

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 800 476**

51 Int. Cl.:

G01B 9/02 (2006.01)

G02B 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.12.2014 PCT/EP2014/078867**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.06.2015 WO15092019**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2014 E 14827756 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020 EP 3084345**

54 Título: **Aparato y procedimiento de tomografía óptica**

30 Prioridad:

20.12.2013 FR 1363234

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

30.12.2020

73 Titular/es:

DAMAE MEDICAL (100.0%)

14 Rue Sthrau

75013 Paris, FR

72 Inventor/es:

DUBOIS, ARNAUD

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 800 476 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 y procedimiento de tomografía óptica

- 5 La invención trata sobre un aparato y un procedimiento de tomografía óptica, destinado, en particular, pero no exclusivamente, a unas aplicaciones biológicas y médicas y, en concreto, histológicas. Otras aplicaciones posibles se refieren a, por ejemplo, la caracterización de materiales.

10 El examen histológico de tejidos extraídos por biopsia presenta una gran utilidad en la práctica clínica, por ejemplo, para el diagnóstico de los tumores. Sin embargo, esta técnica es lenta y compleja de implementar, ya que necesita una biopsia, es decir, la extracción de una muestra del tejido a estudiar y su recorte en rodajas finas que se observan al microscopio y se analizan por un anatomopatólogo. El proceso completo necesita, además, la fijación de la muestra, su oclusión en una matriz y su coloración. Esto plantea problema, sobre todo, en el caso de exámenes practicados durante unas operaciones quirúrgicas, donde la rapidez tiene una importancia primordial. Además, la etapa de extracción puede ser molesta, incluso peligroso para el paciente (caso del cerebro, por ejemplo). Por esta razón, se han desarrollado unas técnicas de imagenología no intrusivas - en concreto, ópticas - para visualizar la estructura interna de los tejidos biológicos - o, más generalmente, de objetos semitransparentes. Para poder ser competitivas con los exámenes histológicos convencionales, estas técnicas deben permitir acceder *in situ* a una profundidad del orden del milímetro por debajo de la superficie del tejido y presentar una resolución del orden del micrómetro. La rapidez de ejecución, la simplicidad y el coste son, igualmente, unos parámetros importantes a tomar en cuenta.

Ninguna de las técnicas de imagenología conocidas de la técnica anterior da plena satisfacción.

25 La tomografía de coherencia óptica (OCT, del inglés "Optical Coherence Tomography") de barrido es una técnica basada en la interferometría de luz "blanca" (de banda ancha). En su versión en el campo temporal, un haz de luz blanca se divide en dos partes, una focalizada sobre el tejido a estudiar y la otra sobre un espejo de referencia. La luz reflejada (retrodifundida) por el objeto observado se combina con la reflejada por el espejo de referencia y detectada por un fotodetector. Una interferencia se produce solamente cuando la diferencia de trayectoria óptica es como mucho del orden de la longitud de coherencia de la radiación; modificando la longitud óptica del brazo de referencia del interferómetro se accede a unas profundidades diferentes en el objeto. Se puede construir una imagen de 2, incluso 3 dimensiones gracias a la interferometría (que permite la adquisición según la dimensión axial, es decir, la profundidad) y al barrido (que permite la adquisición según una o dos dimensiones laterales). En la OCT de barrido en el campo frecuencial, el brazo de referencia tiene una longitud óptica fija y la señal interferométrica se analiza espectralmente. Véase a este propósito el artículo de A. F. Fercher "Optical coherence tomography - principles and applications", Reports on Progress in Physics 66 (2003) 239 - 303. En la práctica, la OCT permite difícilmente obtener unas resoluciones laterales mejores de alrededor de algunos micrómetros.

40 Una técnica más reciente, la OCT de campo completo, utiliza un sensor bidimensional de imágenes para detectar las señales interferométricas. Esta técnica, acoplada con la utilización de una fuente de luz de escasa coherencia temporal y espacial, tal como una lámpara halógena, permite mejorar sustancialmente la resolución espacial - tanto lateral como en profundidad (axial) - con respecto a la OCT de barrido. No obstante, esta técnica está poco adaptada a las aplicaciones en las que el objeto es susceptible de moverse (en particular, para las aplicaciones *in vivo*), que conlleva, entonces, una interferencia de las señales interferométricas. Por otro lado, proporciona unos cortes "de frente" (paralelos a la superficie del objeto observado), mientras que unos cortes verticales son, a menudo, más útiles. Además, su profundidad de penetración es menor que en OCT de barrido. Esta técnica se describe, por ejemplo, en el documento EP1364181 y en el artículo de A. Dubois, K. Grieve, G. Moneron, R. Lecaque, L. Vabre y A.C. Boccara "Ultra-high-resolution full-field optical coherence tomography", Applied Optics 43, pág. 2.874 (2004).

50 El artículo de S. Kim et al. "Simultaneous measurement of refractive index and thickness by combining low-coherence interferometry and confocal optics", Optics Express, Vol. 16, N.º 8, 5.516 (14 de abril de 2008) describe un procedimiento que combina óptica confocal e interferometría de escasa longitud de coherencia para caracterizar una muestra determinando su grosor y su índice de refracción. No se trata de un procedimiento de imagenología, todavía menos de tomografía.

55 La microscopía confocal utiliza un filtrado espacial para seleccionar la luz que proviene de una pequeña región del objeto observado; una imagen bi- o tridimensional se puede reconstituir, entonces, por barrido. El documento EP 2 447 754 describe un dispositivo y un procedimiento de microscopía confocal cromática de hendiduras. Este sistema necesita:

- 60 - una iluminación de luz polarizada
 - un objetivo que presenta unas fuertes aberraciones cromáticas; y
 - un espectrómetro para medir el espectro de la luz a la salida del microscopio, permitiendo esta medición acceder a la profundidad sondeada en el objeto.

65 En este dispositivo, el papel de las hendiduras es generar unas líneas espectrales (definiendo su ancho la resolución espectral y, por lo tanto, la resolución espacial según la profundidad en el objeto). No tienen un papel de filtrado

confocal.

El documento EP 1 586 931 describe otro dispositivo y procedimiento de microscopía confocal de hendidura, que simplifica el proceso de reconstrucción de imágenes permitiendo la adquisición simultánea de varios píxeles dispuestos según una línea. La microscopía confocal, utilizada sin marcadores fluorescentes, ofrece una profundidad de penetración sustancialmente menor que en OCT de barrido y en OCT de campo completo.

El artículo de Yu Chen et al. "High-resolution line-scanning optical coherence microscopy", Optics Letters Vol. 32, N.º 14, 15 de julio de 2007, páginas 1.971 - 1.973 describe un aparato y un procedimiento que combinan microscopía confocal de hendidura y OCT de barrido que permiten obtener unos cortes "de frente" de una muestra con una sensibilidad más elevada que en OCT de campo completo. La resolución axial alcanzada es de alrededor de 3 µm y la resolución lateral de alrededor de 2 µm, obteniéndose estos resultados utilizando como fuente de luz un láser con pulsos de femtosegundos muy costosos.

Las técnicas de microscopía no lineal (microscopía de dos fotones, por generación de armónico...) presentan unas prestaciones - en términos de profundidad de penetración, resolución espacial y cadencia de adquisición - comparables a las de la OCT de campo completo, pero a costa de un coste más elevado y de tiempos de adquisición, generalmente, más largos.

El coste y la complejidad de implementación son, igualmente, de entre los principales inconvenientes de las técnicas de imagenología no ópticas, tales como la microtomografía de rayos X (que presenta, igualmente, una escasa cadencia de adquisición) y la imagenología por resonancia magnética IRM (cuya resolución espacial es mediocre comparada con los métodos ópticos).

La invención tiene como propósito superar al menos ciertos de los inconvenientes citados anteriormente de la técnica anterior. Más particularmente, tiene como propósito procurar una técnica de visualización de la estructura interna de objetos semitransparentes, tales como unos tejidos biológicos que permiten obtener unos cortes verticales (ortogonales a la superficie del objeto) a una cadencia elevada (varios cortes por segundo), con una alta resolución espacial (del orden de 1 µm, tanto axial como lateralmente) y una profundidad de penetración satisfactoria (del orden del milímetro). La invención tiene como propósito, igualmente, procurar una técnica adaptada a las aplicaciones *in vivo* e *in situ*.

Un objeto de la invención que permite alcanzar esta finalidad es un aparato de tomografía óptica que comprende: una fuente de luz policromática; un sensor óptico monodimensional; un microscopio interferométrico que comprende: un primer brazo, denominado de referencia, en cuyo extremo está dispuesto un espejo denominado de referencia; un segundo brazo, denominado objeto; un separador de haz que acopla dichos primer y segundo brazos a dicha fuente de luz policromática y a dicho sensor; y al menos un objetivo, estando dicho espejo de referencia dispuesto en correspondencia con un plano de enfoque de dicho objetivo o de un dicho objetivo colocado en el brazo de referencia; un sistema de filtrado espacial confocal monodimensional, que coopera con dicha fuente de luz policromática para iluminar un objeto a observar, dispuesto en el extremo de dicho brazo objeto, según una línea, denominada línea de observación, situada en dicho plano de enfoque de dicho objetivo o de un dicho objetivo colocado en el brazo objeto, estando dicho sistema de filtrado espacial confocal monodimensional dispuesto, igualmente, para seleccionar la luz retrodifundida por dicho objeto y que proviene de dicha línea de observación y para formar una imagen monodimensional de dicha línea sobre dicho sensor; caracterizado por que comprende, igualmente: un sistema de accionamiento configurado para desplazar dicha línea de observación paralelamente a un eje óptico de dicho objetivo o de un dicho objetivo colocado en el brazo objeto para realizar un barrido unidireccional de dicho objeto, manteniendo al mismo tiempo una diferencia de trayectoria óptica nula entre, por una parte, un primer trayecto que va de dicho separador de haz a dicho espejo de referencia y retorno recorriendo dicho brazo de referencia y, por otra parte, un segundo trayecto que va de dicho separador de haz a dicha línea de observación y retorno recorriendo dicho brazo objeto; y un procesador programado o configurado para reconstituir una imagen bidimensional de una sección de dicho objeto a observar, orientada paralelamente a dicho eje óptico de dicho objetivo o de un dicho objetivo colocado en el brazo objeto, a partir de una pluralidad de imágenes interferométricas monodimensionales adquiridas por dicho sensor en correspondencia con posiciones diferentes de dicha línea de observación en el transcurso de dicho barrido unidireccional.

Según diferentes modos de realización de un aparato de este tipo:

- Dicho sistema de accionamiento puede configurarse para provocar un desplazamiento relativo, paralelo a dicho eje óptico de dicho objetivo o de un dicho objetivo colocado en el brazo objeto, de dicho objeto a observar con respecto a dicho microscopio interferométrico, sin modificar las longitudes ópticas de dicho brazo de referencia y de dicho brazo objeto.
- Dicho sistema de accionamiento puede configurarse para desplazar el objetivo en el plano de enfoque del que se encuentra dicha línea de observación y para modificar la longitud óptica de dicho brazo de referencia para mantener nula la diferencia de trayectoria óptica entre dicho primer trayecto y dicho segundo trayecto.
- El aparato puede comprender, igualmente, un dispositivo de compensación de la dispersión dispuesto sobre al menos uno de entre dicho brazo objeto y dicho brazo de referencia, estando dicho sistema de accionamiento

configurado para actuar, igualmente, sobre dicho dispositivo de compensación de la dispersión en el transcurso de dicho barrido unidireccional.

- Dicho microscopio interferométrico puede ser un microscopio de Linnik, que comprende un primer objetivo dispuesto sobre dicho brazo de referencia y un segundo objetivo dispuesto sobre dicho brazo objeto, siendo dichos brazos de referencia y objeto disjuntos. Como variante, se puede elegir de entre un microscopio de Michelson y un microscopio de Mirau, que comprenden un objetivo único.

Otro objeto de la invención es un procedimiento de tomografía óptica que comprende las siguientes etapas:

- a) procurar una fuente de luz policromática;
- b) utilizar un separador de haz para dirigir una primera fracción de luz emitida por dicha fuente según un primer trayecto, denominado trayecto de referencia y una segunda fracción de luz emitida por dicha fuente según un segundo trayecto, denominado trayecto objeto;
- c) utilizar un objetivo que coopera con un sistema de filtrado espacial confocal monodimensional para focalizar dicha segunda fracción de luz para iluminar un objeto semitransparente a observar según una línea, denominada línea de observación, situada en un plano de enfoque de dicho objetivo y para recoger la luz retrodifundida por dicho objeto iluminado de este modo;
- d) utilizar dicho objetivo u otro objetivo, para focalizar dicha primera fracción de luz sobre un espejo de referencia dispuesto sobre dicho trayecto de referencia y para recoger la luz reflejada por dicho espejo;
- e) utilizar dicho separador de haz para combinar la luz retrodifundida por dicho objeto con la luz reflejada por dicho espejo y dirigirla hacia un sensor óptico monodimensional;
- f) utilizar dicho sistema de filtrado espacial confocal monodimensional para seleccionar la luz que proviene de dicha línea de observación y para formar de ello una imagen monodimensional sobre dicho sensor;
- g) utilizar un sistema de accionamiento para desplazar dicha línea de observación paralelamente a un eje óptico de dicho objetivo para realizar un barrido unidireccional de un objeto a observar sobre dicho trayecto objeto, manteniendo al mismo tiempo una diferencia de trayectoria óptica nula entre dicho trayecto de referencia y dicho trayecto objeto; y
- h) utilizar un procesador para reconstituir una imagen bidimensional de una sección de dicho objeto a observar, orientada paralelamente a dicho eje óptico, a partir de una pluralidad de imágenes interferométricas monodimensionales adquiridas por dicho sensor en correspondencia con posiciones diferentes de dicha línea de observación en el transcurso de dicho barrido unidireccional.

Según diferentes modos de realización de un procedimiento de este tipo:

- Dicha etapa g) puede implementarse provocando un desplazamiento relativo, paralelo a dicho eje óptico, de dicho objeto a observar con respecto a dicho microscopio interferométrico sin modificar las longitudes ópticas de dicho brazo de referencia y de dicho brazo objeto.
- Alternativamente, dicha etapa g) puede implementarse desplazando el objetivo en un plano focal del que se encuentra dicha línea de observación y modificando la longitud óptica de dicho brazo de referencia para mantener nula la diferencia de trayectoria óptica entre dicho primer trayecto y dicho segundo trayecto.
- El procedimiento puede comprender, igualmente, una etapa i) de compensación de las modificaciones de la dispersión inducidas por el desplazamiento de la línea de observación en el interior de dicho objeto a observar en el transcurso de dicho barrido unidireccional.

Otras características, detalles y ventajas de la invención surgirán a la lectura de la descripción hecha con referencia a los dibujos adjuntos dados a título de ejemplo y que representan, respectivamente:

- La figura 1A, un esquema de principio de un aparato de tomografía óptica según un modo de realización de la invención, basado en un microscopio interferométrico de Linnik;
- La figura 1B, un detalle de un aparato de tomografía óptica según una variante de dicho modo de realización de la invención;
- Las figuras 2A, 2B, otros modos posibles de realización de la invención basados en las configuraciones de microscopios interferométricos de Michelson y de Mirau;
- Las figuras 3A y 3B, el principio del filtrado confocal de hendidura;
- Las figuras 4A y 4B, respectivamente, una imagen obtenida utilizando un aparato de tomografía por coherencia óptica según la técnica anterior y una imagen del mismo objeto obtenida utilizando un aparato de tomografía óptica según la invención;
- Las figuras 5A a 5G, diferentes modos de realización de la invención basados en unos microscopios interferométricos de Michelson y de Mirau y que utilizan un medio de inmersión; y
- La figura 6, otro modo de realización de la invención basado en un microscopio interferométrico de Linnik y que utiliza un medio de inmersión.

La figura 1A ilustra un aparato de tomografía óptica según un modo de realización de la invención. Este aparato está constituido esencialmente por un microscopio interferométrico "de Linnik" modificado por la añadidura de medios de filtrado espacial (FE, FS), de un sistema de compensación (DCD) de los desvíos de dispersión entre los dos brazos del interferómetro, de un sensor óptico monodimensional (CIM) y de un procesador programado o configurado de

manera oportuna (PR).

Este aparato comprende una fuente de luz policromática SLP. Esta última está representada esquemáticamente por una bombilla de incandescencia, pero podría tratarse preferentemente de una fuente de luminancia más elevada, tal como un diodo electroluminiscente o una asociación de diodos electroluminiscentes, de un diodo superluminiscente o una asociación de diodos superluminiscentes, de una lámpara de filamento halógeno, de una lámpara de arco, incluso de una fuente láser donde a base de láser (fuente por generación de "supercontinuo", por ejemplo). En todos los casos, su ancho espectral (a media altura) será preferentemente superior o igual a 100 nm; cuanto más importante es este ancho espectral, mejor podrá ser la resolución axial del aparato; la longitud de onda de centro de banda puede ser visible o situarse en el infrarrojo cercano; en las aplicaciones biológicas y médicas se prefiere, generalmente, el infrarrojo cercano, entre 600 nm y 1.500 nm normalmente. La fuente puede ser polarizada o no polarizada, espacialmente coherente o incoherente. Las fuentes espacialmente coherentes (de tipos láseres o diodos superluminiscentes) pueden ser ventajosas debido a su mayor luminancia, pero pueden introducir "ruido" de coherencia: fenómenos de interferencias parásitas que conllevan una reducción de la amplitud relativa de la señal interferométrica útil y una falta de uniformidad de la iluminación. Además, la utilización de fuentes espacialmente coherentes aumenta sustancialmente el coste global del aparato.

Una hendidura FE y una lente LE forman un sistema óptico de iluminación que coopera con la fuente SLP y el microscopio interferométrico para iluminar un objeto OBJ a observar según una línea. Si la fuente de luz policromática es espacialmente coherente, la hendidura FE se puede reemplazar por una óptica de conformación de haz, que incorpora, por ejemplo, una lente cilíndrica, convergente o divergente, con el fin de iluminar el objeto según una línea que tiene un ancho del orden del micrómetro (más precisamente, el ancho de la línea es del orden de magnitud de la resolución lateral del sistema de imagenología).

El haz de iluminación formado por la lente LE se dirige hacia un separador de haz - en este caso concreto, un cubo separador - SF. Este último dirige una primera porción del haz incidente a lo largo de un primer brazo del microscopio interferométrico, denominado "brazo de referencia", BREF y una segunda porción del haz incidente según un segundo brazo BOBJ, denominado "brazo objeto". Un primer objetivo de microscopio LO1 y un espejo denominado "de referencia" MR están dispuestos sobre el brazo de referencia; el objetivo focaliza la luz sobre el espejo, luego, recaba la luz reflejada por este último y la redirige - en sentido inverso - según el brazo o trayecto, de referencia. Un segundo objetivo de microscopio LO2, de longitud focal idéntica a la de dicho primer objetivo LO1, está dispuesto sobre el brazo objeto; el objetivo focaliza la luz sobre el objeto OBJ a observar, luego, recaba la luz retrodifundida por este último y la redirige - en sentido inverso - según el brazo o trayecto, objeto. Normalmente, los objetivos tienen una apertura numérica comprendida entre 0,1 y 1,0 (contrariamente a la OCT de barrido tradicional, en el presente documento, no hay restricción de profundidad de campo que limitaría la apertura numérica a emplear). Es interesante anotar que estos objetivos pueden estar en el aire o en inmersión; en cambio, en el caso de la OCT de campo completo, se utilizan unos objetivos de inmersión, lo que puede ser restrictivo en ciertas aplicaciones.

El separador de haz SF recombina los haces luminosos que provienen de los dos objetivos, que les permite interferir y los redirige a lo largo de un brazo denominado "de observación" BOBS.

El contraste de las franjas de interferencia es máximo cuando los dos haces que interfieren presentan una misma intensidad; por consiguiente, puede ser ventajoso utilizar un espejo de referencia que refleje escasamente o prever un atenuador sobre el trayecto de referencia.

Un filtro espacial monodimensional FS está dispuesto sobre el brazo de observación. En el modo de realización de la figura 1A, se trata de un filtro confocal, que comprende dos lentes LF1, LF2. Una hendidura FO está colocada en el plano focal trasero de la lente LF1. La lente LF2 forma una imagen de la hendidura FO sobre el sensor óptico monodimensional CIM. La hendidura FO está conjugada ópticamente con la hendidura FE asociada a la fuente SLP; dicho de otra manera, el microscopio interferométrico forma una imagen de la hendidura FE en correspondencia con la hendidura FO y de manera inversa. Como se explicará esto más adelante, con referencia a las figuras 3A y 3B, se trata ahí de una configuración "confocal"; en efecto, la fuente SLP, la hendidura FE, la lente LE, el separador SF, el objetivo LO2, el filtro espacial SF forman un microscopio confocal de hendidura.

El sensor óptico monodimensional CIM (cámara lineal), constituido por una fila única de píxeles (cuadrados o rectangulares) o de algunas (normalmente no más de 10 o 20, incluso 100 como máximo) filas de píxeles, detecta la luz a la salida del filtro. Es posible, igualmente, utilizar como sensor CIM una sola fila de píxeles o la combinación de algunas (lo más a menudo hasta 10 o 20) filas de píxeles, adyacentes o cercanas, de un sensor de imagen matricial.

Como variante (ilustrada en la figura 1B), el filtrado espacial puede realizarse sin el sistema de filtrado FS, posicionando el sensor óptico monodimensional CIM en el plano focal de una lente única LF.

Además, si está presente una hendidura FO en el lado del detector (o si el propio detector hace la función de hendidura, como se ha explicado anteriormente, figura 1B), es posible omitir la hendidura de iluminación FE (o el sistema de conformación del haz que la reemplaza), a costa de una bajada eventual de la sensibilidad de detección.

El aparato comprende, igualmente, un sistema de accionamiento constituido por una pluralidad de estadios de traslación - TR1, TR2, TR3 y TRO - y por un procesador PR que los pilota. Todos estos estadios de traslación no deben estar presentes necesariamente al mismo tiempo; en particular, si TRO está presente, TR1 y TR2 pueden omitirse y, de manera inversa, si TR1 y TR2 están presentes, TRO puede omitirse.

5 El conjunto de espejo de referencia MR y objetivo LO1 se desplaza axialmente por medio de un primer estadio de traslación TR1 de dicho sistema de accionamiento; por consiguiente, el objetivo LO2 debe desplazarse, igualmente, por medio de un estadio de traslación respectivo TR2, que también forma parte de dicho sistema de accionamiento. Cuando se desciende (es decir, que se traslada en dirección del objeto) el objetivo LO2 en una distancia "e", se
 10 desplaza el espejo de referencia MR y el objetivo LO1 en $\left(n_{im} - 1 - \frac{n_{objeto}^2}{n_{im}}\right) e$, siendo n_{im} el índice de refracción del medio de inmersión de los objetivos - gel, líquido o aire ($n_{im} = 1$) - y siendo n_{objeto} el índice de refracción del objeto.

15 Como variante, sería posible hacer variar la distancia axial entre el objeto solo OBJ y el microscopio interferométrico, dejando estacionarios los diferentes elementos del microscopio interferométrico. Para esto, se puede desplazar todo el microscopio interferométrico (sistema de desplazamiento no representado) o el objeto OBJ por medio del estadio de traslación TRO; este último caso puede contemplarse, en particular, con unos objetivos de inmersión.

20 En todos los casos, esto tiene como efecto modificar la profundidad a la que se sondea el objeto OBJ: una línea de observación LDO, situada en el plano focal (más generalmente, en el plano de enfoque) del objetivo LO2, realiza un barrido de dicho objeto "en profundidad", es decir, en la dirección del eje óptico de dicho objetivo. El sistema de accionamiento debe desplazar a la vez esta línea de observación y asegurar que la diferencia de trayectoria óptica entre el trayecto de referencia y el trayecto objeto (hasta la línea de observación, que se considera como que constituye el extremo del brazo objeto) permanece nula o como mucho inferior a la longitud de coherencia de la fuente de luz policromática y a la profundidad de campo del objetivo. Este barrido modifica el grosor de objeto atravesado por la luz
 25 que se propaga a lo largo del brazo objeto BOBJ y, por lo tanto, la dispersión que experimenta. Está previsto un dispositivo DCD para compensar esta modificación de la dispersión. El dispositivo DCD comprende un elemento de dispersión constante ED1 - por ejemplo, un bloque de vidrio, material que tiene una dispersión cercana a la del objeto OBJ - dispuesto en uno de los brazos del interferómetro y un elemento de dispersión variable ED2 dispuesto en el otro brazo del interferómetro. El elemento ED2 está constituido de dos prismas dispuestos cara a cara; desplazando uno
 30 de los prismas con respecto al otro, se modifica el grosor de vidrio atravesado y, por lo tanto, el trayecto óptico en este brazo. Se puede utilizar, igualmente, una lámina de vidrio inclinada con respecto al trayecto óptico; el grosor de vidrio atravesado se modifica actuando sobre el ángulo de inclinación. Pueden contemplarse otros sistemas; la idea general es que hay que hacer variar el grosor óptico en uno de los brazos, con el fin de igualar la dispersión en los 2 brazos del interferómetro (o, por lo menos, de reducir el desvío) sea cual sea la profundidad de imagenología.

35 En otros modos de realización, el dispositivo de compensación de la dispersión puede estar constituido más simplemente por un medio de inmersión (normalmente una gota de líquido cuyo índice de refracción está cercano al del objeto) cuyo grosor en el brazo objeto se reduce a medida que el objetivo se acerca al objeto a observar (véanse las figuras 5A a 5F). La disminución del grosor del medio de inmersión se compensa por el aumento del grosor atravesado en el objeto: de este modo, la dispersión en el brazo objeto permanece constante, igual a la de en el brazo de referencia.

40 En el modo de realización de la figura 1, el dispositivo DCD está accionado por un tercer estadio de traslación TR3, que forma parte, igualmente, de dicho sistema de accionamiento. Esto permite realizar una compensación dinámica de la dispersión, sincronizada con los otros desplazamientos.

45 Como variante, se puede utilizar un grosor variable de material dispersivo transparente, tal como el vidrio, colocado en uno de los brazos del interferómetro para modificar a la vez la trayectoria óptica y la dispersión. Este grosor variable se puede realizar, por ejemplo, gracias a un doble prisma, como el dispositivo DCD de la figura 1 o una simple lámina orientable. En este caso, puede no ser necesario desplazar el conjunto de objetivo LO1 y espejo MR.

50 El detector CIM adquiere unas imágenes-líneas en correspondencia con una pluralidad de posiciones diferentes de la línea hecha imagen en el objeto. Esta pila de imágenes-líneas puede procesarse digitalmente para obtener una imagen de un corte vertical del objeto.

55 Un abordaje simple consiste en utilizar el método denominado de interferometría de cambio de fase, que consiste en combinar digitalmente varias imágenes-líneas desfasadas. Por ejemplo, se pueden combinar cuatro imágenes-líneas correspondientes a unas posiciones de la línea de observación espaciadas en $\lambda/8$ en la dirección axial, siendo λ la longitud de onda central de la luz de iluminación en el objeto. Esto corresponde a un desfase de $\pi/2$ entre dos imágenes adyacentes. Si se indican por E_1, E_2, E_3, E_4 estas imágenes, $(E_1 - E_3)^2 + (E_2 - E_4)^2$ corresponde a la amplitud de la señal de interferencia - es decir, a la amplitud de la imagen reconstituida - y $\frac{E_1 - E_3}{E_2 - E_4}$ corresponde a la fase de la señal de interferencia. Esta fase puede proporcionar otras informaciones que no sean unas informaciones estructurales y tomográficas sobre el objeto. Hay que anotar que no hay una contradicción entre la noción de cambio de fase o desfase y el hecho, mencionado más arriba, de que la línea de observación siempre corresponde a una diferencia de trayectoria

5 óptica entre los brazos objeto y de referencia igual a cero. En efecto, cualquier estructura del objeto, susceptible de retrodifundir la luz, no se observa únicamente cuando coincide con la línea de observación, sino, igualmente, antes y después (ya que la "puerta" de coherencia y la introducida por el filtrado confocal tienen un ancho superior a λ). Por lo tanto, hay bien un cambio de fase entre las contribuciones de esta estructura a las imágenes adquiridas sucesivamente en el transcurso del barrido axial.

10 Como variante, la pila de imágenes-líneas puede procesarse por análisis de Fourier, con el fin de sacar la envoltura de las franjas de interferencia (la amplitud de la señal de interferencia) y eliminar la parte no modulada de la señal (señal no interferométrica).

15 Es conveniente enfatizarse en el presente documento que, de conformidad con la invención, el barrido unidireccional del objeto sobre toda la profundidad hecha imagen, con el fin de producir una imagen en corte axial permite, igualmente, adquirir al mismo tiempo una señal interferométrica (por supuesto, un segundo barrido unidireccional se puede realizar, a continuación, en el sentido opuesto). En cambio, tanto en la técnica citada anteriormente de Yu Chen et al. como en OCT de campo completo, no hay un barrido de la profundidad del objeto para adquirir la señal interferométrica. Esta última se adquiere gracias a un desfase variable y periódico realizado por desplazamiento del espejo de referencia sobre un rango total inferior a 1 micrómetro normalmente.

20 Se puede obtener una imagen tridimensional del objeto yuxtaponiendo unas imágenes en cortes adyacentes. Esto necesita un barrido en una dirección perpendicular tanto a la línea de adquisición como al eje óptico del objetivo LO2. Este barrido se puede obtener desplazando el objeto (o, de manera equivalente, el microscopio interferométrico o la línea de iluminación) por medio de un estadio de traslación lateral.

25 Un mismo procesador PR puede pilotar los accionadores TR1, TR2, TR3 y, llegado el caso, TRO (que pueden no ser o no ser únicamente, unos estadios de traslación) y procesar las pilas de imágenes-líneas adquiridas por el sensor CIM, siendo estas tareas interdependientes. El procesador PR puede ser un dispositivo dedicado, que comprende uno o varios microprocesadores o un ordenador equipado con tarjetas de interfaz oportunas. Como variante, se pueden utilizar dos procesadores distintos para el pilotaje del sistema de accionamiento y para la reconstrucción de las imágenes.

30 La invención se ha descrito con referencia a un modo de realización particular, basado en un microscopio interferométrico de Linnik. Sin embargo, existen otros tipos de microscopios interferométricos y son convenientes para la implementación de la invención. Se pueden citar, por ejemplo, los microscopios de Michelson (figura 2A) y de Mirau (figura 2B) que comprenden un solo objetivo LO con un espejo de referencia MR y un separador de haz solidarios con dicho objetivo y alineados a lo largo de su eje óptico. Estos montajes son más simples y más compactos que el de Linnik, pero la introducción de un dispositivo de compensación ajustable de la dispersión, así como el desplazamiento eventual de elemento(s) del interferómetro, son más difíciles. Unos ejemplos de realizaciones basadas en las configuraciones de Michelson y de Mirau que utilizan un medio de inmersión IM para compensar el desvío de dispersión entre los dos brazos del interferómetro sin necesidad de partes en movimiento en el interior del interferómetro se ilustran en las figuras 5A (configuración de Michelson con objetivo de aire), 5B (configuración de Michelson con objetivo de inmersión), 5C (configuración de Michelson con ventana de observación HO y objetivo de aire - a anotar que la ventana puede reemplazarse por un agujero y/o el objetivo ser de inmersión; si la ventana está presente, debe preverse una lámina transparente del mismo grosor en el brazo de referencia), 5D (configuración de Mirau con objetivo de aire), 5E (configuración de Mirau con objetivo de inmersión y ventana), 5F (configuración de Mirau con objetivo de aire y ventana y 5G (configuración de Mirau con objetivo de inmersión, sin ventana).

50 En los dispositivos de las figuras 5D a 5G, el espejo de referencia está formado por una lámina transparente que presenta una pequeña zona reflectante en su centro, realizada, por ejemplo, por un depósito metálico o dieléctrico o inducida por el índice de refracción de la propia lámina. En los modos de realización de las figuras 5C, 5D y 5G, la zona reflectante está formada sobre la cara trasera de la lámina transparente, que sirve para compensar la dispersión introducida, en el brazo objeto, por la ventana (figura 5C) o el separador de haz (5D, 5G). Si no, está formada sobre la cara delantera de la lámina. Además, en los modos de realización de las figuras 5D a 5G, el separador de haz está constituido por una lámina que presenta un coeficiente de reflexión adaptado (entre un 10 % y un 50 % normalmente) sobre una de sus caras; la separación se hace sobre la cara delantera de esta lámina en el caso de las figuras 5D y 5G y sobre la cara trasera en el caso de las figuras 5E y 5F. Las caras "delantera" y "trasera" se definen con respecto a la dirección de propagación del haz luminoso incidente sobre la lámina.

La figura 6 ilustra otro modo de realización de la invención en el que:

- 60 - El microscopio interferencial MI es del tipo de Linnik;
 - Los objetivos LO1, LO2 son del tipo de inmersión. De este modo, la compensación de dispersión está realizada por dos gotas de un medio de inmersión IM. Cada una de estas gotas está enclaustrada entre un objetivo (LO1, LO2) y una lámina transparente (LT1, LT2). El espejo de referencia está realizado por la cara trasera (opuesta al objetivo LO1) de la lámina LT1 (cara eventualmente procesada para ajustar su coeficiente de reflexión), mientras que el objeto OBJ se aplica contra la cara trasera de la lámina LT2.
 65 - La fuente de luz policromática SLP es espacialmente coherente. Comprende una fuente policromática primaria,

que es, en particular, un diodo superluminiscente DSL que presenta una longitud de coherencia temporal del orden de 1 a 20 μm , así como una fibra óptica monomodo FMM (opcional). La luz generada por el diodo superluminiscente se inyecta en un extremo denominado de entrada de la fibra FMM, sale del extremo opuesto (de salida) de dicha fibra y se colima por una lente LE.

- 5
- La coherencia espacial de la iluminación permite realizar un filtrado confocal particularmente simple, que no necesita una hendidura y que incluye solamente una lente cilíndrica LC divergente en el lado de la fuente de luz (de hecho, del extremo de salida de la fibra óptica) y una lente esférica LF dispuesta delante del sensor CIM, de tipo monodimensional. La lente cilíndrica LC crea un astigmatismo haciendo el haz luminoso divergente en el plano de la figura, pero no en un plano perpendicular (la línea con puntos PP representa una sección de los haces luminosos en el plano de la figura, mientras que la línea con guiones PL representa una sección de los haces luminosos en un plano perpendicular a la figura). Esto da como resultado una iluminación del objeto y del espejo de referencia en forma de línea orientada según el plano de la figura; la lente LF crea una imagen de esta línea sobre el sensor óptico monodimensional; la luz que no proviene de la línea de observación alcanza la línea única de píxeles del sensor con una intensidad atenuada, que realiza, de este modo, un filtrado confocal monodimensional. Como variante, se podría utilizar una lente cilíndrica convergente para hacer, igualmente, el sistema astigmático.
 - El barrido axial está realizado desplazando el microscopio interferométrico en su conjunto - comprendido el extremo de salida de la fibra FMM y el sistema óptico astigmático formado por las lentes LE y LC - con respecto al objeto OBJ y a la lámina transparente LT2. El sensor óptico CIM y la lente asociada LF pueden desplazarse indiferentemente con el microscopio interferométrico o no (la segunda opción se ilustra en la figura); sin embargo, es necesario que el sensor CIM permanezca en el plano focal (o, más generalmente, el plano de enfoque) de la lente LF.

25 Las figuras 3A y 3B recuerdan el principio de funcionamiento de un microscopio confocal de hendidura. En un plano perpendicular a la hendidura de filtrado espacial FO (plano zy en la figura 3A), la hendidura FO deja pasar la luz que proviene de la región del objeto donde la hendidura FE está focalizada por el objetivo LO (haz representado en línea continua) y atenúa la luz que proviene de otras regiones del objeto (haces en líneas con puntos, por ejemplo). En un plano paralelo a la hendidura (plano zx en la figura 3A), un filtrado de este tipo no se produce. El resultado es que se define una "línea de observación" LDO en el plano de enfoque del objetivo y orientada como las hendiduras FE y FO. Los planos de enfoque son los planos, perpendiculares al eje óptico, donde se forman las imágenes de la hendidura de entrada FE, si está presente. Más generalmente, el plano de enfoque del brazo objeto es aquel donde se forma la línea de observación LDO; su plano conjugado es el plano de enfoque en el brazo de observación; y el plano de enfoque del brazo de referencia es aquel donde se forma una línea de iluminación en este brazo. Si el haz luminoso de entrada está colimado en el plano ortogonal a la línea de observación o de iluminación, como en las figuras 1A, 1B, los planos de enfoque se corresponden con los planos focales del o de los objetivos.

40 De este modo, un aparato según la invención comprende dos medios que permiten seleccionar la luz que proviene de una región determinada del objeto: el filtrado confocal y la "puerta de coherencia" definida por la interferometría de luz "blanca". Estos medios son complementarios: el filtrado confocal mejora las prestaciones de la imagenología interferométrica reduciendo el "fondo" producido por la difusión de la luz y por unas reflexiones parásitas. De este modo, una mayor parte de la dinámica del sensor se utiliza para detectar la señal interferométrica útil.

45 En efecto, los tejidos biológicos son altamente difusores; el número de fotones balísticos (que no han experimentado una difusión que no sea una sola retrodifusión) disminuye exponencialmente con la profundidad. Ahora bien, la interferometría - incluso de escasa longitud de coherencia - no permite distinguir entre un fotón balístico que proviene de la región hecha imagen en el objeto y un fotón que proviene de otras regiones del objeto y que ha recorrido un trayecto óptico de la misma longitud debido a las difusiones experimentadas. Esto da como resultado una señal interferométrica parásita que se añade a la señal interferométrica útil, que crea unos artefactos en las imágenes y que limita la profundidad de imagenología accesible. En el dispositivo de la invención, el filtrado confocal elimina una gran parte de los fotones que no sean los fotones balísticos que provienen de la zona hecha imagen, que suprime este fondo; ciertamente, el filtrado confocal de hendidura no es perfecto, ya que no actúa más que en una dimensión, pero la reducción en este "ruido de fondo" sigue siendo significativa.

55 Con respecto a un filtrado confocal solo, la utilización de una detección interferométrica permite una considerable amplificación de la señal útil (en el caso de la microscopía confocal "pura", es la escasa relación señal sobre ruido la que limita la profundidad de adquisición). Por lo tanto, en el aparato de la invención hay sinergia - y no yuxtaposición simple - entre los dos principios involucrados: microscopía por interferometría de escasa longitud de coherencia y microscopía confocal de hendidura.

60 La utilización de un filtrado confocal por un agujero, en lugar de un filtrado confocal de hendidura, ralentizaría considerablemente la adquisición de las imágenes (sería necesario un barrido suplementario) sin aportar una ventaja significativa en términos de resolución y/o de profundidad de imagenología accesible.

65 No obstante, el dispositivo puede presentar unas prestaciones aceptables incluso si el filtrado confocal no es eficaz. Esta situación se presenta cuando se utilizan unos objetivos de profundidad de campo relativamente grande

(normalmente superior o igual a 10 μm) y/o unas hendiduras a la entrada y a la salida poco estrechas y/o un detector monodimensional que tiene unos píxeles de gran tamaño (rectangulares, por ejemplo) o que presentan varias filas de píxeles. En este caso, es la detección interferométrica de escasa coherencia temporal la que determina las prestaciones en términos de resolución axial y de profundidad de imagenología accesible. Pero el interés de la iluminación según una línea y la detección de esta línea por un sensor monodimensional todavía está presente, ya que siempre permite producir unas imágenes en corte vertical a gran velocidad.

La técnica de la invención está mucho mejor adaptada que la OCT de campo completo a las aplicaciones *in vivo*. En estas aplicaciones, el "objeto" es un organismo vivo (por ejemplo, un paciente) que es susceptible de moverse en el transcurso de la adquisición de la señal interferométrica, que interfiere a esta última. De conformidad con la invención, se adquiere una señal interferométrica por línea, en un tiempo muy corto, por ejemplo, del orden de 10^{-4} segundo, lo que permite librarse de los problemas de movimiento del objeto. En cambio, en OCT de campo completo, la señal interferométrica se adquiere por combinación de varias imágenes bidimensionales adquiridas por una cámara matricial, lo que es mucho más largo.

Con respecto a la técnica citada anteriormente de Yu Chen et al., la invención presenta la ventaja de proporcionar directamente unas imágenes de rodajas verticales del objeto observado, a menudo, más útiles que unas imágenes "de frente".

Se ha realizado un prototipo de la invención, que utiliza una iluminación por lámpara halógena, de los objetivos con apertura numérica de 0,15 en el aire y una configuración de Linnik. Este prototipo se ha probado utilizando en calidad de objeto observado una tarjeta de visualización de un haz infrarrojo de un grosor de alrededor de 500 μm , que comprende dos capas de plástico que encierran un plástico granular que contiene unas microestructuras, una región no difusa y una capa de fluoróforos. El mismo objeto se ha hecho imagen utilizando un aparato de OCT de barrido comercial (ThorLabs). La figura 5A muestra la imagen (corte vertical) obtenida con el aparato comercial, la figura 5B la obtenida con el prototipo de la invención. Se puede anotar hasta qué punto es mejor la resolución en el caso de la invención.

Es interesante anotar que, con un dimensionamiento apropiado, un aparato según la invención puede presentar una resolución espacial esencialmente "isotrópica", del orden de 1 μm tanto axial como lateralmente.

REIVINDICACIONES

1. Aparato de tomografía óptica que comprende:

- 5 - una fuente de luz policromática (SLP);
 - un sensor óptico monodimensional (CIM);
 - un microscopio interferométrico (MI) que comprende: un primer brazo (BREF), denominado de referencia, en cuyo extremo está dispuesto un espejo denominado de referencia (MR); un segundo brazo (BOBJ), denominado objeto; un separador de haz (SF) que acopla dichos primer y segundo brazos a dicha fuente de luz policromática y a dicho sensor; y al menos un objetivo (LO1, LO2, LO), estando dicho espejo de referencia dispuesto
 10 en un plano de enfoque, situado en el brazo de referencia, de dicho o de un dicho objetivo (LO, LO1);
 - un sistema de filtrado espacial confocal monodimensional (FE, FS, CIM), que coopera con dicha fuente de luz policromática para iluminar un objeto a observar (OBJ), dispuesto en dicho brazo objeto (BOBJ), según una línea, denominada línea de observación (LDO), que yace en un plano de enfoque, situado en el brazo objeto, de dicho o de un dicho objetivo (LO, LO2) y para formar una imagen monodimensional de dicha línea de observación sobre dicho sensor; **caracterizado por que** comprende, igualmente:
 15 - un sistema de accionamiento (PR, TR1, TR2, TR3) configurado para desplazar dicha línea de observación paralelamente a un eje óptico que se extiende a lo largo del brazo objeto de dicho o de un dicho objetivo (LO, LO2) para realizar un barrido unidireccional de dicho objeto, manteniendo al mismo tiempo una diferencia de trayectoria óptica nula entre, por una parte, un primer trayecto que va de dicho separador de haz a dicho espejo de referencia y retorno recorriendo dicho brazo de referencia y, por otra parte, un segundo trayecto que va de dicho separador de haz a dicha línea de observación y retorno recorriendo dicho brazo objeto; y
 20 - un procesador (PR) programado o configurado para reconstituir una imagen bidimensional de una sección de dicho objeto a observar, orientada paralelamente a dicho eje óptico que se extiende a lo largo del brazo objeto de dicho objetivo (LO, LO2), a partir de una pluralidad de imágenes interferométricas monodimensionales adquiridas por dicho sensor en correspondencia con posiciones diferentes de dicha línea de observación en el transcurso de dicho barrido unidireccional.
 25

2. Aparato según la reivindicación 1, en el que dicho sistema de filtrado espacial confocal monodimensional está dispuesto, igualmente, para seleccionar la luz retrodifundida por dicho objeto y que proviene de dicha línea de observación (LDO).
 30

3. Aparato según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho sistema de accionamiento está configurado para provocar un desplazamiento relativo, paralelo a dicho eje óptico de dicho objetivo (LO) o de un dicho objetivo colocado en el brazo objeto (LO2), de dicho objeto a observar con respecto a dicho microscopio interferométrico, sin modificar las longitudes ópticas de dicho brazo de referencia y de dicho brazo objeto.
 35

4. Aparato según una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho sistema de accionamiento está configurado para desplazar el objetivo (LO2) en cuyo plano de enfoque se encuentra dicha línea de observación y para modificar la longitud óptica de dicho brazo de referencia para mantener nula la diferencia de trayectoria óptica entre dicho primer trayecto y dicho segundo trayecto.
 40

5. Aparato según una de las reivindicaciones anteriores que comprende, igualmente, un dispositivo de compensación de la dispersión (DCD, IM) dispuesto sobre al menos uno de entre dicho brazo objeto y dicho brazo de referencia, estando dicho sistema de accionamiento configurado para actuar, igualmente, sobre dicho dispositivo de compensación de la dispersión en el transcurso de dicho barrido unidireccional.
 45

6. Aparato según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho microscopio interferométrico es un microscopio de Linnik, que comprende un primer objetivo (LO1) dispuesto sobre dicho brazo de referencia y un segundo objetivo (LO2) dispuesto sobre dicho brazo objeto, siendo dichos brazos de referencia y objeto disjuntos.
 50

7. Aparato según la reivindicación 3, en el que dicho microscopio interferométrico es un microscopio de Linnik, que comprende un primer objetivo de inmersión (LO1) dispuesto sobre dicho brazo de referencia y un segundo objetivo de inmersión (LO2) dispuesto sobre dicho brazo objeto, siendo dichos brazos de referencia y objeto disjuntos.
 55

8. Aparato según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho microscopio interferométrico se elige de entre un microscopio de Michelson y un microscopio de Mirau, que comprenden un objetivo único (LO).
 60

9. Aparato según una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicho microscopio interferométrico es un microscopio de Mirau que comprende un objetivo único (LO), siendo dicho espejo de referencia (MR) y dicho separador de haz (SF) solidarios con dicho objetivo y estando alineados a lo largo de su eje óptico, estando dicho sistema de accionamiento configurado para provocar un desplazamiento relativo, paralelo a dicho eje óptico, de dicho microscopio interferométrico con respecto al objeto a observar, estando un medio de inmersión (IM) dispuesto, por una parte, entre dicho separador de haz y el objeto a observar y, por otra parte, entre dicho separador de haz y el espejo de referencia.
 65

10. Aparato según una de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha fuente de luz policromática (DSL, FMM) es

espacialmente coherente y dicho sistema de filtrado confocal comprende un sistema óptico astigmático (LC, LE) dispuesto entre dicha fuente de luz policromática y el separador de haz (SF), una lente (LF) dispuesta delante de dicho sensor óptico monodimensional (CIM) y el propio sensor óptico monodimensional, dispuesto en un plano de enfoque de dicha lente.

- 5
11. Procedimiento de tomografía óptica que comprende las siguientes etapas:
- 10
- a) procurar una fuente de luz policromática (SLM);
- b) utilizar un separador de haz (SF) para dirigir una primera fracción de luz emitida por dicha fuente según un primer trayecto, denominado trayecto de referencia (TREF) y una segunda fracción de luz emitida por dicha fuente según un segundo trayecto, denominado trayecto objeto (TROB);
- 15
- c) utilizar un objetivo (LO2) que coopera con un sistema de filtrado espacial confocal monodimensional (FS) para focalizar dicha segunda fracción de luz para iluminar un objeto semitransparente (OBJ) a observar según una línea, denominada línea de observación, situada en un plano de enfoque de dicho objetivo y para recoger la luz retrodifundida por dicho objeto iluminado de este modo;
- d) utilizar dicho objetivo u otro objetivo (LO1), para focalizar dicha primera fracción de luz sobre un espejo de referencia (MR) dispuesto sobre dicho trayecto de referencia y para recoger la luz reflejada por dicho espejo;
- 20
- e) utilizar dicho separador de haz (SF) para combinar la luz retrodifundida por dicho objeto con la luz reflejada por dicho espejo y dirigirla hacia un sensor óptico monodimensional (CIM);
- f) utilizar dicho sistema de filtrado espacial confocal monodimensional (FS) para formar una imagen monodimensional de dicha línea de observación sobre dicho sensor;
- 25
- g) utilizar un sistema de accionamiento (PR, TR1, TR2, TR3, TRO) para desplazar dicha línea de observación paralelamente a un eje óptico de dicho objetivo (LO2) para realizar un barrido unidireccional de un objeto a observar sobre dicho trayecto objeto, manteniendo al mismo tiempo una diferencia de trayectoria óptica nula entre dicho trayecto de referencia y dicho trayecto objeto; y
- h) utilizar un procesador (PR) para reconstituir una imagen bidimensional de una sección de dicho objeto a observar, orientada paralelamente a dicho eje óptico, a partir de una pluralidad de imágenes interferométricas monodimensionales adquiridas por dicho sensor en correspondencia con posiciones diferentes de dicha línea de observación en el transcurso de dicho barrido unidireccional.
- 30
12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que dicha etapa f) comprende, igualmente, una selección de la luz que proviene de dicha línea de observación (LDO).
- 35
13. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11 o 12, en el que dicha etapa g) se implementa provocando un desplazamiento relativo, paralelo a dicho eje óptico, de dicho objeto a observar con respecto a dicho microscopio interferométrico sin modificar las longitudes ópticas de dicho brazo de referencia y de dicho brazo objeto.
- 40
14. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11 o 12, en el que dicha etapa g) se implementa desplazando el objetivo en un plano de enfoque en el que se encuentra dicha línea de observación y modificando la longitud óptica de dicho brazo de referencia para mantener nula la diferencia de trayectoria óptica entre dicho primer trayecto y dicho segundo trayecto.
- 45
15. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11 a 14 que comprende, igualmente, una etapa i) de compensación de las modificaciones de la dispersión inducidas por el desplazamiento de la línea de observación en el interior de dicho objeto a observar en el transcurso de dicho barrido unidireccional.
16. Procedimiento según una de las reivindicaciones 11 a 15, en el que dicho objeto a observar es un tejido biológico.

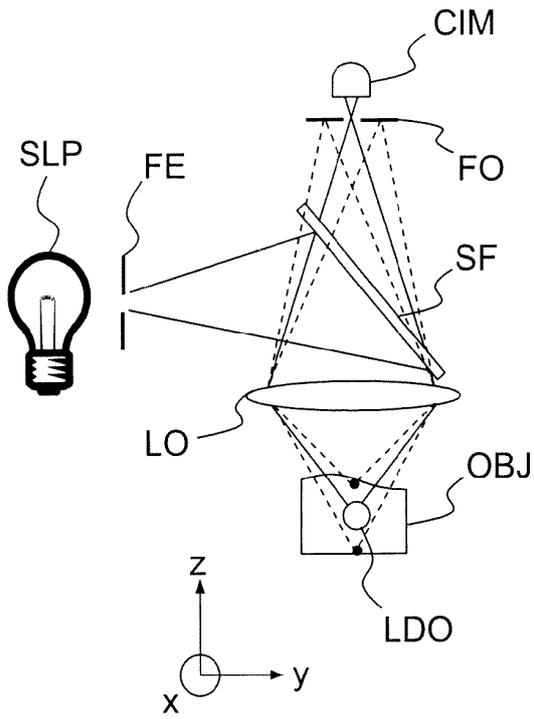


FIG.3A

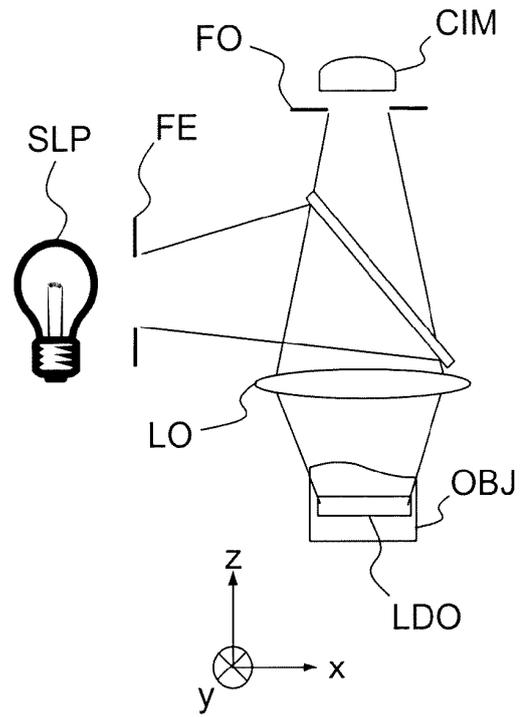


FIG.3B

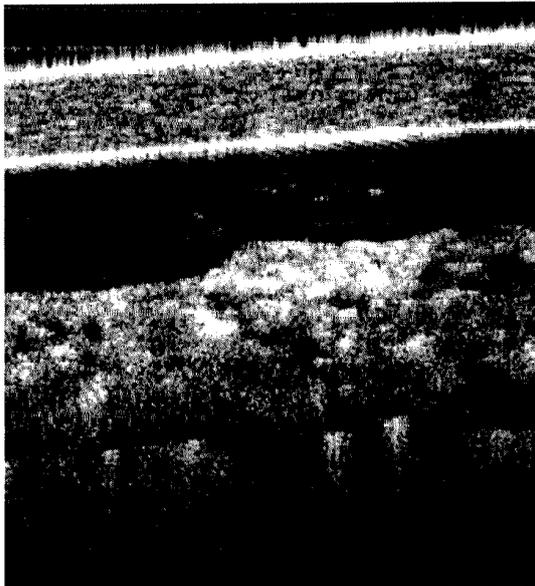


FIG.4A

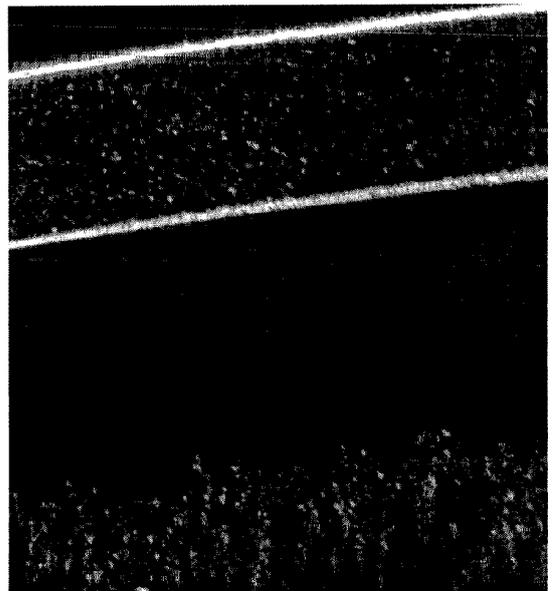


FIG.4B

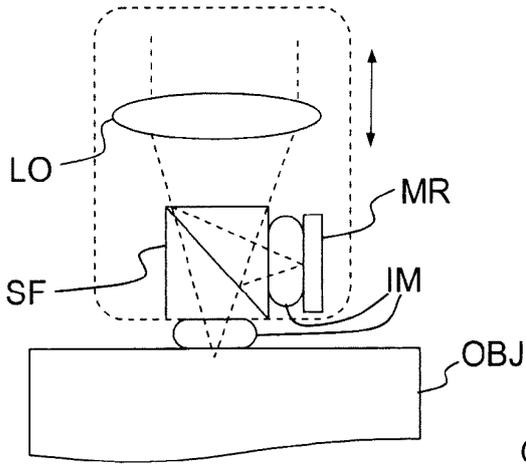


FIG. 5A

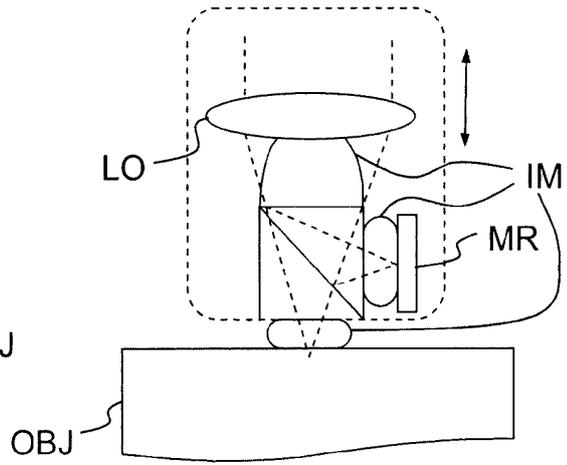


FIG. 5B

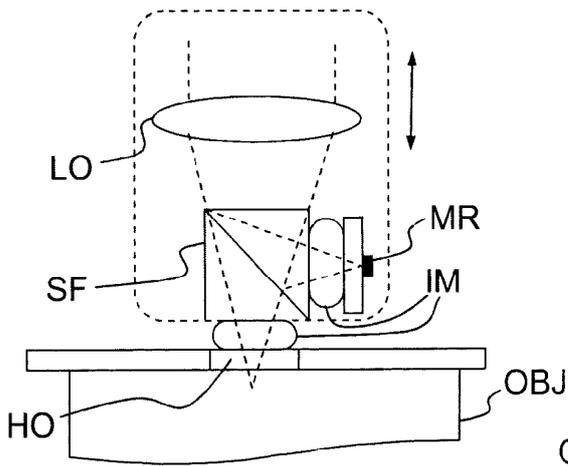


FIG. 5C

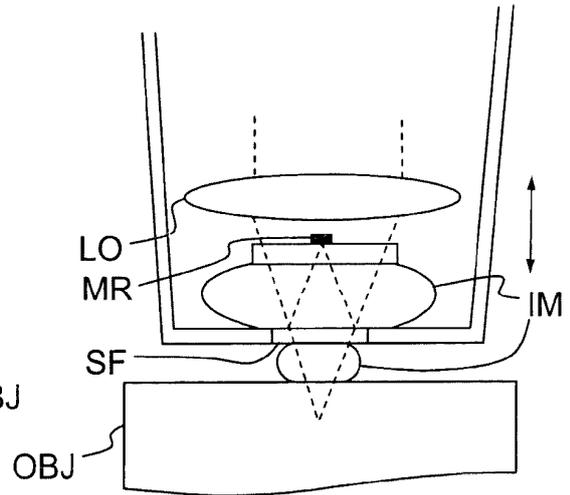


FIG. 5D

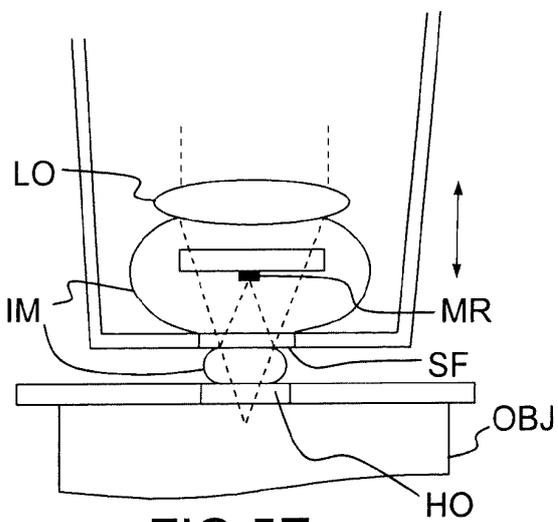


FIG. 5E

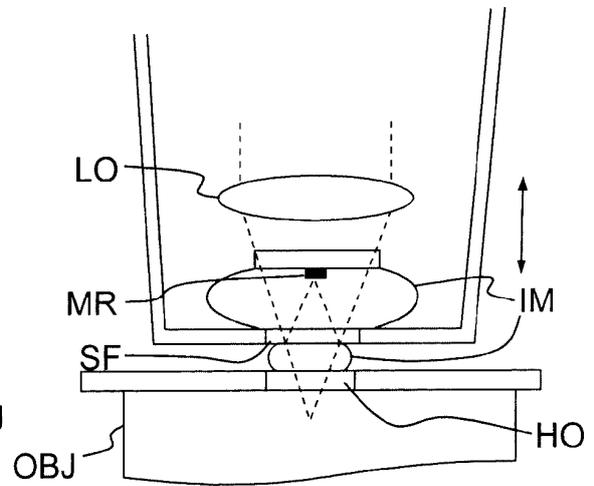


FIG. 5F

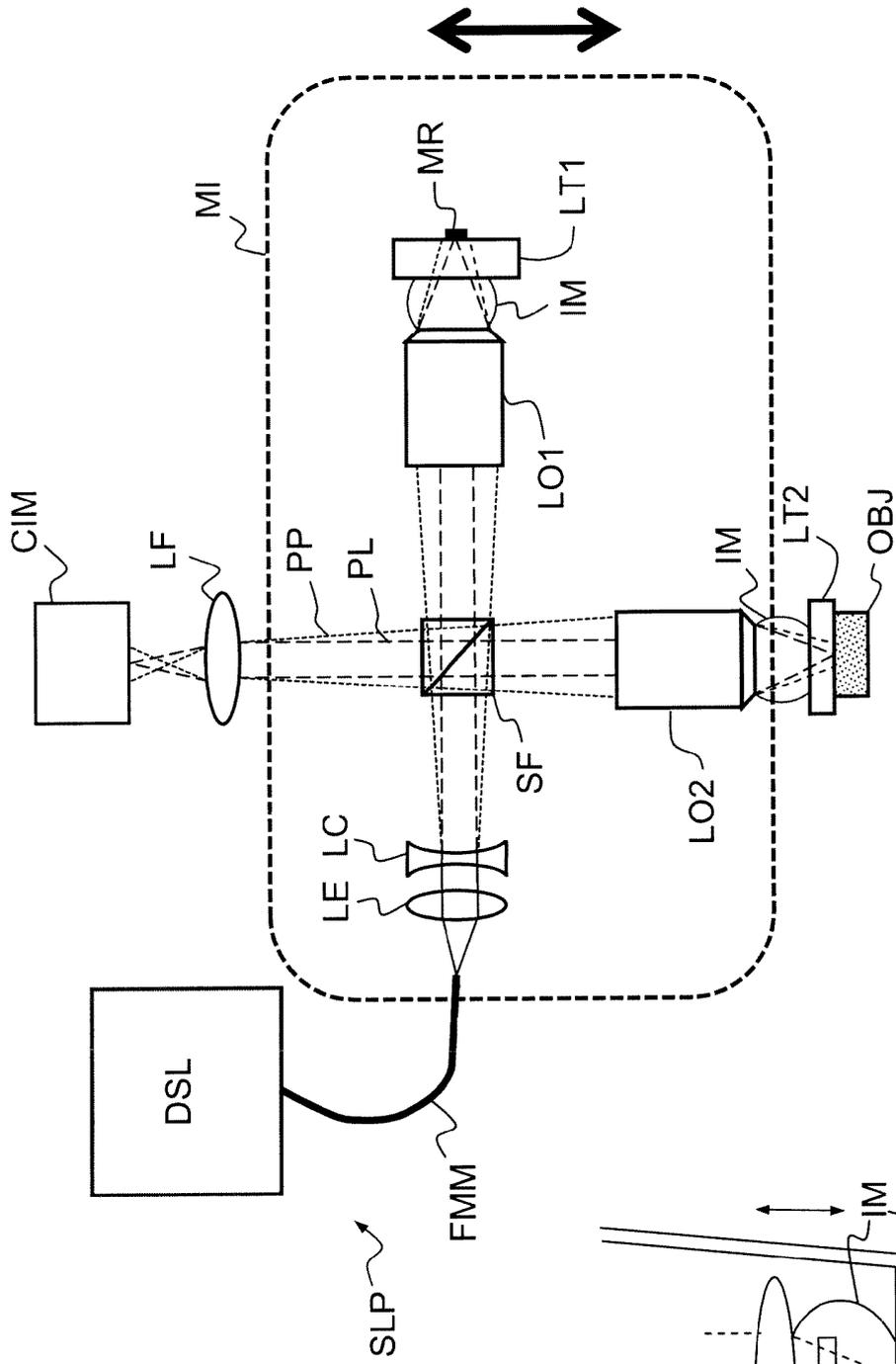


FIG. 6

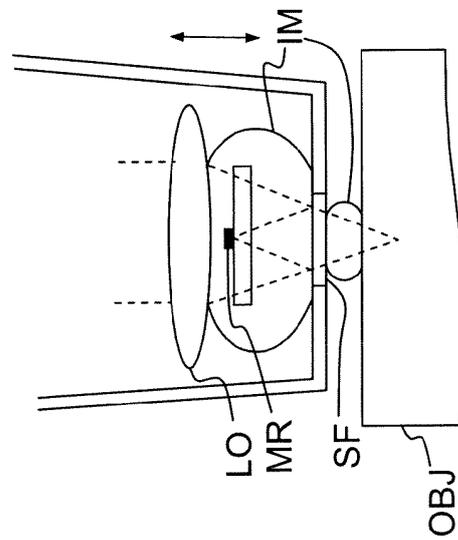


FIG. 5G