

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 458**

21 Número de solicitud: 201531938

51 Int. Cl.:

G02B 21/36 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

30.12.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

06.07.2017

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

14.03.2018

Fecha de concesión:

27.06.2018

45 Fecha de publicación de la concesión:

04.07.2018

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (100.0%)
Avda. Blasco Ibáñez, 13
46010 VALENCIA (Valencia) ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ CORRAL, Manuel;
SAAVEDRA TORTOSA, Genaro ;
SÁNCHEZ ORTIGA, Emilio;
LLAVADOR ANCHETA, Ana Isabel y
SOLA PICABEA, Jorge**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

54 Título: **MICROSCOPIO INTEGRAL, USOS DEL MISMO Y SISTEMA DE MICROSCOPIA INTEGRAL**

57 Resumen:

Microscopio integral, usos del mismo y sistema de microscopía integral.

El microscopio comprende:

- un objetivo (O) con un diafragma de apertura (D), configurados y dispuestos para recibir luz proveniente de una muestra (R), según un camino óptico, al ser la muestra (R) iluminada con luz incoherente;

- una disposición ordenada de micro-lentes (2) dispuesta en el plano pupilar definido por el diafragma de apertura (D); y

- unos medios de adquisición de imágenes configurados y dispuestos para recibir la luz que atraviesa a cada una de las micro-lentes (2) con el fin de adquirir imágenes de la muestra (R) desde diferentes perspectivas, de manera simultánea.

El sistema comprende el microscopio de la invención y un sistema de procesamiento de las imágenes adquiridas por el mismo.

Los usos son relativos a aplicaciones de bio-medicina y a aplicaciones de perfilometría.

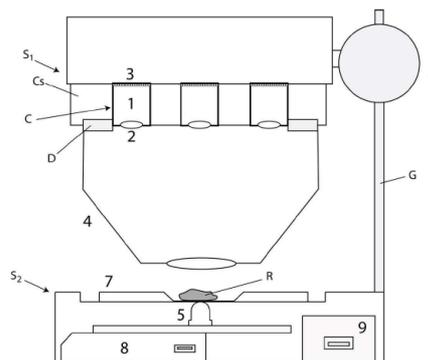


Fig. 9

ES 2 622 458 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

MICROSCOPIO INTEGRAL, USOS DEL MISMO Y SISTEMA DE MICROSCOPIA INTEGRAL

5

Sector de la técnica

La presente invención concierne, en general, en un primer aspecto, a un microscopio integral, que comprende una disposición ordenada de micro-lentes a través de las cuales se captan
10 imágenes de una muestra desde diferentes perspectivas, y más en particular a un microscopio en el que las micro-lentes se disponen en el plano pupilar, o de Fourier, del microscopio.

Un segundo aspecto de la invención concierne a un sistema de microscopía integral, que comprende el microscopio del primer aspecto y un sistema de procesamiento de las imágenes
15 adquiridas.

La invención también concierne a una serie de usos del microscopio del primer aspecto para diversas aplicaciones.

20 Estado de la técnica anterior

En la actualidad el problema de obtener imágenes tridimensionales (3D) de muestras microscópicas se resuelve, en general, realizando numerosas capturas tras un proceso de escaneo axial (como en el caso del "Light-sheet microscope" [1]-[3], o del microscopio por
25 iluminación estructurada [4]) o de barrido 3D (como en el caso del microscopio confocal [5]-[6] o, para aplicación en perfilometría, el perfilómetro confocal [7]). Una alternativa a estas técnicas, pero que no requiere de la realización del escaneo de la muestra es la microscopía holográfica digital [8]-[10]. Esta técnica sin embargo tiene restringida su aplicabilidad al caso de muestras transparentes y que pueden ser observadas mediante iluminación coherente.

30

Más recientemente, se ha propuesto la implementación de la microscopía integral [11]-[17] (también llamada microscopía plenóptica o microscopía "lightfield"). El problema de esta técnica es su pobre resolución transversal.

35 La microscopía integral tiene como principal característica su capacidad para registrar la información 3D de muestras gruesas sin necesidad de realizar más de una única toma o

disparo. Estos sistemas se basan en la captura simultánea de toda una serie de perspectivas (verticales y horizontales) de la muestra, lo cual se consigue situando un “array” o disposición ordenada de micro-lentes en frente del sensor (CCD o CMOS).

5 En la Fig. 1 se muestra un esquema de un microscopio integral (iMic) convencional, es decir en su configuración clásica, donde la muestra Rc se encuentra dispuesta en el plano objeto Pc, y el microscopio comprende un objetivo Oc con un correspondiente diafragma de apertura Dc y, fuera del objetivo Oc, se dispone una lente de tubo Lc de manera que su foco objeto coincide con el diafragma de apertura Dc. En el foco imagen de la lente de tubo Lc se dispone
10 una disposición ordenada de micro-lentes Mc, en cuyo foco imagen se dispone el sensor Sc.

En el esquema de la Fig. 1, el sensor Sc recoge un conjunto de micro-imágenes que contienen una versión muestreada del mapa de radiancias (el mapa de radiancias contiene información sobre la energía, posición y orientación de los rayos luminosos emitidos por la muestra).
15 Aunque el mapa de radiancias tiene 4 dimensiones (2 espaciales (x, y) y dos angulares (θ, φ)), en este documento solamente se muestra, para simplificar, un corte bidimensional (x, θ) del mismo.

En la Fig. 2 se muestra una versión esquemática del mapa de radiancias capturado con el
20 esquema de la Fig. 1. En este esquema, cada columna representa los píxeles registrados por cada micro-imagen, mientras que si se extraen y agrupan la información de la filas se pueden generar diferentes vistas de la muestra desde posiciones equidistantes en el diafragma de apertura. A partir de esta información es posible calcular, usando los algoritmos adecuados, tanto una reconstrucción en profundidad (enfocando en diferentes planos) como calcular un
25 mapa de profundidades. La mayor limitación de esta técnica en el momento actual es que la resolución de las imágenes reconstruidas está determinada por el tamaño de las micro-lentes que componen el “array”. Estas micro-lentes no pueden tener tamaños inferiores a los $100 \mu m$, ya que ello incrementaría sensiblemente los efectos difractivos durante la captura del mapa de radiancias. Por ello, la resolución de los iMic en el momento actual está limitada a,
30 aproximadamente, $1/3$ de la resolución nativa del microscopio. Este hecho constituye el mayor cuello de botella que impide la utilización de la microscopía integral con muestras microscópicas. Otro aspecto mejorable es el tamaño del dispositivo. Téngase en cuenta que típicamente las lentes de tubo tienen por focal $f_{TL} = 200 mm$, lo que implica un camino óptico desde la muestra Rc al sensor Sc superior a $400 mm$.

35

5 Resulta necesario ofrecer una alternativa al estado de la técnica que cubra las lagunas halladas en el mismo, proporcionando un microscopio integral configurado de manera que permita registrar la información 3D de muestras microscópicas sin necesidad de realizar más de una única toma o disparo y con una resolución que no esté limitada por el tamaño de las micro-lentes.

Referencias:

- 10 [1] Keller, P.J., Schmidt, A.D., Wittbrodt, J., Stelzer, E.H.K., "Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy," *Science*, 322, 1065-1069 (2008).
- [2] J. Huisken and D. Y. R. Stainier, "Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology," *Development* 136(12), 1963–1975 (2009).
- [3] Engelbrecht, C.J., Stelzer, E.H.K., "Resolution enhancement in a light-sheet-based microscope (SPIM)," *Opt. Lett.* 31, 1477-1479 (2006).
- 15 [4] M. A. A. Neil, R. Juskaitis, and T. Wilson, "Method of obtaining optical sectioning by using structured light in a conventional microscope," *Opt. Lett.* 22(24), 1905–1907 (1997).
- [5] Pawley, J.E. (2006) *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. 3rd ed. Springer, Berlin.
- [6] Cox, G., Sheppard, C.J.R., "Practical Limits of Resolution in Confocal and Non-Linear Microscopy," *Microsc. Res. Tech.* 63 18-22 (2004)
- 20 [7] Aparato ya comercializado en <http://www.sensofar.com/metrology/>
- [8] C. Mann, L. Yu, C.-M. Lo, and M. Kim, "High-resolution quantitative phase-contrast microscopy by digital holography," *Opt. Express* 13, 8693–8698 (2005).
- [9] D. Carl, B. Kemper, G. Wernicke, and G. von Bally, "Parameter-optimized digital holographic microscope for high-resolution living-cell analysis," *Appl. Opt.* 43, 6536– 6544
- 25 (2004).
- [10] E. Sanchez-Ortiga, A. Doblaz, G. Saavedra, M. Martinez-Corral, and J. I. Garcia-Sucerquia "Off-axis Digital Holographic Microscopy: practical design parameters for operating at diffraction limit," *Appl. Opt.* 53, 2058 (2014).
- [11] J. S. Jang and B. Javidi, "Three-dimensional integral imaging of micro-objects," *Opt. Lett.* 29(11), 1230–1232 (2004).
- 30 [12] M. Levoy, R. Ng, A. Adams, M. Footer, and M. Horowitz, "Light field microscopy," *ACM Trans. Graph.* 25, 924–934 (2006).

[13] M. Broxton, L. Grosenick, S. Yang, N. Cohen, A. Andalman, K. Deisseroth, and M. Levoy, "Wave optics theory and 3-D deconvolution for the light field microscope," *Opt. Express* 21(21), 25418–25439 (2013).

5 [14] Y. T. Lim, J. H. Park, K. Ch. Kwon, and N. Kim, "Resolution-enhanced integral imaging microscopy that uses lens array shifting," *Opt. Express* 17(21), 19253–19263 (2009).

[15] K.-Ch. Kwon, J.-S. Jeong, M.-U. Erdenebat, Y.-L. Piao, K.-H. Yoo, and N. Kim, "Resolution-enhancement for an orthographic-view image display in an integral imaging microscope system," *Biomed. Opt. Express* 6, 736–746 (2015).

10 [16] N. Cohen, S. Yang, A. Andalman, M. Broxton, L. Grosenick, K. Deisseroth, M. Horowitz, and M. Levoy, "Enhancing the performance of the light field microscope using wavefront coding," *Opt. Express* 22(20), 24817-24839 (2014).

[17] A. Llavador, E. Sánchez-Ortiga, J.C. Barreiro, G. Saavedra, and M. Martínez-Corral, "Resolution enhancement in integral microscopy by physical interpolation," *Biomed. Opt. Express* 6, 2854-2863 (2015).

15

Explicación de la invención

Con tal fin, la presente invención concierne a un microscopio integral que comprende, de manera en sí conocida:

20

- un sistema óptico que incluye:

25

- un objetivo con un diafragma de apertura, configurados y dispuestos para recibir luz proveniente de una muestra, según un camino óptico, al ser dicha muestra iluminada con luz incoherente; y

30

- una disposición ordenada (o "array") de micro-lentes, dispuestas para que la luz proveniente de la muestra que entra en dicho objetivo incida en cada una de las micro-lentes de dicha disposición ordenada de micro-lentes;

y

- unos medios de adquisición de imágenes configurados y dispuestos para recibir la luz que atraviesa a cada una de las micro-lentes con el fin de adquirir imágenes de la muestra desde

diferentes perspectivas, de manera simultánea. A las imágenes obtenidas de esta forma se las denomina, en la presente invención, imágenes elementales.

5 A diferencia de los microscopios integrales del estado de la técnica, donde la disposición ordenada de micro-lentes se dispone en el plano del foco imagen de la lente de tubo insertada tras el diafragma de apertura, en el propuesto por el primer aspecto de la invención, de manera característica, la disposición ordenada de micro-lentes se encuentra dispuesta en el plano pupilar definido por el diafragma de apertura, es decir en el plano de Fourier.

10 Para llegar a la concepción de la presente invención, se ha tenido en cuenta que aplicando álgebra de matrices ABCD al mapa de radiancias capturado por un iMic en su configuración clásica, es decir al mostrado esquemáticamente en la Fig. 2, puede demostrarse que esta información no es más que la traspuesta de la que se podría obtener situando un "array" de micro-lentes sobre el plano de la apertura (o plano de Fourier) y realizando de ese modo la
15 captura.

En otras palabras, la información capturada por un iMic clásico trabajando con un "array" de N micro-lentes y P píxeles por micro-lente, es la misma (aunque ordenada de diferente forma) que la capturada según el microscopio del primer aspecto de la presente invención, es decir
20 situando P lentes sobre el plano pupilar, con N píxeles por lente. La diferencia es que en el plano de Fourier se puede insertar directamente un "array" de micro-cámaras fotográficas (cada micro-cámara captura una imagen elemental diferente), lo cual da lugar a un incremento muy significativo de la resolución (en este caso el número total de píxeles es el resultado de multiplicar el número de píxeles de una micro-cámara por el número de cámaras). Una ventaja
25 adicional es que esta nueva configuración, propuesta por la presente invención, captura directamente las vistas de la muestra.

Es decir que al realizarse la adquisición de imágenes elementales en el plano de Fourier, la resolución obtenida es sensiblemente mayor a la conseguida con los microscopios integrales
30 convencionales, el tiempo de cálculo es menor, y además el tamaño del microscopio es mucho menor, permitiendo la fabricación de microscopios 3D portátiles (con un volumen equivalente al de una cámara de fotos compacta).

De acuerdo con un ejemplo de realización, el microscopio del primer aspecto está configurado
35 para que las imágenes elementales adquiridas por los citados medios de adquisición de imágenes contengan una versión muestreada del mapa de radiancias de la muestra.

De manera preferida, cada uno de dichos sensores de imágenes comprende N elementos fotosensibles, o píxeles activos, de manera que la resolución obtenida con el microscopio es igual a $N \times P$, siendo P el número de micro-lentes.

5

En general, los medios de adquisición de imágenes comprenden una disposición ordenada (o "array") de sensores de imagen, cada uno de ellos dispuesto, según dicho camino óptico, tras una de las micro-lentes de la disposición ordenada de micro-lentes.

10 De manera alternativa, para otro ejemplo de realización, los medios de adquisición de imágenes comprenden un único sensor de imagen (CCD, CMOS, etc.) que comprende M elementos fotosensibles, o píxeles activos, agrupados en una pluralidad de regiones contiguas, cada una de las cuales comprende N píxeles y está dispuesta, según dicho camino óptico, tras una de las micro-lentes de la disposición ordenada de micro-lentes.

15

De acuerdo con un ejemplo de realización, cada uno de dichos sensores de imagen forma parte de una respectiva micro-cámara sin lente.

20 De manera alternativa, y preferida, para otro ejemplo de realización dicha disposición de sensores de imagen y dicha disposición de micro-lentes están agrupados formando una disposición de micro-cámaras, donde cada una de las micro-cámaras comprende un sensor de imagen y un micro-objetivo con una micro-lente.

25 Ventajosamente, la citada disposición de micro-cámaras comprende un soporte en el que se encuentran fijadas las micro-cámaras debidamente alineadas, estando dicho soporte configurado, dimensionado y dispuesto tras el diafragma de apertura, de manera que la disposición de micro-lentes quede insertada en la apertura del diafragma de apertura que define el plano pupilar.

30 Aunque el microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención puede funcionar bajo luz ambiental, ésta no es la aplicación más habitual ni la que ofrece mejores resultados, por lo que, de acuerdo con un ejemplo de realización más habitual y eficiente, el microscopio del primer aspecto de la invención comprende unos medios de iluminación que incluyen al menos una fuente de luz incoherente, configurada y dispuesta para iluminar a la muestra.

35

De modo similar, el microscopio de la presente invención también puede utilizarse para adquirir imágenes de muestras externas al mismo, pero tal uso tampoco es el más habitual ni ofrece unos resultados tan buenos como el relativo a adquirir imágenes de una muestra interna al microscopio.

5

En cualquier caso, para un ejemplo de realización preferido, el microscopio del primer aspecto de la invención comprende un soporte para la muestra.

10 Según un ejemplo de realización, el microscopio de la invención comprende una estructura de soporte en la que se encuentran montados, según el orden definido por el anteriormente citado camino óptico: los medios de iluminación, el soporte para la muestra, el sistema óptico y los medios de adquisición de imágenes.

15 Para una variante de dicho ejemplo de realización, el sistema óptico y los medios de adquisición de imágenes se encuentran montados en la estructura de soporte de manera desplazable y guiada en aproximación/alejamiento respecto al soporte para la muestra, para enfocar a la muestra y/o distintas partes de la misma.

20 De acuerdo con un ejemplo de realización, el microscopio de la invención comprende una carcasa que aloja en su interior a la citada estructura de soporte con todos los elementos montados en la misma, o que constituye dicha estructura de soporte.

25 El microscopio del primer aspecto de la invención comprende, para un ejemplo de realización, un sistema electrónico en conexión con por lo menos los medios de adquisición de imágenes para controlarlos para adquirir imágenes simultáneamente en un único disparo. Ventajosamente, el citado sistema electrónico también está conectado con los medios de iluminación para controlarlos para que emitan luz incoherente al menos durante el citado único disparo de los medios de adquisición de imágenes.

30 Según un ejemplo de realización del microscopio del primer aspecto de la invención, el sistema electrónico comprende unos medios de procesamiento internos (es decir, locales) adaptados para procesar las imágenes adquiridas para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional de la muestra contenida en las imágenes adquiridas:

35

- calcular y mostrar en al menos una pantalla una reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y

5 - realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

Alternativamente, o de manera complementaria, el sistema electrónico comprende unos medios de comunicación, vía cable o inalámbricos (por ejemplo Bluetooth®), para el envío de las imágenes adquiridas a un sistema de procesamiento externo (es decir, remoto) adaptado para procesar las imágenes adquiridas para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional de la muestra contenida en las imágenes:

15 - calcular y mostrar en al menos una pantalla, del microscopio o externa al mismo, una reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y

- realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

20 La presente invención también concierne, en un segundo aspecto, a un sistema de microscopía integral, que comprende:

- el microscopio según el primer aspecto de la invención; y

25 - un sistema de procesamiento (por ejemplo implementado en un ordenador, "tablet", o "Smartphone") adaptado para procesar las imágenes adquiridas por el microscopio para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional de la muestra contenida en las imágenes:

30 - calcular y mostrar en al menos una pantalla del sistema una reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y

- realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

35

De acuerdo con un ejemplo de realización del sistema propuesto por el segundo aspecto de la invención, éste comprende como mínimo una impresora 3D comunicada con el sistema de procesamiento para al menos recibir del mismo información de perfilometría relativa a dicho mapa de profundidades o matriz tridimensional, y adaptada para imprimir una maqueta tridimensional de la muestra a partir de la información recibida.

Un tercer aspecto de la presente invención concierne a un uso del microscopio según el primer aspecto para aplicaciones de bio-medicina, incluyendo el cribado de muestras biológicas (potencialmente ligadas a algún patógeno) in situ, analizando el relieve de la muestra o de un seccionado en profundidad de la misma. Esto puede ser muy útil, por ejemplo, para la detección in situ de posibles contagios. Evidentemente, el uso en laboratorio para las mismas aplicaciones también es posible.

Un cuarto aspecto de la invención concierne a un uso del microscopio según el primer aspecto para aplicaciones de perfilometría, tales como: control de calidad de piezas o componentes (tal como componentes de microelectrónica y semiconductores, testado de micro-lentes y de lentes intra-oculares), y ciencia forense. En relación a este cuarto aspecto, las aplicaciones de perfilometría de muestras microscópicas opacas en ambientes alejados de un laboratorio son realmente ventajosas. Esto puede ser muy útil, por ejemplo, para la comprobación inmediata de las posibles imperfecciones de una pieza industrial. Naturalmente, el uso del microscopio del primer aspecto de la invención en laboratorios también está contemplado, con el mismo rigor que fuera del laboratorio.

Los datos obtenidos de la medición perfilométrica (mapa de profundidades) se pueden utilizar para construir maquetas 3D con una impresora 3D.

Breve descripción de los dibujos

Las anteriores y otras ventajas y características se comprenderán más plenamente a partir de la siguiente descripción detallada de unos ejemplos de realización con referencia a los dibujos adjuntos, que deben tomarse a título ilustrativo y no limitativo, en los que:

La Figura 1 muestra un esquema de un microscopio integral convencional (iMic) en su configuración clásica.

35

La Figura 2 se muestra una versión esquemática del mapa de radiancias capturado mediante el microscopio de la Figura 1.

5 La Figura 3a muestra, de manera esquemática, al microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, para un ejemplo de realización;

La Figura 3b muestra una versión esquemática del mapa de radiancias capturado mediante el microscopio del primer aspecto de la presente invención, según el esquema de la Figura 3;

10 La Figura 4 muestra, en su vista (a) unas micro-imágenes de una muestra obtenidas con el microscopio iMic de la Figura 1, y la vista (b) una vista aumentada de unas pocas de dichas micro-imágenes;

15 La Figura 5 muestra sendas vistas con diferente perspectiva calculadas para el iMic a partir de las micro-imágenes de la Figura 4;

La Figura 6 muestra sendas reconstrucciones de la muestra a dos profundidades, para el iMic de la Figura 1, a partir de las micro-imágenes de la Figura 4;

20 La Figura 7 muestra dos vistas con diferente perspectiva capturadas directamente con el microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, denominado también FiMic, según el esquema de la Figura 3a;

25 La Figura 8 muestra sendas reconstrucciones de la muestra a dos profundidades, para el FiMic, es decir para microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, según el esquema de la Figura 3a;

30 La Figura 9 muestra otro ejemplo de realización del microscopio propuesto por el primer aspecto de la presente invención, según un prototipo ilustrado de manera esquemática; y

La Figura 10 muestra diferentes distribuciones de micro-cámaras en un soporte de las mismas, incluidas en el microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, según diferentes realizaciones.

35 Descripción detallada de unos ejemplos de realización

El microscopio propuesto por el primer aspecto de la presente invención proporciona una nueva configuración o diseño en la que la captura del mapa de radiancias no se produce en el plano imagen del microscopio, sino en el plano pupilar o de Fourier. Este nuevo diseño, al que los presentes inventores han denominado Microscopio Integral de Fourier (FiMic) presenta en su diseño final, según realizaciones preferidas, una estructura simple y compacta.

En la Figura 3a muestra, de manera esquemática, al microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, para un ejemplo de realización, para el cual éste comprende:

- 10 - un objetivo O con un diafragma de apertura D, configurados y dispuestos para recibir luz proveniente de una muestra R (situada en el plano objeto Pc), según un camino óptico, al ser dicha muestra R iluminada con luz incoherente; y
- 15 - una disposición de micro-cámaras C, donde cada una de las micro-cámaras C comprende un sensor de imagen 3 y un micro-objetivo 1 con una micro-lente 2, estando las micro-lentes 2 agrupadas según una disposición ordenada o "array" de micro-lentes 2 dispuesta en el plano pupilar definido por el diafragma de apertura D.

En la Figura 3b se muestra el mapa de radiancias obtenido con el esquema de la Figura 3a. Nótese que la información capturada ahora es esencialmente la misma que en el caso del iMic convencional (ver Figura 2), pero con una arquitectura mucho más compacta. La segunda, y no menos importante, ventaja de este segundo diseño, es que las perspectivas de la muestra (columnas del nuevo mapa de radiancias) se capturan directamente y con una resolución que ya no está limitada por el tamaño de las micro-lentes, sino por el de los píxeles del sensor de imagen. Este diseño permite reconstruir imágenes de muestras 3D con resoluciones mucho mejores que las alcanzadas hasta el momento en microscopía integral.

En las Figuras 4 a 6 se ilustran los resultados obtenidos con el iMic, es decir con el microscopio integral convencional de la Figura 1, con el fin de compararlos con los obtenidos con el microscopio propuesto por la presente invención, habiéndose ilustrado estos últimos en las Figuras 7 y 8.

La imágenes mostradas han sido obtenidas en laboratorio por los presentes inventores, con un montaje experimental tipo iMic como el ilustrado en la Figura 1 y con otro del tipo FiMic como el ilustrado en la Figura 3a. En ambos casos, se ha utilizado el mismo objetivo de microscopio (20X/0.40). En el caso iMic se ha utilizado un "array" compuesto por micro-lentes

de diámetro $\phi=0.110$ mm. En el caso del FiMic se han implementado ópticamente micro-cámaras que estaban separadas una distancia $\Delta=2.0$ mm. En ambos casos se ha utilizado como objeto una muestra de tejido tintada con un colorante fluorescente.

- 5 En el caso de la geometría iMic, el resultado proporcionado por el microscopio es el conjunto de micro-imágenes (de 0,110 mm de diámetro) ilustrado en la Figura 4.

A partir de las micro-imágenes de la Figura 4 es posible calcular un conjunto de vistas en perspectiva de la muestra microscópica. El procedimiento de cálculo es bien conocido y se
10 detalla, por ejemplo, en Biomed. Opt. Express 6, 2854-2863 (2015). En la Figura 5 se muestran dos de estas perspectivas calculadas según dicho procedimiento de cálculo. A partir de las vistas en perspectiva es posible calcular (el algoritmo también está descrito en Biomed. Opt. Express 6, 2854-2863 (2015)) las diferentes focalizaciones en profundidad. En la Figura
15 6 se muestran reconstrucciones de la muestra a dos profundidades, para el iMic de la Figura 1, a partir de las micro-imágenes de la Figura 4. La distancia entre el plano más lejano y el más próximo en las reconstrucciones de la Figura 6 es de 18 micras.

En las Figuras 7 y 8 se muestran las imágenes obtenidas con el FiMic, es decir con el
microscopio de la presente invención, según el esquema de la Figura 3a. En este caso las
20 imágenes obtenidas ya constituyen directamente las vistas de la muestra 3D, sin necesidad de aplicar ningún cálculo. Aunque la muestra utilizada es la misma que en el caso del iMic, la región observada es diferente. En particular, en la Figura 7 se muestran dos vistas en perspectiva de la muestra y en la Figura 8 se muestran reconstrucciones correspondientes a dos profundidades. En este caso, la distancia entre el plano más lejano y el más próximo en
25 las reconstrucciones de la Figura 8 también es de 18 micras.

Puede comprobarse que la resolución de las vistas obtenidas con el FiMic es cuatro veces superior a las obtenidas con el iMic, y en general se puede afirmar que es casi tres veces superior a la obtenida en cualquier experimento de iMic publicado anteriormente. Además, el
30 campo visual y la relación señal/ruido son también sensiblemente superiores

En la Figura 9 se ilustra otro ejemplo de realización del microscopio propuesto por el primer aspecto de la presente invención, según un prototipo para el cual el microscopio incluye una estructura de soporte formada por dos partes S1, S2 desplazables entre sí según una
35 dirección vertical (según la posición ilustrada en la Figura 9), de manera guiada en aproximación/alejamiento a través de una barra G, sobre la que se encuentra montada de

manera guiada la parte S1 a través de un elemento desplazador 6 (accionable manualmente o de manera automática).

5 En la parte S1 de la estructura de soporte se encuentran montados un objetivo de microscopio 4 que incluye un diafragma de apertura D, y una disposición o “array” de micro-cámaras C, soportadas debidamente distribuidas en un soporte Cs, donde cada una de las micro-cámaras C incluye un sensor de imagen 3 de N píxeles activos (CCD, CMOS, etc.) y un objetivo 1 con una micro-lente 2, estando montado el soporte S1 sobre el diafragma D (Según la posición
10 ilustrada en la Figura 9) de manera que las micro-lentes 2 quedan dispuestas en el plano pupilar del mismo.

Asimismo, en la parte S2 de la estructura de soporte se encuentran montados una fuente de luz incoherente 5 (tal como un LED), un soporte 7 para la muestra R (el cual es preferiblemente móvil según unos ejes X-Y perpendiculares al eje Z), así como un conector USB 9 (aunque
15 podría ser de otro tipo) para la conexión vía cable de las imágenes adquiridas a un dispositivo USB conectado al mismo o, de manera inalámbrica (por ejemplo, Bluetooth®) a través de un dispositivo de comunicaciones conectado al mismo a un sistema de procesamiento externo, implementado por ejemplo en un ordenador, “tablet” o “smartphone”. En la parte S2 también se encuentra montada una batería recargable 8 para la alimentación de un sistema electrónico
20 local (no ilustrado) del microscopio.

Ventajosamente, para un ejemplo de realización no ilustrado, todo el conjunto ilustrado en la Figura 9 se encuentra alojado en el interior de una carcasa, con el fin de proporcionar un dispositivo compacto, similar a una cámara fotográfica compacta, para su uso fuera del
25 laboratorio.

Finalmente, en la Figura 10 se muestran diferentes distribuciones de micro-cámaras C en un soporte Cs de las mismas, incluidas en el microscopio propuesto por el primer aspecto de la invención, según diferentes realizaciones. Las distribuciones están adaptadas a la forma y
30 tamaño del diafragma D en el que deben insertarse las micro-lentes 2 de la micro-cámaras C. Se muestran distribuciones hexagonales con 7 micro-cámaras (vista (a)) o 19 micro-cámaras (vista (b)), así como distribuciones rectangulares con 12 micro-cámaras (vista (c)) y 24 micro-cámaras (vista (d)).

Un experto en la materia podría introducir cambios y modificaciones en los ejemplos de realización descritos sin salirse del alcance de la invención según está definido en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1.- Microscopio integral que comprende:

5 - un sistema óptico que incluye:

- un objetivo (O) con un diafragma de apertura (D), configurados y dispuestos para recibir luz proveniente de una muestra (R), según un camino óptico, al ser dicha muestra (R) iluminada con luz incoherente; y

10

- una disposición ordenada de micro-lentes (2), dispuestas para que la luz proveniente de la muestra (R) que entra en dicho objetivo (O) incida en cada una de las micro-lentes (2) de dicha disposición ordenada de micro-lentes;

15 y

- unos medios de adquisición de imágenes configurados y dispuestos para recibir la luz que atraviesa a cada una de las micro-lentes (2) con el fin de adquirir imágenes de la muestra (R) desde diferentes perspectivas, de manera simultánea;

20

en el que dicha disposición ordenada de micro-lentes (2) se encuentra dispuesta en el plano pupilar definido por dicho diafragma de apertura (D), estando el microscopio caracterizado porque dicha disposición de sensores de imagen (3) y dicha disposición de micro-lentes (2) están agrupadas formando una disposición de micro-cámaras (C), donde cada una de las

25 micro-cámaras (C) comprende un sensor de imagen (3) y un micro-objetivo (1) con una micro-lente (2).

30

2.- Microscopio según la reivindicación 1, que está configurado para que las micro-imágenes adquiridas por dichos medios de adquisición de imágenes contengan una versión muestreada del mapa de radiancias de la muestra.

35

3.- Microscopio según la reivindicación 1 ó 2, en el que dichos medios de adquisición de imágenes comprenden una disposición ordenada de sensores de imagen (3), cada uno de ellos dispuesto, según dicho camino óptico, tras una de las micro-lentes (2) de la disposición ordenada de micro-lentes.

40

- 4.- Microscopio según la reivindicación 3, en el que cada uno de dichos sensores de imagen (3) forma parte de una respectiva micro-cámara sin lente.
- 5.- Microscopio según la reivindicación 4 , en el que dicha disposición de micro-cámaras (C) comprende un soporte (Cs) en el que se encuentran fijadas las micro-cámaras (C) debidamente alineadas, estando dicho soporte (Cs) configurado, dimensionado y dispuesto tras el diafragma de apertura (D), de manera que la disposición de micro-lentes (2) quede insertada en la apertura del diafragma de apertura (D) que define el plano pupilar.
- 10 6.- Microscopio según la reivindicación 4 ó 5, en el que cada uno de dichos sensores de imágenes (3) comprende N elementos fotosensibles, o píxeles activos.
- 7.- Microscopio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende unos medios de iluminación que incluyen al menos una fuente de luz incoherente (5), configurada y dispuesta para iluminar a dicha muestra (R).
- 15 8.- Microscopio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un soporte (7) para dicha muestra (R).
- 20 9.- Microscopio según la reivindicación 8 cuando depende de la 7, que comprende una estructura de soporte (S1, S2) en la que se encuentran montados, según el orden definido por dicho camino óptico: dicha fuente de luz incoherente (5), dicho soporte (7) para la muestra (R), el sistema óptico y los medios de adquisición de imágenes.
- 25 10.- Microscopio según la reivindicación 9, en el que el sistema óptico y los medios de adquisición de imágenes se encuentran montados en la estructura de soporte (S1, S2) de manera desplazable y guiada en aproximación/alejamiento respecto al soporte (7) para la muestra (R).
- 30 11.- Microscopio según la reivindicación 9 ó 10, que comprende una carcasa que aloja en su interior a dicha estructura de soporte (S1, S2) con todos los elementos montados en la misma, o que constituye dicha estructura de soporte (S1, S2).
- 35 12.- Microscopio según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un sistema electrónico en conexión con al menos los medios de adquisición de imágenes para controlarlos para adquirir imágenes simultáneamente en un único disparo.

13.- Microscopio según la reivindicación 12 cuando depende de la 7, caracterizado porque dicho sistema electrónico también está conectado con los medios de iluminación para controlarlos para que emitan luz incoherente al menos durante dicho único disparo de los
5 medios de adquisición de imágenes.

14.- Microscopio según la reivindicación 12 ó 13, en el que el sistema electrónico comprende unos medios de procesamiento internos adaptados para procesar las imágenes adquiridas para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional
10 de la muestra contenida en las imágenes:

- calcular y mostrar en al menos una pantalla una reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y

15 - realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

15.- Microscopio según la reivindicación 12, 13 ó 14, en el que el sistema electrónico comprende unos medios de comunicación, vía cable o inalámbricos, para el envío de las
20 imágenes adquiridas a un sistema de procesamiento externo adaptado para procesar las imágenes adquiridas para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional de la muestra contenida en las imágenes:

- calcular y mostrar en al menos una pantalla, del microscopio o externa al mismo, una
25 reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y

- realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

30

16.- Sistema de microscopía integral, caracterizado porque comprende:

- el microscopio según la reivindicación 15; y

- un sistema de procesamiento adaptado para procesar las imágenes adquiridas por el microscopio para realizar al menos una de las siguientes tareas, a partir de la información tridimensional de la muestra contenida en las imágenes:

- 5
- calcular y mostrar en al menos una pantalla del sistema una reconstrucción en profundidad de la muestra, con imágenes enfocadas a diferentes profundidades; y
 - realizar de un mapa de profundidades o matriz tridimensional, en la que se indica la posición tridimensional de cada punto de la muestra.

10

17.- Sistema según la reivindicación 16, caracterizado porque comprende al menos una impresora 3D comunicada con el sistema de procesamiento para al menos recibir del mismo información relativa a dicho mapa de profundidades o matriz tridimensional, y adaptada para imprimir una maqueta tridimensional de la muestra a partir de la información recibida.

15

18.- Uso del microscopio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, para aplicaciones de bio-medicina, incluyendo el cribado de muestras biológicas in situ, analizando el relieve de la muestra o de un seccionado en profundidad de la misma.

20 19.- Uso del microscopio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, para aplicaciones de perfilometría.

20.- Uso según la reivindicación 19, en el que dichas aplicaciones de perfilometría incluyen al menos una de las siguientes aplicaciones: control de calidad de piezas o componentes, y ciencia forense.

25

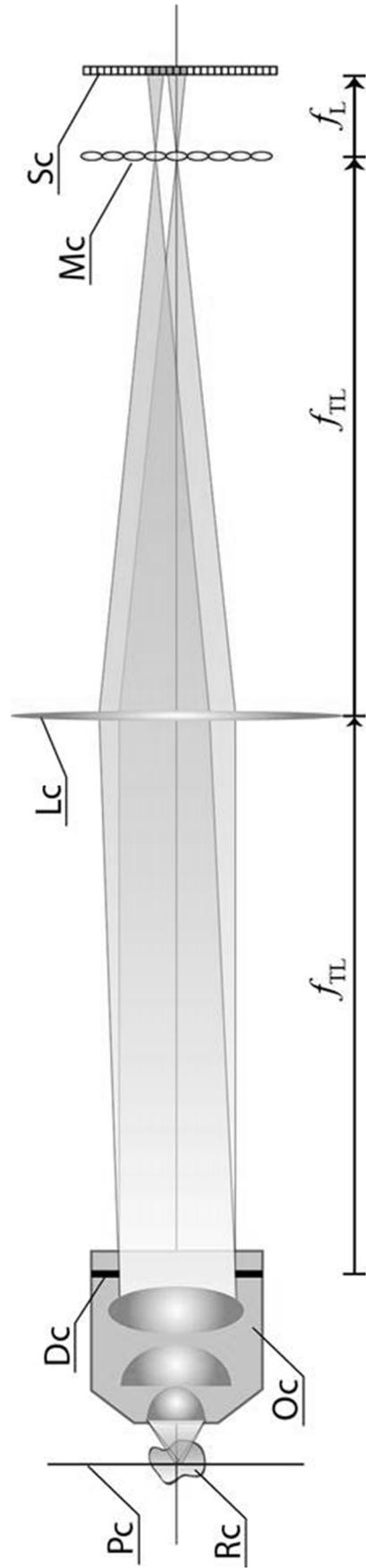


Fig. 1

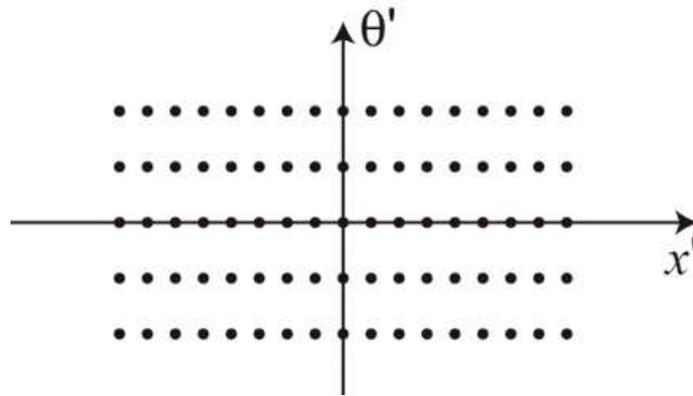


Fig. 2

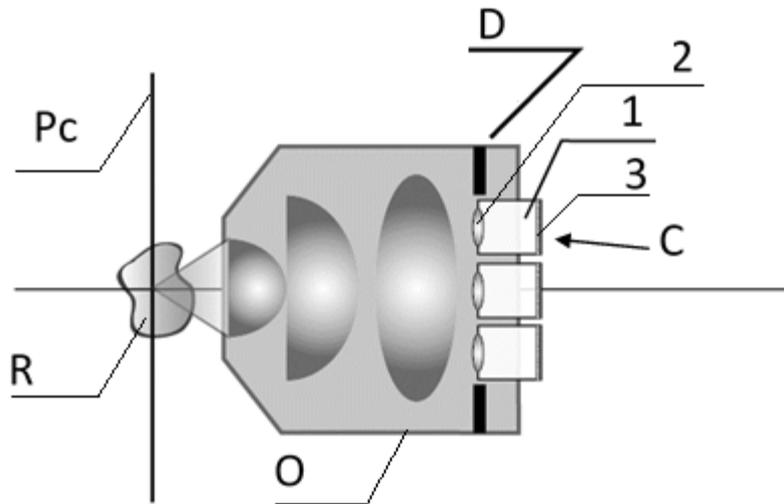


Fig. 3a

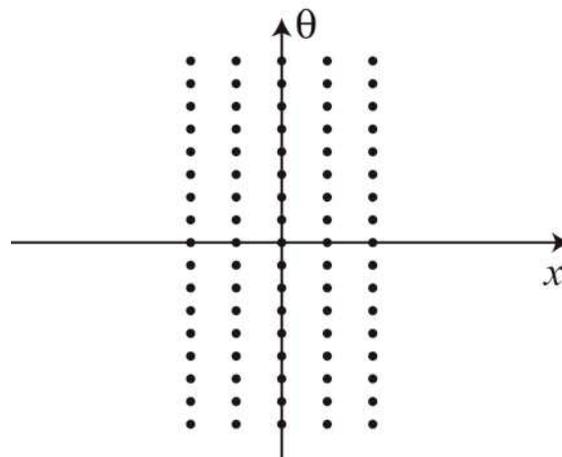


Fig. 3b

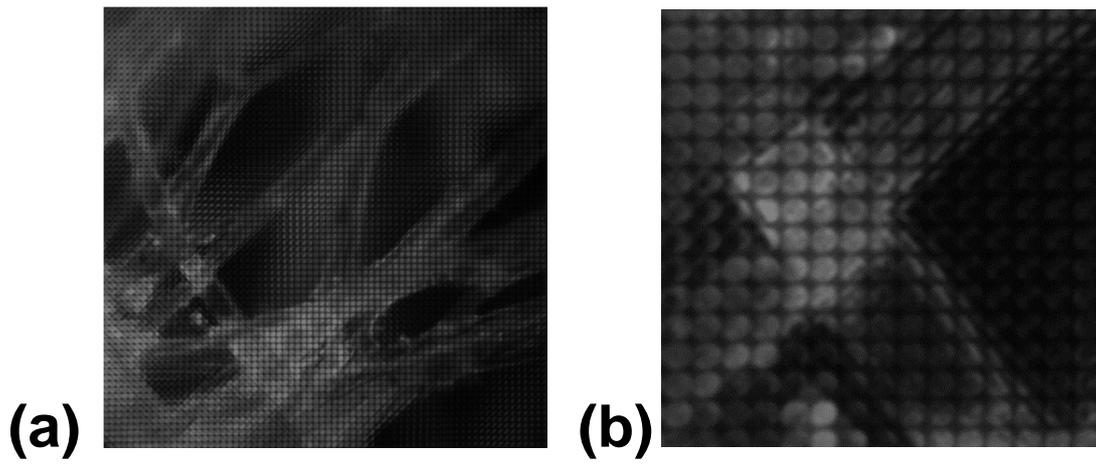


Fig. 4

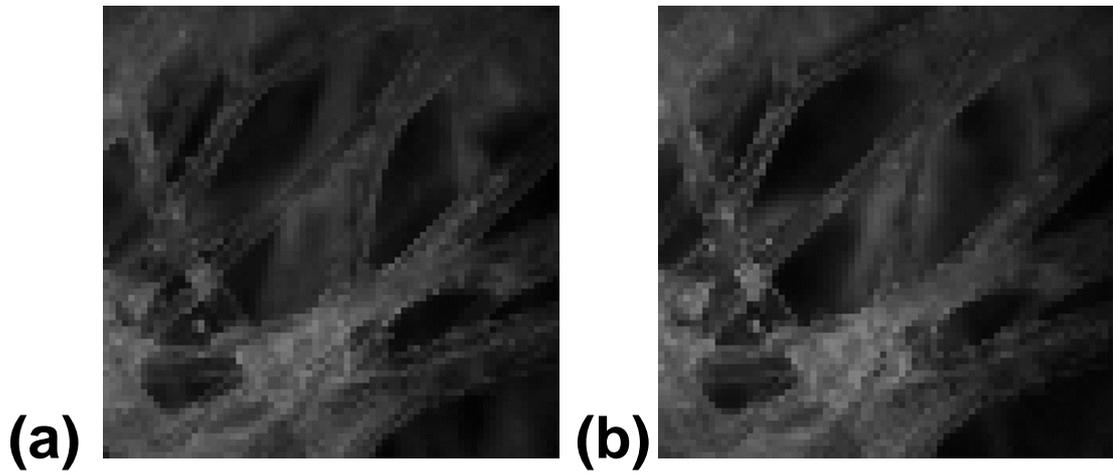


Fig. 5

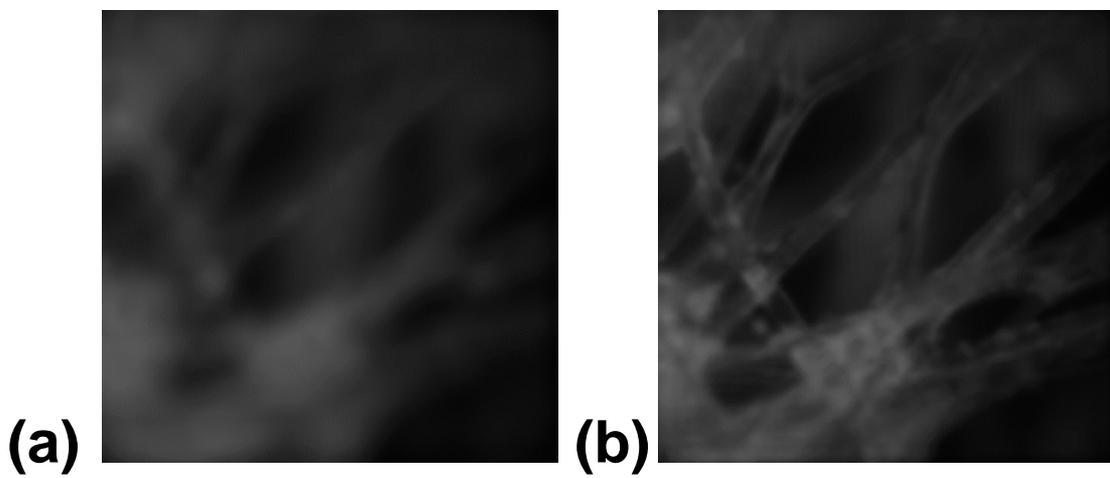


Fig. 6

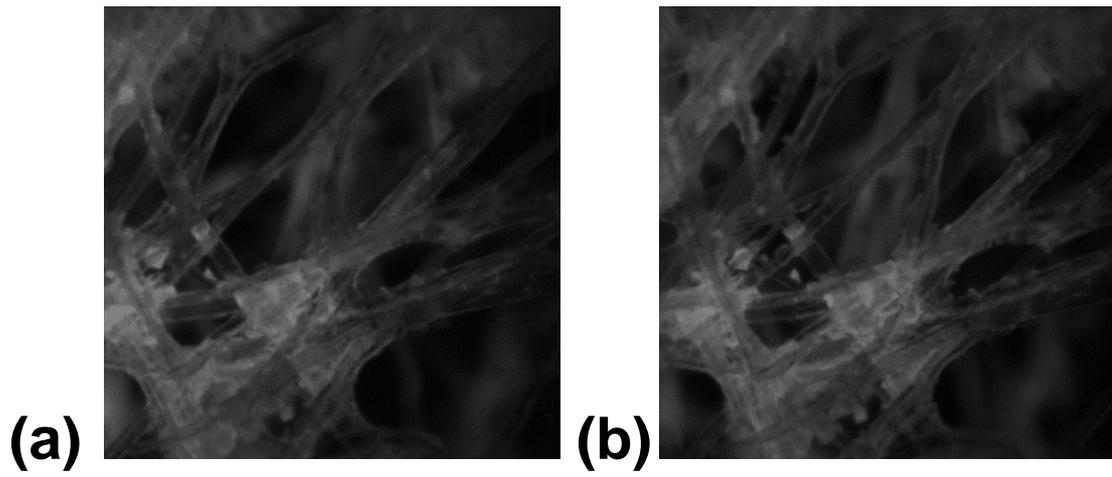


Fig. 7

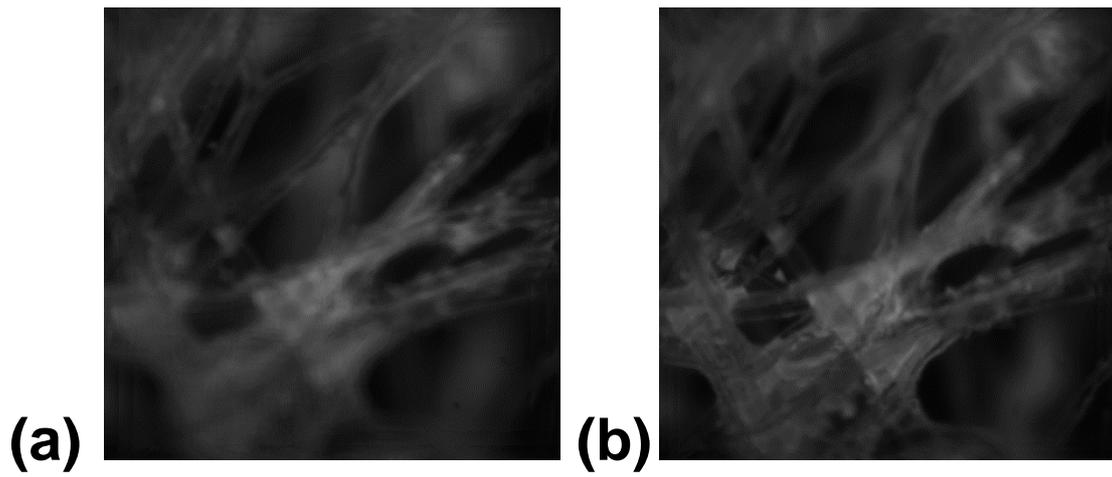


Fig. 8

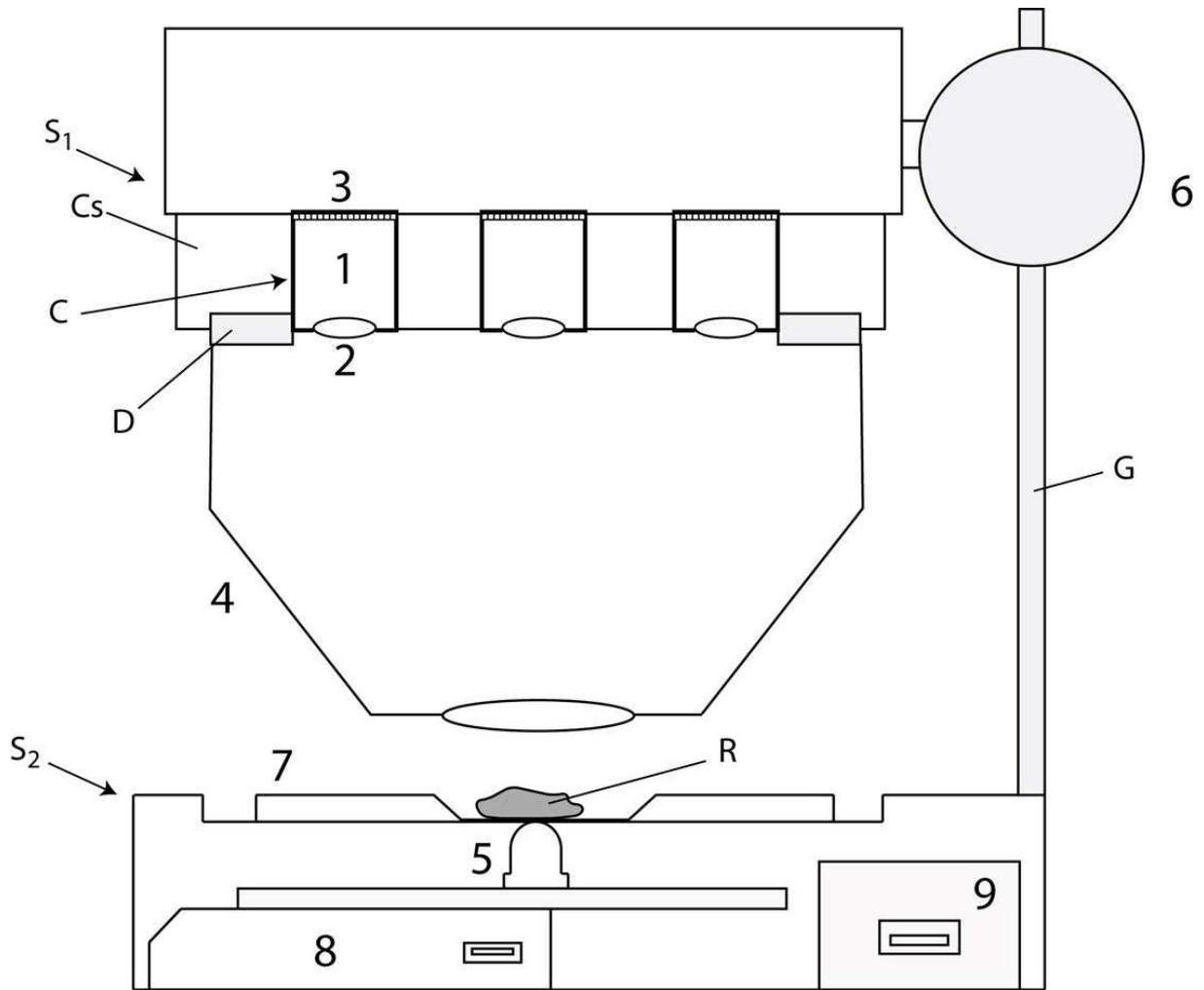


Fig. 9

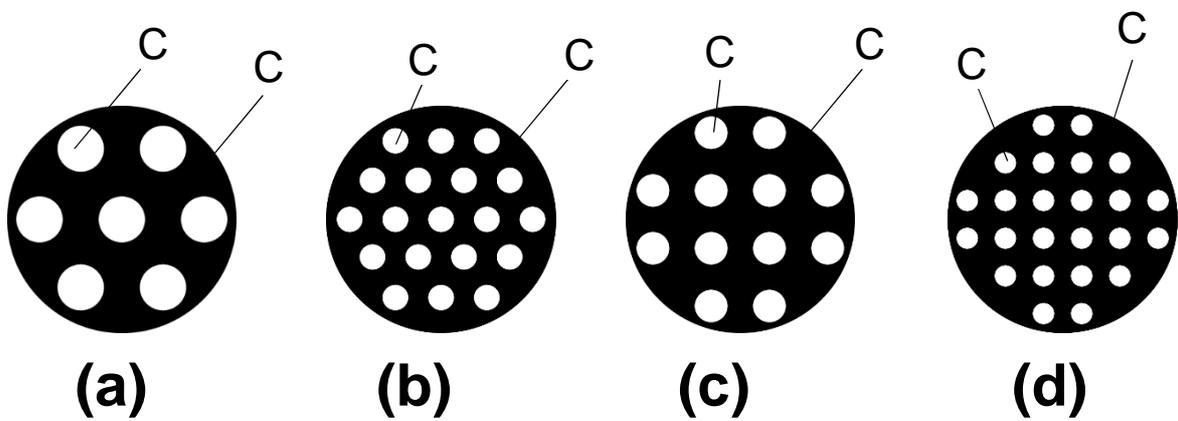


Fig. 10



- ②① N.º solicitud: 201531938
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.12.2015
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G02B21/36** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2014/0209821 A1 (SANTORI, C. et al.) 31.07.2014, Resumen; párrafos [0001], [0021]-[0030]; figuras 2-7.	1-21
X	WO 2008/092074 A1 (ADOBE SYSTEMS, INC.) 31.07.2008, resumen; párrafos [0001]-[0015], [0026]-[0028], [0031], [0057]-[0071]; figuras 2, 3 y 7.	1-21
A	JP 2012220611 A (NIKON CORP.) 12.11.2012, Todo el documento.	1, 3-14
A	US 2012/0224034 A1 (KALKBRENNER, T. et al.) 06.09.2012, Todo el documento.	1, 3, 4, 6-21

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
 Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
 A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
 P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
 E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.01.2017

Examinador
Ó. González Peñalba

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G02B, G01J, G06T

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.01.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 2, 5, 6, 10-21	SI
	Reivindicaciones 1, 3, 4, 7-9	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-21	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2014/0209821 A1 (SANTORI, C. et al.)	31.07.2014
D02	WO 2008/092074 A1 (ADOBE SYSTEMS, INC.)	31.07.2008

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Se considera que la invención definida en las reivindicaciones 1, 3, 4 y 7-9 de la presente Solicitud carece de novedad por estar idénticamente recogida en el estado de la técnica.

En efecto, en el documento D01, citado en el Informe sobre el Estado de la Técnica (IET) con la categoría X para dichas reivindicaciones y considerado el antecedente tecnológico más próximo al objeto en ellas definido, se describe un microscopio integral (párrafo [0021] –en lo que sigue, las referencias entre paréntesis aluden a este documento D01–) que comprende:

- un sistema óptico que incluye:

- un objetivo (116) que tiene un diafragma de apertura (véase el párrafo [0019]), configurados y dispuestos para recibir luz proveniente de una muestra según un camino óptico, al ser dicha muestra iluminada con luz incoherente (en el caso más general, al no especificar otro tipo de luz –párrafo [0021]–);
- una disposición ordenada de microlentes (“*lenslet array*” –véase, por ejemplo, el resumen–), dispuestas para que la luz proveniente de la muestra que entra en dicho objetivo, incida en cada una de las microlentes de dicha disposición ordenada de microlentes (tal como se observa, por ejemplo, en la Figura 3); y

- unos medios de captación de imágenes (detector o disposición ordenada de detectores 120; 220 –párrafo [0029]–), configurados y dispuestos para recibir la luz que atraviesa cada una de las microlentes con el fin de captar imágenes de la muestra desde diferentes perspectivas (párrafo [0030]) de manera simultánea (como se aprecia, por ejemplo, en la ilustración de la Figura 7),

de tal modo que, además, dicha disposición ordenada de microlentes se encuentra en el plano pupilar definido por dicho diafragma de apertura (equivalentemente situado tras el objetivo, o plano de Fourier –véase, por ejemplo, el resumen–). El microscopio de D01 es, por tanto, similar al definido por la primera reivindicación hasta el punto de que puede describirse con idéntica redacción a la de esta, por lo que carece de novedad de acuerdo con el Artículo 6 de la vigente Ley de Patentes.

Las restantes reivindicaciones 3, 4 y 7-9 afectadas en su novedad también se encuentran idénticamente recogidas en D01 (además de en el Documento D02, también citado en el IET con la categoría X). Así, por ejemplo, asimilando en D01 los detectores de la disposición ordenada de detectores (párrafo [0029]) que recogen la imagen de cada microlente, compuestos de CCD, a una microcámara, se tiene una disposición ordenada de microcámaras asociadas a sus lentes correspondientes según el camino óptico de la luz, es decir, el objeto de las reivindicaciones 3 y 4, y siempre puede llamarse N al número de píxeles activos que comprenden (reivindicación 7). Existen también en D01 medios de iluminación (con luz presumiblemente incoherente) para iluminar dicha muestra desde detrás (reivindicación 8), y un soporte de muestra (202) (reivindicación 9). Estas reivindicaciones carecen también, por lo tanto, de novedad según el mencionado Art. 6 LP.

Por otra parte, se considera que la invención definida en las reivindicaciones 2, 5, 6 y 10-21 carece de actividad inventiva por poder deducirse de forma evidente del estado de la técnica por un experto en la materia.

Así, por ejemplo, la obtención de versiones muestreadas del mapa de radiancias (reivindicación 2) es una práctica conocida en la técnica de obtención de imágenes 3D, posible en los microscopios de D01 y D02 y para la que no se aportan características diferenciadoras adicionales en la invención; tampoco puede considerarse inventiva la adición de lentes adicionales a las microcámaras (reivindicación 5), por tratarse de elementos ópticos de uso obvio en todo sistema de formación de imágenes, ni tampoco la de un soporte de inserción de las microlentes en el cuerpo del objetivo (reivindicación 6) (véase detenidamente, en especial, el documento D02), ni una estructura de montaje, ya sea fija o desplazable (reivindicaciones 10 y 11), ni el uso de una carcasa (reivindicación 12); son también ampliamente conocidos los medios electrónicos para el control de la toma de imágenes y la iluminación (reivindicaciones 13 y 14), y, en cuanto a la obtención de la reconstrucción en profundidad con imágenes enfocadas a diferentes profundidades y la elaboración de un mapa o matriz de profundidades, y sea internamente o por medios externos al microscopio, a través de un sistema de comunicación (reivindicaciones 15-17), nada nuevo o diferenciador se añade con respecto a las prácticas aludidas, por ejemplo, en D02 de microscopía confocal o tomografía (párrafo [0061]), basadas en el mismo tratamiento de los datos de imagen. Son también conocidos y evidentes, por último, el empleo de impresoras 3D (reivindicación 18) o las diversas aplicaciones prácticas recogidas en las reivindicaciones 19-21. Todas estas reivindicaciones carecen, en conclusión, de actividad inventiva según el Artículo 8 LP.