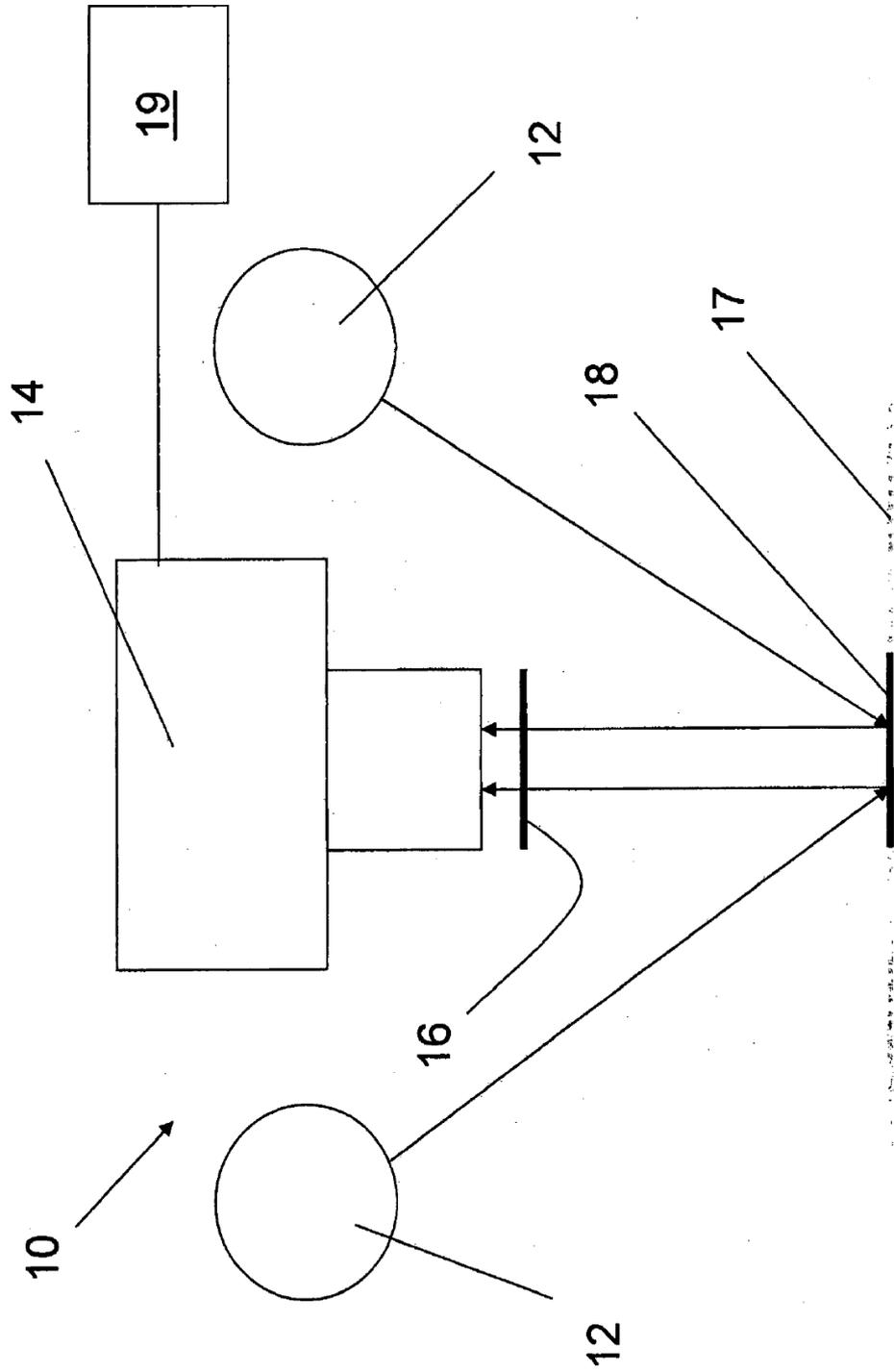


Fig. 1

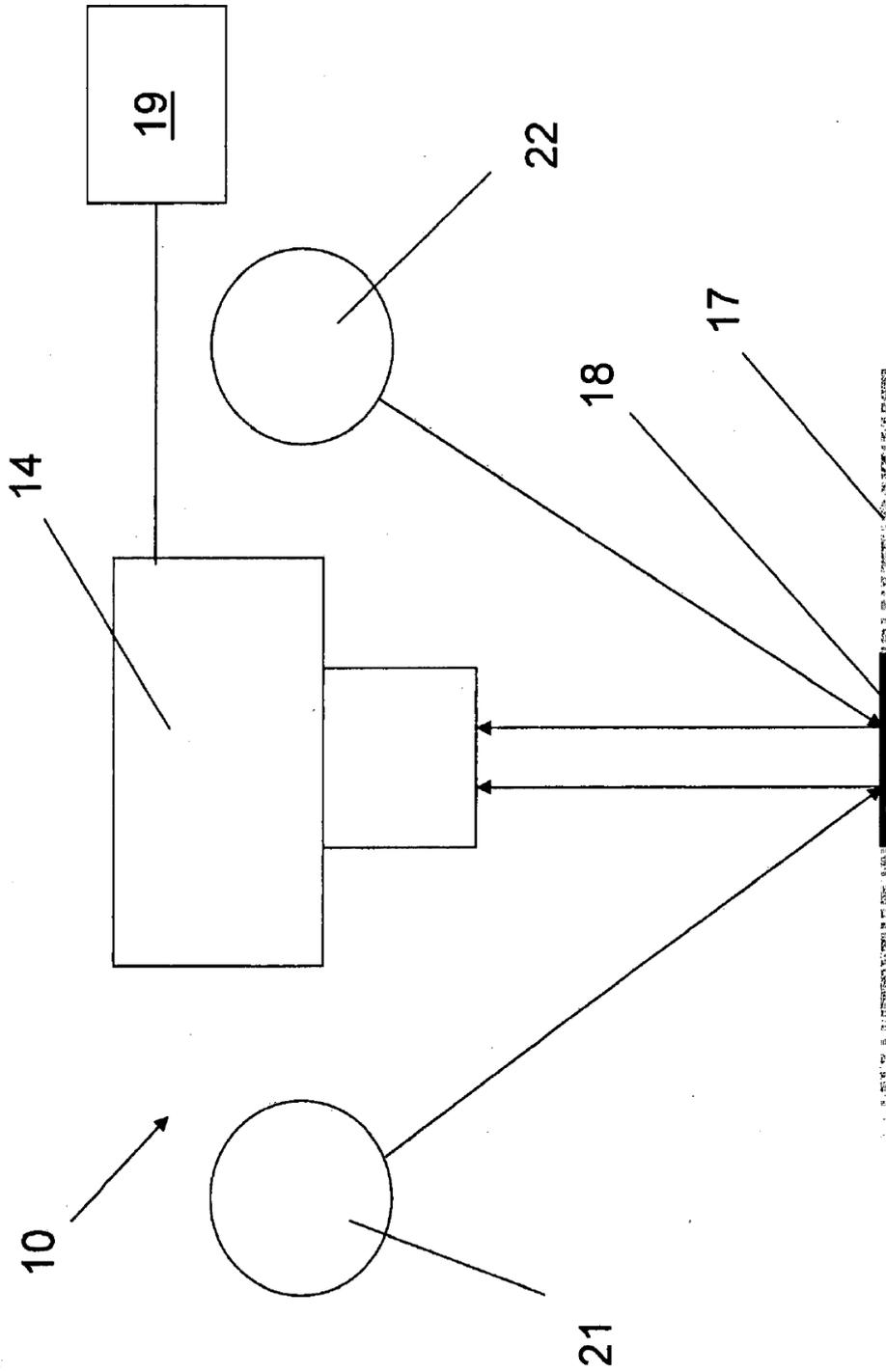


Fig. 2

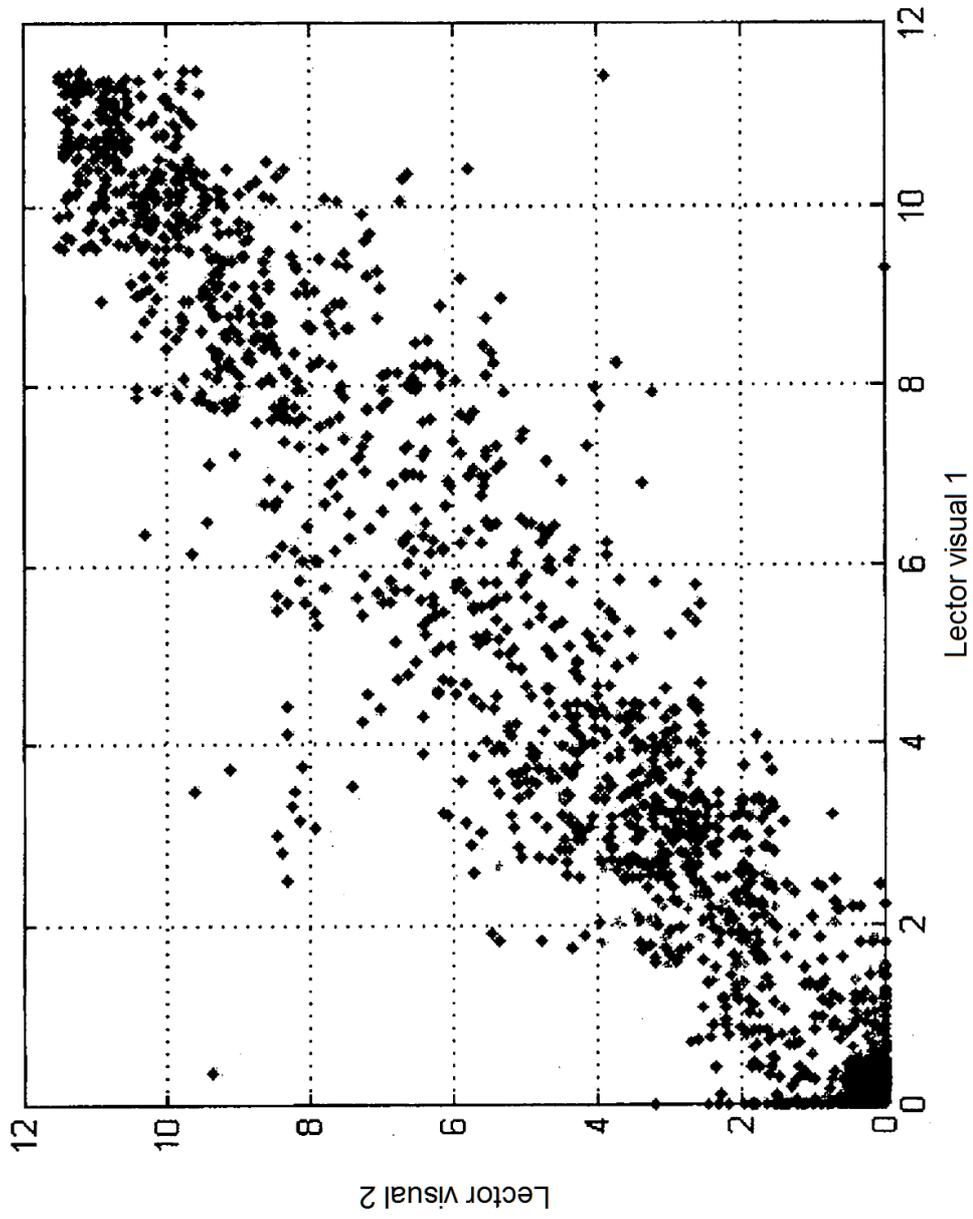


Fig. 3

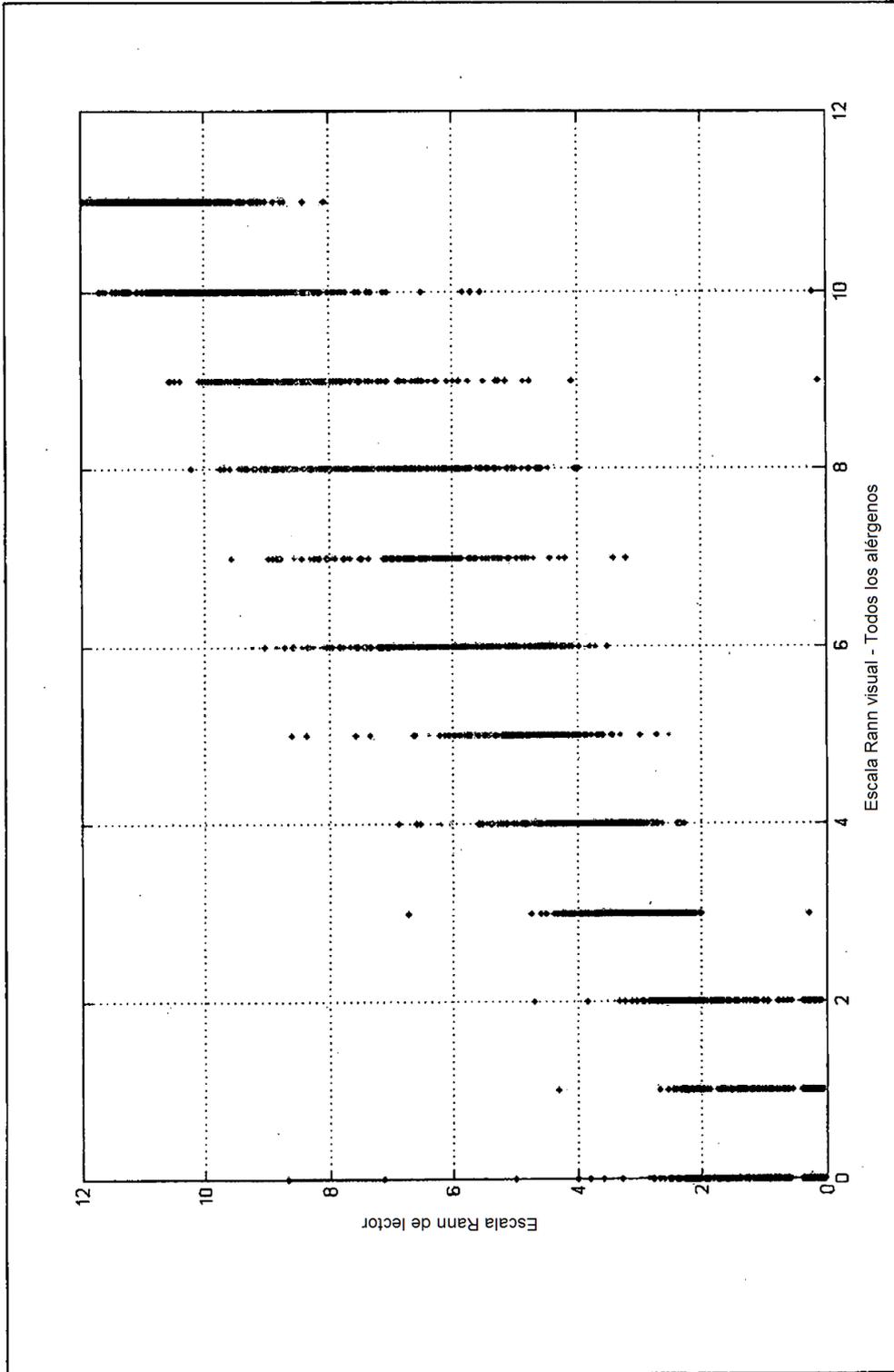


Fig. 4