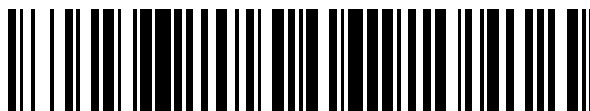


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 468**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

A61B 1/04 (2006.01)

G02B 23/26 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.12.2002 PCT/FR2002/04480**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.04.2017 WO03060493**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.12.2002 E 02799106 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 1461601**

54 Título: **Equipo de espectroscopia de autofluorescencia subsuperficial**

30 Prioridad:

28.12.2001 FR 0116981

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

21.12.2017

73 Titular/es:

**MAUNA KEA TECHNOLOGIES
9, RUE D'ENGHIEN
75010 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

**GENET, MAGALIE;
BOURG-HECKLY, GENEVIÈVE;
VILETTE, SANDRINE;
LACOMBE, FRANÇOIS;
LOISEAU, ALEXANDRE y
ABRAT, BENJAMIN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 647 468 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

Equipo de espectroscopia de autofluorescencia subsuperficial

5 La presente invención concierne a un equipo de espectroscopia de autofluorescencia subsuperficial. De modo más particular, el equipo de acuerdo con la invención es del tipo que utiliza una señal de excitación transportada por una o varias fibras ópticas flexibles.

Los ámbitos de aplicación de la invención son el análisis espectroscópico de tejidos biológicos in-vivo en el hombre o el animal, externos o internos y accesibles con la ayuda de un canal operador de endoscopia en el cual se pueden introducir las fibras ópticas, e igualmente el análisis ex-vivo de muestras tisulares que provienen de extracciones biópsicas, y el análisis in-vitro de cultivos en biología celular.

10 Actualmente están concernidos los ámbitos médicos de la gastroenterología, la neumología, la ginecología, la urología, la ORL, la dermatología, la oftalmología, la cardiología y la neurología.

15 Los tejidos biológicos contienen fluoróforos endógenos susceptibles, en respuesta a una excitación luminosa de longitud de onda apropiada, de emitir una fluorescencia en un ámbito espectral que va del UV próximo al visible, denominada autofluorescencia. Esta última resulta del recubrimiento de emisiones de diferentes fluoróforos, y depende del metabolismo celular, de la estructura y de la vascularización de los tejidos, los cuales varían según la naturaleza sana o tumoral de los tejidos. Resulta así que la fluorescencia de los tejidos sanos y tumorales presentan importantes diferencias tanto desde el punto de vista de la intensidad emitida como en la forma del espectro. El análisis del espectro de autofluorescencia facilita indicadores que permiten una "biopsia óptica".

20 En los equipos existentes, la iluminación del sitio que se desea analizar de manera espectroscópica se hace habitualmente con un haz de excitación de fibras ópticas que es divergente, que excita un volumen, y la recepción de la señal de fluorescencia se efectúa por medio de fibras de detección adyacentes especialmente periféricas. Esto implica una mala resolución, con una mezcla de informaciones y un aumento del número de falsos positivos.

La presente invención tiene por objetivo paliar estos inconvenientes.

25 En la solicitud de patente WO 99/47041 se propone un equipo para la imagen subsuperficial espectral y confocal de un tejido biológico. Por otra parte, se han propuesto técnicas de imagen confocal de alta resolución espacial destinadas a observar un plano de corte XY a diferentes profundidades del sitio observado, expuestas especialmente en la solicitud de patente WO 00/16151.

30 Estas técnicas ponen en práctica un haz ordenado de fibras ópticas flexibles (especialmente varias decenas de millares) con, en el lado del observador, una fuente luminosa y un sistema de inyección de fibras que permite iluminar una sola fibra y, en el lado del sitio observado, una cabeza óptica que permite focalizar el haz que sale de la fibra iluminada en un punto situado en un plano de corte XY, a una profundidad dada del sitio observado. Un sistema de barrido de fibras permite barrer las fibras una a una a velocidad muy elevada. Cada fibra es utilizada sucesivamente para transportar el haz de iluminación e igualmente el haz de retorno correspondiente que proviene del sitio observado. La obtención de una alta resolución espacial es debida al hecho de que se focaliza el haz en un punto e igualmente al carácter confocal que reside en el filtrado espacial del sitio observado por las mismas fibras que las que hayan servido para la iluminación. Esto permite recibir exclusivamente la señal que proviene del sitio observado y realizar una imagen punto a punto.

35 La presente invención tiene por objetivo proponer un equipo que permita un análisis espectroscópico igualmente de alta resolución espacial y a una profundidad dada del sitio observado.

40 La misma propone un equipo de análisis espectroscópico de autofluorescencia de un tejido de acuerdo con el objeto de la reivindicación 1. La presente invención está así basada en algunos de los medios citados anteriormente para realizar una imagen confocal, a saber transportar por la o las mismas fibras la señal de excitación y en retorno la señal emitida, y la puesta en práctica de una cabeza óptica que focaliza la señal de excitación en un punto en profundidad. La focalización combinada con el carácter confocal (obtenido gracias al retorno de la señal de autofluorescencia por la o las mismas fibras ópticas), permite obtener una alta resolución espacial. La ventaja con respecto a una espectroscopia de gran campo es que se puede realizar una selección espacial muy precisa de la zona de análisis y que de esta manera se reducen mucho los riesgos de errores y de falsos positivos.

45 Los medios ópticos de la cabeza óptica comprenden un sistema de lentes que forman un objetivo de focalización adaptado para transcribir la repartición espacial de la mancha focal a la salida del haz de fibras y la calidad del frente de onda y para minimizar la reflexión parásita que se efectúa a la salida del haz de fibras.

50 De acuerdo con la presente invención, el número de fibras ópticas del haz comprende una pluralidad de fibras (especialmente varias decenas de millares) que pueden ser excitadas todas o por subconjuntos seleccionados según las dimensiones de la zona de excitación que se desee.

5 La zona de excitación de acuerdo con la invención se sitúa en un plano XY perpendicular al eje óptico que se puede regular a diferentes profundidades, que van de 50 μm a 400 μm . Su dimensión depende del diámetro del conjunto de fibras utilizado (denominado en lo que sigue el diámetro útil del haz de fibras), y de las características ópticas de focalización de la cabeza óptica. Cuando se utiliza un haz constituido por una multitud de fibras ópticas flexibles, el equipo ventajosamente puede comprender medios que permitan regular el diámetro del haz de excitación emitido por la fuente para que el mismo excite de modo continuo el conjunto de las fibras o bien un subgrupo de fibras que permita obtener un tamaño apropiado para la zona de excitación. Estos medios están constituidos por ejemplo por una lente de adaptación de haz o por un sistema afocal de aumento apropiado.

10 La presente invención propone igualmente un equipo que comprenda además medios que permitan obtener conjuntamente una imagen confocal del sitio de análisis. Tal posibilidad de acoplamiento permite aumentar ventajosamente el grado de certeza de un diagnóstico. Gracias a la invención, se podrán obtener simultáneamente y en tiempo real, en un punto focalizado en profundidad, informaciones:

- de tipo histológico por imagen confocal, y
- de tipo espectroscópico que informan sobre la naturaleza del sitio observado.

15 La misma propone un equipo tal como el definido anteriormente, comprendiendo el haz de fibras una pluralidad de fibras ópticas, caracterizado por que el mismo comprende además medios para realizar conjuntamente una imagen confocal de la zona de análisis, que comprenden:

- una fuente de iluminación,
- un detector de la señal de retorno para análisis,
- 20 - un medio de separación de la señal de iluminación y de la citada señal de retorno,
- medios para acoplar la señal de excitación para el análisis espectroscópico y la señal de iluminación para el imagen confocal, antes de la entrada en el medio de inyección en el haz de fibras ópticas,
- un medio de barrido rápido de la fibras una a una situado aguas arriba del medio de inyección en el haz de fibras, y
- 25 - un sistema de filtrado espacial en la entrada del detector de señal adaptado para seleccionar la señal de retorno que proviene de la fibra iluminada,

presentando el medio de inyección en el haz de fibras una repartición espacial de la intensidad de la mancha focal igual al diámetro de núcleo de una fibra, siendo cada fibra iluminada sucesivamente y de manera dirigida.

30 De acuerdo con la invención, la vía tomográfica y la vía espectroscópica utilizan ventajosamente en común el medio de inyección en el haz de fibras, el propio haz de fibras y la cabeza óptica de focalización. Para la adquisición de una imagen, las fibras son iluminadas sucesivamente y una a una. Para la adquisición de un espectro de autofluorescencia, las fibras pueden ser excitadas todas o por subgrupos, en función de las dimensiones de la zona de análisis.

35 La utilización de un haz de fibras ópticas flexibles puede ser ventajosa para un sistema de pruebas automáticas en el cual ventajosamente el haz de fibras, con la cabeza óptica en su extremidad, es manipulado de manera automatizada como un brazo de medición en una matriz de muestras.

La presente invención será comprendida mejor y otras ventajas se pondrán de manifiesto a la luz de la descripción que sigue de dos ejemplos de realización, descripción hecha refiriéndose a los dibujos anejos en los cuales:

- 40 - la figura 1 ilustra esquemáticamente un primer ejemplo de realización de equipo de espectroscopia de acuerdo con la invención;
- la figura 2 ilustra esquemáticamente un segundo ejemplo de realización de equipo que comprende un acoplamiento análisis espectroscópico e imagen confocal, y
- la figura 3 ilustra esquemáticamente una variante de realización del equipo de la figura 2.

45 De acuerdo con el ejemplo de realización elegido y representado en la figura 1, se propone un equipo para realizar un análisis espectroscópico subsuperficial a una profundidad dada, que comprende una fuente 1 que produce una señal de excitación, un medio de inyección 2 de la citada señal en un haz 3 ordenado de fibras ópticas al final del cual está dispuesta una cabeza óptica 4 adaptada para modificar la señal de excitación que sale del citado haz de fibras ópticas 3 para crear un haz convergente focalizado sobre una zona 5 subyacente de la zona de contacto 6 con la cabeza óptica 4.

La fuente 1 utilizada es elegida para permitir una excitación de los fluoróforos endógenos presentes en los tejidos biológicos del sitio observado, especialmente en un intervalo de longitud de onda de 300 nm – 500 nm. Típicamente se puede utilizar un diodo láser de 405 +/- 10 nm. Otras fuentes tales como los láseres sólidos o los láseres de gas con o sin generadores armónicos pueden ser adecuadas igualmente con otras longitudes de onda a fin de excitar otros fluoróforos endógenos.

El equipo comprende un medio de adaptación 8 de haz emitido por la fuente 1 que en este caso comprende una lente L1 que está correctamente acoplada al medio de inyección 2 en el haz 3 de fibras ópticas. La combinación óptica permite adaptar el tamaño del haz láser al diámetro útil del citado haz de fibras ópticas 3, correspondiente al conjunto o al subconjunto de fibras efectivamente utilizadas. La misma permite en este caso además aumentar el diámetro de la mancha de focalización a la entrada del haz 3 de fibras y por consiguiente aumentar el tamaño de la mancha formada sobre el tejido. Esto permite reducir la irradiancia (es decir la cantidad de potencia por unidad de superficie) sobre el tejido, y así respetar las normas de iluminación de los tejidos biológicos.

El equipo comprende igualmente un medio adaptado para separar dos longitudes de onda, la longitud de onda de excitación y la señal de autofluorescencia emitida. A tal efecto se utiliza aquí una lámina dicróica D que realiza una transmisión máxima a la longitud de onda de iluminación y una reflexión máxima en el ámbito espectral de fluorescencia.

La señal a la longitud de onda de excitación es dirigida a la salida de la lámina D hacia el medio óptico de inyección 2 en el haz de fibras 3. Este medio debe presentar el mínimo de aberraciones y no debe degradar la calidad del frente de onda a fin de realizar una mancha de focalización próxima al límite de difracción para así realizar un acoplamiento óptico con el haz de fibras 3. El medio elegido en este caso está constituido por un doblete a medida L3 y un triplete estándar L4. El doblete L3 permite corregir las aberraciones residuales del triplete L4, a saber la curvatura de campo. Puede convenir cualquier otra combinación óptica que presente una calidad de frente de onda WFE ("Wave Front Error") del orden de $\lambda/8$ y una repartición espacial de la intensidad de la mancha focal PSF ("Point Spread Function") igual al diámetro útil del haz de fibras 3.

El haz de fibras 3 permite acceder a la zona de análisis desplazando la fuente 1. Para una aplicación endoscópica, el mismo debe presentar un diámetro y un radio de curvatura que permitan una inserción fácil en el canal operador del endoscopio, que es de algunos milímetros de diámetro según la aplicación clínica (entre 2 mm y 4 mm). Se puede utilizar un haz constituido por una fibra óptica flexible única o bien una pluralidad de fibras. En la práctica, el diámetro útil puede ser elegido en función de la mancha de focalización de la cabeza óptica, por ejemplo para que la misma sea del orden de varios centenares de micras en los cuales se sabe que la naturaleza del tejido biológico observado no difiere de una célula a otra.

A la salida del haz de fibras 3, la señal de excitación atraviesa la cabeza óptica 4. La misma comprende varios medios ópticos, que permiten hacer converger la señal de excitación, y dos láminas de vidrio (no representadas en las figuras), una en común con la salida del haz de fibras 3 y la otra en contacto con el tejido a fin de realizar una adaptación de índice con los tejidos biológicos.

Los medios ópticos presentan las características siguientes:

- permitir un análisis del tejido a una profundidad de varias decenas a varias centenas de micras;
- minimización de las aberraciones a fin de transcribir la PSF a la salida del haz de fibras en el tejido sin aumentarla ni deformarla;
- optimización de la tasa de acoplamiento en retorno en el haz de fibras optimizando la calidad del frente de onda;
- minimización de la reflexión parásita que se efectúa a la salida del haz de fibras por la integración de una lámina de vidrio.

Además, si se trata de una cabeza óptica destinada a un endoscopio, sus dimensiones deben ser compatibles con la del canal operador de la endoscopia.

El bloque óptico de focalización está constituido por un sistema de lentes de aumento unitario o no, que forma un objetivo a medida o un sistema que comprende por ejemplo dos objetivos de microscopios.

De acuerdo con la invención, las fibras del haz 3 tienen la función igualmente de detectar la señal emitida por la zona 5 subsuperficial. A la salida del haz de fibras 3, la señal detectada es, como se ha visto, reflejada por la lámina dicróica D y dirigida hacia la ranura 21 de un espectrógrafo 20. El acoplamiento de la señal de fluorescencia a la ranura 21 del espectrógrafo es realizado gracias a un doblete acromático. En variante, se puede utilizar cualquier otra óptica acromática, efectuándose el análisis de la señal de fluorescencia en un amplio ámbito espectral (350 nm-650 nm). Un filtro de paso alto 22 permite así suprimir la longitud de onda de excitación (la luz retrodifundida por el tejido a la misma longitud de onda que la longitud de onda de excitación es en efecto mucho mayor que la luz de autofluorescencia de los tejidos que se produce a longitudes de onda mayores). Por consiguiente, a fin de no saturar el detector, se bloquea la luz retrodifundida por el filtro de paso alto y una lente L2, colocada aguas arriba del filtro de

paso alto 22, permite mejorar la relación entre señal y ruido aumentando la señal detectada por la adaptación del haz de retorno a las dimensiones de la ranura 21.

5 El espectrógrafo 20 es elegido de manera que presente una abertura digital, un enfriamiento por efecto Peltier, un ruido pequeño a fin de aumentar la relación entre señal y ruido, así como una buena resolución espectral (del orden de 3 nm). Están previstos además medios de visualización de espectro y de análisis y de tratamiento.

10 En la figura 2, está representado esquemáticamente el equipo de la figura 1 al cual se ha acoplado ventajosamente un sistema de imagen confocal. El equipo comprende por tanto una vía espectroscópica que corresponde a la descrita refiriéndose a la figura 1 (se utilizan las mismas referencias) y una vía suplementaria tomográfica que permite realizar conjuntamente una imagen confocal del sitio de análisis. Las dos vías utilizan ventajosamente en común el haz de fibras ópticas 3 y la cabeza óptica 4, así como el medio de inyección 2 en el citado haz de fibras 3.

15 De manera específica, para obtener una imagen confocal punto a punto, el equipo utiliza en este caso un haz 3 que comprende varias fibras ópticas que son iluminadas sucesivamente y una a una de manera dirigida. Se puede utilizar cualquier haz que presente suficientemente fibras y un pequeño espaciamiento Inter-núcleo a fin de obtener una buena resolución espacial. A título de ejemplo, se puede utilizar un cable trenzado de fibras ópticas de marca Sumitomo® constituido por 30 000 fibras de diámetro de núcleo de 2,5 μm y de espaciamiento inter-núcleo de 4 μm , o bien un cable trenzado de marca Fujikura® constituido por 30 000 fibras de diámetro de núcleo de 2 μm y de espaciamiento inter-núcleo de 3,7 μm . Tales haces de fibras son compatibles con una aplicación endoscópica. Para la vía espectroscópica, la adquisición del espectro con tales haces de fibras se hará en la totalidad de las fibras del haz que corresponde a una zona de análisis de varios centenares de micras en la cual la naturaleza del tejido no difiere de una célula a otra.

20 Igualmente de manera específica, la cabeza óptica está adaptada para un imagen confocal fibra a fibra que permite obtener una zona de análisis 5 focalizada del orden de 0,5 mm de diámetro en un plano de análisis en corte XY.

25 Aguas arriba del haz de fibras 3, la vía tomográfica comprende una fuente 30 constituida por un diodo láser a 683 nm y que presenta una calidad muy buena de frente de onda. Este diodo es pulsado a fin de disociar por detección sincrona la señal útil de la reflexión parásita que se efectúa a la entrada del haz de fibras 3. Se podría utilizar también un láser sólido o de gas, pero la elección en longitud de onda en la banda 600 nm – 800 nm en la que la absorción en los tejidos es menor, es menos extendida; además, el coste a potencia equivalente es mucho mayor.

30 Para separar la señal de iluminación y la señal de retorno de análisis, se utiliza un medio de separación constituido en este caso por un cubo separador 31 50/50 para comodidad de regulación. Se puede utilizar también una lámina separadora 50/50.

35 El equipo comprende un sistema de barrido 32 cuyo objetivo es reproducir una matriz de diodos de la misma calidad óptica que el diodo láser de la fuente y que se inyectará fibra a fibra. Esto necesita una combinación de medios ópticos no estándares que permita corregir las aberraciones presentes en el sistema de transporte y de duplicación de fuente a fin de iluminar el haz 3 fibra a fibra. Esta técnica de imagen punto a punto (correspondiendo cada punto a la iluminación de una fibra) permite obtener una imagen confocal de muy buena calidad y a una cadencia de imagen apropiada (15 imágenes/segundo).

40 El sistema de barrido está constituido por dos espejos M1 y M2, uno es un espejo resonante a una frecuencia de 4 Hz u 8 kHz, el otro un espejo galvanométrico con una frecuencia variable entre 0 y 300 Hz, y dos sistemas ópticos constituidos cada uno por cuatro lentes, respectivamente L5, L6, L7 y L8, y L9, L10, L11 y L2 que en un primer tiempo permiten conjugar los dos espejos, y después el espejo M2 y la entrada del haz de fibras 3. Estos sistemas ópticos no deben presentar aberraciones que podrían:

- aumentar la PSF después del sistema de inyección y así degradar el acoplamiento en el haz de fibras 3;

- hacer propagar flujo en el interior del conducto que degradaría la PSF al final del haz de fibras 3 y por ello la resolución del equipo.

45 A diferencia del equipo de la figura 1, el medio de inyección 2 en el haz de fibras 3 debe presentar aquí una PSF igual al diámetro de núcleo de una fibra a fin de poder realizar un acoplamiento óptico con una sola fibra.

50 Las lentes L6-L7 y L10-L11 del sistema de barrido 32 son dos dobletes correctores idénticos colocados simétricamente con respecto al plano imagen. Los mismos permiten, con el doblete L3 del sistema de inyección 2 obtener una imagen de muy buena calidad al eliminar las aberraciones residuales de la combinación óptica L5, L8, L9, L12 y L4, y uniformizar la tasa de acoplamiento en el haz de las fibras 3 al suprimir la curvatura de campo. Las mismas permiten igualmente por este hecho mejorar la resolución espacial del equipo formando una mancha cuya PSF es igual al diámetro de núcleo de las fibras, lo que no implica propagación de luz en el interior del conducto del haz de fibras 3 y por tanto una PSF a la salida del citado haz 3 idéntica a la de entrada.

55 El equipo comprende un sistema de filtrado espacial constituido por una lente L13 y un agujero de filtrado 33 que permite seleccionar solamente la fibra de iluminación y no las fibras adyacentes que pueden generar una señal

parásita. El tamaño del agujero de filtrado es tal que el mismo corresponde al diámetro de núcleo de una fibra salvo el aumento del sistema óptico entre la entrada del haz de fibras 3 y el agujero de filtrado 33.

5 El haz de fibras 3 está equipado en estas dos extremidades con una lámina de vidrio suficientemente gruesa y de índice próximo al de las fibras a fin de rechazar las reflexiones parásitas fuera del agujero de filtrado colocado delante del detector para la reflexión que se efectúa en la entrada del haz de fibras 3, y fuera de las fibras ópticas iluminadas para la reflexión que se efectúa a la salida del haz de fibras 3. Las láminas de vidrio están tratadas antirreflejo a fin de minimizar la luz reflejada.

10 Como detector de señal 35 se utiliza un fotodiodo de avalancha que adquiere la señal en continuo, lo que necesita llevar la señal parásita que proviene de las dos extremidades del haz de fibras 3 al mismo orden de magnitud que la señal útil a fin de no saturar el detector. La supresión del residuo de reflexión parásita a la entrada del haz de fibras 3 es efectuada entonces por un filtrado temporal digital. Puede ser utilizado cualquier otro fotodetector monopíxel tal como el fotomultiplicador, siendo la ventaja del fotodiodo de avalancha su rendimiento cuántico de detección más elevado que el de los otros detectores.

15 A fin de proceder al acoplamiento de las dos vías de imagen confocal/espectroscopia que se efectúa con dos fuentes de longitudes de onda diferentes, se utiliza una lámina dicróica D2 que refleja el rojo y que transmite el azul y el verde. El acoplamiento podría ser realizado también en transmisión en el rojo y en reflexión en el azul y el verde, pero el mismo presenta tasas de reflexión y transmisión menos óptimas en este sentido.

20 En funcionamiento, la adquisición de un espectro puede hacerse simultáneamente a la adquisición de una imagen tomográfica. El equipo comprende medios de análisis y de tratamiento que permiten a partir de las señales detectadas por el detector de señal 35 recrear una imagen digital.

La resolución espacial que puede obtenerse es del orden de 5 μm . La misma permite especialmente el diagnóstico de lesiones precancerosas basado en el tamaño, la forma y la densidad de los núcleos observados.

25 En la figura 3, está representada una variante de realización del equipo de la figura 2. Los elementos idénticos llevan las mismas referencias en las dos figuras. De acuerdo con esta variante, el acoplamiento de las dos vías de imagen confocal / espectroscopia es realizado aguas arriba de los medios de barrido 32. A tal efecto, la lámina dicróica D2 está colocada aguas arriba del espejo M1. La ventaja de esta construcción es que la misma permite utilizar los medios de barrido 32 para desplazar un haz de excitación emitido en la vía espectroscópica que tenga un diámetro útil más pequeño que el diámetro total del haz de fibras 3, de manera que se le inyecte en una posición diferente sobre la cara de entrada del haz 3. Esto permite por ejemplo desplazar la zona de análisis espectroscópico para
30 especialmente hacerla corresponder a una zona de imagen obtenida por la vía de la imagen confocal.

En variante todavía, que puede aplicarse a los equipos de las figuras 1 a 3, se puede prever en sustitución de la lente de adaptación L1 un sistema afocal que permita modificar el tamaño del haz de excitación para hacerle corresponder a un subgrupo dado de fibras ópticas del haz 3.

REIVINDICACIONES

1. Equipo de análisis espectroscópico de autofluorescencia de un tejido biológico que comprende:
- una fuente de excitación (1) que emite un haz de excitación que constituye una señal de excitación,
 - un haz (3) constituido por una pluralidad de fibras ópticas flexibles,
- 5 - un medio de inyección (2) de la señal de excitación producida por la citada fuente de excitación (1) en el citado haz (3) de fibras ópticas flexibles,
- a la salida del haz (3) de fibras ópticas flexibles una cabeza óptica (4) destinada a ser colocada en contacto con el tejido biológico (6), estando provista la citada cabeza óptica (4) de medios ópticos adaptados para hacer converger la señal de excitación que sale del citado haz (3) de fibras ópticas flexibles en una zona de análisis subsuperficial (5), siendo utilizadas las mismas fibras ópticas que hayan servido para transportar la señal de excitación para detectar la señal de autofluorescencia emitida por la citada zona de análisis subsuperficial (5),
- 10 - medios (D) colocados aguas arriba del medio de inyección (2) previstos para separar la longitud de onda de la señal de excitación y la longitud de onda de la señal de autofluorescencia, y
- un medio de análisis (21, 22) de la señal de autofluorescencia emitida,
- 15 caracterizado por que el mismo comprende:
- medios para regular el diámetro del haz de excitación emitido por la fuente de excitación (1) y para excitar en continuo el conjunto de las fibras ópticas o bien un subgrupo de fibras ópticas que permitan así obtener un tamaño apropiado para la zona de excitación formada en el tejido.
2. Equipo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que los medios ópticos de la cabeza óptica (4) comprenden un sistema de lentes que forman un objetivo de focalización adaptado para transcribir la repartición espacial de la mancha focal (PSF) a la salida del haz de fibras y la calidad del frente de onda (WFE) y para minimizar la reflexión parásita que se efectúa a la salida del haz de fibras.
- 20 3. Equipo de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que la cabeza óptica (4) comprende una lámina de vidrio destinada a entrar en contacto con el tejido biológico que haya que analizar y adaptada para realizar una adaptación de índice con el citado tejido.
- 25 4. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el mismo comprende una lámina de vidrio colocada a la salida del haz (3) de fibras ópticas y común con la cabeza óptica (4), siendo la citada lámina suficientemente gruesa para rechazar las reflexiones paralelas parásitas a la salida del haz de fibras (3).
- 30 5. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el medio de inyección (2) en el haz (3) de fibras ópticas presenta una calidad de frente de onda y una repartición espacial de la intensidad de la mancha focal adaptada al diámetro útil del haz de fibras (3).
6. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la fuente de excitación (1) emite a una longitud de onda adaptada para excitar fluoróforos endógenos elegidos presentes en los tejidos biológicos del sitio observado.
- 35 7. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el medio para separar las longitudes de onda es una lámina dicroica (D).
8. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el medio de análisis espectroscópico comprende un espectrógrafo (20) y un medio de acoplamiento (21) a la ranura del espectrógrafo.
- 40 9. Equipo de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por que el medio de acoplamiento (21) a la ranura del espectrógrafo comprende un medio óptico acromático.
10. Equipo de acuerdo con las reivindicaciones 8 o 9, caracterizado por un medio de rechazo (22) colocado aguas arriba del medio de acoplamiento (21) y adaptado para suprimir la longitud de onda de excitación retroemitida.
- 45 11. Equipo de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado por una lente (L2) colocada aguas arriba del medio de rechazo (22) adaptada para mejorar la relación entre señal y ruido.
12. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el mismo comprende un medio de captación (L1) del tamaño del haz emitido por la fuente de excitación (1) al diámetro útil del haz de fibras ópticas (3).

13. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el mismo comprende además medios para realizar conjuntamente una imagen confocal de la zona de análisis (5), que comprende:

- una fuente de iluminación (30),
- 5 - un detector (35) de la señal de retorno para análisis,
- un medio de separación (31) de la señal de iluminación y de la citada señal de retorno,
- medios para acoplar (D2) el haz de excitación para el análisis espectroscópico y el haz de iluminación para el imagen confocal, antes de la entrada en el medio de inyección (2) en el haz de fibras ópticas (3),
- 10 - un medio (32) de barrido rápido de las fibras una a una situado aguas arriba del medio de inyección en el haz de fibras (3), y
- un sistema de filtrado (33) espacial en la entrada del detector (35) de señal adaptado para seleccionar la señal de retorno que proviene de la fibra iluminada,

presentando el medio de inyección (2) en el haz de fibras (3) una repartición espacial de la intensidad de la mancha focal igual al diámetro de núcleo de una fibra, siendo cada fibra iluminada sucesivamente y de manera dirigida.

15 14. Equipo de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado por que los medios de acoplamiento están colocados aguas arriba del medio de barrido (32).

15. Equipo de acuerdo con las reivindicaciones 13 o 14, caracterizado por que la fuente de iluminación (30) es un diodo láser pulsado.

20 16. Equipo de acuerdo con una de las reivindicaciones 13 a 15, caracterizado por que la fuente de iluminación presenta una calidad de frente de onda del orden de $\lambda/8$.

17. Equipo de acuerdo con una de las reivindicaciones 13 a 16, caracterizado por que el detector (35) de la señal de retorno es un fotodiodo de avalancha.

25 18. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, caracterizado por que los medios de acoplamiento (31) de la señal de excitación para el análisis espectroscópico y de la señal de iluminación para el imagen confocal, comprenden una lámina dicróica (D2).

30 19. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, caracterizado por que el medio (32) de barrido rápido de las fibras una a una comprende un espejo resonante (M1) a una frecuencia dada y un espejo galvanométrico (M2) con una frecuencia variable, y dos sistemas ópticos constituidos cada uno por lentes (L5-8, L9-12) adaptadas para en un primer tiempo conjugar los dos espejos (M1, M2) y después en un segundo tiempo el espejo galvanométrico (M2) y la entrada del haz de fibras (3).

20. Equipo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 19, caracterizado por que el sistema de filtrado espacial comprende un agujero de filtrado (33) cuyo tamaño es tal que el mismo corresponde al diámetro de núcleo de una fibra salvo el aumento del sistema óptico entre la entrada del haz de fibras (3) y el agujero de filtrado (33).

35

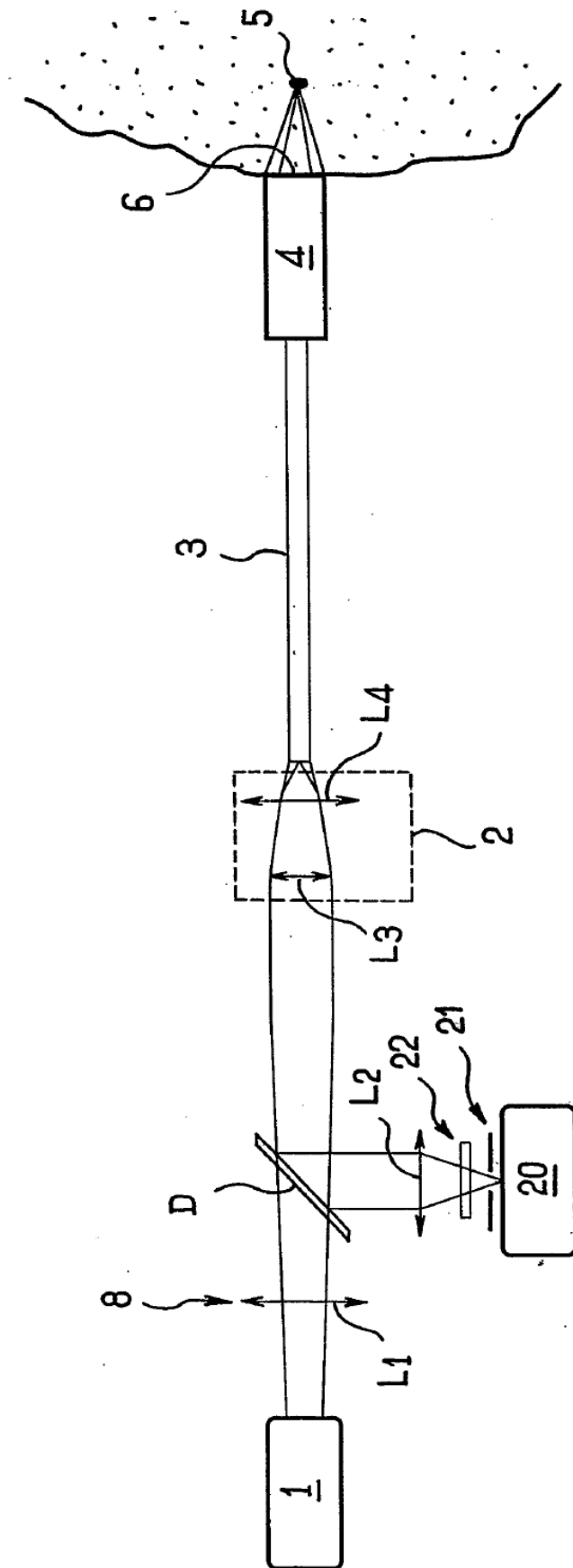


FIG. 1

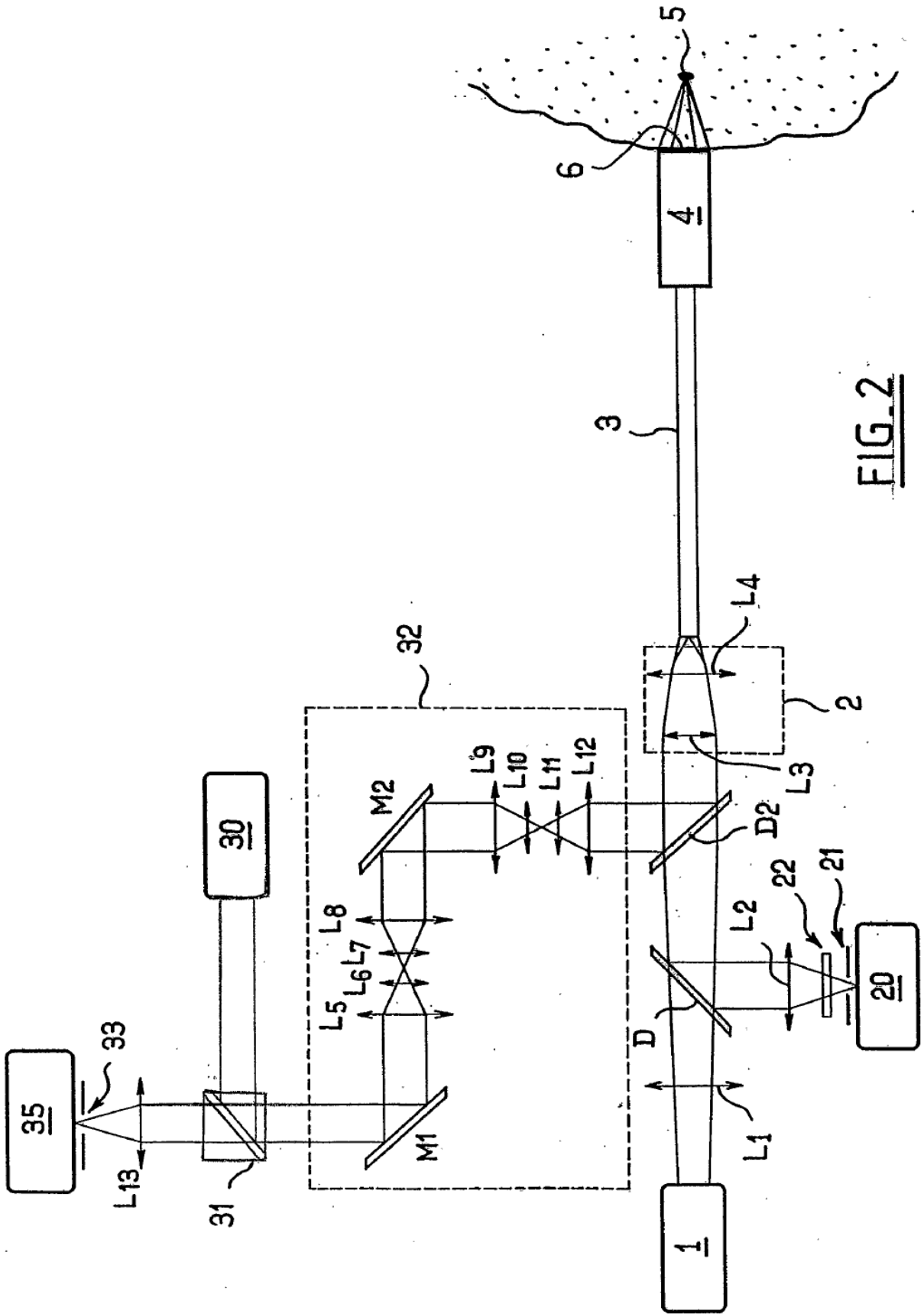


FIG. 2

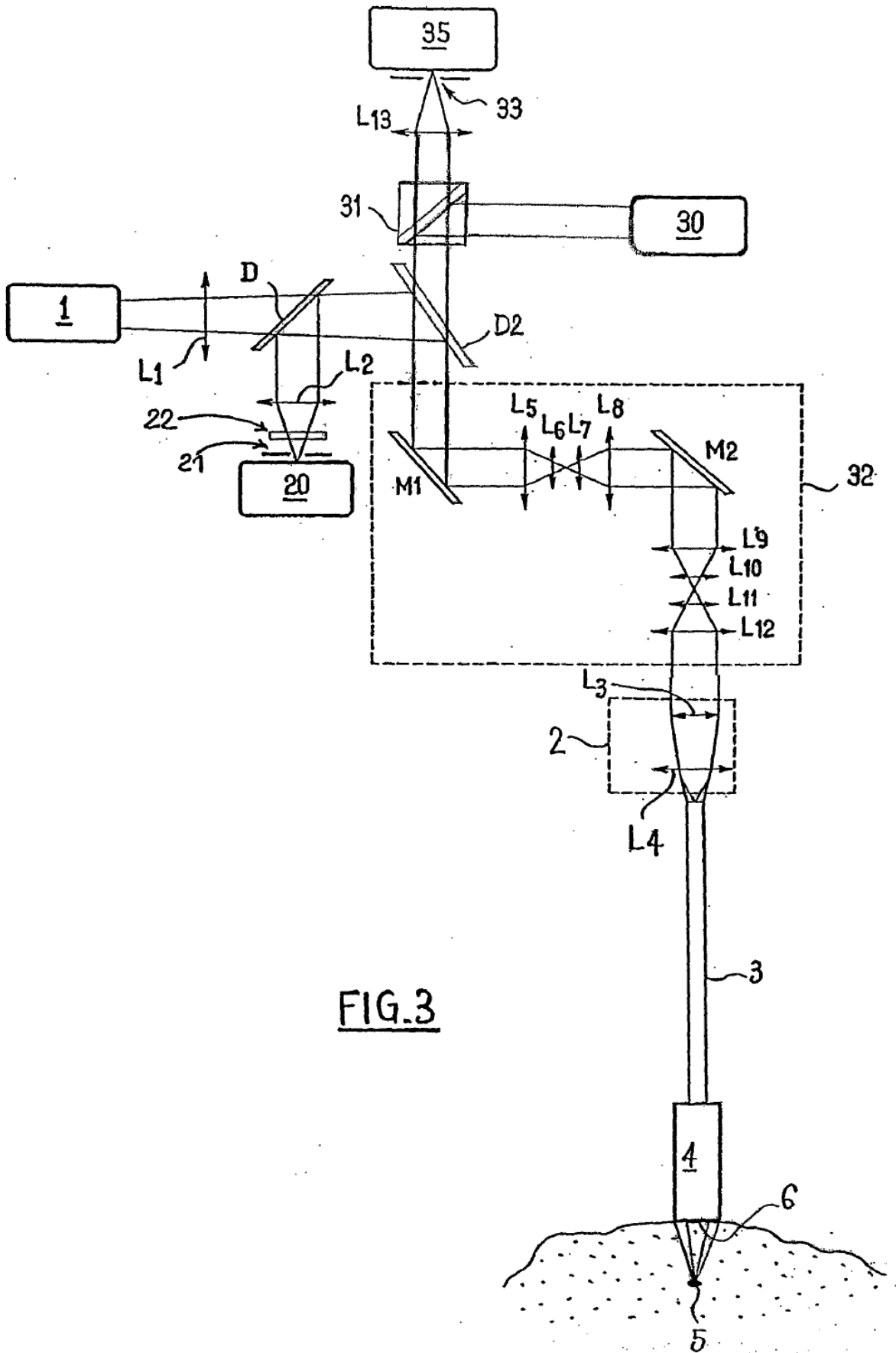


FIG. 3