



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115919256 A

(43) 申请公布日 2023.04.07

(21) 申请号 202211481571.2

A61B 5/103 (2006.01)

(22) 申请日 2015.07.24

G06T 7/00 (2017.01)

(30) 优先权数据

G01N 21/64 (2006.01)

62/028,386 2014.07.24 US

(62) 分案原申请数据

201580051827.8 2015.07.24

(71) 申请人 大学健康网络

地址 加拿大安大略省

(72) 发明人 拉尔夫·达科斯塔

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

专利代理人 杜兆东

(51) Int.Cl.

A61B 5/00 (2006.01)

A61B 90/00 (2016.01)

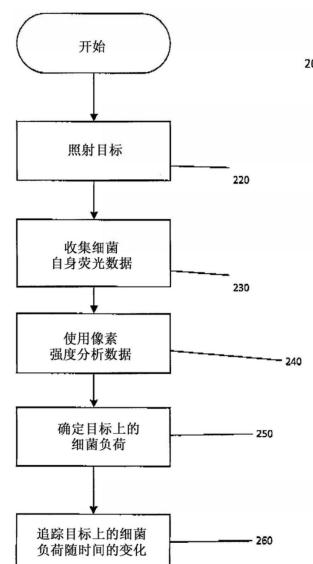
权利要求书4页 说明书36页 附图31页

(54) 发明名称

用于诊断目的的数据的收集和分析

(57) 摘要

本申请涉及用于诊断目的的数据的收集和分析。公开了用于确定目标中细菌负荷并且追踪目标的细菌负荷随时间改变的系统和方法。自身荧光检测和收集装置包括光源，所述光源配置成使用激发光直接照射目标的至少一部分和所述目标周围区域，导致照射的目标中至少一种生物标志物发荧光。收集并分析目标照射部分和所述目标周围区域相关的细菌自身荧光数据以确定所述目标照射部分和所述目标周围区域的细菌负荷。可以使用像素强度分析自身荧光数据。可以追踪目标的细菌负荷随时间的变化。所述目标可以是组织中的创伤。



1. 一种便携式组织成像系统,所述系统包括:

适配器,配置成安装至移动通信装置以配置所述移动通信装置用于组织成像,所述适配器包括:

至少一个激发光源,配置成发射激发光,选择所述激发光以引起存在于组织目标中和/或组织目标上的细菌发荧光,以及

用于所述至少一个激发光源的电源;以及

移动通信装置,包括:

光学传感器,配置成检测响应于用所述激发光照射所述组织目标中和/或所述组织目标上的细菌的光信号;以及

处理器,配置成接收检测的光信号,以使用像素强度来分析来自检测的光信号的数据,并且输出关于所述组织目标的细菌负荷的数据。

2. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述移动通信装置进一步包括用于显示由所述处理器输出的数据的显示器。

3. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述适配器包括外壳,所述外壳具有配置成接收所述移动通信装置的一部分的凹部。

4. 根据权利要求3所述的系统,其中,所述适配器进一步包括开口,所述开口配置成当所述适配器安装至所述移动通信装置时与所述移动通信装置的照相机对准。

5. 根据权利要求1所述的系统,进一步包括用于阻挡激发光通过至所述光学传感器的滤光片。

6. 根据权利要求5所述的系统,其中,所述适配器包括用于阻挡激发光通过至所述光学传感器的滤光片。

7. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述至少一个激发光源包括蓝光光源/紫光光源。

8. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述至少一个激发光源配置成发射具有约400nm至约450nm之间的波长的激发光。

9. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述至少一个激发光源配置成发射具有约405nm±20nm的波长的激发光。

10. 根据权利要求1所述的系统,其中,所述至少一个激发光源包括多个激发光源,并且所述多个激发光源中的每一个配置成发射具有在紫外、可见、近红外和红外范围之一中的波长的激发光。

11. 根据权利要求10所述的系统,其中,所述多个激发光源中的每一个配置成发射具有以下范围之一中的波长的激发光:约400nm至约450nm之间、约450nm至约500nm之间、约500nm至约550nm之间、约550nm至约600nm之间、约600nm至约650nm之间、约650nm至约700nm之间、以及约700nm至约750nm之间。

12. 根据权利要求10所述的系统,其中,所述多个激发光源的第一激发光源配置成发射蓝光/紫光。

13. 根据权利要求12所述的系统,其中,所述多个激发光源的第一激发光源配置成发射具有约400nm至约450nm之间的波长的激发光。

14. 根据权利要求12所述的系统,其中,所述多个激发光源的第一激发光源配置成发射具有约405nm±20nm的波长的激发光。

15. 根据权利要求13所述的系统,其中,所述多个激发光源的第二激发光源配置成发射具有不同于第一激发光源的波长的波长的激发光。

16. 根据权利要求1所述的系统,进一步包括发射滤光片,所述发射滤光片配置成允许响应于用所述激发光照射所述组织目标的光信号通过至所述光学传感器。

17. 根据权利要求16所述的系统,其中,所述发射滤光片配置成允许具有约500nm至约550nm的波长和/或约590nm至约690nm的波长的光信号通过至所述光学传感器。

18. 根据权利要求16所述的系统,其中,所述发射滤光片配置成允许具有约450nm至约505nm的波长和/或约590nm至约650nm的波长的光信号通过至所述光学传感器。

19. 根据权利要求16所述的系统,其中,所述发射滤光片配置成允许具有约635±10nm的波长的发射信号通过至所述光学传感器。

20. 根据权利要求1所述的系统,进一步包括用于在成像过程中用白光照射所述组织目标的白光光源。

21. 根据权利要求20所述的系统,其中,所述适配器包括所述白光光源。

22. 根据权利要求20所述的系统,进一步包括发射滤光片,所述发射滤光片配置成允许响应于用白光照射所述组织目标的信号通过。

23. 根据权利要求22所述的系统,其中,所述发射滤光片配置成允许响应于白光照射所述组织目标并且具有约405±25nm、546±25nm、和/或600±25nm的波长的发射信号通过。

24. 根据权利要求23所述的系统,其中,所述适配器包括所述发射滤光片。

25. 根据权利要求1-24中任一项所述的系统,进一步包括热传感器,所述热传感器配置成捕获关于所述组织目标的热数据。

26. 根据权利要求25所述的系统,其中,所述处理器进一步配置成接收捕获的热数据,分析捕获的热数据,并且使捕获的热数据与基于检测的光信号的荧光数据相关联,并且基于相关联的数据输出创伤状态、创伤愈合、创伤感染、细菌负荷或其他诊断信息的指示中的一项或多项。

27. 根据权利要求26所述的系统,其中所述处理器配置成输出创伤的图像并在所述图像上重叠荧光和热数据以使细菌和温度数据与创伤形状、创伤尺寸、创伤形貌、创伤体积、创伤深度和创伤面积中的一项或多项相关联。

28. 一种组织目标的成像方法,所述方法包括:

用由适配器的至少一个激发光源发射的激发光照射组织目标并且发射至少一个波长或波段,所述波长或波段配置成引起存在于所述组织目标中和/或所述组织目标上的细菌发荧光;

使用联接至所述适配器的移动通信装置收集响应于用所述激发光照射所述组织目标中和/或所述组织目标上的细菌的细菌自身荧光数据;以及

用所述移动通信装置的处理器分析收集的细菌自身荧光数据并且使用像素强度来确定所述组织目标的细菌负荷。

29. 根据权利要求28所述的方法,其中,所述组织目标包括创伤。

30. 根据权利要求28所述的方法,进一步包括,在用激发光照射所述组织目标之前,减少所述组织目标周围的环境中的环境光。

31. 根据权利要求30所述的方法,其中,减少所述环境光包括创建光线昏暗的环境或完

全黑暗的环境。

32. 根据权利要求28所述的方法,其中,使用所述移动通信装置收集所述细菌自身荧光数据包括使用所述移动通信装置的图像传感器检测响应于用所述激发光照射所述组织目标的光信号。

33. 根据权利要求32所述的方法,进一步包括用所述适配器的滤光片阻挡反射的激发光通过至所述图像传感器。

34. 根据权利要求32所述的方法,进一步包括使用所述移动通信装置收集关于所述组织目标的组织自身荧光数据。

35. 根据权利要求28所述的方法,进一步包括用由所述适配器的白光光源发射的白光照射所述组织目标,并且收集响应于用所述白光照射所述组织目标的光信号。

36. 根据权利要求28所述的方法,进一步包括将所述适配器联接至便携式成像装置。

37. 根据权利要求37所述的方法,其中,所述移动通信装置包括数字照相机。

38. 根据权利要求37所述的方法,其中,将所述适配器联接至所述移动通信装置包括在所述移动通信装置的至少一部分上滑动所述适配器的外壳。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中,在所述移动通信装置的至少一部分上滑动所述适配器的外壳包括相对于所述移动通信装置的图像传感器定位所述适配器的发射滤光片。

40. 根据权利要求28所述的方法,进一步包括用所述适配器的热传感器捕获来自所述组织目标的热数据。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述组织目标是创伤,并且进一步包括使用所述处理器:

分析捕获的热数据,

使捕获的热数据与基于检测的光信号的荧光数据相关联,以及基于相关联的数据输出创伤状态、创伤愈合、创伤感染、细菌负荷或其他诊断信息的指示中的一项或多项。

42. 根据权利要求41所述的方法,其中,基于相关联的数据输出创伤状态、创伤愈合、创伤感染、细菌负荷或其他诊断信息的指示中的一项或多项包括输出所述创伤的图像,将荧光和热数据重叠在所述图像上以使细菌和温度数据与创伤形状、创伤尺寸、创伤形貌、创伤体积、创伤深度和创伤面积中的一项或多项相关联。

43. 根据权利要求28所述的方法,其中,所述组织目标为创伤,并且使用像素强度来确定所述组织目标的细菌负荷进一步包括输出所述创伤的图像,其中使细菌负荷与创伤形状、创伤尺寸、创伤形貌、创伤体积、创伤深度和创伤面积中的一项或多项相关联。

44. 根据权利要求43所述的方法,其中输出其中使细菌负荷与创伤形状、创伤尺寸、创伤形貌、创伤体积、创伤深度和创伤面积中的一项或多项相关联的所述创伤的图像包括输出所述创伤的图像,其中所述创伤中的血液的量由存在于所述图像中的蓝色像素的数目指示,所述创伤中的结缔组织的量由存在于所述图像中的绿色像素的数目指示,和所述创伤中的细菌的量由存在于所述图像中的红色像素的数目指示。

45. 根据权利要求28-43中任一项所述的方法,进一步包括使用所述移动通信装置的处理器生成跟踪患者的创伤和皮肤状态变化的报告。

46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述报告包括关于创伤尺寸和细菌负荷随时间的数据。

47. 根据权利要求45或权利要求46所述的方法,进一步包括,使用所述处理器将所述报告自动上传到所述患者的电子医疗记录(EMR)中。

## 用于诊断目的的数据的收集和分析

[0001] 本申请是申请日为2015年7月24日的题为“用于诊断目的的数据的收集和分析”的中国专利申请201580051827.8的分案申请。

[0002] 本申请要求于2014年7月24日提交的美国临时专利申请号62/028,386的权益,其全部内容作为参考并入本文。

### 技术领域

[0003] 公开了收集用于诊断目的的数据的装置和方法。具体地,本申请的装置和方法可以适合于随时间评价和追踪创伤(伤口,wound)中的细菌负荷(bacterial load)。

### 背景技术

[0004] 创伤护理(wound care)是主要临床挑战。愈合和慢性未愈合创伤与许多生物组织变化有关,包括结缔组织的炎症、增殖、重构(remodeling),以及常见的主要考虑(common major concern),细菌感染。创伤感染的比例不是临床明显的,并且造成与创伤护理有关的经济负担增加,特别是在老年群体中。目前,创伤评价的黄金标准包括白光下对创伤位点的直接目视检查,结合细菌拭子和组织活组织检查的无选择采集(indiscriminate collection),从而导致了延迟、昂贵并且通常不敏感的细菌学结果。这可能影响治疗时机和有效性。定性和主观目视评价仅提供创伤位点的粗略看法,但是不能提供与在组织和细胞水平下发生的潜在生物和分子变化有关的信息。在临床创伤管理中,实时收集和分析“生物和分子”信息以提供对这种潜在改变的早期鉴别以及与它们的治疗有关的指导的相对简单和补充的方法是所期望的。高风险创伤的早期识别可以指导治疗性干预并提供随时间的反应监测(响应监测,response monitoring),因此大大降低了特别是由于慢性创伤所造成的发病率和死亡率。

### 发明内容

[0005] 根据多个示例性实施方式,提供了根据目标的荧光成像数据确定目标的细菌负荷的方法。所述方法包括鉴别目标的荧光图像中的感兴趣区,将RGB图像分为单独的通道,将来自RGB图像的单独的绿色和红色图像通道转化为灰阶,并对灰阶强度高于给定阈值的像素计数。

[0006] 根据本发明教导的另一个方面,提供了获得目标相关的诊断数据的方法。所述方法包括用连接到手持装置外壳的至少一个光源所发射的均匀激发光场直接照射目标的至少一部分,所述外壳包括用于容纳具有数字照相机的无线通信装置的壳体。所述至少一个光源发射至少一个波长或波段,其造成目标的照射部分中至少一个生物标志物发荧光。所述方法还包括用无线通信装置的数字照相机的图像传感器收集目标的照射部分相关的细菌自身荧光数据。所述无线通信装置固定在外壳中。所述方法还包括使用像素强度分析所收集的细菌自身荧光数据以确定目标的照射部分的细菌负荷。

[0007] 根据本发明公开的其它方面,公开了用于采集组织中创伤相关数据的系统。所述

系统包含至少一个光源,其配置以通过均匀激发光场直接照射目标表面。所述目标表面包括创伤的至少一部分以及创伤周围区域。配置光学传感器以检测对创伤的照射部分以及创伤周围区域的照射起反应(产生响应, response)的信号。每个检测信号指示创伤的照射部分和创伤周围区域中内源荧光、外源荧光、吸光和反射中的至少一种。配置处理器以接收检测信号,并使用像素强度分析检测的信号数据,并输出创伤的照射部分和创伤周围区域的细菌负荷的相关数据。所述系统还包括用于显示处理器输出的创伤的照射部分和创伤周围区域的相关输出数据的显示器。

[0008] 根据本发明公开的另一个方面,公开了用于与组织中创伤相关的数据的成像和采集的便携、手持装置。所述装置包括外壳,其包含配置以容纳移动通信装置和与外壳连接的至少一个光源并且配置以通过均匀光场直接照射创伤的至少一部分和创伤周围区域的壳体。移动通信装置固定在所述外壳的壳体中,所述移动通信装置包含嵌入式数字照相机(embedded digital camera)并且具有布置在所述装置第一侧面上的触屏显示器以及布置在与第一侧面相对的所述装置的第二侧面上的照相机的镜头。所述移动通信装置容纳在所述外壳中,从而定位了数字照相机的图像传感器以检测对使用均匀光场照射创伤的部分和创伤周围区域起反应的光信号,每种光信号指示创伤的照射部分和创伤周围区域中内源荧光、外源荧光、吸收和反射中的至少一种。当将所述移动通信装置固定在外壳中时,至少部分触屏显示器是用户可接触和可视的。所述装置还包括处理器,其配置以接收检测的光信号,使用像素强度分析检测的信号数据,并输出创伤的照射部分和创伤周围区域的细菌负荷的相关数据。

[0009] 根据本发明公开的另一个方面,提供了获得目标相关诊断数据的方法。所述方法包括用连接到手持装置外壳的至少一个光源所发射的均匀激发光场直接照射目标的至少一部分和目标的周围区域,所述外壳包括用于容纳具有数字照相机的无线通信装置的壳体。所述至少一个光源发射至少一种波长或波段,其造成目标的照射部分和目标周围区域中至少一种生物标志物发荧光。所述方法还包括用无线通信装置的数字照相机的图像传感器收集目标的照射部分和目标周围区域相关的细菌自身荧光数据。所述无线通信装置固定在外壳中。所述方法还包括分析所收集的细菌自身荧光数据以确定目标的照射部分和目标周围区域的细菌负荷,并且追踪目标的细菌负荷随时间的改变。

[0010] 本发明公开的其它目标和优势将在随后的描述中部分说明,并且根据描述部分地将是显而易见的,或者可以通过本发明公开的实践来学习。将通过所附权利要求中具体指明的元素和组合实现和完成本发明公开的目标和优势。

[0011] 应理解上述一般说明和以下详细说明两者均仅是示例性和说明性的,并且不是对所要求保护的公开内容的限制。

[0012] 引入并构成本说明书一部分的附图显示了本发明公开的实施方式,并且与描述一起用于解释本发明公开的原理。

## 附图说明

[0013] 根据与其一致的以下实施方案的详细说明,至少一些特征和优势将是显而易见的,应参考附图考虑所述说明,其中:

[0014] 图1是用于基于荧光监测的装置的示意图;

- [0015] 图2显示了使用用于基于荧光监测的装置的临床创伤病理机构的实例；
- [0016] 图3显示了猪肉样品的肌肉表面的图像，显示用于基于荧光监测结缔组织和细菌的自身荧光检测的装置的用途；
- [0017] 图4显示了用于基于荧光监测的装置的手持实施方式的图像；
- [0018] 图5显示了用于获得目标的白光和荧光数据的手持装置的替代实施方式；
- [0019] 图6A和图6B显示了用于获得目标相关数据的手持装置的另一个替代实施方式，所述手持装置结合了iPhone；
- [0020] 图7A和图7B显示了确定目标的细菌负荷的示例性方法；
- [0021] 图8显示了用于10天内追踪的单个小鼠的代表性白光(WL)和荧光(FL)图像；
- [0022] 图9显示了临床前数据，其显示致病性细菌自身荧光(AF)强度与体内细菌负荷相关；
- [0023] 图10显示使用用于基于荧光监测的装置捕获的活细菌培养物的图像；
- [0024] 图11显示了使用用于基于荧光监测的装置的细菌监测的实例；
- [0025] 图12显示了模拟动物创伤病理模型的图像，显示使用用于基于荧光监测的装置的细菌的无创自身荧光检测；
- [0026] 图13显示了慢性创伤病理监测的实例；
- [0027] 图14-图28显示了用于基于荧光监测的装置对于临床患者中创伤病理和病况成像的用途的实例；
- [0028] 图29显示了猪肉样品皮肤表面的图像，显示了使用用于基于荧光监测的装置的胶原蛋白和多种细菌菌种的无创自身荧光检测；
- [0029] 图30显示了图像和光谱图，显示用于基于荧光监测的装置检测琼脂平板上和猪肉模拟创伤病理表面上生长的细菌的荧光的用途；
- [0030] 图31显示了图像，显示用于基于荧光监测的装置对于血液和微脉管系统成像的用途；
- [0031] 图32是显示使用用于基于荧光监测的装置管理慢性创伤病理的流程图；
- [0032] 图33显示了创伤病理随时间愈合的阶段；
- [0033] 图34是显示已知与创伤病理愈合有关的组织、细胞和分子生物标志物的实例的表；
- [0034] 图35是将健康创伤病理与慢性创伤病理相比较的图；
- [0035] 图36显示了图像，显示用于基于荧光监测的装置在小鼠模型成像中的用途；和
- [0036] 图37显示了用于基于荧光监测的装置用于小动物模型成像的用途的实例；
- [0037] 图38显示了包含用于基于荧光监测的装置的套件(kit)的实例。
- [0038] 尽管参考了以下具体实施方式说明了实施方式，但是其多种替代、修改和改变将对本领域技术人员是显而易见的。因此，旨在广泛地看待所要求保护的主题。

## 具体实施方式

- [0039] 现将详细参考多个实施方式，在附图中显示了这些实施方式的实例。所述多个示例性实施方式不旨在限制本发明公开。相反，本发明公开旨在覆盖替代、改变和等价形式。
- [0040] 急性和慢性创伤病理的常规临床评价方法仍是次优的。这些评价方法通常基于完整的患者病史、使用环境白光和“裸眼”通过简单目视评价的定性和主观临床评价，并且有时可

以涉及彩色照相术的使用以捕获创伤在白光照明下的一般外形。对朝着治愈的发展的常规再评价以及对干预的适当改变也是必需的。创伤评价术语是不统一的,有关创伤评价的许多问题仍未得到解答,对于临床实践中测量的关键创伤参数仍需达成一致,并且可用的创伤评价技术的准确度和可靠性不同。

[0041] 目视评价通常与用于诊断的细菌培养物的拭子(swabbing)和/或组织活组织检查(biopsy)结合。在创伤检查时收集细菌拭子,并且所述拭子具有提供具体细菌/微生物菌种鉴定的显著优势。然而,通常从创伤位点随机收集多个拭子和/或活组织检查样品,并且事实上一些拭子技术可能在收集过程中将微生物散布在创伤周围,因此影响患者的治愈时间和发病率。这对于特别是大型慢性(未愈合)创伤可能是有问题的,其中使用目前的拭子和活组织检查规程对于细菌存在的检测得率(detection yield)是次优的(诊断不敏感的),即使收集多个拭子。

[0042] 因此,目前从创伤位点获得拭子或组织活组织检查用于后续细菌学培养的方法是基于非靶向的或“盲(blind)”拭子或钻孔活组织检查方法,并且未优化以最大程度降低对创伤的伤害或使细菌学测试的诊断得率(diagnostic yield)最大。另外,细菌学培养结果通常需要约2-3天才能从实验室返回,并且它可能是不确定的,因此延迟了准确诊断和治疗。

[0043] 因此,获得细菌拭子的常规方法不必需提供创伤相关数据,并且可能不能提供创伤感染状态的实时检测。缺少客观且快速地在生物水平(其可以比简单的基于外形或形态更详细)评价创伤修复并帮助将拭子和组织活组织检查样品的收集靶向细菌学的无创方法是临床创伤评价和治疗中的主要障碍。非常期望替代方法。

[0044] 随着创伤(慢性和急性)愈合,在创伤位点在组织和细胞水平发生了许多重要的生物变化。创伤愈合包括生物过程的复杂和动态的相互作用,分为四个重叠的阶段——止血、炎症、细胞增殖和结缔组织的成熟或重构——它们影响创伤愈合的病理生理学。在可以为数日至数月范围的创伤愈合过程中出现的常见的主要并发症是由细菌及其它微生物引起的感染。这可以对愈合过程造成严重的障碍并导致显著的并发症。所有创伤都含有从污染、通过定殖(colonization)、严重定殖(critical colonization)到感染的范围的水平的细菌,并且细菌感染的诊断是基于临床症状(symptom)和病征(sign)(例如,视觉和气味线索)。

[0045] 对于创伤感染最常用的术语包括创伤污染、创伤定殖、创伤感染和更近来的严重定殖。创伤污染(wound contamination)是指没有任何宿主反应的创伤内细菌的存在;创伤定殖(wound colonisation)是指创伤内细菌的存在,其确实增殖或引起宿主反应;和严重定殖(critical colonisation)是指细菌的增殖导致创伤愈合迟延,通常与先前未报告的疼痛的恶化有关,但是仍没有明显的宿主反应。创伤感染(wound infection)是指细菌在组织中的附着和增殖(具有相关宿主反应)。在实践中,术语“严重定殖”可以用于描述认为从定殖移动至局部传染的创伤。然而,临床环境中的挑战是确保确定地快速辨别病情,并且可能通过使用局部抗微生物剂尽快减少细菌负载。根据它们的结构和代谢能力,可以将潜在的创伤病原体分成不同组,如细菌、真菌、孢子、原生动物和病毒。

[0046] 尽管病毒通常不会导致创伤感染,但是细菌可以感染某些病毒疾病过程中形成的皮肤损害。这些感染可以发生在许多环境中,包括健康-护理环境(医院、诊所)和家中或者

慢性护理机构。创伤感染的控制越来越复杂,但是治疗却不能总是受到微生物学诊断的指导。在大部分慢性和急性创伤中的微生物多样性和多种微生物菌群的高发病率证实了从创伤培养中鉴别一种或多种细菌性病原体的价值。创伤感染致病因素的早期识别可以帮助创伤护理从业者采取适当措施。此外,细菌负载提高引起错误的(faulty)胶原蛋白形成,并且这种错误的胶原蛋白形成导致产生了过度血管化(over-vascularized)的脆弱、松散的肉芽组织,其通常导致创伤破裂。

[0047] 准确且临床相关的创伤评价是重要的临床工具,但是该方法目前仍存在显著的挑战。目前临床实践中的目视评价仅对创伤位点提供了总体的观察(例如,化脓性材料和硬痂(crusting)的存在)。目前的最佳临床实践不能充分使用与在组织和细胞水平发生的潜在的重要生物变化有关的非常重要的客观信息(例如,污染、定殖、感染、基质重构(remodeling)、炎症、细菌/微生物感染和坏死),这是因为这些指标i)在创伤检查时不易获得和ii)目前它们尚未加入到常规创伤管理程序中。使用白光的创伤健康状况的直接目视评价依赖于创伤中和其周围的颜色以及形貌/质地变化的检测,并因此在检测组织重构中的微小变化时可能是无能力和不可靠的。更具体地,创伤的直接目视评价通常不能检测细菌感染的存在,这是因为细菌在白光照明下是看不见的。在临幊上,使用用于鉴别生物及其它们对抗生素的敏感性的微生物学测试诊断感染。尽管在大多数创伤中,可以使用白光容易地观察到细菌感染的物理指示(例如,脓性渗出物、硬痂、肿胀、红斑),但这通常是明显延迟的,并且患者已处于增加的发病(以及与感染有关的其它并发症)和死亡风险。因此,标准白光直接可视化不能检测细菌本身的早期存在或鉴别创伤内细菌的类型。

[0048] 目前手动地(人工地,manually)监测创伤的发展。美国国家压疮专家组(National Pressure Ulcer Advisory Panel) (NPUAP)开发了压疮愈合量表(Ulcer Scale for Healing) (PUSH)工具,其列出了表征压疮的5步法。该工具使用3个参数来确定定量得分,然后将该定量得分用于监测随时间的压疮。定性参数包括创伤尺寸、组织类型和渗出液或流出液的量,并且在去除敷料(dressing)后提供的热读数。还可以通过创伤的气味和颜色对其进行进一步表征。目前,创伤的这种评价不包括创伤相关的重要生物和分子信息。因此,所有创伤的描述多少有些主观,并且由主治医师或护士人工记录。

[0049] 所期望的是用于收集创伤数据和提供实时分析的稳健、成本-有效的无创、基于快速成像的方法或装置。所述数据和分析可以用于客观评价创伤在生物、生物化学和细胞水平的变化,并快速、灵敏且无创地检测创伤内细菌/微生物的最早期存在。用于检测创伤中重要生物组织变化的这些方法或装置可以与常规临床创伤管理办法一起起到辅助作用从而在患者护理中指导重要的临床-病理决策。这种装置可以是紧凑的、便携的,并且能够以安全、便捷的方式实时、无创和/或未接触地问诊创伤,这可以使其无缝纳入常规创伤管理实践中并对临床医师、护士和创伤专业人员是用户友好的。这还可以包括该装置在家庭-护理环境(包括患者自身使用)以及在军队战场环境中的使用。另外,通过将有价值的“生物学-信息的”图像-指导引入临床创伤评价过程,这种基于成像的装置可以提供实时监测创伤治疗反应和愈合的能力。这可以最终导致潜在的新型诊断、治疗计划、治疗反应监测,并因此导致可以允许在个体患者水平提高创伤-愈合反应的“适应性”干预策略。个体患者中创伤愈合问题潜在的全身、局部和分子因素的准确鉴别可以允许更好地调整治疗。

[0050] 根据本发明的教导,提供了从创伤收集的数据的分析方法。例如,对于改善临床创

伤评价和管理,荧光图像数据的收集似乎是有前景的。当通过短波长光(例如,紫外或短可见光波长)激发时,组织中大部分内源生物组分(例如,结缔组织,如胶原蛋白和弹性蛋白、代谢辅酶、蛋白等)产生处于紫外、可见、近红外和红外波长范围的更长波长的荧光。

[0051] 组织自身荧光成像提供了实时获得正常和患病组织生物学相关信息的独特方式,因此允许正常和患病组织状态之前的区别。这部分地基于在整体组织和细胞水平发生的内在不同的光-组织相互作用(例如,光的吸收和散射)、组织形态变化以及组织中血液含量的变化。在组织中,血液是主要的光吸收组织成分(即发色团)。这种类型的技术适合于中空器官(例如,胃肠道、口腔、肺、膀胱)或暴露的组织表面(例如,皮肤)中疾病的成像。根据本发明教导内容的自身荧光成像装置可以收集创伤数据,其提供/允许快速、无创且未接触地实时分析创伤以及它们的组成和成分,以检测和利用创伤的丰富的生物信息以改善临床护理和管理。

[0052] 根据本发明公开内容的装置1)为组织取样提供图像-指导,从而检测常规取样忽视的病原细菌和创伤感染的临床-显著水平,和2)为创伤治疗提供图像指导,从而与常规疗法相比促进创伤闭合并定量追踪创伤中细菌生物负载和分布的长期变化。

[0053] DaCosta等人2015年5月26日授权的标题为“用于创伤成像和监测的装置和方法”的美国专利号9,042,967B2公开了配置用于收集用于客观评价创伤在生物、生物化学和细胞水平的变化以及用于快速、灵敏且无创检测创伤内细菌/微生物的最早期存在的数据的装置的至少一些方面。该专利要求于2009年5月20日提交的PCT专利申请号PCT/CA2009/000680以及2008年5月20日提交的美国临时专利申请号61/054,780的优先权。以上提及的这些专利、专利申请和专利申请公开中每一项的全部内容作为参考并入本文。

[0054] 根据本发明教导的一个方面,提供了实时检查皮肤和创伤的手持便携装置。所述装置立即检测、可视化和分析细菌和组织的组成。所述装置是用于非接触和无创成像的小型手持装置。它在不使用造影剂的情况下捕获组织组分和细菌所产生的白光(WL)和自身荧光(AF)信号。尽管能够在不使用造影剂的情况下检测AF信号,但是本领域的技术人员将理解如果需要,可以与造影剂一起使用本文所公开的装置。除白光和荧光之外,所述装置还可以捕获来自成像区域的热数据。所述装置可以进一步配置以分析白光、荧光和热数据,关联这些数据,并基于数据的相关性提供输出,如(例如)干预策略可以基于的创伤状态、创伤愈合、创伤感染、细菌负荷或其它诊断信息的指示。

[0055] 所述装置可以配置以产生和/或显示合成图像(composite image),包括皮肤中内源结缔组织(例如,胶原蛋白、弹性蛋白)所产生的绿色AF和临床相关细菌,如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)中内源卟啉所产生的红色AF。其它物种,如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中的铁载体(siderophore)/脓绿素(pyoverdin)在体内AF成像中呈现蓝-绿色。所述装置可以提供创伤中和其周围的细菌存在、类型、分布、量的可视化以及周围组织组成(胶原蛋白、组织活力、血液氧饱和度)的关键信息。例如,所述装置可以(通过AF成像)实时提供皮肤中和其周围的胶原蛋白组成的成像。

[0056] 根据本发明,所述装置可以配置以实时准确检测和测量创伤中的细菌负荷,指导治疗决策和追踪抗菌治疗过程中的创伤愈合。另外,可以使用生物发光成像(BLI)将绝对细菌负荷与使用手持装置获得的FL信号相关联。

[0057] 所述装置可以是独立的和整装的(self-contained)。它可以与计算机、打印机和

EMR系统连接。

[0058] 根据本发明公开的一个示例性实施方式,配置所述装置,从而对细菌实时成像(通过,例如,荧光成像),允许以接受的测量单位对细菌类型、它们的位置、分布和量进行简易鉴定(ready identification),并允许在一些不同的细菌菌种之间进行鉴别和区分。例如,自身荧光成像可以用于可视化并将绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aruginosa*) (当通过来自所述装置的405nm的光激发时,其发出蓝绿色荧光)与在相同激发波长下主要发出红色/橙色荧光的其它细菌(例如,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))相区分。在一个示例性实施方式中,所述装置的照相机传感器和内置荧光多带通发射滤光片(filter)产生细菌(在创伤或正常皮肤中)的荧光图像,并且绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aruginosa*)显示蓝绿色,而其它细菌发射红色/橙色。所述装置检测不同细菌之间的不同内源分子(称为荧光团)的自身荧光发射的差异。

[0059] 根据本发明公开的另一个示例性实施方式,配置所述装置以实时鉴别或提供组织活力的指示(通过荧光成像)。例如,与其它可见光波长相比,血液优选地吸收405nm的光。通过血液灌注的组织被认为是活的,并且可以使用荧光成像与失去生命(灌注较差)的组织相区分。使用来自根据本发明教导的装置的405nm的光照射创伤,所述装置可以配置多带通发射滤光片以检测组织吸收或反射的405nm的光的量。活组织含有高度吸收405nm的光的血液,从而导致图像具有低水平的405nm的光,而非活(或失去生命的)组织不含有足够的血液,并且405nm吸收较少。因此,在存在活组织和非活组织的创伤的图像中,用户将基于图像中405nm的光的相对量识别活组织(与非活组织),与非活组织相比,活组织显示更黑。另外,在所得(创伤的)图像的绿色荧光“通道”中,与非活组织相比,活组织将显示出较少绿色荧光,这是因为由于与非活组织相比存在更多的血液,因此活组织将优选地吸收更多的405nm的激发光。因此,尽管通过所述装置获得的所得图像中的活和非活组织两者可能含有类似量的绿色荧光结缔组织(即胶原蛋白),但是与非活组织相比,活组织将具有较少的405nm的激发光以刺激结缔组织的自身荧光。结果是与相同图像中的非活组织相比,活组织将具有较少的绿色结缔组织荧光。在用所述装置成像期间,用户将可视地理解这种差异。

[0060] 根据本发明公开的另一个方面,配置所述装置以捕获和产生提供用户所选参数的图谱或其它可视显示的图像和视频。这种图谱或显示可以基于来自一个或多个装置传感器的输入来关联、叠加、同时记录(co-register)或另外协调所述装置产生的数据。这些传感器可以包括(例如)照相机传感器,其配置以检测白光和/或荧光图像,和热传感器,其配置以检测目标的热标签(heat signature)。例如,所述装置可以配置以显示用户所选参数的彩色图像、图像图谱或其它图谱,如(例如)细菌位置和/或生物分布、胶原蛋白位置、活组织和死组织之间的位置和差别、细菌菌种之间的差别、血液的位置和程度、骨、渗出液、温度和创伤区域/尺寸。可以基于接收的信号通过所述装置输出这些图谱或显示,并且可以在具有或者没有定量显示的情况下对单个图像产生。在图谱上显示的用户选择参数可以与一个或多个创伤参数,如创伤的形状、尺寸、形貌、体积、深度和面积(区域,area)相关联。例如,根据一个示例性实施方式,有可能使用创伤的荧光图像/视频的“假彩色”显示来颜色编码(color-code)细菌荧光(一种颜色)和结缔组织(另一种颜色)等。这可以通过(例如)使用基于所得RGB图像的蓝色通道中405nm的光、绿色通道中绿色结缔组织荧光和红色通道中红色细菌荧光的相对量的逐像素彩色化来完成。另外和/或作为另外一种选择,这可以通过显示

给定图像中将分别代表组织中血液的量、结缔组织的量和细菌的量的蓝色、绿色和红色通道中的每一种的像素数目来完成。

[0061] 根据本发明公开的一个方面,所述装置可以配置以产生并输出收集的数据相关的报告。例如,根据一个示例性实施方式,所述装置的用户可以产生创伤状态报告,其可以包括(例如)日期/时间、患者ID、图像等。用户可以导出或打印图像至所选的网络、计算机、打印机(当连接至托架(cradle)和/或通过USB连接至计算机时)。可以通过所述手持装置,通过将数据导出至用于处理和产生报告的计算机,或通过两者的组合产生报告。此外,这些报告或其中所含的数据可以形成建议干预或治疗策略的基础。报告可以包括(例如)医学报告、数字报告、涵盖临床医师手写输入(例如,通过图形板输入(tablet input)等)的报告。所述报告可以包括多种类型的数据,其包括(例如)创伤参数的鉴别以及对这些参数随时间的追踪。例如,随着施用和随着对改变的创伤参数的反应随时间的改变等,所述报告可以鉴别和追踪创伤尺寸、创伤形状、创伤形貌、创伤体积、创伤面积、创伤细菌负荷、创伤内细菌的位置、暴露的骨、血液、结缔组织及其它组织的存在、创伤温度、患者创伤的位置、患者创伤的数目、创伤检查日期、病人标识、施用于患者的药物治疗、干预策略和疗法的变化。例如,所述装置可以产生追踪患者创伤和皮肤状态,包括(例如)创伤尺寸和细菌负载随时间的变化的报告。此外,所收集的数据可以用于产生提供与创伤参数和多种创伤干预/治疗策略的有效性相关的临床数据的数据库。另外,所述装置可以配置以将所收集的数据/图像/视频整合到报告中,和作为另外一种选择或另外,将这些报告和数据/图像/视频包含在患者的电子医疗记录(EMR)中。该过程可以是无线的,通过使用传输电缆,并且还可以配置所述系统以自动上传所述报告。

[0062] 所述装置具有足以储存一些图像/视频的存储器。除内部存储器外,所述装置可以包括微SD卡接口以用于额外的储存和固件开发。所述装置可以通知用户存储器容量低。所述装置还可以包括数据保护,这将促使用户在存储器可用性低时导出文件。

[0063] 根据本发明公开的一个方面,公开了用于基于荧光的成像和监测的方法与装置。所述装置的一个示例性实施方式是便携光学数字成像装置。所述装置可以使用白光、组织荧光和反射成像以及热成像的组合,并且可以提供实时创伤成像、评价、记录/归档、监测和/或护理管理。所述装置可以是手持、小型和/或重量轻的。该装置和方法可以适合于监测人和动物中的创伤。

[0064] 所述装置通常可以包括:i)一个或多个激发/照射光源和ii)检测器装置(例如,数字成像检测器装置),其可以与一个或多个光学发射滤光片或光谱过滤机构组合,并且其可以具有观察/控制屏幕(例如,触敏屏幕(touch-sensitive screen)),图像捕获和缩放控制。所述装置还可以具有:iii)有线和/或无线数据传输端口/模块,iv)电源和电源/控制开关,和/或v)壳体,其可以是小型和/或轻重量的,并且其可以具有连接检测器装置和/或手柄(handle grip)的机构。所述激发/照射光源可以是发射约405nm(例如,+/-5nm)的光的LED阵列,并且可以与中心在约405nm的额外的带通滤光片连接以去除/最大程度减少来自LED阵列输出的光的光谱边带(side spectral band),从而不会导致光泄漏到所述成像检测器(具有其自身的滤光片)。所述数字成像检测器装置可以是数字照相机,例如,具有至少ISO 3200灵敏度,但是更优选地,ISO 3200灵敏度,并且可以与一个或多个光学发射滤光片或者其它同样有效的(例如,小型化)机械光谱过滤机构(例如,声-光可调滤光器或者液晶

可调滤光器)组合。所述数字成像检测器装置可以具有触敏观察和/或控制屏幕,成像捕获和缩放控制。所述壳体可以是外部硬质塑料或聚合物壳,其封装了数字成像检测器装置,具有按钮从而可以通过用户容易地访问和操作所有必需的装置控制。如果需要,可以将微型散热器或小型机械风扇或其它散热装置嵌入所述装置中以允许从激发光源去除多余的热量。可以使用标准AC/DC电源和/或通过可再充电电池组为整个装置(包括所有其嵌入的附件和连接件)供电。还可以将整个装置连接或安装到外部机械装置上(例如,三脚架或具有枢转臂的可移动架(movable stand)),从而允许通过所述装置的非手动操作(hands-free operation)在临床室内移动所述装置。作为另外一种选择,所述装置可以设置移动框架,从而使其便携。可以使用用水润湿的潮湿纱布清洗所述装置,同时可以使用用乙醇润湿的潮湿纱布清洗所述柄。其它适当的清洁方法对于本领域那些技术人员是显而易见的。所述装置可以包括允许用户控制所述装置的软件,包括成像参数的控制、图像的可视化、图像数据和用户信息的存储、图像和/或相关数据的传输和/或相关图像分析(例如,诊断算法)。

[0065] 图1显示了所述装置的实例的示意图。显示所述装置定位以成像目标物体10或目标表面。在所显示的实例中,所述装置具有数字图像采集装置1,如数字照相机、录像机、可携式摄像机(camcorder)、具有嵌入式数字照相机的蜂窝式电话、具有数字照相机的“智能”电话、个人数字助理(PDA)、具有数字照相机的笔记本电脑/PC或网络摄像头。数字图像采集装置1具有镜头2,其可以对准以指向目标物体10并且可以检测从物体10或表面发出的光信号。所述装置具有滤光片支架3,其可以容纳一个或多个滤光片4。每个滤光片4可以具有不同的不连续光谱带宽并且可以是带通滤光片。可以选择这些滤光片4并且可以以数字照相机镜头形式移入以基于光的波长选择性检测具体的光信号。所述装置可以包括产生激发光以照射物体10的光源5,从而引起用(例如)蓝光(例如,400-450nm)或单个或多个波长(例如,紫外/可见/近红外/红外范围内的波长)的任何其它组合成像的光信号(例如,荧光)。光源5可以包括以多种几何形状布置的LED阵列、激光二极管和/或过滤的光。所述装置可以包括方法或装置6(例如,散热器或冷却风扇)以耗散热并冷却照明光源5。所述装置可以包括方法或装置7(例如,光学带通滤光片)以从用于照射要成像的物体10的光源5去除任何不希望的光波长。所述装置可以包括方法或装置8以使用光学装置(例如,使用发射准直的光束的紧凑的小型激光二极管)来测量并确定成像装置和物体10之间的距离。例如,所述装置可以使用两个光源,如两个激光二极管作为三角测量装置的一部分以维持所述装置和物体10之间恒定的距离。其它光源可以是可能的。所述装置还可以使用超声或物理测量,如直尺来确定要维持的恒定距离。根据另一种示例性实施方式,所述装置可以使用测距仪(rangefinder)来确定所述装置相对于要成像的创伤的适当位置。所述装置还可以包括方法或装置9(例如,枢轴)以允许操纵和取向激发光源5,8,从而操纵这些源5,8以改变用于不同距离的照射(strike)物体10的光的照射角。

[0066] 可以用标记11标记目标物体10以允许对所述物体采集多个图像,然后同时记录用于分析。标记11可以包括(例如)不同颜色的外源荧光染料的使用,当通过光源5照射时,其可以产生多个不同的光信号并且在物体10的图像内是可检测的,并因此通过同时记录它们之间不同的颜色和距离可以允许取向相同感兴趣区的多个图像(例如,随时间采集的)。数字图像采集装置1可以包括以下中的一种或多种:用于头戴式显示器的接口12;用于外部打印机的接口13;用于平板计算机、笔记本计算机、台式计算机或其它计算机的接口14;用于

允许将成像数据有线或无线传输至远程位点或另一装置的装置的接口15;用于全球定位系统(GPS)装置的接口16;用于允许使用外加存储器的装置的接口17;和用于扩音器(microphone)的接口18,。

[0067] 所述装置可以包括电源19,如AC/DC电源、小型电池组(compact battery bank)或可再充电电池组(rechargeable battery pack)。作为另外一种选择,所述装置可以适合于连接至外部电源。所述装置可以具有外壳20,其在一个实体中容纳了所有组件。外壳20可以配备将任何数字成像装置固定其内的装置。可以将外壳20设计成手持式、小型和/或便携式的。外壳20可以是一个或多个壳体。

[0068] 图2显示了典型创伤护理机构中所述装置的实例。插图显示了典型临床创伤护理机构,显示了检查椅和附属的桌子。插图显示了在其硬壳容器中的所述装置的实例。所述装置可以整合到常规创伤护理实践中,从而允许对患者实时成像。插图显示了置于“创伤护理车”上的所述装置(箭头)的实例以显示所述装置的尺寸。插图所述装置可以用于在白光照明下成像,而插图显示所述装置用于在室内昏暗光线下采集创伤的荧光图像。插图所述装置可以在远程医疗/远程保健基础设施中使用,例如,患者创伤的荧光图像可以在另一个医院使用无线/WiFi互联网连接通过无线通信装置,如智能电话通过电子邮件发送给创伤护理专家。使用该装置,可以将高分辨率的荧光图像作为电子邮件的附件从远程创伤护理位点发送给创伤护理专家以用于和专业临床创伤护理和管理中心的临床专家、微生物学家等的快速会诊。

#### [0069] 实施例

[0070] 以下描述了用于基于荧光监测的装置的实施例。所有实施例仅以说明的目的提供,并且不意欲限制。实施例中所述的参数,如波长、尺寸和培育时间可以是近似的并且仅作为实施例提供。

[0071] 在本实施例中,所述装置使用两种紫外/蓝色光(例如,405nm+/-10nm发射,窄发射光谱)LED阵列(Opto Diode Corporation, Newbury Park, 加利福尼亚州),其各自作为激发或照射光源位于成像检测器装置的两侧中任一侧。这些阵列具有每个约1瓦的输出功率,从 $2.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$ 发出,照射光束角为70°。LED阵列可以用于从约10cm的距离照射组织表面,这表示皮肤表面上的总光功率密度为约0.08W/cm<sup>2</sup>。在这些低功率下,激发光对目标创伤或皮肤表面或者眼睛无已知的可能伤害。然而,可以不建议在成像程序期间将光直接照射在任何个体的眼睛。还应注意根据国际电工委员会(International Electrotechnical Commission) (IEC) 制订的国际标准,405nm的光不会造成健康风险,如网站[http://www.iec.ch/online\\_news/etech/arch\\_2006/etech\\_0906/focus.htm](http://www.iec.ch/online_news/etech/arch_2006/etech_0906/focus.htm)中进一步详细描述的。

[0072] 可以,例如,通过使用内置枢轴将一个或多个光源接合(articulate)(例如,手动接合)以改变成像表面上的照射角和光点直径(spot size),并且通过(例如)电连接至墙壁插头和/或单独的便携式可再充电电池组供电。可以通过光源产生激发/照射光,包括(但不限于)处于任何布置(包括环形或阵列形式)的单个或多个发光二极管(LED)、波长-过滤灯泡或激光。还可以使用在紫外(UV)、可见光(VIS)、远红外、近红外(NIR)和红外(IR)范围内具有特定波长特征的所选的单个和多个激发/照射光源,并且可以由以多种几何形状排列的LED阵列、有机LED、激光二极管或过滤的光组成。可以“调谐(tune)”激发/照射光源以允

许在成像时调节从所述装置发出的光强度。所述光强度可以是可变的。可以将LED阵列连接到单独的冷却风扇或散热器上以耗散它们操作期间产生的热。LED阵列可以发射窄405nm的光,其可以使用可商购的带通滤光片(Chroma Technology Corp, Rockingham, VT, 美国)光谱过滤以减少发射的光向检测器光学器件的可能“泄露”。当所述装置保持在要成像的组织表面(例如,创伤)上方时,照射光源可以在组织/创伤表面上照射窄带宽或宽带宽紫外/蓝色波长或其它波长或波段的光,借此在感兴趣区内产生平面和均匀的场。所述光还可以照射或激发组织下至特定较浅的深度。这种激发/照射光与正常和患病组织相互作用,并且可能导致在组织内产生光信号(例如,吸收、荧光和/或反射)。

[0073] 因此,通过改变激发和发射波长,所述成像装置可以调查表面上和组织(例如,创伤)内特定深度的组织成分(例如,创伤中的结缔组织和细菌)。例如,通过从紫外/蓝光(~400-500nm)改变为绿色(~500-540nm)波长的光,可以(例如)在创伤中实现更深的组织/细菌荧光源的激发。类似地,通过检测更长的波长,可以在组织表面检测到来自组织和/或组织中更深的细菌源的荧光发射。对于创伤评价,调查表面和/或亚表面荧光的能力可以是有用的,例如,在细菌污染、定殖、严重定殖和/或感染的检测和可能鉴别中,这可以发生在表面上并通常在创伤内(例如,慢性未愈合创伤中)的一定深度。在一个实施例中,参考图3,插图c)显示了创伤清洗后皮肤表面下方(即,一定深度)的细菌检测。可以在创伤护理中心通常使用的其它临床征象和症状的背景下评价所述装置用于检测创伤和周围组织的表面和其一定深度的细菌的这种用途。

[0074] 图4显示了所述装置的实例实施方式。所述装置可以与作为图像采集装置的任何标准小型数字成像装置(例如,电荷耦合器件(CCD)或者互补金属一氧化物一半导体(CMOS)传感器)一起使用。a)中所示的实例装置具有外部电源,用于照射要成像的物体/表面的两个LED阵列和牢固固定在配备有用于成像的便捷手柄的重量轻的金属框上的可商购数字照相机。多带滤光片保持在数字照相机前方以允许对要成像的物体/表面发出的检测的光信号进行波长过滤。照相机的视频/USB输出电缆允许将成像数据传输至计算机以用于存储和后续分析。本实施例使用了可商购的8.1-兆像素Sony数字照相机(Sony Cybershot DSC-T200 Digital Camera, Sony Corporation, 北美洲)。出于以下原因,这种照相机可以是适合的:i)其细长垂直的设计,这可以容易地整合到壳体框架中,ii)其较大的3.5-英寸宽屏触摸板LCD以便于控制,iii)其Carl Zeiss 5×光学变焦透镜,和iv)其在低光下的用途(例如,ISO 3200)。所述装置可以具有内置闪光灯,这允许标准白光成像(例如,具有录音输出的高清晰度静止或视频)。照相机接口端口可以支持两个有线(例如,USB)或无线(例如,蓝牙、WiFi和类似的方式)数据传送或多种外部设备的第三方附加模块,如;头戴式显示器、外部打印机、平板计算机、笔记本计算机、个人台式计算机、允许将成像数据传输至远程位点/其它装置的无线电设备、全球定位系统(GPS)装置、允许使用外加存储器的装置和扩音器。数字照相机通过可再充电电池或AC/DC电源供电。所述数字成像装置可以包括(但不限于)数字照相机、网络摄像头、数字SLR照相机、便携式摄像机(camcorder)/录像机、具有嵌入式数字照相机的蜂窝式电话、Smartphones<sup>TM</sup>、个人数字助理(PDA)和笔记本计算机/平板PC或个人台式计算机,所有这些含有/或连接至数字成像检测器/传感器。

[0075] 可以使用排斥激发光但允许要检测组织所发射的光的所选波长的滤光片(例如,得自Chroma Technology Corp, Rockingham, VT, 美国的那些),通过成像装置检测激发/照

射光源产生的这种光信号,从而在显示器上形成图像。在数字照相机镜头前存在连接至壳体框架的滤光片支架,其可以容纳一个或多个具有不同的不连续光谱带宽的滤光片,如图4的插图b) 和c) 所示。插图b) 显示了具有打开以发射明亮的紫外/蓝光的LED阵列(具有布置就位的单个发射滤光片)的装置。插图c) 显示了使用多个滤光片的支架的装置,所述支架用于对所需特定波长成像选择适合的滤光片。插图d) 显示了一只手持有,同时对足部皮肤表面成像的装置。

[0076] 可以选择这些带通滤光片并且在数字照相机镜头前对齐以基于所需光的波长选择性检测来自组织/创伤表面的具体光信号。还可以(例如)使用液晶可调滤光片(LCTF)或作为固态电子可调光谱带通滤光片的声-光可调滤光片(AOTF)实现检测光信号(例如,吸收、荧光、反射)的光谱过滤。光谱过滤还可以包括连续可变滤光片和/或手动带通滤光片的使用。这些装置可以置于成像检测器前方以产生组织的多光谱、高光谱和/或波长选择性成像。

[0077] 可以通过使用以合理的方式连接至激发/照射光源和成像检测器装置的光学或可变定向极化滤光片(例如,直线或环形与光波板(optical wave plate)的使用组合)改变所述装置。以这种方式,所述装置可以用于使用偏振光照明和非偏振光检测或者相反地,或者偏振光照明和偏振光检测,以白光反射和/或荧光成像对组织表面成像。这可以允许以最小的镜面反射(例如,来自白光成像的眩光)对创伤成像,还使得能够对创伤和周围正常组织内的结缔组织(例如,胶原蛋白和弹性蛋白)中的荧光偏振和/或各向异性-依赖性变化的成像。这可以产生愈合期间与创伤重构有关的结缔组织纤维的空间取向和组织相关的有用信息。

[0078] 成像装置的所有组件可以整合到单一结构中,如人体工程学设计的具有柄的封闭结构,以允许舒适地用单手或双手握持。所述装置还可以不设置任何柄。所述装置可以是重量轻的、便携的,并且可以使用白光、荧光和/或反射成像模式对任何目标表面(例如,皮肤和/或口腔,其也是可接近的)能够实时数字成像(例如,静止和/或视频)。通过将其与表面保持可变的距离,所述装置可以扫描横过身体表面用于成像,并且可以在照亮环境/室内中使用以成像白光反射/荧光。所述装置可以在昏暗或黑暗环境/室内使用以优化组织荧光信号,并最小化来自室内光线的背景信号。所述装置可以用于创伤和周围正常组织的直接(例如,用肉眼)或间接(例如,通过数字成像装置的观察屏)可视化。

[0079] 所述装置还可以不作为手持式或便携式实现,例如,连接至固定机构(例如,三脚架或支持架)以用作用于物体、材料和表面(例如,身体)的白光、荧光和反射成像的相对固定的光学成像装置。这可以允许所述装置在桌面或台面上使用或用于物体、材料和表面的“组装线(assembly line)”成像。在一些实施方式中,所述固定机构可以是可移动的。

[0080] 该装置的其它特征可以包括数字成像和视频记录(可能地,具有声音)的能力、用于记录的方法(例如,通过图像存储和分析软件)和用于远程医疗/E-保健需要的有线或无线数据传输。例如,图4的插图e) 和f) 显示了所述装置的实施方式,其中图像采集装置是移动通信装置,如蜂窝式电话。在本实施例中使用的蜂窝式电话是Samsung A-900型,其配备了1.3兆像素数字照相机。电话安装在保持框架内以便于成像。插图e) 显示了装置的使用荧光墨水成像一张纸的用途,显示单词“创伤(wound)”。插图f) 显示了对荧光墨水染色的手指的成像,以及对常见皮肤细菌痤疮丙酸杆菌(*P. Acnes*)的检测。来自蜂窝式电话的图像可以

无线发送至另一个蜂窝式电话,或无线发送至(例如,通过蓝牙连接)个人电脑以用于图像存储和分析。这显示了所述装置作为远程医疗/E-保健创伤病理基础设施的一部分进行实时手持荧光成像和无线传输至远程位点/人的能力。

[0081] 为了显示成像装置在创伤病理及其它相关应用中的能力,使用所述具体实施例进行了许多可行性实验。应注意在所有荧光成像实验期间,设定了Sony照相机(Sony Cybershot DSC-T200 Digital Camera, Sony Corporation, 北美洲)的设置,从而在无闪光灯并且以“Macro”成像模式设置捕获图像。以8兆像素捕获图像。闪光灯用于捕获白光反射图像。所有图像存储在xD存储卡上用于后续传输至个人电脑以用于长期存储和图像分析。

[0082] 在一个示例性实施方式中,将使用所述装置捕获的白光反射和荧光图像/影片导入Adobe Photoshop用于图像分析。然而,使用MatLab<sup>TM</sup>(Mathworks)设计图像分析软件以允许使用多种基于图像的光谱算法(例如,红-绿荧光比等)提取用于定量检测/诊断值的相关图像数据(例如,空间和光谱数据)。成像后-处理还包括图像的数学操作。

[0083] 根据另一个示例性实施方式,用于采集创伤病理数据的手持装置包括廉价、消费品级Super HAD<sup>TM</sup>基于电荷耦合器件(CCD)传感器的照相机(DSC-T900型, Sony Corp., 日本),具有置于塑料体内的35至140mm等价的4×变焦镜头并通过可再充电电池供电(图5)。图5显示了手持成像装置的原型。插图(a)是原型的前视图,其显示了在液晶显示器屏幕上以高分辨率实时显示的创伤病理(FI)图像。插图(b)是原型的后视图,其显示了提供创伤病理照明的白光(WL)和405-nm LED阵列,而FI发射滤光片置于CCD传感器前方。所述装置配置以实时(<1s)收集高分辨率12.1兆像素彩色WL和FI图像(或视频),其以红-绿-蓝(RGB)形式在所述装置的3.5-英寸触敏性彩色液晶显示器(LCD)屏幕上显示(图5)。所述装置包括宽带白光-发射二极管(LED),其通过标准AC125V电源供电,配置以在WL成像期间提供照明。所述装置还包括两个单色紫-蓝( $\lambda_{\text{激发}}^{\text{c}} = 405\text{--}20\text{nm}$ )LED阵列(LZ4型, LedEngin, San Jose, 加利福尼亚州)以在FI成像期间提供4-W的激发光功率(距皮肤表面10cm处, 明亮、均匀照明面积约700cm<sup>2</sup>)。通过在照相机镜头前安装有双频段FI滤光片( $\lambda_{\text{发射}} = 500\text{至}550\text{和}590\text{至}690\text{nm}$ )(Chroma Technologies Corp., 佛蒙特州)以阻止从皮肤表面反射的激发光的高灵敏度CCD传感器检测WL和FI图像。所述装置包括配置以光谱分离组织和细菌FI的发射滤光片。所述装置配置以作为组合RGB图像显示光谱分离的组织和细菌FI而无图像处理或颜色-修正,因此允许用户观察创伤病理和身体位点的解剖学背景内的细菌分布。在没有外源造影剂的情况下,CCD图像传感器在整个紫外(<400nm)、可见光(400至700nm)和近红外(700至900nm)波长下对组织和细菌的FI敏感。

[0084] 在另一个示例性实施方式中,所述手持装置配置以采集白光图像和荧光图像两者,其结合了移动通信装置,如智能电话、移动式电话、iPod、iPhone或具有已有图像-捕获能力,如CCD传感器的其它这种装置。尽管本文就iPod touch或iPhone的使用进行描述,但是应理解可以使用其它平台(例如,Android等)。例如,如图6A所示,所述装置结合了iPhone 4S。图6A显示了移动成像装置原型。插图(a)显示了所述装置的前视图,显示了附属适配器的光学组件和电池架,所述适配器安装在标准iPhone 4S智能电话上。插图(b)显示了所述装置的后视图,显示了开启/关闭(on/off)开关和LCS观察屏,用户在该屏幕上查看WL和FI图像。白光成像允许用户捕获患者创伤病理的图像,荧光允许用户捕获突出显示图像上细菌存在的对应图像。显示屏可以是具有多点触控IPS技术的范围在约4-英寸(对角线)至约7-英

寸(对角线)的宽屏显示器。根据用户需要,可以使用其它尺寸的显示器。在一个实施例中,显示器的质量设置为1136×640-像素分辨率,每英寸326个像素;800:1的对比度;和500cd/m<sup>2</sup>的最大亮度。所述显示器可以具有防指纹疏油涂层。根据可用性、可用存储量等,照相机的分辨率可以为约5兆像素并且可以具有高于5兆像素的分辨率,如最高达约24兆像素。镜头设计的选择允许产生高质量的图像,具体地在红色和绿色光谱中。在一个示例性实施方式中,使用了五-元件镜头(five-element lens)(如iPod touch设计)。用户可以轻敲以聚焦视频和/或静像。照相机在黑暗中具有最佳性能。照相机具有LED闪光灯并且快门速度为高速。

[0085] 如图6A和图6B所示,所述手持装置的示例性实施方式整合了具有常规光学平台的消费品级移动式电话照相机。所述图像采集发生在移动式电话的照相机上,并且独立于所述装置的外壳、电子器件和光学器件运行。在电话的LCD触屏上显示图像,并存储在电话本身中。定制光学设计包括对分色镜以45°角布置的一个紫光405nm LED,所述分色镜固定在照相机传感器前方。分色镜反射紫光,同时透过所有更大的波长以产生与照相机传感器共轴的荧光激发照明。将微距镜头布置在照相机传感器前方以使得能够对创伤进行对焦近距离成像(<10cm)。将激发和发射滤光片的特定组合用于捕获分别指示细菌和结缔组织的红色和绿色荧光数据。紫光LED由标准9V电池驱动,其由用户通过外部电源开关起动。用热胶将散热器连接至LED印刷电路板背部以有效转移和耗散5W紫光LED所产生的热。

[0086] 根据该示例性实施方式,所述装置外壳可以通过3D打印制备。本文公开了其它类型的适合的结构,并且本领域那些技术人员基于本发明的教导将理解其变化。所述外壳提供了将光学部件与消费品级照相机对准并且包裹用于驱动LED和散热解决方案(thermal solution)的电器部件两者同时产生用户友好且轻便的手提设计的方式。所述适配器设计以滑入iPhone4s的顶部,并且围绕电话紧密配合以在成像期间保持固定就位。对于白光成像,所述适配器是从电话上可去除的。根据另一个示例性实施方式,所述适配器可以永久地连接至移动通信装置,如iPhone 4s。在该实施方式中,可以就图1和图2中所讨论的手持装置的实施方式所述的类似方式设置可移动的滤光片以在白光成像和荧光成像之间切换。

[0087] 为了使用所述装置进行荧光成像,用户使用所述装置背面上的扳钮开关开启紫光LED(图6A)。当开关移动到“开启”位置时,9V电池向LED驱动供电,其调节电流以驱动紫光LED。垂直于iPhone照相机传感器布置的紫光宽带LED在45°分色镜发射405nm的光。分色镜将几乎100%的405nm波长的光直接反射至目标。组织和细菌吸收来自紫光LED的405nm的光子,然后所述细菌和组织发射更长波长的光子以产生荧光。将特定发射滤光片置于iPhone照相机传感器前方以控制能够到达照相机传感器的光子的波长并有效阻止激发光。iPhone照相机传感器捕获发射光子的RGB图像,其中细菌显示为红色(例如,金黄色葡萄球菌(*S.aureus*))或极浅蓝绿色(例如,绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aruginosa*)),并且通过绿色荧光信号捕获来自皮肤或创伤的健康结缔组织。然后,用户使用存储在移动通信装置,如iPhone上的荧光图像(或视频)来确定细菌是否位于创伤内或周围。

[0088] 在一个示例性实施方式中,使用本文所述的手持装置的研究追踪随时间患者的创伤。在本研究中,每次访问时,采集每个创伤的高分辨率WL PRODIGI图像。在WL和FL成像期间,将一次性长度标定量尺(标签)置于创伤附近以追踪患者ID和日期。临床医师在印刷的WL图像上标记怀疑有临床显著细菌负荷的位置。为了保持组织上细菌的特征,直至后续FL

成像完成后再采取拭子。该过程对每个创伤花费1-2min,后续FL成像对每个创伤花费1-2min。在印刷的图像上标记阳性红色和/或绿色AF的位置。临床医师使用Levine取样法对每个怀疑的标记区域采集拭子,并将拭子送去进行微生物盲测。根据标准规程治疗患者和令患者出院。在一些情况下,使用FL光谱来鉴定创伤中/周围的AF区域。基于位置,将光谱与微生物学结果相比较。根据优良临床规范指南,将每次患者访问的完整数据文件(CSS、WL和FL图像、光谱学和微生物学)存储在电子数据库中。

[0089] 在本研究的第二部分中,使用了三个顺序的2个月组:无指导治疗(对照)、FL指导治疗和无指导治疗(对照)。在第一个2个月阶段,每周通过CSS评价创伤,然后由临床团队使用最佳实践方法(超声波和/或手术刀创伤清创术、局部/全身抗生素、盐水清洗、干燥或抗微生物敷料或碘)治疗。如上所述,在治疗前后对每个创伤采集相应的WL和FL图像。根据对于腿部静脉溃疡所建立的临床数据选择了2个月的计算期,其显示这足以检测作为愈合的预示指示物的创伤区域中可靠且有意义的改变。根据FL指导收集创伤拭子。在该第一(对照)阶段期间,临床医师对FL图像不知情。在后续2个月阶段期间,正常进行创伤评价,但是在治疗期间向临床医师显示FL图像。

[0090] 在最后2个月阶段期间,进行WL和FL成像并收集拭子,但是临床医师在治疗进行期间对FL结果不知情。重要地,尽管临床医师理解并且可以记住红色和绿色荧光信号分别的含义和特征,但是在对照期内进行的治疗期间使他们不知情是可能的,这是因为对于每个创伤检查和每位患者的荧光结果是不同的。因此,在创伤治疗期间没有实时荧光指导的情况下,先前对荧光特征的认识不会显著影响对照期间的治疗决策。在每次治疗后,还采集了WL和FL图像以分析创伤区域。

[0091] 四位不知情的、受过训练的临床和/或研究人员使用数字追踪(MATLAB v.7.9.0, The MathWorks, Massachusetts, USA)独立测量WL图像上的平均创伤尺寸。观察人员在不同的阶段测量创伤,每个阶段之间最少7天以最大程度减少记忆影响。在成像期间,在创伤附近放置粘合性比例尺以提供+0.5mm内的精确长度标定。WL成像期间,保持室内灯光打开,但是在FL成像期间关闭。用保持/布置距创伤10-15cm处的所述手持装置收集WL和FL图像。保持访问之间所有成像参数(距离、曝光时间、ISO设置、白平衡等)恒定。对于距创伤(小直径创伤)小于5cm的距离,使用照相机的内置微距模式。自动对焦允许快速(~1s)图像采集。实时捕获图像(或视频)并存储在照相机的存储卡上。使用内置“扳钮开关”,WL和FL模式之间的切换基本是瞬时的。每次使用之间,用70%的乙醇对装置消毒。

[0092] 将WL和AF图像传输到笔记本计算机上。每次临床访问时,从每个创伤单独的1024×1024像素FL图像上鉴别感兴趣区(ROI)。将RGB图像分为单独的通道。RGB图像的绿色和红色通道代表体内检测的真实组织和细菌AF信号。为了根据单个FL图像定量细菌水平,使用以下图像处理过程。简要地,将来自每个RGB图像的单个绿色和红色图像通道转化为灰阶(不使用蓝色通道)并且对灰阶强度大于给定柱状图阈值(选择以降低原始图像的背景噪声)的像素计数。通过在色域100-255灰阶中找到局部最大值产生红色FL细菌的红色掩膜。然后,使用反向绿色掩膜以去除绿色FL。将所有具有红色FL(高于柱状图阈值)的像素二进制化并计算所有“1”像素的和。对每个图像的绿色通道重复该过程。这些数据提供了对每个图像中红色(或绿色)细菌的量的估计。使用粘合性长度标定标签,将FL像素的数目转化为更有用的像素面积测量(cm<sup>2</sup>),借此作为面积测量提供荧光细菌的总量。

[0093] 皮肤中内源胶原蛋白或弹性蛋白所产生的组织AF表现为绿色FL,并且临床相关菌落(例如,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))表现为红色FL(由内源卟啉引起)。一些细菌(例如,绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))由于铁载体/脓素而产生青绿色信号,使用图像分析软件将其通过光谱和组织与真皮AF相区分。通过安装有双频段FL滤光片( $\lambda_{emiss}$ =500至550和590至690nm)(Chroma Technologies Corp., VT, USA)的高灵敏度CCD传感器在小于1秒内收集WL和FL图像。CCD图像传感器在~300-800nm的宽波长范围内敏感。PRODIGI容易地整合到常规临床工作流程中。通过在单个合成图像中将组织FL与细菌FL混合,临床医师立即看出创伤和身体位点的解剖学环境内细菌负荷的分布和程度。通常,根据创伤数目和FL-指导的拭子采集的持续时间,FL成像对创伤评价程序增加了约1-3分钟/位患者。

[0094] AF成像在85%的常规方法错过的创伤外周部中检测出临床显著的细菌负荷。因此,用于仅通过拭子采集创面床的Levine法可能是不够的,其可能导致不适当当地停止抗菌剂治疗。然而,将标准取样实践改变为包括所有创伤的创伤外周部的拭子采集将是不实际且昂贵的。AF成像可以帮助临床医师决定创伤边缘是否和哪里需要取样。手持成像装置还鉴别出接近于创伤的位置周围中临床显著的生物负载,所述位置表示可能的再感染位点,在此传统方法不检验或拭子采集。

[0095] 鉴别和定量创伤细菌负载是感染和愈合的重要决定因素。有关细菌负荷的可视化和定量追踪的数据导致鉴别了用于图像-指导的清创术以及抗生素和抗菌剂的局部施用的新型简单方法,其最大程度降低了对创伤边界不必要的创伤并且最大程度提高了清创术降低细菌负载的作用。每个创伤都有感染的可能,但是通过最佳实践方法将真正的感染与严重定殖相区分仍存在问题并且是武断的,并且可以导致过度治疗或治疗不足。

[0096] 多个变量,包括宿主反应、局部和全身因素、灌注不良、免疫抑制、糖尿病和药物治疗影响感染风险。严重定殖创伤可以难以确诊,这是因为它们不总是显示典型的感染病征或明显升高的生物负载水平。的确,区分严重定殖创伤与感染创伤的临床相关性仍存在争论。在感染发生之前,使用AF成像在无症状患者中鉴别高细菌负荷可以通过促使侵袭性治疗来帮助防止感染。如果怀疑细菌感染,则可以根据所建立的临床原则并通过高细菌负载的AF鉴别以及革兰氏阴性铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)和革兰氏阳性金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)之间的区分来指导抗生素选择。

[0097] 在另一个示例性实施方式中,可以在手持装置上进行图像分析或者可以将WL和FL图像传输至笔记本计算机以用于图像处理。可以使用手持装置的处理器进行图像分析和图像数据处理,并且可以在手持装置的显示器上显示这些分析的结果。

[0098] 可以使用以下两个程序进行图像处理(例如,使用Super HAD<sup>TM</sup>电荷耦合器件(CCD)传感器-基照相机(DSC-T900型)通过示例性装置收集的数据的分析),并且图7A和图7B显示了这些方法的部分:使用自定义编写程序的MATLAB软件(7.9.0版,The MathWorks, Massachusetts)和ImageJ软件(1.45n版)。在MATLAB程序中,从每个创伤的单独的1024×1024像素FL图像鉴别感兴趣区(ROI)。将RGB图像分为单独的通道。通过CCD传感器检测的分别来自组织成分和细菌的绿色(500至550nm发射)和红色AF(>590nm)与Sony CCD图像传感器上的红和绿滤光片自然地光谱对准。因此,手持装置LCD屏幕上显示的RGB图像的绿色和红色通道代表体内检测的真实组织和细菌AF信号。为了根据单个FL图像定量细菌水平,可

以使用以下图像处理过程。简要地,将来自每个RGB图像的单个绿色和红色图像通道转化为灰阶(不使用蓝色通道)并且对灰阶强度大于给定柱状图阈值(选择以降低原始图像的背景噪声)的像素计数。在某些实施方式中,例如,当成像组织血管/灌注时,当对组织/血液吸收的405nm的激发光的量成像时,有可能将使用蓝色通道。

[0099] 通过在色域100-255灰阶中找到局部最大值产生红色FL细菌的红色掩膜。然后,使用反向绿色掩膜以去除绿色FL。将所有具有红色FL(高于柱状图阈值)的像素二进制化并计算所有“1”像素的和。对每个图像的绿色通道重复该过程。这些数据提供了对每个图像中红色细菌的量的估计。通过在像素图像上应用直尺,将FL像素的数目转化为更有用的像素面积测量( $\text{cm}^2$ ),借此作为面积测量( $\text{cm}^2$ )提供荧光细菌的总量。类似地,可以通过将WL图像上圆形创伤区域的像素面积转化为 $\text{cm}^2$ 来追踪和测量创伤的尺寸。基于FL区,FL图像的分辨率足以定位细菌。使用位于图像菜单和照相机颜色子菜单内的内置批处理功能“分流通道(Split Channels)”,ImageJ软件可以用于将FL图像分为红色、绿色和蓝色通道。每个所得通道以灰阶显示和保存。对于进一步分析,可以在每个相应的红色、绿色和蓝色通道图像中鉴别ROI。在内置分析菜单中,“设置测量(Set Measurement)”功能可以用于为每个彩色通道图像选择和测量以下测量参数:像素面积,最小和最大灰阶强度值以及平均灰阶强度值。可以将平均红色通道强度确定为每个红色通道图像中每个正方形像素的(细菌)FL强度,然后将其用于数据分析和比较。

[0100] 在一个示例性实施方式中,将小鼠皮肤创伤模型用于将创伤状态与细菌感染进展( $n=5$ ;8至12周;NCRNU-F)相关联。相关性基于使用如上所述的示例性手持装置获得的数据,所述手持装置引入了Super HAD<sup>TM</sup>电荷耦合器件(CCD)传感器-基照相机(DSC-T900型)。当它们随时间变为感染时,每天采集创伤的WL和FL图像。当红色FL强度达到峰值时,将抗菌剂治疗(每天三次局部莫匹罗星,总计1天)应用于创伤位点。使用手持装置监测治疗随时间的抗微生物影响以采集治疗后创伤每天的WL和FL图像。总计监测创伤10天(参见图8),然后将小鼠处死。使用如上所述的MATLAB程序定量来自FL图像的细菌量和来自WL图像的创伤尺寸,并随时间进行比较以确定创伤愈合状态。

[0101] 图8显示了用于追踪10天的单个小鼠的代表性WL和FL图像。插图(a)提供了使用原型装置采集的图像,并且其显示了脊柱两侧两个尺寸相等的创伤。右侧创伤接种处于PBS中的金黄色葡萄球菌(*S. aureus*),左侧创伤仅接种PBS(对照)。顶端行显示WL图像,中间行显示FL图像,底端行显示MATLAB定量的图像,其对应于细菌面积和强度。FL成像数据显示与对照创伤相比,接种金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)的创伤中细菌FL强度显著增加,在第6天达到峰值。在第8天,莫匹罗星(第7天,红色箭头)将细菌FL显著降低至几乎为0,显示了治疗效果。在第9和10天,细菌再次升高。插图(b)提供了显示插图(a)中获得的FL图像的细菌负荷的定量变化的图。

[0102] 根据另一个示例性实施方式,BLI可以用于测量体内细菌的绝对量,这是因为它对于确定细菌负荷是最敏感和可靠的筛选工具之一。BLI收集了荧光素酶和萤光素的酶促反应所发出的光,并因此不需要激发光。随时间追踪接种的金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)细菌使用手持装置(没有任何外源FL造影剂施用)的FL成像和BLI图像,并比较FL和BLI强度(参见图9)( $n=7$ )。细菌BLI信号对通过手持装置的消费品级CCD照相机所检测的FL信号无帮助。在病原体接种前一天,来自亲代株金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)8325-4(Caliper)的革兰

氏阳性生物发光金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) -Xen8.1生长至指数生长中期。具有BLI盒的细菌产生荧光素酶及其底物(萤光素),借此当代谢活性时,发射440至490nm的生物发光信号(图9)。将细菌(1010CFU)悬浮在0.5mL PBS中并注入雌性无胸腺裸鼠(n=7;8至12周;NCRNU-F纯合)的创伤中。为了检测金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 的生物发光,在接种前、接种后立即和接种后1、2、3、4、5、6和7天,使用10s曝光时间在Xenogen IVIS光谱成像系统100(Caliper, Massachusetts)的暗室中采集创伤的BLI图像。使用Living Image In Vivo Imaging软件(Caliper, Massachusetts)捕获BLI图像。对于创伤,数字圈定ROI,并且在ROI内,对每个成像的时间点测量总发光强度计数。对根据BLI信号测量的细菌绝对量测试与使用手持装置(如上所述)随时间采集的相同创伤的FL图像上相应的FL信号的相关性。

[0103] 图9提供了临床前数据,其显示致病性细菌自身荧光(AF)强度与体内细菌负荷相关。插图(a)显示了接种生物发光金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) -Xen8.1(1010CFU,30uL PBS中)之前和之后小鼠中皮肤创伤的时间过程原型装置运动图像。在创伤小鼠中,对于至接种后7天的每个时间点显示了代表性WL(顶端行)、AF(中间行)和生物发光(底端行)图像。BLI成像提供了体内绝对细菌量。红色箭头显示当更换tegaderm绷带时,导致从表面移除一些细菌。插图(b)显示了作为时间函数显示的来自金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) -Xen8.1的平均红色FL(n=7只裸鼠),表明金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) FL每天增加(使用ImageJ软件由RGB图像的红色通道计算)。在第2和7天,根据动物规程更换tegaderm绷带。在接种后4天,平均细菌FL达到峰值。插图(c)显示了相应的时间过程生物发光数据(由ROI计算),其显示了类似的升高并且在创伤中总细菌负荷在第4天达到峰值。数据显示了创伤中总细菌AF和体内细菌负荷之间强烈的正相关(皮尔逊相关系数r=0.6889)。显示了标准偏差。基准尺:(a) WL 1.5cm和AF、BLI 1cm。

#### [0104] 细菌学样品的成像

[0105] 所述成像装置对于临床微生物学实验室中的成像和/或监测可以是有用的。所述装置对于菌落的定量成像和常规微生物学测定中的菌落生长的定量可以是有用的。菌落的荧光成像可以用于确定生长动力学。软件可以用于提供菌落的自动计数。

[0106] 为了证实所述装置在细菌学/培养实验室中的应用,将活细菌培养物在绵羊血琼脂板上生长。细菌菌种包括酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)(美国模式培养物保藏所,ATCC)。将它们在37°C,标准培育条件下生长和维持,并且当处于“指数生长期”时,将它们用于实验。一旦在平板上检测到菌落(接种后-24h),将所述装置在暗室内用于对含有单个细菌菌种的琼脂板成像。使用紫外/蓝光(约405nm)激发光,将所述装置用于对每个琼脂板的混合的绿色和红色自身荧光(约490-550nm和约610-640nm发射)以及仅红色自身荧光(约635+/-10nm,荧光内源卟啉的峰值发射波长)两者成像。随时间采集每个细菌菌种的荧光图像以用于比较和监测菌落生长。

[0107] 现参考图10。插图a)显示了所述装置,其用于对绵羊血琼脂板上生长的活细菌培养物成像以检测细菌的自身荧光。插图b)显示了绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)发射的自身荧光图像。所述装置还可以使用荧光用于检测、定量和/或监测菌落随时间的增长,如插图c)中通过接种后24小时在琼脂板上自身荧光金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus*

*aureus*) 生长的荧光成像所示。注意:下图中存在明显的单菌落。使用紫外/蓝光(例如,405nm)激发光,所述装置用于检测来自一些活细菌菌种的混合的绿色和红色(约490-550nm+610-640nm发射)以及仅红色(例如,约635+/-10nm,荧光内源卟啉的峰值发射波长)发射自身荧光两者,所述菌种包括如插图d)所示的酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*) ;插图e)所示的粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*) ;插图f)所示的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ;插图g)所示的表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) ;插图h)所示的大肠杆菌(*Escherichia coli*) ;和插图i)所示的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)。注意:通过所述装置获得的菌落自身荧光图像可以提供有用的图像对比度以用于细菌定殖和生长动力学的简单纵向定量测量,以及提供可能监测对使用(例如)抗生素、光动力学治疗(PDT)、低水平光疗法、高压氧疗法(HOT)或先进创伤病理产品的治疗性干预的反应的方式。

[0108] 照相机检测器的高空间分辨率与使用所述装置的明显的细菌自身荧光信噪比成像的结合允许检测非常小(例如,直径1<mm)的菌落。所述装置提供了对生长在标准琼脂板上的单个菌落成像的便携且灵敏的方式。这提供了定量和监测菌落生长动力学的方式,如插图c)中所示,以及使用荧光可能监测对使用(例如)抗生素或光动力学治疗(PDT)的治疗性干预随时间的反应的方式。因此,所述装置可以在微生物学实验室中作为有用的工具使用。

[0109] 图11显示了插图a)中的成像装置在标准细菌学实验室实践中使用的实施例。在本发明的插图b)中,含有金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的培养皿的荧光成像结合常规专利图像分析软件允许对菌落快速计数,并且本发明中的培养皿的荧光图像显示了37°C下在琼脂上生长的-182 (+/- 3)个菌落(亮蓝绿色斑点)(约405nm激发,约500-550nm发射(绿色),约>600nm发射(红色))。

[0110] 除提供细菌菌种检测外,所述装置可以用于区分(例如)创伤和周围组织中不同细菌菌种的存在和/或位置(例如,金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)或绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeguginosa*))。这可以基于不同细菌菌种不同的自身荧光发射特征,其包括当通过紫外/蓝光,如405nm左右的光激发时,490-550nm和610-640nm发射波段内的那些。波长的其它组合可以用于在图像上区分其它菌种。该信息可以用于选择适当的治疗,如抗生素的选择。

[0111] 细菌学样品的这种成像可以应用于创伤病理的监测。

[0112] 创伤愈合监测中的使用

[0113] 所述装置可以在任何创伤(例如,身体表面上的创伤)上方扫描从而激发光可以照射创伤区域。然后,可以使用所述装置检查创伤,从而操作人员可以实时观察创伤,例如,通过所述成像装置上的指示器或通过外部显示装置(例如,平视显示器、电视显示器、计算机显示器、LCD投影仪或头戴式显示器)。将得自所述装置的图像实时传输(例如,通过无线通信)至远程观察位点,例如,出于远程医疗的目的,或者将图像直接输送至打印机或计算机存储器存储也可能是可能的。可以在具有创伤的患者的常规临床评价内进行成像。

[0114] 在成像前,可以将受托标志物(fiduciary marker)(例如,使用不能拭除的荧光墨水笔)置于创伤边缘或周边附近皮肤的表面上。例如,可以将四个斑点置于正常皮肤表面上的创伤边缘或边界附近,所述四个斑点中的每一个具有来自单独的不能拭除的荧光墨水笔

的不同荧光墨水颜色,其可以作为套件提供给临床操作人员。可以使用激发光和与四个墨水斑点的发射波长匹配的多光谱带通滤光片通过所述装置对这些颜色成像。然后,可以通过同时记录用于图像内对齐的受托标志物来进行图像分析。因此,用户可以不必需在不同成像阶段对准成像装置。该技术可以有利于创伤的纵向(即随时间)成像,并因此临床操作人员可能能够随时间对创伤成像而无需在每次图像采集期间对准所述成像装置。

[0115] 另外,为了帮助荧光图像的强度校准,可以在创伤成像期间将一次性简单荧光标准“条带”置于视场中(例如,通过使用将所述条带暂时粘在皮肤上的温和粘合剂)。所述条带可以浸渍具有不同浓度的一种或一些不同的荧光染料,当通过激发光源照射时,其可以产生预定且校准的荧光强度,并且其可以具有用于图像强度校准的单一(例如,405nm)或多个荧光发射波长或波段。所述一次性条带还可以具有如上所述来自不同的不能拭除的荧光墨水笔的四个斑点(例如,每个具有不同的直径或尺寸,并且每个具有不同的荧光墨水颜色且在与之紧邻处布置独特的黑色斑点)。通过在正常皮肤表面上的创伤边缘或边界附近布置条带,所述装置可以用于采集白光和荧光图像。所述条带可以提供随时间采集给定创伤的多个图像,然后使用图像分析对齐所述图像的适当方法。另外,所述荧光“强度校准”条带还可以含有附加的直线测量装置,如固定长度的直尺以帮助创伤的空间距离测量。这种条带可以是校准目标的实施例,其可以与所述装置一起使用以帮助校准或测量图像参数(例如,创伤尺寸、荧光强度等),并且可以使用其它类似的校准目标。

[0116] 可以期望提高成像结果的一致性并重现所述装置和创伤表面之间的距离,这是因为如果在多个成像阶段期间所述距离改变,则组织荧光强度可能轻微改变。因此,在一个实施方式中,所述装置可以具有两个光源,如低功率激光束,其可以用于将照射到皮肤表面上的光束分成三角形以确定所述装置和创伤表面之间固定或可变的距离。这可以通过使用激光源之间简单的几何排列完成,并且可以允许临床操作人员容易地对皮肤表面上的激光靶向斑点显象并在多个成像阶段期间调节所述装置距创伤的距离。维持恒定距离的其它方法可以包括超声的使用或物理测量的使用,如直尺或测距仪机构。

#### [0117] 白光成像中的使用

[0118] 通过使用放置在成像视场内的测量装置(例如,直尺),所述装置可以用于采集总创伤以及正常周围正常组织的白光图像。这可以允许目视评价创伤和计算/确定定量参数,如创伤面积、周长、直径和形貌轮廓。可以通过在直至创伤愈合的多个时间点(例如,临床访问时)对创伤区域进行面积测量来评价创伤愈合。可以将创伤愈合时间过程与通过使用方程 $R = \sqrt{A}/\pi$ (R,半径;A平面创伤面积;π,常数3.14)的多个时间点的创伤半径减小测量计算的预期愈合时间相比较。有关创伤的该定量信息可以用于追踪和监测创伤外形随时间的变化,以评价和确定由自然方式或通过任何治疗性干预所造成的创伤愈合程度。该数据可以以电子形式存储在患者的健康记录中备查。可以由操作人员在患者的初始临床评价期间进行白光成像。

#### [0119] 自身荧光成像中的使用

[0120] 所述装置可以设计以检测所有或大多数组织的自身荧光(AF)。例如,使用多光谱带通滤光片,所述装置可以对以下组织生物分子所发出的组织自身荧光以及血液相关光学吸收成像,例如在405nm激发下,显示绿色的胶原蛋白(I、II、III、IV、V等)、显示浅绿色-黄色-橙色的弹性蛋白、发射蓝绿色自身荧光信号的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)、黄

素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和大部分显示具有宽(例如,绿色和红色)自身荧光发射的细菌/微生物。

[0121] 图像分析可以包括计算图像中红-绿AF的比值。强度计算可以得自创伤图像内的感兴趣区。可以将伪彩色图像绘制在创伤的白光图像上。

[0122] 创伤愈合中的实施例

[0123] 现参考图12。在被细菌污染的创伤模型中测试所述装置。对此,从肉铺购买带皮猪肉。为了模拟创伤,使用手术刀制备切口,其在皮肤中的尺寸范围在1.5cm<sup>2</sup>至4cm<sup>2</sup>,并且足够深以看到肌肉层。将所述装置用于对模拟创伤中无细菌(外源)加入的一些肉类样品成像。对此,将肉类样品在室温下保持24h以使肉上细菌生长,然后通过所述装置使用白光反射和自身荧光两者进行成像以用于比较。

[0124] 为了测试所述装置检测典型创伤中存在的结缔组织和一些常见细菌的能力,通过将6个细菌菌种:酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)应用至皮肤表面上6个1.5cm<sup>2</sup>的小创伤切口位点中的每一个制备了具有模拟创伤的猪肉样品。在肉品皮肤上制造另外的小切口,其中不加入细菌以用作对照。然而,预期来自其它6个切口位点的细菌最后可能将污染该位点。在3天内,以24小时的时间间隔(在此期间将肉品保持在37°C),使用白光反射和紫外/蓝光-引起的组织自身荧光发射,在左侧使用双发射带通(450-505nm和590-650nm)发射滤光片和单带通(635+/-10nm)发射滤光片两者并且使用单带通滤光片,将所述装置用于对接种细菌的肉品成像。还在发泡苯乙稀容器上进行成像,在所述3天期间,将肉品保存在所述容器上。

[0125] 图12显示了模拟动物创伤模型中用于细菌无创自身荧光检测的装置的结果。在标准白光成像下,细菌隐藏在创伤位点内,如插图a)中所示和如插图b)中所放大的。然而,在紫外/蓝光激发光下,基于来自细菌卟啉的红色荧光相对于来自结缔组织(例如,胶原蛋白和弹性蛋白)的亮绿色荧光背景的显著升高,所述装置能够允许鉴别所述创伤位点内细菌的存在,如插图c)所示和如插图d)所放大的。插图b)和插图d)的比较显示来自细菌卟啉的红色荧光相对于来自结缔组织(例如,胶原蛋白和弹性蛋白)的亮绿色荧光背景显著升高。注意:通过自身荧光,基于菌落的绿色荧光发射,从而导致单个菌落在皮肤上作为间断绿色斑点出现,还在皮肤上检测出菌落。在白光检查下观察不到这些。结缔组织的荧光成像帮助确定创伤边缘,如插图e)和插图f)中所示,并且与其它区域相比,一些皮肤区域(在c中标记为“\*”)出现更多红色荧光,这可能表示卟啉-产生细菌的皮下感染。插图e)和插图f)还显示了检测在白光成像下不可见的手术创伤内的红色荧光细菌的装置。

[0126] 所示装置绘制了在创伤位点内和周围皮肤上的细菌生物分布,并因此可以帮助靶向需要用于微生物学测试的拭子或活组织检查的具体组织区域。此外,使用所述成像装置可以允许监测细菌感染的组织对多种医学治疗的反应,包括抗生素及其它疗法的使用,如抗生素、创伤清创术、创伤清洗、光动力学治疗(PDT)、高压氧疗法(HOT)、低水平光疗法或抗基质金属蛋白酶(MMP)。所述装置可以用于使创伤以及周围正常组织表面和组织深度内的细菌生物分布可视化。因此,所述装置可以用于表明感染的空间分布。

[0127] 实施例

[0128] 现参考图13。举例来说,所述成像装置可以在临幊上用于确定慢性创伤的愈合状态以及创伤清创术的成功。例如,图中显示了糖尿病病人中典型的足部溃疡,其具有(i)未愈合边缘(即愈合组织),其含有具有指示愈合受损的分子标志物的溃疡性细胞,和(ii)表型正常但在生理学上受损的细胞,可以刺激所述细胞以愈合。不管清创术之后创伤的外形,它可能未愈合并且可能需要评价抑制和/或角化过度型组织的特异性分子标志物的存在(例如,c-myc和β-联蛋白)。使用所述成像装置结合针对这些分子靶标的外源荧光标记分子探针,临幊医师可能能够确定分子生物标志物的原位表达。通过所述装置,一旦清除创伤,则创伤区域的荧光成像和图像分析可以允许用于后续免疫组织化学的活组织检查靶向,并且这可以确定清创术的程度是否足够。如果清创术的程度不够,如左下图所示,则基于它们的荧光可以观察到对c-myc(显示为绿色)和核β-联蛋白(显示为紫色)呈阳性的细胞,这表明存在溃疡性细胞,它们可以防止创伤正常愈合并且表明额外的清创术是必需的。还可以通过较厚的表皮、较厚的角质化层以及角质化层中核的存在来区别愈合的缺少。如果清创术成功,如右下图所示,则可能观察不到对c-myc或β-联蛋白的染色,表明不存在溃疡性细胞和清创术成功。这些抑制标志物可以是有用的,但是目标是如通过新上皮细胞的出现、创伤区域的减少和无渗液所定义的真实愈合。可以使用荧光成像装置收集该信息并以电子形式存储在患者医疗记录中,其可以提供客观分析以及病理和微生物学报告。通过将预期愈合时间与使用所述成像装置的真实愈合(即愈合进展)时间相比较,可以基于每位患者实施适应性治疗策略。

[0129] 图14显示了所述装置用于压疮创伤愈合成像的使用的实施例。插图a)显示了使用所述装置采集的具有压疮的糖尿病患者的右脚的白光图像。插图b),相应的荧光图像显示了细菌的亮红色荧光(细菌学结果确认存在生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)),这在标准白光检查下是看不见的(黄色箭头)。注意:未愈合创伤外周部周围的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)生长旺盛(黄色长箭头)。插图c-d)显示了插图b)中的原始荧光图像的光谱分离(未混合)的红-绿-蓝图像,其用于产生使用数学算法计算并以具有色标的伪彩色显示的绿色(例如,胶原蛋白)和红色(例如,细菌)荧光强度的光谱编码图像谱图。插图-g)显示通过计算红/绿荧光强度比,所使用的图像-处理方法的实施例提高了内源细菌自身荧光信号的对比度,从而显示出开放性创伤内和周围的细菌(红色-橙色)的存在和生物分布。这些数据说明了使用常规或可商购的图像分析软件数学分析所述装置获得的荧光图像并以对于临幊使用有意义的方式显示它们的能力,并且这可以实时进行。(比例尺1cm)。

[0130] 图15显示了所述装置用于慢性未愈合创伤成像的使用的实施例。插图a)使用所述装置采集的具有坏疽性脓皮病的女性患者左侧胸部的白光图像,其显示了慢性未愈合创伤(蓝色箭头)和愈合创伤(红色箭头)。通常,通过常规临幊创伤检查中使用的标准白光显像不能使细菌显象。插图b)显示了相同创伤的相应荧光图像(在本实施例中,使用405nm激发,500-550nm发射(绿色),>600nm发射(红色))。注意:未愈合创伤在荧光下显示为深色(主要由于激发和荧光发射光的血液吸收),而在愈合创伤(红色箭头)中细菌显示为间断亮红色斑点。在荧光下,正常周围组织由于内源胶原蛋白荧光(405nm激发)而显示出蓝绿色。通过对比,未愈合创伤(蓝色箭头)在创伤边界周围出现非常亮的红色荧光带,通过拭子培养(细菌学)确认包含生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (以及通过显微镜确

认的少数革兰氏阳性芽孢杆菌和稀少的革兰氏阳性球菌)。插图c) 插图a、b) 中愈合创伤的白光图像, 和d) 相应的荧光图像, 其显示了来自细菌(粉红色箭头)的亮红色荧光, 这在白光下是看不见的。插图e) 未愈合胸部创伤的白光和插图f) 相应荧光图像。注意: 细菌(金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))似乎主要定位在创伤边缘/边界周围(黄色箭头), 尽管少数细菌位于创伤内(X), 如通过使用荧光成像直接显示, 但在白光下看不见的细菌生物分布所确定的(黑色箭头,e)。(比例尺以cm为单位)。

[0131] 图16还显示了使用所述成像装置的实施例的慢性未愈合创伤的成像。插图使用所述装置采集的具有坏疽性脓皮病的女性患者左侧胸部的白光图像, 其显示了慢性未愈合创伤(蓝色箭头)和愈合创伤(蓝色箭头)。通过临床创伤检查中使用的标准白光显像不能使细菌显象。插图相同创伤的相应荧光图像(405nm激发, 500-550nm发射(绿色), >600nm发射(红色))。尽管在白光下乳头似乎正常, 无明显的细菌污染, 但是荧光成像显示存在乳头管发出的细菌。乳头拭子显示细菌为表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*) (在培养基上偶见生长)。(比例尺以cm为单位)。

[0132] 图17显示使用所述成像装置成像的慢性未愈合创伤的中心区域和边界, 使用所述装置采集的具有坏疽性脓皮病的女性患者左侧胸部的白光图像, 其显示了慢性未愈合创伤的中心区域和边界。未愈合胸部创伤的插图白光和插图相应荧光图像(405nm激发, 500-550nm发射(绿色), >600nm发射(红色))。注意: 细菌(金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*); 通过细菌拭子显示)似乎主要定位在创伤边缘/边界周围, 尽管少数细菌位于创伤内(X), 如通过使用荧光成像直接显示, 但在白光下看不见的细菌生物分布所确定的。(比例尺以cm为单位)。

[0133] 图18显示了使用所述成像装置的慢性未愈合创伤的其它图像。插图a) 使用所述装置采集的具有坏疽性脓皮病的女性患者左侧胸部的白光图像, 其显示了慢性未愈合创伤。通过临床创伤检查中使用的标准白光显像不能使细菌显象。插图b) 相同创伤的相应荧光图像(405nm激发, 500-550nm发射(绿色), >600nm发射(红色))。荧光成像显示创伤边缘/边界周围细菌的存在, 插图(b) 清洗前, 插图(c) 清洗后。在本实施例中, 清洗包括使用标准纱布和磷酸盐缓冲盐水(内外)擦拭创伤表面5分钟。清洗后, 细菌的红色荧光略微减少, 表明一些红色荧光细菌可能存在于创伤边缘围绕组织表面下方。清洗后, 少量细菌(红色荧光)仍保持在创伤中心内。这表明所述成像装置实时监测创伤清洗作用的使用。作为另外的实例, 插图d) 显示了相同患者左侧小腿中慢性未愈合创伤的白光图像。插图e) 显示了相应荧光图像, 插图(e) 清洗前和插图(f) 清洗后。创伤中心区域的拭子显示偶见生长的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 以及边缘处生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (黄色箭头)。清洗导致创伤表面上荧光细菌(金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*))的减少, 如使用所述手持光学成像装置所确定的。所述成像装置的使用导致能够实时检测白光下不可见的细菌, 并且这使得患者治疗方式的改变, 从而根据荧光成像, 由于细菌的重新检测, 对创伤和周围(细菌污染)再次彻底清洗或者第一次清洗。另外, 注意一次性粘合性测量-校准“条带”用于帮助成像-聚焦的使用, 并且该“条带”可以粘在身体表面(例如, 创伤附近)的任何部分以允许创伤的空间测量。所述校准条带还可以是明显发荧光的并且可以用于为图像添加具体的患者信息, 包括出于“条型码”目的的多种外源荧光染料的使用-它们的信息可以直接整合在创伤的荧光图像中。(比例尺以cm为单位)。

[0134] 图19显示所述成像装置用于监测创伤随时间愈合的使用。所述成像装置用于追踪具有坏疽性脓皮病的女性患者左侧胸部的慢性未愈合创伤的愈合状态和细菌生物分布(例如,污染)的改变。显示了6周内,在白光和荧光模式下使用所述成像装置采集(405nm激发,500-550nm发射(绿色),>600nm发射(红色))的愈合创伤的白光图像(参见显示插图a-m的列)和相应荧光图像(参见显示插图b-n的列)以及慢性未愈合创伤的白光图像和相应荧光图像(参见显示插图c-o的列)。在插图b-n)列中,检测到亮红色荧光小菌落的存在(黄色箭头),并且它们在愈合创伤内的定位随时间改变。细菌拭子确认通过显微镜未检测到细菌,并且培养中未观察到细菌生长。在插图c-o)列,通过对比,未愈合创伤在创伤边界周围出现非常亮的红色荧光带,通过拭子培养(细菌学)确认包含生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (以及通过显微镜确认的少数革兰氏阳性芽孢杆菌和稀少的革兰氏阳性球菌),其生物分布随时间改变(即参见插图c-o列)。这些数据显示所述成像装置可以获得实时生物和分子信息,并且可以用于监测创伤中随时间的形态学和分子变化。

[0135] 图20显示了所述装置用于监测随时间的创伤状态的使用的另一个实施例。使用所述成像装置追踪具有坏疽性脓皮病的21岁女性患者左小腿创伤的愈合状态和细菌生物分布(例如,污染)的改变。显示了6周内使用高压氧疗法(HOT)治疗的创伤的白光图像(参见插图a-i列)和相应荧光图像(参见插图b-j列)。(荧光参数:405nm激发,500-550nm发射(绿色),>600nm发射(红色))。插图a-i)列白光图像显示了随创伤愈合其明显的宏观变化,如通过第1周(直径~2cm长)至第6周(长轴直径~0.75)尺寸随时间减少(例如,闭合)所示。在插图b-j)列中,可以随时间追踪创伤中和周围内源细菌荧光(自身荧光)的实时荧光成像,并与白光图像和创伤闭合测量相关联(插图a-i列)。插图b)显示了最近接创伤的边界处明显的绿色荧光条带(黄色箭头;显示是污染的生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)),并且该条带随创伤愈合而随时间改变。远离创伤处还观察到了红色荧光细菌(橙色箭头),并且它们的生物分布随时间改变(参见插图b-j列)。通过图像插图j)中的荧光,可以清楚看出创伤-创伤边缘-正常组织的边界。正常皮肤中的结缔组织(在本实施例中,胶原蛋白)显示为浅绿色荧光(插图j),并且在多种创伤治疗,包括(作为本文中的实例)慢性创伤的高压氧疗法期间,在创伤愈合期间可以随时间监测结缔组织重建。

[0136] 图21显示在临床常规创伤评价期间,所述成像装置用于靶向细菌拭子的使用。在荧光成像下,使用实时荧光图像指导,拭子可以指向或靶向细菌污染/感染的特定区域。通过减少常规拭子程序期间细菌的涂布,这可以降低污染未感染组织的可能,这在常规创伤拭子取样法中可能是有问题的。来自该样品的拭子结果确定为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (以及通过显微镜确认的少数革兰氏阳性芽孢杆菌和稀少的革兰氏阳性球菌)。

[0137] 图22显示了在具有糖尿病相关未愈合足部溃疡的患者中通过所述成像装置进行的a)白光和b)相应荧光图像的同时记录的实施例。使用具有交叉激光瞄准的非接触温度测定探针(a中插图),在正常皮肤(黄色“3和4”)以及足部溃疡内(黄色“1和2”) (铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)感染,如通过细菌学培养所确认的)进行直接温度测量,这表明在临床检查期间对创伤评价添加基于温度的信息的能力。感染创伤温度升高,如与正常皮肤表面30.75°C相比感染创伤中平均34.45°C所示,并且这些数据显示了对于创伤健康/感染评价的实时多模态(包括白光、荧光和热信息)测量的可能性。注意:该患者右脚上两个未

愈合创伤含有生长旺盛的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) (除革兰氏阳性球菌和革兰氏阴性芽孢杆菌外),其在本实施例中显示为创伤内的亮绿色荧光区域(插图b)。

[0138] 图23显示了所述成像装置用于监测压疮的使用的实施例。插图a) 显示了使用所述成像装置采集的具有压疮的白种人糖尿病患者右脚的白光图像。插图b), 相应的荧光图像显示了细菌的亮红色荧光(细菌学结果确认存在生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)), 这在标准白光检查下是看不见的(黄色箭头)。坏死皮肤显示为白色/浅绿色(白色箭头)。注意:未愈合开放创伤外周部周围的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)生长旺盛(黄色箭头)。插图c) 显示了局部施用银抗微生物敷料的荧光成像。所述成像装置可以用于检测来自先进创伤护理产品(例如,水凝胶、创伤敷料等)的内源荧光信号或者来自用具有发射波长在所述装置上的成像检测器的检测灵敏度内的荧光染料制备的这些产品的荧光信号。所述装置可以用于先进创伤护理治疗产品的图像-指导的递送/应用以及用于随后监测它们随时间的分布和清除。

[0139] 图24显示了所述装置用于监测压疮的使用的实施例。插图a) 使用所述装置采集的具有压疮的白种人糖尿病患者右脚的白光图像。插图b) 相应荧光图像显示了创伤边缘细菌(细菌学结果确认存在生长旺盛的金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA))的亮红色荧光区域以及亮绿色荧光细菌(细菌学结果确认存在生长旺盛的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)), 两者在标准白光检查下均是看不见的。插图c) 采集的创伤荧光光谱显示这两个细菌菌种之间独特的光谱差异:SA具有特征性红色(约630nm)自身荧光发射峰,而PA缺少红色荧光但是具有480nm左右强烈的绿色自身荧光峰。

[0140] 手持装置通过光谱区分来自体内结缔组织和血液的细菌。使用 $\lambda_{exc}=405\_20nm$ 和 $\lambda_{emiss}=500$ 至 $550nm$ , $590$ 至 $690nm$ ,所述装置检测金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa*)、念珠菌(*Candida*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)、绿色链球菌(*Viridans streptococci*) ( $\alpha$ -溶血性链球菌( $\alpha$ -hemolytic streptococci))、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*) ( $\beta$ -溶血性链球菌( $\beta$ -hemolytic streptococci))、白喉杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、肠杆菌(*Enterobacter*)、肠球菌(*Enterococcus*) 和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的AF信号,如通过微生物学拭子培养所验证的(数据来自我们研究组即将发表的论文中的人临床试验)。这代表了感染创伤中常见的主要病原细菌类型。临床微生物学测试确认金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)、表皮葡萄球菌(*S.epidermidis*)、念珠菌(*Candida*)、粘质沙雷氏菌(*S.marcescens*)、绿色链球菌(*Viridans streptococci*)、白喉杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、化脓性链球菌(*S.pyogenes*)、肠杆菌(*Enterobacter*) 和肠球菌(*Enterococcus*)产生通过所述手持装置检测的红色FL(来自卟啉),而铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa*)生产蓝绿色FL(来自脓素)。这些光谱特征与结缔组织(胶原蛋白、弹性蛋白)和血液差异显著,其分别显示绿色和暗红色。图24显示了这些光谱特征的代表性图像。

[0141] 图25显示了所述装置用于监测慢性未愈合创伤的使用的实施例。插图a) 显示了通过所述成像装置采集的患有II型糖尿病的44岁男性黑人患者中慢性未愈合创伤的白光图像。通过常规临床创伤检查中使用的标准白光显像(参见插图a-g列)不能使细菌显象。插图b-h)列:相同创伤的相应荧光图像(405nm激发,500-550nm发射(绿色),>600nm发射(红色))。该患者显示出多个开放性未愈合创伤。使用荧光图像-指导的从每个创伤区域采集的

拭子培养显示出生长旺盛的显示出亮绿色荧光的绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) (黄色箭头), 和显示出红色荧光的粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) (圆形)。(比例尺以cm为单位)。

[0142] 图26是显示“校准”目标的使用的实施例的示意图,其可以是非定制设计的,多用途的和/或一次性的,其用于在使用所述成像装置的成像成像期间使用。在本实施例中为粘性的条带可以含有一个或多个空间测量工具(例如,长度标尺)、用于整合具体患者医学信息的信息条型码和用于在成像期间实时荧光图像校准的荧光染料的浸渍浓度梯度的组合。对于后者,可以将多个浓度的多种外源荧光染料或其它荧光试剂(例如,量子点)用于多路荧光强度校准,例如,当使用不止一个外源荧光标记的探针进行体内创伤的组织/细胞/分子-靶向分子成像时。

[0143] 图27显示了所述成像装置用于监测细菌,例如用于监测治疗反应的实施方式的使用的实施例。插图a) Invitrogen Corp. 出售的活/死细菌染色剂(即BacLight产品)的荧光显微图像。插图b) Invitrogen Corp. 出售的革兰氏染色细菌标记染色剂的荧光显微图像。使用所述成像装置,插图(c) 使用这些产品的活(绿色) 和死(红色) 细菌,插图(e) 在创伤或其它身体表面的细菌拭子取样后,例如,在口腔、颊、面颊的拭子中,如插图(d) 所示,可以实时离体分辨(例如,在拭子或组织活组织检查上)。这种实时细菌革兰氏染色或活/死图像-基评价可以用于实时或相对速成的细菌学结果,所述结果可以用于细化治疗,如抗生素或其它杀菌治疗,或者用于监测治疗反应。

[0144] 图28显示了所述装置用于对脚指甲感染成像的使用的实施例。受试者右脚趾的插图a) 白光和插图b) 相应自身荧光显示与白光显像相比,荧光成像提供的感染的对比度增强(405nm激发,500-550nm发射(绿色),>600nm发射(红色))。

#### [0145] 实施例

[0146] 图29显示了用于猪肉样品皮肤表面上胶原蛋白和不同细菌菌种的无创自身荧光检测的装置的实施例。与白光成像相反,自身荧光成像能够检测局部应用于皮肤上制备的小切口后24h一些细菌菌种的存在(即酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) )。插图a) 显示了用于测试的猪肉白光图像。在第0天,将一些细菌菌种应用于在皮肤上制备的小切口,并标记如下:1) 酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、2) 粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*)、3) 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、4) 表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、5) 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和6) 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)。将所述成像装置用于检测胶原蛋白和细菌所时间的自身荧光。结缔组织荧光强烈且易于检测。一些细菌菌种(例如,铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*))产生明显的绿色自身荧光(450-505nm),其使所述装置的照相机饱和。插图b) 显示了第0天的自身荧光图像,并在插图c) 中放大。

[0147] 所述装置还能够检测细菌在肉表面上随时间的分布。当将肉品保持在37°C时,插图d) 显示了第1天的图像,并且插图f) 显示了第3天的图像。在插图c) 中的一些创伤位点(5,6)可以观察到红色荧光。如插图d) 所示和插图e) 中放大的,24h后,所述装置检测到来自创伤位点中5) 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和6) 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)

的细菌自身荧光的显著升高,并且后者产生明显的绿色和红色自身荧光。插图c) 和e) 显示所述装置在左侧使用双带通滤光片(450-505nm绿色和590-650nm)并在右侧使用单带通滤光片(635+/-10nm)检测创伤表面的荧光。如插图f) 所示,到第3天,所述装置检测到来自另一创伤位点的细菌自身荧光(绿色和红色)的显著升高,以及放置所述肉品的发泡苯乙稀盒上(如插图f) 中箭头所示) 的细菌污染。所述装置还能够检测细菌在肉表面上的分布。这显示了模拟创口上细菌菌种的实时检测,那些细菌随时间的生长以及所述装置提供创伤中细菌生长纵向监测的能力。所述装置可以提供细菌在创伤表面上的生物分布的重要信息,其可以用于靶向细菌拭子取样和组织活组织检查。注意,在插图d) 和f) 中,强烈的绿色荧光信号来自猪肉样品边缘的内源胶原蛋白。

[0148] 该实施例显示了所述装置单独基于自身荧光来实时检测结缔组织和细菌生长的生物变化的使用,表明了所述装置提供创伤中细菌生长的纵向监测的实际能力。

[0149] 再参考图3,所述图像显示了所述装置用于猪肉样品肌肉表面上结缔组织(例如,胶原蛋白、弹性蛋白)和细菌的自身荧光检测的实施例。插图a) 显示用于测试的猪肉白光图像显示无明显细菌/微生物污染或腐败的迹象。然而,如插图b) 所示,使用所述装置在蓝光/紫外光激发下对相同区域的成像显示与肌肉相邻侧相比,肌肉的亮红色荧光区域,这显示了细菌污染的可能。在皮肤边缘还可以观察到胶原蛋白极亮的绿色自身荧光。在插图c) 中,将所述装置用于通过手术检查所怀疑的红色荧光,进一步提供用于后续病理或细菌学的靶向活组织检查。还注意到所述装置在手术期间通过荧光检测手术器具(例如,钳)的污染(箭头)的能力。在插图d) 中,将所述装置用于通过使用光学纤维探针靶向怀疑被细菌污染的区域的荧光光谱收集(插图显示所述装置用于在插图b) 、c) 中的红色荧光肌肉的相同区域中靶向光谱探针)。e) 显示了用于检测保持肉品的发泡苯乙稀盒表面上多种细菌薄膜的污染。在紫外/蓝光激发下,细菌的自身荧光显示为来自先前应用于肉的多种细菌菌种的绿色和红色荧光条纹。因此,所述装置能够检测非生物表面上的细菌,其中在标准白光观察下它们是看不见的(如插图a) 中所示)。

[0150] 除创伤中和皮肤表面上的细菌检测外,所述装置还能够鉴别肌肉组织的怀疑区域,然后可以通过用于病理验证的手术或靶向活组织检查或通过使用光学纤维探针的其它光学装置,如荧光光谱进一步检测该区域。另外,它检测了保持肉品的发泡苯乙稀盒表面上的多种细菌。在紫外/蓝光激发下,细菌的自身荧光显示为来自先前应用于肉的多种细菌菌种的绿色和红色荧光条纹。

[0151] 为了确定培养中和模拟皮肤创伤中生长的细菌的自身荧光特征,将高光谱/多光谱荧光成像用于在紫外/蓝光激发下定量测量来自细菌的荧光强度光谱。现参考图30。在图30中,所述装置用于检测来自琼脂板和猪肉模拟创伤表面上生长的细菌的荧光,如以上对图12和图29所讨论的。使用所述装置检测培养插图(a) 和肉品插图(d) 中绿色和红色波长范围内的细菌自身荧光。将高光谱/多光谱成像用于对培养插图(b) 中的细菌(大肠杆菌(E.coli))成像,并用于测量来自细菌(红线-卟啉,绿线-细胞浆,蓝线-琼脂背景)插图(c) 的定量荧光强度光谱。所述红色箭头显示了在细菌中检测的卟啉荧光的635nm峰。高光谱/多光谱成像还确认了与大肠杆菌(E.coli)(插图d中的左侧方框区)相比,来自铜绿假单胞菌(P.aruginosa)的强烈绿色荧光(\*,插图d中的右侧方框区)(具有很少卟啉荧光,插图f中的黄线),其中检测到了明显的卟啉红色荧光。插图e) 和g) 显示了来自生长2天之后的肉表

面的分别对应于铜绿假单胞菌 (*P.aeruginosa*) 和大肠杆菌 (*E.coli*) 的颜色分类的高光谱/多光谱图像;和插图f) 和h) 显示了相应的颜色分类的荧光光谱。在插图i) 中, 还在溶液中测量了激发-发射基质 (EEM) 的多种细菌菌种, 其显示了为成像装置中滤光片的使用选择最佳激发和发射波长带宽的能力。大肠杆菌 (*E.coli*) 的EEM显示了强烈的绿色荧光以及来自内源细菌卟啉的明显红色荧光(箭头)。

[0152] 该实施例显示细菌发射绿色和红色自身荧光, 其中一些菌种(例如, 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)) 产生更多前者。大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 产生明显的来自内源卟啉的红色自身荧光。细菌菌种之间这些固有的光谱差异是明显的, 这是因为它可以提供单独使用自身荧光区分不同细菌菌种的方式。在这些中试研究中, 还对每种细菌菌种测量了激发-发射基质 (EEM), 其确认在紫外/蓝光激发下, 所有菌种产生明显的绿色和/或红色荧光, 而后者是通过卟啉产生的。来源于激发-发生基质的光谱信息可以帮助优化用于成像装置中滤光片使用的激发和发射波长带宽的选择, 从而允许细菌菌种间的离体和体内区分。以这种方式, 所述装置可以基于这些生物组分独特的自身荧光特征, 用于检测创伤和周围正常组织内的内源结缔组织(例如, 胶原蛋白和弹性蛋白)以及细菌和/或其它微生物, 如酵母、真菌和霉菌的存在和量的微小变化。

[0153] 所述装置可以用作临床微生物学实验室中的成像和/或监测装置。例如, 所述装置可以用于菌落的定量成像和常规微生物学测定中菌落生长的定量。菌落的荧光成像可以用于确定生长动力学。

[0154] 创伤中血液的成像

[0155] 血管生成(新血管的生长)是创伤愈合所需的重要自然过程并且在损伤或损害后用于恢复组织血流。血管生成疗法设计用于“开启”新毛细管的生长, 它是通过提供用于治疗跛足和危急生命的病况的综合方法的革命性医学技术。血管生成是创伤愈合所需的生理过程。在损伤后立即通过多种分子信号起始血管生成, 所述分子信号包括止血因子、炎症、细胞因子、生长因子和细胞-基质相互作用。通过生物事件级联的新毛细管增殖在创伤床中形成肉芽组织。当通过生长因子水平降低、炎症消退、组织基质稳定和内源血管生成抑制剂停止血管生成时, 该过程可以持续直至愈合的终末阶段。血管生成途径中的缺陷损害肉芽形成并延迟愈合, 并且这些在慢性创伤中是明显的。通过用所选的窄波段(例如, 蓝色、绿色和红色组件)的光照射组织表面或检测白光在可见光谱的一些窄波段(例如, 从白光的血液吸收光谱选择的峰值吸收波长)内的反射, 所述装置还可以用于对创伤内和周围, 包括周围正常组织的血液和微血管网络的存在成像, 因此还显示了红斑和炎症区域。

[0156] 现参考图31。所述装置可以使用单独的滤光片(例如, 405nm、546nm、600nm, 其分别+/-25nm), 以表明对创伤中血液和微血管系统成像的可能性。可以用所述装置收集创伤的白光图像, 然后将配备有三重带通滤光片(例如, 405nm、546nm、600nm, 每个+/-25nm)的装置置于成像检测器前方, 所述装置可以对来自创伤的蓝色(B)、绿色(G)和红色(R)反射光部件的单独窄带宽成像。基于含有氧化和脱氧血红蛋白两者的血液在可见光波长范围内的峰值吸收波长, 可以选择这些波段。所得图像可以在视场中获得通过血液的可见光的相对吸收, 和因此的反射。所得“血液吸收”图像获得了创伤和周围正常组织中血液和/或微血管网络存在的高对比度图像。临床医师可以为所述装置的使用选择适合的滤光片设置以获得创伤内血液和/或微血管分布的图像, 并将该信息与自身荧光成像以及使用外源造影剂的成像

中的一种或两者结合。这可以提供在形态、形貌、解剖学、生理学、生物和分子水平提供创伤和周围正常组织的综合信息集,目前这在常规创伤护理实践中可能是不可能的。

[0157] 图31显示了用于创伤中血液和微血管系统成像的装置的实施例。所述装置用于对用血液染色的一张滤纸插图(a)和手术期间小鼠耳朵插图(b)成像。使用所述成像装置,以非荧光模式采集每个样品的白光图像,然后为所述装置配备置于成像检测器前方的三重带通滤光片(405nm、546nm、600nm,每个+/-25nm),从而对来自样品的蓝色(B)、绿色(G)和红色(R)反射光部件的单独窄带宽成像。基于可见光波长范围中血液的峰值吸收波长选择这些波段(a中插图),其显示了血液中氧化和脱氧血红蛋白的光谱谱图。这显示使用简单的多波段透射滤光片,有可能将B、G、R图像三者合成为单一的“白光等价”图像,其测量视场中血液的相对光吸收。所得“血液吸收”图像获得了含有氧化和脱氧血红蛋白的血液的存在的高对比度图像。例如,所述装置可以与窄带宽滤光片一起使用以获得创伤中血液吸收的更高对比度的图像。

[0158] 很大程度上,由于观察血管内事件中的困难,创伤体内修复期间血管生成随时间的调控是未研究的。尽管成像装置初始测试是探索性的,但是现有原型装置的简单改变可以使其能够对创伤体内愈合过程期间的血液供给和微血管网络的动态变化进行纵向成像。

[0159] 一般地,所述装置可以用于成像和/或监测受试者上的目标,如皮肤目标、口腔目标、耳鼻喉目标、眼部目标、生殖器目标、肛门目标和任何其它适合的目标。

#### [0160] 临床护理中的使用

[0161] 尽管目前创伤管理实践旨在降低患者中的发病率和死亡率,但是限制在于保健资源的可获得性。目前正在调查将远程医疗技术引入创伤护理需求的可能性。创伤护理表示对需要长期专业护理的慢性和衰弱病况的护理。全世界生活条件改善和保健发展的主要作用在于延长了人的寿命。因此,全球将需要医学关注的“老年人”以及患有慢性医学病况的那些的百分比逐年上升。随着保健成本的逐步升高以及行业对门诊病人护理的压力,这成为需要及时处理的保健危机的一部分。

[0162] 本发明的装置可以提供有关创伤的生物学-相关信息,并且可以利用新兴的远程医疗(例如,E-健康)基础设施来提供移动创伤护理技术的解决方案并且可能极大地影响创伤保健治疗。创伤护理导致产生了大部分护士和保健工作人员进行的家庭访问。尽管有最佳实践,但是一些创伤的愈合不如预期,并且需要临床专业人员的服务。从患者家庭和长期护理机构方便的角度,本文所述的装置可以使得能够接触到专业临床资源以帮助治疗创伤,这缩短了客户的路途时间,提高了临床创伤专业人员的利用率并且可以降低保健制度的成本。

[0163] 已对于创伤评价、监测和护理管理讨论了所述成像装置的不同用途。所述装置可以用于检测和监测创伤愈合过程期间结缔组织(例如,胶原蛋白、弹性蛋白)和血液/血管供给的变化,基于荧光监测创伤中组织坏死和渗出液,检测和诊断创伤感染,包括潜在表明创伤表面和深处细菌或微生物的重要“临床重大”种类存在(例如,检测污染、定殖、严重定殖和感染),提供创伤的形貌信息和鉴别创伤边缘和周围正常组织。可以将组织荧光和反射成像数据“绘制”在创伤的白光图像上,借此允许在创伤和周围正常组织内使必需的创伤生物化学和光生物学(例如,荧光)信息可视化,这到目前为止尚不可能。可以随时间进行创伤的实时成像以监测创伤愈合的变化,并且通过提供有关在组织/细胞水平(例如,基质重构、炎

症、感染和坏死)发生的潜在生物学变化的有用信息潜在地监测治疗的有效性。这可以提供用于患者中检测、诊断和治疗监测的定量和客观创伤信息。具体地,所述装置可以在生物水平(例如,细菌水平)上用于监测和/或追踪疗法的有效性,其可以提供比仅使用白光监测宏观/形貌外观更多的信息。

[0164] 所述装置可以提供实时无创图像-指导的活组织检查靶向、临床程序指导、组织鉴定并且可以实现使用常规和新兴方式(例如,PDT)的图像-指导治疗。另外,所述成像装置的使用可以用于将通过荧光(例如,内源组织自身荧光和/或外源分子-生物标志物靶向的荧光造影剂的施用)获得的重要生物和分子创伤信息与现有和新兴的临床创伤护理评价和治疗方针,如Sibbald等人建议的NERDS和STONES方针相关联(Sibbald等人.Increased Bacterial Burden and Infection:The Story of NERDS and STONES.ADV SKIN WOUND CARE 2006;19:447-61)。使用所述装置获得的荧光成像数据可以用于空间和光谱鉴定创伤表面和深处的细菌平衡和负载。所述装置可以提供实时无创图像-指导的活组织检查靶向、临床程序指导、组织鉴定并且可以实现使用常规和新兴治疗方式(例如,光动力学疗法,PDT)的图像-指导治疗。可以在临床环境中使用所述装置,并且可以将所述装置整合到常规临床创伤护理方案中,并且所述装置可以在感染性疾病区域中具有不同作用。还应注意该装置还可以通过常规兽医护理用于动物和宠物中慢性和急性创伤的实时分析、监测和护理。

[0165] 该装置可以允许对较大的患者群组进行实时创伤愈合评价。具体地,老年人、糖尿病患者、免疫抑制和固定个体的慢性创伤以及由循环不良和不活动所造成的其它皮肤痛苦,例如压疮,如褥疮、郁血性溃疡和糖尿病性溃疡的发病率提高。这些慢性病况大大提高了护理成本并降低了患者的生活质量。随着这些人群数目的增加,对先进创伤护理产品的需求将提高。通过在一些环境,包括医院、流动诊疗所、慢性护理机构、家庭访问保健、急诊室以及卫生保健机构中的其它重要领域中允许监测慢性和急性创伤的成本-有效的方式,该装置可以影响患者护理。此外,这种“手持”便携成像装置可以易于携带并由护理和救护车人员使用。可以适当地检测和治疗与创伤的结缔组织产生和重构以及细菌感染有关的疤痕的早期鉴定,这在目前仍是困难的。另外,最近在先进创伤-护理产品,包括多种敷料类型(例如,薄膜、水胶体、泡沫、抗微生物、海藻酸盐、非粘附、浸渍)、水凝胶、创伤清洁剂和清创剂、组织工程产品(例如,皮肤置换、替代物和组织工程师产品,如合成聚合物-基生物组织和生长因子)、创伤清洁剂、药理学产品和物理疗法中的发展还可以受益于本文所开发的装置,这是因为它可以允许图像-基纵向监测这些治疗的有效性。物理疗法可以包括水疗法、电刺激、电磁刺激装置、紫外线疗法、高压氧疗法、超声装置、激光/光发射二极管(LED)装置和创伤成像/记录。其它疗法可以包括(例如)抗生素、创伤清创术、创伤敷料的应用和创伤清洗。

[0166] 对于皮肤创伤愈合的评价,通常需要创伤组织分析。创伤中肉芽组织、纤维蛋白和坏死的百分比以及治疗期间它们的变化可以提供可以指导创伤治疗的有用信息。图像分析可以包括先进的统计模式识别和分类算法以标识使用所述装置基于创伤和周围正常组织的光学信息收集的荧光创伤图像内的单个像素。因此,图像分析可以允许将创伤图像绘制成多个创伤组分,包括总面积、上皮形成、肉芽形成、腐肉、坏死、肉芽生长过度(hypergranulation)、感染、潜行(undermining)和周围组织边缘。这具有提供相对快速确

定创伤愈合速度以及提供患者管理决策指导的额外优势。

[0167] 图32显示了临床创伤护理环境中用于所述成像装置的项目管理流程。所述装置可以容易地整合到常规创伤评价、诊断、治疗和纵向反应监测中，并且可以实时提供重要的创伤生物和分子信息以用于在适应性干预期间快速决策。

[0168] 该装置可以容易地整合到用于常规临床环境内患者创伤管理的纵向图像编目的现有健康-护理计算机基础设施(例如,越来越多的医师或其它保健专业人员使用的台式计算机和掌上计算机)中。所述装置的无线数据接收和传输能力可以允许通过现有和未来出现的无线远程医疗基础设施远程监测创伤护理和愈合。所述装置可以用于将必需的医学数据(例如,创伤健康状况)通过互联网或通过无线服务,如蜂窝式电话、PDA或智能电话服务传输至可以允许远程医学干预的远程位点,以及进一步在用于战场创伤管理的军队医学应用中使用。所述装置可以允许对创伤位点实时表面成像并且可以在临床环境由护理点的人员容易地携带。使用成本-有效的高灵敏度可商购数字成像装置,如数字照相机、移动电话、PDA、笔记本计算机、平板计算机、网络摄像头以及智能电话等作为图像捕获或记录部件,所述装置可以提供创伤愈合和治疗有效性追踪的图像-基记录。另外,通过潜在地将其适用于和内置在可商购的蜂窝式电话中的高分辨率数字照相机一起使用,该技术可以适合于以“无线”模式工作以允许远程医学干预。

[0169] 通过使用基于网络的远程医疗和远程医疗监测基础设施,所述成像装置可以整合到创伤评价系统的“存储转发”概念中。除提供数字成像之外,该系统可以提供满足临床实践指导建议的综合临床数据组。本发明公开的装置可以整合到卫生保健机构使用的基于计算机的创伤评价系统(例如,使用图像分析软件)中以提高现有的临床数据库并支持基于证据的实践指导的实施。这种整合的远程医疗基础设施可以用于监测家中或长期护理机构中的患者,这些患者可以受益于有资格的临床医师的常规监测,但他们目前不能获得这种护理。这种装置可以进一步发展成便携式手持护理点诊断系统,其可以代表发达和发展中世界中检测、监测、治疗和防止传染病扩散中的主要发展。这种认识可以显著改善在难以进行定量培养的背景中治疗慢性创伤的实践者可用的诊断工具。

[0170] 所述装置可以允许具有光学和数字变焦能力的数字成像(例如,内置在常用数字成像装置中的那些)。静止或视频图像质量可以处于“高清晰度”形式以实现组织表面高空间分辨率成像。图像可以记录为静止帧/冻结帧和/或处于视频/影片形式,并使用需要(例如,通过USB连接)或者不需要(例如,PictBridge)个人计算机的标准成像印刷规程印刷。可以将图像/视频数据传输到个人计算机以用于数据存档和/或图像观察和/或分析/操作。所述装置还可以使用有线或无线能力(例如,蓝牙)将数据传输至打印机或个人计算机。可以在手持装置屏幕上和/或除使用标准输出视频电缆在视频屏幕/显示器(例如,头戴式显示器和眼镜)上同时观察外,进行可视化。该装置可以组合或单独显示光波长和荧光/反射强度信息以及成像图幅的空间范围以允许随时间定量测量距离(例如,监测组织形态/形貌变化)。所述装置还可以允许数字图像/视频存储/图像和相关患者医学数据的编目,例如,使用具有图像分析能力和/或诊断算法的专用软件。

[0171] 图像分析

[0172] 可以与所述装置一起使用图像分析以定量测量创伤和周围正常组织中外源光学分子靶向探针的多个荧光光谱(例如,多路成像)中的荧光强度和相对变化。可以基于所收

集的荧光图像确定荧光探针的生物分布,并且可以随时间监测各个临床创伤成像阶段之间这些生物分布的变化。通过使用所述装置定量确定每个和全部光谱独特的荧光探针的存在和相对丰度变化,临床操作人员可以随时间实时或接近实时确定给定创伤的健康和/或愈合状态以及对治疗的反应,例如,通过使用其中与创伤健康、愈合和反应状态相关地显示特定组织、细胞和分子信号的对照表,其实施例如图33中所示。基于通过现有技术可能是不可能的生物和分子信息,这可以允许临床医师确定创伤是否愈合。此外,细菌/微生物的存在和丰度以及它们对治疗的反应可以提供实时调整所述疗法的方式,而不是导致使用创伤培养的常规细菌学测试的反应评价中的迟延。

[0173] 在使用所述装置成像期间使用置于视场内的便携式荧光标准,图像分析技术可以用于校准创伤的初始或首个图像。图像分析还可以允许在显示器上显示假或伪彩色以用于区分创伤和周围正常组织不同的生物(例如,组织、细胞和分子)组分,包括通过自身荧光鉴别的那些生物标志物和通过使用外源靶向或非靶向荧光/吸收造影剂鉴别的那些。

[0174] 这些生物标志物的实例列于图34并在图35中显示。在图35中,该图显示了健康的人相对于具有糖尿病创伤的人中的创伤愈合机制。在健康个体(左侧)中,通过角化细胞、成纤维细胞、内皮细胞、巨噬细胞和血小板释放的多种分子信号(例如,以细胞因子和趋化因子的形式)的整合指导并维持了急性创伤愈合过程。在创伤引起的缺氧期间,巨噬细胞、成纤维细胞和上皮细胞释放的血管内皮生长因子(VEGF)引起骨髓中eNOS的磷酸化和激活,从而导致NO水平升高,其引发了骨髓EPC向循环系统的动员。例如:趋化因子SDF-1 $\alpha$ 促进这些EPC向损伤位点归巢,其中它们参与血管新生。在糖尿病鼠科模型(右)中,骨髓中eNOS磷酸化作用受损,其直接限制了EPC从骨髓向循环系统的动员。在糖尿病创伤中上皮细胞和肌成纤维细胞中的SDF-1 $\alpha$ 表达减少,这防止EPC向创伤归巢并因此限制创伤愈合。已表明创伤组织中建立的高氧症(例如,通过HBO疗法)激活了多种NOS同种型,提高了NO水平并且提高了EPC向循环系统的动员。然而,需要局部施用SDF-1 $\alpha$ 以引发这些细胞向创伤位点归巢。这些结果表明HBO疗法与SDF-1 $\alpha$ 施用组合可以是单独或与现有临床规程组合促进糖尿病创伤愈合的潜在治疗选择。

[0175] 预先分配的彩色谱图可以用于同时显示创伤和周围正常组织,包括结缔组织、血液、微血管、细菌、微生物的生物成分以及荧光标记的药物/药剂。这可以允许实时或接近实时(例如,小于1分钟)显像创伤区域的健康、愈合和传染性状态。

[0176] 图像分析算法可以提供以下特征中的一种或多种:

[0177] 患者数字图像管理

[0178] • 多种图像采集装置的整合

[0179] • 所有成像参数,包括所有外源荧光造影剂的记录

[0180] • 多种尺度和校准环境

[0181] • 用于组织/细菌自身荧光和外源试剂荧光信号定量测定的内置未混合的光谱图像和计算算法。

[0182] • 方便的注释工具

[0183] • 数字归档

[0184] • 网络发布

[0185] 基本图像处理和分析

- [0186] • 完整的图像处理和定量分析功能套装
- [0187] • 图像拼接算法将允许以自动或手动模式将创伤的一系列全景或部分重叠的图像拼接成单一图像。
- [0188] • 易于使用测量工具
- [0189] • 处理参数的直观设置
- [0190] • 方便的手动编辑器
- [0191] 报告生成
- [0192] • 使用专业模板的强大图像报告生成器,其可以整合到已有的临床报告基础设施或远程医疗/e-健康患者医学数据基础设施中。例如,报告可以导出为PDF、Word、Excel。
- [0193] 大型自动解决方案库
- [0194] • 对于创伤评价的多个领域,包括定量图像分析提供定制自动解决方案。
- [0195] 尽管已经描述了图像分析算法、技术或软件,但是这种说明还扩展至用于实施这种图像分析的计算装置、系统和方法。
- [0196] 图像-指导
- [0197] 即使不使用染料或标志物,所述装置还可以用于(例如)在手术程序中提供荧光图像-指导。当在某些激发光条件下使用所述成像装置或实施例观察时,某些组织和/或器官可以具有不同的荧光光谱(例如,内源荧光)。
- [0198] 图36显示了用于荧光成像-辅助手术的所述装置的有用性。借助于使用所述装置的荧光成像,与白光下相比,小鼠模型的不同器官可以是更清楚可辨的。插图b、c和g显示了白光下的小鼠模型。插图a、d-f和h-j显示了使用所述装置成像的小鼠模型。
- [0199] 图37显示了所述装置用于小动物模型成像的使用的实例。在本文中,在白光(插图a,c)和荧光(插图b,d)下对小鼠背部皮肤-折叠窗室成像。注意:通过所述装置获得高分辨率白光和荧光图像。由于来自笼中床层和食物粉末材料的内源自身荧光,足部和面部显示出亮红色荧光。(405nm激发;490-550nm和>600nm发射通道)。
- [0200] 生物工程皮肤
- [0201] 一些生物工程皮肤产品或皮肤等价物已可商购用于急性和慢性创伤以及烧伤创伤的治疗。这些已开发并在人创伤中测试。皮肤等价物可以含有活细胞,如成纤维细胞或角化细胞或两者,而其它则由无细胞材料或活细胞提取物制成。这些构建体的临床作用比常规“控制”疗法好15-20%,但是对于构成适当控制的原因仍有争议。生物工程皮肤可以通过递送活细胞起作用,由于能够适应它们的环境,因此将其称为“智能材料”。已有证据表明这些活构建体中的一些能够释放生长因子和细胞因子。外源荧光分子试剂可以与这些皮肤替代品结合使用以确定移植的完成以及创伤对疗法的生物反应。皮肤全层缺损的愈合可能需要皮肤和表皮组分的彻底合成和重构。成纤维细胞在该过程中起到重要作用并且正在引入到最近产生的人工皮肤替代品中。
- [0202] 本文所述的成像装置可以用于确定皮肤替代品中接种的成纤维细胞的结局,并且可以确定接种的成纤维细胞对移植至创伤位点后的细胞迁移和皮肤替代品降解的影响。可以用接种了自体同源的成纤维细胞的皮肤替代品或无细胞替代品治疗创伤。然后,可以使用荧光成像装置检测创伤中用荧光细胞标志物标记的接种的成纤维细胞,然后使用图像分析,例如,如上所述的图像分析定量评价。

[0203] 聚合物-基治疗剂

[0204] 存在一些制备用于创伤护理的可商购医学聚合物产品。例如, Rimon Therapeutics生产的Theramers<sup>TM</sup>(www.rimontherapeutics.com),它是本身具有生物活性但不使用药物的医学聚合物。Rimon Therapeutics生产了以下创伤护理产品,其制备成当用405nm激发光激发时具有独特荧光的:Angiogenic Theramer<sup>TM</sup>,其引起创伤或其它缺血组织中新血管的发展(即血管生成);MI Theramer<sup>TM</sup>,其抑制作为参与其中组织衰弱或破坏的多种病况的普遍酶类的基质金属蛋白酶(MMP)活性;AM Theramer<sup>TM</sup>,杀死革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌但不损害哺乳动物细胞的热塑塑料;和ThermaGel<sup>TM</sup>,它是在体温附近可逆地从液体变化为稳固的凝胶的聚合物。通过添加选择(例如)在405nm光下激发而具有更长波长的荧光发射的荧光染料或荧光纳米颗粒,将这些分别制成荧光的。

[0205] 通过使用所述成像装置,可以通过荧光成像实时指导这些荧光聚合物试剂的应用。这可以允许Theramer试剂准确递送/应用(例如,局部)至创伤位点。将所述试剂应用至创伤后,然后可以将所述荧光成像装置用于定量确定Theramers对创伤的治疗作用并体内和无创追踪这些在创伤中随时间的生物分布。将可能具有另一种荧光发射波长的分子信标加入到在存在创伤酶(例如,MMP)的情况下可以发荧光的MI Theramer<sup>TM</sup>中也可以是可能的,并且这可以实时显示创伤对MI Theramer<sup>TM</sup>的反应。使用一种荧光发射用于成像-指导的Theramer向创伤位点的应用并使用另一种不同的荧光发射用于治疗反应监测,以及使用其它荧光发射用于其它测量也是可能的。可以同时确定MMP抑制和抗微生物剂治疗随时间的相对有效性。使用图像分析,实时比较这些信号在创伤中的荧光变化也是可能的。这为所述装置加入了定量方面,并且增加了其临床有用性。

[0206] 应注意可以将其它常规生物安全的荧光试剂加入目前用于创伤护理的以下材料。然后,可以使用所述装置成像和监测所述荧光物质。

[0207] • 湿润创伤敷料:与常规敷料相比,其提供了用于更好的愈合速率的湿润有益环境。制造商将这些敷料瞄准的主要消费者基础是年龄超过65岁,遭受慢性创伤,如压疮和郁血性溃疡的人。遭受糖尿病并因此发展出溃疡的那些人构成了目标群体的一部分。

[0208] • 水凝胶:这为干燥创伤加入水分,从而产生了用于更快愈合的适合环境。它们加入的特征在于它们可以在感染创伤上使用。这些还设计用于干燥至轻微渗出的创伤。

[0209] • 水胶体敷料:水胶体密封创伤床并且防止水分损失。一旦吸收渗出液,它们形成凝胶以提供湿润的愈合环境。这些用于无感染的轻度至中度渗出创伤。

[0210] • 海藻酸盐敷料:这些吸收创伤渗出液以形成凝胶,其提供用于愈合的湿润环境。它们主要用于高度渗出创伤。

[0211] • 泡沫敷料:这些吸收创伤流出液并维持湿润的创伤表面,从而使环境有益于创伤愈合。它们用于中度渗出创伤。

[0212] • 透明薄膜敷料:这些是无吸收性的,但是允许水蒸气渗透,借此保证了湿润的创伤表面。它们设计用于干燥至轻微渗出的创伤。实例包括海藻酸盐泡沫透明薄膜敷料。

[0213] • 抗微生物剂:这些提供了抗菌作用以对创伤消毒。特别有趣的是纳米晶体银敷料的使用。通过银的缓释,显著降低了生物负载,特别是阻碍愈合并导致疼痛和渗出的细菌释放的积累的蛋白酶和毒素。

[0214] • 活性创伤敷料:这些包括高度发展的组织工程产品。生物材料和皮肤替代品属

于该类:这些完全由生物聚合物,如透明质酸和胶原蛋白或者生物聚合物结合合成聚合物,如尼龙组成。这些敷料通过与创伤组织的直接或间接相互作用积极促进创伤愈合。皮肤替代品是模拟皮肤的结构和功能的生物工程装置。

[0215] • 透明质酸:这是胞外基质的天然成分,并且在肉芽组织形成、表皮再植和重构中起显著作用。它为皮肤提供水化作用并用作吸收剂。

[0216] 可以使用所公开的装置成像的其它创伤护理产品包括Theramers、含银凝胶剂(例如,水凝胶)、人工皮肤、ADD干细胞、抗基质金属蛋白酶和透明质酸。可以将荧光剂加入其它产品中以使得能够使用所述装置成像。在一些情况下,所述产品可以已是发光的并且可能不需要加入荧光剂。

[0217] 所述装置还可以用于监测这些治疗随时间的作用。

[0218] 用于装置的套件

[0219] 可以将所述成像装置作为套件提供,例如,包括所述装置和荧光造影剂。造影剂可以是如上所述的那些中的任何一种或多种。例如,所述造影剂可以用于标记创伤中的生物标志物,其中所述套件用于创伤监测应用。

[0220] 图38显示了包括所述成像装置的套件的实施例。插图a)显示了手柄和触敏观察屏幕,插图b)显示了外壳和激发光源。所述成像装置可以用于扫描人和兽医患者两者的身体表面以用于成像-基创伤评价或用于无创成像应用。可以将所述装置和任何附件(例如,电源/电池电源、可能的外源荧光造影剂等)方便地置于硬质外壳容器中以用于在临床和非临床环境(包括远程位点、家庭护理和研究实验室环境)内的输送。

[0221] 所述成像装置可以以白光和荧光模式使用以改善这些治疗的施用并且无创且定量监测它们随时间的有效性。所述装置可以与其它成像方式组合使用,例如热成像法等。

[0222] 尽管为了有利于更好地理解本发明公开已结合示例性实施方式公开了本发明公开,但是应理解本发明公开可以在不背离本发明公开的原理的情况下以多种方式体现。因此,应理解本发明公开包括可以在不背离所附权利要求中描述的本发明公开的原理的情况下体现的所有可能的实施方式。此外,尽管已对于创伤成像、监测和分析讨论了本发明公开,但是本领域那些技术人员将理解如所公开的本发明的教导内容将在多种其它应用中等同地起作用,如(例如)小型和大型(例如,兽医)动物的临床和研究-基成像;肉、禽、乳、鱼、农业行业中食品/动物产品制备中污染(例如,细菌污染)的检测和监测;公共(例如,保健)和私人环境中“表面污染”(例如,细菌或生物污染)的检测;人和/或兽医患者中癌症的多光谱成像和检测;在人类疾病(例如,创伤和癌症)的实验动物模型中作为用于癌症的多光谱成像和监测的研究工具;法庭检测,例如,非生物表面上潜在的指纹和生物流体、口腔中牙斑、携带物和癌症的成像和监测;临床微生物学实验室中装置的成像和监测;和测试抗菌剂(例如,抗生素)、消毒剂。在DaCosta等人2015年5月26日授权的标题为“用于创伤成像和监测的装置和方法”的美国专利No.9,042,967B2中公开了荧光成像装置在这些环境中的使用,该专利作为参考并入本文。另外或者作为另外一种选择,所述装置可以用于对其中污染可能是主要感染源的医院、慢性护理机构、老人家庭以及其它保健环境中多种表面、材料、仪器(例如,手术器械)上细菌或微生物及其它病原体的存在进行检测和成像。所述装置可以结合指示生物和病原体策略的标准检测、鉴定和计数使用。

[0223] 出于本说明书和所附权利要求的目的,除非另外说明,否则在所有情况下,表示

量、百分比或比例的数字以及在本说明书和所附权利要求中使用的其它数值将被理解为受术语“约”的修饰。因此,除非有相反的说明,否则书面描述和权利要求中所述的数值参数是基于本发明公开设法获得的所需性质可以改变的近似值。至少,并且不是作为对限制与权利要求的范围等价的原理的应用的尝试,并且至少应按照所报告的有效数字的数值并通过应用常规圆整技术来对待每个数字参数。

[0224] 应注意除非明确或肯定限于一个对象,否则如本说明书和所附权利要求中使用的,单数形成的“一个”和“所述”包括复数对象。因此,例如,对“传感器”的提及包括两种或更多种不同的传感器。如本文所使用的,术语“包括”及其语法上的变体旨在是非限制性的,从而列表中项目的列举不是对可以替换或添加到所列项目中的其它类似项目的排除。

[0225] 对于本领域技术人员显而易见的是在不背离所教导的范围的情况下,可以对本发明公开所述的系统和方法做出多种改变和变化。根据对本文所公开的说明书和教导内容的实践的考虑,本发明公开的其它实施方式对本领域技术人员来说是显而易见的。旨在将本文所述的说明书和实施方式视为仅是示例性的。

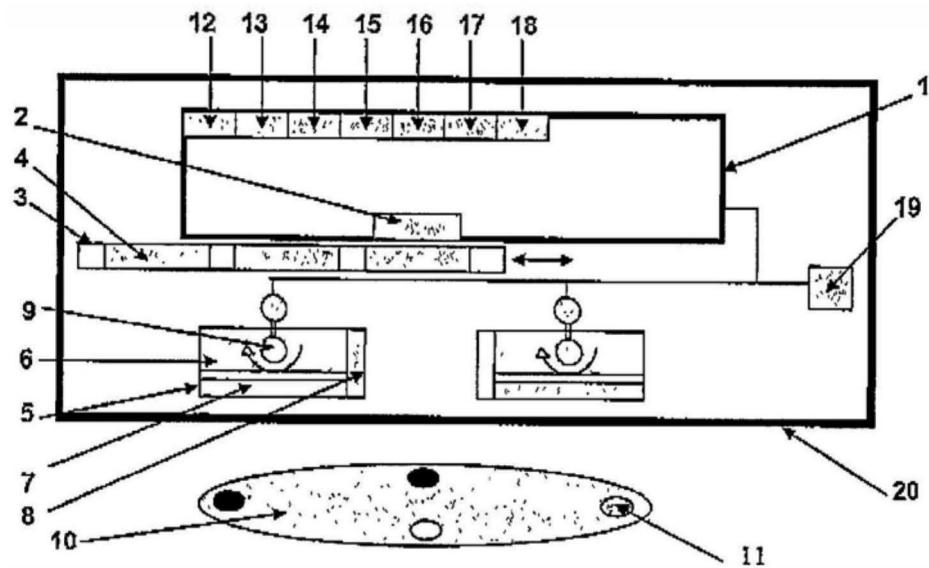


图1

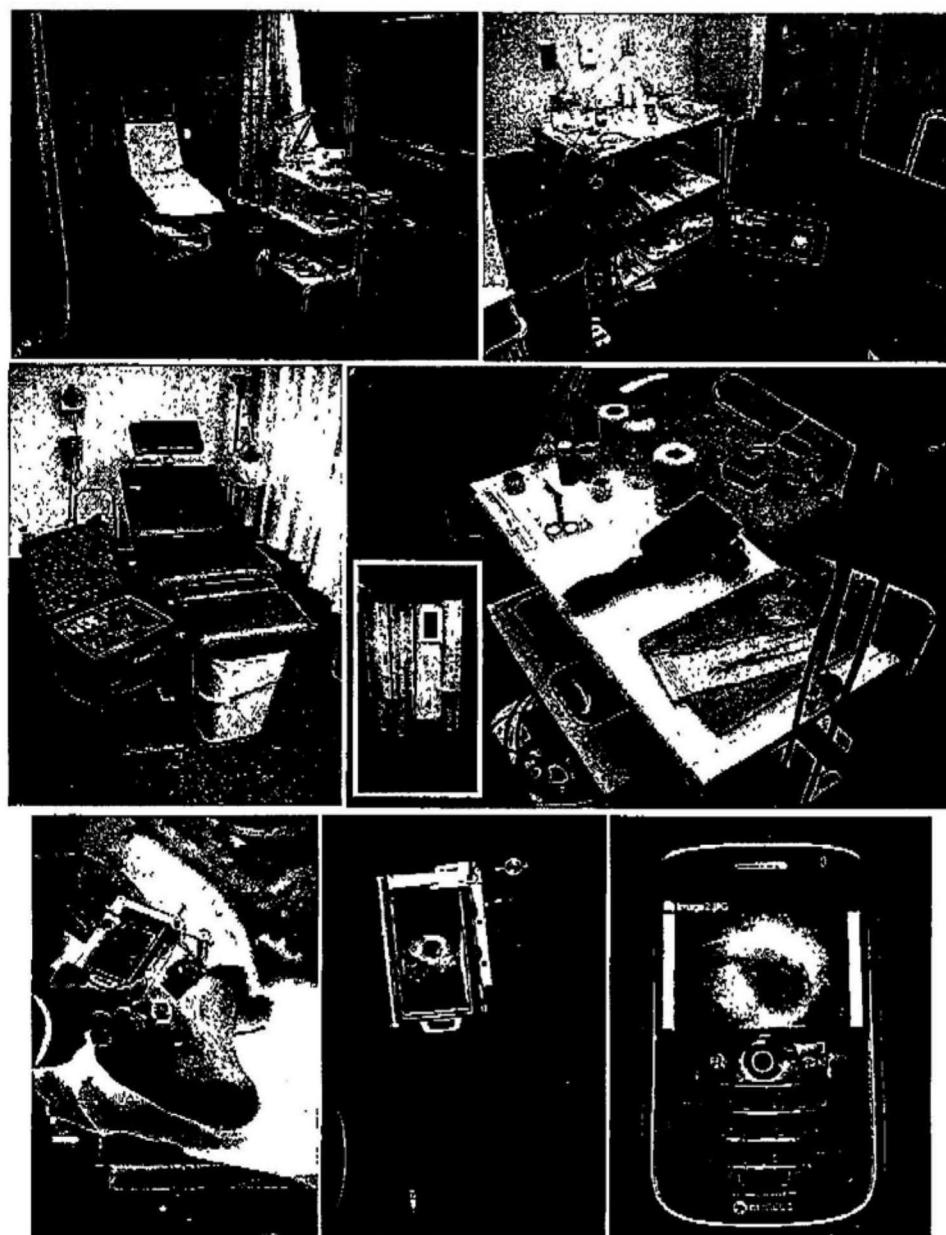


图2

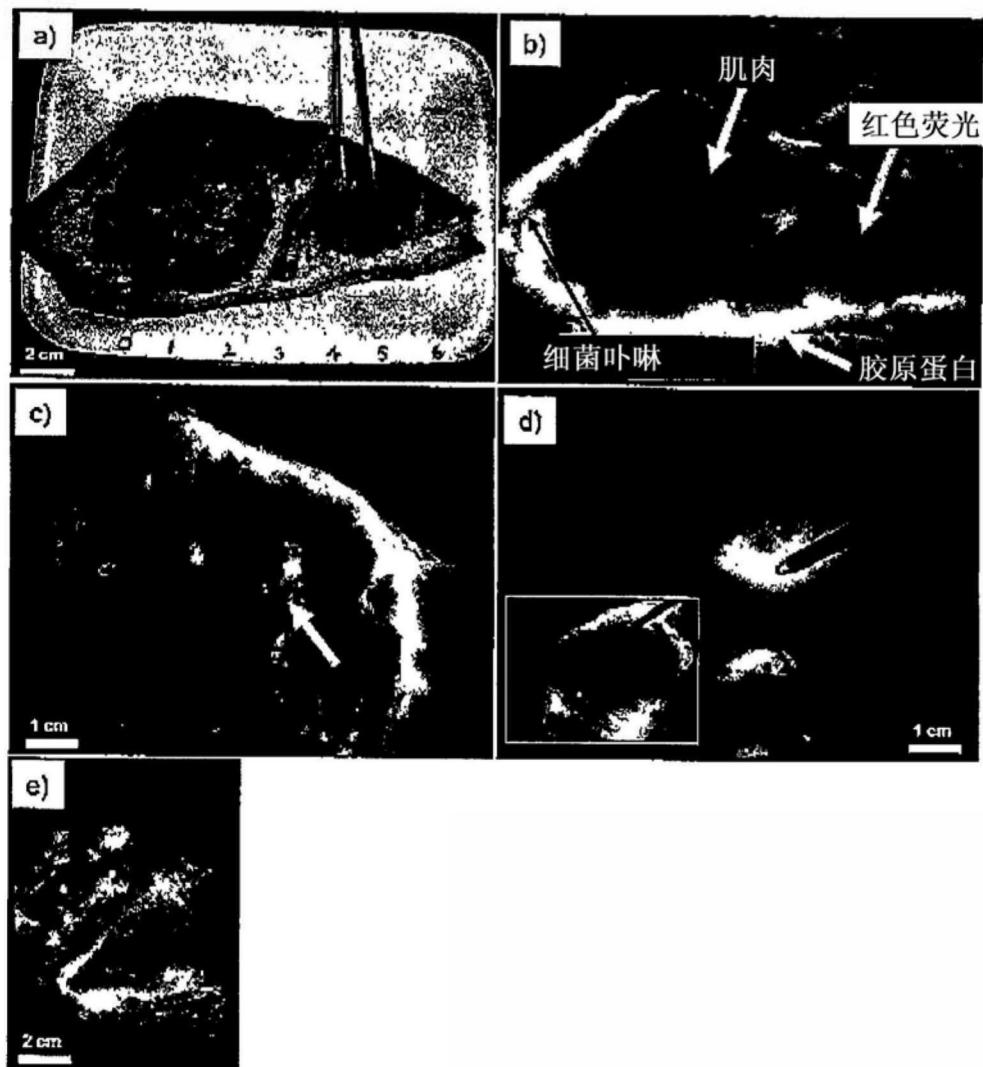


图3

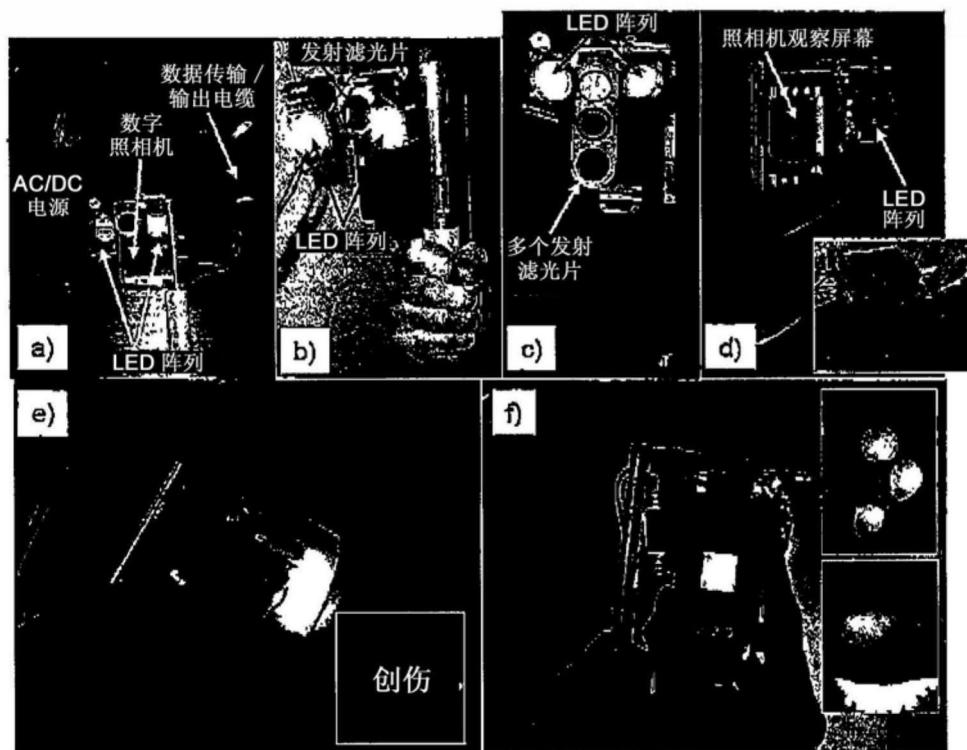


图4

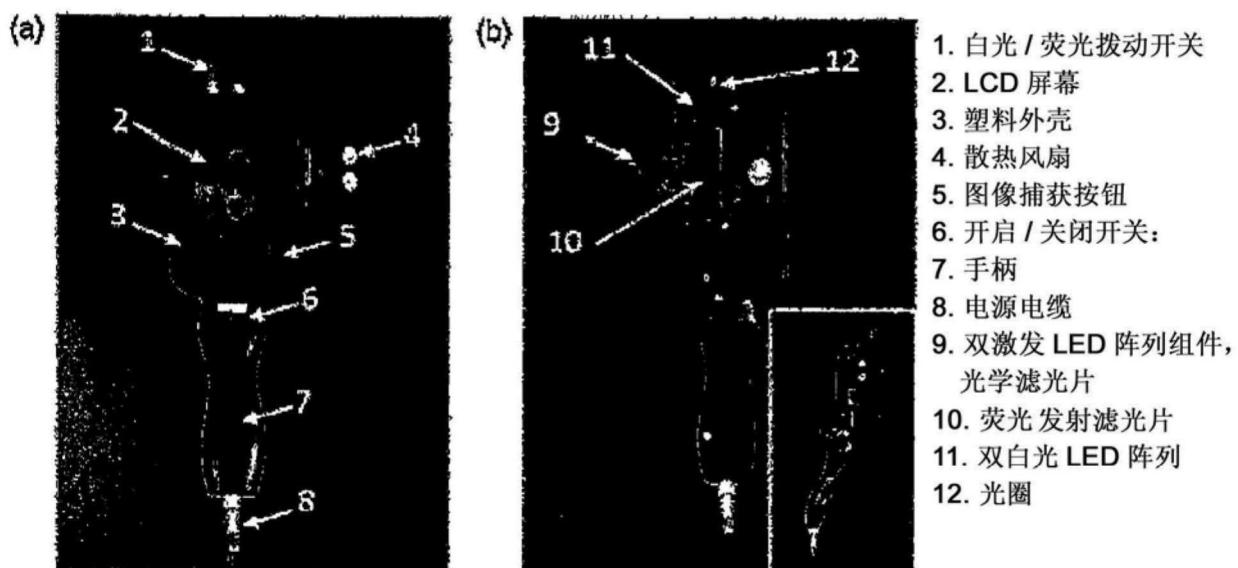


图5

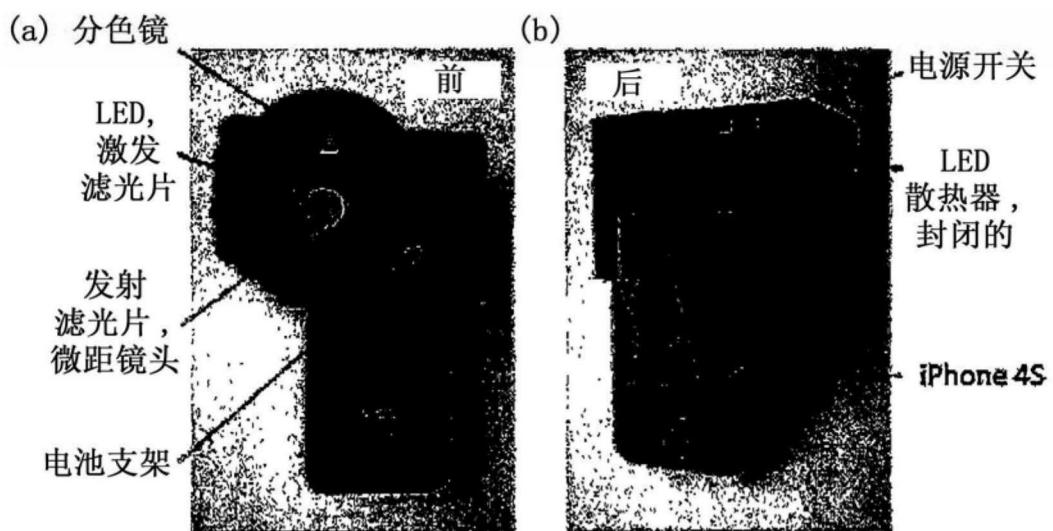


图6A

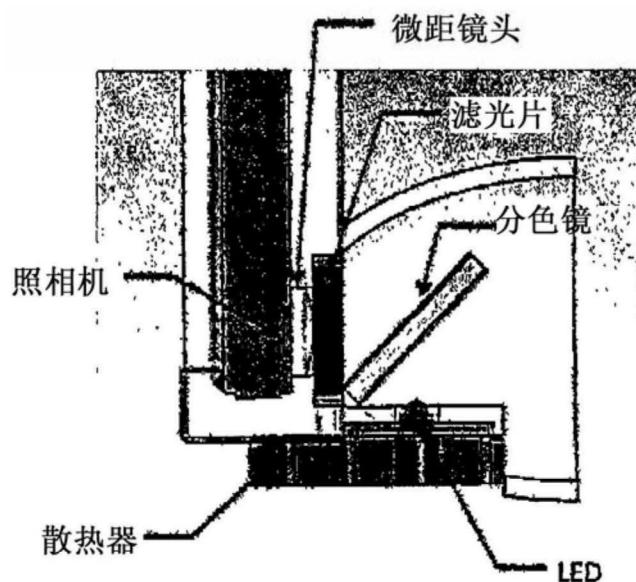


图6B

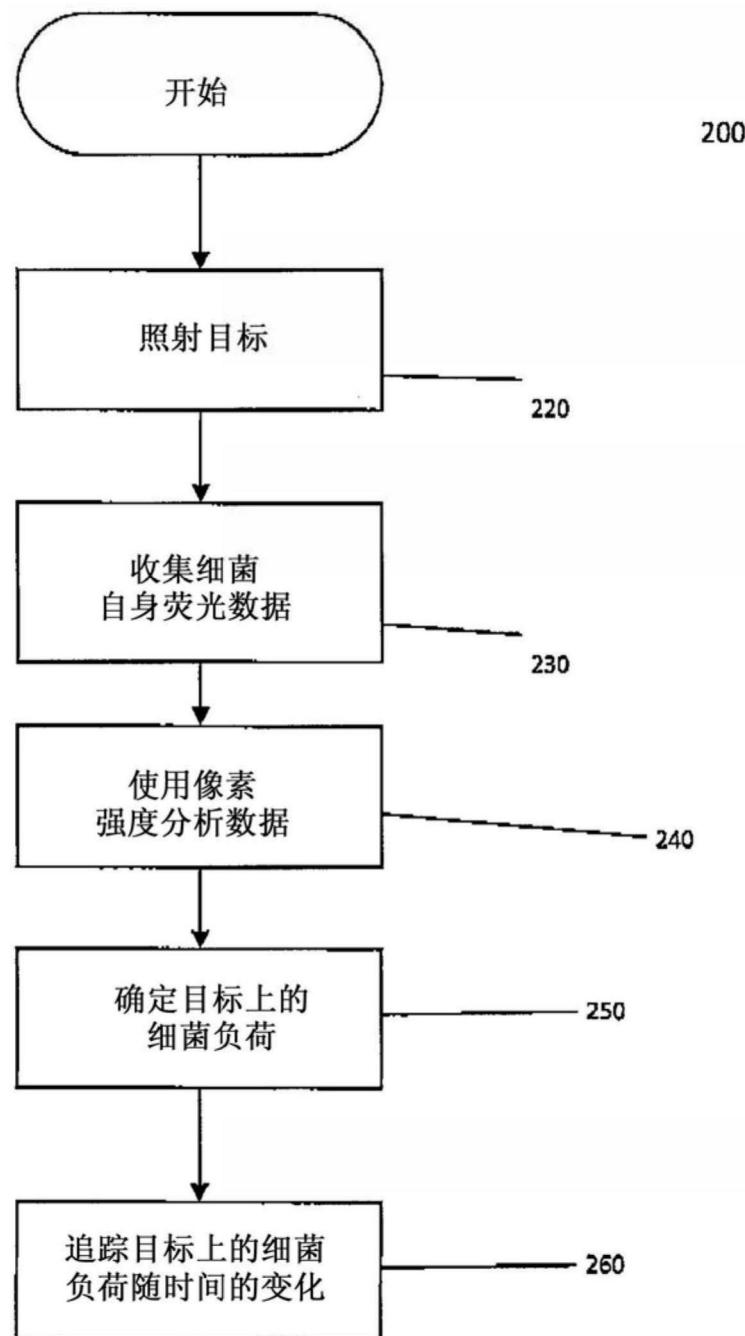


图7A

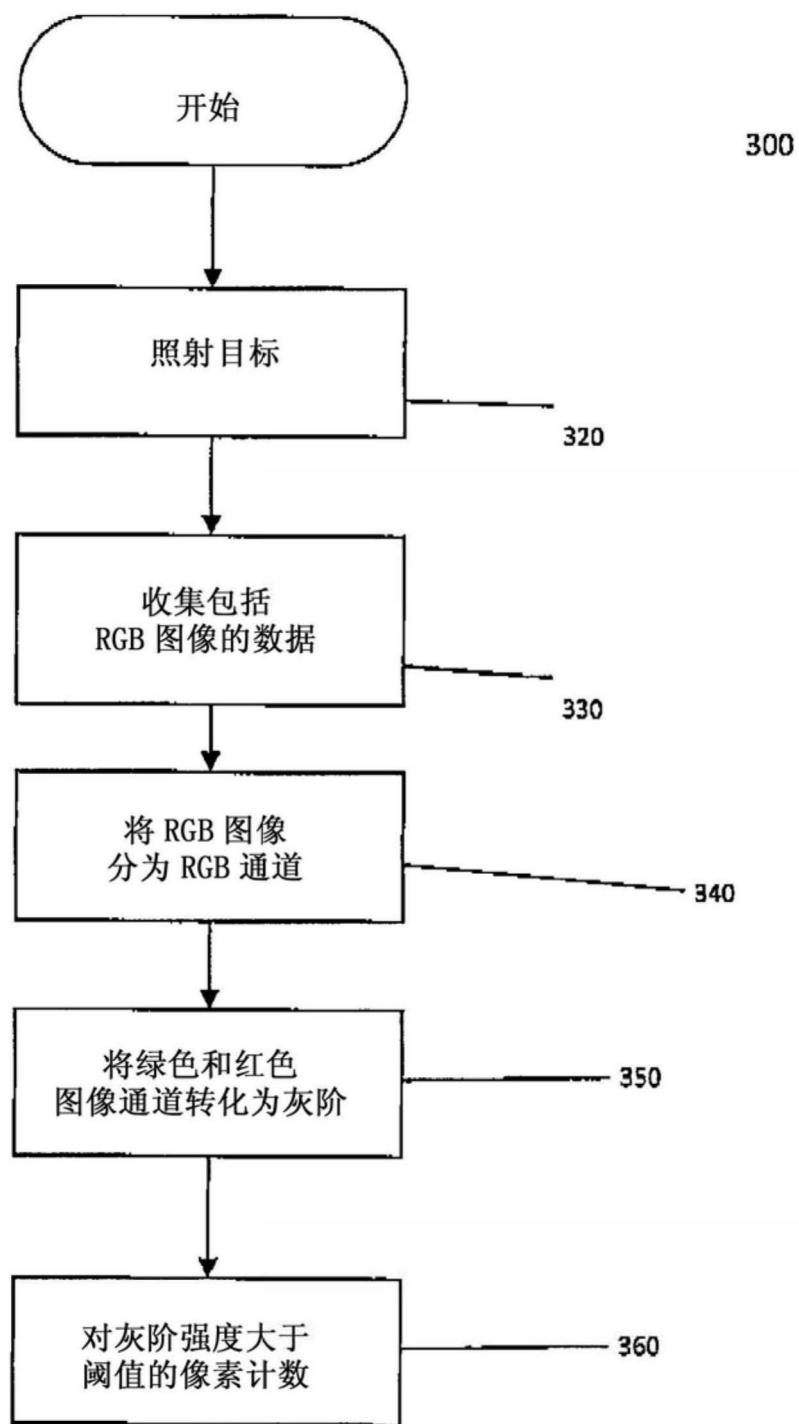


图7B

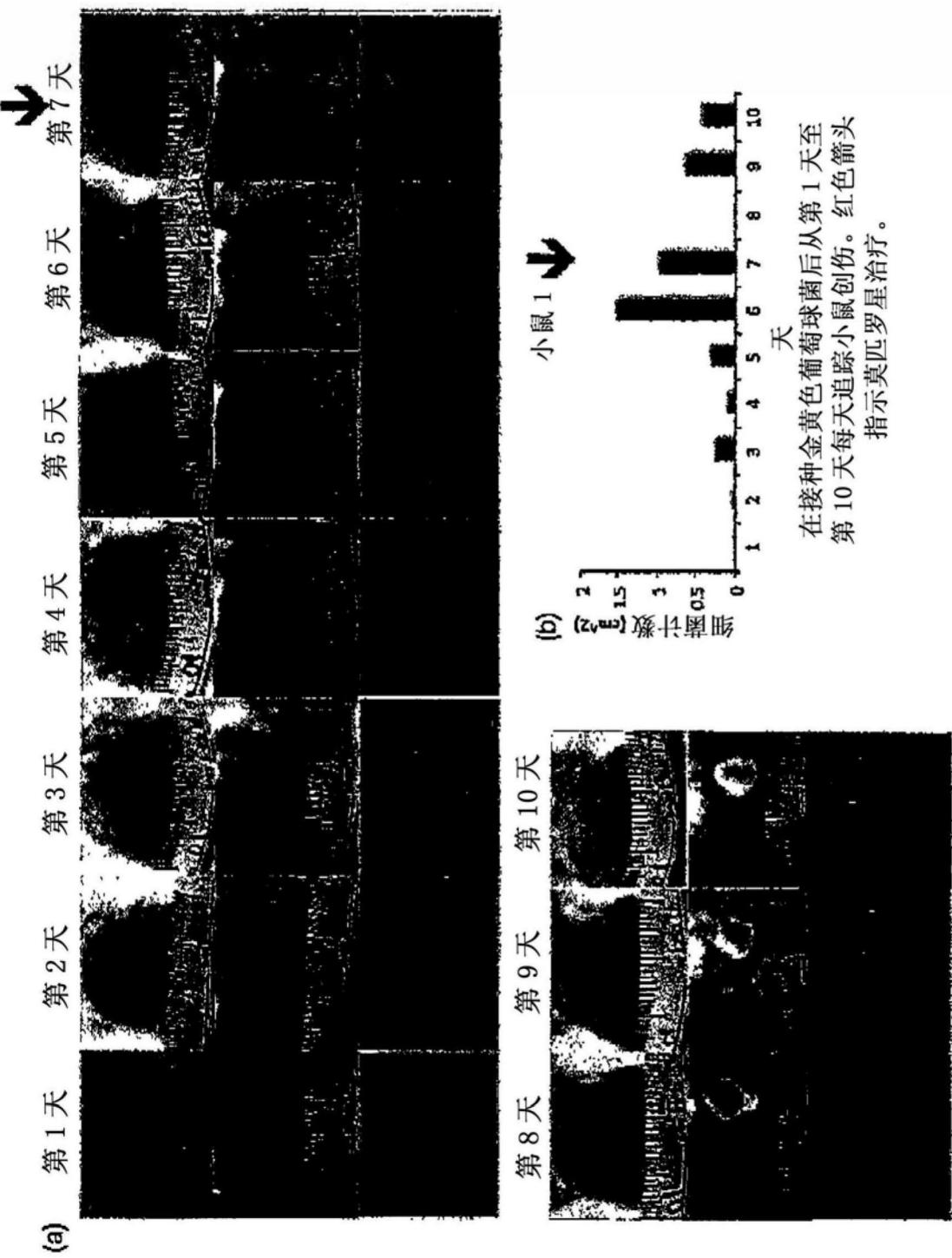


图8

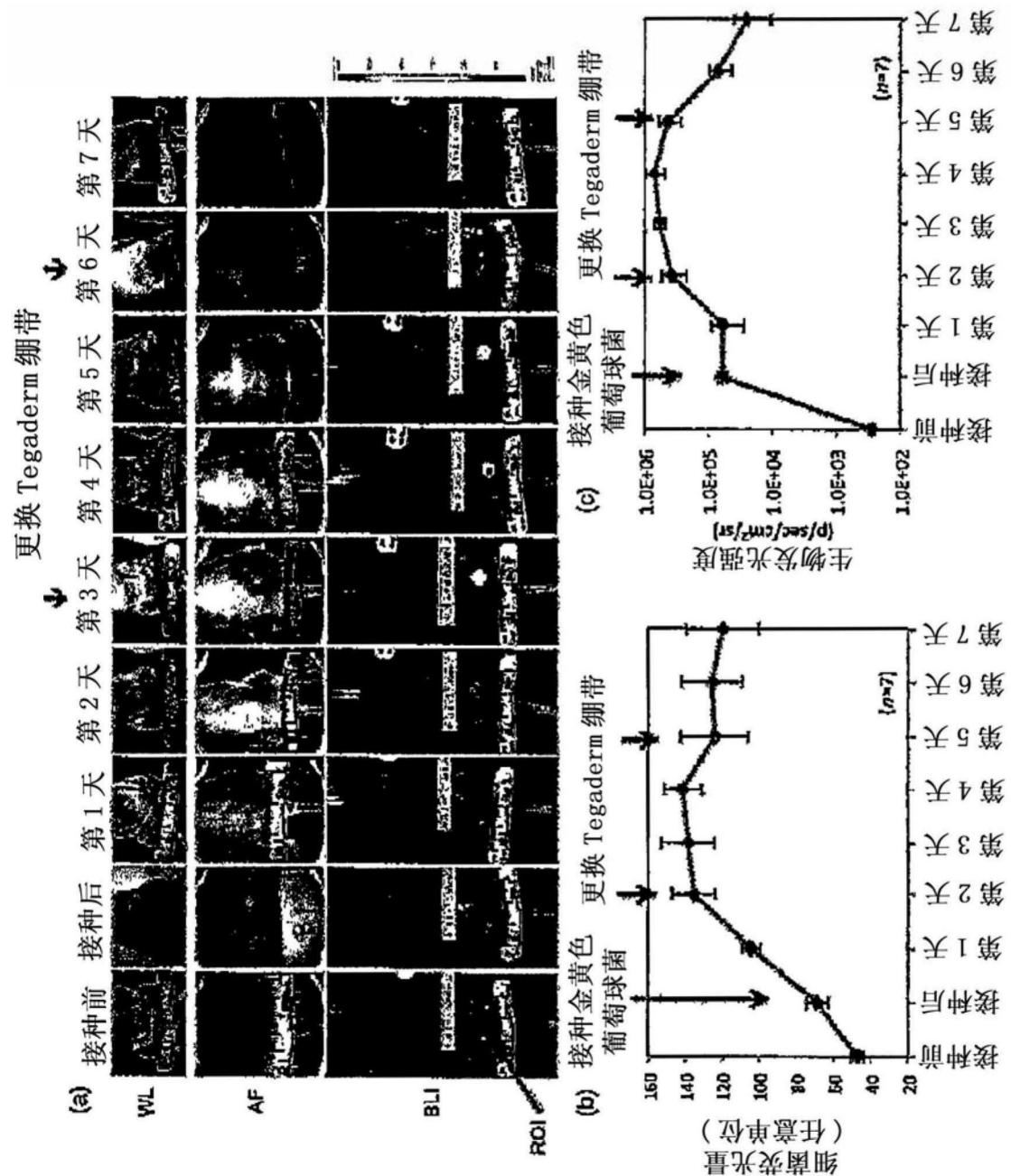


图9

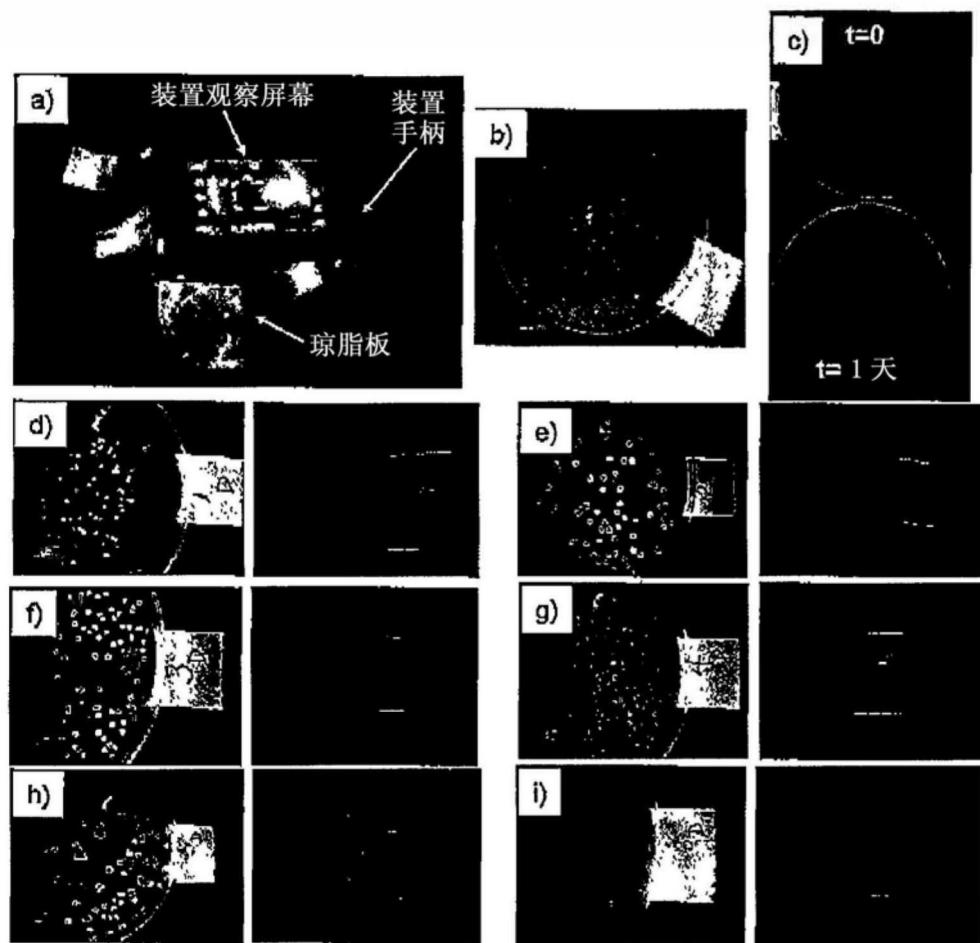


图10

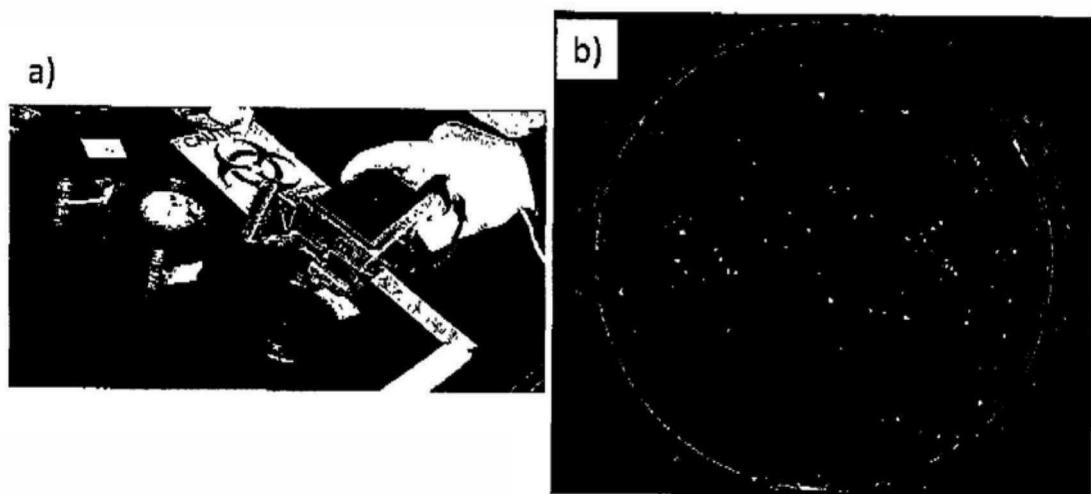


图11

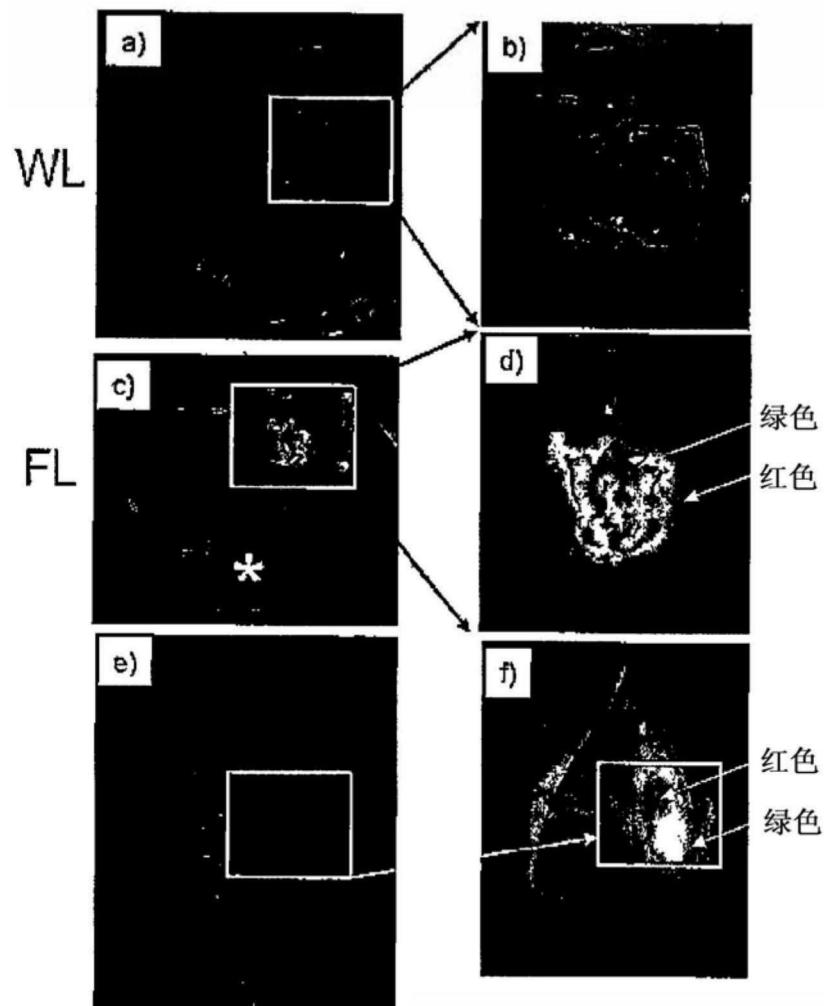


图12

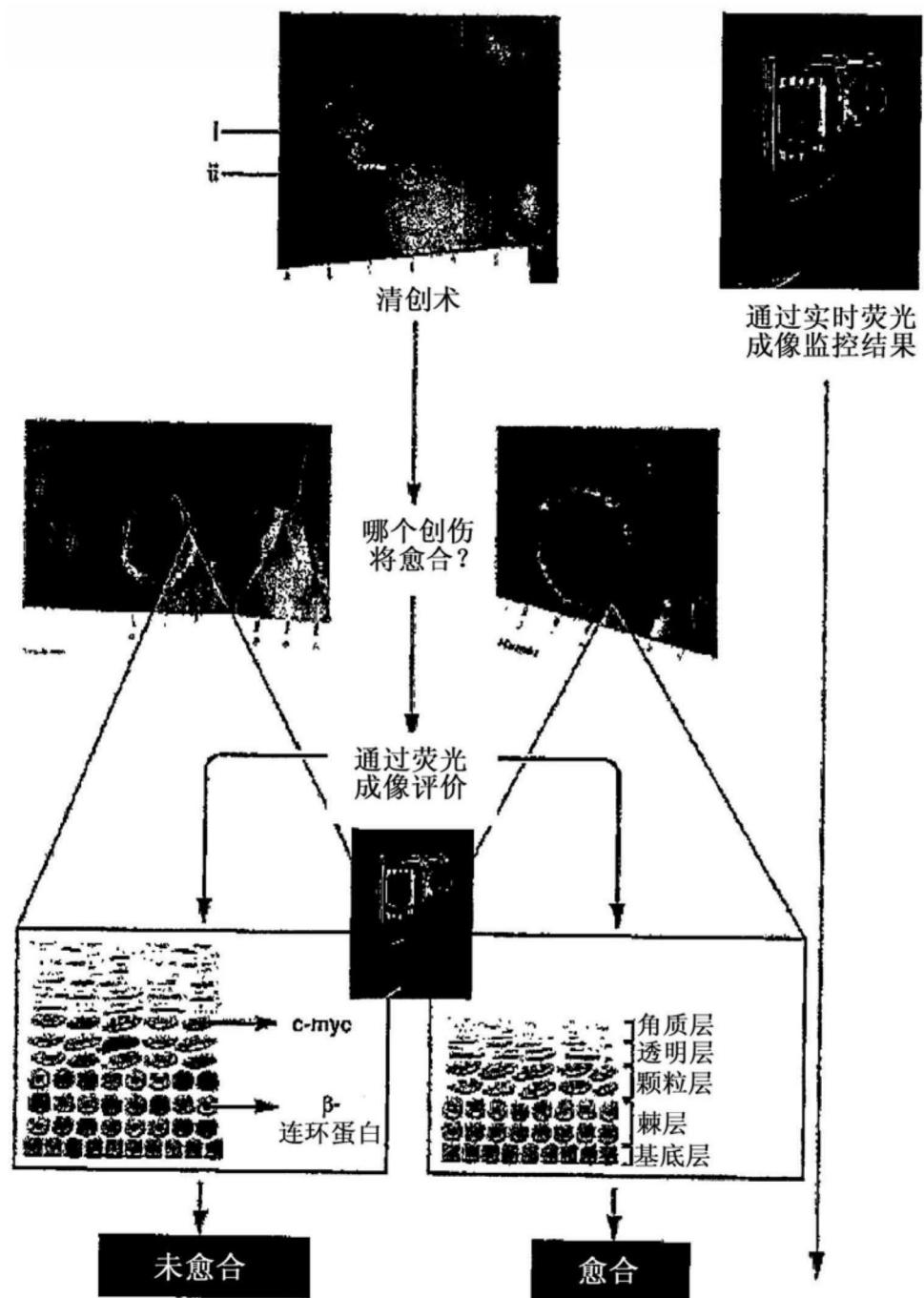


图13

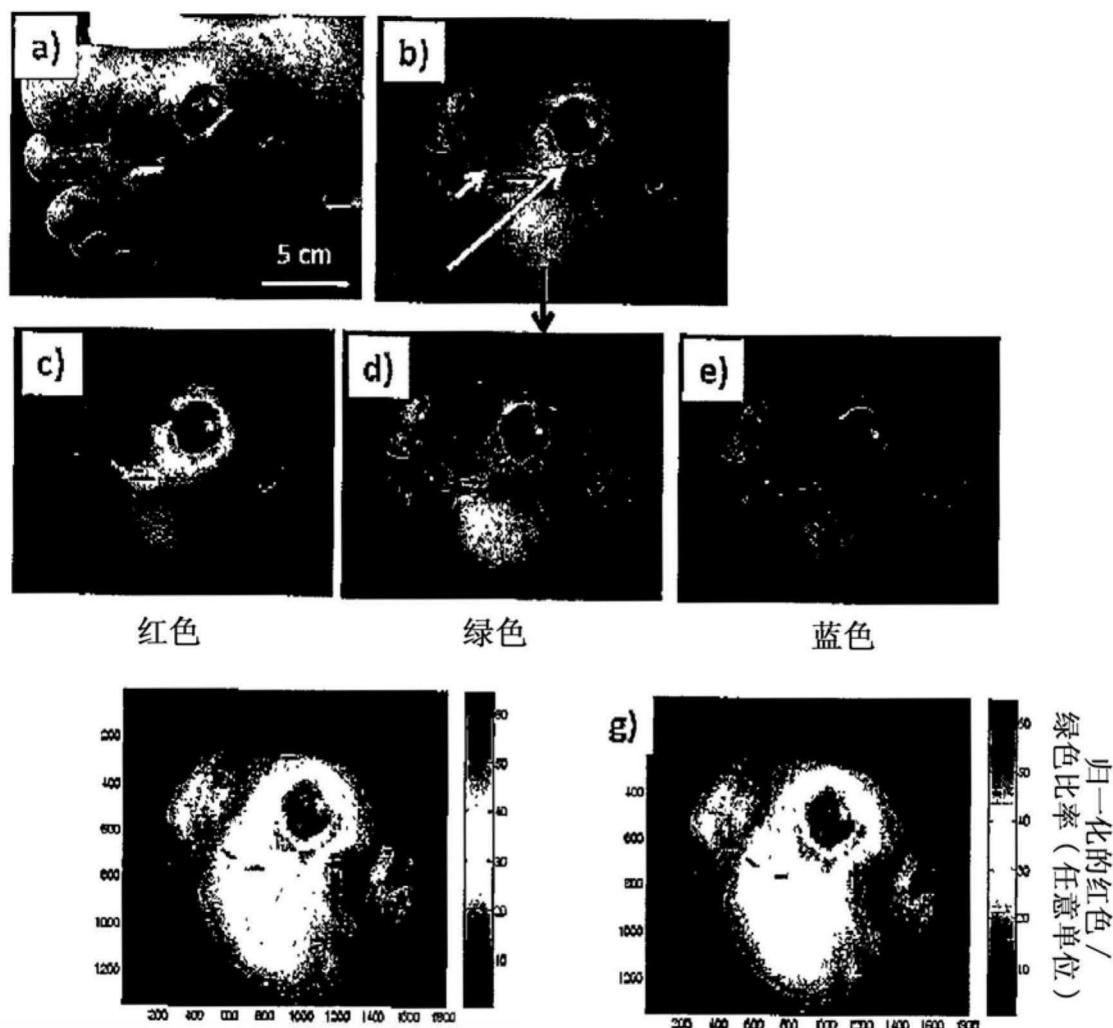


图14

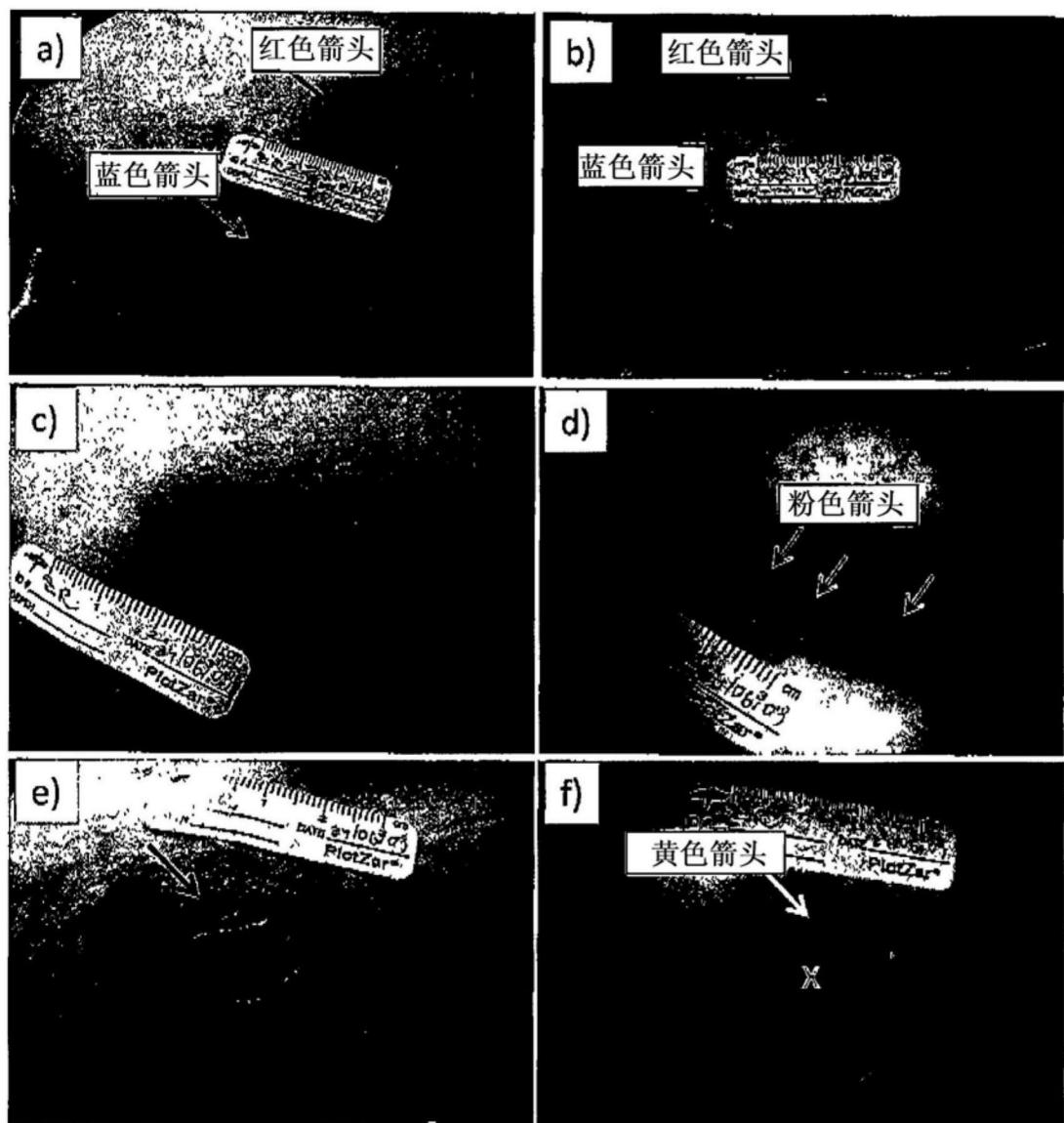


图15

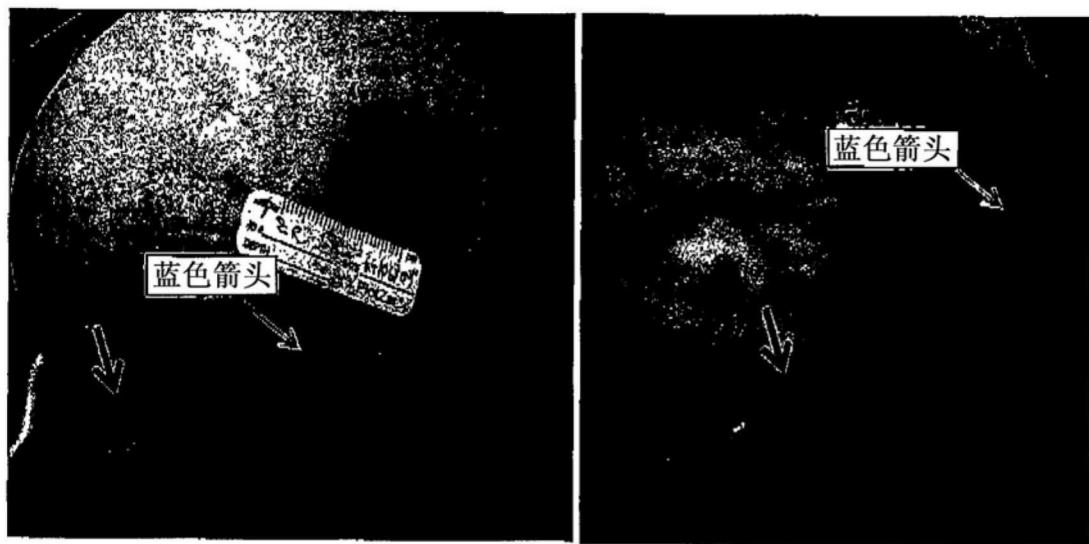


图16

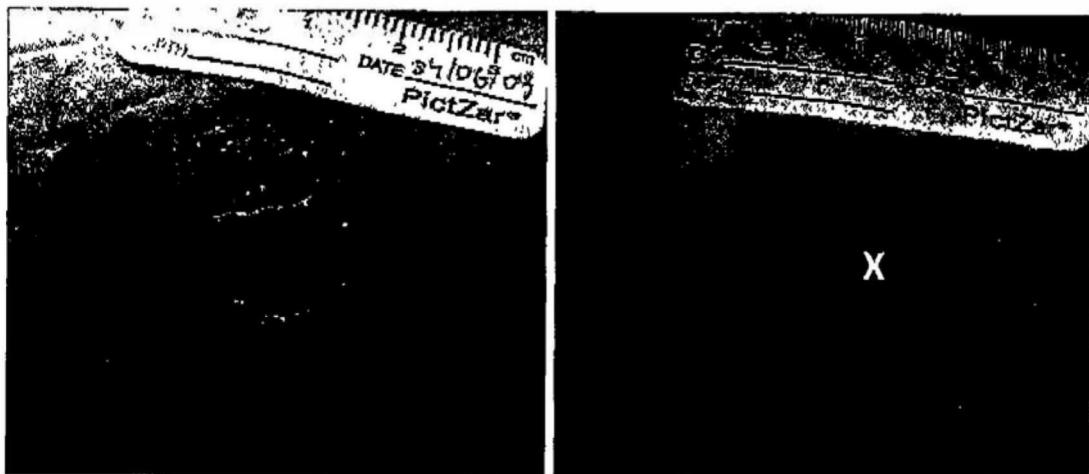


图17

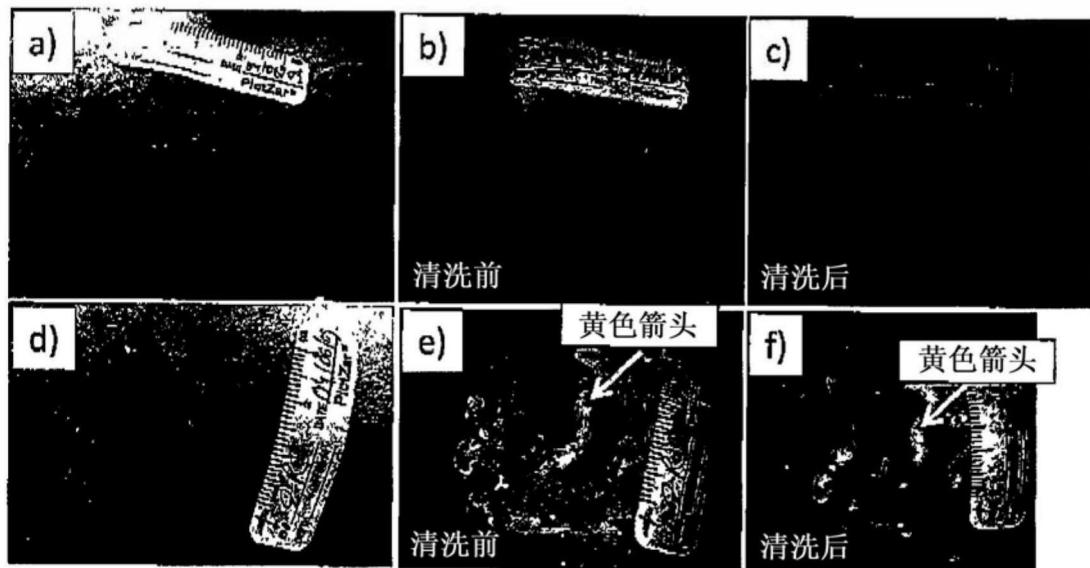


图18

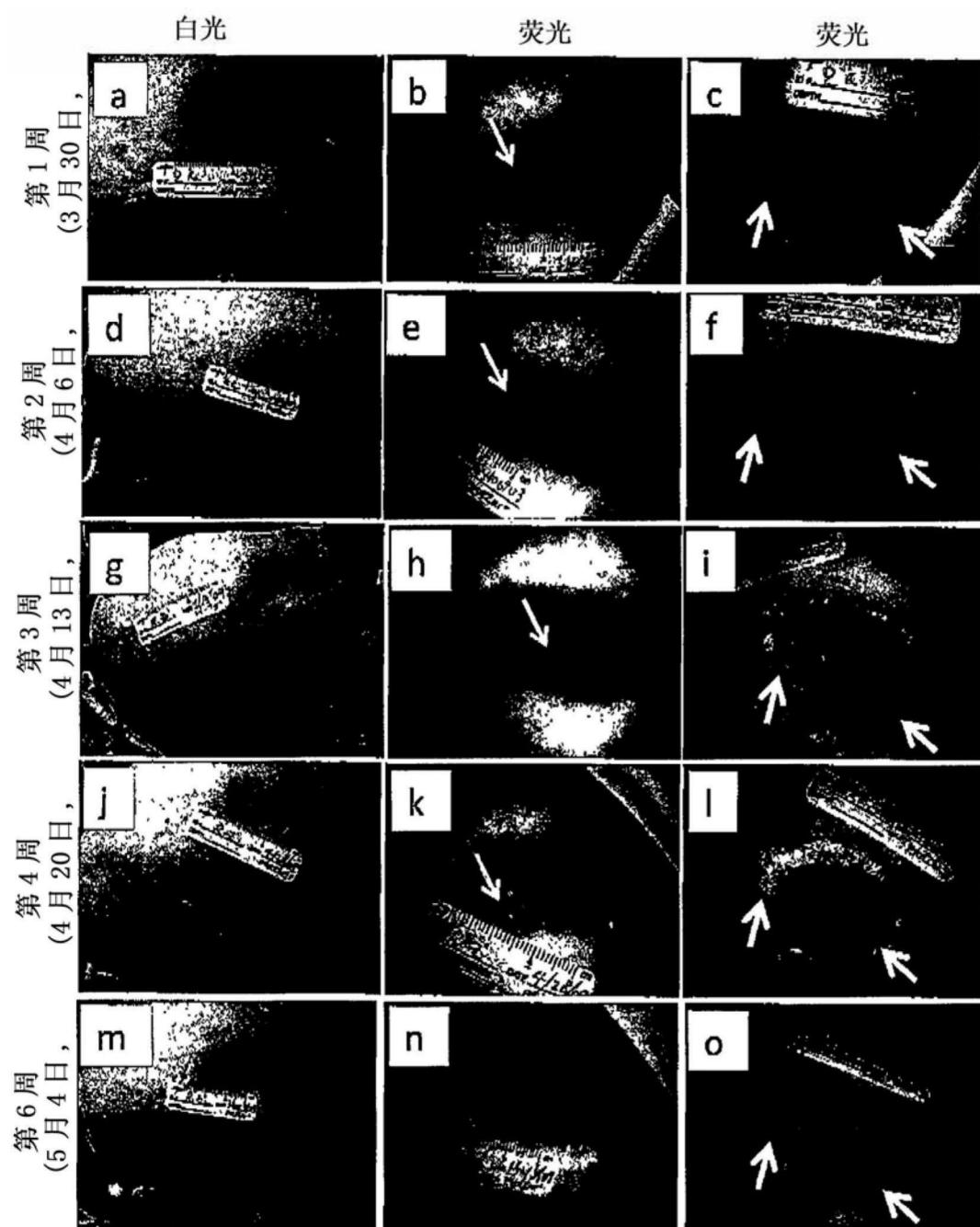


图19

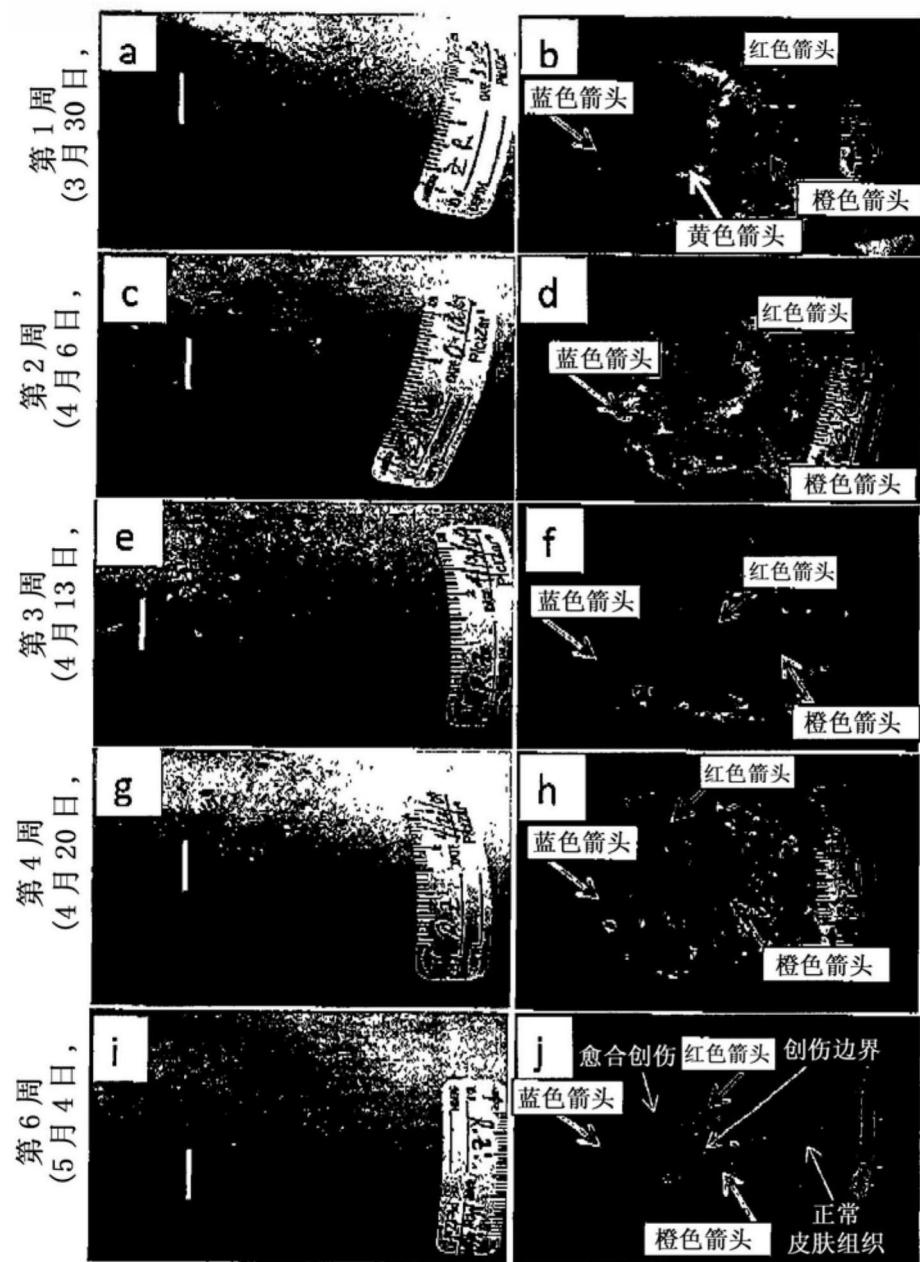


图20

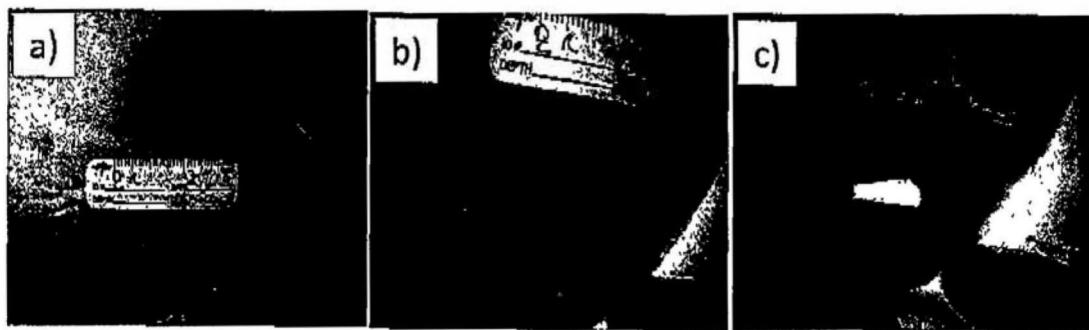


图21

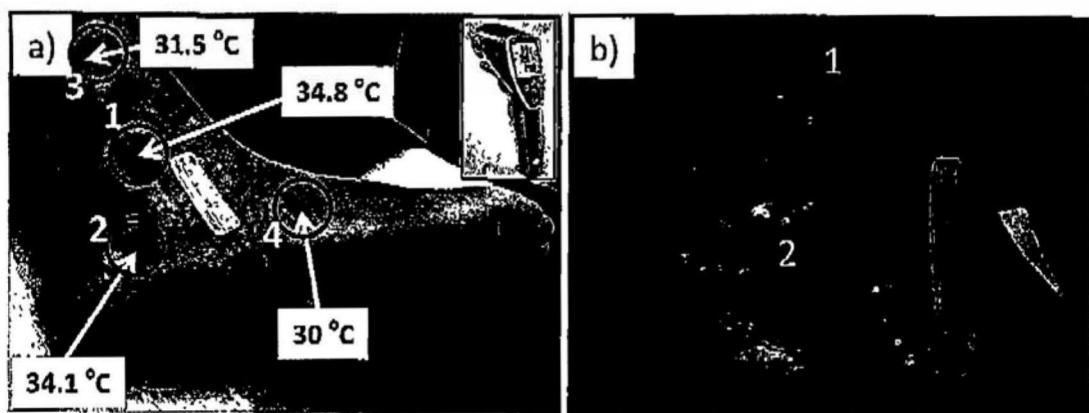


图22

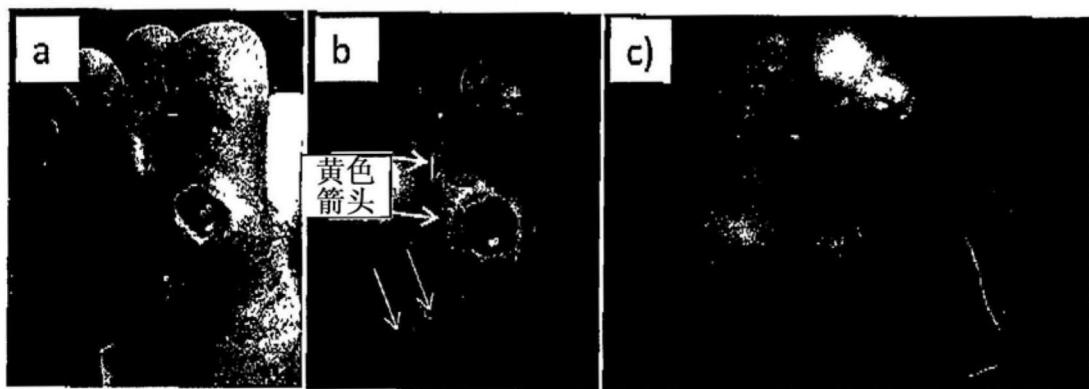


图23

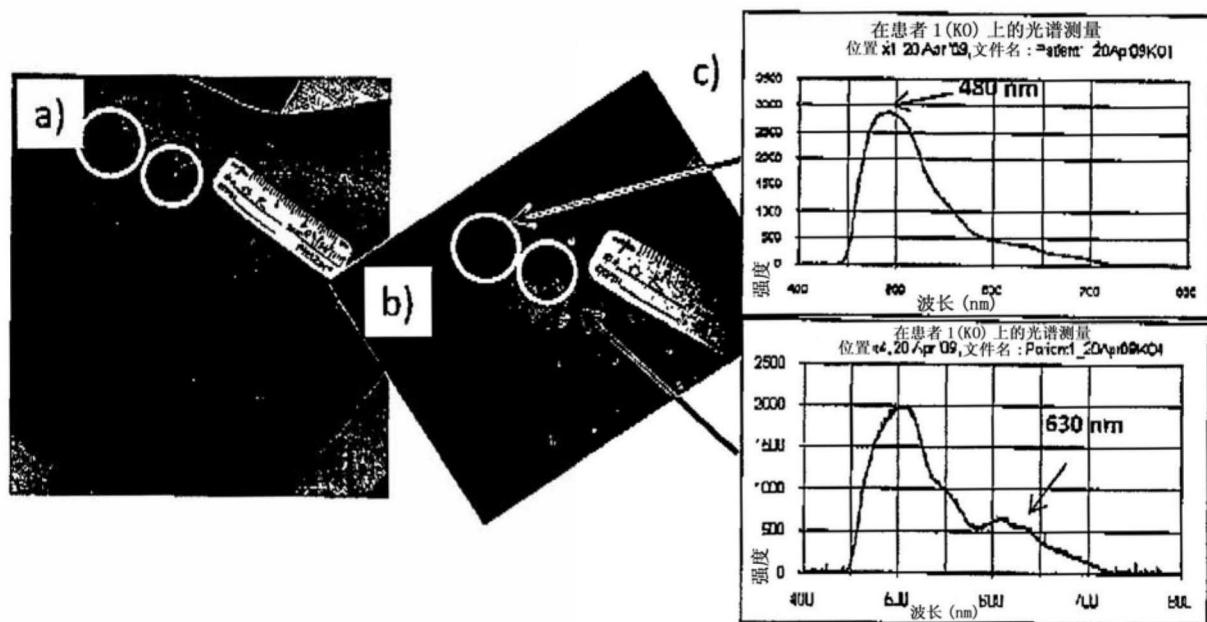


图24

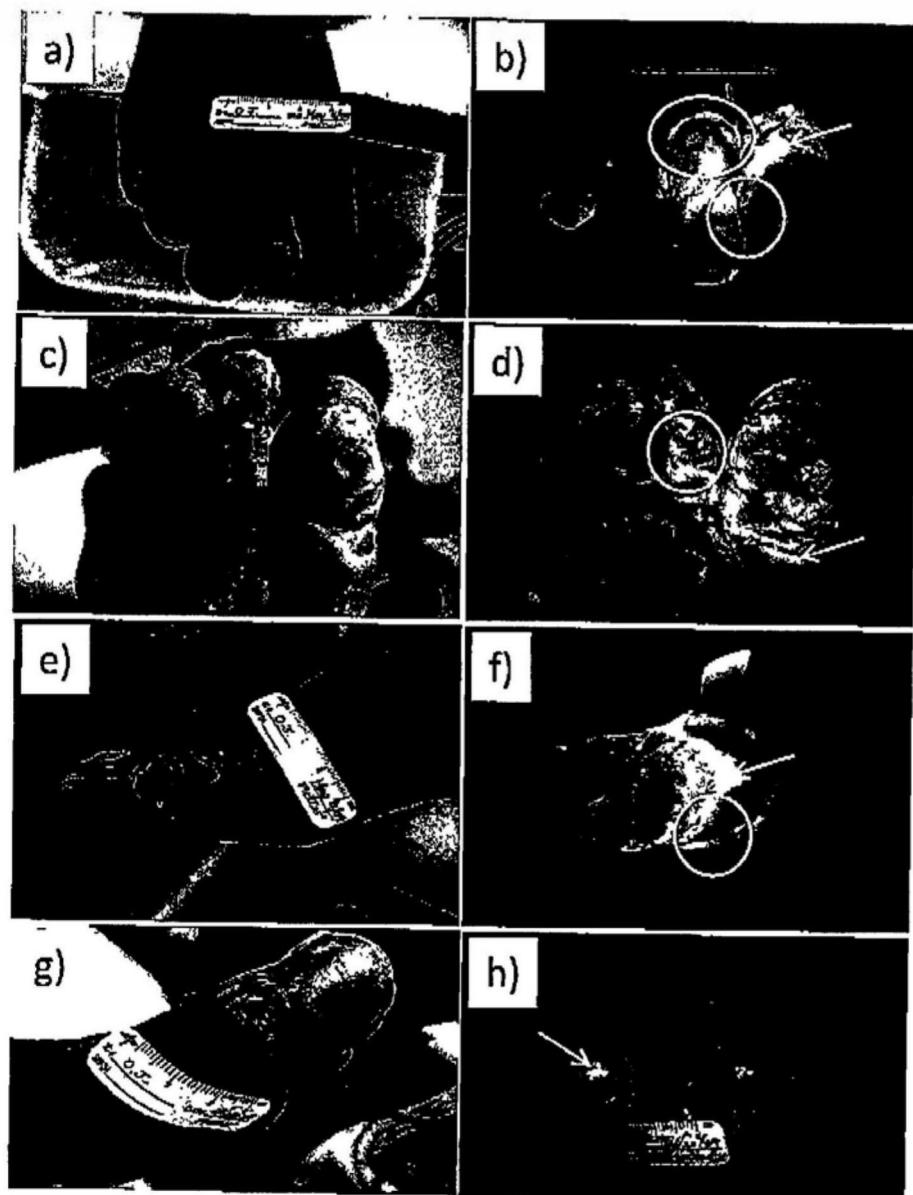


图25

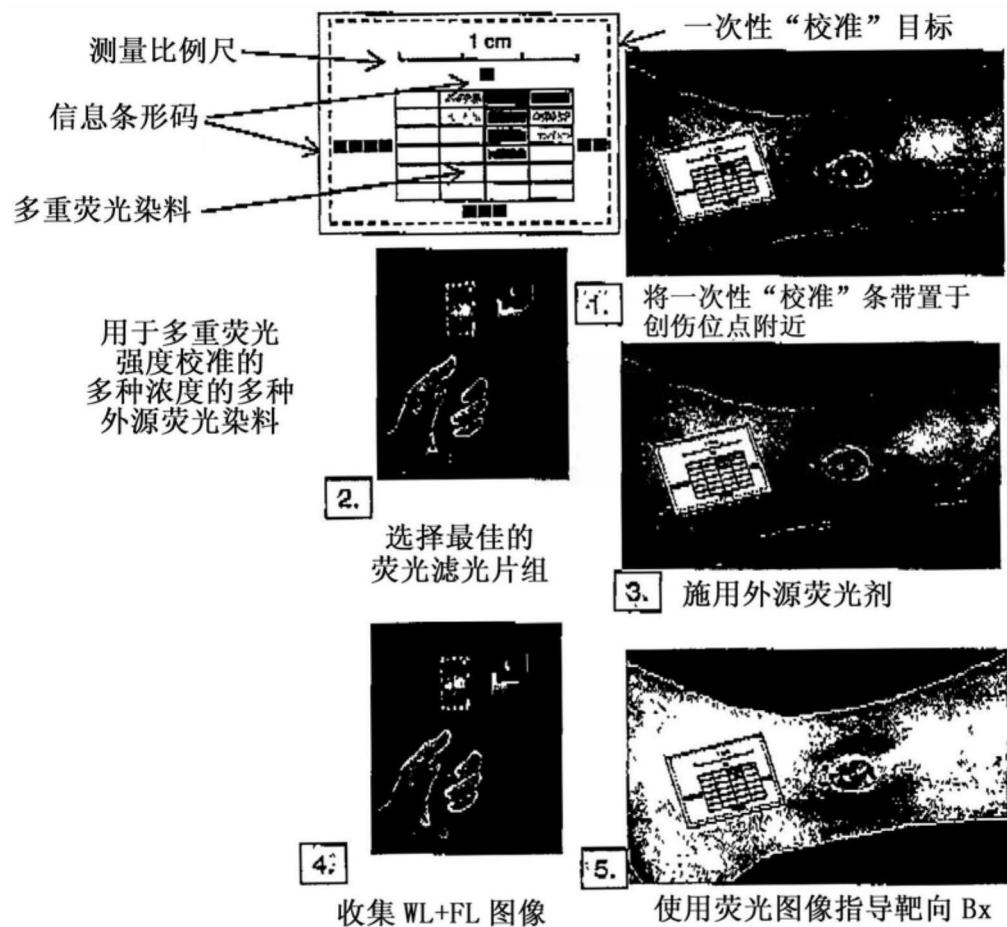


图26

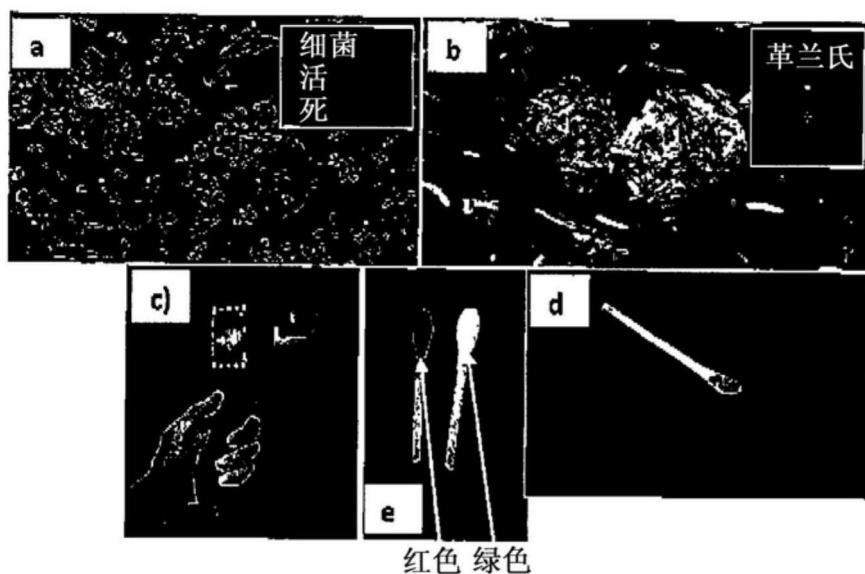


图27

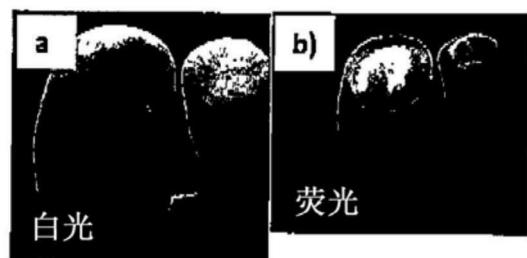


图28

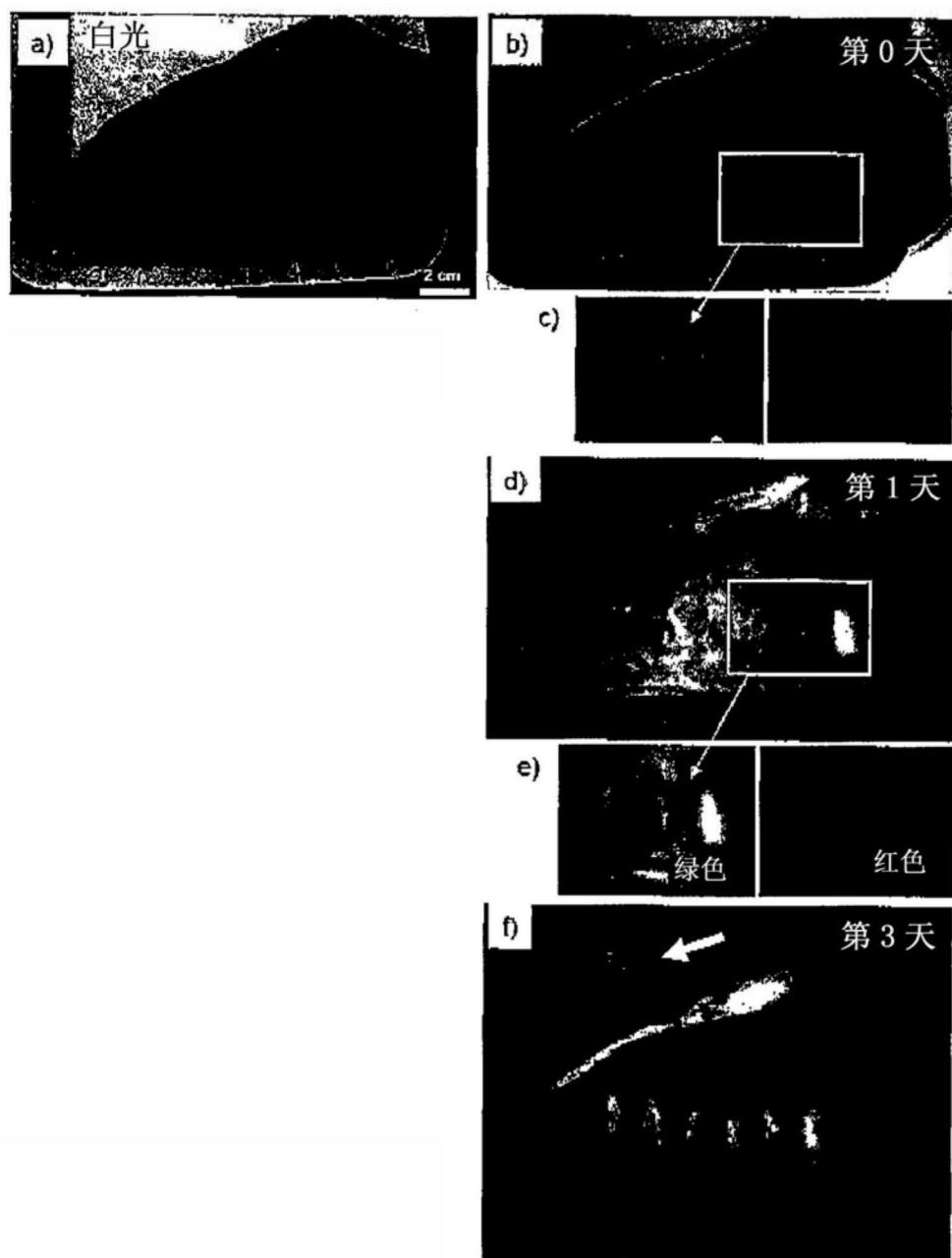


图29

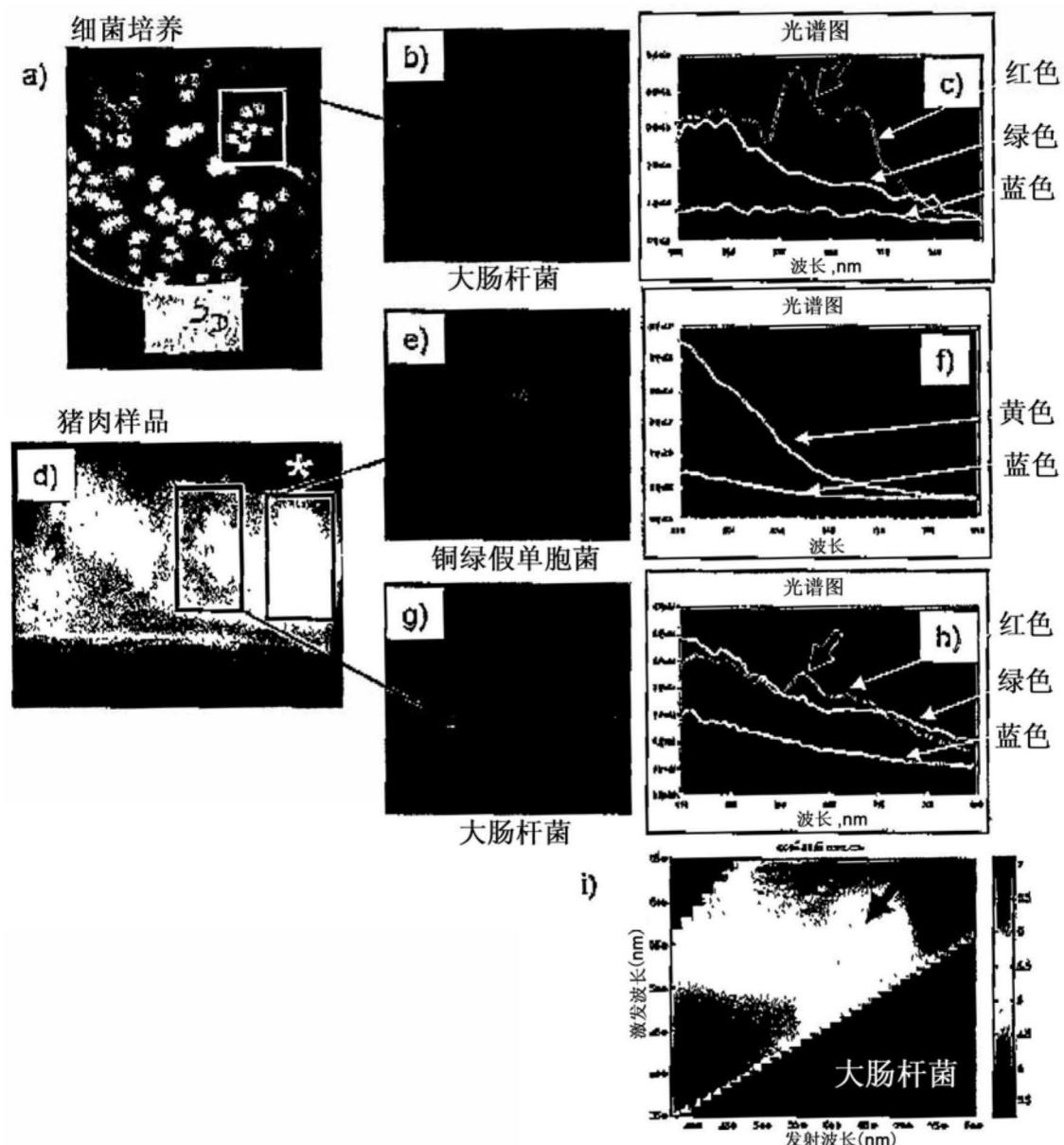


图30

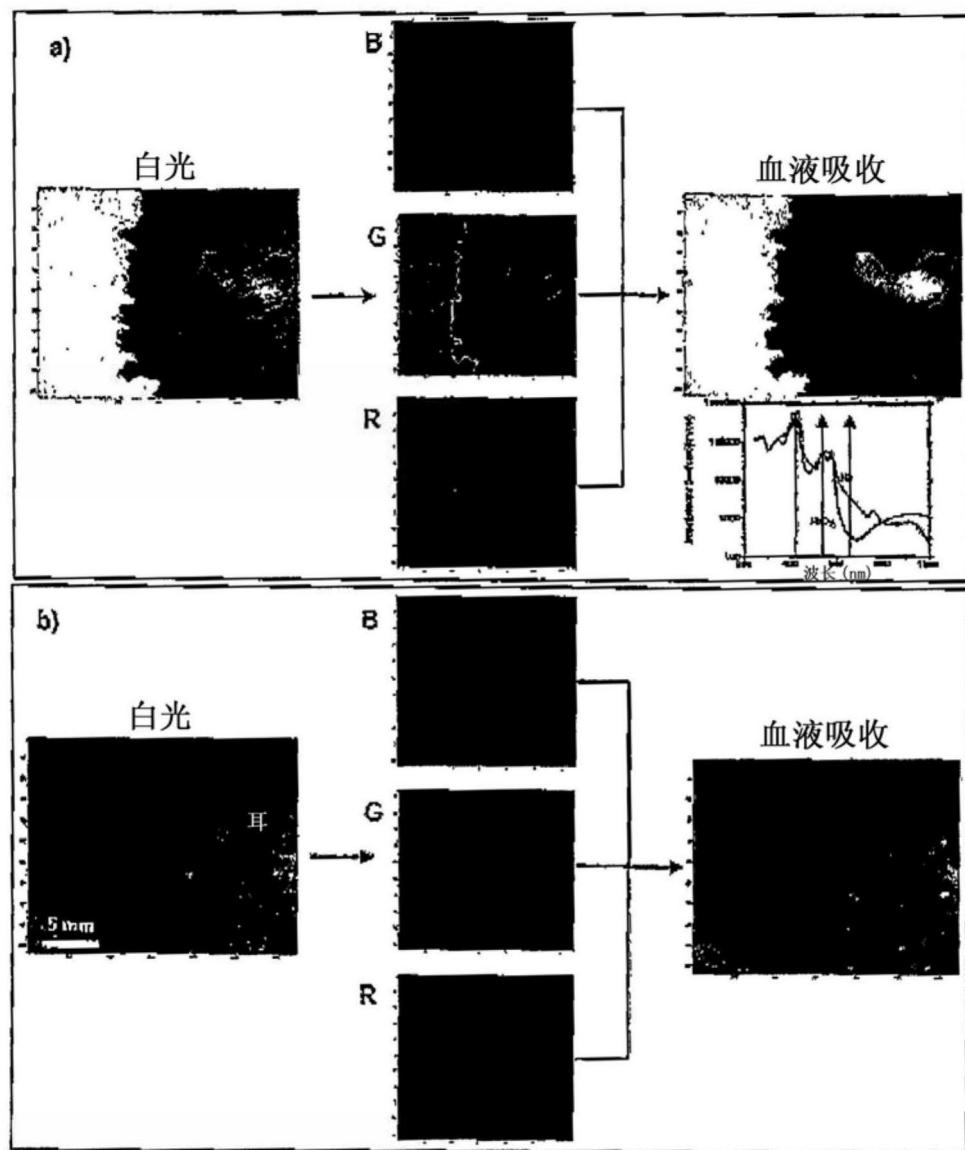


图31

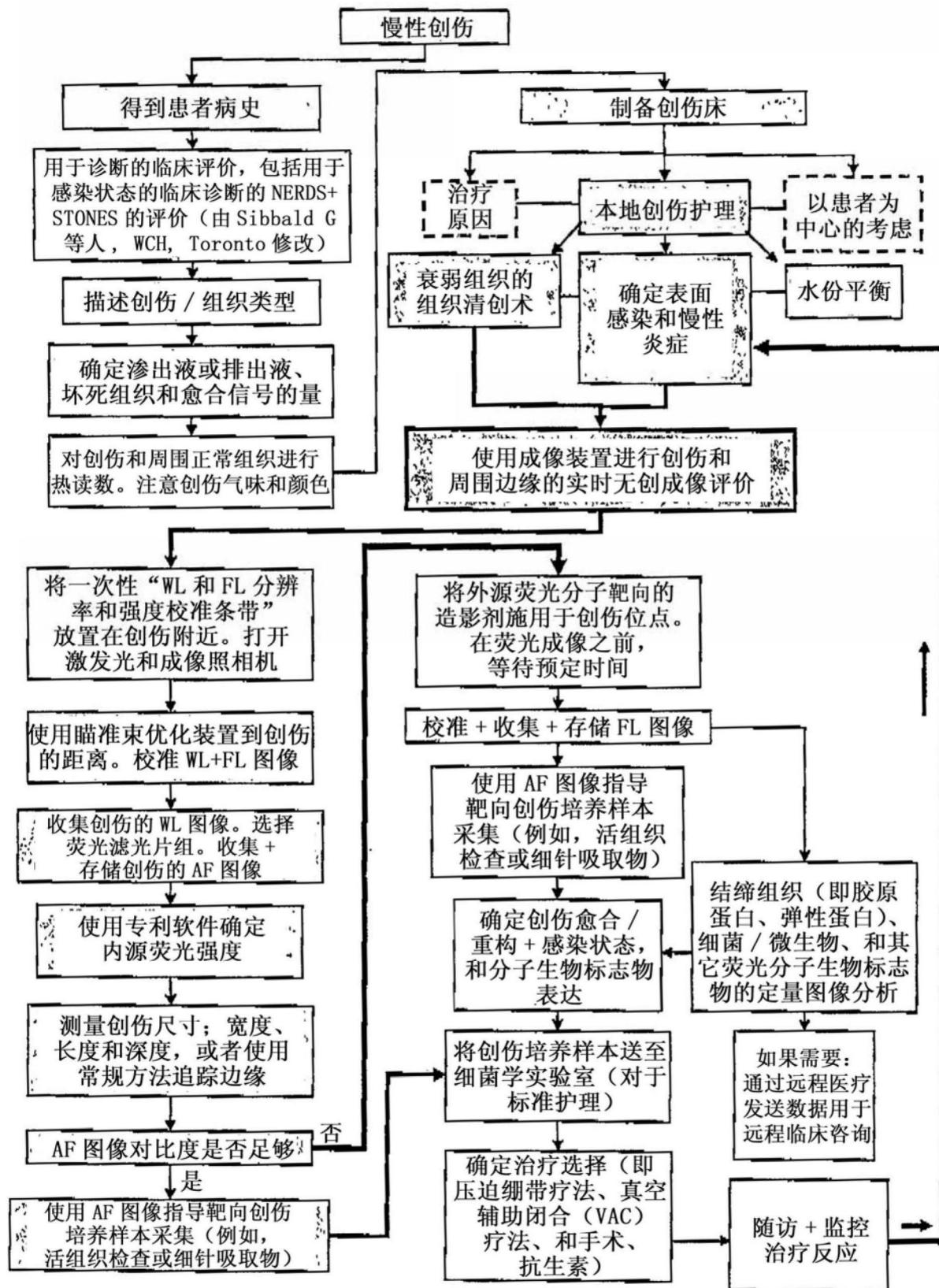


图32

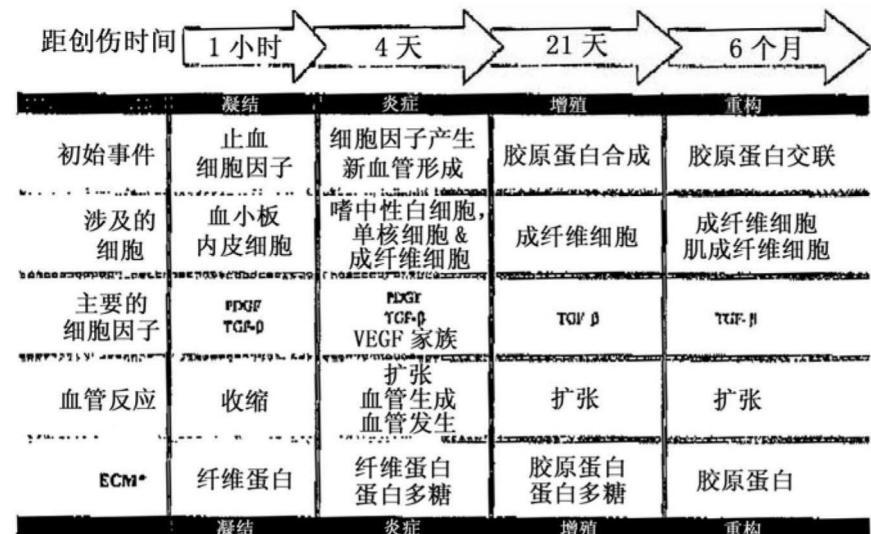


图33

	糖尿病患者中 的慢性创伤	糖尿病小鼠 / 大鼠中的创伤
大分子		
神经计数	↓	↓
血管生成	↓	↓
肉芽组织形成	↓	↓
胶原蛋白含量	↓	↓
酶活性		
NEP	↑	↑
NOS	↑↑	↓
精氨酸酶	↑	↑(小鼠, 慢性) ↓(大鼠)
MMPs	↑	↑
TIMP浓度	↓	—
嗜中性白细胞弹性蛋白酶	↑	—
组织蛋白酶 G	↑	—
生长因子和受体		
IGF-1	↓	↓
IGF-2	↑	↑(mRNA)
IGF-RI (mRNA)	—	↓
TGF-β1	↓	↓
TGF-β2	↑	—
TGF-β3	↑	—
TGF-βR1 和 -R2	↓	—
PDGF	—	↓
PDGF-R	—	↓
KGF (mRNA)	—	↓
aFGF (mRNA)	—	↓
bFGF (mRNA)	—	↓
FGF-R1, -2, -3 (mRNA)	—	↓
IL-6	↑	↓
VEGF	↑	↓
NGF	—	↓
MIP-2	—	↑
MCP-1	—	↑↑
TNFα (mRNA)	—	↑
IL-1β (mRNA)	—	↑
其它		
GSH	↓	↓

图34

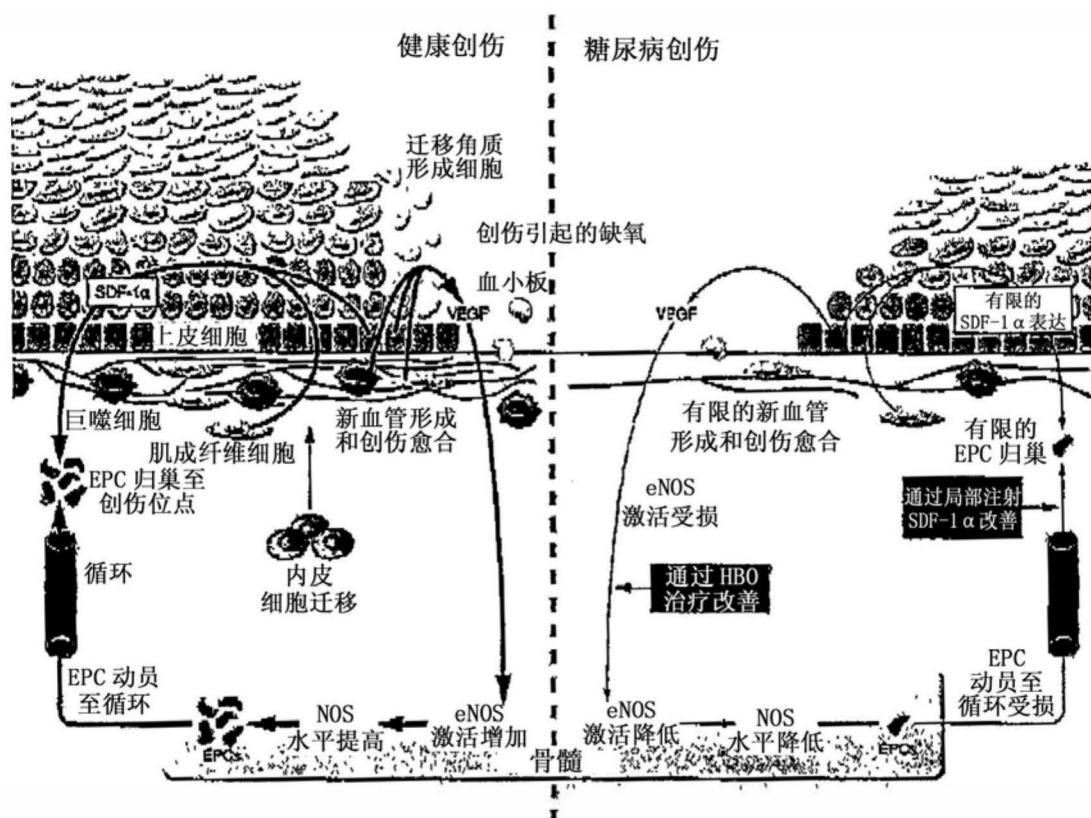


图35

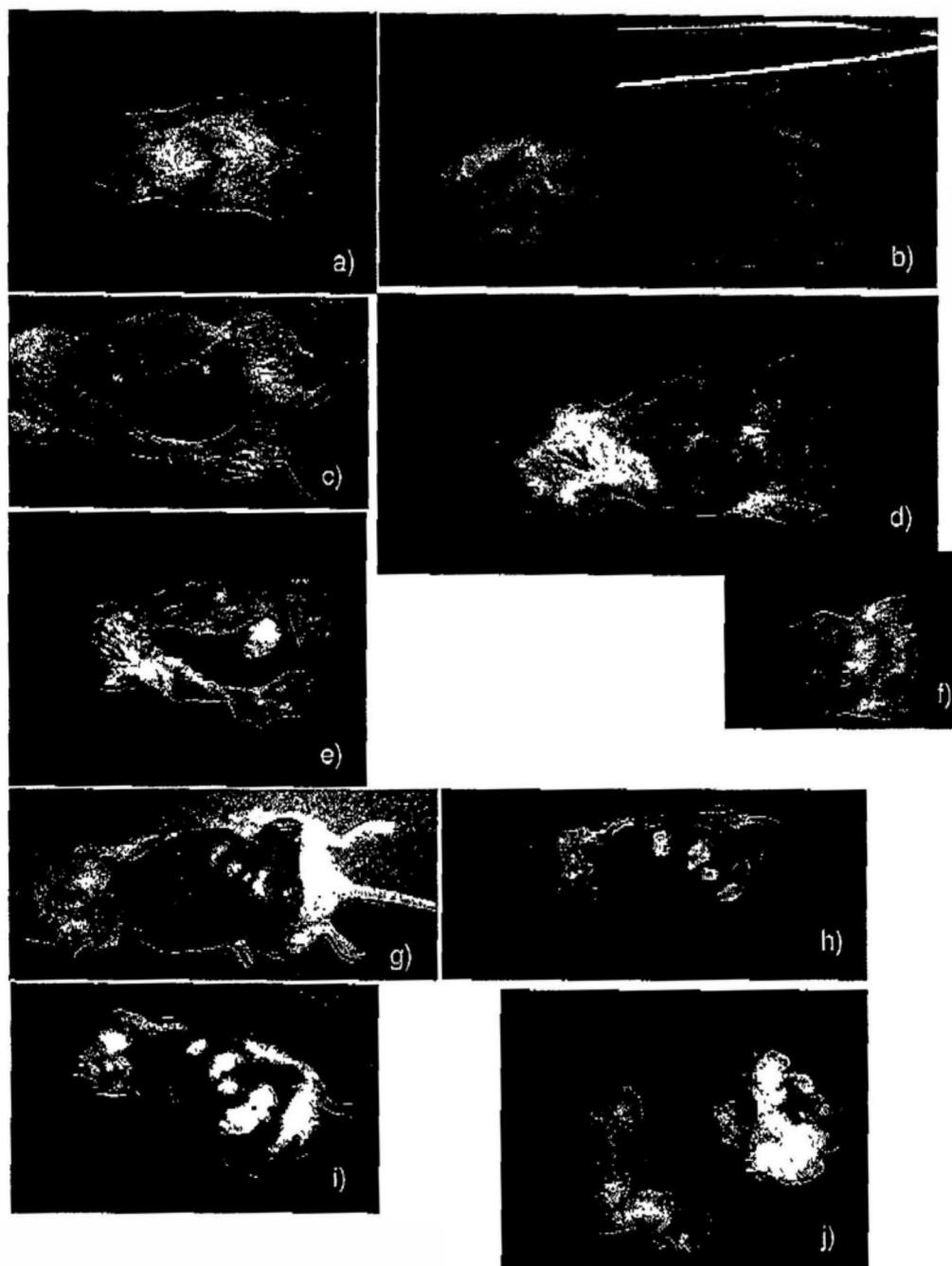


图36

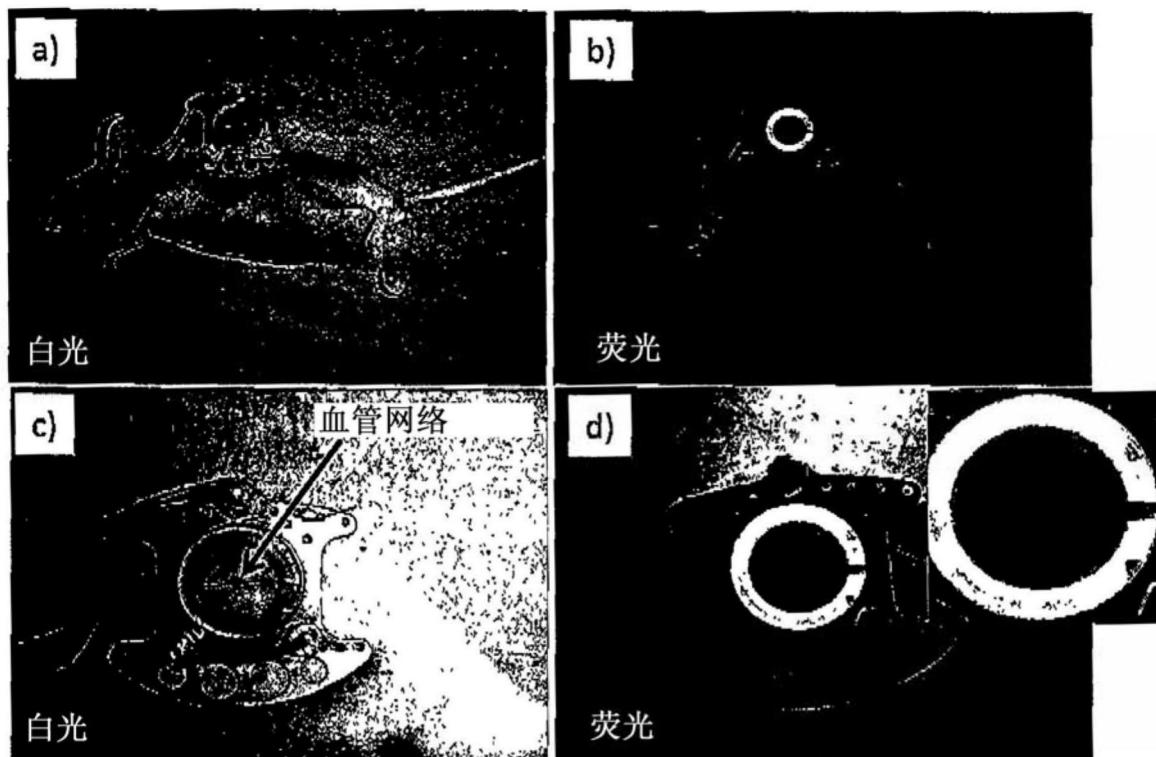


图37

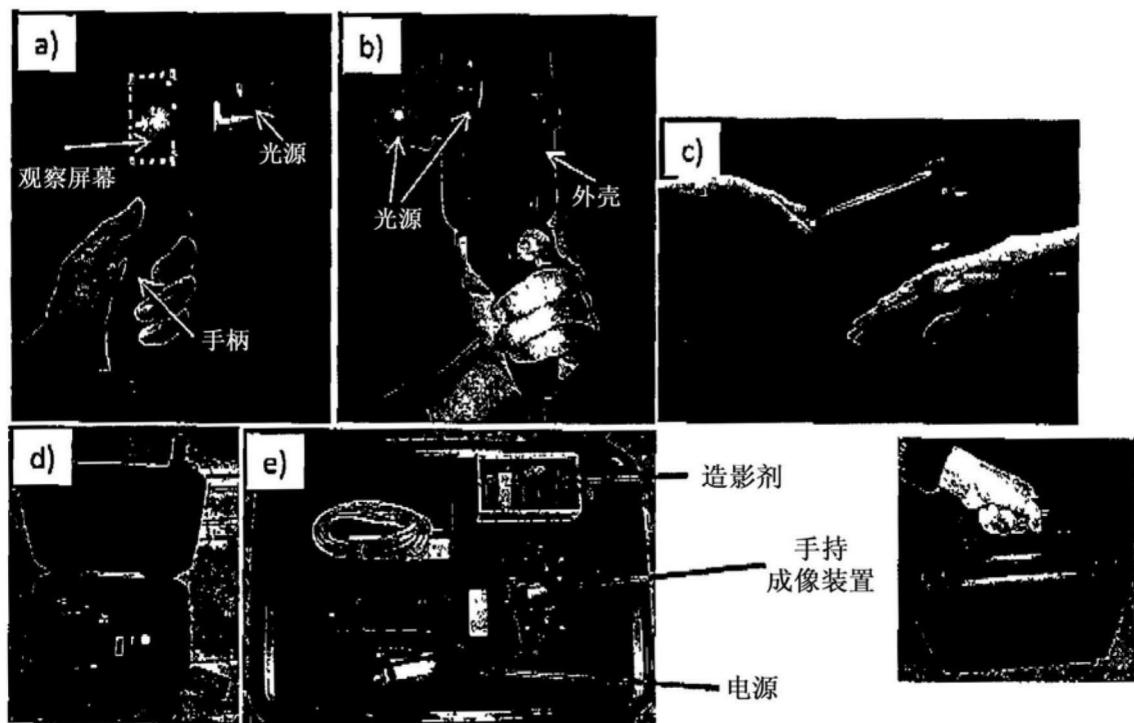


图38