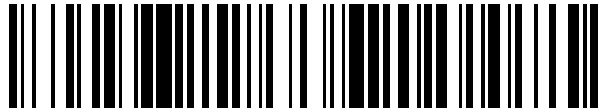


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 782**

51 Int. Cl.:

A61B 5/145	(2006.01)
A61B 5/00	(2006.01)
G01N 21/65	(2006.01)
A61B 5/103	(2006.01)
A61B 5/1495	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.01.2011 PCT/EP2011/050059**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11083111**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2011 E 11700119 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 2528505**

54 Título: **Aparato para la medición in vivo no invasiva mediante espectroscopía Raman**

30 Prioridad:

07.01.2010 GB 201000179

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

03.07.2020

73 Titular/es:

**RSP SYSTEMS A/S (100.0%)
Sivlandvænget 27C
5260 Odense S, DK**

72 Inventor/es:

**HENNEBERG, MORTEN;
BANKE, STEFAN, OVESEN y
WEBER, ANDERS**

74 Agente/Representante:

GARCÍA GONZÁLEZ, Sergio

ES 2 770 782 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

Aparato para la medición in vivo no invasiva mediante espectroscopía Raman

5 **Descripción**

La invención se refiere a un aparato para la medición *in vivo* no invasiva de glucosa presente en el líquido intersticial en la piel, mediante espectroscopía Raman.

10 **Técnica antecedente**

La espectroscopía es un procedimiento para obtener información a escala molecular mediante el uso de la luz. Esta información se puede relacionar con los estados de rotación, vibración y/o electrónico de las moléculas que se prueban, así como con la energía de disociación y otros más. El espectro rotacional y/o vibracional de una molécula dada es específico para esa molécula. Como consecuencia, los espectros moleculares en particular los espectros de rotación y/o vibración a menudo se denominan "huellas digitales" que se relacionan con una molécula específica. Por lo tanto, la información que se relaciona con los estados rotacionales, vibracionales y/o electrónicos de las moléculas se puede usar para analizar una muestra que comprende una serie de componentes moleculares desconocidos, de este modo se obtiene el conocimiento sobre los componentes moleculares en la muestra.

La base para una configuración espectroscópica es una fuente de luz, por ejemplo, un láser, que se utiliza para iluminar una muestra. La luz de la fuente de luz (la luz entrante) interactuará con la muestra, y a menudo dará como resultado una alternancia de la luz que se transmite, emite, refleja y/o dispersa mediante la muestra. Al recolectar la luz que se altera y analizar su distribución espectral, se puede obtener información sobre la interacción entre la luz entrante y la muestra molecular; por lo tanto, se puede obtener información sobre los componentes moleculares.

La distribución espectral se mide típicamente usando un espectrómetro. Un espectrómetro es un aparato óptico que funciona separando el haz de luz, que se dirige hacia el aparato óptico, en diferentes componentes de frecuencia y posteriormente se mide la intensidad de estos componentes usando, por ejemplo, un detector CCD, una matriz CCD, fotodiodo o similares.

Las interacciones que reflejan la luz que se altera entre la luz entrante y la muestra molecular se pueden caracterizar como emisión o dispersión. Las señales de emisión tienen perfiles espectrales relativamente amplios en comparación con las señales de luz de dispersión, que normalmente muestran líneas espectrales bastante estrechas. Un proceso a menudo domina sobre el otro, pero ambos procesos pueden y con mayor frecuencia ocurrirán simultáneamente. La intensidad de la luz que se emite frente a la intensidad de la luz dispersada depende, entre otras cosas, de la frecuencia y la potencia de la luz entrante, la intensidad de la luz entrante en el punto de medición en la muestra y los componentes moleculares en la muestra.

La luz dispersada se puede clasificar como elástica o inelástica y se caracteriza por ser señales espectroscópicamente muy estrechas. La dispersión elástica se conoce como dispersión de Rayleigh, en la que no hay desplazamiento de frecuencia. La dispersión de Rayleigh tiene la misma frecuencia que la de la luz entrante.

El ejemplo más comúnmente conocido de dispersión inelástica es la dispersión Raman, en la cual hay un intercambio de energía entre la molécula y los fotones de la luz entrante. Las frecuencias, es decir, la distribución espectral de la luz dispersada Raman serán diferentes de las de la luz entrante y reflejarán de manera única los niveles vibratorios específicos de la molécula; por lo tanto, es un espectro de huellas digitales. Esto se puede utilizar para identificar la composición molecular de la sustancia que se prueba y/o la concentración de las moléculas específicas en la sustancia.

La dispersión Raman es un proceso relativamente débil en comparación con, por ejemplo, la dispersión y fluorescencia de Rayleigh. La reducción de las contribuciones de estos otros procesos es, por lo tanto, lo que se desea cuando se recolecta luz dispersada Raman. Además, la intensidad de la luz dispersada Raman depende en gran medida de la frecuencia y la intensidad de la luz entrante. Si son variables, por lo tanto, puede ser esencial monitorear las fluctuaciones de potencia en la luz entrante si se desea recibir información confiable sobre la distribución de componentes moleculares en diferentes muestras y/o bases de puntos de muestra en el análisis de la luz dispersada Raman que se recolecta, dependiendo de la precisión necesaria. Lo mismo es cierto si el análisis de los componentes moleculares en una muestra y/o diferentes puntos de muestra se basa en espectros de emisión.

La piel comprende una serie de capas que tienen diferentes características y que contienen diferentes tipos de células y estructuras. Se han hecho varias propuestas para su uso la espectroscopía Raman para medir la glucosa en la piel o en otras partes del cuerpo, pero ninguna de ellas ha proporcionado hasta la fecha un sistema que se pueda usar en la mayoría de los sujetos candidatos sin ajuste para que se adapte a un individuo en particular y sin calibración para ese individuo. Por lo tanto, es posible calibrar un instrumento contra mediciones de la concentración de glucosa en sangre que se realizan en un individuo o un grupo de individuos mediante otros medios, como el análisis químico, y aplicar esa misma calibración cuando el instrumento se usa en otros individuos que no sean uno o los involucrados en la calibración. Ahora los inventores han apreciado que la clave para lograr ese resultado es garantizar que la luz

dispersada Raman que se recolecta para la medición se origine en o cerca de una profundidad específica dentro de la piel.

5 Caspers y otros; Biophysical Journal, Vol 85, Julio 2003, describen un procedimiento y aparato de espectroscopía confocal Raman *in vivo* que se dice que es útil para medir la glucosa. Sin embargo, no contiene instrucciones sobre la profundidad a partir de la cual se debe recolectar la dispersión Raman en una medición de glucosa y existe una fuerte sugerencia que se deduce de la enseñanza de que el aparato no se había probado realmente para este propósito.

10 El documento WO2008/052221 describe un procedimiento y aparato para una espectroscopía Raman coherente que transmite luz a través de una superficie de muestra, como la piel y el tejido, a un plano focal dentro de la muestra para medir, por ejemplo, la glucosa. Sin embargo, no hay enseñanza presente de la importancia de seleccionar una profundidad particular para el plano focal o dónde debería estar. De hecho, se reconoce específicamente que al usar el aparato descrito se producen variaciones en la señal que se detecta cuando la concentración de analito es constante debido a los efectos de la temperatura e hidratación de la piel. No existe ninguna sugerencia de que tales efectos se puedan evitar mediante una cuidadosa selección de la profundidad desde la cual se toman las mediciones.

15 El documento WO97/36540 describe la determinación de la concentración de, por ejemplo, glucosa utilizando la espectroscopía Raman y un discriminador de red neuronal artificial. Sin embargo, las señales Raman no se obtienen selectivamente de una profundidad particular y se describe la necesidad de compensar las no linealidades que surgen de las señales que penetran a una profundidad de >500 μm .

20 El documento WO00/02479 divulga un procedimiento y un aparato para la medición no invasiva de glucosa mediante espectroscopía Raman confocal del humor acuoso de la cámara anterior del ojo. Naturalmente, no se enseña una profundidad a la que se puedan realizar mediciones óptimas en la piel.

25 El documento WO2009/149266 se refiere de nuevo a Ermakov IV, Ermakova MR, McClane RW, Gellermann W. Opt Lett. 2001 Ag 1;26(15):1179-81, "Resonance Raman detection of carotenoid antioxidants in living human tissues." que describe el uso de la dispersión de resonancia Raman como una novedosa tecnología óptica no invasiva para medir los antioxidantes carotenoides en tejidos humanos vivos de voluntarios sanos. Mediante el uso de la excitación láser azul-verde, se dice que se obtienen espectros Raman de carotenoides claramente distinguibles superpuestos sobre un fondo de fluorescencia.

30 Chaiken y otros (Noninvasive blood analysis by tissue modulated NIR Raman spectroscopy, J. Chaiken y otros, Proc. of SPIE optical Eng., 2001, vol. 4368, p.134-145) obtuvieron una correlación de solo 0,63 entre las mediciones basadas en Raman y las mediciones de glucosa en sangre por punción digital en varios individuos, pero pudieron obtener una correlación de 0,90 para un solo individuo. La configuración que utilizó Chaiken y otros comprende un haz de salida colimado y, por lo tanto, naturalmente no divulgan ninguna profundidad focal óptima.

35 El documento WO-A-2004/082474 divulga un aparato de análisis de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1, que incluye un aparato de análisis espectroscópico Raman que comprende un sistema de excitación para emitir un haz de excitación para excitar una región objetivo. Un sistema de monitoreo toma imágenes de la región objetivo. El sistema de monitoreo está dispuesto para producir una imagen de contraste en un rango de longitud de onda de contraste y producir una imagen de referencia en un rango de longitud de onda de referencia. La imagen de contraste y la imagen de referencia se comparan para identificar con precisión la región objetivo, en particular un vaso sanguíneo capilar en la piel de un paciente.

40 La presente invención proporciona ahora un aparato de acuerdo con la reivindicación 1, para la medición *in vivo* no invasiva de glucosa presente en el fluido intersticial en la piel de un sujeto mediante espectroscopía Raman.

45 El aparato puede incluir medios para calcular una concentración de glucosa en el fluido intersticial o sangre en base al análisis de dicha luz dispersada Raman. El espectro Raman se puede analizar mediante la aplicación al mismo de un modelo estadístico entrenado que relaciona las intensidades máximas con la concentración de glucosa. Esto se puede realizar utilizando la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) como se describe con más detalle en las referencias reconocidas por MA Arnold; In Vivo Near-Infrared Spectroscopy of Rat Skin Tissue with Varying Blood Glucose Levels; Anal. Chem. 2006, 78, 215-223 y en A. M. K. Enejder y otros; Raman Spectroscopy for Non-invasive Glucose Measurements; Jnl of Biomedical Optics, 10(3), 031114; Mayo/Junio 2005. Se pueden utilizar otras formas de calibración multivariante, que incluye el análisis de componentes principales (PCA) de manera análoga a la descrita, por ejemplo, en A. G. Ryder, G. M. Connor and T. J. Glynn; Quantitative Analysis of Cocaine in Solid Mixtures using Raman Spectroscopy and Chemometric Methods; Journal of Raman Spectroscopy, 31; 221-227 (2000) o en J. T. Olesberg, L. Liu, V. V. Zee, and M. A. Arnold; In Vivo Near-Infrared Spectroscopy of Rat Skin Tissue with Varying Blood Glucose Levels; Anal. Chem. 2006, 78, 215-223. En general, los procedimientos estadísticos de análisis de espectro útiles para calibrar la detección de analitos a partir de espectros de absorción también serán útiles en el análisis de espectros Raman.

50 Preferentemente, dicho porcentaje es al menos 55 %. Preferentemente también, al menos el 90 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades inferiores a 600 μm más allá de dicha

superficie distal del miembro de contacto con la piel. Por otro lado, preferentemente menos del 25 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades inferiores a 100 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel.

5 Preferentemente, al menos el 15 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades de 200 a 300 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel.

10 Dichos componentes ópticos que definen preferentemente una trayectoria de luz desde dicha fuente de luz a una ubicación de medición debajo de una superficie de piel enfocan preferentemente la luz que se emite desde dicha fuente de luz a una profundidad que se sitúa de 50 a 400 μm , más preferentemente de 200 (o 210) a 300 μm , por ejemplo 250 μm , debajo de la superficie de la piel.

15 En un aspecto en variante, la invención proporciona un aparato del tipo descrito para medir la concentración de glucosa en fluido intersticial, en el que dicha luz dispersada Raman que se recibe en dicha unidad de detección incluye al menos luz dispersada por glucosa.

20 El aparato de acuerdo con la invención puede comprender una pieza de mano para aplicación a la piel que contiene componentes que definen dicha ubicación de medición en uso, y una o más fibras ópticas que conectan dicha pieza de mano a dicha fuente de luz y a una unidad de procesamiento que contiene circuitos electrónicos para el análisis de señales que se reciben desde dicha unidad de detección de luz para proporcionar dicha medición desde allí.

25 La posición distal del miembro de contacto con la piel de dicha ubicación de medición es opcionalmente ajustable y se puede ajustar para que sea de 60 a 400 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel o se puede ajustar para que sea de 50 a 400 μm , más preferentemente 200 (o 210) a 300 μm , debajo de la superficie de la piel. Alternativamente, sin embargo, la posición distal del miembro de contacto con la piel de dicha ubicación de medición es fija, de manera adecuada de modo que se logren los parámetros numéricos descritos anteriormente.

30 Por lo tanto, la profundidad de foco de los componentes ópticos que definen dicho camino de luz, y/o los componentes ópticos que definen dicho camino de retorno se pueden fijar en lugar de ajustar.

35 La invención incluye un procedimiento para la medición in vivo no invasiva de glucosa presente en el líquido intersticial en la piel de un sujeto, mediante espectroscopía Raman, que comprende dirigir la luz desde una fuente de luz hacia la piel de dicho sujeto a través de componentes ópticos que definen un camino de luz desde dicha fuente de luz a una ubicación de medición en la piel, que recibe luz dispersada Raman desde la piel en una unidad de detección de luz a través de componentes ópticos que definen un camino de retorno para la luz dispersada Raman desde dicha ubicación de medición a dicha unidad de detección de luz, mientras se usa un miembro de contacto con la piel que tiene una superficie distal para definir la posición de dichos componentes ópticos que definen una trayectoria de retorno con respecto a una superficie de dicha piel en uso, y en el que dichos componentes ópticos que definen un camino de retorno para la luz dispersada Raman transmiten selectivamente a dicha unidad de detección de luz, la luz dispersa desde cerca de dicha ubicación de medición de modo que al menos el 50 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades de 60 a 400 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel. El procedimiento se realiza preferentemente usando un aparato de acuerdo con la invención.

45 El procedimiento puede incluir calibrar la salida del aparato mediante el uso del aparato para proporcionar una salida con respecto a una concentración de glucosa que se conoce antes de dicha medición en dicho sujeto. Una vez calibrado, el aparato preferentemente no se calibra nuevamente por un período de no menos de una semana, más preferentemente un mes. Preferentemente, dicha etapa de calibración de proporcionar una salida con respecto a una concentración de glucosa que se conoce no se lleva a cabo mediante el uso del aparato en dicho sujeto.

50 Por lo tanto, la calibración se puede llevar a cabo en un sujeto diferente para el que se conoce una concentración de glucosa en sangre o se puede llevar a cabo utilizando un material de referencia estándar como una gota de solución de glucosa que se coloca en el lugar de medición o un fantasma sólido que simula una solución de glucosa.

55 Cualquier aparato que se describe en la presente memoria se puede usar en dicho procedimiento.

60 La invención incluye además una pieza de mano para su uso en un aparato de acuerdo con la reivindicación 1, dicha pieza de mano contiene componentes ópticos que definen una trayectoria de luz para la luz que se recibe en dicha pieza de mano desde una fuente de luz para comunicar dicha luz a un lugar de medición, componentes ópticos que definen una trayectoria de retorno para la luz dispersada Raman desde dicha ubicación de medición y para comunicar dicha luz dispersada Raman a una unidad de detección de luz remota, y un miembro de contacto con la piel que tiene una superficie distal para definir la posición de dichos componentes ópticos que definen la trayectoria de retorno con respecto a una superficie de dicha piel en uso, y en el que dichos componentes ópticos que definen una trayectoria de retorno para la luz dispersada Raman reciben selectivamente para la comunicación a dicha unidad de detección de luz, la luz dispersa desde cerca de dicho lugar de medición de manera que al menos el 50 % de la luz dispersada Raman

que se recibe en la unidad de detección de luz se origina en profundidades de 60 a 400 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel.

La fuente de luz es preferentemente un láser. Una forma preferente de láser para su uso como fuente de luz es un láser de diodo con una longitud de onda en el rango de 300-1.500 nm. Las longitudes de onda preferentes adecuadas son 785, 830 u 850 nm. Un rango de potencia adecuado es de 50 a 1.000 mW. Por ejemplo, uno puede usar un láser FC-830 de 830 nm y 500 mW de RGB Lase.

El aparato puede incluir una sonda óptica para medir señales de luz en la que los componentes ópticos que definen la trayectoria de la luz desde la fuente de luz al lugar de medición comprenden una primera luz entrante que guía la fibra óptica desde dicha fuente de luz, una lente que enfoca dicha luz entrante, es decir dentro o sobre, el lugar de medición. Los componentes ópticos para definir una trayectoria de retorno para la luz dispersada Raman pueden comprender dicha lente y una porción distal de dicha primera fibra óptica que recoge la luz que se altera desde el lugar de medición y una segunda fibra óptica que guía la luz que se altera a la unidad de detección de luz. Sin embargo, en lugar de emplear una segunda fibra óptica como se describe, se puede integrar un espectrofotómetro directamente en la pieza de mano. Opcionalmente, puede haber una unidad de detección de luz adicional (o dispositivo de registro de luz) que mida las fluctuaciones de intensidad en dicha luz entrante, y esta unidad de detección de luz adicional se puede colocar ventajosamente después de dicha primera fibra óptica, por lo que dicha unidad de detección de luz adicional recibe una parte de dicha luz entrante de dicha primera fibra.

El uso de fibras ópticas es ventajoso porque, aunque se puede usar un microscopio, una sonda óptica basada en microscopio no es un objeto móvil y la parte del cuerpo del usuario sería incómoda de colocar en una posición en la que se pudieran realizar mediciones. Una posibilidad sería que el paciente inserte su brazo directamente debajo o por encima del objetivo del microscopio. Desafortunadamente, esto es engorroso, si no imposible, con la mayoría de los microscopios.

Una sonda óptica que no utiliza el microscopio completo, sino solo los objetivos del microscopio que se montan por separado en, por ejemplo, una mesa, permite una mayor accesibilidad entre la sonda y la muestra. Son más convenientes las mediciones de los niveles de azúcar en sangre en un paciente *in vivo* ya que el brazo o el dedo del paciente se pueden colocar frente a los objetivos del microscopio sin mucha dificultad. Sin embargo, si la muestra que se elige es una pierna, podría resultar más difícil colocarla de manera adecuada frente a los objetivos del microscopio.

Dentro de la sonda óptica, dicho dispositivo de registro de luz normalmente se colocará después de un espejo dicroico, lo que permite que una pequeña parte de la luz entrante pase a través del espejo dicroico y sobre dicho dispositivo de registro de luz o que se refleje por el espejo dicroico sobre dicho dispositivo de registro de luz. Alternativamente, se puede colocar un dispositivo de división entre dicha primera fibra y dicho espejo dicroico, donde dicho dispositivo de división refleja una pequeña parte de la luz entrante en dicho dispositivo de registro de luz.

Una ventaja de usar un dispositivo de registro de luz es que permite una medición precisa de las variaciones en la intensidad de la luz entrante en todo momento del material. Esto asegura que las variaciones en la intensidad de la luz que se altera debido a las variaciones en la luz entrante y no a las variaciones de la muestra se puedan compensar.

En una realización de la invención, dicha lente que enfoca la luz entrante hacia dicha muestra está dispuesta en la superficie de dicha sonda óptica de modo que dicha lente esté en contacto directo con la piel (213) durante la medición.

Una ventaja de tener la lente en contacto directo con la piel durante la medición es que la profundidad de penetración de la muestra y, por lo tanto, la distancia desde la sonda óptica hasta el punto de enfoque de la muestra, se conoce exactamente, ya que se define por la distancia focal de la lente.

En otra realización de la invención, dicha sonda óptica comprende además una ventana, donde dicha ventana se coloca entre dicha lente y la piel, de modo que dicha ventana está en contacto directo con la piel durante la medición, y donde el grosor de dicha ventana es más pequeño que la distancia focal de dicha lente.

Una ventaja al insertar una ventana entre la lente y la piel es que puede proporcionar una limpieza más fácil de la sonda óptica, si se usa una lente frágil sensible a la limpieza.

Otra ventaja al insertar una ventana entre la lente y la piel es que la profundidad de penetración puede variar dependiendo del grosor de la ventana. Esto proporciona una forma de establecer la profundidad de penetración en el valor que caracteriza la invención.

Igualmente, en lugar de tener una ventana sólida, se puede proporcionar una abertura de ventana entre la lente y la piel, se forma la abertura en el miembro de contacto de la piel.

La sonda óptica de acuerdo con la invención, puede comprender además un espejo dicroico colocado después de dicha primera fibra óptica, donde dicho espejo dicroico refleja cualquier porcentaje entre $re_{in} = 0$ y 100 (por ejemplo, 90 %) y transmite cualquier porcentaje entre $tr_{in} = 0$ y 100 (por ejemplo, 10 %) de dicha luz entrante, donde $re_{in} + tr_{in} = 100$ por ciento (ignorando las pérdidas), y refleja cualquier porcentaje entre $re_{se} = 0$ y 100 (por ejemplo, 30 %) y transmite

cualquier porcentaje entre $tr_se = 0$ y 100 (por ejemplo, 70 %) de dicha luz que se altera, donde $re_se + tr_se = 100$ por ciento (ignorando las pérdidas). Por lo tanto, dicho espejo dicroico puede reflejar la mayor parte de la luz entrante y transmite la mayor parte de la luz que se altera.

5 Dicho espejo dicroico se coloca normalmente en un ángulo de 45 grados en relación con la dirección de propagación de dicha luz entrante desde dicha primera fibra óptica.

10 En una realización en la que la mayor parte de la luz entrante se refleja mediante el espejo dicroico, dicho dispositivo de registro de luz se puede colocar después de dicho espejo dicroico, por lo que dicho dispositivo de registro de luz mide las fluctuaciones de intensidad de dicha luz entrante y se transmite a través de dicho espejo dicroico.

15 En otra realización donde la mayor parte de la luz entrante se refleja mediante el espejo dicroico, se puede colocar un dispositivo de división entre dicha primera fibra óptica y dicho espejo dicroico, por lo que dicho dispositivo de registro de luz mide las fluctuaciones de intensidad de dicha luz entrante que se refleja por dicho dispositivo de división.

En una realización de la invención, dicho espejo dicroico transmite la mayor parte (por ejemplo, ≥ 90 %) de la luz entrante al pasar una porción menor (por ejemplo, ≤ 10 %) y se refleja la mayor parte de la luz que se altera (por ejemplo, ≥ 70 %) al pasar una cantidad menor (por ejemplo, ≤ 30 %).

20 En una realización donde la mayor parte de la luz entrante se transmite por el espejo dicroico, dicho dispositivo de registro de luz se puede colocar después de dicho espejo dicroico, por lo que dicho dispositivo de registro de luz mide las fluctuaciones de intensidad de dicha luz entrante y se refleja por dicho espejo dicroico.

25 Una ventaja de tener el dispositivo de registro de luz situado directamente después de dicho espejo dicroico es que utiliza la parte de la luz entrante, que no se refleja en el espejo dicroico, y de lo contrario se perdería. Por consiguiente, no es necesario insertar ningún componente óptico adicional dentro de la sonda óptica para recoger la luz y medir las fluctuaciones de la luz entrante.

30 En una realización de la invención, el ángulo α entre la dirección (239) de la luz fuera de dicha primera fibra óptica (203) y la dirección (241) de la luz entrante en dicha segunda fibra óptica (227) es sustancialmente $\alpha = 90$ grados El ángulo también podría estar en el rango $\alpha = 80 - 100$ grados.

35 En una realización de la invención, dicha sonda óptica comprende además al menos una primera abertura donde dicha primera abertura solo permite que la luz que se altera desde el punto de enfoque en la piel entre en dicha segunda fibra y asegura así una imagen confocal, y donde se coloca dicha primera abertura inmediatamente delante de dicha segunda fibra. Dicha abertura puede ser un elemento separado, pero puede funcionar igualmente bien como dicha abertura, una abertura estrecha de dicha segunda fibra.

40 Una ventaja de usar una abertura óptica que se coloca antes de la segunda fibra es que la abertura óptica funciona como un filtro de profundidad 3D que elimina las señales ópticas que se generan fuera del área confocal, es decir, el punto de enfoque de la muestra. La ventaja de usar una sonda óptica confocal es que la luz que se altera que ingresa a la segunda fibra surge únicamente de las interacciones entre la luz entrante y la piel en el punto focal; por lo tanto, las contribuciones de las áreas en forma de cono arriba y debajo del punto focal se minimizan o eliminan.

45 En otra realización de la invención, se pueden emplear adicionalmente una o más aberturas para obtener una imagen de profundidad 3D más nítida. Una segunda abertura se coloca preferentemente entre la piel y la lente que enfoca la luz en la muestra. Esta segunda abertura puede ser un elemento separado, pero una abertura estrecha de la sonda óptica en el punto donde la luz sale/ se recoge por la lente puede funcionar igualmente como una abertura.

50 Aunque el aparato de acuerdo con la invención se diseñó y configuró para medir señales ópticas en la piel *in vivo*, también se podría emplear para medir señales ópticas mediante inmersión, por ejemplo, en una muestra de sangre, para hacer así la medición *in vitro*.

55 En general, los elementos ópticos que se encuentran dentro de una sonda óptica del aparato de acuerdo con la presente invención están encerrados por una cubierta. Una sonda óptica preferente se puede mover libremente debido al uso de fibras flexibles que guían la luz dentro y fuera de la sonda óptica. Esto permite medir fácilmente *in vivo*, por ejemplo, los niveles de azúcar en sangre en un paciente utilizando diferentes áreas del cuerpo, como un brazo, un dedo, una pierna o similar. Sin embargo, el aparato se puede construir de modo que los componentes ópticos estén contenidos en una carcasa que define una ubicación específica en la que se puede colocar la yema del dedo para realizar la medición. El grosor del estrato córneo de la yema de un dedo será típicamente de 10-40 μm (véase Marks, James G; Miller, Jeffery (2006). Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology (4th ed.). Elsevier Inc. Page 7. ISBN 1-4160-3185-5 y Thickness of the Stratum Corneum of the Volar Fingertips H. FRUHSTORFER, U. ABEL, C.-D. GARTHE, AND A. KNU" TTEL. En consecuencia, las profundidades de medición preferentes de 200-300 μm serán de 160 a 190 μm hasta 260 a 290 μm por debajo del estrato córneo. Las profundidades de medición para todas las áreas de la piel son preferentemente de 50 a 390 μm , más preferiblemente de 190 a 290 μm debajo del estrato córneo.

Una aplicación principal del aparato es generalmente medir los niveles de azúcar en sangre en un paciente. El nivel de glucosa en sangre se correlaciona con el nivel en líquido intersticial a la profundidad seleccionada.

Breve descripción de las figuras

- 5 La invención se ilustra y describe, además, mediante la referencia a los dibujos adjuntos descritos en los que:
 La Figura 1 muestra esquemáticamente un aparato de acuerdo con la invención.
 La Figura 2 muestra una primera realización de una sonda óptica que forma parte del aparato de la Figura 1.
 La figura 3 muestra una segunda realización de una sonda óptica que forma parte del aparato de la Figura 1.
 La Figura 4 muestra una tercera realización de una sonda óptica que forma parte del aparato de la Figura 1.
 10 La Figura 5 muestra la distribución de profundidad de la dispersión Raman que se encontró y usó a una profundidad de enfoque de acuerdo con la invención.
 La Figura 6 muestra la distribución de profundidad de la dispersión Raman que usa una profundidad de enfoque que es demasiado grande.
 La Figura 7 muestra la distribución de profundidad de la dispersión Raman que usa una profundidad de enfoque que
 15 es demasiado pequeña.
 La Figura 8 muestra las mediciones de glucosa previstas que se obtuvieron de acuerdo con la invención y los niveles reales de glucosa en sangre.
 La Figura 9 muestra las mediciones de glucosa predichas que se obtuvieron usando una profundidad de enfoque que es demasiado grande y los niveles de glucosa en sangre reales.

Descripción de las realizaciones preferentes

25 La Figura 1 muestra esquemáticamente un aparato de acuerdo con la invención en uso para medir la concentración de glucosa (u otra sustancia de la piel) *in vivo*. Una sonda óptica 101 recibe luz de una fuente de luz 103 a través de una primera fibra 105. En esta realización de la invención, la fuente de luz 103 es un láser. La luz entrante se ilumina e interactúa con la piel 107. La luz alterada que se recibe desde la piel, se recoge por la sonda óptica 101 y se envía a través de una segunda fibra 109 a un espectrómetro 111 que se conecta a un ordenador 113 para el análisis posterior de los componentes espectrales. Dentro del espectrofotómetro 111 hay una unidad de detección de luz.
 30 Alternativamente, por supuesto, la función del espectrofotómetro se podría integrar en la pieza de mano y las señales electrónicas correspondientes que representan la información espectral se pueden enviar desde allí al ordenador.

En esta realización de la invención, la sonda óptica se aplica al brazo de un paciente, pero también se podría aplicar a un dedo u otra parte del cuerpo. Asimismo, la medición se muestra como realizada *in vivo*, pero la sonda óptica 101 también se podría emplear para medir señales ópticas mediante inmersión, por ejemplo, en una muestra de sangre,
 35 para hacer así la medición *in vitro*.

En general, los elementos ópticos que se encontraron dentro de la sonda óptica 101 del aparato de acuerdo con la presente invención están encerrados por una cubierta, donde la cubierta tiene al menos una abertura para las dos fibras 105 y 109 y una abertura para la luz que se emplea para iluminar la muestra. La última abertura también se puede
 40 utilizar para recoger la luz que se altera de la muestra. La sonda óptica 101 se puede mover libremente debido al uso de fibras flexibles para guiar la luz dentro y fuera de la sonda óptica. Esto permite medir fácilmente *in vivo*, por ejemplo, los niveles de azúcar en sangre en un paciente utilizando diferentes áreas del cuerpo, como un brazo, un dedo, una pierna o similar.

45 Una aplicación principal de la sonda óptica 101 es medir los niveles de azúcar en sangre en un paciente. Sin embargo, la sonda también se puede usar para medir, por ejemplo, el nivel de hemoglobina, colesterol, alcohol y/o fármaco en la sangre o la temperatura y/o variaciones de la temperatura en la sangre.

50 La Figura 2 muestra una primera realización de la sonda óptica 201 que comprende una primera fibra óptica 203 para guiar la luz dentro de la sonda óptica 201. De acuerdo con esta realización de la invención, la fuente de luz es normalmente un láser. Al salir de la primera fibra 203, la luz entrante 205 se colima usando una primera lente 207 y se filtra ópticamente mediante el paso a través de un primer filtro 209 que bloquea cualquier porcentaje entre 0 y 100 de frecuencias/longitudes de onda fuera de la frecuencia/longitud de onda del láser. El bloqueo de frecuencias fuera de la frecuencia del láser asegura que, por ejemplo, la dispersión Raman que se genera dentro de la primera fibra 203 se elimine de la luz entrante 205. El primer filtro 209 también puede bloquear cualquier porcentaje entre 0 y 100 de la frecuencia del láser. Esto es una ventaja si la intensidad de la luz entrante 205 es demasiado alta para los requisitos de la muestra. El primer filtro 209 es preferentemente un filtro de paso de banda, un filtro de muesca, un filtro de borde o similar.

60 La sonda óptica 201 comprende además un espejo dicroico 211 que refleja o transmite cualquier porcentaje entre 0 y 100 de la luz, donde el porcentaje de luz que se refleja y transmite depende del recubrimiento en el espejo dicroico 211, el ángulo en el que la luz golpea el espejo dicroico 211, y la frecuencia de la luz. El espejo dicroico 211 se puede recubrir, por ejemplo, de modo que refleje el porcentaje más alto de la luz entrante 205 cuando el espejo dicroico 211 se coloca en un ángulo dado en relación con la dirección de la luz entrante 205. Cambiar el ángulo entre el espejo dicroico
 65 205 y la luz entrante 205 reducirá, por lo tanto, el porcentaje de luz entrante 205 que se refleja mediante el espejo dicroico 211.

5 En esta realización de la invención, la mayor parte de la luz entrante 205 se refleja mediante el espejo dicroico 211 y se enfoca dentro de la piel 213 de un sujeto mediante una segunda lente 215. El punto de enfoque 217 de la luz entrante 205 se define por la distancia focal 218 de la segunda lente 215 y la distancia distal de la lente de una ventana 219 y en particular su superficie distal que se aplica a la piel en uso. La segunda lente 215 es preferentemente convexa, pero también podría ser esférica o plana.

10 El espejo dicroico 211 se coloca, en la realización actual, en un ángulo de 45 ° en relación con la dirección de propagación de la luz entrante 205. La mayor parte de la luz entrante 205 se refleja en consecuencia en un ángulo de 90 °. El espejo dicroico 211 también se podría colocar en un ángulo entre 0 - 90 °.

15 En una realización de la invención, el porcentaje de la luz entrante 205 que se refleja (re_{in}) y se transmite (tr_{in}) por el espejo dicroico 211 es $re_{in} \geq 90\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$ y $tr_{in} \leq 10\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$.

20 En otra realización de la invención, el porcentaje de la luz entrante 205 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 211 es $re_{in} \geq 98\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$ y $tr_{in} \leq 2\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$, respectivamente.

25 La sonda óptica que se ilustra 201 comprende además una ventana delgada 219, que se coloca entre la segunda lente 215 y la piel 213. El grosor de la ventana 219 es más pequeño que la distancia focal de la segunda lente 215, es decir, más pequeño que la distancia desde la segunda lente 215 hasta el punto de enfoque 217 dentro de la piel 213. La ventana 219 puede servir para proteger la segunda lente 215 y esto permite así una fácil limpieza de la sonda óptica 201 después de que ha estado en contacto con la piel 213. La ventana 219 actúa como un miembro de contacto con la piel y la distancia desde la superficie de contacto con la piel del mismo hasta el punto focal de la lente 215 determina la profundidad 220 debajo de la superficie de la piel en la que se generan las señales Raman. Esto se establece idealmente de modo que la mayor parte de la intensidad de la luz láser se enfoque a 250 μm debajo de la superficie de la piel. Si se desea que el aparato se pueda adaptar para otros usos, se pueden prever la instalación de ventanas 219 de diferentes espesores, se altera así la profundidad de penetración de la muestra 220. Las profundidades de penetración de la muestra alternativa típica 220 están en el rango entre 150 a 500 μm y depende de la longitud focal 218 de la segunda lente 215 y el grosor de la ventana 219. También se pueden obtener profundidades de penetración más cortas y más largas 220.

30 En otra realización de la invención, no hay ventana, y la segunda lente 215 está en contacto directo con la piel 213. La longitud focal de la lente para la luz que pasa a través de la piel será idealmente de 200 - 300 μm. Nuevamente, si se desea que el aparato se pueda adaptar también para otros usos, la lente se puede reemplazar con lentes de otras distancias focales.

35 Además de enfocar la luz entrante 205 en la piel 213, la segunda lente 215 colima la luz que se altera 221 desde el punto de enfoque 217. En la realización actual, el espejo dicroico 211 transmite la mayoría de la luz que se altera 221, pero refleja la retrodispersión de la luz entrante 205. Esto filtra las frecuencias no deseadas, es decir, la frecuencia de la luz entrante 205 que se refleja hacia atrás, a partir de la luz que se altera 221 que se genera como resultado de las interacciones con la piel 213.

40 En una realización de la invención, el porcentaje de la luz que se altera 221 que se refleja (re_{se}) y se transmite (tr_{se}) por el espejo dicroico 211 es $re_{se} \leq 30\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$ y $tr_{se} \geq 70\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$, respectivamente.

45 En otra realización de la invención, el porcentaje de la luz que se altera 221 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 211 es $re_{se} \leq 10\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$ y $tr_{se} \geq 90\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$, respectivamente.

50 La luz que se altera 221 se filtra adicionalmente ópticamente pasando a través de un segundo filtro 223 antes de que se enfoque la luz por una tercera lente 225 en una segunda fibra 227. El segundo filtro 223 es preferentemente un filtro de paso de banda, un filtro de muesca, un filtro de borde o similar y se caracteriza por transmitir cualquier porcentaje entre 0 y 100 de la luz que se altera 221 que se recoge por la segunda lente 215 y por bloquear cualquier porcentaje entre 0 y 100 de frecuencias cercanas o iguales a la frecuencia de la luz entrante. Esto puede, por ejemplo, asegurar que el porcentaje que no se desea de la dispersión de Rayleigh que pasa a través del segundo filtro 223 sea despreciable al mismo tiempo que se permite que pase casi toda la luz dispersada Raman desde la piel 213.

55 Al medir la emisión, como la fluorescencia, puede ser interesante reducir la intensidad de la luz que llega a un dispositivo de detección, para evitar la saturación y/o daños al dispositivo de detección. Para lograr esto, se puede emplear un segundo filtro 223, que permite que pase menos del 100 % de la emisión.

60 En esta realización de la invención, el espejo dicroico 211 no refleja toda la luz del láser que entra 205. En cambio, permite que una fracción más pequeña de la luz 229 pase a través del espejo dicroico 211 y dentro de un dispositivo de registro de luz 231, que detecta la intensidad y/o potencia de la luz 229 después de pasar a través del espejo dicroico 211. El dispositivo de registro de luz 231 puede ser un fotodiodo, un detector CCD, un transistor térmico o una fibra que guía a dicho dispositivo, o similar.

Una ventaja de usar un dispositivo de registro de luz 231 es que permite una medición precisa de las variaciones en la intensidad de la luz entrante en todo momento. Esto asegura que las variaciones en la intensidad de la luz que se altera 221 debido a la desviación en la intensidad de la luz láser se puedan compensar para evitar variaciones aparentes de la concentración de glucosa que de otro modo serían la causa de las variaciones en la intensidad de la luz entrante. La señal que se registra por la unidad de detección de luz en el espectrofotómetro se normaliza utilizando el valor que se midió de la intensidad de la luz primaria. La normalización se puede hacer en el programa cuando se analizan los datos y no en tiempo real.

Incorporar el dispositivo de registro de luz 231 en la sonda óptica 201 y colocarlo después de acoplar la luz entrante 205 de la primera fibra 203 es una clara ventaja, ya que el proceso de acoplar la luz láser en una fibra es bastante sensible tanto el ángulo en que la luz láser se enfoca dentro la fibra y la distancia entre el punto de enfoque de la lente, que enfoca el láser en la fibra y la fibra misma. Por lo tanto, las variaciones en la intensidad de la luz que sale de la fibra variarán como resultado de la eficiencia por la cual la luz láser se acopla a la fibra. El uso de un dispositivo de registro de luz que se coloca entre el láser y la fibra como se describió anteriormente en las patentes/artículos, por lo tanto, no dará una medida precisa de las variaciones de intensidad de la luz que se enfoca en la piel. Sin embargo, medir la variación en la intensidad de luz entrante en la fuente de luz o en cualquier punto entre la fuente de luz y la piel está dentro de la invención en esta y otras realizaciones.

Además de los elementos ópticos descritos anteriormente, la sonda óptica 201 también puede estar equipada con al menos una primera abertura óptica 233 que se coloca antes de la segunda fibra 227. La primera abertura óptica 233 funciona como un filtro de profundidad 3D que elimina las señales ópticas que se generan fuera del área confocal, es decir, el punto de enfoque 217. La ventaja de usar una sonda óptica confocal es que la luz que se altera 221 que ingresa a la segunda fibra 227 surge únicamente de las interacciones entre la luz entrante 205 y la piel 213 en el punto focal 217; por lo tanto, se eliminan las contribuciones de las áreas en forma de cono por encima y por debajo del punto focal 217.

De acuerdo con esta primera realización de la invención, la primera abertura 233 se muestra como un elemento separado. Sin embargo, una abertura estrecha de la segunda fibra 227 puede funcionar igualmente bien como una primera abertura 233.

Además de la primera abertura 233, se pueden emplear una o más aberturas para obtener una imagen de profundidad 3D más nítida. Una segunda abertura 235 se coloca preferiblemente entre la segunda lente 215 y la piel 213. En una realización preferente, donde no hay ventana 219 y la segunda lente 215 es convexa, la segunda lente 215 seguirá en contacto directo con la piel 213 incluso con la segunda abertura delgada 235 que se coloca entre la piel 213 y la segunda lente 215.

En la realización presente de la invención, la segunda abertura 235 se muestra como un elemento separado. Sin embargo, una abertura estrecha de la sonda óptica 201 en el punto donde la luz sale/se recoge por la segunda lente 215 puede funcionar igualmente bien como una segunda abertura 235.

Una tercera abertura 237 se puede colocar preferentemente justo antes de la tercera lente 225 como se muestra en la figura actual. Esto puede mejorar aún más la imagen de profundidad 3D.

Las dos fibras 203 y 227 normalmente se disponen de manera que la dirección 239 de la luz que sale de la primera fibra 203 y la dirección 241 de la luz entrante en la segunda fibra 227 están en un ángulo de $\alpha = 90^\circ$ en relación el uno con el otro. También se pueden encontrar disposiciones alternativas de las dos fibras 203 y 227 y, en consecuencia, la dirección de la luz que sale/entra (239 y 241, respectivamente), producen un ángulo $\alpha \neq 90^\circ$.

Las dos fibras 203 y 227 son preferentemente fibras multimodo, pero también podrían ser fibras monomodo.

La Figura 3 muestra una segunda realización de la invención, donde la sonda óptica 301 comprende una primera fibra óptica 203 para guiar la luz dentro de la sonda óptica 301, una primera lente 207 para colimar la luz entrante 205, un primer filtro 209 que bloquea cualquier porcentaje entre 0 y 100 de frecuencias fuera de la frecuencia de la luz entrante, una segunda lente 215 que enfoca la luz entrante 205 en y para recoger la luz que se altera 221 de la piel 213, un segundo filtro 223 para filtrar ópticamente la luz que se altera 221, una tercera lente 225 para enfocar la luz que se altera 221 en una segunda fibra óptica 227, y un dispositivo de registro de luz 231, que detecta variaciones de intensidad en la luz entrante.

Las dos fibras 203 y 227 son preferentemente fibras multimodo, pero también podrían ser fibras monomodo. Las dos fibras 203 y 227 se disponen normalmente de manera que la dirección de la luz que sale de la primera fibra 203 y la dirección de la luz entrante en la segunda fibra 227 son perpendiculares entre sí. También se pueden encontrar disposiciones alternativas de las dos fibras 203 y 227 y, en consecuencia, la dirección de la luz que sale/entra.

Los dos filtros 209 y 223 son normalmente un filtro de paso de banda, un filtro de muesca, un filtro de borde o similar. La segunda lente 215 es preferentemente convexa, pero también podría ser esférica o plana.

La sonda óptica 301 comprende además un espejo dicroico 303 que refleja o transmite cualquier porcentaje entre 0 y 100 de la luz. El espejo dicroico 303 se coloca, en la realización actual, en un ángulo de 45 ° en relación con la dirección de propagación de la luz entrante 205, pero además, también se podría colocar en un ángulo entre 0 y 90 °.

- 5 De acuerdo con la segunda realización de la invención, el espejo dicroico 303 permite que la mayoría de la luz entrante 205 pase a través del espejo dicroico 303 y refleje solo una parte más pequeña 229 de la luz entrante que es detectada por el dispositivo de registro de luz 231. La luz que se altera 221 se refleja por el espejo dicroico 303 en un ángulo aproximado de 90 grados.
- 10 En una realización de la invención, el porcentaje de la luz entrante 205 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 303 es $re_{in} \leq 30\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$ y $tr_{in} \geq 70\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$, respectivamente, y el porcentaje de la luz que se altera 221 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 303 es $re_{se} \geq 70\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$ y $tr_{se} \leq 30\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$, respectivamente.
- 15 En otra realización de la invención, el porcentaje de la luz entrante 205 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 303 es $re_{in} \leq 10\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$ y $tr_{in} \geq 90\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$, respectivamente, y el porcentaje de la luz que se altera 221 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 303 es $re_{se} \geq 90\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$ y $tr_{se} \leq 10\%$ de $(re_{se} + tr_{se})$, respectivamente.
- 20 La sonda óptica 301 puede comprender además opcionalmente una ventana delgada 219 que constituye un miembro de contacto con la piel, que se coloca entre la segunda lente 215 y la piel 213, una primera abertura óptica 233, la segunda abertura 235 que normalmente se coloca entre la segunda lente 215 y la piel 213, y una tercera abertura 237 que normalmente se coloca justo antes de la tercera lente 225. De acuerdo con esta segunda realización de la invención, las aberturas 233 y 235 se muestran como un elemento separado. Sin embargo, una abertura estrecha de la segunda fibra 227 puede funcionar igualmente bien como una primera abertura 233 y una abertura estrecha de la sonda óptica 301 en el punto donde la luz sale/se recoge por la segunda lente 215 puede funcionar igualmente bien como una primera abertura 233.
- 25 La profundidad de penetración de la piel 220 se ajusta nuevamente idealmente a 200 (o 210) - 300 μm. Además, se puede ajustar para otros usos y, de nuevo, las profundidades de penetración de la muestra típicas 220 están en el rango entre 1/10 - 3 mm, dependiendo de la distancia focal 218 de la segunda lente 215 y el grosor de la ventana 219, si tal es parte de la sonda óptica 301. También se pueden obtener profundidades de penetración más cortas y más largas 220.
- 30 Las ventajas con la sonda óptica 301 son las mismas que las que se describen en relación con la sonda óptica 201 que se muestra en la Figura 2.
- 35 La Figura 4 muestra una tercera realización de la invención, donde la sonda óptica 401 comprende una primera fibra óptica 203 para guiar la luz dentro de la sonda óptica 301, una primera lente 207 para colimar la luz entrante 205, un primer filtro 209 que bloquea cualquier porcentaje entre 0 y 100 de frecuencias fuera de la frecuencia de la luz entrante, una segunda lente 215 que enfoca la luz entrante 205 en y para recoger la luz que se altera 221 de la piel 213, un segundo filtro 223 para filtrar ópticamente la luz que se altera 221, una tercera lente 225 para enfocar la luz que se altera 221 en una segunda fibra óptica 227, y un dispositivo de registro de luz 231, que detecta variaciones de intensidad en la luz entrante.
- 40 Las dos fibras 203 y 227 son preferentemente fibras multimodo, pero también podrían ser fibras monomodo. Las dos fibras 203 y 227 se disponen normalmente de manera que la dirección de la luz que sale de la primera fibra 203 y la dirección de la luz entrante en la segunda fibra 227 son perpendiculares entre sí. También se pueden encontrar disposiciones alternativas de las dos fibras 203 y 227 y, en consecuencia, la dirección de la luz que sale/entra.
- 45 Los dos filtros 209 y 223 son normalmente un filtro de paso de banda, un filtro de muesca, un filtro de borde o similar. La segunda lente 215 es preferentemente convexa, pero también podría ser esférica o plana.
- 50 La sonda óptica 401 comprende además un espejo dicroico 403 que refleja o transmite cualquier porcentaje entre 0 y 100 de la luz. El espejo dicroico 403 se coloca, en la realización actual, en un ángulo de 45 ° en relación con la dirección de propagación de la luz entrante 205, pero además, también se podría colocar en un ángulo entre 0 y 90 °.
- 55 De acuerdo con la tercera realización de la invención, el espejo dicroico 403 refleja la mayoría de la luz entrante 205 en un ángulo de 90 grados sobre la piel 213 y permite que pase la luz que se altera 221. Por el contrario de la primera y la segunda realizaciones, la parte más pequeña 229 de la luz entrante, que se usa para el registro de la luz, no se recoge después de pasar o ser reflejada por el espejo dicroico 403. En cambio, un dispositivo de división óptica 405 que se coloca entre el primer filtro 209 y el espejo dicroico 403 se emplea para dirigir una fracción más pequeña 229 de la luz entrante sobre el dispositivo de registro de luz 231. El dispositivo de división 405 puede ser un divisor de haz, un espejo dicroico que permite que la mayor parte de la luz entrante pase a través de, un filtro de densidad baja o similar.
- 60 En una realización de la invención, el porcentaje de la luz entrante 205 que se refleja y se transmite por el espejo dicroico 403 es $re_{in} \geq 90\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$ y $tr_{in} \leq 10\%$ de $(re_{in} + tr_{in})$, respectivamente, y el porcentaje de la luz
- 65

que se altera 221 que se refleja y transmite por el espejo dicroico 403 es $re_se \leq 10\%$ de $(re_se + tr_se)$ y $tr_se \geq 90\%$ de $(re_se + tr_se)$, respectivamente.

5 La sonda óptica 401 puede comprender además opcionalmente una ventana delgada 219, que se coloca entre la segunda lente 215 y la piel 213, una primera abertura óptica 233, la segunda abertura 235 normalmente se coloca entre la segunda lente 215 y la piel 213, y una tercera abertura 237 normalmente se coloca justo antes de la tercera lente 225. De acuerdo con esta segunda realización de la invención, las aberturas 233 y 235 se muestran como un elemento separado. Sin embargo, una abertura estrecha de la segunda fibra 227 puede funcionar igualmente bien como una primera abertura 233 y una abertura estrecha de la sonda óptica 201 en el punto donde la luz sale/se recoge por la segunda lente 215 puede funcionar igualmente bien como una primera abertura 233.

15 Las profundidades de penetración de la muestra típica 220 están en el rango entre 1/10 - 3 mm dependiendo de la longitud focal 218 de la segunda lente 215 y el grosor de la ventana 219, si tal es parte de la sonda óptica 401. También se pueden obtener profundidades de penetración más cortas y más largas 220.

Las ventajas con la sonda óptica 401 son las mismas que las que se describen en relación con la sonda óptica 201 que se muestra en la Figura 2.

20 Las sondas ópticas 201, 301 y 401 se construyen de tal manera que los elementos ópticos en el interior se colocan muy cerca unos de otros, y las figuras. 2 - 4 son solo ilustraciones y no muestran las distancias precisas entre los diferentes elementos ópticos.

25 Una ventaja de colocar los elementos ópticos dentro de la sonda óptica lo más cerca posible es que esta característica mejora tanto la intensidad de la luz entrante en el punto de enfoque de la muestra como la eficiencia por la cual se recoge la luz que se altera, ya que los efectos de la difracción de la luz entrante y/o la luz que se altera disminuye.

Ejemplos

30 El aparato como se ha descrito anteriormente con referencia a la Figura 2 se ajustó para enfocar su salida de luz a una profundidad de aproximadamente 250 μm más allá de la superficie de una muestra de poliestireno a la que se aplicó la ventana 219. La FFigura 5 muestra un perfil de profundidad del origen de la luz dispersada Raman que se recibe en el detector. Se puede observar que la mayor intensidad de señal se deriva de la profundidad a la que se enfocó la luz. Aproximadamente el 15 % de la señal que se recibe se origina entre 200 y 300 μm más allá de la superficie y algo más del 60 % de la señal que se recupera se origina entre 60 y 400 μm más allá de la superficie. Los perfiles de profundidad se midieron usando un material de poliestireno transparente delgado (aproximadamente 200-220 μm). La lente del aparato se coloca directamente contra esta para recolectar señales desde una profundidad de 0 y el material se mueve progresivamente de la lente en pasos de 50 μm para recolectar señales Raman desde distancias mayores. Los perfiles de profundidad se calculan como el área integrada de los picos de poliestireno - línea base corregida. Los perfiles de profundidad se trazan como una versión normalizada del área de señal Raman que se integra para cada paso.

40 Más del 90 % de la señal que se recibe se origina a partir de una profundidad de menos de 600 μm . Mientras que menos del 20 % de la señal se origina en profundidades de menos de 100 μm .

45 A modo de comparación, el aparato se ajustó para enfocar la luz que se aplica a una profundidad de aproximadamente 750 μm por debajo de la superficie y se obtuvo un perfil de profundidad correspondiente que se muestra en la Figura 6. El aparato se ajustó más para enfocar la luz que se aplica inmediatamente por debajo de la superficie y se obtuvo un perfil de profundidad correspondiente que se muestra en la Figura 7.

50 El aparato ajustado en cada una de estas tres formas se utilizó para realizar las mediciones de glucosa en voluntarios. Se descubrió que no era posible realizar mediciones con el foco puesto en la superficie ya que esto causó una sensación de ardor desagradable.

55 Un gráfico de lecturas que se obtuvo con una profundidad de foco de 250 μm de acuerdo con la invención se muestra en la Figura 8, mientras que las lecturas que se obtuvieron a una profundidad de foco de 750 μm se muestran en la Figura 9.

60 Se realizaron de 4-6 mediciones ópticas secuenciales en cada paciente. Estos se trazan en el eje vertical como valores de glucosa predichos contra las mediciones correspondientes del nivel de glucosa real en el eje horizontal y se mide con el medidor Hemocue 201+ como referencia.

El dispositivo se calibró para un conjunto de pacientes y se mantuvo la misma calibración para todos los pacientes posteriores.

65 Una comparación de las Figuras 8 y 9 muestra que la correlación que se obtuvo a 250 μm es muy superior. Además, mientras que la expectativa normal con un aparato para medir los niveles de glucosa a través de la piel es que el aparato necesitará una calibración externa para cada paciente contra un nivel de glucosa que se mide

independientemente, por ejemplo, mediante análisis químico de sangre, aquí se encontró que la calibración que se realizó a un grupo de pacientes se puede aplicar a otro conjunto de pacientes y permanecerá bien durante varios días, semanas o meses. De hecho, a menos que se altere alguna parte del aparato, la calibración debe permanecer buena indefinidamente. Por lo tanto, la invención proporciona una mejor retención de la calibración correcta y la transferibilidad de la calibración entre sujetos individuales.

En esta memoria técnica, a menos que expresamente se indique lo contrario, la palabra "o" se utiliza en el sentido de un operador que devuelve un valor verdadero cuando una o ambas de las condiciones que se indican se cumple, en contraposición con el operador "o exclusivo" que requiere que sólo una de las condiciones se cumpla. La palabra "comprende" se utiliza en el sentido de "que incluye" y no en el sentido de "que consiste en". Todas las enseñanzas previas que se reconocen anteriormente se incorporan de esta manera por referencia. El no reconocimiento de cualquier documento que se publicó antes en la presente memoria debe tomarse como una admisión o una representación de que la enseñanza de la misma era de conocimiento general común en Australia o en cualquier otro lugar en la fecha de la misma.

Referencias

101: Sonda óptica
 103: Fuente de luz, por ejemplo, un láser
 105: Primera fibra
 107: Muestra, es decir, un brazo de los pacientes
 109: Segunda fibra
 111: Espectrómetro
 113: Ordenador

201: Sonda óptica de acuerdo con la primera realización
 203: Primera fibra
 205: Luz entrante
 207: Primera lente
 209: Primer filtro
 211: Espejo dicróico
 213: Muestra
 215: Segunda lente
 217: Punto de enfoque
 218: Distancia focal de la primera lente
 219: Ventana
 220: Profundidad de penetración
 221: Luz que se altera
 223: Segundo filtro
 225: Tercera lente
 227: Segunda fibra
 229: Parte menor de la luz entrante que se utiliza para el registro de la luz
 231: Dispositivo de registro de luz
 233: Primera abertura
 235: Segunda abertura
 237: Tercera abertura
 301: Sonda óptica de acuerdo con la segunda realización
 303: Espejo dicróico
 401: Sonda óptica de acuerdo con la tercera realización
 403: Espejo dicróico
 405: Dispositivo de división óptica

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un aparato de medición in vivo no invasiva mediante espectroscopía Raman de glucosa presente en el líquido intersticial en la piel de un sujeto (107), que comprende una fuente de luz (103), primeros componentes ópticos (101, 105) que definen una trayectoria de luz desde dicha fuente de luz (103) a una ubicación de medición por debajo de la superficie de la piel (107), una unidad de detección de luz (111), segundos componentes ópticos (101, 109) que definen una vía de retorno para la luz dispersada Raman desde dicha ubicación de medición (107) a dicha unidad de detección de luz (111),
10 y un miembro de contacto con la piel (101) que tiene una superficie distal para definir en uso la posición de dichos primer y segundo componentes ópticos con respecto a dicha superficie de dicha piel (107),
15 en el que dichos segundos componentes ópticos (101,109) que definen una vía de retorno para la luz dispersada Raman están adaptados para transmitir selectivamente a dicha unidad de detección de luz (111) la luz dispersa desde cerca de dicha ubicación de medición de manera que al menos el 50 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades de 60 a 400 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel (101),
20 y **caracterizado porque** dichos primeros componentes ópticos (101,105) que definen una trayectoria de luz desde dicha fuente de luz (103) a una ubicación de medición debajo de la superficie de la piel (107) están adaptados para enfocar la luz que se emite desde dicha fuente de luz (103) a una profundidad ubicada entre 200 a 300 μm más allá de dicha superficie distal de dicho miembro de contacto con la piel (101).
2. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho porcentaje es al menos 55 %.
- 25 3. Un aparato de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que al menos el 90 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades inferiores a 600 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel (101).
- 30 4. Un aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que menos del 25 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades inferiores a 100 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel (101).
- 35 5. Un aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos el 15 % de la luz dispersada Raman que se recibe en la unidad de detección de luz se origina a profundidades de 200 a 300 μm más allá de dicha superficie distal del miembro de contacto con la piel (101).
- 40 6. Un aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha fuente de luz (103) es una fuente de luz sustancialmente monocromática que emite una longitud de onda de 830 nm.
- 45 7. Un aparato de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho miembro de contacto con la piel (101) es una pieza de mano para aplicar a la piel que contiene componentes que definen dicha ubicación de medición en uso, y el primer y segundo componentes ópticos comprenden una o más fibras ópticas que conectan dicha pieza de mano a dicha fuente de luz y a una unidad de procesamiento que contiene circuitos electrónicos para el análisis de las señales que se reciben desde dicha unidad de detección de luz para proporcionar dicha medición a partir de la misma.
- 50 8. Un procedimiento de medición in vivo no invasiva mediante espectroscopía Raman de glucosa presente en el líquido intersticial en la piel de un sujeto, que emplea un aparato de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende dirigir la luz desde la fuente de luz hacia la piel a través de los primeros componentes ópticos que definen una trayectoria de luz desde dicha fuente de luz a una ubicación de medición debajo de la superficie de la piel, y que recibe la luz dispersada Raman desde la piel en la unidad de detección de luz a través de los segundos componentes ópticos que definen una trayectoria de retorno para la luz dispersada Raman desde dicha ubicación de medición hasta dicha unidad de detección de luz, mientras se usa el miembro de contacto con la piel que tiene una superficie distal para definir la posición de dichos primer y segundo componentes ópticos con respecto a una superficie de dicha piel.

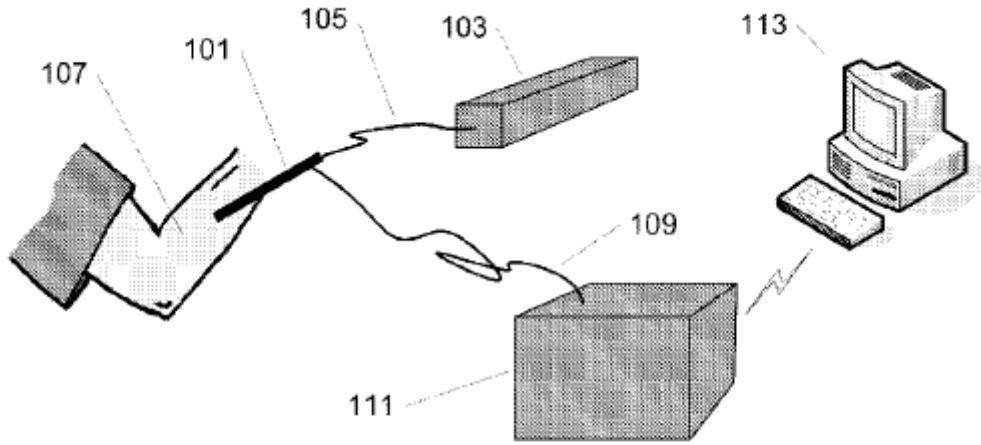


Figura 1

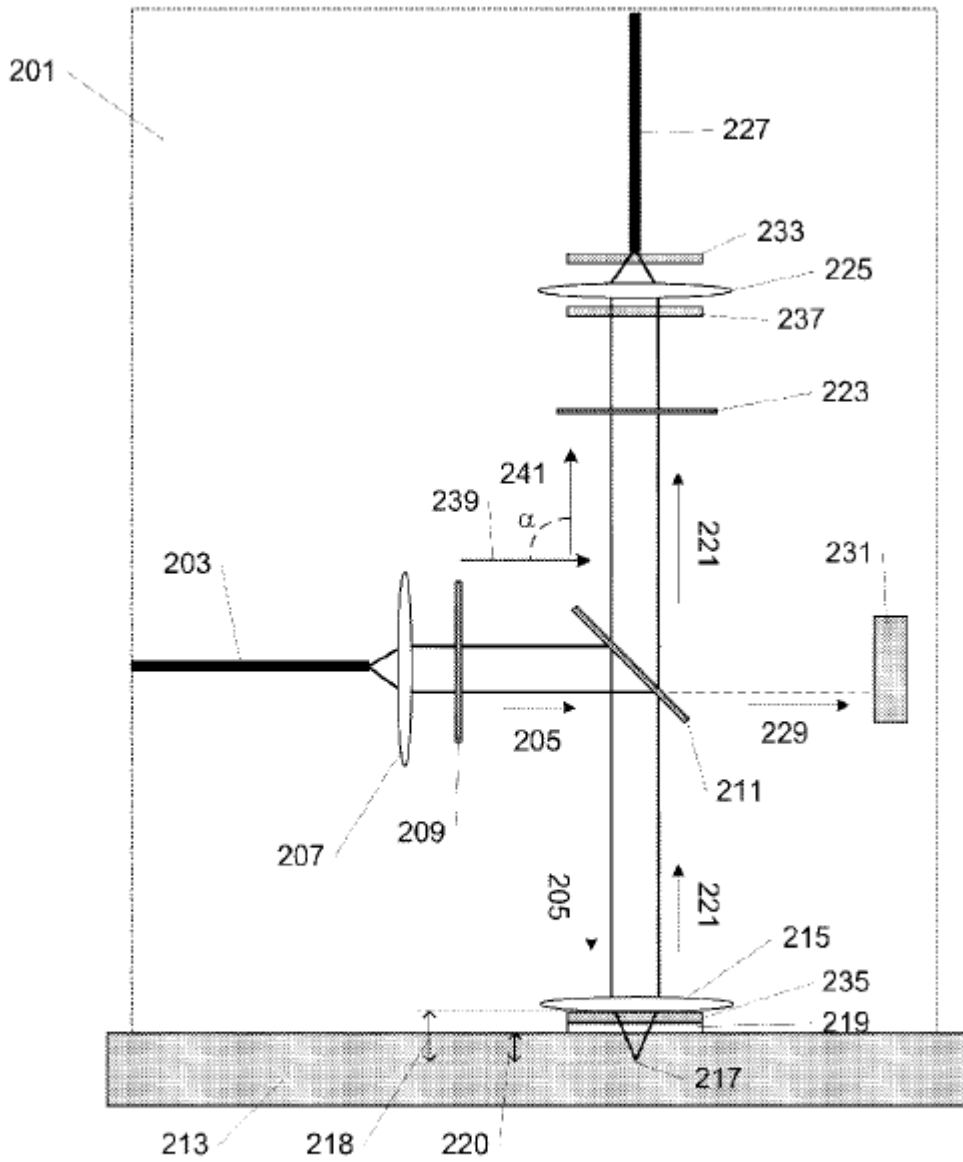


Figura 2

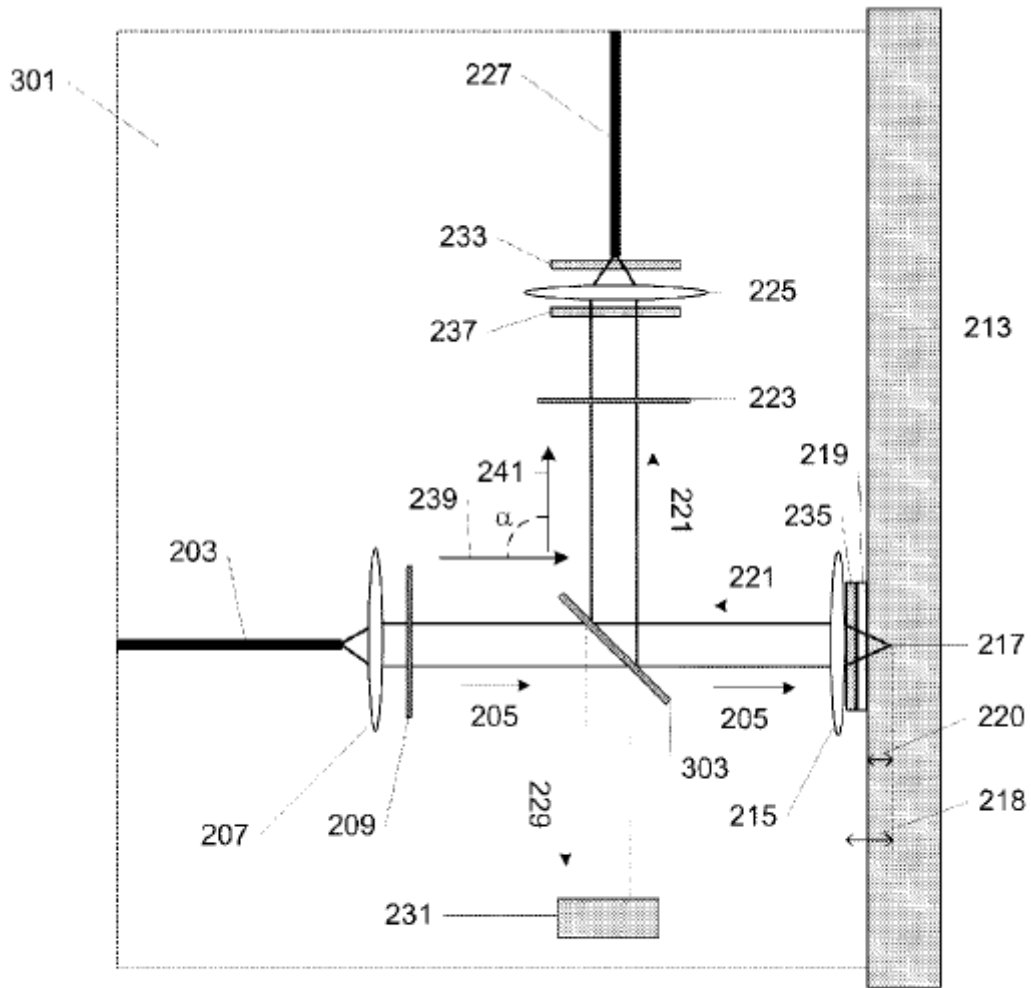


Figura 3

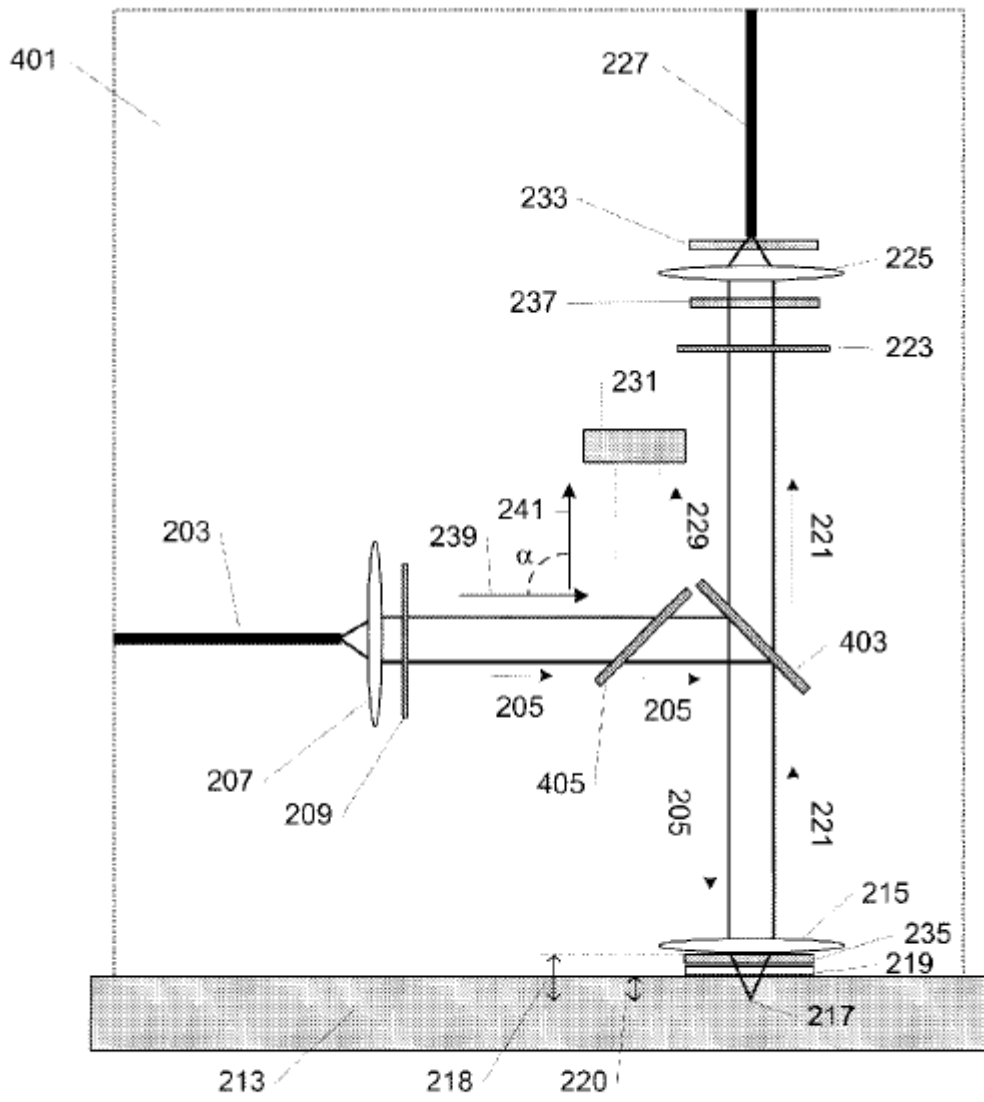


Figura 4

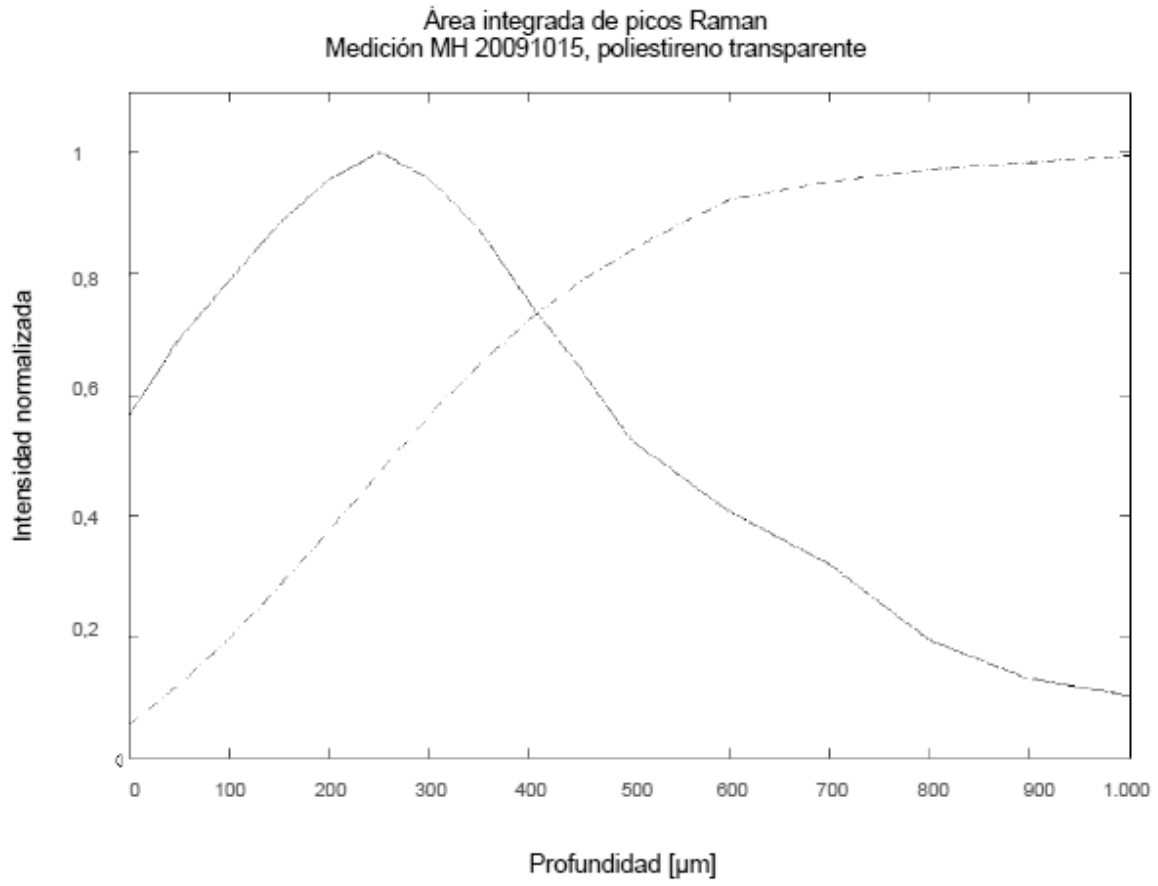


Figura 5

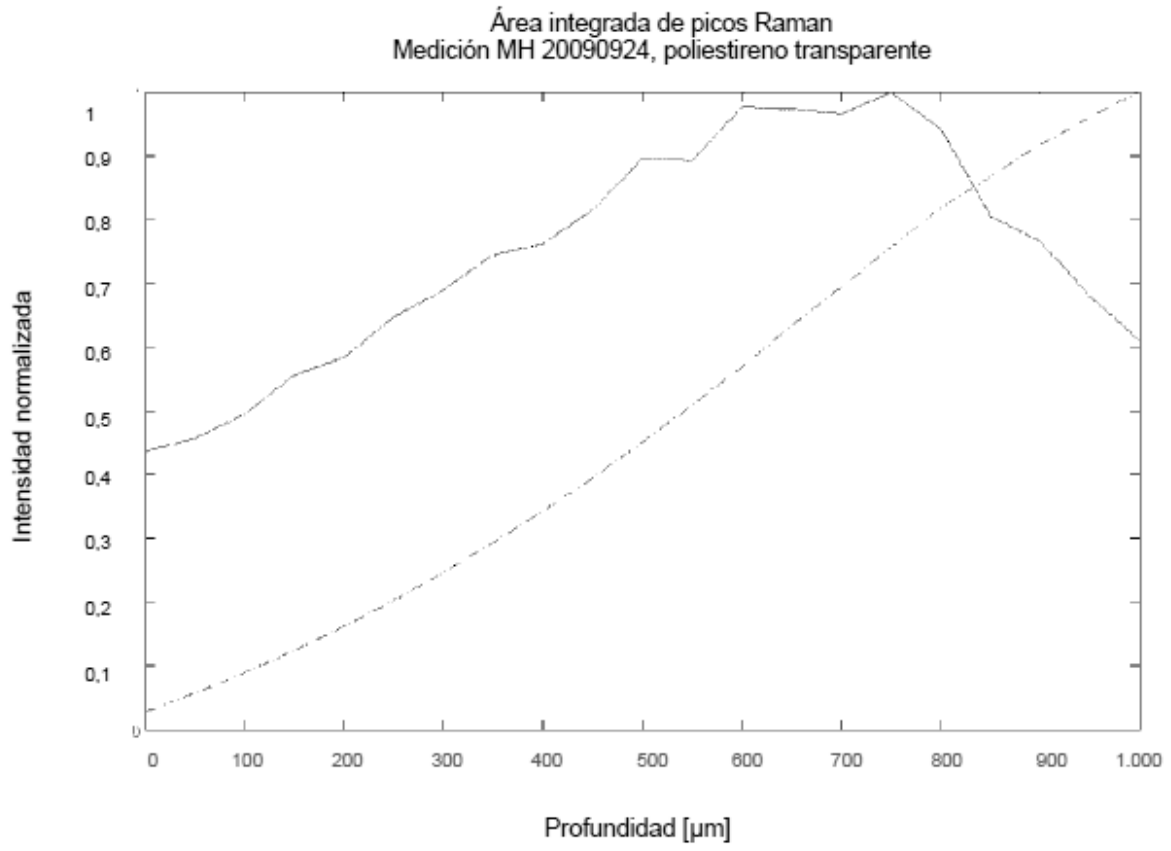


Figura 6

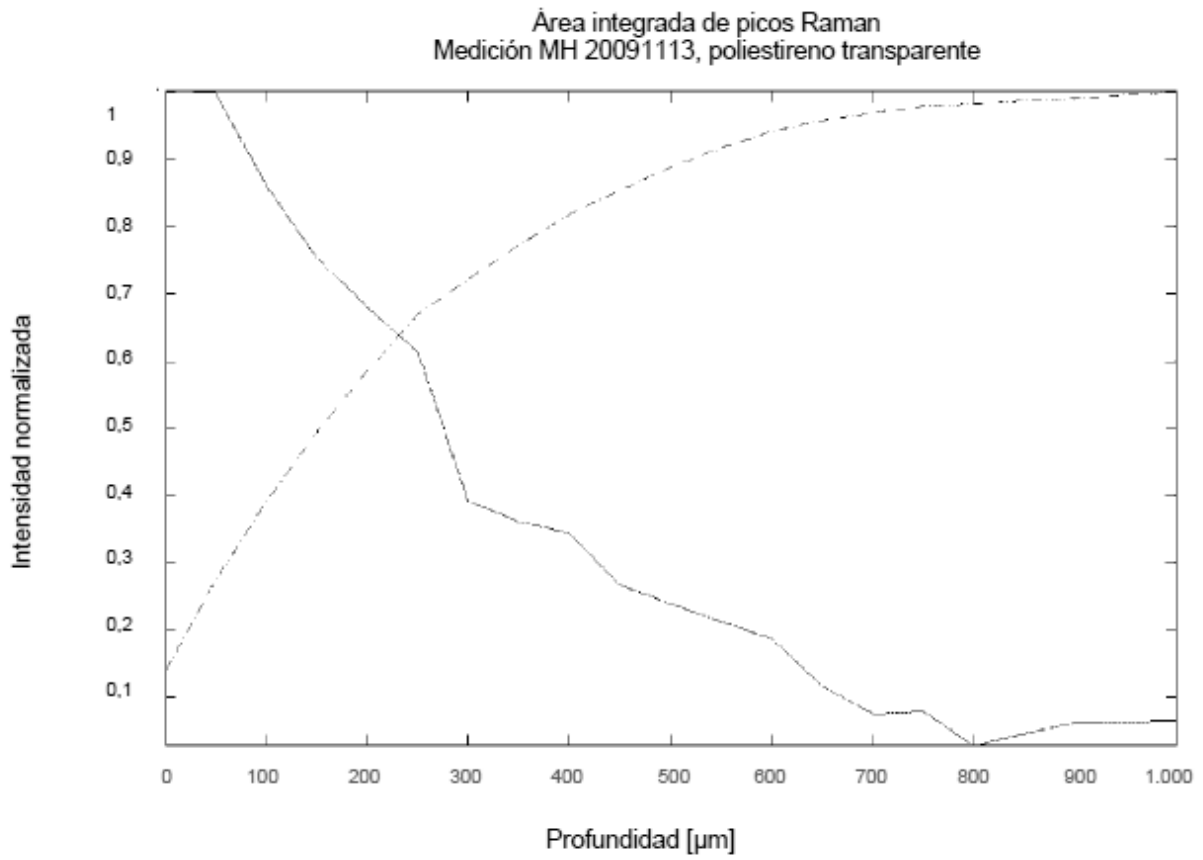


Figura 7

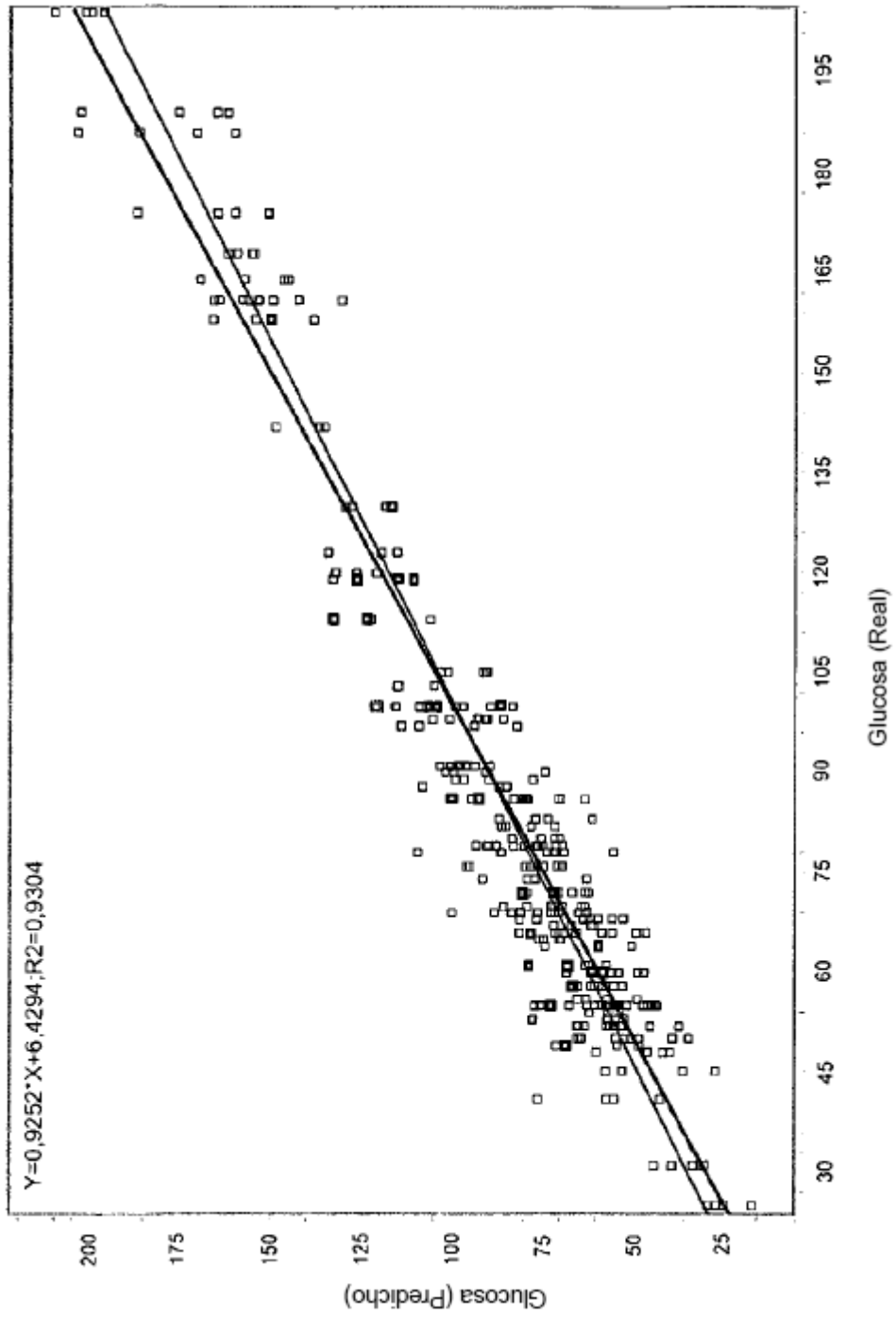


Figura 8

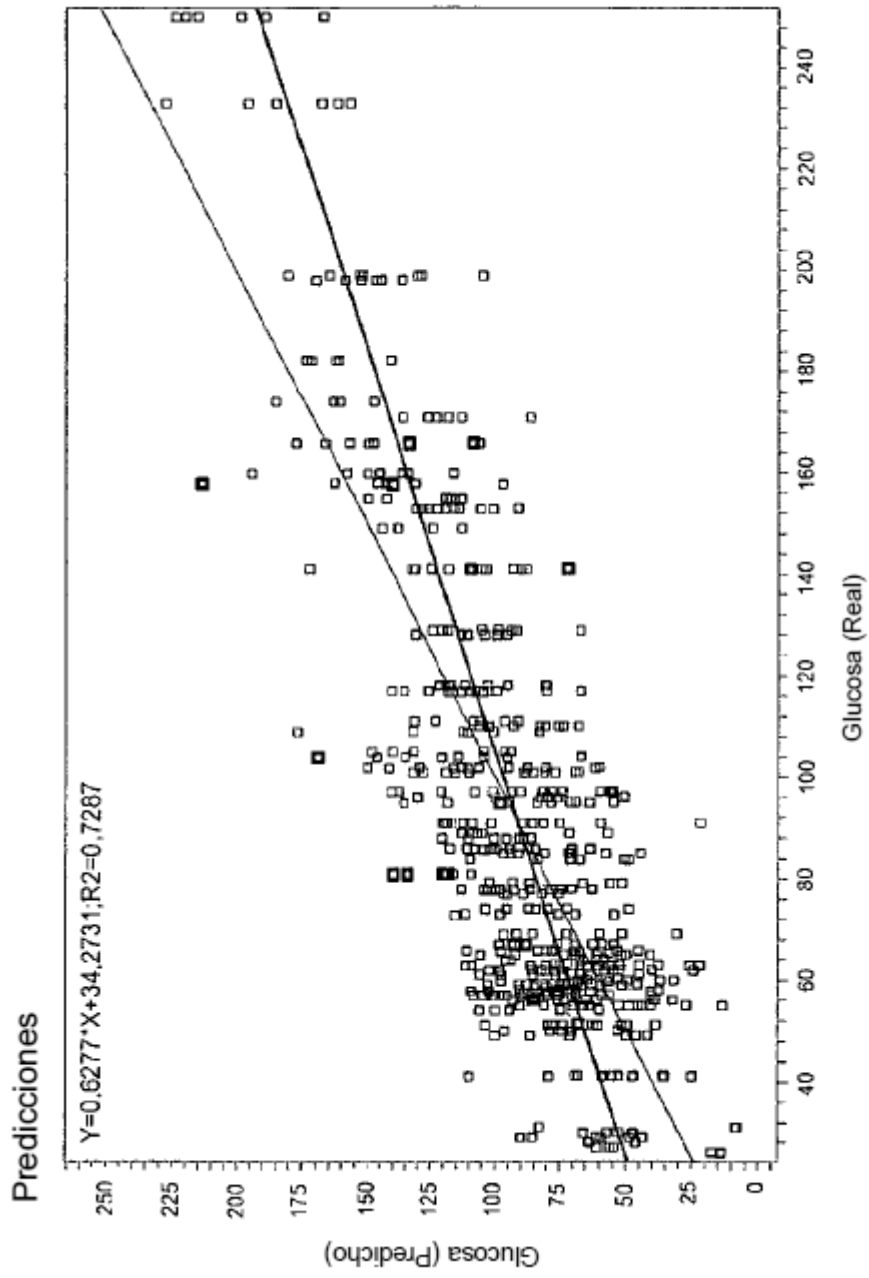


Figura 9