

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 807 199**

51 Int. Cl.:

A61B 1/04 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2014 PCT/US2014/035203**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014 WO14176375**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2014 E 14787668 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 2988654**

54 Título: **Sistemas y métodos para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja de fluoróforos**

30 Prioridad:

23.04.2013 US 201361814955 P

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

22.02.2021

73 Titular/es:

**CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER (100.0%)
8700 Beverly Boulevard
Los Angeles, CA 90048, US**

72 Inventor/es:

**BUTTE, PRAMOD y
MAMELAK, ADAM**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 807 199 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

Sistemas y métodos para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja de fluoróforos

Campo de invención

5 La invención proporciona sistemas y métodos para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja (IR) de fluoróforos.

Antecedentes de la invención

10 En los últimos años, ha existido un interés en el uso de tintes de infrarrojo (IR) para la detección de tejido marcado, tal como tumores y vasos durante la extirpación quirúrgica de tumores en un entorno clínico. Los tintes de infrarrojo se consideran tintes de marcado superiores a los demás para el marcado de tejidos debido a sus mayores profundidades de penetración, a la falta de autofluorescencia en esa región del espectro que puede añadir ruido a las imágenes, y también a la falta de absorción por la hemoglobina (es decir, sangre) y el agua en esa región del espectro que puede reducir la señal de fluorescencia. Para utilizar estos tintes, por ejemplo, en el entorno clínico del quirófano, se requiere un sistema de obtención de imágenes sensible a los IR, que sea capaz de adquirir imágenes de alta resolución en el espectro visible de luz blanca normal, mientras adquiere y superpone simultáneamente la señal infrarroja sobre las imágenes de espectro visible normal con el fin de proporcionar un contraste a un cirujano durante la operación.

15 Sin embargo, debido a la ausencia general de aplicaciones de ligandos tumorales fluorescentes en oncología quirúrgica, en la actualidad no hay sistemas de obtención de imágenes disponibles comercialmente que estén optimizados para la resección de tumores basada en fluorescencia de infrarrojo cercano (NIR). Los sistemas clínicos existentes se diseñaron principalmente para detectar verde de indocianina intravascular (ICG) no unido, un tinte fluorescente NIR aprobado por la FDA. Típicamente, el ICG se administra por vía intravenosa en dosis altas, y la obtención de imágenes se realiza 30-60 minutos después de la inyección. La carga fluorescente intravascular conseguida con este enfoque es elevada, y los dispositivos de obtención de imágenes clínicos aprobados tienen una sensibilidad adecuada para estas aplicaciones. Los ejemplos de dichos sistemas incluyen un módulo fluorescente incorporado en microscopios operativos (OPMI Pentero Infrared 800, Carl Zeiss), así como en los sistemas SPY® y Pinpoint® (Novadaq), y la unidad portátil FluoBeam® 800 (Fluoptics).

20 Estos sistemas tienen una sensibilidad adecuada para la obtención de imágenes intravasculares, pero no son prácticos para su uso, por ejemplo, en fluorescencia NIR específica de tumor y dirigida. Por ejemplo, FluoBeam es un dispositivo portátil sin superposición de imágenes de luz blanca, pero no está diseñado para su uso práctico como una herramienta quirúrgica que requiere imágenes de calidad HD en luz blanca, maniobrabilidad, aumento, iluminación y grabación conjunto automática de imágenes NIR. Una de las razones de dicha baja sensibilidad es debida a la menor cantidad de fotones fluorescentes capturados por el sistema de obtención de imágenes, ya que dichos sistemas pueden usar principalmente una cámara (sólo NIR) o dos cámaras (NIR y visible) con un filtro de paso largo. En un sistema de obtención de imágenes con captura simultánea de imágenes visible y NIR, una cámara captura la imagen en el espectro visible y la segunda captura la imagen fluorescente. Esto se consigue dividiendo la luz incidente desde el campo en dos canales utilizando un divisor de haz. Un haz transmite la luz fluorescente NIR a una de las cámaras mientras que el otro haz de luz visible pasa a través del divisor de haz a la segunda cámara. Debido a que la excitación y la emisión fluorescente de los tintes NIR, tales como ICG, tienen un desplazamiento de Stokes muy estrecho, el filtro de paso largo causa una pérdida significativa de luz fluorescente (Figura 1), y la subsiguiente sensibilidad de detección. La obtención de imágenes de fluorescencia de tumores requiere que una fracción diana consiga una alta especificidad y permita una diferenciación fiable entre el tejido canceroso y los tejidos normales circundantes. Para conseguir esto, las dosis se mantienen bajas y el tiempo entre la administración del fármaco y la obtención de imágenes es bastante largo (12-48 horas en la mayoría de los casos) para permitir la absorción de la sonda por parte del tumor y el lavado del material no unido de los tejidos normales. Esto resulta en una señal marcadamente menos fluorescente, lo que convierte a los sistemas comercializados en la actualidad en inadecuados para la detección. Además, el uso de estos sistemas puede ser engorroso en el entorno clínico, debido al hecho de que hay dos accesorios para cámaras, y requieren un cambio completo en la configuración existente. Esta falta de practicidad de los sistemas existentes impulsa la necesidad de innovaciones en los dispositivos para aprovechar la especificidad de estos nuevos agentes de obtención de imágenes. Los sistemas existentes se describen, por ejemplo, en los documentos US 2011/0063427 y US 2011/0270092 A1.

25 Por consiguiente, existe una necesidad de sistemas y métodos altamente sensibles que puedan grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja desde un tinte fluorescente. La invención descrita en el presente documento satisface la necesidad no satisfecha mediante la provisión de sistemas y métodos para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja desde fluoróforos.

Sumario de la invención

50 El sistema y el método de la invención se definen en las reivindicaciones adjuntas. Diversas realizaciones de la presente invención proporcionan un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, solo o unido a una fracción diana, tal como un péptido, una proteína, una nanopartícula, un nanoconjugado, un anticuerpo y un ácido nucleico (por ejemplo, cadenas de ADN y de ARN) o a cualquier

otra entidad diana biológicamente específica. El sistema de obtención de imágenes comprende: un sensor de imágenes, un láser, un filtro de limpieza láser, un filtro de ranura y una fuente de luz blanca. El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor. El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo. El filtro de limpieza láser se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, y estrecha la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. La luz de excitación estrechada excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la absorción máxima en la muestra para emitir una luz de emisión. El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes y bloquea la luz de excitación. La fuente de luz blanca emite una luz que comprende luz visible. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes carece de filtro de paso largo NIR. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de disparo rápido.

Diversas realizaciones de la presente invención proporcionan un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. El sistema comprende: un sensor de imágenes, un láser, un divisor de haz de ranura, un filtro de ranura y un módulo de sincronización. El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor. El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alterna entre los estados encendido y apagado. El divisor de haz de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. La luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra; la luz de excitación excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; y la luz de emisión es transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes. El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y el filtro de ranura bloquea la luz de excitación. El módulo de sincronización (disparador) sincroniza el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser.

Se proporciona también un método para obtener imágenes de una muestra. El método comprende las etapas de: proporcionar una muestra, proporcionar un sistema de obtención de imágenes descrito en el presente documento, y obtener imágenes de la muestra con dicho sistema de obtención de imágenes.

Aunque se describen diversas realizaciones de la presente invención en el contexto de la obtención de imágenes, del diagnóstico y/o del tratamiento de tumores, no debería interpretarse que la presente invención está limitada a dichas aplicaciones. De hecho, la presente invención puede encontrar utilidad en todas y cada una de entre la detección y el diagnóstico de una diferencia de tejido, es decir, normal frente a anormal, debido a cualquiera y todas las razones que incluyen, pero sin limitarse a, tumor, lesión, trauma, isquemia, infección, inflamación o autoinflamación. La presente invención proporciona sistemas de obtención de imágenes y sistemas para una amplia gama de aplicaciones, incluyendo, pero sin limitarse a, obtención de imágenes, diagnóstico y/o tratamiento de tejidos tumorales, tejidos lesionados, tejidos isquémicos, tejidos infectados y tejidos inflamatorios. En cualquier situación en la que un tejido de interés (por ejemplo, un tejido canceroso, lesionado, isquémico, infectado o inflamatorio) es diferente del tejido circundante (por ejemplo, tejidos sanos) debido a causas fisiológicas o patológicas, puede usarse un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano para marcar de manera diferencial el tejido de interés y el tejido circundante, y pueden tomarse imágenes de esas áreas con los sistemas y los métodos de obtención de imágenes de la presente invención para proporcionar una guía visual para un diagnóstico y un tratamiento apropiados. Por lo tanto, los sistemas y los métodos de obtención de imágenes pueden usarse para obtener imágenes, diagnosticar y/o tratar sujetos con diversas afecciones, que incluyen, pero no se limitan a, tumores, cánceres, lesiones cerebral traumática, lesión de médula espinal, accidente cerebrovascular, hemorragia cerebral, isquemia cerebral, enfermedades de corazón isquémico, lesión por reperfusión isquémica, enfermedades cardiovasculares, estenosis de válvula cardíaca, enfermedades infecciosas, infecciones microbianas, infección viral, infección bacteriana, infección por hongos y enfermedades autoinmunes. Los sistemas de obtención de imágenes de la presente invención pueden usarse también para obtener imágenes de tejidos normales en un sujeto sano, por ejemplo, para identificar vasculaturas.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, la posible pérdida de luz fluorescente cuando se usa un filtro de paso largo para una solución de dos cámaras.

La Figura 2 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, la sensibilidad típica de los sensores de color.

La Figura 3 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, la matriz de filtro de color sobre el sensor de imágenes.

La Figura 4 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un sistema ejemplar para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja de tinte fluorescente. El sistema comprende un láser 01 con una longitud de onda de 785 nm, un divisor 02 de haz de ranura @ 785 nm, un filtro 03 de ranura @ 785nm, una cámara 04 CCD sin filtro IR y unidad 05 de disparo o de sincronización. El láser puede alternar entre los estados encendido y apagado a frecuencias de aproximadamente la mitad de la velocidad de una cámara CCD (por ejemplo, 60 Hz). La cámara CCD captura fotogramas de imagen a una frecuencia de 120 Hz. La unidad de sincronización sincroniza el sensor de imágenes CCD con el láser para garantizar que un único fotograma de imagen corresponda a un único estado

encendido o apagado del láser. El tejido está marcado con un fluoróforo IR (o NIR). Una fuente 06 de luz visible ilumina la muestra de interés. La longitud de onda de 785 nm es un ejemplo no limitativo, y pueden usarse también otras longitudes de onda con este sistema.

5 La Figura 5 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un método ejemplar para grabar simultáneamente una imagen de luz visible y una imagen de luz infrarroja a partir de tinte fluorescente. Cuando el láser está apagado, la cámara del dispositivo de carga acoplada (CCD) captura el Fotograma 1, en el cual los sensores de píxeles Rojo-Verde Azul (RGB) detectan luz visible pero no fluorescencia en el intervalo infrarrojo cercano (NIR). Cuando el láser está encendido, la cámara CCD captura el Fotograma 2, en el que los sensores de píxeles RGB detectan tanto la luz visible como la fluorescencia adicional en NIR. La diferencia de la resta entre el Fotograma 1 y el Fotograma 2 representa la fluorescencia adicional en NIR. Puede proporcionarse a este fotograma calculado de la fluorescencia adicional un color falso y el resultado puede sumarse de nuevo al Fotograma 1, generando de esta manera un fotograma de imagen compuesta de luz visible y luz infrarroja a ser mostrado al cirujano. El proceso puede repetirse continuamente para mostrar y grabar un vídeo en tiempo real durante la cirugía.

15 La Figura 6 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un ejemplo no limitativo de prototipo clínico. A) Diseño y especificaciones ópticas. Un láser 01 emite una luz de excitación para un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. La luz de excitación se desplaza a la cámara y es reflejada por un espejo 08 plegable a un filtro 07 de limpieza láser. Mediante el filtro 07 de limpieza láser, la luz de excitación se estrecha a la longitud de onda de excitación del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. La luz de excitación estrechada es reflejada por un divisor 02 de haz de ranura, es reflejada por otro espejo 08 plegable, pasa a través de una diversidad de componentes ópticos (por ejemplo, una lente 09 colimadora y un difusor 10) y sale por una ventana 11 de la cámara hacia una muestra. La luz de excitación estrechada excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión. La luz de emisión de desplaza a la cámara a través de otra ventana 11, es reflejada por un espejo 08 plegable a un filtro 03 de ranura y pasa el filtro 03 de ranura y una diversidad de componentes ópticos (por ejemplo, una lente 12 VIS-NIR) Mediante el filtro 03 de ranura, se bloquea cualquier luz de excitación reflejada por la muestra. La luz de emisión alcanza un sensor de imágenes (por ejemplo, una cámara Basler) que detecta la luz de emisión y genera una señal de sensor. La señal de sensor generada por la luz de emisión se transfiere desde la cámara a través de un enlace de datos a una unidad de procesamiento de imágenes para generar un fotograma de imagen infrarroja. Una fuente 06 de luz blanca emite una luz visible. La luz visible se desplaza a la cámara, pasa un divisor 02 de haz de ranura, es reflejada por un espejo 08 plegable, pasa a través de una diversidad de componentes ópticos (por ejemplo, una lente 09 colimadora y un difusor 10) y sale por una ventana 11 de la cámara hacia la muestra. La muestra es iluminada por la luz visible. La luz visible de desplaza de nuevo a la cámara a través de otra ventana 11, es reflejada por otro espejo 08 plegable a un filtro 03 de ranura y pasa el filtro 03 de ranura y una diversidad de componentes ópticos (por ejemplo, una lente 12 VIS-NIR) La luz visible alcanza un sensor de imágenes (por ejemplo, una cámara Basler) que detecta la luz visible y genera una señal de sensor. La señal de sensor de luz visible generada se transfiere desde la cámara a una unidad de procesamiento de imágenes para generar un fotograma de imagen visible. B) Campo de iluminación para la solución de lente y cámara integradas personalizadas. En un ejemplo no limitativo, la unidad puede medir 19,58 cm x 9,50 cm x 5,23 cm (7,75" x 3,74" x 2,06") y puede pesar aproximadamente 1,72 kg (3,8 lb) permitiendo su fijación a soportes de endoscopios comerciales. En un ejemplo no limitativo, con una distancia focal de aproximadamente 45 cm, puede quedar lejos del campo quirúrgico y permite el paso fácil de instrumentos y muestras debajo del mismo durante una escisión quirúrgica. La salida de la cámara se conecta a un ordenador de procesamiento de imágenes y, a continuación, se alimenta a una pantalla de vídeo HD para su visualización. C) Esquema del sistema de obtención de imágenes. Un láser emite una luz de excitación para un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y a través del primer canal conductor de luz, es limpiado por un filtro de limpieza láser y alcanza una muestra marcada con el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano para excitar el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. El fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano excitado en la muestra emite una luz de emisión, y a través del tercer canal conductor de luz, pasa a través de un filtro de ranura y alcanza un sensor de imágenes. Una fuente de luz blanca emite una luz visible y, a través del segundo canal conductor de luz, alcanza e ilumina la muestra. La luz visible desde la muestra iluminada, a través del cuarto canal conductor de luz, alcanza el sensor de imágenes. Los canales primero, segundo, tercero y cuarto pueden incluir diversos componentes ópticos que incluyen, pero que no se limitan a, fibras ópticas, filtros ópticos, mejoradores ópticos, atenuadores ópticos, divisores de haz, condensadores, difusores, ventanas, orificios, espejos, obturadores y lentes. Pueden superponerse parcial o completamente; pueden ser canales separados o pueden combinarse en uno, dos o tres canales; y pueden incluir un dispositivo, tal como un endoscopio y un microscopio o una parte del dispositivo. El sensor de imágenes detecta la luz de emisión para generar una señal de sensor en base a la luz infrarroja y detecta la luz visible para generar una señal de sensor en base a la luz visible. El sensor de imágenes está conectado a una unidad de procesamiento de imágenes y transfiere las señales de sensor a la unidad de procesamiento de imágenes. La unidad de procesamiento de imágenes procesa las señales de sensor para generar un fotograma de imagen compuesto de luz infrarroja y luz visible y transfiere el fotograma de imagen compuesto a una unidad de visualización de imágenes, que muestra una imagen compuesta de luz infrarroja y luz visible. El sistema de obtención de imágenes proporciona de manera continua un flujo de imágenes compuestas como un vídeo en tiempo real, por ejemplo, para ayudar a un cirujano a extirpar un tumor.

60 La Figura 7 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un ejemplo no limitativo de configuración de filtro. El uso de luz láser de banda muy estrecha para excitar el ICG en la longitud de onda de absorción máxima de 785 nm, ayudado por el uso de un filtro de limpieza, permite la máxima eficiencia de excitación. En conjunto, un filtro de ranura frente a la cámara es capaz de eliminar la luz de excitación desde la imagen, capturando de esta manera solo la emisión

de fluorescencia desde la diana. Esta configuración permite obtener imágenes de fluorescencia con máxima eficiencia y alta SNR.

La Figura 8 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un ejemplo no limitativo de los detalles de temporización de captura de fotograma. Esta figura muestra los detalles de temporización de 10 fotogramas capturados que se procesan para producir un único fotograma visualizado. La cámara captura fotogramas a 300 fotogramas por segundo, mientras que la pantalla de vídeo muestra 30 fotogramas por segundo. Cada fotograma capturado está sincronizado con la luz blanca y el "encendido" y "apagado" del láser NIR. El fotograma de luz visible o natural es capturado cuando el láser está "apagado" (sin fluorescencia) y solo está "encendida" la luz blanca. Cuando ambas fuentes de luz están "apagadas", SIRIS captura la luz parásita (fondo). Este fondo se resta del fotograma de fluorescencia cuando solo el láser está "encendido" y la luz blanca está "apagada". La división de esta captura de fotogramas en grupos de 5 fotogramas cada uno, reduce el efecto fantasma durante el movimiento de la cámara.

La Figura 9 representa, según diversas realizaciones de la presente invención, un ejemplo no limitativo de un dispositivo o un sistema informático que comprende uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores.

Descripción detallada de la invención

A menos que se defina lo contrario, los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen los mismos significados que entiende comúnmente una persona experta en la materia a la que pertenece la presente invención. Allen et al., Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22nd ed., Pharmaceutical Press (15 de septiembre, 2012); Hornyak et al., Introduction to Nanoscience and Nanotechnology, CRC Press (2008); Singleton y Sainsbury, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed., Revised ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2006); Smith, March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure, 7th ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2013); Singleton, Dictionary of DNA and Genome Technology 3rd ed., Wiley-Blackwell (28 de Noviembre, 2012); y Green y Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)), proporcionan a una persona experta en la materia una guía general de muchos de los términos usados en la presente solicitud. Para referencias acerca de cómo preparar anticuerpos, véase Greenfield, Antibodies A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY, 2013); Kohler y Milstein, Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion, Eur. J. Immunol. 6 Julio de 1976 (7):511-9; Reina y Selick Humanized immunoglobulins, la patente US N° 5.585.089 (Diciembre de 1996); y Riechmann et al., Reshaping human antibodies for therapy, Nature 24 de Marzo de 1988, 332(6162): 323-7.

Una persona experta en la materia reconocerá muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, que podrían usarse en la práctica de la presente invención. Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, considerada junto con los dibujos adjuntos, que ilustran, a modo de ejemplo, diversas características de las realizaciones de la invención. De hecho, la presente invención no está limitada en modo alguno a los métodos y a los materiales descritos. Por conveniencia, a continuación, se recopilan ciertos términos empleados en el presente documento, en la memoria descriptiva, en los ejemplos y en las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se indique lo contrario, o esté implícito en el contexto, los siguientes términos y frases incluyen los significados proporcionados a continuación. A menos que se indique explícitamente lo contrario, o sea aparente por el contexto, los términos y frases siguientes no excluyen el significado que el término o frase ha adquirido en la técnica a la que pertenece. Las definiciones se proporcionan para ayudar a describir realizaciones particulares, y no pretenden limitar la invención reivindicada, ya que el alcance de la invención está limitado solo por las reivindicaciones. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona experta en la materia a la que pertenece la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento, el término "que comprende" o "comprende" se usa en referencia a composiciones, métodos y sus respectivos componente o componentes, que son útiles para una realización, pero abiertos a la inclusión de elementos no especificados, útiles o no. Las personas expertas en la materia entenderán que, en general, los términos usados en el presente documento se consideran en general términos "abiertos" (por ejemplo, la expresión "que incluye" debe interpretarse como "incluye, pero no se limita a", la expresión "que tiene" debería interpretarse como "que tiene al menos", el término "incluye" debería interpretarse como "incluye, pero no se limita a", etc.).

A menos que se indique lo contrario, los términos "un" y "una" y "el" y "la" y referencias similares usadas en el contexto de la descripción de una realización particular de la solicitud (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) puede interpretarse que cubren tanto la forma singular como la plural. La recitación de intervalos de valores en el presente documento solo pretende servir como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor separado incluido en el interior del intervalo. A menos que se indique lo contrario en el presente documento, cada valor individual se incorpora a la memoria descriptiva como si se mencionara individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de cada uno de los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado con respecto a ciertas realizaciones en el presente documento pretende simplemente iluminar mejor la solicitud y no plantea una limitación del alcance de la solicitud reivindicada. La abreviatura,

"p. e." deriva de "por ejemplo", y se usa en el presente documento para indicar un ejemplo no limitativo. De esta manera, la abreviatura "p. e." es sinónimo de la expresión "por ejemplo". Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debería interpretarse como indicativo de ningún elemento esencial no reivindicado para la práctica de la solicitud.

5 Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratamiento", "tratar" o "mejora", cuando se usan con referencia a una enfermedad, trastorno o afección médica, se refieren tanto a un tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir, revertir, aliviar, mejorar, inhibir, disminuir, ralentizar o detener la progresión o la gravedad de un síntoma o afección. El término "tratar" incluye reducir o aliviar al menos un efecto o síntoma adverso de una afección. El tratamiento es generalmente "efectivo" si se reducen uno o más síntomas o marcadores clínicos. De manera alternativa, el tratamiento es "efectivo" si la progresión de una enfermedad, trastorno o afección médica se reduce o se detiene. Es decir, el "tratamiento" incluye no solo la mejora de los síntomas o marcadores, sino también un cese o al menos una ralentización del progreso o del empeoramiento de los síntomas que se esperaría en ausencia de tratamiento. Además, "tratamiento" puede significar buscar u obtener resultados beneficiosos, o reducir las probabilidades de que la persona desarrolle la afección, incluso si el tratamiento finalmente no tiene éxito. Las personas que necesitan tratamiento incluyen aquellas que ya tienen la afección, así como aquellas que son propensas a padecer la afección o aquellas en las que debe prevenirse la afección.

15 Los "resultados beneficiosos" o los "resultados deseados" pueden incluir, pero no se limitan en modo alguno a, disminuir o aliviar la gravedad de la enfermedad, prevenir un empeoramiento de la enfermedad, curar la enfermedad, prevenir el desarrollo de la enfermedad, disminuir las probabilidades de que un paciente desarrolle la enfermedad, disminuya la morbilidad y la mortalidad y prolongar la vida o la esperanza de vida del paciente. Como ejemplos no limitativos, los "resultados beneficiosos" o "resultados deseados" pueden ser el alivio de uno o más síntomas, la disminución de la extensión del déficit, un estado estabilizado (es decir, no empeoramiento) del tumor, un retraso o ralentización del crecimiento de un tumor y una mejora o paliación de los síntomas asociados con el tumor.

20 Las "afecciones" y las "afecciones de la enfermedad", tal como se usan en el presente documento, pueden incluir, pero no se limitan en modo alguno a, cualquier forma de trastornos o enfermedades proliferativas de células neoplásicas malignas (por ejemplo, tumor y cáncer). Según la presente invención, las "afecciones" y las "afecciones de la enfermedad", tal como se usan en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, todas y cada una de las afecciones que implican una diferencia de tejido, es decir, normal frente a anormal, debido a todas y cada una de las razones, incluyendo, pero sin limitarse a, tumor, lesión, trauma, isquemia, infección, inflamación o autoinflamación. Todavía según la presente invención, las "afecciones" y las "afecciones de la enfermedad", tal como se usan en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, cualquier situación en la que un tejido de interés (por ejemplo, un tejido canceroso, lesionado, isquémico, infectado o inflamatorio) es diferente del tejido circundante (por ejemplo, tejidos sanos) debido a causas fisiológicas o patológicas. Los ejemplos de "afecciones" y "afecciones patológicas" incluyen, entre otros, tumores, cánceres, lesión cerebral traumática, lesión de médula espinal, accidente cerebrovascular, hemorragia cerebral, isquemia cerebral, enfermedades cardíacas isquémicas, lesión por reperfusión isquémica, enfermedades cardiovasculares, estenosis de válvula cardíaca, enfermedades infecciosas, infecciones microbianas, infección viral, infección bacteriana, infección por hongos y enfermedades autoinmunes.

25 Un "cáncer" o "tumor", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un crecimiento incontrolado de células que interfiere con el funcionamiento normal de los órganos y sistemas corporales, y/o todo crecimiento y proliferación de células neoplásicas, independientemente de si son malignas o benignas, y todas las células y tejidos pre-cancerosos y cancerosos. Un sujeto que tiene un cáncer o un tumor es un sujeto que tiene células cancerosas medibles presentes de manera objetiva en el cuerpo del sujeto. En esta definición están incluidos los cánceres benignos y malignos, así como tumores latentes o micrometastasis. Los cánceres que migran desde su ubicación original y forman raíces en órganos vitales pueden conducir a la muerte del sujeto a través del deterioro funcional de los órganos afectados. Tal como se usa en el presente documento, el término "invasivo" se refiere a la capacidad de infiltrarse en y de destruir el tejido circundante. El melanoma es una forma invasiva de tumor de piel. Tal como se usa en el presente documento, el término "carcinoma" se refiere a un cáncer que surge en las células epiteliales. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, tumor del sistema nervioso, tumor cerebral, tumor de vaina nerviosa, cáncer de mama, cáncer de colon, carcinoma, cáncer de pulmón, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer del tracto urinario, cáncer de tiroides, cáncer renal, carcinoma de células renales, carcinoma, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de cerebro y cáncer de próstata, incluyendo, pero sin limitarse a, cáncer de próstata dependiente de andrógenos y cáncer de próstata independiente de andrógenos. Los ejemplos de tumor cerebral incluyen, pero no se limitan a, tumor cerebral benigno, tumor cerebral maligno, tumor cerebral primario, tumor cerebral secundario, tumor cerebral metastásico, glioma, glioblastoma multiforme (GBM), meduloblastoma, ependimoma, astrocitoma, astrocitoma pilocítico, oligodendroglioma, glioma de tronco encefálico, glioma de nervio óptico, glioma mixto tal como oligoastrocitoma, glioma de bajo grado, glioma de alto grado, glioma supratentorial, glioma infratentorial, glioma pontino, meningioma, adenoma pituitario y tumor de vaina nerviosa. El tumor de sistema nervioso o neoplasia del sistema nervioso se refiere a cualquier tumor que afecte al sistema nervioso. Un tumor de sistema nervioso puede ser un tumor en el sistema nervioso central (SNC), en el sistema nervioso periférico (SNP) o tanto en el SNC como en el SNP. Los ejemplos de tumor de sistema nervioso incluyen, pero no se limitan a, tumor cerebral, tumor de vaina nerviosa y glioma de nervio óptico.

60 Tal como se usa en el presente documento, el término "administrar" se refiere a la colocación de un agente tal como se divulga en el presente documento en un sujeto mediante un método o ruta que resulta en una localización al menos parcial

de los agentes en un sitio deseado. La "vía de administración" puede hacer referencia a cualquier vía de administración conocida en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, aerosol, nasal, oral, transmucosal, transdérmica, parenteral, enteral, tópico o local. "Parenteral" se refiere a una vía de administración que se asocia generalmente con la inyección, que incluye intraorbital, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardíaca, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar, intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterina, intravenosa, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, transmucosal o transtraqueal. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden estar en forma de soluciones o suspensiones para infusión o inyección o como polvos liofilizados. A través de la vía enteral, las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas de gel, comprimidos revestidos de azúcar, jarabes, suspensiones, soluciones, polvos, gránulos, emulsiones, microesferas o nanoesferas o vesículas lipídicas o vesículas poliméricas que permiten una liberación controlada.

El término "muestra" o la expresión "muestra biológica", tal como se usan en el presente documento, denotan una parte de un organismo biológico. La muestra puede ser una célula, un tejido, un órgano o una parte del cuerpo. Una muestra todavía puede ser parte integral del organismo biológico. Por ejemplo, cuando un cirujano está intentando extirpar un tumor de mama de una paciente, la muestra se refiere al tejido de la mama marcado con un tinte infrarrojo y del que se han obtenido imágenes con el sistema de obtención de imágenes descrito en el presente documento. En esta situación, la muestra todavía es parte del cuerpo del paciente antes de ser extraída. Una muestra puede tomarse o aislarse del organismo biológico, por ejemplo, una muestra tumoral extraída de un sujeto. Las muestras biológicas ejemplares incluyen, pero no se limitan a, una muestra de biofluido; suero; plasma; orina; saliva; una muestra tumoral; una biopsia tumoral y/o muestra de tejido, etc. El término incluye también una mezcla de las muestras indicadas anteriormente. El término "muestra" incluye también muestras biológicas no tratadas o pretratadas (o preprocesadas). En algunas realizaciones, una muestra puede comprender una o más células procedentes del sujeto. En algunas realizaciones, una muestra puede ser una muestra de células tumorales, por ejemplo, la muestra puede comprender células cancerosas, células de un tumor y/o una biopsia tumoral.

Tal como se usa en el presente documento, un "sujeto" significa un ser humano o un animal. Normalmente, el animal es un vertebrado, tal como un primate, un roedor, un animal doméstico o un animal de caza. Los primates incluyen chimpancés, monos cinomólogos, monos araña y macacos, por ejemplo, Rhesus. Los roedores incluyen ratones, ratas, marmotas, hurones, conejos y hámsters. Los animales domésticos y de caza incluyen vacas, caballos, cerdos, ciervos, bisontes, búfalos, especies felinas, por ejemplo, gato doméstico y especies caninas, por ejemplo, perro, zorro, lobo. Los términos "paciente", "individuo" y "sujeto" se usan indistintamente en el presente documento. En una realización, el sujeto es mamífero. El mamífero puede ser un ser humano, un primate no humano, un ratón, una rata, un perro, un gato, un caballo o una vaca, pero no está limitado a estos ejemplos. Además, los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar animales domésticos y/o mascotas.

"Mamífero", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier miembro de la clase Mammalia, que incluye, sin limitación, seres humanos y primates no humanos, tales como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja como vacas, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos como perros y gatos; animales de laboratorio, incluyendo roedores, tales como ratones, ratas y cobayas, y similares. El término no denota una edad o sexo particular. De esta manera, se pretenden que los sujetos adultos y los recién nacidos, así como los fetos, independientemente de si son machos o hembras, estén incluidos dentro del alcance de este término.

Un sujeto puede ser uno que ha sido diagnosticado previamente o identificado como que padece o que tiene una afección que necesita tratamiento (por ejemplo, un tumor) o una o más complicaciones relacionadas con la afección, y opcionalmente, ha sido sometido ya a un tratamiento para la afección o de las una o más complicaciones relacionadas con la afección. De manera alternativa, un sujeto puede ser también uno a quien no se le ha diagnosticado previamente una afección o una o más complicaciones relacionadas con la afección. Por ejemplo, un sujeto puede ser uno que exhibe uno o más factores de riesgo para una afección o una o más complicaciones relacionadas con la afección o un sujeto que no exhibe factores de riesgo. Un "sujeto en necesidad" de tratamiento para una afección particular puede ser un sujeto que se sospecha que tiene esa afección, al que se la ha diagnosticado que tiene esa afección, que ya ha sido tratado o que está en tratamiento para esa afección, no tratado para esa afección o en riesgo de desarrollar esa afección.

La expresión "estadísticamente significativo" o "significativamente" se refiere a la evidencia estadística de que hay una diferencia. Se define como la probabilidad de tomar la decisión de rechazar la hipótesis nula cuando la hipótesis nula es realmente cierta. La decisión se toma frecuentemente usando el valor p.

Según la invención, "canal" significa un canal que conduce luz desde un lugar a otro. Un "canal" puede ser una fibra óptica, un filtro óptico, un potenciador óptico, un atenuador óptico, un divisor de haz, un condensador, un difusor, una lente colimadora, una ventana, un orificio, un espejo, un obturador, una lente o un conjunto de lentes o un dispositivo que incluye, pero que no se limita a, un endoscopio y un microscopio, o sus diversas combinaciones.

Según la invención, pueden usarse diversos fluoróforos infrarrojos o de infrarrojo cercano. Los ejemplos de estos fluoróforos incluyen, pero no se limitan a, diversos tintes fluorescentes infrarrojos o de infrarrojo cercano y puntos cuánticos. Están solos o unidos a una fracción diana, tal como un péptido, una proteína, una nanopartícula, un nanoconjugado, un anticuerpo y un ácido nucleico (por ejemplo, cadenas de ADN y ARN) o a cualquier otra entidad diana biológicamente específica. La longitud de onda de infrarrojo cercano es una parte de la longitud de onda infrarroja y está más cerca de la

radiación detectable por el ojo humano; y el infrarrojo medio y lejano están progresivamente más alejados del espectro visible. De esta manera, los fluoróforos de infrarrojo cercano son un subconjunto de los fluoróforos infrarrojos.

5 A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente solicitud tendrán los significados que entienden comúnmente las personas expertas en la materia a la que pertenece esta divulgación. Debería entenderse que la presente invención no se limita a la metodología, los protocolos y los reactivos particulares, etc., descritos en el presente documento y, por lo tanto, pueden variar. La terminología usada en el presente documento tiene el propósito de describir solo realizaciones particulares, y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que está definido únicamente por las reivindicaciones.

10 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra. Según la invención, la muestra comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. El sistema de obtención de imágenes comprende: un sensor de imágenes, un láser, un filtro de limpieza láser, un filtro de ranura y una fuente de luz blanca. El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor. El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. El filtro de limpieza láser se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, y estrecha la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. La luz de excitación estrechada excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión. El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes y bloquea la luz de excitación. La fuente de luz blanca emite una luz que comprende luz visible. Según la invención, la luz visible puede tener un espectro de 400-700 nm. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de disparo rápido.

20 En algunas realizaciones, hay un filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra. En diversas realizaciones, la intensidad del láser es controlada para garantizar una excitación uniforme en la misma área iluminada por la luz visible. Aunque, por definición, los láseres son monocromáticos, lo que significa que no tienen un intervalo de banda ancho, en la práctica, la mayoría de los láseres tendrán una pequeña cantidad de emisión en las bandas de color adyacentes. En diversas realizaciones, el láser es un láser de banda estrecha que incluye, pero que no se limita a, un láser que tiene un intervalo de longitudes de onda que no abarca más de 5, 10, 15 o 20 nm. Como un ejemplo no limitativo, el láser puede emitir luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 775-795 nm con un máximo a aproximadamente 785 nm (Figura 7).

30 En diversas realizaciones, el intervalo de bloqueo del filtro de ranura es más ancho que el intervalo de transmisión del filtro de limpieza láser. En diversas realizaciones, el intervalo de bloqueo del filtro de ranura es aproximadamente 5-10 nm, 10-15 nm o 15-20 nm más ancho que el intervalo de transmisión del filtro de limpieza láser. En diversas realizaciones, el intervalo de bloqueo del filtro de ranura es aproximadamente un 5-10%, 10-15%, 15-20%, 20-25%, 25-30%, 30-40%, 40-50%, 50-100% o 100-200% más ancho que el intervalo de transmisión del filtro de limpieza láser. Como un ejemplo no limitativo, el intervalo de transmisión del filtro de limpieza láser puede ser de aproximadamente 775-795 nm y el intervalo de bloqueo del filtro de ranura puede ser de aproximadamente 770-800 nm, 765-805 nm o 760-810 nm.

35 En diversas realizaciones, la luz de excitación comprende luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm. En diversas realizaciones, el filtro de limpieza láser transmite de manera selectiva luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm. En diversas realizaciones, el filtro de ranura bloquea de manera selectiva la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.

40 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra, de manera que la luz visible sea transmitida a la muestra. El divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y el divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra puede ser un único divisor de haz de ranura o dos divisores de haz de ranura separados. En una realización, el divisor de haz de ranura puede dividir la luz a una longitud de onda de aproximadamente 700, 725 o 750 nm. En otra realización, el divisor de haz de ranura refleja la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.

45 En diversas realizaciones, no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra. En algunas realizaciones, hay un filtro óptico para bloquear la luz de excitación en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. En otras realizaciones, no hay filtro óptico para bloquear la luz de excitación en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra.

50 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen. Según la presente invención, la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes procesa las señales de sensor para generar al menos un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, y uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIF) cuando la muestra recibe solo luz de excitación, y en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma todos

los NIF a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del NIF final. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes suma el NIF final de color falso al WLF para generar un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes genera fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 30 Hz.

En diversas realizaciones, durante un ciclo de generación de un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja, el sistema de generación de imágenes genera uno o más WLFs, uno o más SLFs y uno o más NIFs. Según la presente invención, la secuencia de WLF (W), SLF (S) y NIF (N) durante un ciclo tiene muchas opciones adecuadas, incluyendo, pero sin limitarse a, W-S-N, W-N-S, S-W-N, S-N-W, N-S-W y N-W-S. Todavía según la presente invención, los números de WLF (W), SLF (S) y NIF (N) durante un ciclo tienen muchas opciones adecuadas, incluyendo, pero sin limitarse a, 1W-1S-1N, 1W-1S-2N, 1W-1S-3N, 2W-2S-6N y 1W-1S-3N-1W-1S-3N. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes repite continuamente un ciclo para generar un flujo continuo de fotogramas de imagen compuestos como un vídeo en tiempo real.

En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados a partir de la unidad de procesamiento de imágenes. Según la presente invención, la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes. Los ejemplos de la unidad de visualización de imágenes incluyen, pero no se limitan a, monitores, proyectores, teléfonos, tabletas y pantallas. En algunas realizaciones, la unidad de visualización de imágenes muestra fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 30 Hz.

En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra, un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz blanca a la muestra, un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes y un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes. Según la presente invención, los canales primero, segundo, tercero y cuarto son cuatro canales separados o combinados en uno, dos o tres canales. Todavía según la presente invención, dos o más de los cuatro canales pueden solaparse parcial o completamente en sus trayectorias de luz. En diversas realizaciones, los canales primero, segundo, tercero y cuarto son un endoscopio o un microscopio.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra. Según la invención, la muestra comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. Como un ejemplo no limitativo, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano puede ser verde de indocianina (ICG). El sistema comprende: (a) un sensor de imágenes, (b) un láser, (c) un filtro de limpieza láser, (d) un primer canal, (e) una fuente de luz blanca, (f) un segundo canal, (g) un divisor de haz de ranura, (h) un tercer canal, (i) un cuarto canal, (j) un filtro de ranura, (k) una unidad de procesamiento de imágenes, y (l) una unidad de visualización de imágenes. (a) El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor a una primera frecuencia. No hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. El sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos. Los ejemplos del sensor de imágenes incluyen, pero no se limitan a, sensores de imágenes CCD y sensores de imágenes CMOS. (b) El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. (c) El filtro de limpieza láser se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra. El filtro de limpieza láser estrecha la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y la luz de excitación estrechada excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión. (d) El primer canal conduce la luz de excitación del láser a la muestra. (e) La fuente de luz blanca emite una luz que comprende luz visible. (f) El segundo canal conduce la luz visible desde la fuente de luz blanca a la muestra. (g) El divisor de haz de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra. La luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra y la luz visible se transmite a través del divisor de haz de ranura a la muestra. (h) El tercer canal conduce la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes. (i) El cuarto canal conduce la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes. (j) El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y el filtro de ranura bloquea la luz de excitación. (k) La unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes y procesa las señales de sensor para generar fotogramas de imagen. Se genera al menos un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, se genera al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, y se generan uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIF) cuando la muestra recibe solo luz de excitación. La unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma entre sí todos los NIFs a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final. La unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del NIF final y suma el NIF final de colores falsos al WLF para generar un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. (l) La unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes y muestra imágenes en base a los fotogramas de imagen generados a partir de la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos. En una realización, todos los sensores de píxeles azules, verdes y rojos son sensibles tanto a la luz visible como a la luz infrarroja. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes es un sensor de imágenes CCD que detecta luz visible y luz infrarroja y genera señales de imagen CCD. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes es un sensor de imágenes CMOS que

detecta luz visible y luz infrarroja y genera señales de imagen CMOS. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes no tiene un filtro de paso largo NIR.

5 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además un software que controla todos los componentes del sistema de obtención de imágenes. La Figura 9 representa un dispositivo o un sistema 900 informático que comprende uno o más procesadores 930 y una memoria 940 que almacena uno o más programas 950 para su ejecución por los uno o más procesadores 930.

En algunas realizaciones, el dispositivo o sistema 900 informático puede comprender además un medio 960 de almacenamiento no transitorio legible por ordenador que almacena los uno o más programas 950 para su ejecución por los uno o más procesadores 930 del dispositivo o sistema 900 informático.

10 En algunas realizaciones, el dispositivo o sistema 900 informático puede comprender además uno o más dispositivos 910 de entrada, que pueden estar configurados para enviar o recibir información a o desde cualquiera de entre el grupo que consiste en: un dispositivo externo (no mostrado), los uno o más procesadores 930, la memoria 940, el medio 960 de almacenamiento no transitorio legible por ordenador y uno o más dispositivos 970 de salida. Los uno o más dispositivos 910 de entrada pueden estar configurados para enviar o recibir información de manera inalámbrica desde o al dispositivo
15 externo a través de un medio de comunicación inalámbrica, tal como una antena 920, un transceptor (no mostrado) o similar.

20 En algunas realizaciones, el dispositivo o sistema 900 informático puede comprender además uno o más dispositivos 970 de salida, que pueden estar configurados para enviar o recibir información a o desde cualquiera de entre el grupo que consiste en: un dispositivo externo (no mostrado), los uno o más dispositivos 910 de entrada, los uno o más procesadores 930, la memoria 940 y el medio 960 de almacenamiento no transitorio legible por ordenador. Los uno o más dispositivos 970 de salida pueden estar configurados para enviar o recibir información de manera inalámbrica desde o al dispositivo exterior a través de un medio de comunicación inalámbrica, tal como una antena 980, un transceptor (no mostrado) o similar.

25 Cada uno de los módulos o programas identificados anteriormente corresponde a un conjunto de instrucciones para realizar una función descrita anteriormente. No es necesario que estos módulos y programas (es decir, conjuntos de instrucciones) se implementen como programas de software, procedimientos o módulos separado y, de esta manera, varios subconjuntos de estos módulos pueden combinarse o reorganizarse de otra manera en diversas realizaciones. En algunas realizaciones, la memoria puede almacenar un subconjunto de los módulos y de las estructuras de datos identificados anteriormente. Además, la memoria puede almacenar módulos y estructuras de datos adicionales no descritas anteriormente.

30 Los aspectos ilustrados de la divulgación pueden llevarse a la práctica también en entornos informáticos distribuidos en los que ciertas tareas son realizadas por dispositivos de procesamiento remotos que están vinculados a través de una red de comunicaciones. En un entorno informático distribuido, los módulos de programa pueden estar situados en dispositivos de almacenamiento de memoria tanto locales como remotos.

35 Además, debe apreciarse que diversos componentes descritos en el presente documento pueden incluir un circuito eléctrico o circuitos eléctricos que pueden incluir componentes y elementos de circuitos de valor adecuado con el fin de implementar las realizaciones de la innovación o las innovaciones en cuestión. Además, puede apreciarse que muchos de los diversos componentes pueden implementarse en uno o más chips de circuito integrado (IC). Por ejemplo, en una realización, un conjunto de componentes puede implementarse en un solo chip IC. En otras realizaciones, uno o más de los componentes respectivos se fabrican o se implementan en chips IC separados.

40 La descripción anterior incluye ejemplos de las realizaciones de la presente invención. Por supuesto, no es posible describir cada combinación de componentes o metodologías concebible con el propósito de describir el tema reivindicado, pero debe apreciarse que son posibles muchas otras combinaciones y permutaciones de la innovación en cuestión. Además, la descripción anterior de las realizaciones ilustradas de la divulgación en cuestión, incluyendo la descripción en el Sumario, no pretende ser exhaustiva o limitar las realizaciones divulgadas a las formas precisas divulgadas. Aunque en el presente
45 documento se describen realizaciones y ejemplos específicos con propósitos ilustrativos, son posibles diversas modificaciones que se consideran dentro del alcance de dichas realizaciones y ejemplos, tal como pueden reconocer las personas expertas en la técnica relevante.

50 En particular y con relación a las diversas funciones realizadas por los componentes, dispositivos, circuitos, sistemas y similares descritos anteriormente, los términos usados para describir dichos componentes pretenden corresponder, a menos que se indique lo contrario, a cualquier componente que realice la función especificada del componente descrito (por ejemplo, un equivalente funcional), aunque no sea estructuralmente equivalente a la estructura divulgada, que realiza la función en los aspectos ejemplares ilustrados en el presente documento de la materia reivindicada. En este sentido, se reconocerá también que la innovación incluye un sistema, así como un medio de almacenamiento legible por ordenador que tiene instrucciones ejecutables por ordenador para realizar las acciones y/o los eventos de los diversos métodos de la
55 materia reivindicada.

Los sistemas/circuitos/módulos indicados anteriormente se han descrito con respecto a la interacción entre diversos componentes/bloques. Puede apreciarse que dichos sistemas/circuitos y componentes/bloques pueden incluir esos

componentes o subcomponentes especificados, algunos de los componentes o subcomponentes especificados y/o componentes adicionales, y según diversas permutaciones y combinaciones de los anteriores. Los subcomponentes pueden implementarse también como componentes acoplados de manera comunicativa a otros componentes en lugar de incluidos en el interior de los componentes principales (jerárquico). Además, cabe señalar que uno o más componentes pueden combinarse en un único componente que proporciona una funcionalidad añadida o pueden dividirse en varios subcomponentes separados, y puede proporcionarse una o más capas intermedias, tal como una capa de gestión, para acoplarse de manera comunicativa a dichos subcomponentes con el fin de proporcionar una funcionalidad integrada. Cualquier componente descrito en el presente documento puede interactuar también con uno o más componentes no descritos específicamente en el presente documento, pero conocidos por las personas expertas en la materia.

Además, aunque una característica particular de la innovación en cuestión puede haberse divulgado con respecto a solo una de diversas implementaciones, dicha característica puede combinarse con una o más características adicionales de las otras implementaciones según se desee y sea ventajoso para cualquier solicitud determinada o particular. Además, en la medida en que los términos "incluye", "que incluye", "tiene", "contiene", sus variantes y otras palabras similares se usan en la descripción detallada o en las reivindicaciones, estos términos pretenden ser inclusivos de manera similar a la expresión "que comprende" como una palabra de transición abierta sin excluir ningún otro elemento adicional.

Tal como se usa en esta solicitud, los términos "componente", "módulo", "sistema" o similares pretenden hacer referencia generalmente a una entidad relacionada con un ordenador, hardware (por ejemplo, un circuito), una combinación de hardware y software, software o una entidad relacionada con una máquina operativa con una o más funcionalidades específicas. Por ejemplo, un componente puede ser, pero sin limitarse a, un proceso que se ejecuta en un procesador (por ejemplo, un procesador de señal digital), un procesador, un objeto, un ejecutable, un hilo de ejecución, un programa y/o un ordenador. A modo de ilustración, tanto una aplicación que se ejecuta en un controlador como el controlador pueden ser un componente. Uno o más componentes pueden residir en el interior de un proceso y/o un hilo de ejecución y un componente puede estar localizado en un ordenador y/o puede estar distribuido entre dos o más ordenadores. Además, un "dispositivo" puede tener forma de hardware especialmente diseñado; hardware generalizado que se especializa con la ejecución del software en el mismo que permite al hardware realizar una función específica; software almacenado en un medio legible por ordenador; o una combinación de los mismos.

Además, las palabras "ejemplo" o "ejemplar" se usan en el presente documento de manera que sirven como un ejemplo, una instancia o una ilustración. Cualquier aspecto o diseño descrito en el presente documento como "ejemplar" no debe interpretarse necesariamente como preferido o ventajoso con relación a otros aspectos o diseños. Más bien, el uso de las palabras "ejemplo" o "ejemplar" pretende presentar conceptos de una manera concreta. Tal como se usa en esta solicitud, el término "o" pretende ser un "o" inclusivo en lugar de un "o" exclusivo. Es decir, a menos que se especifique lo contrario, o que sea claro por el contexto, se pretende que "X emplea A o B" signifique cualquiera de las permutaciones inclusivas naturales. Es decir, si X emplea A; X emplea B; o X emplea tanto A como B, entonces "X emplea A o B" se cumple en cualquiera de los casos anteriores. Además, los artículos "un" y "una", tal como se usan en esta solicitud y en las reivindicaciones adjuntas, deberían interpretarse generalmente en el sentido de "uno o más" a menos que se especifique lo contrario o sea claro a partir del contexto que se refiere a una forma singular.

Los dispositivos informáticos incluyen típicamente una diversidad de medios, que pueden incluir medios de almacenamiento legibles por ordenador y/o medios de comunicaciones, en los que estos dos términos se usan en el presente documento de manera diferente entre sí, como se indica a continuación. Los medios de almacenamiento legibles por ordenador pueden ser cualquier medio de almacenamiento disponible que pueda ser accedido por el ordenador, son típicamente de naturaleza no transitoria y pueden incluir medios volátiles y no volátiles, medios extraíbles y no extraíbles. A modo de ejemplo, y no de limitación, los medios de almacenamiento legibles por ordenador pueden implementarse en conexión con cualquier método o tecnología para el almacenamiento de información, tal como instrucciones legibles por ordenador, módulos de programa, datos estructurados o datos no estructurados. Los medios de almacenamiento legibles por ordenador pueden incluir, pero no se limitan a, RAM, ROM, EEPROM, memoria flash u otra tecnología de memoria, CD-ROM, disco digital versátil (DVD) u otro almacenamiento de disco óptico, casetes magnéticos, cinta magnética, almacenamiento en disco magnética u otros dispositivos de almacenamiento magnéticos, u otros medios tangibles y/o no transitorios que pueden usarse para almacenar la información deseada. Los medios de almacenamiento legibles por ordenador pueden ser accedidos por uno o más dispositivos informáticos locales o remotos, por ejemplo, a través de solicitudes de acceso, consultas u otros protocolos de recuperación de datos, para una diversidad de operaciones con respecto a la información almacenada por el medio.

Por otra parte, los medios de comunicación incorporan típicamente instrucciones legibles por ordenador, estructuras de datos, módulos de programa u otros datos estructurados o no estructurados en una señal de datos que puede ser transitoria, tal como una señal de datos modulada, por ejemplo, una onda portadora u otro mecanismo de transporte, e incluye cualquier suministro de información o medios de transporte. La expresión "señal de datos modulada" o señales se refiere a una señal que tiene una o más de sus características establecidas o cambiadas para codificar la información en una o más señales. A modo de ejemplo, y no de limitación, los medios de comunicación incluyen medios cableados, tales como una red cableada o conexión directa por cable, y medios inalámbricos, tales como medios inalámbricos acústicos, RF, infrarrojos y otros.

En vista de los sistemas ejemplares descritos anteriormente, las metodologías que pueden implementarse según el tema descrito se apreciarán mejor con referencia a los diagramas de flujo de las diversas figuras. En aras de la simplicidad de la explicación, las metodologías se representan y se describen como una serie de acciones. Sin embargo, las acciones según esta divulgación pueden ocurrir en diversos órdenes y/o simultáneamente, y con otras acciones no presentadas ni descritas en el presente documento. Además, no todas las acciones ilustradas pueden ser necesarias para implementar las metodologías según el tema en cuestión. Además, las personas expertas en la materia comprenderán y apreciarán que las metodologías podrían representarse de manera alternativa como una serie de estados interrelacionados mediante un diagrama de estados o eventos. Además, debería apreciarse que las metodologías divulgadas en esta memoria descriptiva pueden almacenarse en un artículo de fabricación para facilitar el transporte y la transferencia de dichas metodologías a dispositivos informáticos. La expresión artículo de fabricación, tal como se usa en el presente documento, pretende abarcar un programa informático accesible desde cualquier dispositivo legible por ordenador o medio de almacenamiento.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: uno o más procesadores y una memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; (c) operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; (d) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (e) operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible; (f) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz blanca a la muestra; (g) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra y la luz visible sea transmitida a través del divisor de haz de ranura a la muestra; (h) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (j) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura

bloquee la luz de excitación; y (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes, en el que se genera al menos un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, en el que se genera al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, en el que se generan uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIF) cuando la muestra recibe solo luz de excitación, en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma todos los NIFs a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del NIF final y en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el NIF final de color falso al WLF para generar un fotograma compuesto de imagen de luz visible y luz infrarroja. (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: uno o más procesadores y memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; (c) operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; (d) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (e) operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible; (f) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz blanca a la muestra; (g) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra y la luz visible sea transmitida a través del divisor de haz de ranura a la muestra; (h) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (j) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes, en el que se genera al menos un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, en el que se genera al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, en el que se generan uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIF) cuando la muestra recibe solo luz de excitación, en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma todos los NIFs a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea el color del NIF final y en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el NIF final de color falso al WLF para generar un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja; y (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano; (c) operar un filtro de limpieza láser en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra, de manera que el filtro de limpieza láser estreche la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, y de manera que la luz de excitación estrechada excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; (d) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (e) operar una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible; (f) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz blanca a la muestra; (g) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra y la luz visible sea transmitida a través del divisor de haz de ranura a la muestra; (h) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (j) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar las señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes, en el que al menos se genera un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, en el que se genera al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, en el que se generan uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIF) cuando la muestra recibe solo luz de excitación,

en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma entre sí todos los NIFs a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea el color del NIF final y en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el NIF final de color falso al WLF para generar un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja; y (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alternar entre los estados encendido y apagado; operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: uno o más procesadores y memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alternar entre los estados encendido y apagado; operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor; operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alternar entre los estados encendido y apagado; operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; y operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor a una primera frecuencia, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y para alternar entre los estados encendido y apagado a una segunda frecuencia, en el que la segunda frecuencia es la mitad de la primera frecuencia; (c) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (d) operar una fuente de luz para emitir una luz que comprende luz visible; (e) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz a la muestra; (f) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; (g) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (h) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de

manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; (j) operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal del sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser; (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes, en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado desde el fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen de solo infrarrojo tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojo, en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen de solo infrarrojos de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genera un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja; y (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende: uno o más procesadores y memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor a una primera frecuencia, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y para alternar entre los estados encendido y apagado a una segunda frecuencia, en el que la segunda frecuencia es la mitad de la primera frecuencia; (c) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (d) operar una fuente de luz para emitir una luz que comprende luz visible; (e) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz a la muestra; (f) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; (g) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (h) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; (j) operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser; (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes, en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado desde el fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen solo infrarrojo tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojo, en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen de solo infrarrojos de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genere un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja; y (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: (a) operar un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz infrarroja y generar señales de sensor a una primera frecuencia, en el que no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos; (b) operar un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y para alternar entre los estados encendido y apagado a una segunda frecuencia, en el que la segunda frecuencia es la mitad de la primera frecuencia; (c) operar un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra; (d) operar una fuente de luz para emitir una luz que comprende luz visible; (e) operar un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz a la muestra; (f) operar un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que la luz de excitación sea reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra, de manera que la luz de excitación excite el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión, y de manera que la luz de emisión sea transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes; (g) operar un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes; (h) operar un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes; (i) operar un filtro de ranura en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, de manera que el filtro de ranura bloquee la luz de excitación; (j) operar un módulo de sincronización para sincronizar el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser; (k) operar una unidad de procesamiento de imágenes para procesar señales de sensor para generar fotogramas de imagen, en el que la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de

- imágenes, en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado del fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genere un fotograma de imagen de solo infrarrojo tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojo, en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen de solo infrarrojos de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genere un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja; y (l) operar una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.
- 5
- 10 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para obtener imágenes de una muestra, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: proporcionar una muestra; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y obtener imágenes de la muestra usando el sistema de obtención de imágenes.
- 15 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para obtener imágenes de una muestra, que comprende: uno o más procesadores y memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: proporcionar una muestra; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y obtener imágenes de la muestra usando el sistema de obtención de imágenes.
- 20 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para obtener imágenes de una muestra, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: proporcionar una muestra; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y obtener imágenes de la muestra usando el sistema de obtención de imágenes.
- 25 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para tratar a un sujeto con un tumor, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: administrar un tinte infrarrojo al sujeto, marcar de esta manera el tumor con el tinte infrarrojo; realizar una cirugía sobre el sujeto para acceder al área del tumor marcado; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; identificar el tumor marcado usando el sistema de obtención de imágenes; y eliminar el tumor marcado, tratando de esta manera al sujeto con el tumor.
- 30
- 35 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para tratar a un sujeto con un tumor, que comprende: uno o más procesadores y una memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: administrar un tinte infrarrojo al sujeto, marcar de esta manera el tumor con el tinte infrarrojo; realizar una cirugía sobre el sujeto para acceder al área del tumor marcado; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; identificar el tumor marcado usando el sistema de obtención de imágenes; y eliminar el tumor marcado, tratando de esta manera al sujeto con el tumor.
- 40 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para tratar a un sujeto con un tumor, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un sistema informático, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: administrar un tinte infrarrojo al sujeto, marcar de esta manera el tumor con el tinte infrarrojo; realizar una cirugía sobre el sujeto para acceder al área del tumor marcado; proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; identificar el tumor marcado usando el sistema de obtención de imágenes; y eliminar el tumor marcado, tratando de esta manera al sujeto con el tumor.
- 45 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para capturar y procesar imágenes y para una visualización fluida de imágenes, que comprende: en un dispositivo que tiene uno o más procesadores y una memoria que almacena uno o más programas para su ejecución por los uno o más procesadores, incluyendo los uno o más programas instrucciones para: utilizar codificación de software de procesamiento en paralelo; transferir una imagen no tratada; y realizar una interpolación cromática sobre la imagen no tratada en uno o más procesadores.
- 50
- Los uno o más procesadores pueden comprender una unidad de procesamiento de gráficos (GPU).
- La codificación de software de procesamiento en paralelo puede comprender una arquitectura unificada de dispositivos de cómputo (CUDA) basada en GPU.
- La codificación de software de procesamiento en paralelo puede almacenarse directamente en una tarjeta de vídeo.
- 55 La imagen no tratada puede ser una imagen no tratada de 8 bits.

Las imágenes pueden comprender fotogramas de alta definición a 300 fotogramas por segundo, una imagen Full HD (1080p) de 8 bits puede tener un tamaño de aproximadamente 2 Mb, la velocidad de transferencia de datos PCIe 3.0 puede ser de aproximadamente 7 Gb/s, y la imagen puede transferirse a la GPU en 300 µseg.

5 Después de transferir la imagen a la GPU, puede realizarse una operación de procesamiento de imágenes. La operación de procesamiento de imágenes puede ser una o más del grupo que consiste en: interpolación cromática de Bayer, resta de una imagen de luz dispersa de una imagen de fluorescencia, suma de los canales rojo, verde y azul de un fotograma de fluorescencia, impartir colores falsos a una imagen de fluorescencia y sumar una imagen de luz blanca con una imagen de fluorescencia de color falso.

10 Con el fin de mejorar la velocidad, en lugar de devolver la imagen a una memoria del sistema para su visualización, pueden usarse las funciones OpenGL/directx de la GPU para mostrar una imagen final.

Las imágenes pueden mostrarse en un monitor de vídeo de calidad HD de grado médico.

15 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema informático para capturar y procesar imágenes y para una visualización fluida de imágenes, que comprende: uno o más procesadores y una memoria para almacenar uno o más programas, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: utilizar codificación de software de procesamiento en paralelo; transferir una imagen no tratada; y realizar una interpolación cromática sobre la imagen no tratada en los uno o más procesadores.

Los uno o más procesadores pueden comprender una unidad de procesamiento de gráficos (GPU).

La codificación de software de procesamiento en paralelo puede comprender la arquitectura unificada de dispositivos de cómputo (CUDA) basada en GPU.

20 La codificación del software de procesamiento en paralelo puede almacenarse directamente en una tarjeta de vídeo.

La imagen no tratada puede ser una imagen no tratada de 8 bits.

Las imágenes pueden comprender fotogramas de alta definición a 300 fotogramas por segundo, una imagen Full HD (1080p) de 8 bits puede tener un tamaño de aproximadamente 2 Mb, la velocidad de transferencia de datos PCIe 3.0 puede ser de aproximadamente 7 Gb/s, y la imagen puede transferirse a la GPU en 300 µseg.

25 Después de transferir la imagen a la GPU, puede realizarse una operación de procesamiento de imágenes. La operación de procesamiento de imágenes puede ser una o más del grupo que consiste en: interpolación cromática de Bayer, restar una imagen de luz dispersa de una imagen de fluorescencia, sumar los canales rojo, verde y azul de un fotograma de fluorescencia, impartir colores falsos a una imagen de fluorescencia y sumar una imagen de luz blanca con una imagen de fluorescencia de color falso.

30 Con el fin de mejorar la velocidad, en lugar de devolver la imagen a la memoria del sistema para su visualización, pueden usarse las funciones OpenGL/directx de la GPU para mostrar una imagen final.

Las imágenes pueden mostrarse en un monitor de vídeo de calidad HD de grado médico.

35 En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un medio de almacenamiento legible por ordenador no transitorio que almacena uno o más programas para capturar y procesar imágenes y para visualizar imágenes de manera fluida, siendo los uno o más programas para su ejecución por uno o más procesadores de un medio de almacenamiento, comprendiendo los uno o más programas instrucciones para: utilizar codificación de software de procesamiento en paralelo; transferir una imagen no tratada; y realizar una interpolación cromática sobre la imagen no tratada en uno o más procesadores.

Los uno o más procesadores pueden comprender una unidad de procesamiento de gráficos (GPU).

40 La codificación de software de procesamiento en paralelo puede comprender la arquitectura unificada de dispositivos de cómputo (CUDA) basada en GPU.

La codificación de software de procesamiento en paralelo puede almacenarse directamente en una tarjeta de vídeo.

La imagen no tratada puede ser una imagen no tratada de 8 bits.

45 Las imágenes pueden comprender fotogramas de alta definición a 300 fotogramas por segundo, una imagen Full HD (1080p) de 8 bits puede tener un tamaño de aproximadamente 2 Mb, la velocidad de transferencia de datos PCIe 3.0 puede ser de aproximadamente 7 Gb/s, y la imagen puede transferirse a la GPU en 300 µseg.

Después de transferir la imagen a la GPU, puede realizarse una operación de procesamiento de imágenes. La operación de procesamiento de imágenes puede ser una o más del grupo que consiste en: interpolación cromática de Bayer, restar una imagen de luz dispersa de una imagen de fluorescencia, sumar los canales rojo, verde y azul de un fotograma de

fluorescencia, impartir colores falsos a una imagen de fluorescencia y sumar una imagen de luz blanca con una imagen de fluorescencia de color falso.

Con el fin de mejorar la velocidad, en lugar de devolver la imagen a la memoria del sistema para su visualización, pueden usarse las funciones OpenGL/DirectX de la GPU para mostrar una imagen final.

5 Las imágenes pueden mostrarse en un monitor de vídeo de calidad HD de grado médico.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra. Según la invención, la muestra comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. El sistema comprende: un sensor de imágenes, un láser, un divisor de haz de ranura, un filtro de ranura y un módulo de sincronización. El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor. El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alterna entre los estados encendido y apagado. El divisor de haz de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. La luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra; y la luz de excitación excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; y la luz de emisión es transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes. El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y el filtro de ranura bloquea la luz de excitación. El módulo de sincronización sincroniza el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de disparo rápido.

10 El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor. El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alterna entre los estados encendido y apagado. El divisor de haz de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. La luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra; y la luz de excitación excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; y la luz de emisión es transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes. El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y el filtro de ranura bloquea la luz de excitación. El módulo de sincronización sincroniza el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser. En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de disparo rápido.

20 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una fuente de luz para emitir una luz que comprende luz visible. Según la invención, la luz visible puede tener un espectro de 400-700 nm. En algunas realizaciones, hay un filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la fuente de luz a la muestra. Según la invención, la intensidad del láser es controlada para garantizar una excitación uniforme en la misma área iluminada por la luz visible.

Según la invención, la frecuencia de encendido y apagado del láser es la mitad de la frecuencia del sensor de las señales de sensor que generan las imágenes. En diversas realizaciones, el láser alterna entre el estado encendido y apagado a una frecuencia de 60 Hz. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes genera señales de sensor a una frecuencia de 120 Hz.

25 Según la invención, la frecuencia de encendido y apagado del láser es la mitad de la frecuencia del sensor de las señales de sensor que generan las imágenes. En diversas realizaciones, el láser alterna entre el estado encendido y apagado a una frecuencia de 60 Hz. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes genera señales de sensor a una frecuencia de 120 Hz.

30 En diversas realizaciones, la luz de excitación comprende luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm y/o 780 nm. En diversas realizaciones, el divisor de haz de ranura refleja de manera selectiva la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm y/o 780 nm. En diversas realizaciones, el filtro de ranura bloquea la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm y/o 780 nm.

En diversas realizaciones, no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, no hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra. En algunas realizaciones, hay un filtro óptico para bloquear la luz de excitación en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. En otras realizaciones, no hay ningún filtro óptico para bloquear la luz de excitación en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra.

35 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de procesamiento de imágenes para procesar las señales de sensor para generar fotogramas de imagen. Según la presente invención, la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado del fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen de solo infrarrojos tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen infrarroja de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genera un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. En algunas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes genera fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 60 Hz.

40 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de procesamiento de imágenes para procesar las señales de sensor para generar fotogramas de imagen. Según la presente invención, la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado del fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen de solo infrarrojos tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen infrarroja de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genera un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. En algunas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes genera fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 60 Hz.

45 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de procesamiento de imágenes para procesar las señales de sensor para generar fotogramas de imagen. Según la presente invención, la unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes. En diversas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado del fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen de solo infrarrojos tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojos. Según la invención, la unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen infrarroja de color falso de nuevo al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genera un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. En algunas realizaciones, la unidad de procesamiento de imágenes genera fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 60 Hz.

50 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes. Según la presente invención, la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes. Los ejemplos de la unidad de visualización de imágenes incluyen, pero no se limitan a, monitores, proyectores, teléfonos, tabletas y pantallas. En algunas realizaciones, la unidad de visualización de imágenes muestra fotogramas de imagen compuestos de luz visible y luz infrarroja a una frecuencia de 60 Hz.

55 En diversas realizaciones, el sistema de obtención de imágenes comprende además un primer canal para conducir la luz de excitación desde el láser a la muestra, un segundo canal para conducir la luz visible desde la fuente de luz a la muestra, un tercer canal para conducir la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes y un cuarto canal para conducir la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes. Según la presente invención, los canales primero, segundo, tercero y cuarto son cuatro canales separados o combinados en uno, dos o tres canales. Todavía según la presente invención, dos

o más de los cuatro canales pueden solaparse parcial o completamente en sus trayectorias de luz. En diversas realizaciones, los canales primero, segundo, tercero y cuarto son un endoscopio o un microscopio.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra. Según la invención, la muestra comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. Todavía según la invención, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano puede ser verde de indocianina (ICG). El sistema comprende: (a) un sensor de imágenes, (b) un láser (c) un primer canal (d) una fuente de luz (e) un segundo canal, (f) un divisor de haz de ranura, (g) un tercer canal, (h) un cuarto canal, (i) un filtro de ranura, (j) un módulo de sincronización, (k) una unidad de procesamiento de imágenes, y (l) una unidad de visualización de imágenes. (a) El sensor de imágenes detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de sensor a una primera frecuencia. No hay ningún filtro de infrarrojos en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. El sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos. Los ejemplos del sensor de imágenes incluyen, pero no se limitan a, sensores de imágenes CCD y sensores de imágenes CMOS. (b) El láser emite una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano y alterna entre los estados encendido y apagado a una segunda frecuencia, en el que la segunda frecuencia es la mitad de la primera frecuencia. (c) El primer canal conduce la luz de excitación desde el láser a la muestra. (d) La fuente de luz emite una luz que comprende luz visible. (e) El segundo canal conduce la luz visible desde la fuente de luz a la muestra. (f) El divisor de haz de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes. La luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra; la luz de excitación excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión; y la luz de emisión es transmitida a través del divisor de haz de ranura al sensor de imágenes. (g) El tercer canal conduce la luz de emisión desde la muestra al sensor de imágenes. (h) El cuarto canal conduce la luz visible desde la muestra al sensor de imágenes. (i) El filtro de ranura se coloca en la trayectoria de luz desde la muestra al sensor de imágenes, y el filtro de ranura bloquea la luz de excitación. (j) El módulo de sincronización sincroniza el sensor de imágenes con el láser y la luz visible, de manera que una única señal de sensor esté sincronizada con un único estado encendido o apagado del láser. (k) La unidad de procesamiento de imágenes está conectada al sensor de imágenes y procesa las señales de sensor para generar fotogramas de imagen. La unidad de procesamiento de imágenes resta un fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado del fotograma de imagen anterior o siguiente generado cuando el láser está encendido, de manera que se genera un fotograma de imagen de solo infrarrojos tras la diferencia entre los dos fotogramas de imagen sucesivos. La unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del fotograma de imagen de solo infrarrojos. La unidad de procesamiento de imágenes suma el fotograma de imagen de solo infrarrojos de color falso al fotograma de imagen generado cuando el láser está apagado, de manera que se genera un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja. (l) La unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes y muestra imágenes en base a los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes.

En diversas realizaciones, el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos. En una realización, todos los sensores de píxeles azules, verdes y rojos son sensibles tanto a la luz visible como a la luz infrarroja. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes es un sensor de imágenes CCD que detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de imagen CCD. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes es un sensor de imágenes CMOS que detecta la luz visible y la luz infrarroja y genera señales de imagen CMOS. En diversas realizaciones, el sensor de imágenes no tiene ningún filtro de paso largo NIR.

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona un método de obtención de imágenes de una muestra. El método comprende las etapas de: proporcionar una muestra, proporcionar un sistema de obtención de imágenes descrito en el presente documento, y obtener imágenes de la muestra usando el sistema de obtención de imágenes. En realizaciones adicionales, el método comprende además una etapa de realizar una cirugía en un sujeto para acceder a la muestra o para aislar la muestra. En diversas realizaciones, el sujeto tiene cáncer y puede necesitar cirugía para extraer tejido canceroso, y la muestra se refiere a la parte del cuerpo que contiene tejido canceroso. En diversas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En diversas realizaciones, el sujeto es un sujeto mamífero que incluye, pero que no se limita a, seres humanos, monos, simios, perros, gatos, vacas, caballos, cabras, cerdos, conejos, ratones y ratas. Todavía en realizaciones adicionales, el método comprende además una etapa de marcar la muestra con un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano. Según la invención, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano puede ser verde de indocianina (ICG).

En diversas realizaciones, la presente invención proporciona también un método para tratar a un sujeto con un tumor. El método comprende las etapas de: administrar un tinte infrarrojo al sujeto, marcar de esta manera el tumor con el tinte infrarrojo; realizar una cirugía sobre el sujeto para acceder al área del tumor marcado; proporcionar un sistema de obtención de imágenes descrito en el presente documento; identificar el tumor marcado usando el sistema de obtención de imágenes; y eliminar el tumor marcado, tratando de esta manera al sujeto con el tumor.

Los sistemas y métodos de obtención de imágenes de la invención pueden usarse para obtener imágenes de una muestra a partir de varios sujetos, incluyendo, pero sin limitarse a, seres humanos y primates no humanos, tales como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja tales como vacas, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos tales como perros y gatos; animales de laboratorio, incluyendo roedores tales como ratones, ratas y cobayas, y similares. En diversas realizaciones, el sujeto tiene cáncer y puede necesitar cirugía para extraer tejido canceroso, y la muestra se refiere a la parte del cuerpo que contiene tejido canceroso. En diversas realizaciones, la muestra es un tumor, una célula, un tejido, un órgano o una parte del cuerpo. En algunas realizaciones, la muestra se aísla a partir de un sujeto.

En otras realizaciones, la muestra es integral de un sujeto. Según la invención, la muestra comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano.

Los ejemplos del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano incluyen, pero no se limitan a, verde de indocianina (ICG), IR800, Alexa680 y cy5.5, y sus equivalentes funcionales, análogos, derivados o sales. Una persona experta en la técnica sabría cómo elegir elementos adecuados en los métodos y los sistemas de obtención de imágenes descritos en el presente documento para un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano particular. Como un ejemplo no limitativo, cuando el tinte infrarrojo a detectar es ICG (excitación 748-789 nm con un máximo en 785 nm; emisión 814-851 nm con un máximo en 825 nm), una persona experta en la materia elegiría un láser que emite una luz de excitación de aproximadamente 785 nm, un filtro de limpieza láser que transmite luz de 775-795 nm, una luz de bloqueo de filtro de ranura de 770-800 nm y/o una luz de división del divisor de haz de ranura a 700 nm en diversos sistemas y métodos descritos en el presente documento. Se conoce que el ICG tiene diferentes máximos en diferentes materiales. Además, el ICG es un ejemplo no limitativo y pueden usarse otros fluoróforos en lugar del ICG. Una persona experta en la materia entenderá que los ajustes pueden modificarse de manera correspondiente cuando el máximo no es 785 tal como se ha descrito en este ejemplo no limitativo. Por ejemplo, el sistema puede usar casi cualquier longitud de onda IR o NIR cambiando la excitación láser y los filtros ópticos.

Las dosis típicas de una cantidad efectiva del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano pueden estar comprendidas en los intervalos recomendados por el fabricante donde se usan compuestos de obtención de imágenes conocidos, y también según lo indicado por el experto en la materia por los resultados in vitro en células o resultados in vivo en modelos animales. Dichas dosis pueden reducirse típicamente en hasta aproximadamente un orden de magnitud en concentración o cantidad sin pérdida relevante de la actividad de marcado. La dosificación real puede depender del juicio del médico, de la afección del paciente y de la efectividad del método de obtención de imágenes basado, por ejemplo, en resultados in vitro de células cultivadas relevantes o una muestra de tejido histocultivada, o los resultados in vivo observados en los modelos animales apropiados. En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano puede administrarse una vez al día (SID/QD), dos veces al día (BID), tres veces al día (TID), cuatro veces al día (QID), o más, para administrar una cantidad efectiva del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano al sujeto, donde la cantidad efectiva es una cualquiera o más de las dosis descritas en el presente documento.

En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra aproximadamente 5-10, 10-20, 20-30 o 30-60 minutos antes de la obtención de imágenes. En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra aproximadamente 1-6, 6-12, 12-18, 18-24, 24-30, 30-36, 36-42 o 42-48 horas antes de la obtención de imágenes. En una realización, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es ICG, o un equivalente funcional, análogo, derivado o sal de ICG. En otras realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es uno del grupo que consiste en: IR800, Alexa680, cy5.5, un equivalente funcional de IR800, un equivalente funcional de Alexa680, un equivalente funcional de cy5.5, un análogo de IR800, un análogo de Alexa680, un análogo de cy5.5, un derivado de IR800, un derivado de Alexa680, un derivado de cy5.5, una sal de IR800, una sal de Alexa 680 o una sal de cy5.5. En ciertas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un ser humano.

En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra a aproximadamente 0,1-0,5, 0,5-1, 1-1,5, 1,5-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-10, 10-20, 20-50 o 50-100 mg/kg. En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra a aproximadamente de 0,001 a 0,01 mg/kg, de 0,01 a 0,1 mg/kg, de 0,1 a 0,5 mg/kg, de 0,5 a 5 mg/kg, de 5 a 10 mg/kg, de 10 a 20 mg/kg, de 20 a 50 mg/kg, de 50 a 100 mg/kg, de 100 a 200 mg/kg, de 200 a 300 mg/kg, de 300 a 400 mg/kg, de 400 a 500 mg/kg, de 500 a 600 mg/kg, de 600 a 700 mg/kg, de 700 a 800 mg/kg, de 800 a 900 mg/kg o de 900 a 1000 mg/kg. Aquí, "mg/kg" se refiere a mg por kg de peso corporal del sujeto. En una realización, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es ICG, o un equivalente funcional, análogo, derivado o sal de ICG. En otras realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es uno del grupo que consiste en: IR800, Alexa680, cy5.5, un equivalente funcional de IR800, un equivalente funcional de Alexa680, un equivalente funcional de cy5.5, un análogo de IR800, un análogo de Alexa680, un análogo de cy5.5, un derivado de IR800, un derivado de Alexa680, un derivado de cy5.5, una sal de IR800, una sal de Alexa 680 o una sal de cy5.5. En ciertas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un ser humano.

En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra una, dos, tres o más veces. En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra aproximadamente 1-3 veces al día, 1-7 veces a la semana o 1-9 veces al mes. Todavía en algunas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un sujeto o se aplica a una muestra durante aproximadamente 1-10 días, 10-20 días, 20-30 días, 30-40 días, 40-50 días, 50-60 días, 60-70 días, 70-80 días, 80-90 días, 90-100 días, 1-6 meses, 6-12 meses o 1-5 años. En una realización, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es ICG, o un equivalente funcional, análogo, derivado o sal de ICG. En ciertas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se administra a un ser humano.

Según la invención, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano puede administrarse usando los modos de administración apropiados, por ejemplo, los modos de administración recomendados por el fabricante. Según la invención, pueden utilizarse diversas vías para administrar el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano de los métodos reivindicados, incluyendo, pero sin limitarse a, aerosol, nasal, oral, transmucosal, transdérmica, parenteral, bomba implantable, infusión

continua, aplicación tópica, cápsulas y/o inyecciones. En diversas realizaciones, el agonista retinoide se administra por vía intravascular, intravenosa, intraarterial, intratumoral, intramuscular, subcutánea, intranasal, intraperitoneal u oral.

En diversas realizaciones, el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano se proporciona como una composición farmacéutica. Las composiciones preferidas exhibirán también una toxicidad mínima cuando se administran a un mamífero.

5 En diversas realizaciones, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse para su administración a través de cualquier vía de administración. La "vía de administración" puede referirse a cualquier vía de administración conocida en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, aerosol, nasal, oral, transmucosal, transdérmica, parenteral, enteral, tópica o local. "Parenteral" se refiere a una vía de administración que se asocia generalmente con la inyección, incluyendo
10 intraorbital, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardiaca, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar, intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterina, intravenosa, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, transmucosal o transtraqueal. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden estar en forma de soluciones o suspensiones para infusión o para inyección, o como polvos liofilizados. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden estar en forma de soluciones o suspensiones para infusión o para inyección. A través de la vía enteral, las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas de gel, comprimidos revestidos de azúcar, jarabes,
15 suspensiones, soluciones, polvos, gránulos, emulsiones, microesferas o nanoesferas o vesículas lipídicas o vesículas poliméricas que permiten una liberación controlada. Típicamente, las composiciones se administran mediante inyección. Los métodos para estas administraciones son conocidos por una persona experta en la materia. Según la invención, la composición farmacéutica puede formularse para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, oral o mediante inhalación.

20 En diversas realizaciones, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden contener cualquier excipiente farmacéuticamente aceptable. "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y deseable, e incluye excipientes que son aceptables para uso veterinario, así como para uso farmacéutico humano. Dichos excipientes pueden ser sólidos, líquidos, semisólidos o, en el caso de una composición de aerosol, gaseosos. Los ejemplos de excipientes incluyen, pero
25 no se limitan a, almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de revestimiento, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes., conservantes, antioxidantes, plastificantes, agentes gelificantes, espesantes, endurecedores, agentes de fraguado, agentes de suspensión, tensioactivos, humectantes, vehículos, estabilizadores y combinaciones de los mismos.

30 En diversas realizaciones, las composiciones farmacéuticas según la invención pueden contener cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable. "Vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable que está implicado en EL transporte de un compuesto de interés desde un tejido, órgano o parte del cuerpo a otro tejido, órgano o parte del cuerpo. Por ejemplo, el vehículo puede ser una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación o una
35 combinación de los mismos. Cada componente del vehículo debe ser "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de que debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación. También debe ser adecuado para su uso en contacto con cualquier tejido u órgano con el que pueda entrar en contacto, lo que significa que no debe conllevar un riesgo de toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad o cualquier otra complicación que supere excesivamente sus beneficios terapéuticos.

40 Las composiciones farmacéuticas según la invención también pueden encapsularse, comprimirse o prepararse también en una emulsión o jarabe para la administración oral. Pueden añadirse vehículos sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables para mejorar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, glicerina, solución salina, alcoholes y agua. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio, dihidrato, terra alba, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco,
45 pectina, acacia, agar o gelatina. El vehículo puede incluir también un material de liberación sostenida tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera.

Las preparaciones farmacéuticas se realizan siguiendo las técnicas convencionales de farmacia que implican molienda, mezclado, granulación y compresión, cuando sea necesario, para formas de comprimidos; o molienda, mezclado y llenado para formas de cápsulas de gelatina dura. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará en forma de jarabe,
50 elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. Dicha formulación líquida puede administrarse directamente p.o. o se llena en una cápsula de gelatina blanda.

Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden administrarse en una cantidad terapéuticamente efectiva. La cantidad terapéuticamente efectiva precisa es aquella cantidad de la composición que producirá los resultados más efectivos en términos de eficacia de marcado de una muestra en un sujeto determinado. Esta cantidad variará dependiendo
55 de una diversidad de factores, que incluyen, pero que no se limitan a, las características del compuesto marcador, tal como un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano (incluyendo la actividad, farmacocinética, farmacodinámica y biodisponibilidad), la condición fisiológica del sujeto (incluida la edad, el sexo, el tipo y la etapa de la enfermedad, la condición física general, la capacidad de respuesta a una dosis determinada y el tipo de medicamento), la naturaleza del vehículo o los vehículos farmacéuticamente aceptables en la formulación y la vía de administración. Una persona experta

en las artes clínicas y farmacológicas podrá determinar una cantidad efectiva para marcar una muestra mediante experimentación rutinaria, por ejemplo, monitoreando la respuesta de un sujeto a la administración de un compuesto y ajustando la dosis de manera correspondiente. Para una orientación adicional, consúltese Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro ed. 20th edition, Williams & Wilkins PA, EE. UU.) (2000).

- 5 Antes de la administración a un sujeto, se pueden añadir formulantes a la composición. Puede preferirse una formulación líquida. Por ejemplo, estos formulantes pueden incluir aceites, polímeros, vitaminas, carbohidratos, aminoácidos, sales, tampones, albúmina, tensioactivos, agentes de carga o combinaciones de los mismos.

Los formulantes de carbohidratos incluyen azúcar o alcoholes de azúcar tales como monosacáridos, disacáridos o polisacáridos, o glucanos solubles en agua. Los sacáridos o glucanos pueden incluir fructosa, dextrosa, lactosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, sacarosa, dextrano, pululano, dextrina, alfa y beta ciclodextrina, almidón soluble, hidroxietil almidón y carboximetilcelulosa, o mezclas de los mismos. El "alcohol de azúcar" se define como un hidrocarburo C4 a C8 que tiene un grupo -OH e incluye galactitol, inositol, manitol, xilitol, sorbitol, glicerol y arabitol. Estos azúcares o alcoholes de azúcar indicados anteriormente pueden usarse individualmente o en combinación. No hay un límite fijado para la cantidad usada siempre y cuando el azúcar o el alcohol de azúcar sean solubles en la preparación acuosa. En una realización, la concentración de azúcar o de alcohol de azúcar está comprendida entre el 1,0% p/v% y el 7,0% p/v, más preferiblemente entre el 2,0 y el 6,0% p/v. Los formulantes de aminoácidos incluyen formas levógiros (L) de carnitina, arginina y betaína; sin embargo, pueden añadirse otros aminoácidos. En algunas realizaciones, los polímeros como formulantes incluyen polivinilpirrolidona (PVP) con un peso molecular promedio entre 2.000 y 3.000, o polietilenglicol (PEG) con un peso molecular promedio entre 3.000 y 5.000.

- 20 Es preferible también usar un tampón en la composición para minimizar los cambios de pH en la solución antes de la liofilización o después de la reconstitución. Puede usarse casi cualquier tampón fisiológico, incluyendo, pero sin limitarse a, tampones de citrato, fosfato, succinato y glutamato o mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la concentración es de 0,01 a 0,3 molar. Los tensioactivos que pueden añadirse a la formulación se muestran en los documentos EP Nos. 270.799 y 268.110.

- 25 Otro sistema de administración de fármacos para aumentar la vida media circulatoria es el liposoma. Los métodos para preparar sistemas de administración de liposomas se describen en Gabizon et al., Cancer Research (1982) 42:4734; Cafiso, Biochem Biophys Acta (1981) 649:129; y Szoka, Ann Rev Biophys Eng (1980) 9:467. Otros sistemas de administración de fármacos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Poznansky et al., DRUG DELIVERY SYSTEMS (R. L. Juliano, ed., Oxford, N.Y. 1980), pp. 253-315; M. L. Poznansky, Pharm Revs (1984) 36:277.

- 30 Después de preparar la composición farmacéutica líquida, puede liofilizarse para prevenir la degradación y para preservar la esterilidad. Los métodos para la liofilización de composiciones líquidas son conocidos por las personas expertas en la técnica. Justo antes del uso, la composición puede reconstituirse con un diluyente estéril (solución de Ringer, agua destilada o solución salina estéril, por ejemplo) que puede incluir ingredientes adicionales. Tras la reconstitución, la composición se administra a los sujetos usando aquellos métodos que son conocidos por las personas expertas en la materia.

Las composiciones de la invención pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, bien conocidas. Las soluciones resultantes pueden envasarse para su uso o pueden filtrarse en condiciones asépticas y liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con una solución estéril antes de la administración. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas, tales como agentes de ajuste y amortiguación de pH, agentes de ajuste de la tonicidad y similares, por ejemplo, acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio y estabilizadores (por ejemplo, 1-20% de maltosa, etc.).

- 45 En algunas realizaciones, la invención descrita en el presente documento se proporciona con una solución de lente personalizada (por ejemplo, una cámara), por ejemplo, como un sistema completo que contiene todos los componentes para su uso. En otras realizaciones, la invención descrita en el presente documento se proporciona para complementar un equipo existente de un usuario, por ejemplo, como un sistema complementario a ser usado con exoscopios y endoscopios con capacidad NIR, o a ser integrado en microscopios operativos.

Ejemplos

- 50 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención reivindicada y no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención. En la medida en que se mencionan materiales específicos, es meramente con propósitos de ilustración y no se pretende limitar la invención.

Ejemplo 1

- 55 Los dispositivos de carga acoplada (CCDs) o los sensores complementarios de semiconductores de óxido de metal (CMOS) usados en las cámaras tienen un amplio espectro de sensibilidad que varía de 400 nm a 1.000 nm (Figura 2). Todos los sensores rojo, verde y azul muestran sensibilidad en la longitud de onda de 800-1.000 nm. Las cámaras disponibles comercialmente tienen una matriz de filtro de color (CFA) o un mosaico de filtro de color (CFM), tal como se

muestra en la Figura 3, en la parte superior de un sensor para recopilar la información de color desde la imagen. Además de esta matriz de filtros, hay un filtro de paso corto NIR adicional para cortar la luz de longitud de onda de 700-1000 nm.

Ejemplo 2

5 Los presentes inventores usan la sensibilidad de los píxeles rojo, verde y azul en la región del infrarrojo cercano (NIR) para detectar la fluorescencia infrarroja. Una fuente de luz visible ilumina la muestra de interés. Además, se usa un láser como luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo en el tejido, y la luz de emisión desde el fluoróforo infrarrojo. Es detectada por la cámara de CCD. Mientras, la luz de excitación se filtra antes de llegar a la cámara CCD para evitar interferir en la detección de la luz de emisión. Se captura un fotograma de imagen cuando el láser está encendido (fotograma-encendido).
10 Se captura otro fotograma de imagen cuando el láser está apagado (fotograma-apagado). El fotograma-encendido detecta la luz visible y la fluorescencia infrarroja, mientras que el fotograma-apagado detecta solo la luz visible. De esta manera, la diferencia en la intensidad entre el fotograma-encendido y el fotograma-apagado proporciona información acerca de la señal de fluorescencia infrarroja. (Figura 4).

1. Excitación:

15 La excitación se consigue usando un láser de longitud de onda muy estrecha @ NIR de longitud de onda (alta absorción) 780 o 785 nm. La luz láser se pasa a través de una lente especial donde la luz de excitación se añade por cada foco usando un divisor de haz de ranura (por ejemplo, NFD01-785-25x36) (Figura 4). El láser se enciende y apaga a la mitad de la frecuencia de la velocidad de fotogramas de la cámara. La intensidad del láser puede ser controlada con el fin de garantizar una excitación uniforme en la misma área visible por la cámara.

2. Disparo y sincronización:

20 La luz láser es disparada usando un disparador externo que está sincronizado con los fotogramas de imagen capturados por la cámara CCD. Cada fotograma de la cámara CCD está sincronizado con el encendido y el apagado del láser (Figura 4).

3. CCD:

25 La exposición del fotograma es controlada usando un disparador externo. Como ejemplo, el Fotograma 1 se captura cuando el láser está apagado y el Fotograma 2 se captura cuando el láser está encendido. El Fotograma 1 captura la luz visible normal que proviene del tejido (el panel superior de la Figura 5). El fotograma 2 captura fluorescencia infrarroja adicional (la ventana rosa en el panel central de la Figura 5). Restando el Fotograma 1 del Fotograma 2, se recupera la intensidad adicional añadida por la fluorescencia infrarroja. A esta fluorescencia infrarroja calculada puede proporcionársele un color falso y puede volverse a sumar al Fotograma 1 para mostrar un fotograma de imagen compuesta de luz visible y fluorescencia infrarroja. Este proceso se repite continuamente para mostrar o grabar un vídeo en tiempo real durante una operación quirúrgica.
30

Ejemplo 3

35 Eliminando el filtro de paso corto NIR frente al sensor, es posible detectar la luz de fluorescencia emitida por los fluoróforos NIR en todos los canales RGB (Figura 2). Pero con el fin de diferenciar entre la luz visible y la luz NIR, debe asegurarse que no haya luz visible en el sensor cuando se captura un fotograma de imagen NIR. Con el fin de capturar la luz NIR, no debería haber ninguna luz visible. En algunas situaciones, se captura un fotograma cuando no hay luz visible o luz NIR, se graba la luz y, a continuación, se resta del fotograma NIR capturado. Un prototipo clínico se muestra en la Figura 6.

1. Combinación de filtros:

40 Se usa una combinación de filtros muy específica para conseguir la relación señal/ruido (SNR) más alta. En lugar de usar una excitación de banda ancha tal como se describe en la mayoría de sistemas NIR actuales, se usa una excitación de banda extremadamente estrecha a 785 nm (óptima para ICG, puede variar dependiendo del fluoróforo), la excitación se reduce adicionalmente usando un filtro de limpieza láser (Figura 7) y la luz de excitación desde la luz de fluorescencia que vuelve desde la diana se elimina usando un filtro de ranura que es ligeramente más amplio que el filtro de limpieza láser. Esto garantiza que la captura de toda la señal de fluorescencia sin perder la fluorescencia desde el área sombreada en la Figura 1.
45

2. Sistema de lentes:

50 El sistema de lentes cumple dos objetivos: 1) suministrar la luz de excitación NIR pulsada y la luz blanca al extremo distal de la lente para garantizar una iluminación completa del campo quirúrgico y para reducir la intensidad de la luz de excitación en la trayectoria óptica de la luz de emisión. La carcasa para este sistema de lentes ha sido diseñada para suministrar tanto luz NIR como luz blanca al campo quirúrgico de una manera uniforme. 2) Las lentes apocromáticas garantizan una captura y una transmisión de luz máximas a la cámara, con un filtro de ranura incorporado (Semrock, filtro de ranura única StopLine® de 785 nm, NF03-785E-25) para eliminar la luz de excitación.

3. Tiempos de captura de fotogramas:

Los fotogramas se capturan a una velocidad de fotogramas muy elevada de 300 fotogramas por segundo usando un digitalizador de fotogramas. Puede usarse también una velocidad de fotogramas más lenta o más rápida. La captura de fotogramas y la luz láser estroboscópica (encendida/apagada) se sincronizan usando un DAQ multifunción. Esto permite capturar 10 fotogramas por cada fotograma mostrado finalmente (30 fps). Los 10 fotogramas se dividen en dos conjuntos de 5 fotogramas cada uno (Figura 8). Los 5 fotogramas capturados se dividen adicionalmente como, 1) primer fotograma es WLF (luz blanca "encendida", luz NIR "apagada), 2) el segundo fotograma es SLF (luz blanca" apagada", luz NIR "apagada"), y 3) los siguientes tres fotogramas son NIF (luz blanca "apagada", luz NIR "encendida"). Después de restar el SLF de los tres NIFs, los canales NIF RGB se suman y, a continuación, al NIF final se le proporciona un color falso antes de sumarlo al WLF. Los fotogramas generados a partir de ambos fotogramas se suman finalmente para producir un fotograma de visualización. Este proceso sirve para producir imágenes WL y NIR nítidas a una velocidad de vídeo suficiente para que parezca instantánea al cirujano. El orden exacto de WLF, SLF y NIF puede variarse.

4. Arquitectura, hardware y software de ordenador:

Para capturar y procesar fotogramas Full HD a 300 fotogramas por segundo, se puede hacer uso de técnicas de procesamiento en paralelo, ya que es improbable que incluso las CPUs más rápidas disponibles puedan realizar los cálculos de procesamiento de vídeo requeridos a una velocidad lo suficientemente rápida para una visualización de imágenes fluida. Con el fin de realizar el procesamiento de imágenes a esta velocidad de fotogramas, puede utilizarse la codificación de software de procesamiento en paralelo de la arquitectura unificada de dispositivos de cómputo (CUDA) basada en GPU directamente en la tarjeta de vídeo. Una de las principales limitaciones del uso de programación CUDA es la sobrecarga para la transferencia de datos desde la memoria del sistema y a la GPU y viceversa. Con el fin de superar esta limitación, el algoritmo de los presentes inventores está diseñado para transferir una imagen no tratada de 8 bits antes de la interpolación cromática a la GPU. Una imagen Full HD (1080p) de 8 bits tiene un tamaño de aproximadamente 2 Mb. Si se considera la velocidad de transferencia de datos PCIe 3.0 de aproximadamente 7 Gb/s, puede transferirse la imagen a la GPU en 300 µseg. Una vez transferida la imagen a la GPU, se realizan operaciones de procesamiento de imágenes, tales como interpolación cromática de Bayer, resta de la imagen de luz dispersa de la imagen de fluorescencia, suma de los canales rojo, verde y azul del fotograma de fluorescencia, impartir colores falsos a la imagen de fluorescencia y finalmente sumar la imagen de luz blanca con la imagen de fluorescencia de color falso. Por último, con el fin de mejorar adicionalmente la velocidad, en lugar de devolver la imagen a la memoria del sistema para su visualización, se usan las funciones OpenGL/directx de la GPU para mostrar la imagen final. Las imágenes se muestran en un monitor de vídeo de calidad HD de grado médico. Ya se ha demostrado la capacidad de adquirir versiones de alta calidad de estas imágenes y de regular la apariencia utilizando software.

REIVINDICACIONES

1. Sistema de obtención de imágenes para obtener imágenes de una muestra que comprende un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, que comprende:
- un sensor de imágenes para detectar luz visible y luz de emisión y para generar señales de sensor;
- 5 un láser para emitir una luz de excitación para el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano, en el que la luz de excitación es conducida a la muestra;
- un filtro de limpieza láser en la trayectoria de la luz de excitación desde el láser a la muestra, en el que el filtro de limpieza láser estrecha la banda de longitudes de onda de la luz de excitación a la banda de absorción máxima del fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano,
- 10 en el que la luz de excitación estrechada excita el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano en la muestra para emitir una luz de emisión,
- en el que la luz de emisión es conducida al sensor de imágenes, y
- un filtro de ranura en la trayectoria de emisión de luz desde la muestra al sensor de imágenes, en el que el filtro de ranura bloquea la luz de excitación;
- 15 una fuente de luz blanca para emitir una luz que comprende luz visible, en el que la luz visible es conducida a la muestra,
- en el que la muestra refleja la luz visible,
- en el que la luz visible reflejada es conducida al sensor de imágenes, y
- una unidad de procesamiento de imágenes para generar fotogramas de imagen y conectada al sensor de imágenes,
- 20 en el que la unidad de procesamiento de imágenes procesa las señales de sensor para generar al menos un fotograma de luz blanca (WLF) cuando la muestra recibe solo luz visible, al menos un fotograma de luz parásita (SLF) cuando la muestra no recibe luz visible ni luz de excitación, y uno o más fotogramas de infrarrojo cercano (NIFs) cuando la muestra recibe solo luz de excitación, y en el que la unidad de procesamiento de imágenes resta el SLF de cada NIF y, a continuación, suma todos los NIFs a los que se ha restado el SLF para generar un NIF final, y el NIF final y el WLF se suman para generar una imagen compuesta,
- 25 en el que el sensor de imágenes es un sensor de imágenes configurado para detectar tanto la luz de emisión como la luz visible desde la muestra y configurado para generar señales de sensor, y en el que el sensor de imágenes comprende sensores de píxeles azules, verdes y rojos.
- 30 2. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano es uno de entre el grupo que consiste en: verde de indocianina (ICG), un equivalente funcional de ICG, un análogo de ICG, un derivado de ICG, una sal de ICG, IR800, Alexa680, cy5.5, un equivalente funcional de IR800, un equivalente funcional de Alexa680, un equivalente funcional de cy5.5, un análogo de IR800, un análogo de Alexa680, un análogo de cy5.5, un derivado de IR800, un derivado de Alexa680, un derivado de cy5.5, una sal de IR800, una sal de Alexa 680 o una sal de cy5.5.
- 35 3. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el sensor de imágenes es un sensor de imágenes CCD o un sensor de imágenes CMOS.
4. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el intervalo de bloqueo del filtro de ranura es más ancho que el intervalo de transmisión del filtro de limpieza láser.
- 40 5. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el láser es pulsado, y/o en el que la fuente de luz es pulsada.
6. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que la luz de excitación comprende luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.
7. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el filtro de limpieza láser transmite de manera selectiva luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.
- 45 8. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que el filtro de ranura bloquea de manera selectiva la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.

9. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, que comprende un divisor de haz de ranura en la trayectoria de luz desde el láser a la muestra y en la trayectoria de luz desde la fuente de luz blanca a la muestra, en el que la luz de excitación es reflejada por el divisor de haz de ranura a la muestra y la luz visible es transmitida por el divisor de haz de ranura a la muestra.
- 5 10. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 9, en el que el divisor de haz de ranura refleja la luz que tiene una longitud de onda de aproximadamente 785 nm.
11. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que la unidad de procesamiento de imágenes falsea los colores del NIF final.
- 10 12. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 11, en el que la unidad de procesamiento de imágenes suma el NIF final de color falso al WLF para generar un fotograma de imagen compuesto de luz visible y luz infrarroja.
13. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, que comprende además una unidad de visualización de imágenes para visualizar imágenes basadas en los fotogramas de imagen generados desde la unidad de procesamiento de imágenes, en el que la unidad de visualización de imágenes está conectada a la unidad de procesamiento de imágenes.
- 15 14. Sistema de obtención de imágenes según la reivindicación 1, en el que la luz de excitación desde el láser es conducida a la muestra a través de un primer canal, en el que la luz visible desde la fuente de luz blanca es conducida a la muestra a través de un segundo canal, en el que la luz de emisión emitida desde la muestra es conducida al sensor de imágenes a través de un tercer canal, y en el que la luz visible reflejada desde la muestra es conducida al sensor de imágenes a través de un cuarto canal.
- 20 15. Método para obtener imágenes de una muestra, que comprende:
proporcionar una muestra;
proporcionar un sistema de obtención de imágenes según cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y obtener imágenes de la muestra usando el sistema de obtención de imágenes.
- 25 16. Método según la reivindicación 15, que comprende además marcar la muestra con un fluoróforo infrarrojo o de infrarrojo cercano.

Figura 1

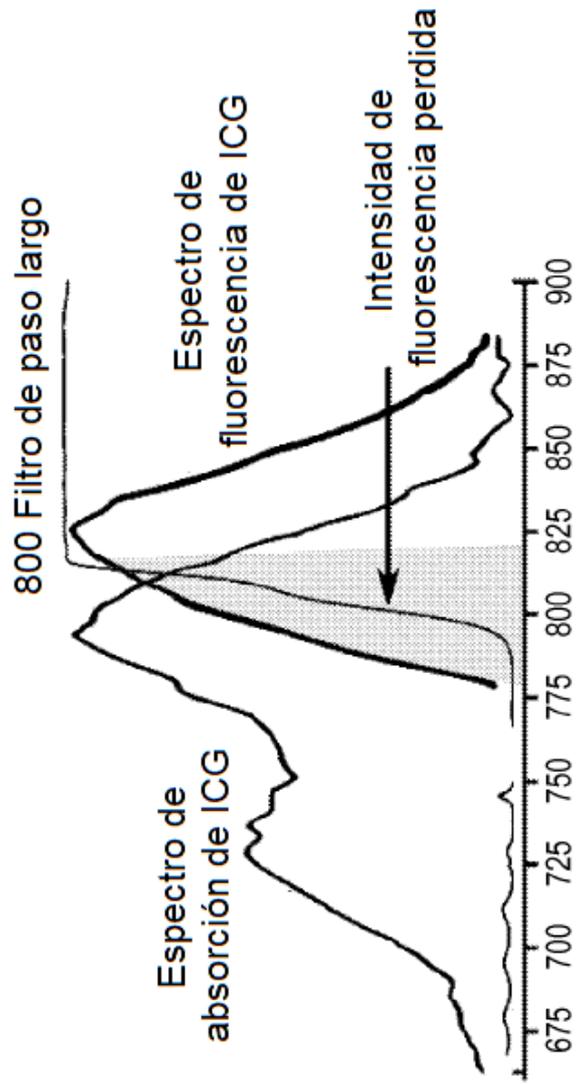


Figura 2

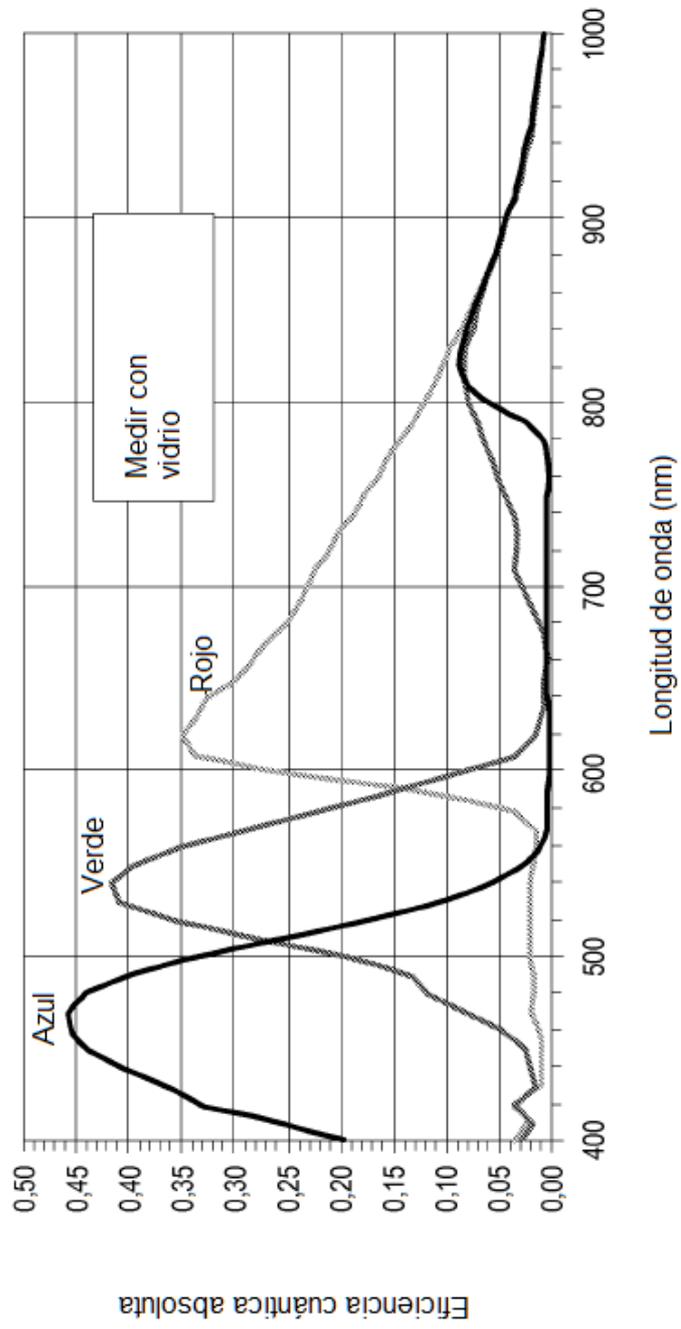


Figura 3

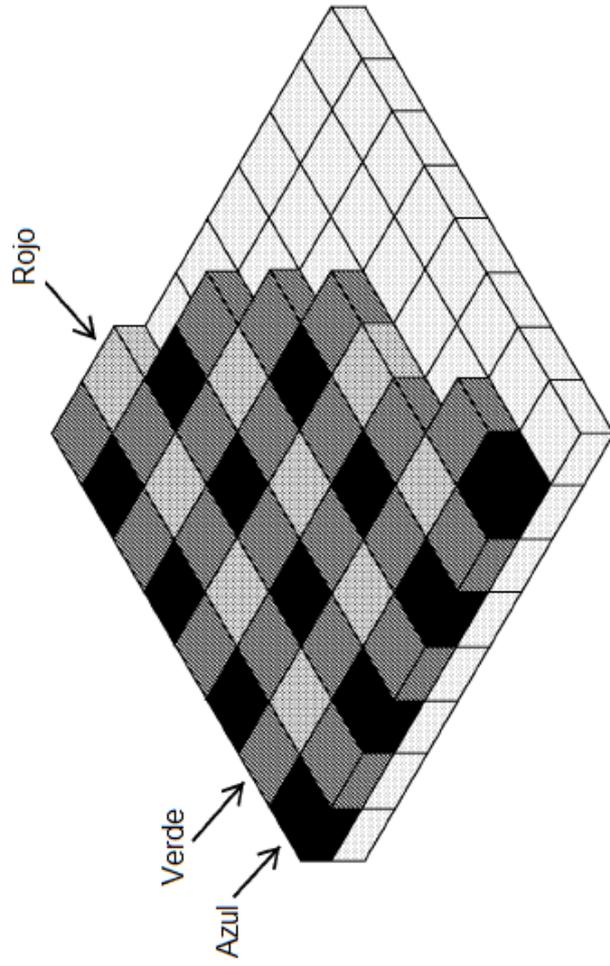


Figura 4

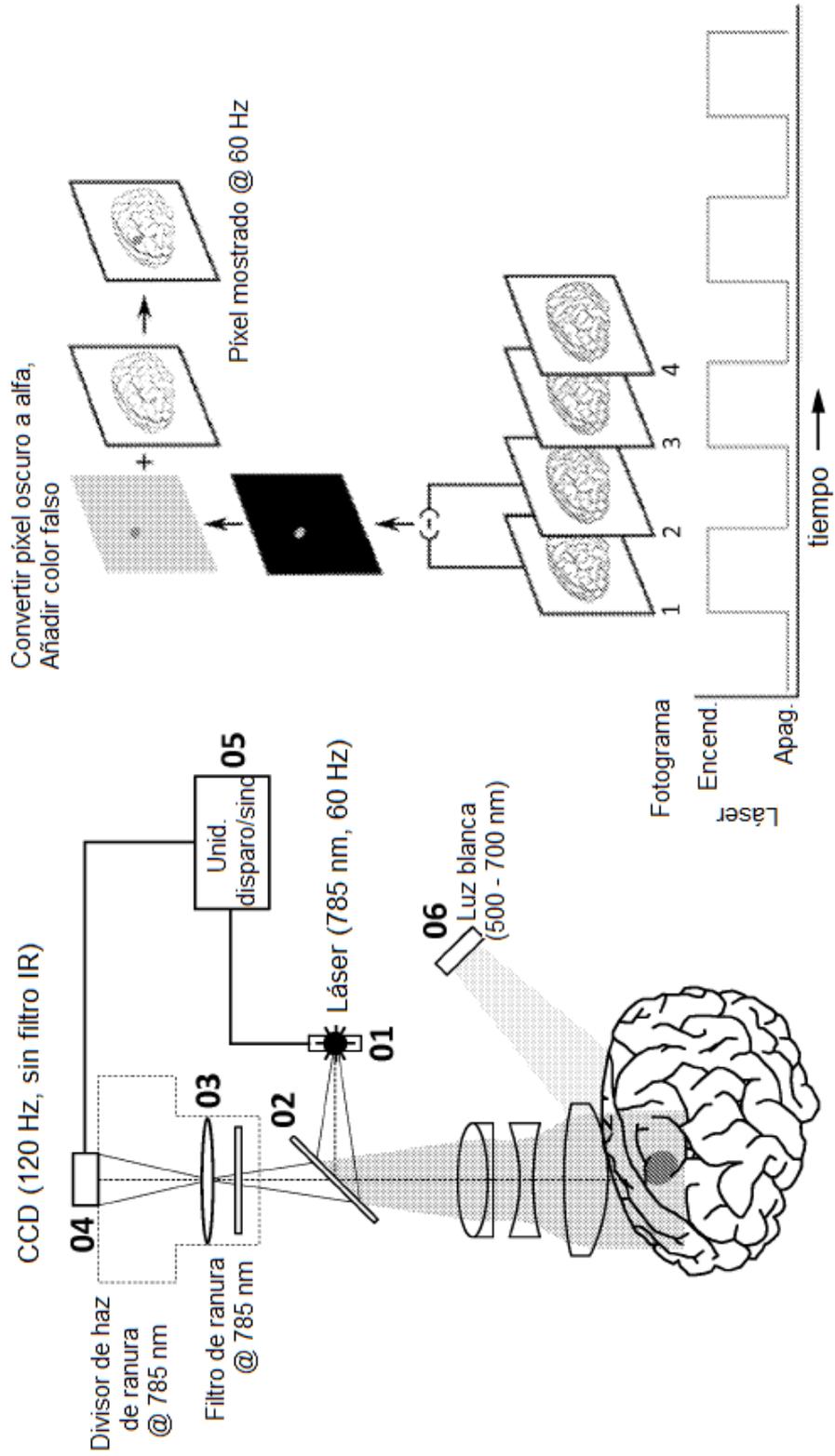


Figura 5

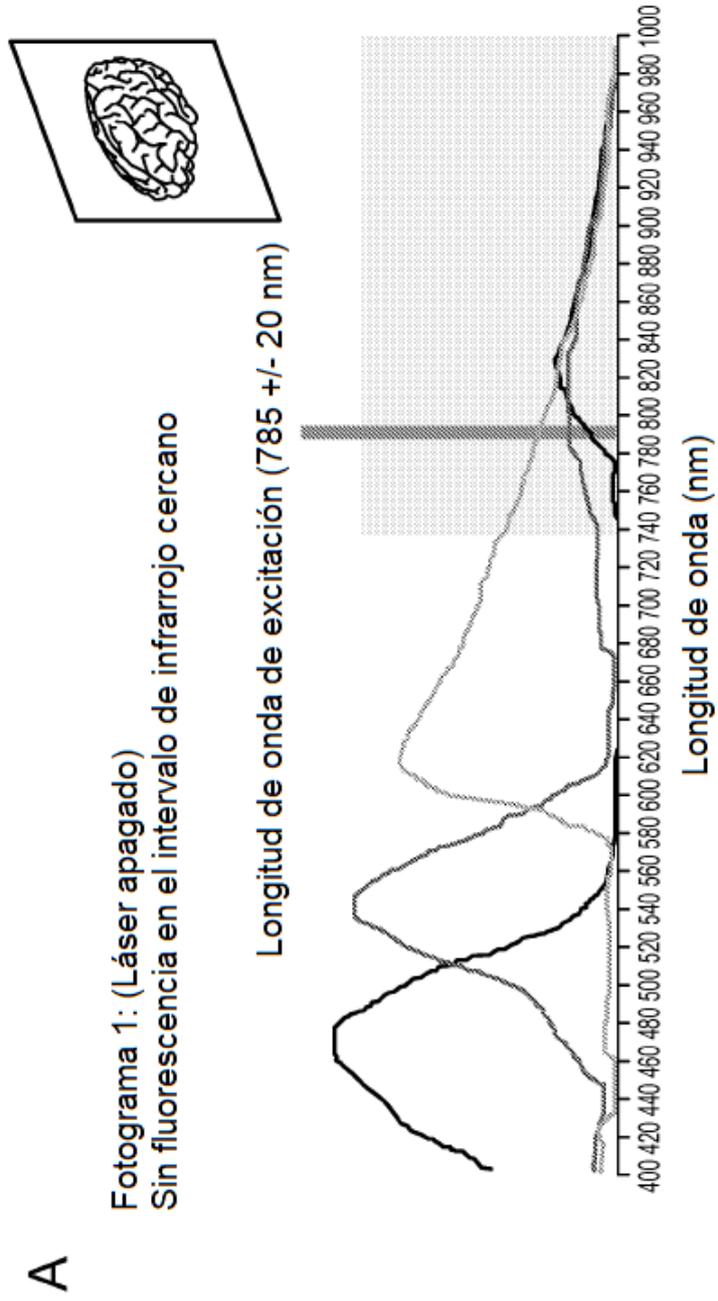


Figura 5

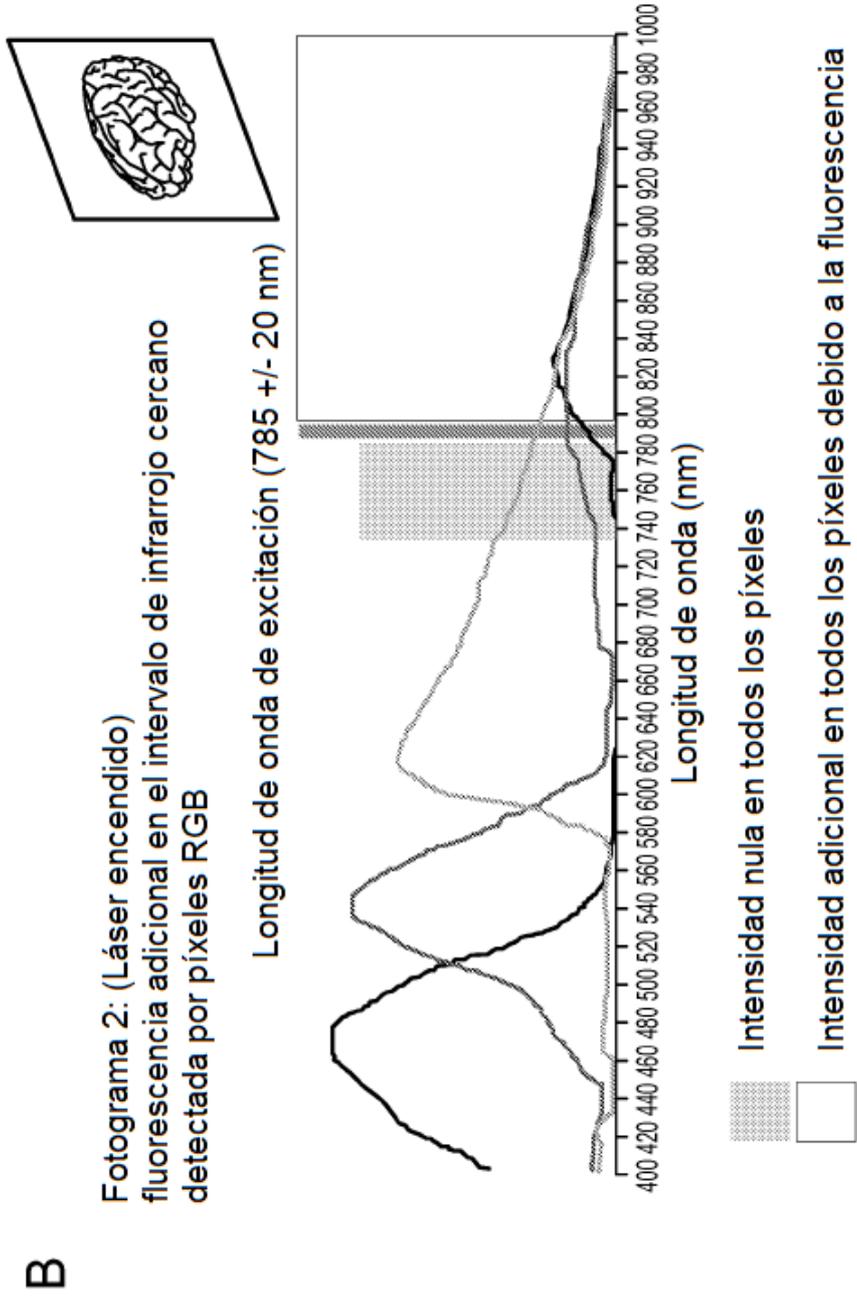


Figura 5

C

Fotograma 2-1: (Diferencia entre Fotograma 1 y Fotograma 2
La diferencia entre los dos fotogramas calcula
la intensidad adicional debida a la fluorescencia

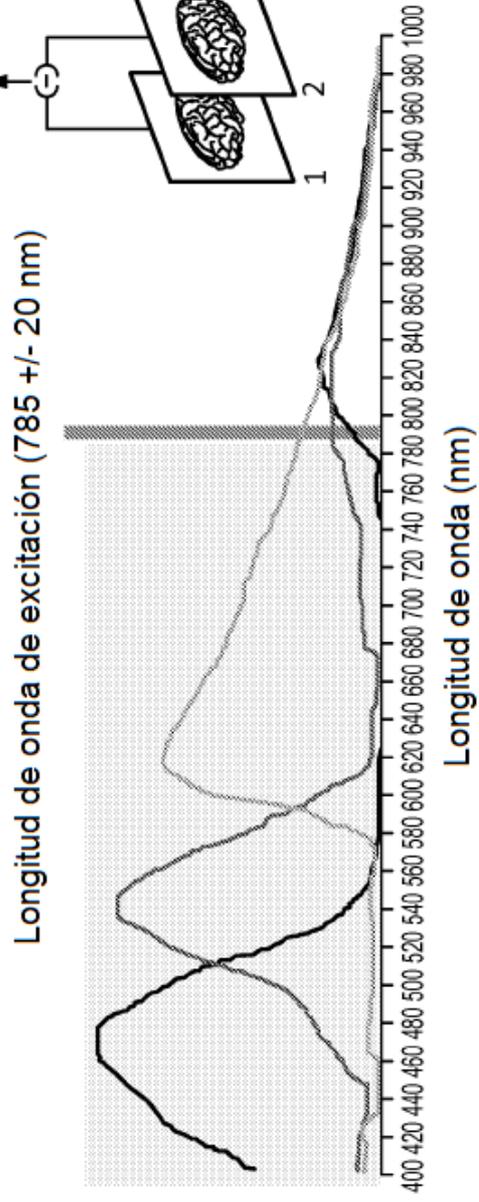


Figura 6

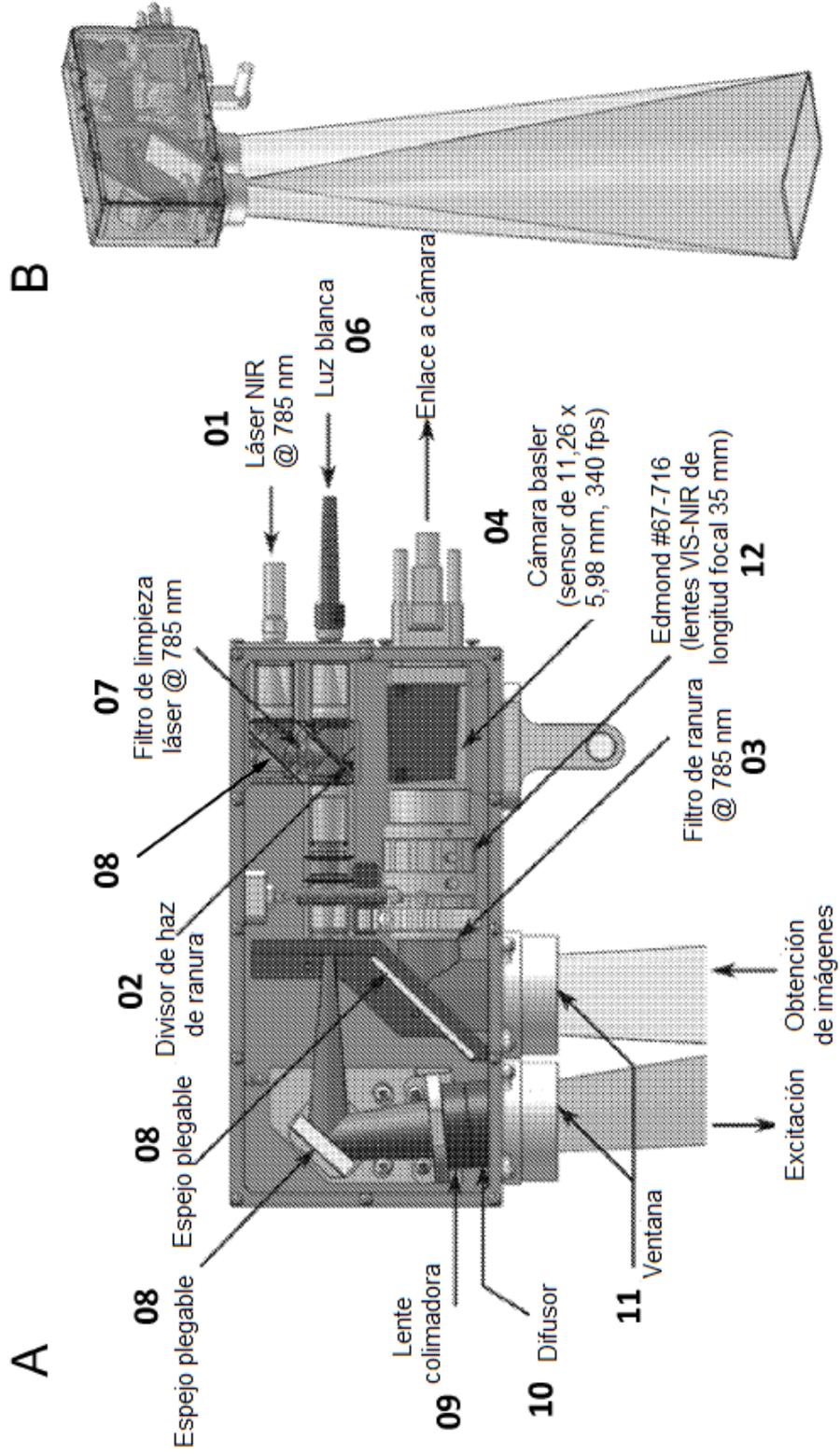
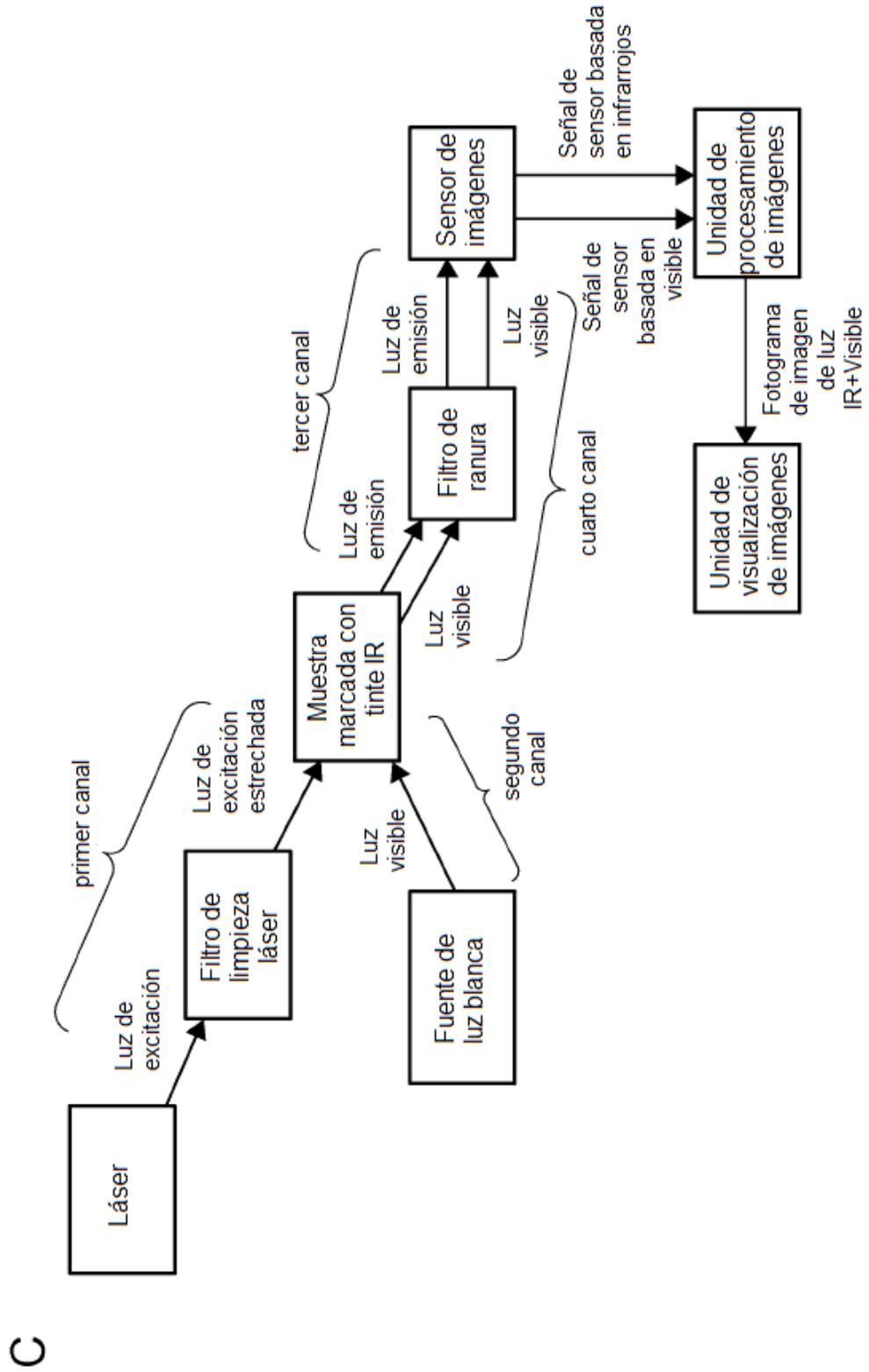


Figura 6



C

Figura 7

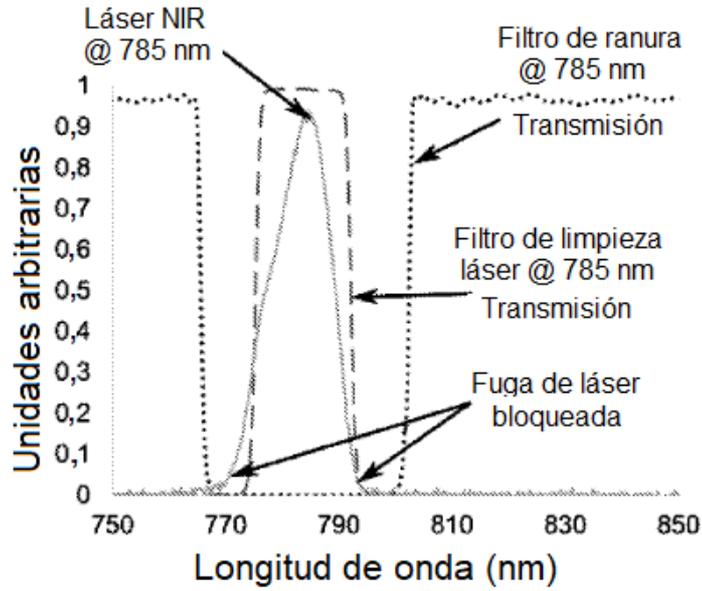


Figura 8

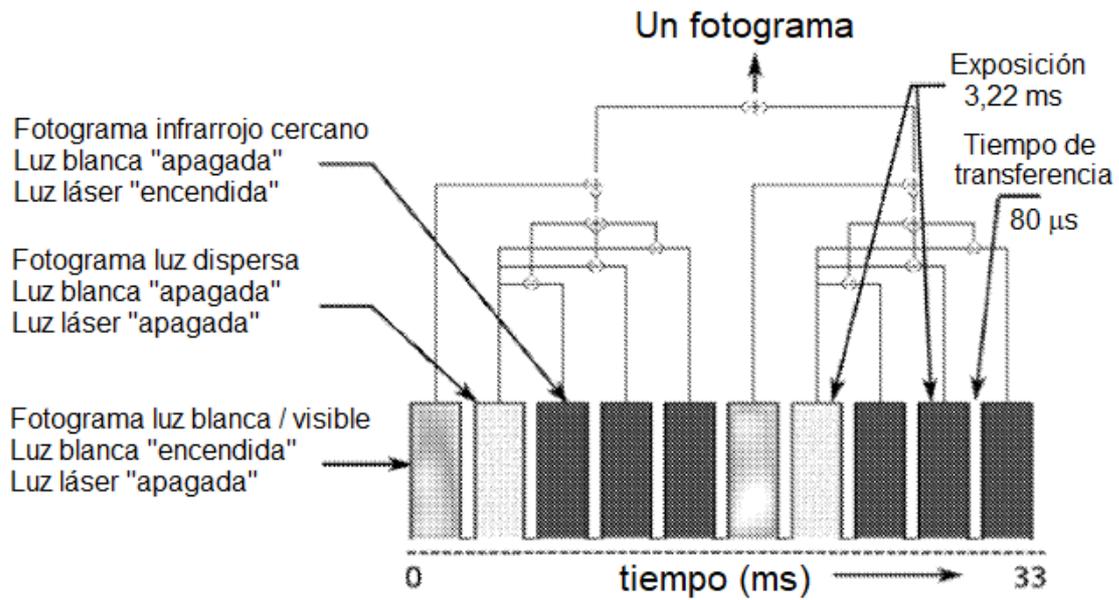


Figura 9

