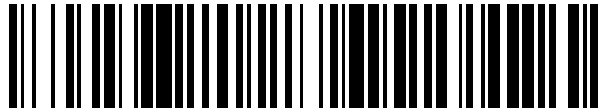


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 800 680**

51 Int. Cl.:

G02B 21/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2015 PCT/US2015/045121**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.02.2016 WO16025751**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2015 E 15831576 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020 EP 3180646**

54 Título: **Microscopio confocal multimodal de escaneo de línea y escaneo de muestras**

30 Prioridad:

13.08.2014 US 201462037030 P

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

04.01.2021

73 Titular/es:

**GAREAU, DANIEL SUMMER (100.0%)
500 East 63rd Street Apt. 20A
New York, NY 10065, US**

72 Inventor/es:

GAREAU, DANIEL SUMMER

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 800 680 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

Microscopio confocal multimodal de escaneo de línea y escaneo de muestras

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reclama el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos N.º 62/037030, titulada "Microscopio confocal de escaneo de línea y escaneo de muestras", presentada el 13 de agosto de 2014. Las enseñanzas completas de las solicitudes anteriores se incorporan aquí como referencia.

10

Antecedentes

El cáncer es la segunda causa de muerte en los EE. UU., matando a aproximadamente medio millón de personas por año. La detección temprana facilita la extirpación de tumores primarios, lo cual es crítico para prevenir metástasis mediante la extirpación de tumores primarios. La fase de crecimiento temprano es una ventana de detección ampliamente preferible a la fase posterior de iniciación metastásica.

15

La capacidad de determinar si existe cáncer en el cuerpo generalmente está limitada por la capacidad de extraer una muestra de tejido y examinar microscópicamente el tejido para detectar la presencia de células que tienen rasgos conocidos de cáncer. Este proceso generalmente se completa cortando el tejido en secciones delgadas para lograr una resolución que es de un orden de magnitud menor que las células, tiñendo las secciones con productos químicos que etiquetan las células y otros componentes del tejido, y colocando las secciones delgadas en un microscopio para su visualización y evaluación.

20

La microscopía confocal es una técnica alternativa para la formación de imágenes de células en tejidos que no requiere cortar físicamente tejido, también conocida como seccionamiento físico. En su lugar, la microscopía confocal implementa el seccionamiento óptico, donde se forman imágenes de diferentes planos focales del tejido en lugar del seccionamiento físico. Los microscopios confocales sondan un punto dentro del tejido y escanean el punto en dos dimensiones para formar una imagen.

25

30

Sin embargo, las técnicas actuales para formar imágenes de tejido mediante microscopía confocal son limitadas en ciertos aspectos. En un ejemplo, la microscopía confocal no logra una imagen continua con un campo de visión amplio (p. ej. mayor de aproximadamente 1 cm) y alta resolución (p. ej., menos de aproximadamente 5 µm). En otro ejemplo, la microscopía confocal no proporciona la información necesaria para ejecutar un análisis patológico comparable a la histopatología, que es el estándar preeminente. En un ejemplo adicional, la microscopía confocal es lenta y engorrosa, evitando su uso en quirófanos o salas de perioperatorio. El documento WO2013/165576 divulga un microscopio confocal de acuerdo con la técnica anterior.

35

Por consiguiente, existe una necesidad continua de sistemas de microscopía confocal mejorados y técnicas correspondientes.

40

Sumario

Las realizaciones de la presente divulgación están dirigidas a sistemas mejorados de microscopio confocal y métodos de análisis que emplean los mismos. En realizaciones no limitantes, dichos sistemas pueden emplearse como dispositivos quirúrgicos de patología junto a la cama para su uso en métodos de análisis que proporcionan una determinación rápida de la presencia o ausencia de cáncer en el tejido biológico (por ejemplo, tejido biológico humano). Un microscopio confocal según la invención se define en la reivindicación 1, y la reivindicación 10 define el método correspondiente de la invención.

45

50

Tal y como se comenta con detalle a continuación, las realizaciones de los microscopios confocales divulgados incluyen una fuente de luz (por ejemplo, una fuente de luz coherente), una platina móvil que se adapta para recibir una muestra, una pluralidad de detectores de luz y un sistema óptico adaptado para dirigir la luz de la fuente de luz a la muestra y la luz de la muestra a la pluralidad de detectores de matriz lineal.

55

Por ejemplo, la luz coherente emitida por la fuente de luz (p. ej., un láser) se recibe por el sistema óptico y se enfoca en una línea (por ejemplo, por una lente cilíndrica del sistema óptico). Esta línea enfocada de luz incidente es dirigida por el sistema óptico sobre un plano focal de interés de la muestra objetivo sujeta a la platina. Al menos una parte de la luz incidente reflejada desde el plano focal de la muestra, o emitida desde el plano focal de la muestra por fluorescencia en respuesta a la luz incidente, se recibe y enfoca por el sistema óptico (por ejemplo, un objetivo) en la pluralidad de detectores de matriz lineal, que mide la luz detectada como función del tiempo. El sistema óptico puede configurarse adicionalmente de modo que la ruta de la luz incidente antes de la incidencia sobre la muestra y la ruta de la luz detectada reflejada o emitida fluorescentemente de la muestra sigan diferentes rutas.

60

Las propiedades de luz detectadas variables en tiempo cambian a medida que la platina mueve la muestra con respecto a la línea iluminada, haciendo que la línea golpee y, por lo tanto, sondee diferentes segmentos de la muestra.

65

5 La platina puede moverse para dirigir la línea a través de la muestra, permitiendo tomar mediciones ópticas para todo el plano focal de interés. Este proceso puede repetirse para múltiples planos focales para adquirir mediciones ópticas de la muestra como función del tiempo y la posición. Al menos una parte de la óptica, tiempo, y los datos de posición pueden transmitirse adicionalmente a un dispositivo informático en comunicación con un microscopio confocal que analiza los datos para generar imágenes tridimensionales de la muestra.

10 Las realizaciones de los microscopios confocales divulgados y las técnicas de análisis correspondientes representan un avance significativo. En particular, hasta hace poco, no ha sido factible realizar microscopía confocal utilizando detectores de matriz lineal porque la intensidad de la luz incidente necesaria para registrar una señal por el detector de matriz lineal daría como resultado un daño térmico al tejido o un fotoblanqueo de las moléculas de fluorescencia, en el caso en que la muestra incluye núcleos marcados con fluorescencia. Sin embargo, los detectores de matriz lineal han alcanzado recientemente una sensibilidad suficiente que les permite detectar señales de luz débiles de volúmenes microscópicos de tejido.

15 Las muestras de escaneo de línea con un microscopio confocal y la detección mediante un detector de matriz lineal ofrecen ventajas significativas en comparación con los microscopios confocales de escaneo de puntos que realizan la detección utilizando un enfoque bidimensional (p. ej., plano) de escaneo de rastreo. En un aspecto, los microscopios confocales de escaneo en línea son más simples y baratos de fabricar porque no requieren escaneo en dos direcciones independientes para formar una imagen bidimensional. Los microscopios de escaneo de puntos típicos usarán un espejo móvil (por ejemplo, espejo galvanométrico) de modo que un haz láser desviado se pueda inclinar en un objetivo con un ángulo variable que a su vez varía la posición lateral en el plano focal. La optoelectrónica requerida para mover el espejo y cronometrar el movimiento es compleja y los componentes, incluyendo el espejo en sí mismo que debe ser de "calidad láser", son caros. En otro aspecto, los microscopios confocales de escaneo de línea son capaces de formar una imagen más rápidamente que el tipo de escaneo de puntos porque agregan píxeles a la imagen una línea a la vez en lugar de un píxel a la vez. Un detector de matriz lineal típico puede tener miles de píxeles que puede registrar simultáneamente, mientras que un detector de puntos solo registra uno en un instante dado.

30 En una realización de la divulgación, se proporciona un microscopio confocal. El microscopio incluye: una fuente de luz; una platina adaptada para sujetar una muestra a la misma; una pluralidad de detectores de matriz lineal; y un sistema óptico. El sistema óptico incluye: una lente cilíndrica posicionada para recibir una primera luz emitida por la fuente de luz y enfocar la primera luz en una línea sobre un plano seleccionado de la muestra cuando se sujeta a la platina; y un objetivo posicionado para recibir una segunda luz de la muestra en respuesta a la incidencia de la primera luz sobre la muestra y enfocar la segunda luz sobre al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal, donde la platina se adapta aún más para colocar la muestra aproximadamente en el plano focal del objetivo y para mover la muestra con respecto a la línea enfocada de la primera luz.

35 Las realizaciones del microscopio confocal pueden incluir además uno o más de los siguientes, en cualquier combinación.

40 En una realización del microscopio confocal, la fuente de luz es una sola fuente láser.

45 En una realización, el microscopio confocal incluye además un troceador óptico y la fuente de luz incluye al menos dos láseres, emitiendo cada uno un haz láser diferente, donde el troceador óptico permite que cada haz láser diferente pase a la muestra en un momento diferente al de los otros haces láser.

50 En una realización, el microscopio confocal incluye además un sistema de cronómetro que mide la posición del troceador, identifica la fuente de luz para la cual el troceador permite que la primera luz ilumine la muestra y mide la duración de la iluminación de esa fuente de luz sobre la muestra.

55 En una realización del microscopio confocal, el sistema de cronómetro incluye un detector de movimiento, una luz de señalización y un detector de reloj colocado a ambos lados del troceador, en donde el detector de reloj genera una señal de reloj en respuesta a la detección de la luz de señalización que corresponde a la duración de la iluminación de la fuente de luz identificada sobre la muestra.

60 En una realización del microscopio confocal, el sistema de cronómetro incluye un detector de movimiento y un detector de reloj ubicado frente a la fuente de luz, en donde el detector de reloj genera una señal de reloj en respuesta a la detección de la iluminación de la fuente de luz identificada y en donde la señal de reloj corresponde a la duración de la iluminación de la fuente de luz identificada sobre la muestra.

65 En una realización del microscopio confocal, la platina traslada físicamente la muestra con respecto a la línea de la primera luz enfocada sobre la muestra sin movimiento de la primera luz.

En una realización del microscopio confocal, el sistema óptico incluye además un primer divisor de rayos colocado para reflejar la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra sobre una primera matriz de detectores lineales de la pluralidad de matrices de detectores lineales; y un segundo divisor de rayos posicionado para reflejar la segunda luz reflejada desde la muestra sobre una segunda matriz de detectores lineales de la pluralidad de matrices

de detectores lineales.

5 En una realización del microscopio confocal, la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra posee una longitud de onda diferente de la de la primera luz y en donde la segunda luz reflejada desde la muestra posee una longitud de onda aproximadamente igual a la de la primera luz.

10 En una realización del microscopio confocal, la ruta entre la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra y la primera matriz de detectores lineales es diferente de la ruta entre la segunda luz reflejada desde la muestra y la segunda matriz de detectores lineales.

15 En una realización de la divulgación, se proporciona un método de formación de imágenes de una muestra. El método incluye proporcionar un microscopio confocal que incluye: una fuente de luz; una platina adaptada para sujetar una muestra a la misma; una pluralidad de detectores de matriz lineal; y un sistema óptico. El sistema óptico incluye: una lente cilíndrica posicionada para recibir una primera luz emitida por la fuente de luz y enfocar la primera luz en una línea sobre un plano seleccionado de la muestra cuando se sujeta a la platina; y un objetivo posicionado para recibir una segunda luz de la muestra en respuesta a la incidencia de la primera luz sobre la muestra y enfocar la segunda luz sobre al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal, donde la platina se adapta aún más para colocar la muestra aproximadamente en el plano focal del objetivo y para mover la muestra con respecto a la línea enfocada de la primera luz. Las realizaciones del método incluyen además colocar la platina en una primera posición, donde la primera luz se enfoca en una línea sobre un primer plano seleccionado de la muestra; medir, por al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal, una intensidad en función del tiempo para la segunda luz enfocada en el primer plano focal seleccionado de la muestra; posicionar la platina en la segunda posición, diferente de la primera posición, donde la primera luz se enfoca en una línea sobre un segundo plano seleccionado de la muestra; y medir, por al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal, una intensidad en función del tiempo para la segunda luz enfocada en el segundo plano focal seleccionado de la muestra.

Las realizaciones del método pueden incluir además uno o más de los siguientes, en cualquier combinación.

30 En una realización del método, la primera posición seleccionada se traslada aproximadamente perpendicular a la dirección de la línea enfocada de la primera luz.

35 En una realización, el método incluye además adquirir una imagen óptica de la muestra de un dispositivo de captura de imagen digital separado del microscopio confocal, teniendo la imagen óptica un campo de visión más grande que la muestra.

40 En una realización, el método incluye además la visualización de la imagen óptica en un dispositivo de visualización en comunicación con un dispositivo informático de orientación, estando adaptado el dispositivo informático de orientación para recibir entradas de orientación vectorial de un usuario, en donde los objetivos vectoriales corresponden a una región de interés de la muestra.

45 En una realización del método, el dispositivo informático de orientación está en comunicación con la platina y la platina se adapta además para: recibir los objetivos vectoriales del dispositivo informático de orientación y colocar la muestra de manera que la primera luz se enfoque en una línea dentro de la región de interés de la muestra.

45 **Breve descripción de los dibujos**

Las figuras 1a-1c son ilustraciones esquemáticas de realizaciones de sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación;
 50 las figuras 2a-2b son ilustraciones esquemáticas de un esquema de iluminación y cronómetro empleado en ciertas realizaciones de los sistemas de microscopio confocal divulgados;
 la figura 3 es una ilustración esquemática de las rutas de iluminación y detección usadas en realizaciones de los sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación;
 las figuras 4a-4b son ilustraciones esquemáticas de canales de detección utilizados en realizaciones de los sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación;
 55 la figura 5 es una ilustración esquemática de una configuración óptica utilizada en realizaciones de los sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación;
 la figura 6 es un diagrama de bloques esquemático de un esquema de escaneo de muestras usado en realizaciones de los sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación; y
 60 la figura 7 es un diagrama de bloques esquemático que ilustra un diseño de microscopio clínico que incorpora realizaciones de los sistemas de microscopio confocal de la presente divulgación.

Descripción detallada

65 Las realizaciones de la divulgación se discutirán ahora con referencia a las figuras. La figura 1a es una ilustración esquemática de una realización de un microscopio confocal (101) de la divulgación. El microscopio (101) incluye una fuente de luz (103), una lente cilíndrica (105), una pluralidad de detectores (107), un objetivo (109), un divisor de rayos

(111) y una platina (113). En la figura 1a, los sistemas de lentes se representan simbólicamente como lentes individuales (105) y (109) para mayor claridad de la descripción. Sin embargo, en figuras posteriores, comenzando en la figura 4, las lentes y las configuraciones ópticas se representan explícitamente.

5 La luz que emana de la fuente de luz (103) se enfoca como una línea en el plano de la muestra con la lente cilíndrica (105). Esta luz puede denominarse "luz de iluminación" en el presente documento. Entonces, la luz de iluminación se refleja y/o emana fluorescentemente hacia atrás desde la muestra. Esta luz de la muestra se divide desde la trayectoria del haz incidente (por el divisor de rayos 111) hacia el detector (107), que puede incluir uno o más detectores de matriz lineal. La luz detectada está condicionada por un sistema óptico conjugado (109) que mapea la línea enfocada de luz
10 incidente sobre la muestra en los uno o más de los detectores de matriz lineal (107) en un plano focal conjugado o planos focales conjugados (en el caso de detectores múltiples). La platina (113) traslada la muestra (p. ej., una muestra de tejido) en el espacio con respecto al sistema óptico (por ejemplo, 105, 109), permitiendo sondear porciones de toda la muestra.

15 En ciertas realizaciones del microscopio confocal divulgado (101), la línea de luz láser incidente se enfoca en, o muy cerca, de la superficie de una ventana en la que se coloca una muestra (por ejemplo, una muestra de tejido) y se utiliza una ruta óptica separada para formar imágenes de ese plano en un plano focal conjugado que contiene un detector de matriz lineal. El uso de las dos rutas separadas para la iluminación y la detección permite el acondicionamiento de los dos haces de luz de forma independiente (por ejemplo, colocando la lente cilíndrica (105) en la ruta de iluminación
20 para crear una línea de luz enfocada en el plano focal de la muestra).

En realizaciones adicionales del microscopio (101), el escaneo de una muestra de tejido (por ejemplo, tejido canceroso) se realiza moviendo la platina para trasladar la muestra (p. ej., una muestra de tejido) en el espacio con respecto al aparato que ilumina la muestra con la línea y la línea iluminada de imágenes en el plano del detector. En
25 una realización particular, no se requiere escaneo de haz (movimiento óptico del haz con respecto al microscopio).

La figura 1b presenta otra ilustración esquemática de una realización del microscopio confocal (101) en una configuración de detección de fluorescencia para su uso al permitir el contraste de formación de imágenes de manchas nucleares fluorescentes. Por ejemplo, el objetivo, L_{obj} objetivo (109) se expande en dos lentes para ilustrar que L_{obj} es un sistema de lentes que consiste en una lente compuesta y una lente del detector que trabajan juntas para
30 acondicionar la luz fluorescente y/o reflejada que regresa de la muestra antes de que la luz llegue a los detectores de matriz lineal.

La figura 1b ilustra además una configuración en la que el divisor de rayos (111) transmite la luz láser de iluminación y refleja la luz de emisión fluorescente. Como resultado, la luz incidente se transmite a través del divisor de rayos (111) mientras que la luz fluorescente emitida desde la muestra se refleja desde el divisor de rayos al detector (107), una matriz lineal de detectores de fluorescencia.

La figura 1c presenta una ilustración esquemática adicional de una realización del microscopio confocal (101) para lograr el contraste de formación de imágenes multimodal, siendo los dos modos reflectancia y fluorescencia. El modo de reflectancia proporciona contraste con la estructura del tejido de la muestra y el modo de fluorescencia proporciona contraste con los núcleos celulares de la muestra. En esta configuración, la luz detectada se separa en rutas de luz reflejada y fluorescente que son detectadas por detectores separados (107a, 107b, respectivamente). Cabe señalar que el divisor de rayos (que se muestra en las figuras 1a-1c) puede actuar para reflejar la luz de iluminación (figura
40 1a) o reflejar la luz detectada (figura 1b, figura 1c).

Las realizaciones del microscopio (101) representan un cambio de paradigma en la microscopía confocal. En un aspecto, la microscopía confocal convencional adquiere campos de visión cuadrados con una configuración confocal de escaneo de puntos. Por el contrario, las realizaciones del microscopio confocal (101) divulgado implementan el escaneo de línea para superar las limitaciones en el campo de visión a alta resolución. Esto significa que la línea puede ser más larga que el campo de visión cuadrado en los sistemas de escaneo de puntos predicados.
50

En otro aspecto, la microscopía confocal convencional emplea un haz láser de escaneo, normalmente logrado al enfocar el haz de iluminación de un espejo giratorio. Por el contrario, al emplear una platina de traslado, en lugar de un haz láser de escaneo, no hay curvatura de campo (que surge cuando se escanea un espejo giratorio). En la presente divulgación, la muestra se puede trasladar indefinidamente (sujeta al rango del motor que acciona la platina), extendiendo el campo de visión en la dirección perpendicular a la línea para que sea más grande que el campo de visión cuadrado de los sistemas de escaneo de puntos predicados. De esta manera, las realizaciones del microscopio confocal proporcionan un campo de visión sin restricciones en la dirección del movimiento de la platina.
60

La ventaja de eliminar la curvatura del campo de iluminación en la dirección de escaneo de la platina, como se ha analizado anteriormente, se combina con la ventaja de las rutas separadas de iluminación y detección, que es que el campo de visión tampoco está limitado por la curvatura del campo en la dirección de la línea de luz enfocada (aproximadamente perpendicular a la dirección de escaneo de la platina). Esto resulta del hecho de que la lente cilíndrica no tiene curvatura en su eje (el eje de la línea de luz enfocada) y, por lo tanto, puede extenderse en dimensión física para hacer una línea larga que sea recta (es decir, no sustancialmente curvada) en el espacio.
65

- 5 La ausencia de curvatura de campo en la dirección de la línea de luz enfocada, así como la ausencia de curvatura de campo en la dirección de traslado de la platina proporciona, dentro de límites razonables, un gran campo de visión. Por ejemplo, se puede lograr fácilmente un campo de visión de varios centímetros con realizaciones del microscopio confocal divulgado. Por el contrario, los microscopios estándar de alta resolución generalmente se limitan a los campos de visión de menos de 1 mm. Esto representa una mejora en el campo de visión de más de 10x, lo cual es altamente beneficioso cuando se examinan muestras de tejido extirpado, que generalmente son más grandes que el campo de visión de 1 mm.
- 10 Las realizaciones de la fuente de luz (103) pueden ser una fuente puntual coherente, como un láser. En ciertas realizaciones, la fuente láser está colimada. En realizaciones alternativas, la fuente láser no está colimada sino que es divergente en la dirección de curvatura de la lente cilíndrica (105) y la lente cilíndrica se puede omitir siempre que la luz se inyecte en el sistema para viajar a través del componente compuesto del sistema de objetivo antes de golpear la muestra y, por lo tanto, utilice la potencia de enfoque del objetivo en la dirección en que el haz láser no sea divergente. El parámetro importante del láser en este caso es que la divergencia (en grados) determinará la longitud de la línea en la muestra. Los factores de divergencia típicos de aproximadamente 3 grados son suficientes para el campo de visión de los objetivos estándar, pero la línea se puede extender utilizando una mayor divergencia láser.
- 15
- 20 Las realizaciones de la lente cilíndrica (105) pueden tener una apertura numérica que, en combinación con la longitud de onda de la luz que ilumina, produce una línea enfocada lo suficientemente pequeña como para resolver los detalles celulares y nucleares importantes del tejido biológico de manera que se pueda determinar el estado patológico de dicho tejido. Por ejemplo, la línea enfocada puede poseer un espesor menor o igual a aproximadamente 1 μ .
- 25 Las realizaciones de la pluralidad de detectores (107) pueden incluir un ancho de píxel en la dirección perpendicular a la matriz lineal, que es aproximadamente igual al espesor de la línea enfocada cuando se proyecta en el plano focal del detector. De esta manera, se logra la manipulación confocal en la detección de línea. La pluralidad de detectores también puede ser capaz de tener velocidades de adquisición de línea que sean proporcionales a la velocidad de desplazamiento de la platina (113). La sensibilidad de la pluralidad de detectores (por ejemplo, al menos uno de sensibilidad fotoeléctrica, ganancia electrónica y acondicionamiento de señal) proporciona una fuerte relación de señal-ruido. Por ejemplo, la relación de señal/ruido de cada uno de la pluralidad de detectores puede seleccionarse independientemente dentro del intervalo entre aproximadamente 10 y aproximadamente 100.
- 30
- 35 Las realizaciones del objetivo (109) pueden incluir lentes esféricas que están diseñadas para tener un plano focal aproximadamente plano. En este caso, mantener la apertura numérica alta (y por lo tanto mantener una buena resolución) requiere implementar lentes grandes. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, el objetivo puede poseer un diámetro seleccionado dentro del intervalo de aproximadamente 1,27 cm (0,5 pulgadas) a aproximadamente 3,81 cm (1,5 pulgadas). Las realizaciones alternativas del objetivo (109) pueden incluir diseños de vidrio especiales que producen una conjugación aproximadamente plana de la región del plano focal de la muestra sobre la cual la línea de iluminación incide en el plano focal del detector conjugado.
- 40
- 45 Las realizaciones del divisor de rayos (111) pueden incluir la implementación de un divisor de rayos de película que es una membrana extremadamente delgada (por ejemplo, aproximadamente 3-5 μ m). La ventaja de usar un divisor de rayos delgado es que las aberraciones esféricas se minimizan. Las realizaciones del divisor de rayos (111) también pueden incluir un divisor de rayos de placa que está polarizado (figura 3, elemento 11) para su uso al reflejar la luz al máximo junto con una placa de cuarto de onda (figura 3, elemento 8). Las realizaciones alternativas incluyen un divisor de rayos cromático (10), también conocido como divisor de rayos dicróico, para separar la luz de las longitudes de onda de emisión de fluorescencia.
- 50 Las realizaciones de la platina (113) pueden poseer una o más capacidades para facilitar la formación de imágenes. En un aspecto, la platina (113) posee un tamaño de escalón mínimo que es suficientemente pequeño para resolver detalles nucleares y celulares (por ejemplo, menor o igual a aproximadamente 0,1 μ m). En otro aspecto, la platina (113) posee una repetibilidad posicional que es lo suficientemente fina como para que los escaneos adyacentes que se adquieren secuencialmente se puedan unir sin problemas (es decir, sin un error de registro sustancial). En un aspecto adicional, la platina (113) posee un ajuste de inclinación y pendiente para alinear el plano de una ventana óptica (unida a la platina (113) y contra la cual se sostiene la muestra) con el plano de enfoque del objetivo dentro de aproximadamente 1 μ m de un valor deseado tal que, al trasladar la platina sobre grandes regiones laterales de la muestra, la posición de la ventana óptica no varía más de aproximadamente 5 μ m.
- 55
- 60 La discusión pasará ahora a las figuras 2a-2b, que ilustran realizaciones del microscopio confocal (101) que alternan la fuente de luz entre dos fuentes de luz (103a, 103b) emitiendo luz de iluminación de diferentes longitudes de onda. En ciertas realizaciones, el microscopio confocal (101) incluye además un troceador óptico (125) que actúa de manera similar a las palas giratorias de un ventilador. La función del troceador (125) es alternar qué luz de iluminación puede pasar a través del troceador y se enfoca como una línea sobre la muestra.
- 65 En una realización, un detector de movimiento (127) con una luz de señalización (línea discontinua) y un detector de reloj (línea continua) se coloca a ambos lados del ventilador del troceador y genera una señal de reloj que se utiliza

para indicar los períodos de iluminación por los láseres separados 103a, 103b. En realizaciones alternativas, la señal de reloj puede obtenerse omitiendo la fuente de luz en el detector de movimiento y en su lugar, detectar una pequeña porción de uno o ambos haces láser. Esta configuración del microscopio confocal da como resultado una salida de luz de iluminación que alterna en la fuente (es decir, entre los dos láseres) y, por lo tanto, la longitud de onda, así como una señal de cronómetro (131) que se usa para cronometrar la adquisición. De esta manera, los detectores de matriz lineal pueden obtener mediciones de línea separadas bajo las iluminaciones de longitud de onda láser separadas y el movimiento de la platina de retención de muestra puede cronometrarse de tal manera que, después de lograr todas las iluminaciones láser, la muestra se mueve a una nueva posición y el proceso se repite. En ciertas realizaciones, la señal de reloj (131) va directamente a los detectores de matriz lineal (18) (véanse las figuras 4 y 5) mientras que en otras realizaciones, la señal de reloj (131) va a un ordenador (28) (véase la figura 7) que a su vez activa los detectores de matriz lineal (18) para adquirir mediciones de la luz incidente.

En ciertas realizaciones (véase, por ejemplo, la figura 3) el microscopio confocal incluye una lente cilíndrica [7] que enfoca la luz de la fuente de luz (p. ej., [1], [2]) a través de una placa de cuarto de onda [8] en la muestra en una línea [9]. En el camino de regreso, donde la luz emana de la muestra de vuelta hacia el sistema óptico, un primer divisor de rayos [10] está colocado para reflejar la emisión de luz fluorescente a aproximadamente 90 grados con respecto a la iluminación de luz láser. De manera similar, un divisor de rayos de polarización [11] está colocado para reflejar la luz láser dispersada cuando la línea ilumina el tejido a aproximadamente 90 grados con respecto a la iluminación de la luz láser. Los dos divisores de rayos reflectantes dirigen la luz que emana de la muestra, tanto fluorescente [12] como reflejada [13] hacia dos canales de detección: un canal de detección de fluorescencia [14] (p. ej., un primer detector de matriz lineal) y un canal de detección de reflectancia [15] (p. ej., un segundo detector de matriz lineal).

En ciertas realizaciones, donde es desventajoso colocar una placa de cuarto de onda [8] en la ruta óptica, la placa de cuarto de onda [8] se omite y el divisor de rayos de polarización [11] se reemplaza por un divisor de rayos 50/50.

En ciertas realizaciones, el microscopio confocal (véase, por ejemplo, la figura 4) incluye además un objetivo con corrección infinita [16] para la detección óptica. La lente [16] está posicionada para enfocar a un plano que contiene la línea iluminada en el plano focal de la muestra [9] de modo que la suma de la distancia entre el objetivo [16] y el divisor de rayos [10] y la distancia entre el divisor de rayos [10] y la iluminación de línea [9] es aproximadamente igual a la longitud focal del objetivo [16]. Cabe señalar que, en términos de espaciado, el término "objetivo" en estas realizaciones se refiere al plano teórico de la lente delgada equivalente al objetivo, que puede ser una óptica compuesta de lentes múltiples.

Una lente del detector [17] se coloca a una distancia del objetivo que es la suma de la longitud focal del objetivo [16] y la longitud focal de la lente del detector [17]. Se coloca un detector de matriz lineal [18] en el plano focal de la lente del detector (es decir, a una distancia de la lente del detector que es aproximadamente la longitud focal de la lente del detector). La detección de fluorescencia por el canal de detección de fluorescencia [14] sigue el esquema de detección óptica por el canal de reflectancia [15].

En ciertas realizaciones, opcionalmente, se puede insertar un telescopio adicional [19] entre las lentes [16, 17] para ajustar la ampliación de la conjugación de la línea iluminada [9] en el detector de matriz lineal [18], permitir la adición de ópticas adicionales de acondicionamiento de luz [22], o simplemente alargar el sistema óptico para mayor comodidad. La colocación de las lentes [16, 17] es tal que (por ejemplo en este ejemplo) la distancia entre la lente [21] y la lente [17] es la suma de las longitudes focales de las dos lentes [21, 17], la distancia entre la lente [20] y la lente [21] es la suma de las longitudes focales de las dos lentes [20, 21] y la distancia entre la lente [20] y la lente [16] es la suma de las longitudes focales de las dos lentes [20, 16]. Se pueden agregar telescopios adicionales [22] de manera similar para modificar indefinidamente el microscopio confocal (101).

En ciertas realizaciones (Véase, por ejemplo, la Figura 5), la posición del objetivo [16] se ajusta de tal manera que la luz láser se enfoca por la lente cilíndrica [7] en el plano focal posterior del objetivo [16].

En ciertas realizaciones, la fuente láser no está colimada sino que es divergente en la dirección de curvatura de la lente cilíndrica [7] y la lente cilíndrica [7] puede omitirse por completo.

En ciertas realizaciones, el dispositivo descrito en este documento no contiene haces ópticos móviles. En cambio, la muestra se ladea, inclina y traslada con respecto al sistema óptico. El traslado es necesario para formar una imagen y el ladeo/inclinación es necesario para paralelizar la superficie de la muestra con el plano focal del objetivo. El esquema de traslado (Véase, por ejemplo, la figura 6) incluye una unidad de microposicionamiento de 5 dimensiones [23] que está rígidamente acoplada [24] al sistema óptico y que controla las posiciones x, y, y z de la muestra, así como el ladeo e inclinación de la muestra con respecto al plano perpendicular a la ruta de iluminación óptica [26] y la ruta de detección [27].

En ciertas realizaciones, un accesorio de muestra, que contiene el espécimen a fotografiar, está acoplado mecánicamente de manera ajustable [25] a la unidad de microposicionamiento [23]. El ladeo, inclinación y micromanipulación z se pueden utilizar para colocar la muestra de manera que su superficie esté en el plano focal del objetivo [16]. El micromanipulador y mueve la muestra perpendicularmente a la línea iluminada [9] en el plano focal

del objetivo [16] mientras que el detector de matriz lineal [14] adquiere una serie de líneas que se ensamblan para formar un campo de visión plano. El micromanipulador y mueve la muestra en la dirección de la línea iluminada de modo que después de adquirir un campo de visión, se puede adquirir un campo de visión o campos de visión posteriores para cubrir porciones adicionales de la superficie de la muestra. El micromanipulador z se puede utilizar para adquirir pilas de planos para formar imágenes en 3D.

En ciertas realizaciones, los datos de imagen obtenidos pueden ser procesados y/o mostrados por uno o más procesadores informáticos [28, 36, etc.], y los datos procesados [34, 37], un diagnóstico o un indicador de la presencia o ausencia de enfermedad de la piel [38] se puede enviar y mostrar en uno o más módulos de visualización. En ciertas realizaciones, hay una pantalla digital [32], optimizada para el entorno quirúrgico y una modalidad de telemedicina [36] de modo que la imagen microscópica pueda ser revisada en tiempo real por patólogos expertos. El microscopio confocal (véase, por ejemplo, la figura 7) generalmente comprende el microscopio confocal que está conectado por un procesador informático [28] con comunicaciones del ordenador al microscopio [29], tales como comandos para accionar la platina de traslación de microposicionamiento [23], un disparador para adquirir datos en los detectores de matriz lineal [18], señales para encender/apagar los láseres [1,2] y el troceador [3] y también comunicaciones desde el microscopio al ordenador [30], como la señal de reloj desde el troceador [6], y datos de imagen de los detectores de matriz lineal [18].

En ciertas realizaciones, una cámara digital convencional [31] toma imágenes de la muestra y la transmisión de vídeo en vivo [33] se envía al procesador informático [28], que a su vez alimenta la imagen en un flujo de datos [34] en la pantalla táctil digital [32] de modo que el operador puede seleccionar con un toque manual o clic con el ratón las coordenadas de la región del escaneo confocal deseado. Esta información de coordenadas seleccionada por el usuario se transmite al ordenador [35] para utilizarse para el control de la adquisición de imágenes confocales.

En ciertas realizaciones, durante el escaneo de imágenes confocales, se adquieren una o más imágenes confocales, se ensamblan al fusionarse potencialmente y se envían como una señal [34] al monitor de visualización clínica [32] para su visualización.

En ciertas realizaciones, un procesador informático de telepatología remota con pantalla [36] recibe datos de imagen [37] y puede usarse para transmitir un diagnóstico o un indicador de la presencia o ausencia de enfermedad de la piel o una imagen modificada donde se indica una región de interés en la muestra de imágenes [38].

Los términos y expresiones que se han empleado en este documento se utilizan como términos de descripción y no de limitación, y no existe ninguna intención en el uso de tales términos y expresiones de excluir equivalentes de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, pero se reconoce que son posibles varias modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada. De esta manera, debe entenderse que aunque la presente invención se ha descrito específicamente mediante realizaciones preferidas, realizaciones ejemplares y características opcionales, los expertos en la materia pueden recurrir a la modificación y variación de los conceptos aquí descritos, y que tales modificaciones y variaciones se consideran dentro del alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones específicas proporcionadas en el presente documento son ejemplos de realizaciones útiles de la presente invención y será evidente para un experto en la materia que la presente invención puede llevarse a cabo usando una gran cantidad de variaciones de los dispositivos, componentes del dispositivo, y etapas de métodos establecidos en la presente descripción. Como será evidente para un experto en la materia, los métodos y dispositivos útiles para los presentes métodos pueden incluir una gran cantidad de elementos y etapas de composición y procesamiento opcionales.

Cuando se describe un grupo de sustituyentes en el presente documento, se entiende que todos los miembros individuales de ese grupo y todos los subgrupos, incluyendo cualquier isómero, enantiómero y diastereómero de los miembros del grupo, se divulgan por separado. Cuando se usa un grupo Markush u otra agrupación en este documento, todos los miembros individuales del grupo y todas las combinaciones y subcombinaciones posibles del grupo están destinados a ser incluidos individualmente en la divulgación. Cuando se describe un compuesto en el presente documento de manera que un isómero, enantiómero o diastereómero particular del compuesto no se especifica, por ejemplo, en una fórmula o en un nombre químico, esa descripción pretende incluir cada isómero y enantiómero del compuesto descrito individualmente o en cualquier combinación. Adicionalmente, a menos que se especifique lo contrario, todas las variantes isotópicas de los compuestos divulgados en este documento pretenden estar abarcadas por la divulgación. Por ejemplo, se entenderá que uno cualquiera o más hidrógenos en una molécula divulgada se pueden reemplazar por deuterio o tritio. Las variantes isotópicas de una molécula son generalmente útiles como estándares en los ensayos de la molécula y en la investigación química y biológica relacionada con la molécula o su uso. Los métodos para hacer tales variantes isotópicas son conocidos en la técnica. Los nombres específicos de los compuestos están destinados a ser ejemplares, ya que se sabe que un experto en la materia puede nombrar los mismos compuestos de manera diferente.

Cada formulación o combinación de componentes descritos o ejemplificados en este documento se puede usar para practicar la invención, a menos que se indique lo contrario.

Cada vez que se proporciona un intervalo en la memoria descriptiva, por ejemplo, un intervalo de temperatura, un

intervalo de tiempo, o intervalo de composición, componente o concentración, todos los intervalos intermedios y subintervalos, así como todos los valores individuales incluidos en los intervalos dados están destinados a ser incluidos en la divulgación. Se entenderá que cualquier subintervalo o valor individual en un intervalo o subintervalo que se incluye en la descripción de este documento puede excluirse de las reivindicaciones del presente documento.

5 Todas las patentes y las publicaciones mencionadas en la memoria descriptiva son indicativas de los niveles de habilidad de los expertos en la materia a los que pertenece la invención. Por ejemplo, cuando se reivindica la composición de la materia, Debe entenderse que los compuestos conocidos y disponibles en la técnica antes de la invención del solicitante, incluyendo compuestos para los cuales se proporciona una divulgación habilitante en las referencias citadas en este documento, no están destinados a ser incluidos en la composición de las reivindicaciones de la materia en este documento.

15 Debe tenerse en cuenta que, como se usa aquí y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural, a no ser que el contexto indique claramente otra cosa. De esta manera, por ejemplo, la referencia a "una célula" incluye una pluralidad de tales células y equivalentes de las mismas conocidas por los expertos en la materia, y así sucesivamente. Además, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" pueden usarse indistintamente en el presente documento. Cabe señalar además que los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" se pueden usar indistintamente. La expresión "de cualquiera de las reivindicaciones XX-YY" (en donde XX e YY se refieren a números de reivindicaciones) pretende proporcionar una reivindicación dependiente múltiple en la forma alternativa, y en algunas realizaciones es intercambiable con la expresión "como en una cualquiera de las reivindicaciones XX-YY".

25 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la materia al que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o la comprobación de la presente invención puede usarse cualquier método y material similar o equivalentes a los descritos en este documento, ahora se describen los métodos y materiales preferidos. Nada en este documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a anteceder a dicha divulgación en virtud de la invención anterior.

30 Cada formulación o combinación de componentes descritos o ejemplificados en este documento se puede usar para practicar la invención, a menos que se indique lo contrario.

35 Cada vez que se proporciona un intervalo en la memoria descriptiva, por ejemplo, un intervalo de temperatura, un intervalo de tiempo, o intervalo de composición o concentración, todos los intervalos intermedios y subintervalos, así como todos los valores individuales incluidos en los intervalos dados están destinados a ser incluidos en la divulgación. Tal y como se utiliza en el presente documento, los intervalos incluyen específicamente los valores proporcionados como valores de punto final del intervalo. Por ejemplo, un intervalo de 1 a 100 incluye específicamente los valores de punto final de 1 y 100. Se entenderá que cualquier subintervalo o valor individual en un intervalo o subintervalo que se incluye en la descripción de este documento puede excluirse de las reivindicaciones del presente documento.

40 Tal y como se utiliza en el presente documento, "que comprende" es sinónimo de "que incluye", "que contiene", o "caracterizado por", y es inclusivo o abierto y no excluye elementos adicionales, no recitados o etapas del método. Tal y como se utiliza en el presente documento, "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en el elemento de la reivindicación. Tal y como se utiliza en el presente documento, "que consiste esencialmente en" no excluye materiales o etapas que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada caso en el presente documento cualquiera de los términos "que comprende", "que consiste esencialmente en", y "que consiste en" puede ser reemplazado por cualquiera de los otros dos términos. La invención descrita ilustrativamente en el presente documento puede practicarse adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones que no se divulgan específicamente en el presente documento.

55 Un experto en la materia apreciará que los materiales de partida, materiales biológicos, reactivos, métodos sintéticos, métodos de purificación, métodos analíticos, métodos de ensayo y métodos biológicos distintos de los ejemplificados específicamente pueden emplearse en la práctica de la invención sin recurrir a una experimentación indebida. Todos los equivalentes funcionales conocidos en la técnica, de cualquiera de tales materiales y métodos están destinados a ser incluidos en esta invención. Los términos y expresiones que se han empleado se utilizan como términos de descripción y no de limitación, y no existe ninguna intención en el uso de tales términos y expresiones de excluir equivalentes de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, pero se reconoce que son posibles varias modificaciones dentro del alcance de la invención reivindicada. De esta manera, debe entenderse que aunque la presente invención se ha descrito específicamente mediante realizaciones preferidas y características opcionales, los expertos en la materia pueden recurrir a la modificación y variación de los conceptos aquí descritos, y que tales modificaciones y variaciones se consideran dentro del alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un microscopio confocal (101) que comprende:

5 una fuente de luz (103);
una platina (113) adaptada para sujetar una muestra a la misma;
una pluralidad de detectores de matriz lineal (107); y
un sistema óptico que comprende;

10 una lente cilíndrica (105), un divisor de rayos (111) y un objetivo (109), la lente cilíndrica (105) colocada para recibir una primera luz emitida por la fuente de luz (103) y enfocar la primera luz en una línea sobre un plano seleccionado de la muestra cuando se sujeta a la platina a través del divisor de rayos y sin que dicha primera luz pase a través del objetivo; y
15 el objetivo (109) posicionado para recibir una segunda luz de la muestra en respuesta a la incidencia de la primera luz sobre la muestra y enfocar la segunda luz sobre al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal (107);

en donde la platina (113) está adaptada además para posicionar la muestra en aproximadamente el plano focal del objetivo (109) y para mover la muestra con respecto a la línea enfocada de la primera luz.

20 2. El microscopio confocal de la reivindicación 1, en donde la fuente de luz (103) comprende una única fuente de láser.

3. El microscopio confocal de la reivindicación 1, que comprende además un troceador óptico (125) y en donde la fuente de luz comprende al menos dos láseres (103a, 103b), emitiendo cada uno un haz láser diferente, en donde el troceador óptico (125) permite que cada haz láser diferente pase a la muestra en un momento diferente que los otros haces láser.

4. El microscopio confocal de la reivindicación 3, que comprende además un sistema de cronómetro que mide la posición del troceador (125), identifica la fuente de luz para la cual se permite la primera luz por el troceador (125) para iluminar la muestra, y mide la duración de la iluminación de esa fuente de luz sobre la muestra.

5. El microscopio confocal de la reivindicación 4, en donde el sistema de cronómetro comprende un detector de movimiento, una luz de señalización y un detector de reloj colocado en ambos lados para el troceador (125), en donde el detector de reloj genera una señal de reloj en respuesta a la detección de la luz de señalización que corresponde a la duración de la iluminación de la fuente de luz identificada sobre la muestra.

6. El microscopio confocal de la reivindicación 4, en donde el sistema de cronómetro comprende un detector de movimiento y un detector de reloj colocado frente a la fuente de luz, en donde el detector de reloj genera una señal de reloj en respuesta a la detección de la iluminación de la fuente de luz identificada y en donde la señal de reloj corresponde a la duración de la iluminación de la fuente de luz identificada sobre la muestra.

7. El microscopio confocal de la reivindicación 1, en donde la platina (113) traslada físicamente la muestra con respecto a la línea de la primera luz enfocada sobre la muestra sin movimiento de la primera luz.

45 8. El microscopio confocal de la reivindicación 1, en donde el sistema óptico comprende además;

un primer divisor de rayos colocado para reflejar la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra sobre una primera matriz de detector lineal de la pluralidad de matrices de detector lineal; y
un segundo divisor de rayos posicionado para reflejar la segunda luz reflejada desde la muestra sobre una segunda matriz de detector lineal de la pluralidad de matrices de detector lineal.

9. El microscopio confocal de la reivindicación 8, en donde la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra posee una longitud de onda diferente a la de la primera luz y en donde la segunda luz reflejada desde la muestra posee una longitud de onda aproximadamente igual a la de la primera luz.

55 10. El microscopio confocal de las reivindicaciones 8 o 9, en donde la ruta entre la segunda luz emitida fluorescentemente desde la muestra y la primera matriz de detector lineal es diferente de la ruta entre la segunda luz reflejada desde la muestra y la segunda matriz de detector lineal.

60 11. Un método de formación de imágenes de una muestra, que comprende; proporcionar un microscopio confocal que comprende;

una fuente de luz (103);
una platina (113) adaptada para sujetar una muestra a la misma;
65 una pluralidad de detectores de matriz lineal (107); y un sistema óptico que comprende;

- una lente cilíndrica (105), un divisor de rayos (111) y un objetivo (109),
la lente cilíndrica (105) posicionada para recibir una primera luz emitida por la fuente de luz (103) y enfocar la
primera luz en una línea sobre un plano seleccionado de la muestra cuando se sujeta a la platina (113); a través
del divisor de rayos (111) y sin que dicha primera luz pase a través del objetivo y;
5 el objetivo (109) posicionado para recibir una segunda luz de la muestra en respuesta a la incidencia de la
primera luz sobre la muestra y enfocar la segunda luz sobre al menos uno de la pluralidad de detectores de
matriz lineal (107);
en donde la platina (113) está adaptada además para posicionar la muestra en aproximadamente el plano focal
del objetivo (109) y para mover la muestra con respecto a la línea enfocada de la primera luz;
10 posicionar la platina (113) en una primera posición, en donde la primera luz se enfoca en una línea sobre un
primer plano seleccionado de la muestra; y
medir, por al menos uno de la pluralidad de detectores de matriz lineal (107), una intensidad en función del
tiempo para la segunda luz enfocada en el primer plano focal seleccionado de la muestra; posicionar la platina
(113) en la segunda posición, diferente de la primera posición, en donde la primera luz se enfoca en una línea
15 sobre un segundo plano seleccionado de la muestra; y medir, por al menos uno de la pluralidad de detectores
de matriz lineal (107), una intensidad en función del tiempo para la segunda luz enfocada en el segundo plano
focal seleccionado de la muestra.
12. El método de la reivindicación 11, en donde la primera posición seleccionada se traslada aproximadamente
20 perpendicular a la dirección de la línea enfocada de la primera luz.
13. El método de la reivindicación 11, que comprende además adquirir una imagen óptica de la muestra desde un
dispositivo de captura de imagen digital separado del microscopio confocal, teniendo la imagen óptica un campo de
visión más grande que la muestra.
25
14. El método de la reivindicación 13, que comprende además la visualización de la imagen óptica en un dispositivo
de visualización en comunicación con un dispositivo informático de orientación, estando adaptado el dispositivo
informático de orientación para recibir entradas de orientación vectorial de un usuario, en donde los objetivos
vectoriales corresponden a una región de interés de la muestra.
30
15. El método de la reivindicación 14, en donde el dispositivo informático de orientación está en comunicación con la
platina y en donde la platina está adaptada además para:
35 recibir los objetivos vectoriales desde el dispositivo informático de orientación; y
posicionar la muestra de manera que la primera luz se enfoque en una línea dentro de la región de interés de la
muestra.

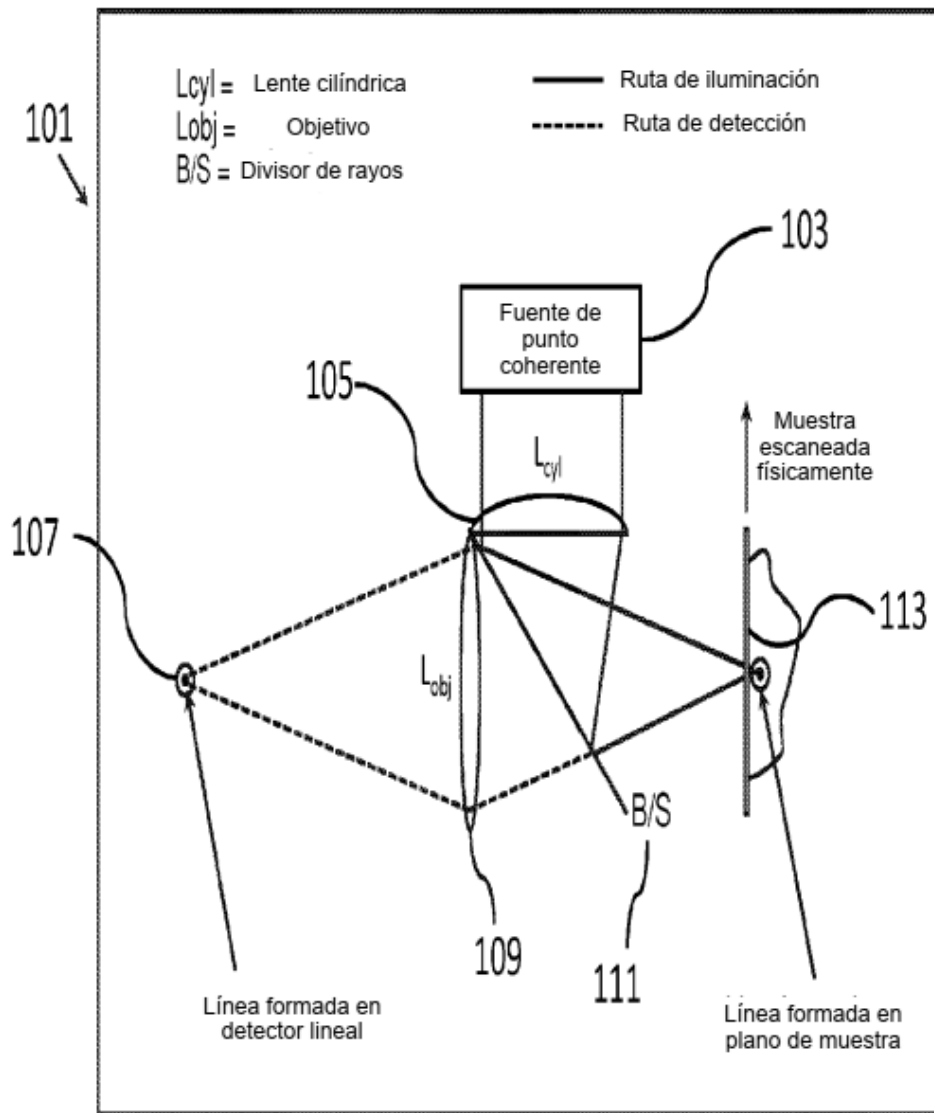


Fig. 1a

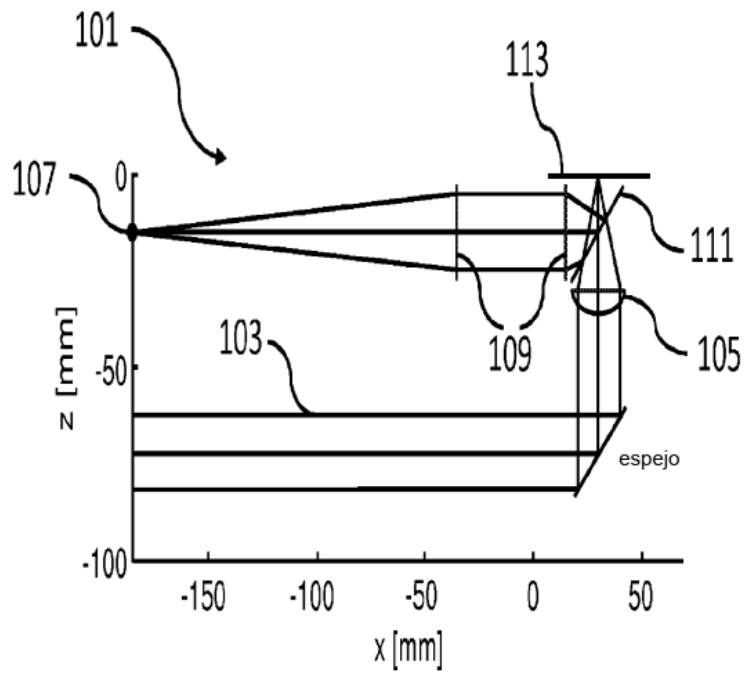


Fig. 1b

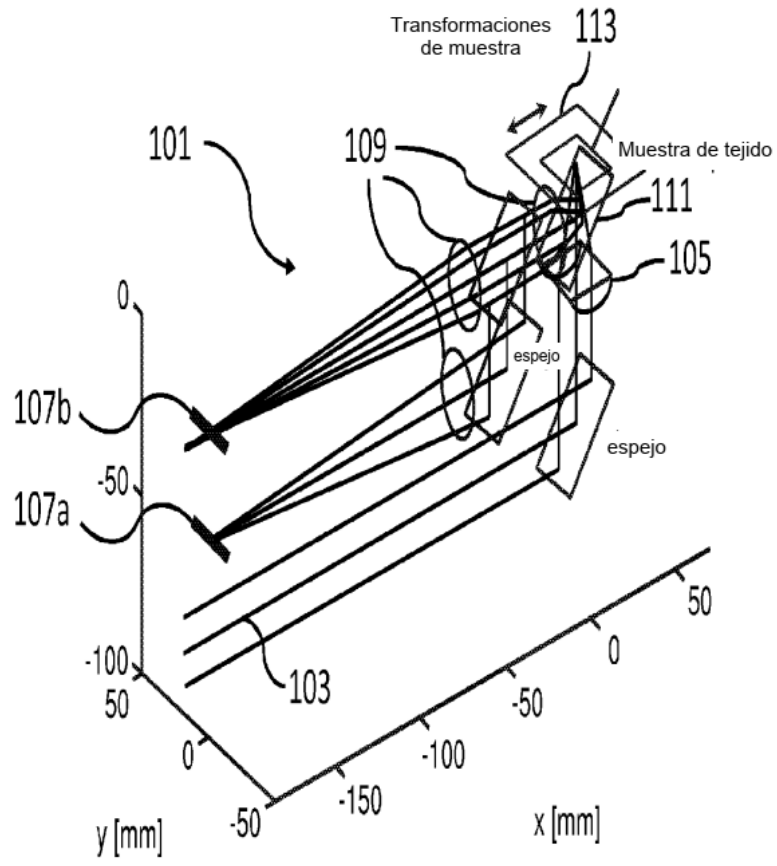


Fig. 1c

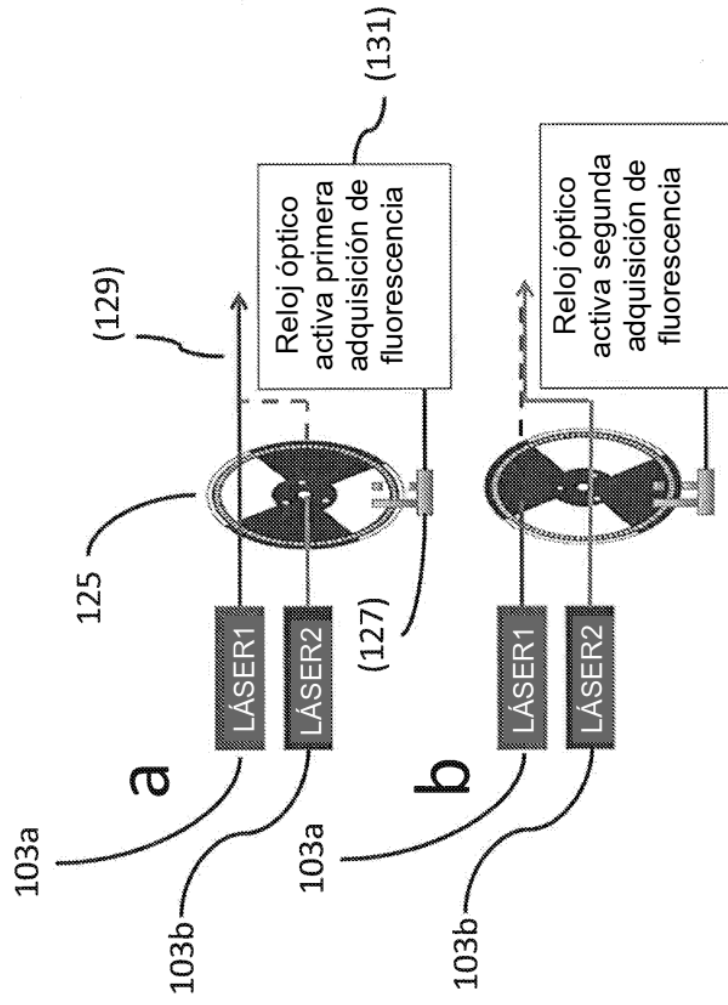


Fig. 2

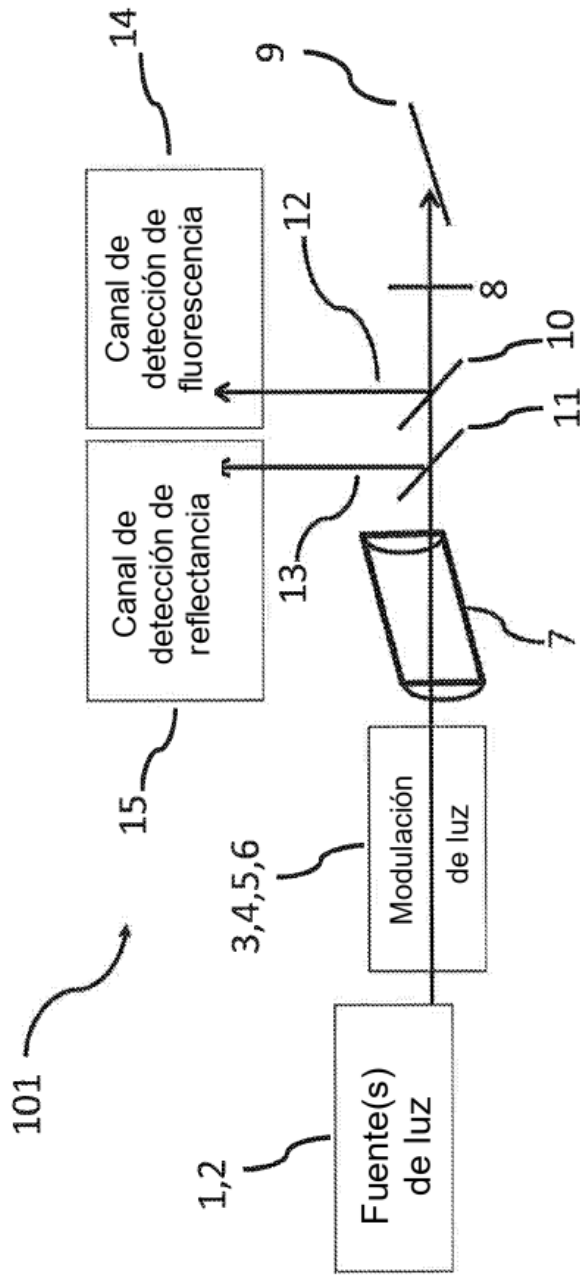


Fig. 3

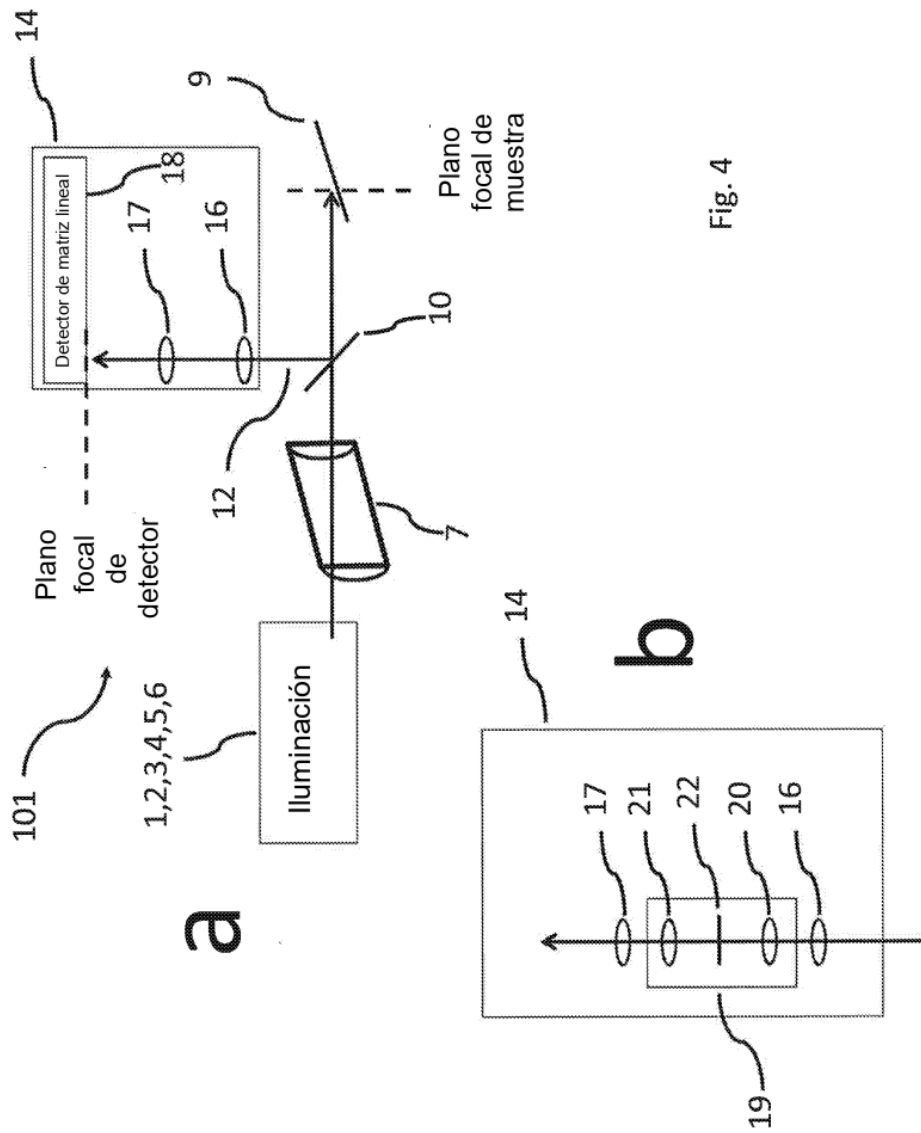


Fig. 4

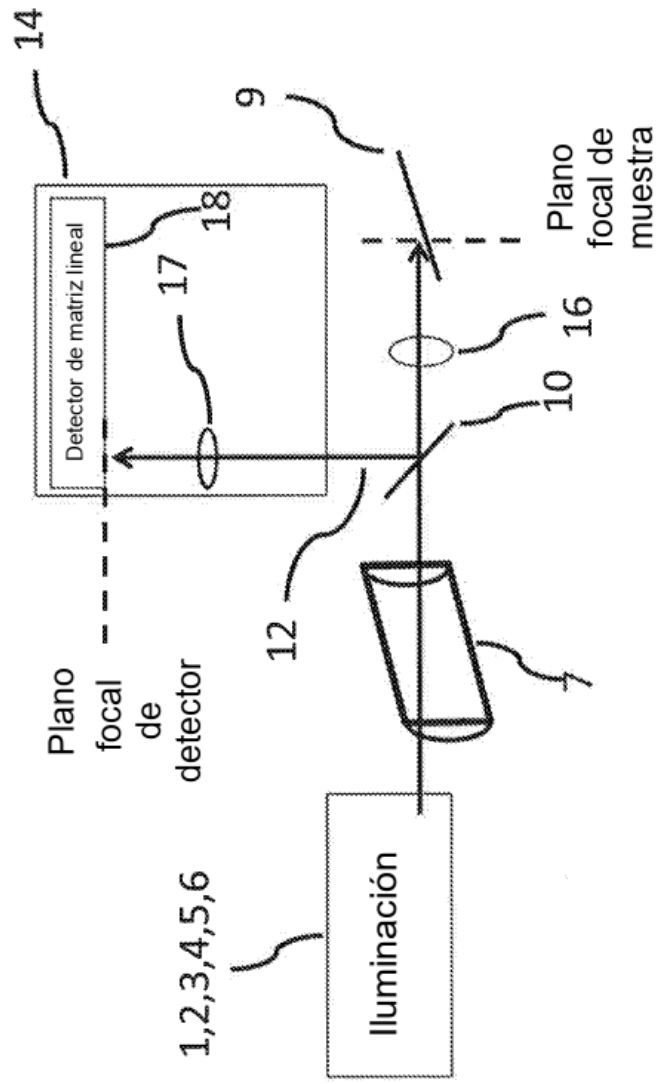


Fig. 5

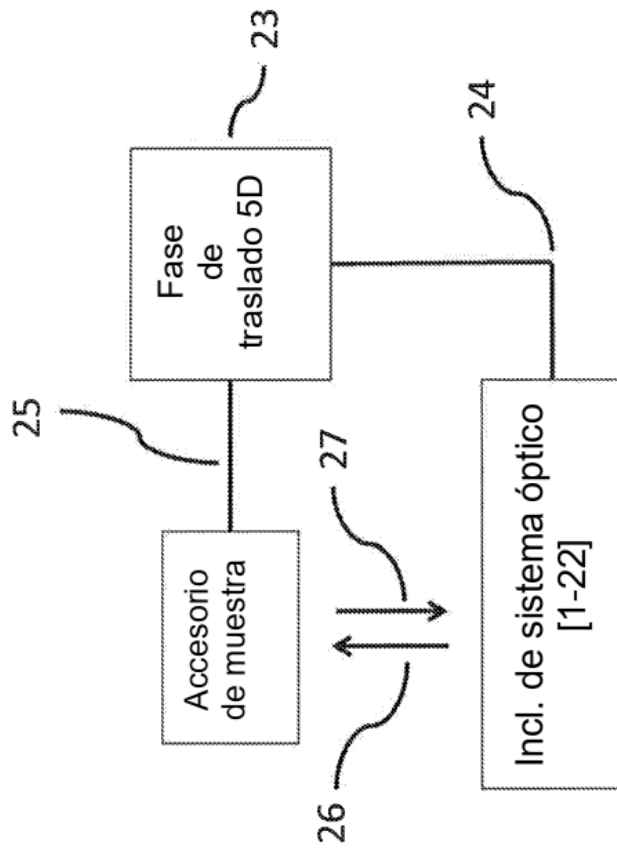


Fig. 6

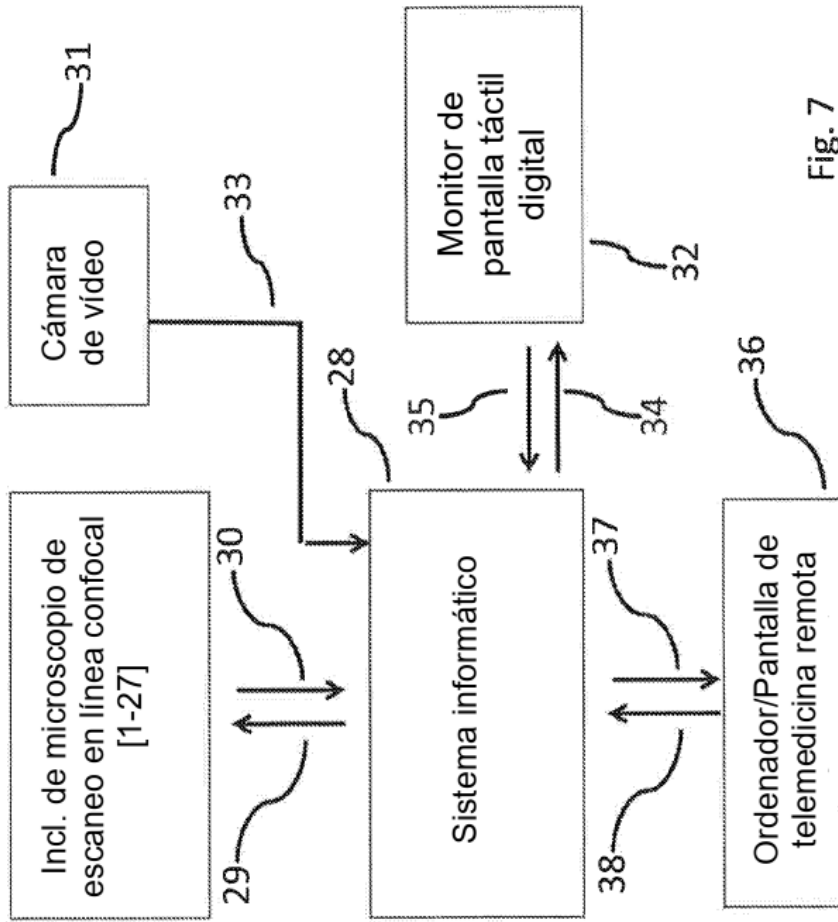


Fig. 7