

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 967 384**

51 Int. Cl.:

<b>G01B 11/24</b>	(2006.01)
<b>G01B 11/25</b>	(2006.01)
<b>G01N 21/64</b>	(2006.01)
<b>G01S 17/89</b>	(2010.01)
<b>G06T 15/00</b>	(2011.01)
<b>G06T 7/30</b>	(2007.01)
<b>G06T 7/50</b>	(2007.01)
<b>G16H 30/40</b>	(2008.01)
<b>A61B 5/107</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.01.2020 PCT/IB2020/050380**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.07.2020 WO20148721**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2020 E 20741439 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2023 EP 3911919**

54 Título: **Sistemas, métodos y dispositivos para obtención de imágenes tridimensionales, medición y visualización de heridas y muestras de tejido**

30 Prioridad:

**17.01.2019 US 201962793837 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.04.2024**

73 Titular/es:

**UNIVERSITY HEALTH NETWORK (100.0%)  
190 Elizabeth Street R. Fraser Elliott Building -  
Room 1S-417  
Toronto, Ontario M5G 2C4, CA**

72 Inventor/es:

**DACOSTA, RALPH y  
DUNHAM, DANIELLE**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 967 384 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, métodos y dispositivos para obtención de imágenes tridimensionales, medición y visualización de heridas y muestras de tejido

5

**Campo técnico**

La presente divulgación se refiere a sistemas y métodos de corrección de datos de imágenes multimodales para crear representaciones tridimensionales.

10

**Introducción**

Las heridas se manifiestan en una amplia gama de poblaciones de pacientes. Aunque las heridas pueden ser el resultado de innumerables causas diferentes, desde una lesión traumática repentina hasta causas más graduales, como el reposo prolongado en cama y las afecciones metabólicas, uno de sus principales puntos en común y problemas puede ser la caracterización precisa. Tradicionalmente, las heridas se han caracterizado sólo por la vista, lo que proporciona relativamente poca información sobre el número y los tipos de células que pueblan el lecho de la herida. Incluso si se emplea un dispositivo de imágenes, las imágenes obtenidas suelen ser bidimensionales. Una imagen bidimensional puede ser bastante restrictiva a la hora de evaluar la cicatrización de heridas porque una herida puede mantener un área plana relativamente constante mientras sufre cambios significativos en profundidad. Una caracterización mejorada de las heridas ayudaría al médico a comprender mejor si un tratamiento determinado está funcionando e identificar mejor qué tratamientos tendrían la mayor eficacia para una herida en particular.

15

20

25

30

35

Identificar con precisión los márgenes tumorales en una muestra quirúrgica de lumpectomía o mastectomía (mama), así como la correspondiente lecho quirúrgico, sigue siendo un problema importante en la cirugía conservadora de mama. Identificar la ubicación exacta de los tejidos tumorales residuales en el lecho quirúrgico cuando se encuentran márgenes positivos en la muestra quirúrgica también sigue siendo un desafío. Los abordajes convencionales no son óptimos y no se realizan en tiempo real en el quirófano. Por ejemplo, convencionalmente, si una muestra quirúrgica tiene un margen positivo, el cirujano extirpa el tumor correspondiente en el lecho quirúrgico raspando capas de tejido sustancialmente gruesas y lateralmente extensas para lograr márgenes negativos. Este procedimiento impreciso reduce las posibilidades de preservar suficiente tejido mamario sano, dificultando el esfuerzo de conservación. Existen problemas similares para otros cánceres y procedimientos, por ejemplo, extirpación del melanoma. Caracterización de daños y patologías tisulares, por ejemplo, heridas, así como la eliminación de tejidos generalmente necesitan herramientas y técnicas mejoradas para una mayor precisión y exactitud.

40

El documento US 2014/218720 A1 muestra un detector sensible a la radiación emitida por una fuente dentro de una estructura tridimensional de interés. El detector puede ser una cámara gamma que proporciona una imagen bidimensional de la radiación que ingresa a la cámara a través de una abertura y golpea el material en un plano posterior, dicho material es sensible a la deposición de energía de los rayos gamma incidentes. Fijada rígidamente al cuerpo de la cámara gamma hay una cámara de profundidad para registrar la ubicación de la superficie de la estructura tridimensional con respecto a la cámara gamma.

45

50

El documento US 2014/378843 A1 divulga un sistema de imágenes que ilumina un objetivo. Un microscopio quirúrgico recibe luz desde el objetivo, comprendiendo el microscopio quirúrgico al menos un puerto de salida óptica en donde al menos una porción de la luz recibida se proporciona como salida del microscopio quirúrgico. Un filtro sintonizable recibe la porción de la luz recibida para pasar una porción filtrada de la luz recibida: la porción filtrada de la luz recibida tiene una pluralidad de longitudes de onda seleccionadas por el filtro sintonizable y proporcionadas como salida del filtro sintonizable. Una cámara de alta resolución, electrónica de ancho de banda ancho recibe la luz de una pluralidad de longitudes de onda seleccionadas por el filtro sintonizable y convierte la luz de una pluralidad de longitudes de onda seleccionadas por el filtro sintonizable en una pluralidad de señales eléctricas. Un procesador procesa la pluralidad de señales eléctricas para formar una imagen del objetivo.

55

El documento US 2014/378843 A1 describe un dispositivo de imágenes que utiliza múltiples cámaras para obtener imágenes de una muestra biológica en un plato giratorio bañado en luz blanca o fluorescente debido a un tinte administrado sistémicamente. La fluorescencia más alejada de una fuente de luz de excitación se compensa al determinar una posición en 3-D de porciones de la muestra.

**Sumario**

60

En cualquiera de las reivindicaciones 1-13 se describe un método para generar una imagen tridimensional de un objetivo utilizando imágenes bidimensionales según la invención.

En la reivindicación 14 se describe un dispositivo de formación de imágenes según la invención.

65

En la reivindicación 15 se describe un programa informático según la invención.

Objetos y ventajas adicionales de la presente divulgación se expondrán en parte en la descripción que sigue, y en parte son a partir de la descripción, o pueden aprenderse mediante práctica de la presente divulgación. Los objetos y ventajas de la presente divulgación se pueden lograr mediante los elementos y combinaciones particularmente señalados en las reivindicaciones adjuntas.

5 Tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ilustrativas y explicativas y no son restrictivas de la presente divulgación, de acuerdo con lo reivindicado.

10 Los dibujos adjuntos, que están incorporados en la presente memoria descriptiva y forman parte de la misma, ilustran una (varias) realizaciones de la presente divulgación y junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la presente divulgación.

### Breve descripción de los dibujos

15 La figura 1 es una fotografía con luz blanca de un espectro de tejido marcado con marcadores fiduciales de fluoresceína en la superficie y con PPIX fluorescente inyectado justo debajo de la superficie. El espectro de tejido es un trozo de tejido de cerdo que se utiliza para simular una muestra de tejido de lumpectomía mamaria.  
La figura 2A es una imagen tridimensional de la superficie con luz blanca del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

20 La figura 2B es una imagen tridimensional de la superficie con luz blanca del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.  
La figura 3A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.  
La figura 3B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido más malla desde un

25 segundo ángulo de visión.  
La figura 4A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.  
La figura 4B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

30 La figura 5A es una imagen de malla/superficie sin procesar del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.  
La figura 5B es una imagen de malla/superficie sin procesar del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.  
La figura 6A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del espectro de tejido desde un primer

35 ángulo de visión.  
La figura 6B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.  
La figura 7A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.  
La figura 7B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del espectro de tejido más malla desde

40 un segundo ángulo de visión.  
La figura 8A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.  
La figura 8B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

45 La figura 9A es una imagen de malla/superficie sin procesar del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.  
La figura 9B es una imagen de malla/superficie sin procesar del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

50 La figura 10A es una primera vista del espectro de tejido que tiene fiduciales de CT superpuestos sobre fiduciales fluorescentes.  
La figura 10B es una segunda vista del espectro de tejido que tiene fiduciales de CT superpuestos sobre fiduciales fluorescentes.  
La figura 11A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido desde

55 un primer ángulo de visión.  
La figura 11B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.  
La figura 11C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

60 La figura 12A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.  
La figura 12B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.  
La figura 12C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido desde un

65 segundo ángulo de visión.  
La figura 13A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido desde

- un tercer ángulo de visión.
- La figura 13B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- 5 La figura 13C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido desde un tercer ángulo de visión.
- La figura 14A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido desde un cuarto ángulo de visión.
- La figura 14B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido desde un cuarto ángulo de visión.
- 10 La figura 14C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido desde un cuarto ángulo de visión.
- La figura 15A es una primera imagen de un segundo espectro de tejido para un modelo de tumor durante la preparación a partir de una paleta de cerdo que tiene una piel similar a la piel humana.
- 15 La figura 15B es una segunda imagen de un segundo espectro de tejido para un modelo de tumor durante la preparación.
- La figura 16 es una imagen del segundo espectro de tejido que muestra el tumor modelo PPIX y también son visibles los marcadores fiduciales de fluoresceína.
- La figura 17A es una imagen de una vista en perspectiva del segundo espectro de tejido expuesto a luz violeta para excitar la fluorescencia.
- 20 La figura 17B es una imagen de una vista en planta de una imagen de emisión del segundo espectro de tejido expuesto a luz violeta para excitar la fluorescencia.
- La figura 18A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- 25 La figura 18B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- La figura 19A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.
- La figura 19B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido más malla desde un segundo ángulo de visión.
- 30 La figura 20A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- La figura 20B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- 35 La figura 21A es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- La figura 21B es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- La figura 22A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- 40 La figura 22B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- La figura 23A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del segundo espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.
- 45 La figura 23B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del segundo espectro de tejido más malla desde un segundo ángulo de visión.
- La figura 24A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- La figura 24B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- 50 La figura 25A es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- La figura 25B es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.
- 55 La figura 26A es una primera imagen de un tercer espectro de tejido para un modelo de herida durante la preparación.
- La figura 26B es una segunda imagen de un tercer espectro de tejido para un modelo de herida durante la preparación.
- La figura 26C es una tercera imagen de un tercer espectro de tejido para un modelo de herida durante la preparación que representa una herida profunda pintada con PPIX para simular la presencia de bacterias en la herida.
- 60 La figura 26D es una cuarta imagen de un tercer espectro de tejido para un modelo de herida durante la preparación que representa tanto una herida profunda como una herida superficial, así como marcadores fiduciales de fluoresceína.
- 65 La figura 27A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.
- La figura 27B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido desde un

segundo ángulo de visión.

La figura 28A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.

5 La figura 28B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido más malla desde un segundo ángulo de visión.

La figura 29A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

La figura 29B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del tercer espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

10 La figura 30A es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

La figura 30B es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

15 La figura 31A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

La figura 31B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del tercer espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

La figura 32A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del tercer espectro de tejido más malla desde un primer ángulo de visión.

20 La figura 32B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del tercer espectro de tejido más malla desde un segundo ángulo de visión.

La figura 33A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

25 La figura 33B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del tercer espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

La figura 34A es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido desde un primer ángulo de visión.

La figura 34B es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido desde un segundo ángulo de visión.

30 La figura 35A es una imagen del tercer espectro de tejido preparado con marcadores fiduciales de CT para una exploración por CT de haz cónico.

La figura 35B es una imagen de exploración por CT de haz cónico del tercer espectro de tejido.

La figura 35C es una imagen del tercer espectro de tejido preparado para una exploración por CT de haz cónico.

35 La figura 35D es una imagen del tercer espectro de tejido sometido a una exploración por CT de haz cónico.

La figura 36A es una imagen del tercer espectro de tejido preparado con fiduciales de CT espacialmente registrados conjuntamente con fiduciales de fluoresceína para una exploración por CT.

La figura 36B es una imagen del tercer espectro de tejido sometido a una exploración por CT.

La figura 37 es una fotografía de una topología de herida medida de acuerdo con la presente divulgación.

La figura 38 es un diagrama de flujo que representa un método de la presente divulgación.

40 La figura 39 es un diagrama de flujo que representa un método de la presente divulgación.

La figura 40 es un diagrama de flujo que representa un método de la presente divulgación.

La figura 41 es un diagrama de flujo que representa un método de la presente divulgación.

### Descripción detallada

45 La presente divulgación permite la creación de imágenes tridimensionales de un objeto que ayudan a un usuario a caracterizar y comprender mejor el objeto para lograr objetivos que antes no eran posibles o para lograr esos objetivos de manera más efectiva que antes. Los tipos de imágenes que contienen información única se pueden combinar de manera que ayude al usuario a visualizar un problema para encontrar una solución más fácilmente. Las imágenes de  
50 fluorescencia que contienen información sobre la ubicación del tejido infectado o canceroso cuando se colocan en el contexto directo de una imagen de luz blanca pueden ayudar al cirujano a eliminar con mayor precisión el tejido afectado y minimizar la necesidad de volver a operar mostrándole al cirujano la información que lleva la fluorescencia en un contexto más familiar. Además, estas imágenes se pueden convertir de imágenes bidimensionales a tridimensionales para superponerlas para guiar al usuario en un entorno de modelo que se aproxima mejor al objeto real. Las imágenes bidimensionales se pueden convertir en imágenes tridimensionales envolviéndolas alrededor de un mapa tridimensional del objeto. El mapa tridimensional puede adoptar muchas formas, por ejemplo, una malla, y se genera mediante la radiación infrarroja y su interacción con el objeto.

60 Si bien el objeto del que se van a tomar imágenes puede ser un área objetivo de un objetivo biológico, el objeto visualizado no se limita en modo alguno a contextos médicos. Por el contrario, los métodos, dispositivos, sistemas y programas de la presente divulgación tienen aplicabilidad en una amplia gama de campos tecnológicos en los que la información proporcionada por la fluorescencia es relevante, por ejemplo, en seguridad alimentaria, desinfección, seguridad, cosméticos, agricultura, horticultura, áreas medicinales, agricultura, campos veterinarios, aduanas fronterizas, control de calidad y análisis forense. Las imágenes pueden incluir una o más imágenes individuales, un  
65 conjunto continuo de imágenes, un conjunto discontinuo de imágenes, un conjunto de imágenes desde una perspectiva común (ángulo), un conjunto de imágenes desde diferentes perspectivas (ángulos), un conjunto de imágenes que

utilizan la misma tecnología de imagen, un conjunto de imágenes que utilizan diferentes tecnologías de imagen, un conjunto de imágenes en intervalos de tiempo y un vídeo. Un vídeo puede comprender uno o más conjuntos de imágenes.

5 De acuerdo con la presente, en la invención se proporciona un método para generar una imagen tridimensional de un objetivo utilizando imágenes bidimensionales. Se genera un mapa tridimensional de un área objetivo asociada con uno o más marcadores fiduciales. Se captura una imagen bidimensional de luz blanca del área objetivo y los marcadores fiduciales. La imagen de luz blanca se puede sustituir por una única longitud de onda o una combinación de longitudes de onda que constituyen un subconjunto de longitudes de onda de luz visible. Se crea una imagen tridimensional de luz blanca a partir de la imagen bidimensional de luz blanca y el mapa tridimensional. Se captura una imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y los marcadores fiduciales. Se crea una imagen de fluorescencia tridimensional a partir de la imagen de fluorescencia bidimensional y el mapa tridimensional. La imagen tridimensional de luz blanca y la imagen tridimensional de fluorescencia se alinean usando los marcadores fiduciales para formar una imagen tridimensional superpuesta. Se representan ejemplos de dichas etapas designadas como 10 15 510, 520, 530, 540, 550 y 560 en la figura 38. El orden de las etapas puede variar. Las imágenes bidimensionales se pueden superponer y luego convertirse colectivamente en una imagen superpuesta tridimensional utilizando el mapa tridimensional. El mapa tridimensional puede tener forma de malla.

20 La captura de la imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y los marcadores fiduciales se puede realizar utilizando cualquier técnica aplicable. Por ejemplo, la captura puede comprender iluminar el área objetivo y los marcadores fiduciales con una luz de excitación, y recibir al menos una emisión de fluorescencia en respuesta a la iluminación del área objetivo con la luz de excitación. Se representan ejemplos de dichas etapas designadas como 25 542 y 544. En la figura 39. La luz de excitación puede comprender una o más longitudes de onda. Por ejemplo, la luz de excitación puede estar entre aproximadamente 400 nm y aproximadamente 450 nm. Un ejemplo de ello es una longitud de onda desde aproximadamente 405 nm. La captura de la imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y los marcadores fiduciales puede comprender capturar una emisión de al menos una molécula fluorescente. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula endógena capaz de emitir fluorescencia. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula endógena capaz de emitir fluorescencia inducida por una molécula exógena. Se puede provocar la inducción, por ejemplo, por acumulación, modificación o ambas de la molécula endógena. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula exógena capaz de emitir fluorescencia, una molécula que comprende un resto añadido exógenamente capaz de emitir fluorescencia, o ambos. Por ejemplo, la al menos una molécula fluorescente puede comprender porfirina inducida por ácido aminolevulínico (ALA).

35 El mapa tridimensional se genera mediante luz infrarroja. El mapa tridimensional se puede generar utilizando luz infrarroja cercana. Por ejemplo, generar el mapa tridimensional puede comprender proyectar radiación infrarroja en el área objetivo, recibir radiación infrarroja reflejada por el área objetivo y medir la profundidad del área objetivo basándose en la radiación infrarroja reflejada para generar el mapa tridimensional. Se representan ejemplos de dichas etapas designadas como 40 512, 514 y 516 en la figura 40. La radiación infrarroja se puede proyectar como un haz dividido en un patrón de luz. La radiación infrarroja reflejada puede comprender una distorsión del patrón de luz, y la profundidad se puede medir basándose en la distorsión del patrón de luz. El patrón de luz puede formarse mediante una rejilla de difracción. El patrón de luz puede comprender una pluralidad de puntos de cualquier tamaño, forma, intensidad o combinación de ambas. Se pueden emplear métodos alternativos para medir la profundidad. Por ejemplo, la profundidad se puede medir mediante el tiempo de vuelo basado en un cambio de fase entre la radiación infrarroja proyectada y reflejada.

De conformidad con la presente divulgación, se pueden realizar las siguientes etapas. Se pueden colocar uno o más marcadores fiduciales en el interior, a lo largo y/o fuera de un perímetro de un área objetivo en una superficie de un objetivo biológico. Se puede generar un mapa tridimensional del área objetivo proyectando radiación infrarroja en el área objetivo, recibir radiación infrarroja reflejada por el área objetivo y medir la profundidad del área objetivo basándose en la radiación infrarroja reflejada para generar el mapa tridimensional. Se puede capturar una imagen bidimensional de luz blanca del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales. La imagen de luz blanca se puede sustituir o generar con una única longitud de onda de luz o una combinación de longitudes de onda de luz que constituyen un subconjunto de longitudes de onda de luz visible. Se puede crear una imagen tridimensional de luz blanca a partir de la imagen bidimensional de luz blanca y el mapa tridimensional. Se puede capturar una imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales. La captura de imágenes bidimensionales de fluorescencia puede comprender exponer el área objetivo y uno o más marcadores fiduciales a al menos una longitud de onda capaz de excitar al menos una molécula fluorescente en el área objetivo y recibir al menos una emisión de fluorescencia de al menos una molécula fluorescente en el área objetivo a través de un filtro. Se puede crear una imagen de fluorescencia tridimensional a partir de la imagen de fluorescencia bidimensional y el mapa tridimensional. La imagen tridimensional de luz blanca y la imagen tridimensional de fluorescencia se pueden alinear usando uno o más marcadores fiduciales para formar una imagen tridimensional superpuesta. El orden de las etapas puede variar. Las imágenes bidimensionales se pueden superponer y luego convertirse colectivamente en una imagen superpuesta tridimensional utilizando el mapa tridimensional. El mapa tridimensional puede tener forma de malla.

65 La imagen bidimensional de luz blanca, la imagen de fluorescencia bidimensional, o cualquier otro tipo de imagen

descrita en el presente documento, se puede capturar usando cualquier cámara adecuada, dispositivo de imagen o sensor de imagen. Por ejemplo, el dispositivo de imágenes MolecuLight i:X disponible en MolecuLight Inc. de Toronto, Ontario, Canadá, que incluye una cámara de 5 megapíxeles, emite a 405 nm, e incluye filtros de emisión de fluorescencia de 500-545 nm y 600-665 nm respectivamente. Se puede utilizar un dispositivo de obtención de imágenes y métodos asociados descritos en la patente estadounidense n.º 9.042.967. De manera alternativa, uno de los dispositivos descritos en la solicitud de patente provisional de EE.UU. n.º 62/625.967, presentada el 2 de febrero de 2018 y titulada "Dispositivos, sistemas y métodos para la visualización y eliminación de tumores", solicitud de provisional patente de EE. UU. n.º 62/625.983, presentada el 3 de febrero de 2018 y titulada "Dispositivos, sistemas y métodos para la visualización y eliminación de tumores", y/o PCT/CA2019/000015, presentada el 1 de febrero de 2019, titulada "Dispositivos, sistemas y métodos para la visualización y eliminación de tumores" y publicado como WO2019/148.268 el 8 de agosto de 2019 se puede utilizar para capturar imágenes de luz blanca y/o imágenes de fluorescencia.

Una pantalla de carga acoplada (CCD), semiconductor complementario de óxido de metal (CMOS), semiconductor de óxido metálico tipo N (NMOS), se puede emplear un sensor de imagen cuántico (QIQ), u otro sensor de imagen, o una combinación de los mismos, para capturar la imagen bidimensional de luz blanca, imagen de fluorescencia bidimensional, o cualquier otro tipo de imagen descrita en el presente documento. La imagen se puede capturar utilizando luz ambiental artificial y/o natural, una o más fuentes de luz dedicadas, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, la imagen se puede capturar utilizando fotografía con flash.

La fuente de luz blanca puede ser luz visible de espectro total o parcial. Por ejemplo, el espectro de luz blanca puede ser desde aproximadamente 380 nm a aproximadamente 740 nm, desde aproximadamente 400 nm a aproximadamente 700 nm, desde aproximadamente 425 nm a aproximadamente 690 nm, desde aproximadamente 450 nm hasta aproximadamente 680 nm, o cualquier rango intermedio del mismo. La fuente de luz blanca puede producirse directamente o inicialmente como luz blanca, formado a partir de fuentes de diferentes longitudes de onda, una fuente de una longitud de onda definida o un rango de longitudes de onda desplazadas, por ejemplo, usando puntos cuánticos (QDots), a múltiples longitudes de onda o a un espectro más amplio de longitudes de onda, o cualquier combinación de los mismos. La imagen blanca se puede sustituir o complementar con un tipo de imagen diferente, por ejemplo, una imagen en color monocromática, una imagen infrarroja, o una imagen ultravioleta, o cualquier combinación de las mismas.

Se puede producir radiación infrarroja, proyectado y recibido utilizando cualquier técnica apropiada, dispositivo, o combinación de los mismos. La radiación infrarroja se puede proyectar como un haz dividido en un patrón de luz, la radiación infrarroja reflejada puede comprender una distorsión del patrón de luz, y la profundidad se puede medir basándose en la distorsión del patrón de luz. Por tanto, la radiación infrarroja puede comprender luz estructurada. El patrón de luz puede estar formado por una rejilla de difracción y el patrón de luz puede comprender una pluralidad de puntos. La medida de profundidad se puede determinar mediante triangulación. La imagen de profundidad infrarroja antes mencionada se puede utilizar en el sistema Microsoft Kinect I (Microsoft Corporation, Redmond, Washington). La radiación infrarroja no estructurada se puede utilizar adicionalmente o como alternativa a la radiación infrarroja estructurada. La profundidad puede medirse adicional o alternativamente mediante uno o más sensores de tiempo de vuelo (ToF), por ejemplo, basado en un cambio de fase entre la radiación infrarroja proyectada y reflejada. Este tipo de imágenes de profundidad infrarroja se puede utilizar en el sistema Microsoft Kinect II. Cualquier cámara infrarroja adecuada, se puede utilizar un sensor, un dispositivo de imágenes o una combinación de los mismos.

La radiación infrarroja proyectada y/o reflejada puede ser desde aproximadamente 700 nm a aproximadamente 1,0 mm, desde aproximadamente 750 nm a aproximadamente 1,0  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 1,0  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 1,25  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 1,25  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 1,5  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 1,5  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 5,0  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 5,0  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 15,0  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 15,0  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 150  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 150  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 250  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 500  $\mu\text{m}$ , desde aproximadamente 500  $\mu\text{m}$  hasta aproximadamente 750  $\mu\text{m}$ , o desde aproximadamente 750  $\mu\text{m}$  hasta aproximadamente 1,0 mm, o un rango intermedio de los mismos, o una combinación de los mismos. La obtención de imágenes infrarrojas se puede realizar en infrarrojo cercano (por ejemplo, desde aproximadamente 0,75  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 1,4  $\mu\text{m}$ ), infrarrojos de longitud de onda corta (por ejemplo, de aproximadamente 1,4  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 3,0  $\mu\text{m}$ ), infrarrojo de longitud de onda media (por ejemplo, de aproximadamente 3,0  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 8,0  $\mu\text{m}$ ), infrarrojos de longitud de onda larga (por ejemplo, desde aproximadamente 8,0  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 15  $\mu\text{m}$ ), infrarrojo lejano (longitud de onda muy larga) (por ejemplo, desde aproximadamente 8,0  $\mu\text{m}$  hasta aproximadamente 1,0 mm), o cualquier combinación de los mismos.

La fuente de luz blanca, la fuente de luz de excitación de fluorescencia, la fuente de luz infrarroja, o cualquier otra fuente de luz relevante para su uso en la presente divulgación, puede tener cualquier diseño o combinación de diseños apropiados. La fuente de luz puede ser coherente o incoherente, colimado o no colimado, enfocado o desenfocado, polarizado o no polarizado, o cualquier combinación de los mismos. Un ángulo del haz de luz de menos desde aproximadamente 1 grado, desde aproximadamente 1 grado hasta aproximadamente 5 grados, desde aproximadamente 5 grados hasta aproximadamente 15 grados, desde aproximadamente 15 grados hasta aproximadamente 25 grados, desde aproximadamente 25 grados hasta aproximadamente 35 grados, desde

- aproximadamente 35 grados hasta aproximadamente 50 grados, desde aproximadamente 50 grados hasta aproximadamente 75 grados, desde aproximadamente 75 grados hasta aproximadamente 90 grados, desde aproximadamente 90 grados hasta aproximadamente 120 grados, desde aproximadamente 120 grados hasta aproximadamente 150 grados, y desde aproximadamente 150 grados hasta aproximadamente 180 grados se pueden utilizar como luz blanca u otra fuente de luz. Se pueden usar uno o más láseres y/o diodos emisores de luz (LED). Una candescente, térmica, arco, incandescente, fluorescente, basados en semiconductores, vapor de sodio o vapor de mercurio, o cualquier combinación o número de los mismos se puede utilizar como fuente de luz. Se puede utilizar una fuente de luz única o múltiple. Se puede utilizar una variedad de fuentes de luz.
- 10 La distancia de la fuente de luz al objetivo que se va a fotografiar y/o medir puede ser, por ejemplo, desde aproximadamente 1,0 mm hasta aproximadamente 10 m, desde aproximadamente 0,5 cm hasta aproximadamente 5,0 m, desde aproximadamente 1,0 cm hasta aproximadamente 2,5 m, desde aproximadamente 2,5 cm hasta aproximadamente 1,0 m, desde aproximadamente 5,0 cm hasta aproximadamente 0,5 m, desde aproximadamente 10,0 cm hasta aproximadamente 0,25 m, o desde aproximadamente 25 cm hasta aproximadamente 100 cm, o cualquier distancia intermedia de la misma, o cualquier combinación de las mismas desde el área objetivo. Se puede utilizar cualquier número o tipo de fuentes de luz. Las fuentes de luz pueden ser fijas o móviles. Las fuentes de luz se pueden integrar en el mismo dispositivo que alberga la cámara, detector u otro dispositivo de imágenes, y/o puede ser externo a dicho dispositivo. La fuente de luz puede estar ubicada interna o externa a un área objetivo o volumen objetivo. La una o más fuentes de luz pueden estar articuladas (por ejemplo, manualmente) para variar el ángulo de iluminación y el tamaño del punto en la superficie de la imagen, por ejemplo, mediante el uso de un pivote incorporado y se puede alimentar, por ejemplo, a través de una conexión eléctrica a un tomacorriente de pared y/o un paquete de baterías recargables portátil separado.
- 25 La longitud de onda de excitación de la fluorescencia se puede hacer coincidir con una longitud de onda de emisión de uno o más fluoróforos objetivo de la formación de imágenes. Por ejemplo, la longitud de onda de excitación puede ser desde aproximadamente 300 nm a aproximadamente 325 nm, desde aproximadamente 325 nm a aproximadamente 350 nm, de aproximadamente 350 nm a aproximadamente 375 nm, de aproximadamente 375 nm a aproximadamente 400 nm, desde aproximadamente 400 nm a aproximadamente 425 nm, desde aproximadamente 425 nm a aproximadamente 450 nm, desde aproximadamente 450 nm a aproximadamente 475 nm, desde aproximadamente 475 nm a aproximadamente 500 nm, desde aproximadamente 500 nm a aproximadamente 525 nm, desde aproximadamente 525 nm a aproximadamente 550 nm, desde aproximadamente 550 nm a aproximadamente 575 nm, desde aproximadamente 575 nm a aproximadamente 600 nm, desde aproximadamente 600 nm a aproximadamente 625 nm, desde aproximadamente 625 nm a aproximadamente 650 nm, desde aproximadamente 675 nm a aproximadamente 700 nm, desde aproximadamente 750 nm a aproximadamente 775 nm, desde aproximadamente 775 nm a aproximadamente 800 nm, desde aproximadamente 800 nm a aproximadamente 825 nm, desde aproximadamente 825 nm a aproximadamente 850 nm, desde aproximadamente 850 nm a aproximadamente 875 nm, desde aproximadamente 875 nm hasta aproximadamente 900 nm, o desde aproximadamente 900 nm hasta aproximadamente 1,0 mm, o cualquier intervalo intermedio o superpuesto de los mismos, o cualquier combinación de los mismos.
- 40 La al menos una longitud de onda de excitación de fluorescencia puede comprender una longitud de onda de, por ejemplo, 405 nm, con una extensión desde aproximadamente 0,0 nm, desde aproximadamente 0,01 nm a aproximadamente 0,05 nm, desde aproximadamente 0,5 nm a aproximadamente 1,0 nm, desde aproximadamente 1,0 nm a aproximadamente 2,5 nm, desde aproximadamente 2,5 nm a aproximadamente 7,5 nm, desde aproximadamente 10 nm a aproximadamente 25 nm, o desde aproximadamente 15 nm a aproximadamente 30 nm, o una extensión intermedia, o una combinación de los mismos. El dispositivo de imágenes puede utilizar, por ejemplo, dos luces violeta/azul (por ejemplo, emisión de 405 nm +/-10 nm, espectro de emisión estrecho) matrices de LED (Opto Diode Corporation, Newbury Park, California), cada uno situado a cada lado del conjunto detector de imágenes como fuentes de luz de excitación o iluminación. Estas matrices tienen, por ejemplo, una energía de salida desde aproximadamente 1 watio cada una, que emana de una fuente de 2,5 x 2,5 cm<sup>2</sup>, con un ángulo de haz de iluminación de 70 grados. Las matrices de LED se pueden utilizar para iluminar la superficie del tejido desde una distancia desde aproximadamente 10 cm, lo que significa que la densidad de energía óptica total en la superficie de la piel puede ser desde aproximadamente 0,08 W/cm<sup>2</sup>.
- 55 La señal de luz producida por las fuentes de luz puede ser detectada por el dispositivo de imágenes usando uno o más filtros ópticos que rechazan la luz de excitación pero permiten que se detecten longitudes de onda seleccionadas de la luz emitida desde el tejido, formando así una imagen en la pantalla. Los filtros de paso de banda se pueden seleccionar y alinear frente a la lente de una cámara digital u otro detector o sensor de imágenes para detectar selectivamente señales ópticas específicas del objetivo en función de la longitud de onda de luz deseada. Filtrado espectral de señales ópticas detectadas (por ejemplo, absorción, fluorescencia y/o reflectancia) también pueden emplear un filtro sintonizable de cristal líquido (LCTF) o un filtro sintonizable acústico-óptico (AOTF) que puede ser un filtro de paso de banda espectral sintonizable electrónicamente de estado sólido. El filtrado espectral también puede implicar el uso de filtros variables continuos y/o filtros ópticos de paso de banda manuales. Estos dispositivos se pueden colocar delante del detector de imágenes para producir imágenes multispectrales, imágenes hiperespectrales y/o selectivas de longitud de onda de un área objetivo.

Filtros de polarización ópticos o de orientación variable (por ejemplo, lineal o circular combinado con el uso de placas de ondas ópticas) se pueden unir a una o más fuentes de luz y/o al dispositivo de imágenes, sensor o cámara. Estos filtros pueden permitir obtener imágenes con iluminación de luz polarizada y detección de luz no polarizada o viceversa, o iluminación de luz polarizada y detección de luz polarizada, con imágenes de reflectancia de luz blanca y/o fluorescencia.

Una cámara PrimeSense (tecnología disponible en Apple Inc. de Cupertino, California), en las técnicas de la presente divulgación se pueden utilizar componentes de los mismos u otros sensores capaces de generar imágenes tridimensionales. La cámara PrimeSense incluye un sensor Carmine 1.08, un sensor Carmine 1.09 (corto alcance) y un sensor Capri 1.25 (integrado). La adquisición de profundidad emplea tecnología de codificación de luz. Se puede escanear una escena con luz infrarroja cercana. Se puede emitir un patrón de puntos infrarrojos hacia el área objetivo. La luz puede distorsionarse cuando entra en contacto con el área objetivo y esta distorsión puede ser medida por la cámara u otros sensores, incluyendo, por ejemplo, un sensor de imagen CMOS. Un sensor de cámara infrarroja capta el patrón de puntos del objetivo, simultáneamente, una cámara RGB de luz blanca (adyacente a la cámara de infrarrojos) captura una imagen de luz blanca normal del objetivo. El sensor de imagen CMOS funciona con un sensor de video visible para producir un mapa de profundidad proporcionado por los sensores Carmine (PS1080) y Capri (PS1200) del sistema PrimeSense en un chip (SoC) que se pueden fusionar con una imagen en color.

Como ejemplo, el dispositivo PrimeSense emite un patrón de puntos infrarrojos (invisible a simple vista) hacia el objetivo. Un sensor de cámara infrarroja capta el patrón de puntos del objetivo, simultáneamente, una cámara RGB de luz blanca (adyacente a la cámara de infrarrojos) captura una imagen de luz blanca normal del objetivo. El software integrado crea una "malla" a partir del patrón de puntos infrarrojos de la topología de destino. Luego, ajusta la imagen de luz blanca a esa topología de malla utilizando un código de software de transformación de imágenes (función de transformación). El resultado es una imagen de luz blanca que puede transformarse de bidimensional a tridimensional. El software utilizado para ejecutar este proceso puede ser un kit de desarrollo de software (SDK) de código abierto llamado OpenNI. Se puede utilizar cualquier software apropiado, por ejemplo, Kit de desarrollo de software OpenKinect o Microsoft Kinect. También se puede crear y manipular una malla o nube de puntos utilizando MeshLab.

De conformidad con la presente divulgación, una imagen en color puede ser alternativa o adicionalmente una imagen de fluorescencia. Se puede realizar un proceso de registro para alinear la información de la imagen en color (RGB) y la profundidad (D). Los patrones infrarrojos de codificación de luz se pueden descifrar para producir una imagen de profundidad de tamaño VGA del área objetivo. La cámara PrimeSense incluye software integrado para procesamiento de imágenes. Se puede emplear software adicional o alternativo. Por ejemplo, se puede utilizar un SDK de código abierto llamado OpenNI. El software integrado crea una "malla" a partir del patrón de puntos infrarrojos de la topología de destino. Luego, ajusta la imagen de luz blanca a esa topología de malla utilizando un código de software de transformación de imágenes (función de transformación). El resultado es una imagen de luz blanca que puede transformarse de bidimensional a tridimensional. La cámara PrimeSense puede ofrecer vídeo visible, profundidad e información de audio de forma sincronizada a través de una interfaz USB 2.0. Una cámara Xtion PRO LIVE (que incluye un proyector de puntos infrarrojos, una cámara RGB y una cámara infrarroja) disponibles en ASUS Computer International (Fremont, California) se puede utilizar en lugar o además de una cámara PrimeSense. Se puede utilizar un sistema de cámara/sensor/proyector como se describe en la solicitud de patente estadounidense n.º 2017/0054966. Las imágenes infrarrojas de tiempo de vuelo se pueden utilizar en lugar o además de las imágenes infrarrojas estructuradas basadas en luz para medir la profundidad y obtener información de coordenadas tridimensionales de un área objetivo.

Antes de la toma de imágenes, marcadores fiduciaros (por ejemplo, utilizando un bolígrafo de tinta fluorescente indeleble) se puede colocar sobre la superficie de la piel u otra superficie relevante, cerca de los bordes o perímetro del objetivo biológico. Por ejemplo, cuatro puntos, cada uno de un color de tinta fluorescente diferente de bolígrafos de tinta fluorescente indeleble separados, que se puede proporcionar como un kit al operador clínico, se puede colocar cerca del margen o límite del área objetivo en la superficie normal de la piel. El dispositivo puede visualizar estos colores utilizando la luz de excitación y un filtro de banda multispectral que coincide con la longitud de onda de emisión de los cuatro puntos de tinta. Luego se puede realizar el análisis de la imagen, mediante el registro conjunto de los marcadores fiduciaros para la alineación entre imágenes. Esta técnica puede facilitar imágenes de secuencia temporal longitudinal de áreas objetivo y, por lo tanto, el operador clínico puede obtener imágenes de un área objetivo a lo largo del tiempo sin necesidad de alinear el dispositivo de imágenes durante cada adquisición de imágenes.

Para ayudar en la calibración de la intensidad de las imágenes de fluorescencia, se puede colocar una "tira" estándar fluorescente simple desechable en el campo de visión durante la obtención de imágenes del área objetivo (por ejemplo, usando un adhesivo suave que pega la tira a la piel temporalmente). La tira puede impregnarse con uno o varios tintes fluorescentes diferentes de concentraciones variables que pueden producir intensidades de fluorescencia predeterminadas y calibradas cuando se iluminan con la fuente de luz de excitación, que puede tener un solo (por ejemplo, 405 nm) o múltiples longitudes de onda de emisión de fluorescencia o bandas de longitud de onda para la calibración de la intensidad de la imagen. La tira desechable también puede tener los cuatro puntos descritos anteriormente (por ejemplo, cada uno de diferentes diámetros o tamaños y cada uno de un color de tinta fluorescente diferente con un punto negro único colocado al lado) de bolígrafos de tinta fluorescente indeleble separados. Con la tira colocada cerca del margen o límite del área objetivo en la superficie normal de la piel, el dispositivo se puede

utilizar para tomar imágenes de luz blanca y fluorescencia. La tira puede ofrecer una manera conveniente de tomar múltiples imágenes a lo largo del tiempo de un área objetivo determinada y luego alinear las imágenes mediante análisis de imágenes. La tira fluorescente de "calibración de intensidad" también puede contener un aparato de medición lineal adicional, como una regla de longitud fija para ayudar en las mediciones de distancia espacial de las áreas objetivo. Una tira de este tipo puede ser un ejemplo de un objetivo de calibración que se puede usar con el dispositivo para ayudar en la calibración o medición de parámetros de imagen (por ejemplo, tamaño del área objetivo, intensidad de fluorescencia, y similares). Se pueden utilizar adicionalmente o como alternativa otros objetivos de calibración similares o funcionalmente equivalentes.

- 10 El uno o más marcadores fiduciales pueden comprender marcadores fiduciales fluorescentes. Por ejemplo, los marcadores fiduciales fluorescentes pueden comprender fluoresceína. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula endógena capaz de emitir fluorescencia, una molécula exógena capaz de emitir fluorescencia, o ambas. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula endógena capaz de emitir fluorescencia inducida por una molécula exógena. Se puede provocar la inducción, por ejemplo, por acumulación, modificación o ambas de la molécula endógena. La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula exógena capaz de emitir fluorescencia o una molécula que comprende un resto añadido exógenamente capaz de emitir fluorescencia. En un ejemplo, el verde de indocianina (ICG) se puede excitar a unos 760 nm, a aproximadamente 780 nm, o ambos. Se puede usar un filtro que comprende una muesca desde aproximadamente 657 nm a aproximadamente 825 nm para una excitación de 760 nm. Se puede utilizar un filtro que comprende una muesca desde aproximadamente 690 nm y aproximadamente 840 nm para una excitación de 780 nm.

Las técnicas descritas en este documento pueden detectar una porción, una mayoría, o esencialmente toda la autofluorescencia tisular (FA). Por ejemplo, usando un filtro de banda multiespectral, la autofluorescencia tisular se puede medir procedente de diversas biomoléculas tisulares, así como la absorción óptica asociada a la sangre, por ejemplo bajo excitación de 405 nm: colágeno (Tipos I, II, III, IV, V y otros) que aparecen en color verde, elastina que aparece de color amarillo verdoso anaranjado, dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH), dinucleótido de flavina adenina (FAD), que emiten una señal de autofluorescencia azul-verde y bacterias/microorganismos, la mayoría de los cuales pueden parecer tener una amplia emisión de autofluorescencia (por ejemplo, verde y rojo). El análisis de imágenes puede incluir el cálculo de una proporción de AF rojo a verde en la imagen. Se pueden obtener cálculos de intensidad a partir de regiones de interés dentro de las imágenes del área objetivo. Las imágenes pseudocoloreadas se pueden asignar a las imágenes de luz blanca del área objetivo.

Las técnicas de la presente divulgación se pueden utilizar junto con agentes "profármacos" exógenos, incluyendo, pero sin limitación, ALA, para aumentar la producción endógena de porfirinas en bacterias/microorganismos y así aumentar las intensidades de las señales de fluorescencia de 'porfirinas' únicas que emanan de estas bacterias para mejorar la sensibilidad de detección y la especificidad del dispositivo. Por tanto, las técnicas se pueden utilizar para obtener imágenes convenientes de la fluorescencia inducida por fotosensibilizadores (por ejemplo, PpIX) en bacterias, creciendo en cultivo o en las heridas de los pacientes para su posterior hisopado/biopsia dirigidos mediante imágenes o tratamiento, por ejemplo, utilizando terapia fotodinámica (PDT) u oxigenoterapia hiperbárica (HOT). Las técnicas cuando se utilizan, por ejemplo, con consumibles, los agentes de contraste de fluorescencia disponibles comercialmente pueden aumentar la señal de fondo para una detección sensible de bacterias, dentro y alrededor de las áreas objetivo.

La al menos una molécula fluorescente puede comprender una molécula fluorescente endógena inducida, por ejemplo, porfirinas inducidas por ácido aminolevulínico (ALA). El ALA se puede administrar tópicamente en el área objetivo y se pueden realizar imágenes entre 1 y 3 horas después para mejorar la fluorescencia roja de las bacterias del área objetivo. El profármaco ácido aminolevulínico (ALA) induce la formación de porfirina en casi todas las células vivas. Muchas especies de bacterias expuestas al ALA pueden inducir la fluorescencia de la protoporfirina IX (PpIX). El uso de dosis ultrabajas de ALA puede inducir la formación de PpIX en las bacterias y, por lo tanto, puede aumentar la emisión de fluorescencia roja, lo que puede mejorar el contraste de fluorescencia de rojo a verde de las bacterias fotografiadas con el dispositivo. ALA no es fluorescente por sí mismo, pero PpIX es fluorescente a alrededor de 630 nm, 680 y 710 nm, siendo la emisión de 630 nm la más fuerte. Luego, el dispositivo de imágenes se puede utilizar para obtener imágenes de la fluorescencia verde y roja del área objetivo y los tejidos circundantes.

55 Un operador clínico puede premezclar ALA, que normalmente se proporciona comercialmente en forma liofilizada con solución salina fisiológica u otro tipo de crema/pomada/hidrogel/apósito disponible comercialmente y similares, a una dosis determinada y administrar el agente tópicamente rociándolo, vertiéndolo o aplicando cuidadosamente el agente en el área objetivo antes de tomar la imagen. Aproximadamente entre 10-30 minutos después, aunque este tiempo puede variar, las imágenes de fluorescencia se pueden realizar en una habitación oscura o con poca luz. Las bacterias bajo luz blanca y quizás poco autofluorescentes pueden aparecer como áreas fluorescentes de color rojo brillante dentro y alrededor del área objetivo. Las imágenes de fluorescencia se pueden utilizar para dirigir hisopos específicos, biopsia y/o aspiraciones con aguja fina del área objetivo para cultivo bacteriano basado en la señal de fluorescencia bacteriana única. Este procedimiento se puede realizar a diferentes profundidades, para heridas superficiales y profundas.

65 Se pueden preparar sondas ópticas de direccionamiento molecular exógenas adecuadas usando kits de marcaje de

fluorescencia disponibles comercialmente, como los ésteres y kits activos de Alexa Fluor (por ejemplo, Kits de etiquetado de anticuerpos Zenon o kits de ensayo de proteasa EnzChek, Invitrogen) para marcar proteínas, anticuerpos monoclonales, ácidos nucleicos y oligonucleótidos (Invitrogen). Por ejemplo, estos bioconjugados de tintes fluorescentes cubren los siguientes rangos de longitud de onda: Tintes Alexa Fluor 350, Tintes Alexa Fluor 405, Tintes Alexa Fluor 430, Tintes Alexa Fluor 488, Tintes Alexa Fluor 500, Tintes Alexa Fluor 514, Tintes Alexa Fluor 532, Tintes Alexa Fluor 546, Tintes Alexa Fluor 555, Tintes Alexa Fluor 568, Tintes Alexa Fluor 594, Tintes Alexa Fluor 610, Tintes Alexa Fluor 633, Tintes Alexa Fluor 635, Tintes Alexa Fluor 647, Tintes Alexa Fluor 660, Tintes Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700 y Alexa Fluor 750, donde el número indicado se refiere a la longitud de onda de excitación del tinte. Estos kits pueden ofrecer espectros de emisión de fluorescencia bien diferenciados, proporcionando muchas opciones para la detección de fluorescencia multicolor y la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia, basado en la selección adecuada de filtros de emisión de fluorescencia con el dispositivo de imágenes. Los tintes fluorescentes pueden ofrecer una alta absorbancia en longitudes de onda de salida máxima de fuentes de excitación comunes. Pueden ser brillantes e inusualmente fotoestables para ayudar a lograr la fluorescencia de sus bioconjugados. Los tintes pueden ofrecer una buena solubilidad en agua para facilitar la conjugación dentro de la sala de examen clínico y la resistencia de los conjugados resultantes a la precipitación y agregación. Los espectros de fluorescencia de los colorantes pueden ser insensibles al pH en un amplio rango, lo que los hace particularmente útiles para imágenes de heridas, porque el pH de la herida puede variar. Adicionalmente, existen otros agentes fluorescentes comerciales o no comerciales que pueden ser apropiados para la obtención de imágenes biológicas de heridas y pueden combinarse con el dispositivo descrito, incluyendo agentes de acumulación de sangre fluorescentes y varias sondas activadas por enzimas o proteasas de VisEn Medical (Boston, Mass., Estados Unidos), por ejemplo.

Estos bioconjugados fluorescentes dirigidos se pueden preparar usando dichos kits de etiquetado antes del examen clínico del área objetivo usando el dispositivo de imágenes en modo de fluorescencia. Se pueden almacenar en recipientes herméticos a la luz para evitar el fotoblanqueo. Dichos bioconjugados de fluorescencia se pueden preparar en solución a una concentración conocida y apropiada antes de obtener imágenes de fluorescencia del área objetivo usando el dispositivo, y luego administrar/aplicar directamente al área objetivo por uno o más medios, por ejemplo, tópicamente (por ejemplo, a través de un aerosol o un spray), oralmente (por ejemplo, a través de una bebida o lavado), o sistémicamente (por ejemplo, mediante inyección intravenosa). Dichos tintes pueden dirigirse a componentes biológicos específicos dependiendo del resto de dirección, y pueden incluir, por ejemplo, una o más bacterias, hongos, levadura, esporas, virus, microbios, parásitos, exudados, pH, vasos sanguíneos, dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH), dinucleótido de flavina adenina (FAD), microorganismos, tipos específicos de tejidos conectivos (por ejemplo, colágenos, elastina), componentes del tejido, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento endotelial (EGF), factor de crecimiento epitelial, antígeno de membrana de células epiteliales (ECMA), factor inducible por hipoxia (HIF-1), anhidrasa carbónica IX (CAIX), laminina, fibrina, fibronectina, factor de crecimiento de fibroblastos, factores transformantes de crecimiento (TGF), proteína de activación de fibroblastos (FAP), enzimas (por ejemplo, caspasas, metaloproteinasas de matriz (MMP) y similares), inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (por ejemplo, TIMP), óxido nítrico sintasa (NOS), NOS inducible y endotelial, lisosomas en las células, macrófagos, neutrófilos, linfocitos, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), antineuropéptidos, endopeptidasa neutra (NEP), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), elastasas de neutrófilos, catepsinas, arginasas, fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), proteína inflamatoria de macrófagos-2 (MIP-2), proteína inflamatoria de macrófagos-2 (MIP-2), proteína quimioatrayente de macrófagos-1 (MCP-1), neutrófilos polimorfonucleares (PMN) y macrófagos, miofibroblastos, interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral (TNF), óxido nítrico (NO) (Kit de Calbiochem, Modelo DAF-2 DA), c-myc, beta-catenina y células progenitoras endoteliales circulantes (EPC) de la médula ósea. Los agentes ópticos exógenos pueden incluir, por ejemplo, una o más de las balizas moleculares activadas (por ejemplo, dirigidas), nanopartículas que tienen agentes fluorescentes (por ejemplo, etiquetados en la superficie y/o que contienen o portan agentes fluorescentes), y dispersar o absorber nanopartículas (por ejemplo, oro, plata y similares).

Los fluoróforos orgánicos disponibles comercialmente tienen propiedades que dependen de la concentración de iones de hidrógeno, haciéndolos útiles como sondas para medir el pH, y normalmente tienen propiedades de absorción visible/UV sensibles al pH. Los tintes fluorescentes sensibles al pH disponibles comercialmente empleados en estudios intracelulares pueden proporcionar una señal fluorescente reducida en medios ácidos o, alternativamente, el pKa del tinte puede estar fuera de la ventana de pH intracelular de entre 5 y 8 unidades de pH. Sin embargo, otros agentes fluorescentes sensibles al pH responden aumentando sus intensidades de fluorescencia. Por ejemplo, Invitrogen Molecular Probes (Thermo Fisher Scientific) ofrece una variedad de indicadores de pH fluorescentes, sus conjugados y otros reactivos para mediciones de pH en sistemas biológicos. Entre ellas se encuentran varias sondas con respuesta óptica única y características de localización especializadas: por ejemplo, los indicadores de pH SNARF excitables por luz visible permiten a los investigadores determinar el pH intracelular en el rango fisiológico utilizando técnicas ratiométricas de doble emisión o doble excitación, proporcionando así herramientas útiles para la microscopía de barrido láser confocal y la citometría de flujo. sondas LysoSensor, así como indicadores basados en el fluoróforo Oregon Green, se puede utilizar para estimar el pH en los orgánulos ácidos de una célula. También se pueden utilizar indicadores de pH fluorescentes acoplados a dextranos. Después de la carga en las celdas, los dextranos indicadores pueden conservarse bien. Dichos agentes fluorescentes se pueden preparar en solución de antemano a una concentración conocida y apropiada antes de la obtención de imágenes de fluorescencia del área objetivo usando el dispositivo, y luego administrar/aplicar directamente al área objetivo y los tejidos normales circundantes por uno o más

medios, por ejemplo, tópicamente (por ejemplo, a través de un aerosol o un spray), oralmente (por ejemplo, a través de una bebida o lavado), o sistémicamente (por ejemplo, mediante inyección intravenosa).

5 La zona objetivo puede comprender al menos una herida. La herida puede ser cualquier tipo de herida. Por ejemplo, la herida puede comprender una abrasión, una laceración, una punción, una avulsión, un moretón, una contusión, una mordida, una quemadura, una erupción, congelación, ebullición, un lunar, un grano, un quiste, una úlcera (como una úlcera diabética), una llaga por presión, o cualquier combinación de las mismas. La herida puede ser profunda o superficial. Una herida puede ser externa sobre o dentro de la piel, o interna sobre o dentro de una membrana interna. La herida puede comprender la epidermis, la dermis, o la hipodermis, o cualquier combinación de los mismos. La herida puede estar infectada o no infectada. Una herida infectada puede infectarse con cualquier tipo, número o combinación de organismos. La infección puede comprender una o más bacterias, uno o más hongos, uno o más protozoos, o uno o más virus, o cualquier combinación de los mismos. El organismo puede ser monocelular, multicelular o no celular.

15 El método puede comprender además determinar uno o ambos de un área superficial y un volumen de la herida. La determinación se puede realizar cualquier número apropiado de veces. Por ejemplo, el método se puede realizar al menos dos veces, las dos representaciones compuestas por una primera representación y una segunda representación separadas por un período elegido, por ejemplo, al menos una hora, al menos tres horas, al menos un día, al menos una semana, al menos un mes, o similar. El intervalo entre actuaciones puede ser, por ejemplo, de 1 minuto a aproximadamente 10 minutos, desde aproximadamente 5 minutos hasta aproximadamente 30 minutos, desde aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 3 horas, desde aproximadamente una hora hasta aproximadamente seis horas, desde aproximadamente seis horas hasta aproximadamente 12 horas, desde aproximadamente 12 horas a aproximadamente un día, desde aproximadamente un día hasta aproximadamente dos días, desde aproximadamente dos días hasta aproximadamente una semana, desde aproximadamente una semana hasta aproximadamente dos semanas, desde aproximadamente dos semanas hasta aproximadamente un mes, desde aproximadamente un mes hasta aproximadamente seis semanas, desde aproximadamente seis semanas hasta aproximadamente tres meses, desde aproximadamente tres meses hasta aproximadamente seis meses, o desde aproximadamente seis meses hasta aproximadamente un año, o cualquier período de tiempo intermedio o superpuesto, o una combinación de los mismos. Se pueden realizar capturas de imágenes en intervalos muy cortos (menos de un segundo) y combinarlas para crear un vídeo. También se pueden crear vídeos a intervalos en capturas de imágenes a intervalos más largos. La imagen tridimensional superpuesta de la primera representación puede ser una primera imagen tridimensional superpuesta y la imagen tridimensional superpuesta de la segunda representación puede ser una segunda imagen tridimensional superpuesta. El método puede comprender además comparar la primera y segunda imágenes tridimensionales superpuestas para determinar el estado de curación de la herida. No incluido en los métodos reivindicados, un estado de progresión de la herida puede comprender un deterioro de la herida y el método puede comprender además administrar al menos una ayuda para mejorar la herida. La comparación puede comprender además el seguimiento de una topografía de la herida a lo largo del tiempo. Por ejemplo, se pueden utilizar imágenes fluorescentes tridimensionales para ayudar con el desbridamiento de la herida para eliminar la carga bacteriana. Las imágenes se pueden utilizar además para rastrear los resultados del desbridamiento a lo largo del tiempo en tres dimensiones a nivel topográfico. Usando este enfoque, un médico puede desbridar una herida en una sola visita y realizar un seguimiento del efecto del desbridamiento quirúrgico o de legrado a lo largo del tiempo, tanto en tres dimensiones como en dos dimensiones.

45 La cicatrización de la herida se puede evaluar mediante mediciones planimétricas del área de la herida en múltiples momentos (por ejemplo, en visitas clínicas) hasta la cicatrización de la herida. El curso temporal de la cicatrización de la herida se puede comparar con el tiempo de curación esperado calculado mediante las mediciones de múltiples puntos temporales de la reducción del radio de la herida utilizando la ecuación  $R = \sqrt{A/\pi}$  (R, radio; A, área planimétrica de la herida;  $\pi$ , constante 3,14). No incluido en los métodos reivindicados, esta información cuantitativa sobre la herida se puede utilizar para rastrear y monitorear los cambios en la apariencia de la herida a lo largo del tiempo, con el fin de evaluar y determinar el grado de cicatrización de heridas provocadas por medios naturales o por cualquier intervención terapéutica. Estos datos se pueden almacenar electrónicamente en el historial médico del paciente para referencia futura. Las imágenes de heridas pueden capturar, calcular y/o combinar una o más fluorescencia tisular/bacteriana, área de la herida medida, un mapa térmico de una herida y una imagen infrarroja del flujo sanguíneo.

55 Al cambiar las longitudes de onda de excitación y emisión en consecuencia, el dispositivo de imágenes puede interrogar componentes del tejido (por ejemplo, tejidos conectivos y bacterias en una herida) en la superficie y en ciertas profundidades dentro del tejido (por ejemplo, una herida). Por ejemplo, cambiando de luz de longitud de onda violeta/azul (desde aproximadamente 400 nm a aproximadamente 500 nm) a verde (desde aproximadamente 500 nm a aproximadamente 540 nm), se puede lograr la excitación de fuentes fluorescentes bacterianas/tejidas más profundas. Esto se puede lograr, por ejemplo, en una herida. De forma similar, al detectar longitudes de onda más largas, la emisión de fluorescencia procedente de fuentes tisulares y/o bacterianas más profundas en el tejido se puede detectar en la superficie del tejido. No incluido en los métodos reivindicados, para la evaluación de heridas, la capacidad de interrogar la fluorescencia de la superficie y/o del subsuelo puede ser útil, por ejemplo, en la detección y posible identificación de contaminación bacteriana, colonización, colonización y/o infección crítica, que puede ocurrir en la superficie y a menudo en la profundidad dentro de una herida (por ejemplo, en heridas crónicas que no cicatrizan). La al menos una molécula fluorescente detectada mediante la formación de imágenes puede comprender una

molécula fluorescente asociada con al menos una bacteria.

- El objetivo biológico puede comprender un tejido extirpado de un organismo en cuestión. Por ejemplo, el tejido puede comprender un tejido precanceroso o canceroso. El tejido canceroso puede comprender un tumor. Por ejemplo, el tumor puede ser un tumor de mama y el tejido extirpado puede comprender una lumpectomía. El cáncer de mama puede comprender cualquier tipo o combinación de tipos de cáncer de mama. Por ejemplo, el cáncer de mama puede ser un cáncer de mama luminal A que expresa citoqueratinas 8 y 18, así como altos niveles de expresión de receptores de estrógeno. El cáncer de mama puede ser un cáncer de mama luminal B. El cáncer de mama puede ser similar al de una mama normal con respecto a la expresión genética. El cáncer de mama puede tener amplificación de HER2 (amplificación del gen HER2 en el cromosoma 17q). El tipo de cáncer de mama puede ser de tipo basal que puede ser negativo para ciertos receptores (estrógeno, progesterona y HER2) y tienen marcadores característicos de las células basales/mioepiteliales. Un cáncer de mama puede caracterizarse por una o más mutaciones en un gen BRCA1, un gen BRCA2, o ambos.
- El tejido canceroso puede ser un crecimiento premaligno, crecimiento maligno, o tumor causado por una división celular anormal y descontrolada que puede ser metastásico o no metastásico. El cáncer puede ser, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de vejiga urinaria, linfoma de no Hodgkin, melanoma, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer de la cavidad bucal, cáncer de faringe, cáncer de ovarios, cáncer de tiroides, cáncer de estómago, cáncer de cerebro, mieloma múltiple, cáncer de esófago, cáncer de hígado, cáncer de cuello uterino, cáncer de laringe, cáncer del conducto biliar intrahepático, leucemia mieloide aguda, cáncer de tejidos blandos, cáncer de intestino delgado, cáncer testicular, leucemia linfocítica crónica, linfoma de Hodgkin, cáncer mieloide crónico, cáncer linfocítico agudo, cáncer de ano, canal anal o anorrecto, cáncer de vulva o cáncer de cuello, vesícula biliar o pleura, mesotelioma maligno, cáncer de hueso, cáncer de las articulaciones, cáncer de hipofaringe, cáncer de ojo, cáncer de nariz, cavidad nasal, cuello u oído medio, cáncer de nasofaringe, cáncer de uréter, peritoneo, epiplón, o cáncer de mesenterio, o tumor carcinóide gastrointestinal, o cualquier combinación de los mismos. El tejido extirpado puede comprender una molécula fluorescente asociada con una sonda dirigida a un receptor tumoral, una molécula fluorescente activada por una enzima, o una fluorescencia inducida por un virus oncolítico modificado genéticamente, o cualquier combinación de las mismas. Por ejemplo, el receptor tumoral puede comprender HER2, un receptor de folato, CXCR4, un receptor hormonal, un EGFR, o un VEGF, o una combinación de los mismos. Ejemplos de receptores hormonales incluyen receptores de estrógeno y receptores de progesterona. La enzima puede comprender, por ejemplo, una proteasa, una carbohidrasa, una lipasa, una transferasa, una oxidoreductasa, una metaloproteasa de matriz (MMP), una caspasa, una catepsina, una calicreína, serina proteasa, isocitrato deshidrogenasa, o una enzima sobreexpresada por células tumorales, o una combinación de las mismas. El objetivo biológico puede comprender un lecho quirúrgico del que se ha extirpado un tejido. El lecho quirúrgico y el tejido extirpado pueden comprender un tejido canceroso. El tejido canceroso puede ser benigno, maligno, o ambos. No es necesario que el tejido extirpado sea canceroso y las técnicas de la presente divulgación se pueden usar en otros contextos, por ejemplo, cirugía plástica, cirugía reconstructiva, cirugía de trasplante de órganos, injertos de piel y cirugía estética.
- El método se puede realizar cualquier número apropiado de veces. Por ejemplo, el método se puede realizar al menos dos veces, en cualquier orden, las dos representaciones comprenden una primera representación y una segunda representación. La primera actuación se puede realizar en el objetivo biológico. Por ejemplo, siendo el objetivo biológico un primer objetivo biológico que comprende un tejido extirpado. La segunda actuación se puede realizar en un segundo objetivo biológico que comprende un lecho quirúrgico del que se escinde el tejido. La imagen tridimensional superpuesta de la primera representación puede ser una primera imagen tridimensional superpuesta y la imagen tridimensional superpuesta de la segunda representación puede ser una segunda imagen tridimensional superpuesta. El método puede comprender además comparar la primera y segunda imágenes tridimensionales superpuestas para determinar una continuidad fluorescente entre el tejido extirpado y el lecho quirúrgico basándose en una orientación del tejido extirpado con respecto al lecho quirúrgico. La continuidad fluorescente puede comprender, por ejemplo, uno o más de un tejido infectado bacterianamente, un tejido infectado viralmente, una quemadura, un tejido canceroso, un tejido conectivo, un tejido muscular, una vesícula sanguínea y una característica de la piel. La continuidad fluorescente puede corresponder a un tejido comprometido y el método puede comprender además extirpar al menos una porción del tejido comprometido del lecho quirúrgico.
- El método puede comprender, por ejemplo, capturar una imagen tridimensional complementaria del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales usando una técnica de imágenes que comprende una o más tomografía computarizada (CT), formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), imágenes fotoacústicas, ultrasonido y tomografía de coherencia óptica. La imagen tridimensional superpuesta se puede superponer con la imagen tridimensional complementaria para formar una segunda imagen tridimensional superpuesta. Se representan ejemplos de dichas etapas designadas como 570 y 580. En la figura 41. La captura de la imagen tridimensional complementaria puede incluir un primer y un segundo conjunto de marcadores fiduciales. La imagen tridimensional complementaria se puede capturar usando tomografía computarizada y uno o más marcadores fiduciales pueden comprender al menos una molécula fluorescente y al menos un agente de contraste para CT. La imagen tridimensional complementaria se puede capturar mediante imágenes fotoacústicas, el área objetivo puede comprender un tumor de mama, y la al menos una molécula fluorescente puede comprender una sonda fotoacústica de fluorescencia dual anti-HER2.

Puede emplearse cualquier número o tipo adecuado de marcador fiduciario. Puede emplearse cualquier número adecuado de conjuntos de marcadores fiduciarios. El número de marcadores fiduciales empleados puede comprender, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o 25, o más marcadores fiduciales. El número de conjuntos de creadores fiduciarios empleados puede ser 1, 2, 3, 4, 5 o más conjuntos. Los conjuntos pueden variar con respecto a uno o más de colocación, tamaño, espectro de fluorescencia, intensidad de fluorescencia e imaginación de la especificidad de la tecnología de los marcadores fiduciales. Se pueden colocar diferentes tipos de marcadores fiduciales.

La divulgación permite la integración digital de datos de patología, por ejemplo, a partir de muestras histológicas, como las que emplean una tinción con hematoxilina y eosina, en un cubo de datos tridimensional de múltiples modalidades de imágenes. El cubo de datos permite el archivo y la documentación digital espacialmente localizados de histopatología específica de la ubicación u otros datos de la superficie del tejido de una muestra quirúrgica *ex-vivo* o el lecho quirúrgico de un paciente determinado a lo largo del tiempo. Los sitios de las biopsias se pueden catalogar cronológicamente en formato digital con los resultados de patología correspondientes u otra información relevante como el sitio de sutura, sitio de anastomosis, sitio del implante, y similares. La catalogación permite a un equipo clínico localizar dónde se han tomado muestras de tejidos, la patología en esos sitios, y estos se pueden comparar antes y después de un tratamiento. Si la deformación del tejido ocurre en una muestra quirúrgica *ex-vivo*, se pueden aplicar modelos de corrección de deformación de la imagen para tener en cuenta la deformación y alinearla con la superficie topográfica del lecho quirúrgico.

La presente divulgación proporciona un método para registrar conjuntamente espacio-temporalmente conjuntos de datos bidimensionales y tridimensionales de imágenes multimodales de tejidos biológicos. Además se proporcionan técnicas de fluorescencia y de imágenes fotoacústicas que funcionan en conjunto con agentes de contraste tumorales aplicados exógenamente para aumentar la precisión de la detección de células tumorales en los márgenes quirúrgicos. La presente divulgación proporciona un enfoque clínicamente útil para tecnologías de imágenes volumétricas y de superficie hibridadas para mejorar la planificación quirúrgica, guía intraoperatoria y evaluación de márgenes. De lo contrario, se pueden identificar márgenes tumorales subclínicos. El diagnóstico del cáncer se puede mejorar combinando conjuntos de datos de imágenes ópticas, por ejemplo, de una o más de fotoacústicas, fluorescencia, tomografía de coherencia óptica (OCT) e imágenes Raman, incluidas las imágenes por resonancia magnética (MRI) tradicionales, tomografía computarizada (CT), tomografía por emisión de positrones (PET) y/o ecografías (EE.UU.) para el diagnóstico de tumores y la evaluación de la respuesta. La ecografía y otras técnicas de imagen pueden ser bidimensionales o tridimensionales. Imágenes Doppler (por ejemplo, del flujo sanguíneo) y/o la imagen térmica también se pueden combinar con otras técnicas de imagen similares. En los métodos divulgados, dispositivos y el sistema también permiten la obtención de imágenes endoscópicas y la investigación general.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un dispositivo de imágenes. El dispositivo de imágenes comprende los siguientes componentes. Una fuente de luz de excitación está configurada para emitir una primera radiación capaz de excitar un fluoróforo. Un filtro está configurado para impedir el paso de la luz de excitación reflejada y permitir el paso de la fluorescencia emitida por el fluoróforo. Una lente de imagen está configurada para enfocar la radiación. Una fuente de luz visible está configurada para emitir una segunda radiación. Una fuente de luz infrarroja está configurada para emitir una tercera radiación. Al menos un sensor de imagen está configurado para detectar radiación. Un procesador está configurado para recibir la radiación detectada y generar datos asociados con la radiación detectada. El dispositivo de imágenes está configurado para realizar uno o más de los métodos, o porciones de los mismos, descritos en el presente documento. El dispositivo de imágenes se puede configurar para que sea portátil. Por ejemplo, el dispositivo de imágenes se puede configurar para sostenerlo con una mano.

El dispositivo de imágenes puede configurarse para visualizar cualquier área objetivo apropiada de un objetivo biológico, otro tipo de objetivo, o una combinación de los mismos. El dispositivo de imágenes se puede configurar para visualizar una herida. El dispositivo de imágenes puede configurarse para visualizar una o más células precancerosas, una célula cancerosa y una lesión satélite en un margen quirúrgico. La fuente de luz de excitación puede configurarse además para excitar emisiones de autofluorescencia de células de tejido y emisiones de fluorescencia de porfirinas inducidas en células de tejido del margen quirúrgico. El filtro se puede configurar además para evitar el paso de la luz de excitación reflejada y permitir el paso de emisiones que tienen una longitud de onda correspondiente a las emisiones de autofluorescencia de las células del tejido y las emisiones de fluorescencia de las porfirinas inducidas en las células del tejido. El sensor de imagen se puede configurar además para detectar las emisiones de autofluorescencia filtradas de las células del tejido y las emisiones de fluorescencia de las porfirinas inducidas en las células del tejido del margen quirúrgico. El procesador se puede configurar además para recibir las emisiones detectadas y generar datos relacionados con las emisiones de autofluorescencia filtradas detectadas de las células del tejido y las emisiones de fluorescencia de las porfirinas inducidas en las células del tejido del margen quirúrgico.

La radiación detectada puede comprender uno o más de fluorescencia, luz visible reflejada y luz infrarroja reflejada. La radiación detectada puede comprender fluorescencia, luz visible reflejada y luz infrarroja reflejada. La primera radiación puede comprender fluorescencia. La segunda radiación puede comprender, por ejemplo, luz blanca. La segunda radiación puede comprender luz visible monocromática. La tercera radiación puede comprender radiación infrarroja, por ejemplo, radiación infrarroja cercana. El al menos un sensor de imagen puede configurarse para detectar radiación que comprende uno o más de fluorescencia, luz blanca reflejada y luz infrarroja reflejada. El al menos un

5 sensor puede comprender cualquier número y/o tipo de sensor, por ejemplo, al menos dos sensores. Los al menos dos sensores pueden comprender un primer sensor configurado para detectar fluorescencia y un segundo detector configurado para detectar luz visible reflejada. El al menos un sensor puede comprender al menos tres sensores que comprenden un primer sensor configurado para detectar fluorescencia, un segundo detector configurado para detectar luz visible reflejada, y un tercer sensor configurado para detectar luz infrarroja reflejada.

10 El al menos un sensor puede comprender un sensor térmico. Un dispositivo puede combinar uno o más sensores descritos en el presente documento para obtener imágenes tridimensionales con un sensor térmico. Se puede utilizar un sensor térmico para proporcionar un mapa térmico que muestre áreas de alta temperatura que pueden correlacionarse con la ubicación de las bacterias al observar la herida. Las imágenes se pueden combinar, por ejemplo, con imágenes ecográficas tridimensionales de la herida, incluyendo imágenes Doppler del flujo sanguíneo. El mapeo térmico se puede realizar por separado o en combinación con el mapeo tridimensional. Por ejemplo, la obtención de imágenes térmicas se puede realizar simultáneamente con imágenes tridimensionales acoplando un sensor de imágenes térmicas al dispositivo de imágenes tridimensionales. Luego, las imágenes térmicas o el vídeo capturados se pueden superponer topográficamente a las imágenes de luz visible/luz fluorescente utilizando uno o más fiduciales. Una cámara utilizada para imágenes tridimensionales puede, por ejemplo, capturar fluorescencia tisular/bacteriana, medir el área de la herida, capturar un mapa térmico de la herida y/o una imagen infrarroja del flujo sanguíneo.

20 El dispositivo de formación de imágenes puede comprender además una fuente de radiación común configurada para funcionar con o como al menos una de las fuentes de luz. La al menos una fuente de luz puede comprender un convertidor para convertir la radiación de la fuente emitida desde la fuente de radiación común en la primera radiación, la segunda radiación, o la tercera radiación, o una combinación de las mismas. El convertidor puede comprender, por ejemplo, un filtro, una lente, un prisma, un difractor, o un punto cuántico, o una combinación de ellos. La fuente de luz de excitación puede comprender un primer convertidor, la fuente de luz visible puede comprender un segundo convertidor, y la fuente de luz infrarroja puede comprender un tercer convertidor.

30 El dispositivo de imágenes puede comprender además una unidad de visualización. Se puede utilizar cualquier unidad de visualización, por ejemplo, una pantalla de cristal líquido (LCD), una pantalla emisora de luz (LED), una pantalla emisora de luz orgánica (OLED), plasma, o rayos catódicos, o cualquier combinación de los mismos. La unidad de visualización se puede configurar para mostrar los datos emitidos por el procesador. Por ejemplo, los datos pueden comprender una imagen tridimensional. La unidad de visualización puede comprender una pantalla táctil y/o cualquier otro tipo de interfaz gráfica de usuario. Una unidad de visualización puede ubicarse alternativa o adicionalmente en un dispositivo distinto del dispositivo de imágenes.

35 El dispositivo de imágenes puede configurarse para visualizar un área objetivo de un objetivo biológico. El procesador se puede configurar para generar un mapa tridimensional del área objetivo. El mapa tridimensional se puede generar a partir de luz infrarroja reflejada desde el área objetivo. El procesador se puede configurar para capturar una imagen de luz visible bidimensional del área objetivo en función de la radiación detectada. El procesador se puede configurar para crear una imagen tridimensional de luz visible del área objetivo basándose en el mapa tridimensional y la imagen bidimensional de luz visible. El procesador se puede configurar para capturar una imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo en función de la radiación detectada. El procesador se puede configurar para crear una imagen de fluorescencia tridimensional del área objetivo basándose en el mapa tridimensional y la imagen de fluorescencia bidimensional. El procesador puede configurarse para alinear una imagen tridimensional de luz visible del área objetivo con una imagen tridimensional de fluorescencia del área objetivo para formar una imagen tridimensional superpuesta del área objetivo. La alineación se puede realizar basándose en el registro conjunto de marcadores fiduciales asociados con el área objetivo.

50 De acuerdo con una o más realizaciones, el dispositivo de imágenes se puede configurar de la siguiente manera. El dispositivo de imágenes se puede configurar para que sea portátil. La fuente de luz de excitación puede configurarse para excitar emisiones de autofluorescencia de células de tejido y emisiones de fluorescencia que tienen una longitud de onda de entre aproximadamente 600 nm y aproximadamente 660 nm en células precancerosas, células cancerosas y lesiones satélite de un margen quirúrgico después de la exposición a un agente de imagen o de contraste. El filtro se puede configurar para permitir el paso de emisiones que tienen una longitud de onda correspondiente a emisiones de autofluorescencia de las células del tejido y emisiones de fluorescencia entre aproximadamente 600 nm y aproximadamente 660 nm en las células del tejido del margen quirúrgico. El al menos un sensor de imagen puede configurarse para detectar las emisiones de autofluorescencia filtradas de las células del tejido y las emisiones de fluorescencia entre aproximadamente 600 nm y aproximadamente 660 nm en las células del tejido del margen quirúrgico. El procesador se puede configurar para recibir las emisiones detectadas y generar datos con respecto a las emisiones de autofluorescencia filtradas detectadas de las células del tejido y las emisiones de fluorescencia entre aproximadamente 600 nm y aproximadamente 660 nm en las células del tejido del margen quirúrgico, y para generar una imagen tridimensional de una o más de las células precancerosas, las células cancerosas y las lesiones satélites en los márgenes quirúrgicos.

65 De acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un sistema para obtener imágenes tridimensionales de un objetivo basadas en fluorescencia. El sistema puede comprender uno o más de los siguientes componentes, uno o más de los componentes descritos para el dispositivo de imágenes, o ambos. Se puede configurar

al menos una fuente de luz de excitación para iluminar una superficie objetivo con un campo de luz de excitación durante la obtención de imágenes fluorescentes. La iluminación y/o el campo pueden ser uniformes, parcialmente uniforme o no uniforme. Se puede configurar al menos una fuente de luz blanca para iluminar la superficie objetivo durante la obtención de imágenes con luz blanca. Al menos una fuente de radiación infrarroja puede configurarse para emitir radiación infrarroja hacia la superficie objetivo. Un sensor de imagen puede detectar fluorescencia, radiación reflejada, o ambas. Se puede configurar un filtro para permitir que señales ópticas que responden a la iluminación de la superficie objetivo con la luz de excitación y que tienen una longitud de onda correspondiente a una o más de autofluorescencia bacteriana y autofluorescencia tisular pasen a través del filtro hasta el sensor de imagen. Un procesador se puede configurar para, por ejemplo, realice uno o más de los siguientes. El procesador puede recibir señales ópticas en respuesta a la iluminación del objetivo con la luz infrarroja. Basado en las señales recibidas en respuesta a la iluminación del objetivo con la luz infrarroja, el procesador puede generar un mapa tridimensional de la superficie objetivo. El procesador puede recibir señales ópticas detectadas en respuesta a la iluminación de la superficie objetivo con luz de excitación y generar una imagen fluorescente bidimensional de la superficie objetivo. El procesador puede recibir señales ópticas en respuesta a la iluminación de luz blanca de la superficie objetivo y generar una imagen de luz blanca bidimensional de la superficie objetivo, y el procesador puede combinar el mapa tridimensional, la imagen de fluorescencia y la imagen de luz blanca para generar una imagen tridimensional de la superficie objetivo.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un producto de programa informático para usar con el dispositivo de imágenes. El producto de programa informático comprende en un medio legible por ordenador no transitorio. El medio no transitorio legible por ordenador almacena un código de programa informático para el procesamiento de imágenes. El código del programa informático es ejecutable por el procesador del dispositivo de imágenes para realizar uno o más de los métodos descritos en el presente documento.

## 25 Ejemplos

Ejemplo 1: Se utilizó un espectro de tejido para demostrar las técnicas de obtención de imágenes de la presente divulgación. Para obtener imágenes de la superficie completa de una muestra de lumpectomía, se escaneó bajo luz blanca usando una cámara PrimeSense y luego se volvió a escanear después de convertir el sensor CCD del dispositivo PrimeSense en una cámara de fluorescencia. Al utilizar marcadores fiduciales colocados externamente en la superficie de la muestra, las dos exploraciones de imágenes se pueden registrar conjuntamente. La fluorescencia se excitó utilizando una matriz de LED de 405 nm que iluminaba la superficie del tejido. El sistema PrimeSense estaba equipado con filtros ópticos para generar imágenes de fluorescencia en tiempo real como representaciones tridimensionales de la superficie de muestras de tejido extirpado (tumor), específicamente lumpectomías mamarias. PrimeSense detectó firmas fluorescentes específicas tanto de la autofluorescencia del tejido extirpado como de la fluorescencia inducida por agentes de contraste exógenos (porfirinas inducidas por ALA), aunque las imágenes de fluorescencia se pueden modificar para cualquier número o tipo de agente de contraste.

La figura 1 es una fotografía con luz blanca de un modelo experimental 100 que incluye un espectro de tejido 110 marcado con marcadores fiduciales de fluoresceína 130 en una superficie 112 del espectro de tejido. Los marcadores fiduciales de fluoresceína pueden aparecer de color amarillo/naranja bajo luz blanca y verde/amarillo bajo radiación ultravioleta. Se crea un tumor simulado 120 mediante PPIX fluorescente inyectado justo debajo de la superficie. El PPIX fluorescente generalmente aparece rojo bajo la radiación ultravioleta. El espectro de tejido 110 es un trozo de tejido de cerdo utilizado para simular una muestra de tejido de tumorectomía mamaria.

La figura 2A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 2B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 3A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido 110 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 3B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del espectro de tejido 110 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 4A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 4B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 5A es una imagen cruda de malla/superficie del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 5B es una imagen de malla/superficie sin procesar del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión.

La fluorescencia roja en las siguientes figuras generalmente indica el "tumor" simulado usando PPIX agregado. El tumor simulado representa gráficamente cómo se vería una tumorectomía mamaria con un margen positivo (fluorescencia roja). La figura 6A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 6B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 7A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del espectro de tejido 110 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 7B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del espectro de tejido 110 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 8A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 8B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 9A es una imagen cruda de

mallasuperficie del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 9B es una imagen de mallasuperficie sin procesar del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión.

5 Un multimodal (óptico, CT) marcador fiduciario que utiliza fluorescencia mixta y tintes CT para el registro conjunto de imágenes de fluorescencia y reflectancia de luz blanca representadas en superficie tridimensional con tomografía computarizada del espectro representada en superficie tridimensional. La luz de excitación fue de 405 nm. El filtro de emisión era un filtro de emisión de doble banda de 500-550 nm y 600-650 nm. Este filtro se colocó dentro de un soporte de filtro de plástico largo que puede deslizarse dentro y fuera de su posición frente al sensor de imagen de la cámara RGB para modificar la cámara RGB de una cámara de imágenes de luz blanca a una cámara de imágenes de fluorescencia. La cámara estaba conectada a un ordenador portátil que ejecutaba el software de recopilación de datos PrimeSense. Se utilizó una fuente de luz externa para iluminar el área objetivo del objetivo biológico (una pata de cerdo con una herida en la piel) con luz de 405 nm procedente de dos LED. El procesamiento de imágenes de tomografía computarizada de haz cónico utilizó el software InVesalius 3.

15 La figura 10A es una primera vista del espectro de tejido 110 que tiene fiduciales de CT 140 superpuestos sobre fiduciales fluorescentes 130. La figura 10B es una segunda vista del espectro de tejido que tiene fiduciales de CT superpuestos sobre fiduciales fluorescentes. La fluorescencia roja en las siguientes figuras generalmente indica el "tumor" simulado usando PPIX agregado. El tumor simulado representa gráficamente cómo se vería una tumorectomía mamaria con un margen positivo (fluorescencia roja). La figura 11A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 11B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 11C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 12A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 12B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 12C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido 110 desde un segundo ángulo de visión. La figura 13A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido 110 desde un tercer ángulo de visión. La figura 13B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un primer ángulo de visión. La figura 13C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido 110 desde un tercer ángulo de visión. La figura 14A es una reconstrucción de volumen tridimensional por CT de haz cónico del espectro de tejido 110 desde un cuarto ángulo de visión. La figura 14B es una representación tridimensional de fluorescencia del espectro de tejido 110 desde un cuarto ángulo de visión. La figura 14C es una imagen de CT más fluorescencia registrada conjuntamente del espectro de tejido 110 desde un cuarto ángulo de visión.

35 Estas figuras muestran la capacidad de las técnicas de la presente divulgación para crear imágenes tridimensionales de tejidos y otros objetos que sirven como herramientas valiosas para caracterizar y comprender mejor los tejidos y otros objetos. Un cirujano, por ejemplo, puede visualizar mejor la extensión del tejido canceroso en un paciente y formular escisiones para eliminar eficientemente el tejido canceroso preservando el tejido sano adyacente. Por tanto, el ejemplo 1 demuestra la eficacia de las técnicas divulgadas.

40 Ejemplo 2

En este ejemplo, los procedimientos se realizaron esencialmente igual que en el Ejemplo 1, pero se utilizó un segundo modelo experimental 200 que incluía un segundo tejido espectro que modelaba un tumor simulado. La figura 15A es una primera imagen del segundo espectro de tejido 210 para un tumor simulado 220 durante la preparación a partir de una paleta de cerdo que tiene piel (superficie) 212 similar a la piel humana. La figura 15B es una segunda imagen de un segundo espectro de tejido para un modelo de tumor durante la preparación. La figura 16 es una imagen del segundo espectro de tejido 210 que muestra el tumor simulado (modelo PPIX) 220 y los marcadores fiduciales de fluoresceína 230 también son visibles. Se puede utilizar una regla 250 para establecer la escala. La figura 17A es una imagen de una vista en perspectiva del segundo espectro de tejido 210 expuesto a luz violeta a través de un dispositivo de imágenes portátil para excitar la fluorescencia. La figura 17B es una imagen de una vista en planta de una imagen de emisión de fluorescencia desde el segundo espectro de tejido 210 expuesto a luz violeta para excitar la fluorescencia. La figura 18A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 18B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión. La figura 19A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido 210 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 19B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del segundo espectro de tejido 210 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 20A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 20B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión. La figura 21A es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 21B es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión.

65 La fluorescencia roja en las figuras generalmente indica las "bacterias" en la periferia de una "herida" simulada usando PPIX agregado. Las heridas simuladas representan gráficamente cómo se verían las heridas cóncavas infectadas con

bacterias con un margen positivo (fluorescencia roja). La figura 22A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 22B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión. La figura 23A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del segundo espectro de tejido 210 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 23B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del segundo espectro de tejido 210 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 24A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 24B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión. La figura 25A es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido 210 desde un primer ángulo de visión. La figura 25B es una imagen de malla/superficie sin procesar del segundo espectro de tejido 210 desde un segundo ángulo de visión.

Estas figuras muestran la capacidad de las técnicas de la presente divulgación para crear imágenes tridimensionales de tejidos y otros objetos que sirven como herramientas valiosas para caracterizar y comprender mejor los tejidos y otros objetos. Un cirujano, por ejemplo, puede visualizar mejor la extensión del tejido canceroso en un paciente y formular escisiones para eliminar eficientemente el tejido canceroso preservando el tejido sano adyacente. Por tanto, el ejemplo 2 demuestra la eficacia de las técnicas divulgadas.

### Ejemplo 3

En este ejemplo, los procedimientos se realizaron esencialmente igual que en el Ejemplo 1, pero se utilizó un tercer espectro de tejido que modelaba una herida profunda y una herida superficial. El procesamiento de imágenes de tomografía computarizada y tomografía computarizada de haz cónico utilizó el software InVesalius 3. La figura 26A es una primera imagen de un tercer espectro de tejido 310 para un modelo de herida 300 durante la preparación en la piel 312 para incluir tanto una herida profunda 360 como una herida superficial 370. Se puede incluir una regla 350 para escala. La figura 26B es una segunda imagen de un tercer espectro de tejido 310 durante la preparación. La figura 26C es una tercera imagen de un tercer espectro de tejido 310 durante la preparación que representa una herida profunda 360 que incluye la periferia de la herida 362 pintada con PPIX para simular la presencia de bacterias en la herida. La figura 26D es una cuarta imagen de un tercer espectro de tejido 310 durante la preparación que representa tanto una herida profunda 360 como una herida superficial 370, así como marcadores fiduciales de fluoresceína 330. La figura 27A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 27B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión. La figura 28A es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido 310 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 28B es una imagen tridimensional de la superficie de luz blanca del tercer espectro de tejido 310 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 29A es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 29B es una imagen superpuesta de malla tridimensional más luz blanca del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión. La figura 30A es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 30B es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión. La figura 31A es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 31B es una imagen tridimensional de la superficie de fluorescencia del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión. La figura 32A es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del tercer espectro de tejido 310 más malla desde un primer ángulo de visión. La figura 32B es una imagen de superficie de fluorescencia tridimensional del tercer espectro de tejido 310 más malla desde un segundo ángulo de visión. La figura 33A es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 33B es una imagen de malla tridimensional más superposición de fluorescencia del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión. La figura 34A es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido 310 desde un primer ángulo de visión. La figura 34B es una imagen de malla/superficie sin procesar del tercer espectro de tejido 310 desde un segundo ángulo de visión.

La figura 35A es una imagen del tercer espectro de tejido 310 preparado con marcadores fiduciales de CT para una exploración por CT de haz cónico. La figura 35B es una imagen de exploración por CT de haz cónico del tercer espectro de tejido 310. La figura 35C es una imagen del tercer espectro de tejido 310 preparado para una exploración CT de haz cónico en una máquina CT 380. La figura 35D es una imagen del tercer espectro de tejido 310 sometido a una exploración por CT de haz cónico. La figura 36A es una imagen del tercer espectro de tejido 310 preparado con fiduciales de CT 340 registrados espacialmente con fiduciales de fluoresceína 330 para una exploración por CT. La figura 36B es una imagen del tercer espectro de tejido 310 sometido a una exploración por CT. La figura 37 es una fotografía superpuesta con una cuadrícula de topología de herida 490 de una herida 460 sobre una piel 410 medida de acuerdo con la presente divulgación. La medida determinó una longitud de unos 4 cm, un ancho de unos 9 cm, una profundidad de unos 3 cm y un volumen de unos 99,5 cm<sup>3</sup>.

Estas figuras muestran la capacidad de las técnicas de la presente divulgación para crear imágenes tridimensionales de tejidos y otros objetos que sirven como herramientas valiosas para caracterizar y comprender mejor los tejidos y otros objetos. Un médico, por ejemplo, se puede visualizar mejor la naturaleza de la herida de un paciente y su

progresión a lo largo del tiempo para ayudar a determinar si un régimen de tratamiento es eficaz o debe modificarse para promover la curación de la herida. Adicionalmente, un médico puede visualizar mejor la ubicación o el tamaño de una infección (o la ubicación/cantidad de bacterias presentes) en una herida y adaptar los regímenes de tratamiento en consecuencia. Por tanto, el ejemplo 3 demuestra la eficacia de las técnicas divulgadas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para generar una imagen tridimensional de un objetivo utilizando imágenes bidimensionales, que comprende:
- 5           generar (510) un mapa tridimensional de un área objetivo asociada con uno o más marcadores fiduciales, en donde el mapa tridimensional se genera usando luz infrarroja;
- capturar (520) una imagen bidimensional de luz blanca del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales;
- 10          crear (530) una imagen de luz blanca tridimensional a partir de la imagen de luz blanca bidimensional y el mapa tridimensional;
- capturar (540) una imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales;
- crear (550) una imagen de fluorescencia tridimensional a partir de la imagen de fluorescencia bidimensional y el mapa tridimensional; y
- 15          alineal (560) la imagen tridimensional de luz blanca y la imagen tridimensional de fluorescencia usando uno o más marcadores fiduciales para formar una imagen tridimensional superpuesta.
2. El método de la reivindicación 1, en donde la captura (540) de la imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales comprende:
- 20          iluminar (542) el área objetivo y uno o más marcadores fiduciales con una luz de excitación, y recibir (544) al menos una emisión de fluorescencia en respuesta a la iluminación del área objetivo con la luz de excitación.
3. El método de la reivindicación 2, en donde la luz de excitación está entre aproximadamente 400 nm y aproximadamente 450 nm.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la captura (540) de la imagen de fluorescencia bidimensional del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales comprende capturar una emisión de al menos una molécula fluorescente.
- 30          5. El método de la reivindicación 4, en donde la al menos una molécula fluorescente comprende una molécula endógena capaz de emitir fluorescencia, una molécula exógena capaz de emitir fluorescencia o una molécula que comprende un resto añadido exógenamente capaz de emitir fluorescencia; opcionalmente en donde la al menos una molécula fluorescente comprende porfirinas inducidas por ácido aminolevulínico (ALA).
- 35          6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el mapa tridimensional se genera usando luz infrarroja cercana.
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde generar (510) el mapa tridimensional comprende:
- 40                 proyectar (512) radiación infrarroja en el área objetivo;
- recibir (514) radiación infrarroja reflejada por el área objetivo; y
- medir (516) la profundidad del área objetivo basándose en la radiación infrarroja reflejada para generar el mapa tridimensional.
- 45                 8. El método de la reivindicación 7, en donde la radiación infrarroja se proyecta como un haz dividido en un patrón de luz, la radiación infrarroja reflejada comprende una distorsión del patrón de luz, y la profundidad se mide basándose en la distorsión del patrón de luz; o en donde la profundidad se mide mediante el tiempo de vuelo basándose en un cambio de fase entre la radiación infrarroja proyectada y reflejada.
- 50                 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el área objetivo comprende al menos una herida, opcionalmente en donde la herida comprende al menos una bacteria que comprende al menos una molécula fluorescente.
- 55                 10. El método de la reivindicación 9, en donde el método comprende además determinar uno o ambos de un área superficial y un volumen de la herida.
- 60                 11. El método de la reivindicación 9 o 10, en donde el método se realiza al menos dos veces, las dos representaciones comprenden una primera representación y una segunda representación separadas por un período de tiempo de al menos tres horas, siendo la imagen tridimensional superpuesta de la primera representación una primera imagen tridimensional superpuesta y siendo la imagen tridimensional superpuesta de la segunda representación una segunda imagen tridimensional superpuesta, comprendiendo además el método comparar la primera y segunda imágenes tridimensionales superpuestas para determinar un estado de curación de heridas no diagnóstico.
- 65                 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende adicionalmente:

- 5 capturar (570) una imagen tridimensional complementaria del área objetivo y uno o más marcadores fiduciales usando una técnica de imágenes que comprende uno o más de tomografía computarizada (CT), formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), imágenes fotoacústicas, ultrasonido y tomografía de coherencia óptica;
- y
- 10 superponer (580) la imagen superpuesta tridimensional, siendo la imagen superpuesta una primera imagen superpuesta tridimensional, con la imagen tridimensional complementaria para formar una segunda imagen tridimensional superpuesta.
13. El método de la reivindicación 1, en donde el área objetivo comprende un lecho quirúrgico del cual se ha extirpado un tejido.
14. Un dispositivo de obtención de imágenes que comprende:
- 15 una fuente de luz de excitación configurada para emitir una primera radiación capaz de excitar un fluoróforo;
- un filtro configurado para impedir el paso de la luz de excitación reflejada y permitir el paso de la fluorescencia emitida por el fluoróforo;
- una lente de formación de imágenes;
- 20 una fuente de luz visible configurada para emitir una segunda radiación;
- una fuente de luz infrarroja configurada para emitir una tercera radiación;
- al menos un sensor de imagen configurado para detectar radiación; y
- un procesador configurado para recibir la radiación detectada y para generar datos asociados con la radiación detectada,
- 25 en donde el dispositivo de imágenes está configurado para realizar el método de la reivindicación 1.
15. Un producto de programa informático para usar con el dispositivo de imágenes de la reivindicación 14, comprendiendo el producto de programa informático un medio legible por ordenador no transitorio, en donde el medio no transitorio legible por ordenador almacena un código de programa informático para el procesamiento de imágenes,
- 30 en donde el código del programa informático es ejecutable por el procesador del dispositivo de imágenes para realizar el método de la reivindicación 1.

FIG. 2A

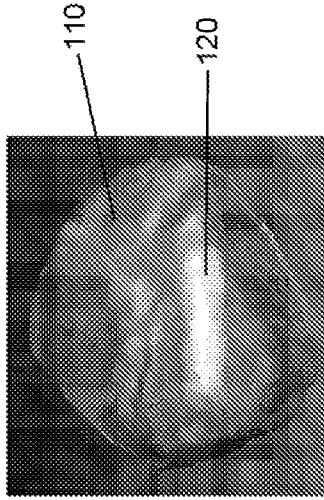


FIG. 2B

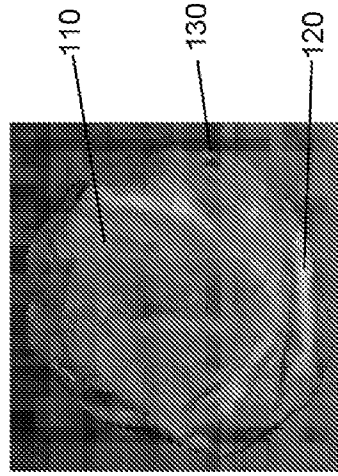


FIG. 1

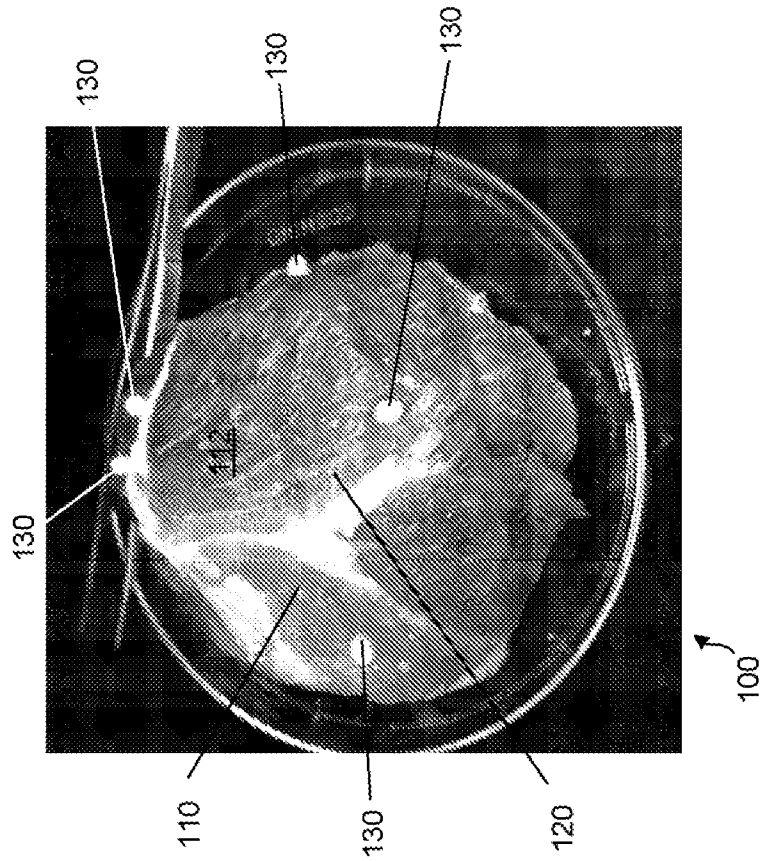


FIG. 4A

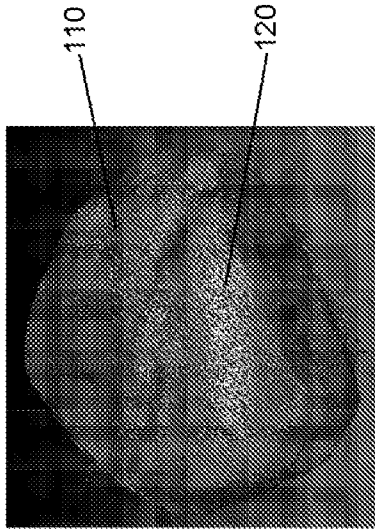


FIG. 4B

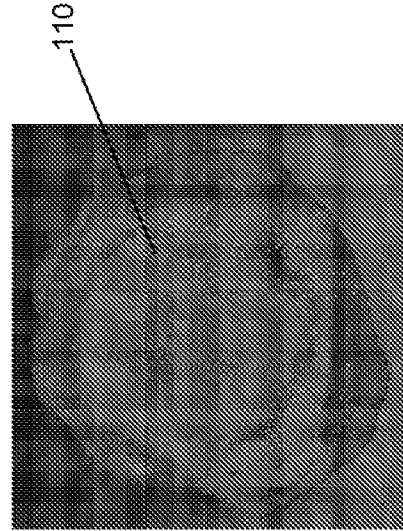


FIG. 3A

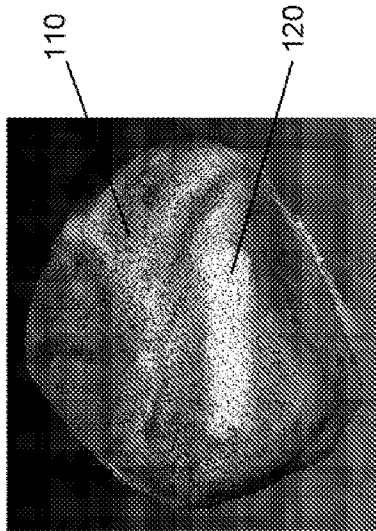


FIG. 3B

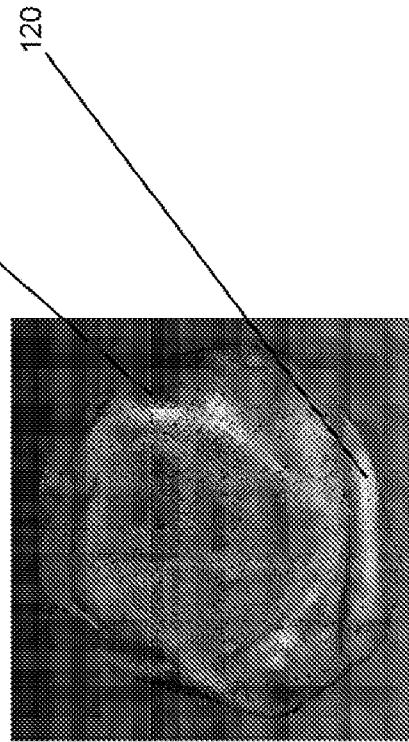
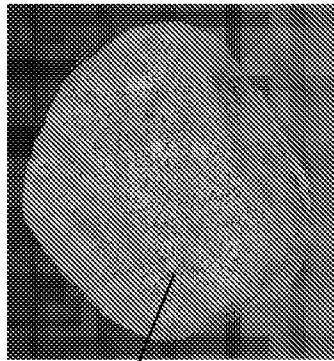
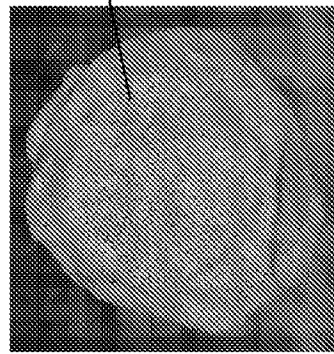


FIG. 5A



110

FIG. 5B



110

FIG. 6A



110

130

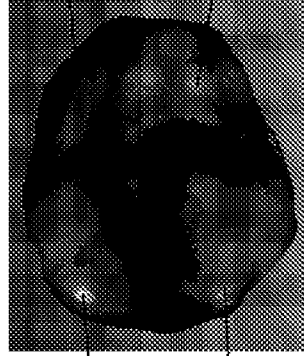
120

130

130

130

FIG. 6B



110

130

130

130

FIG. 7A

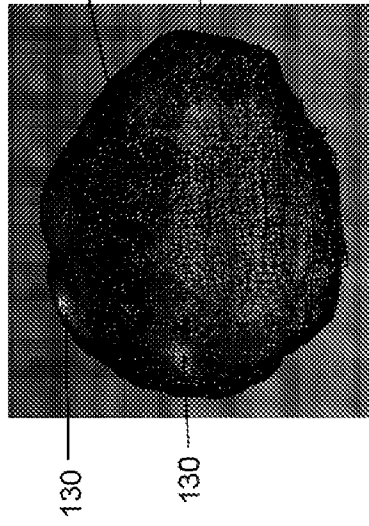


FIG. 8A



FIG. 7B

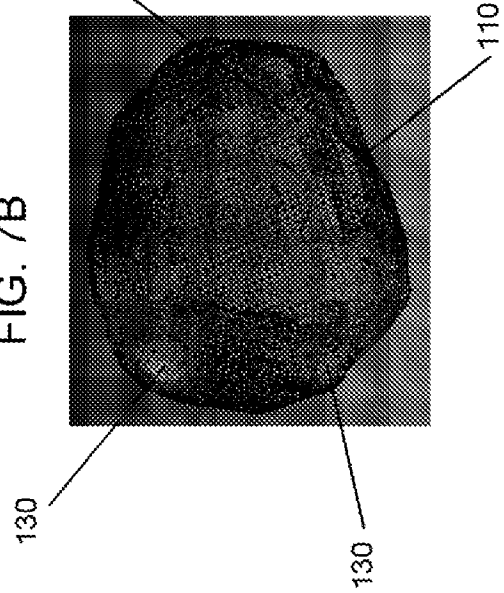


FIG. 8B

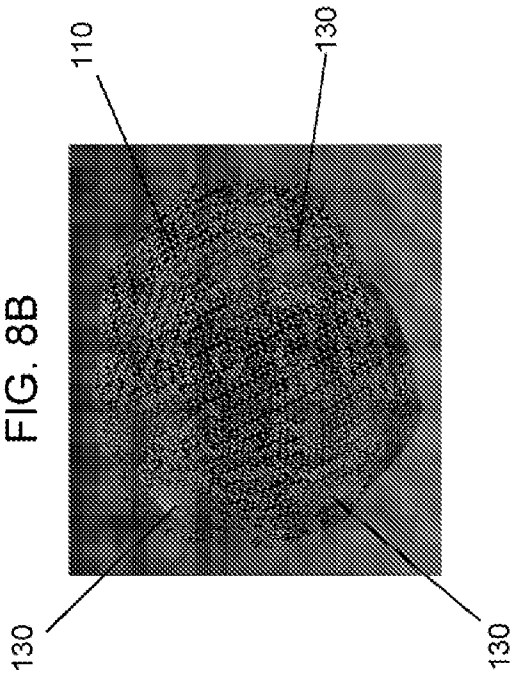


FIG. 10A

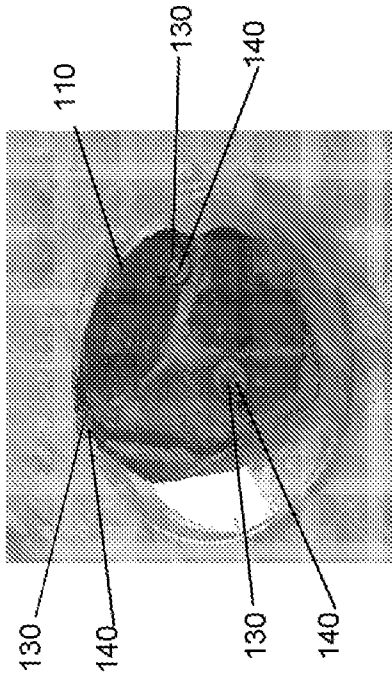


FIG. 10B

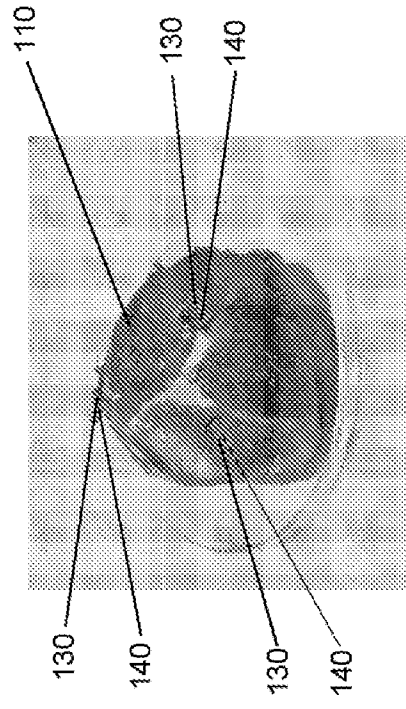


FIG. 9A

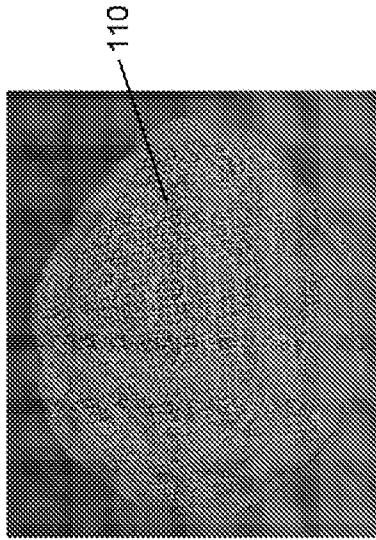


FIG. 9B

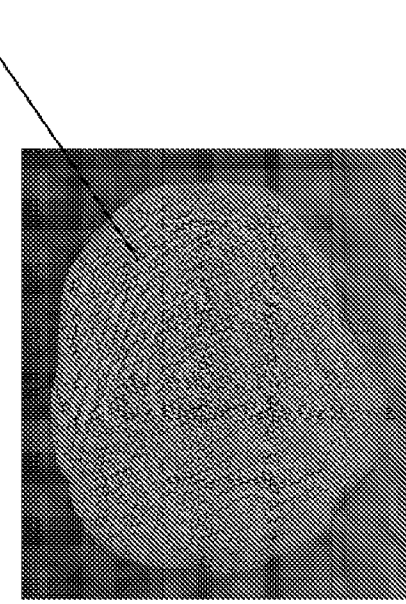


FIG. 11A

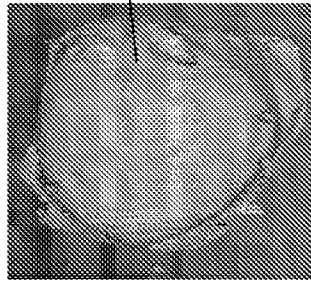


FIG. 11B

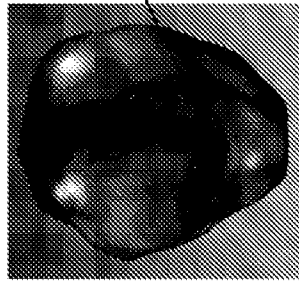


FIG. 11C

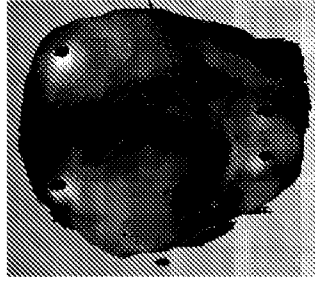


FIG. 12A

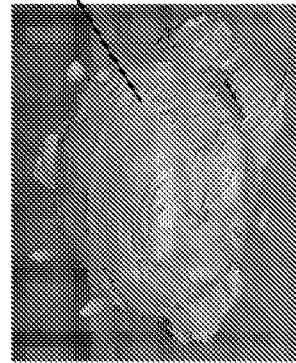


FIG. 12B

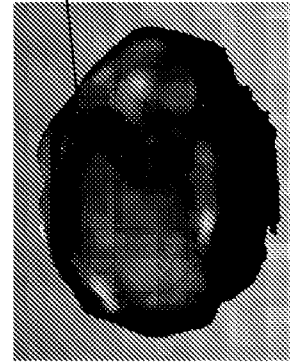


FIG. 12C



FIG. 13A

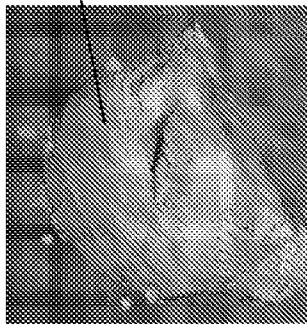


FIG. 13B

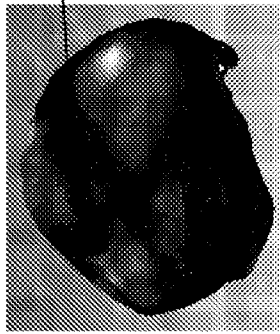


FIG. 13C

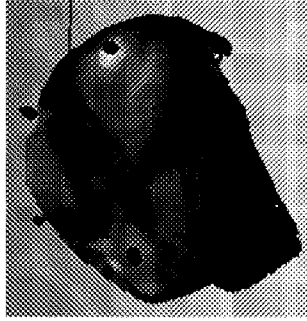


FIG. 14A

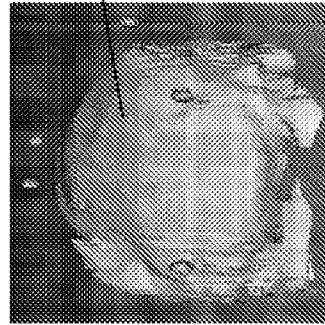


FIG. 14B

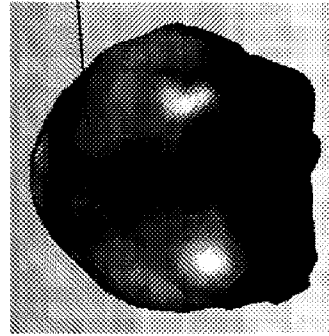


FIG. 14C

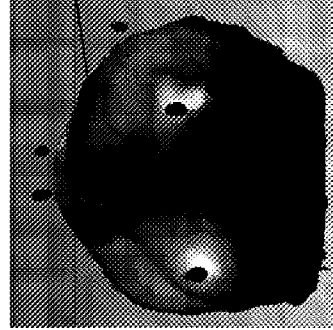


FIG. 15B

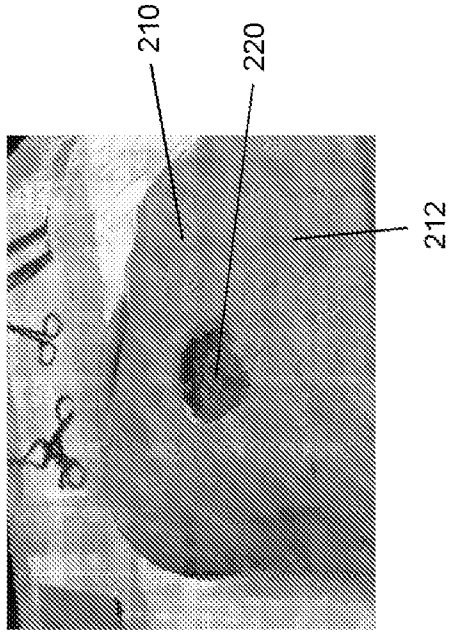


FIG. 15A

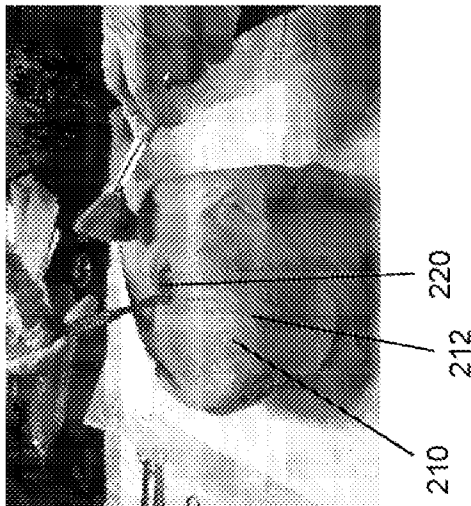


FIG. 16

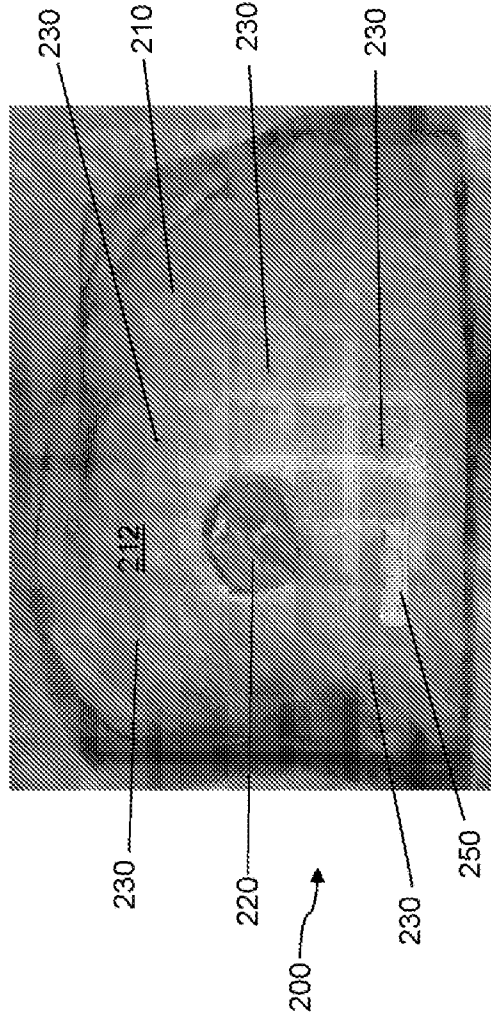


FIG. 17B

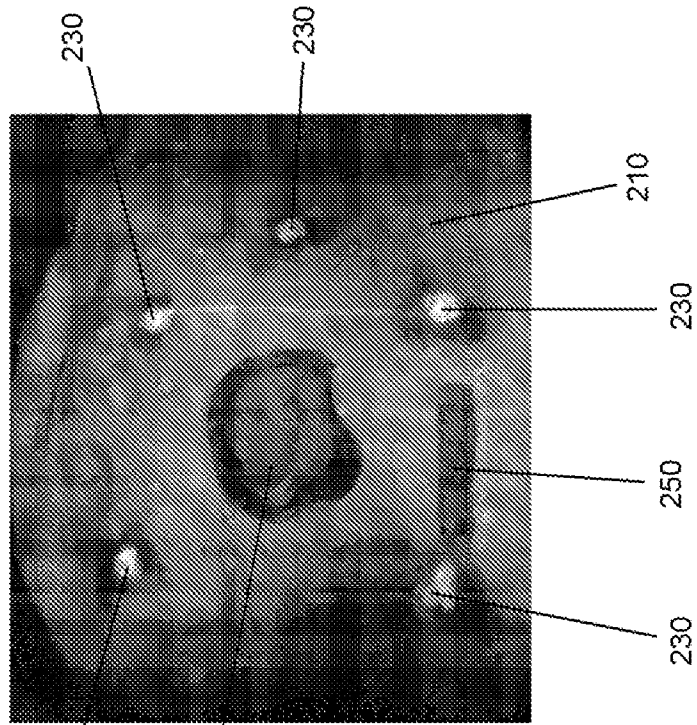


FIG. 17A

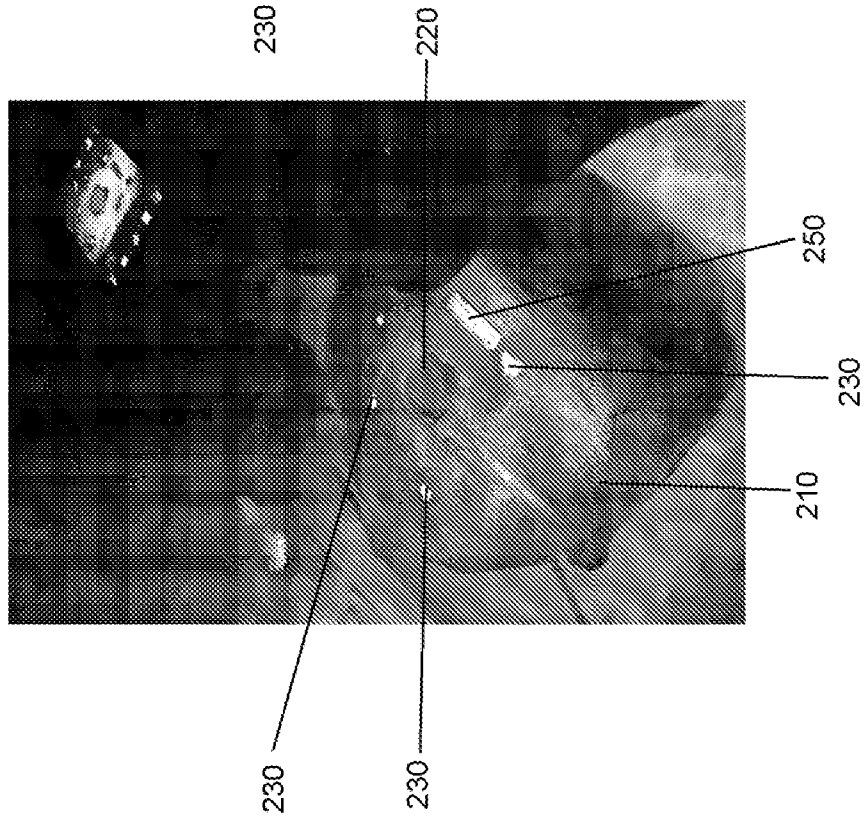


FIG. 18A

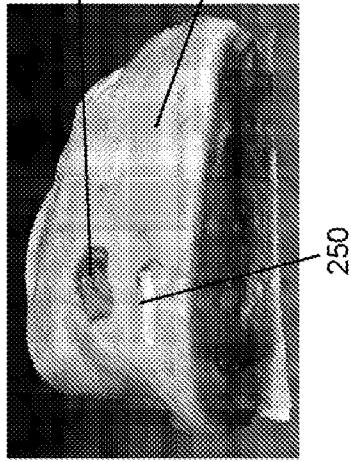


FIG. 19A

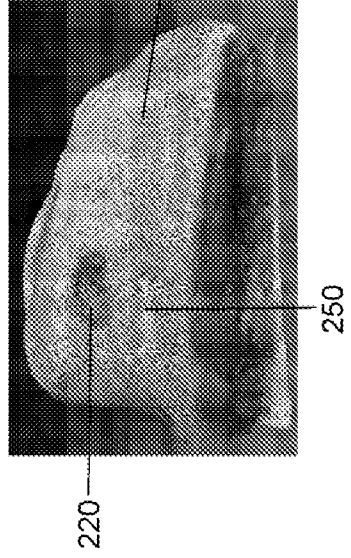


FIG. 18B

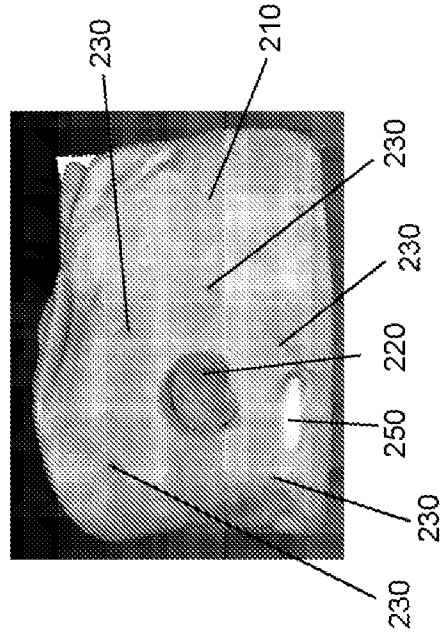


FIG. 19B

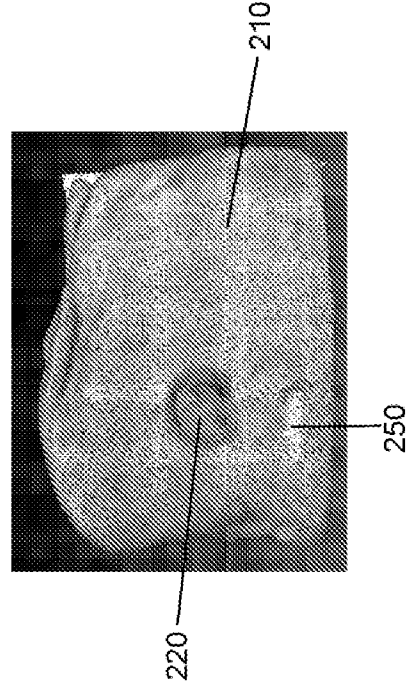


FIG. 21A

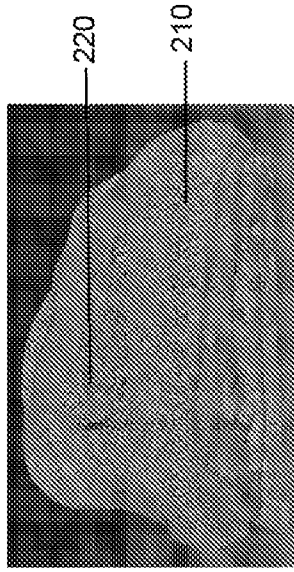


FIG. 21B

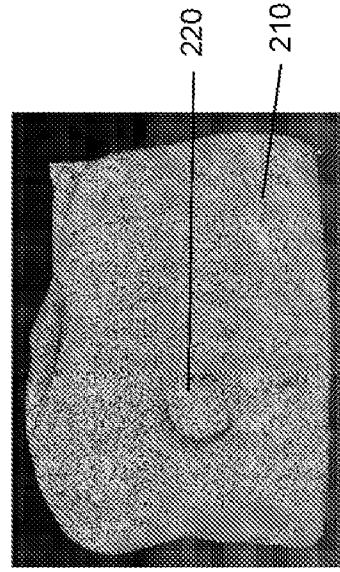


FIG. 20A

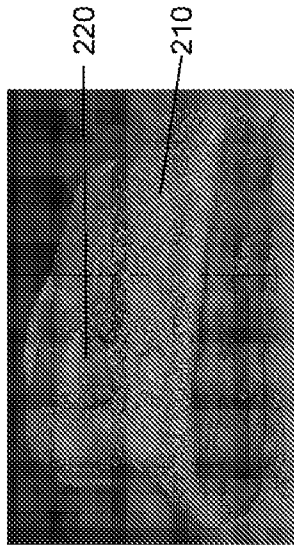


FIG. 20B

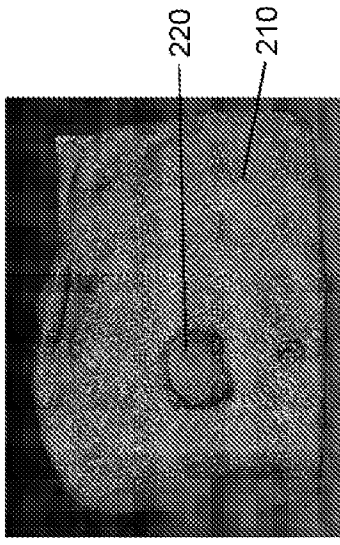


FIG. 23A

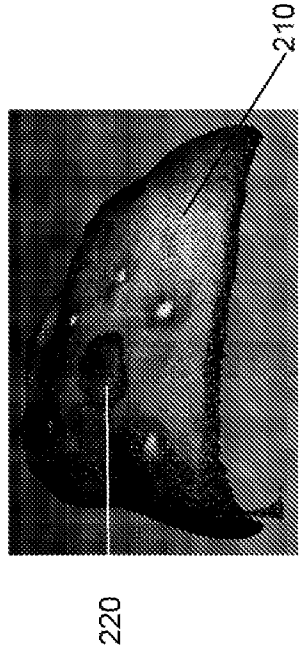


FIG. 23B

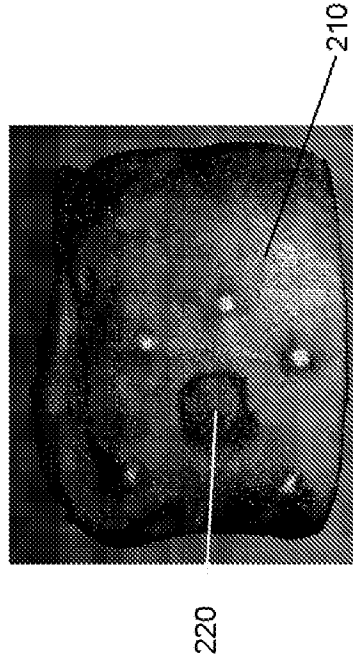


FIG. 22A

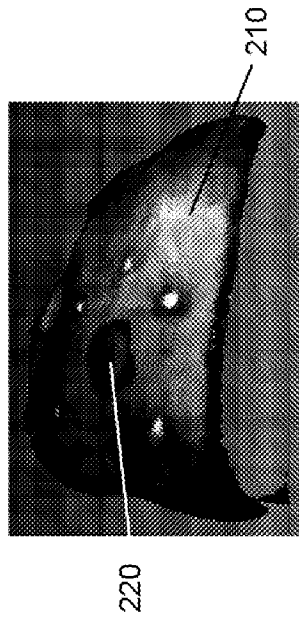


FIG. 22B

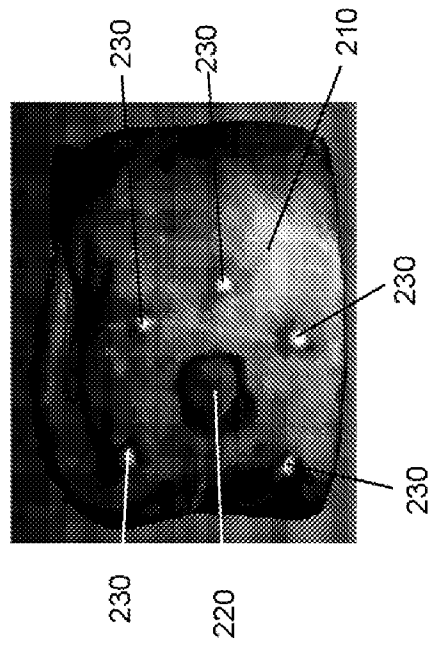


FIG. 24A

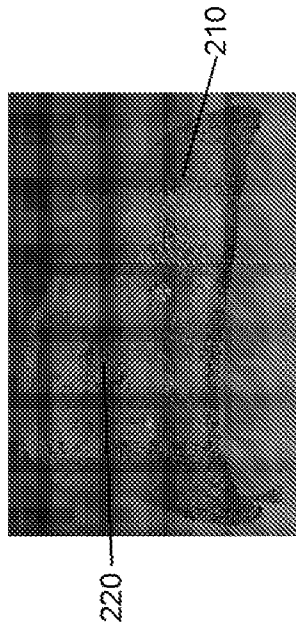


FIG. 25A

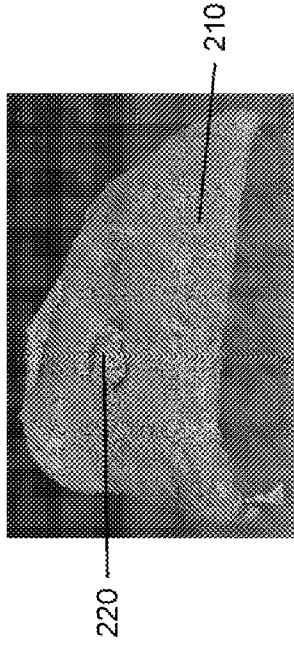


FIG. 24B

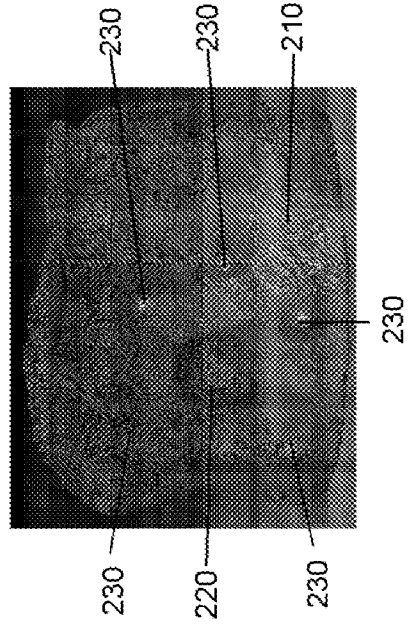


FIG. 25B

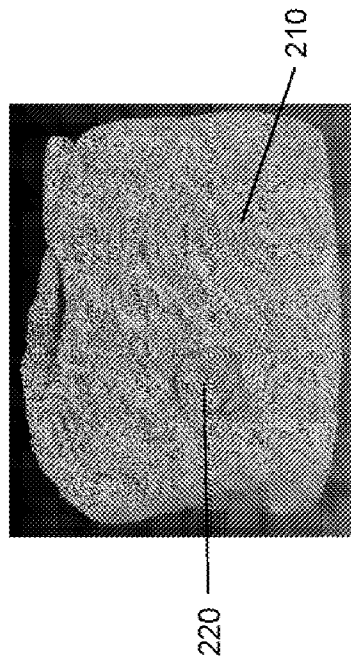


FIG. 26B

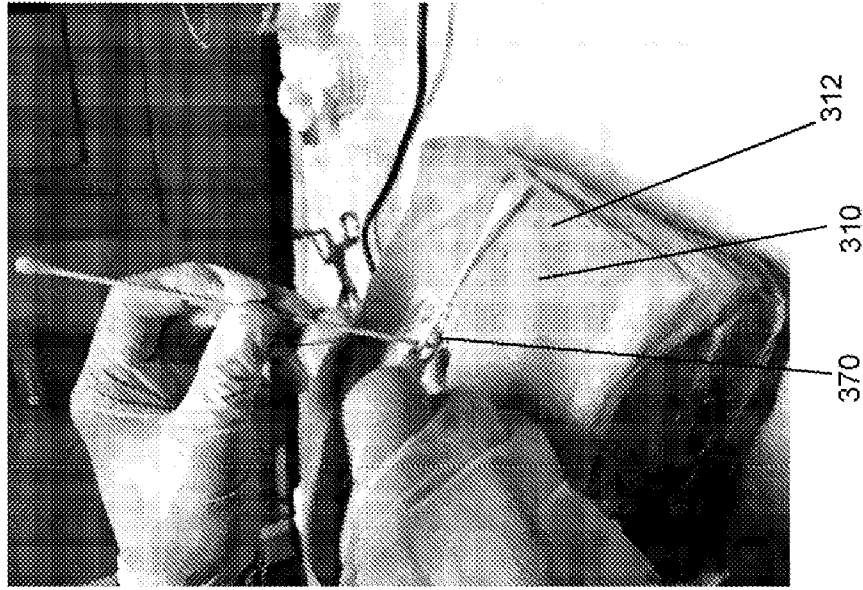


FIG. 26A

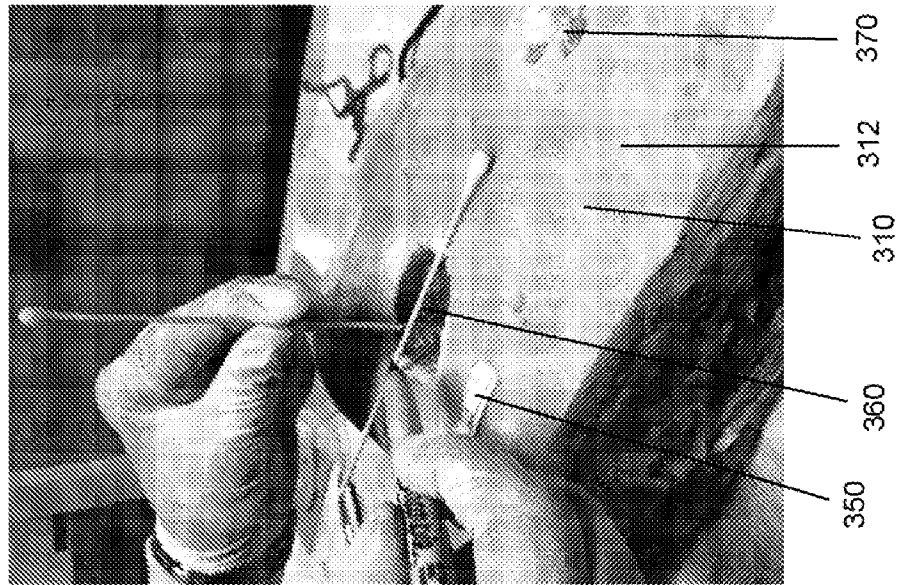


FIG. 26D

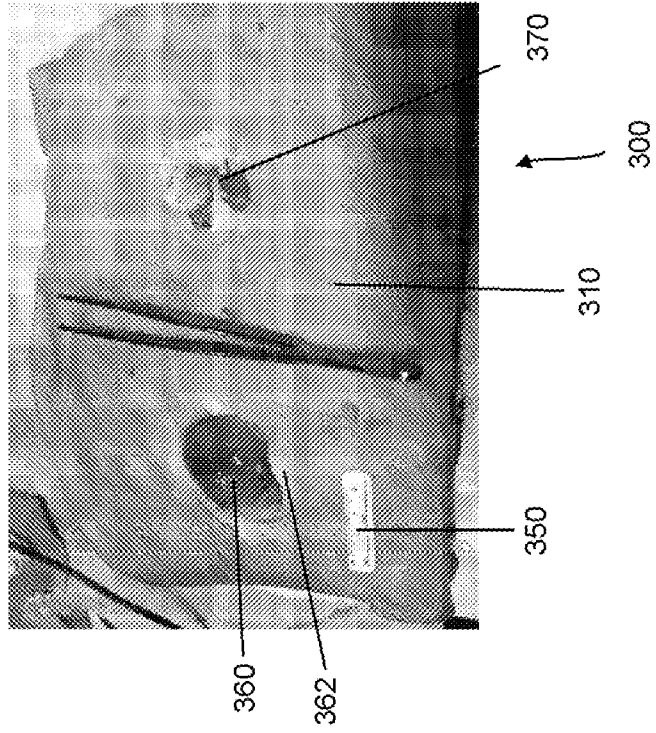


FIG. 26C

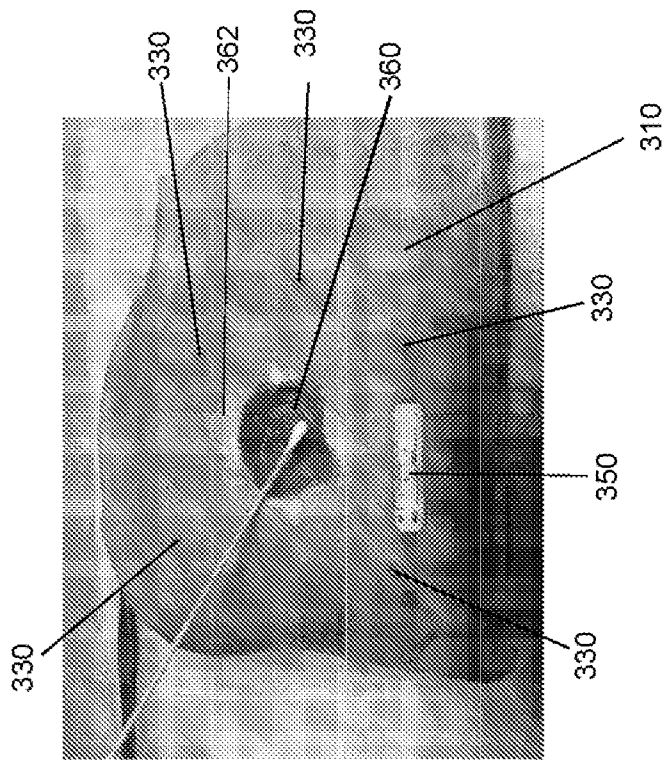


FIG. 28A

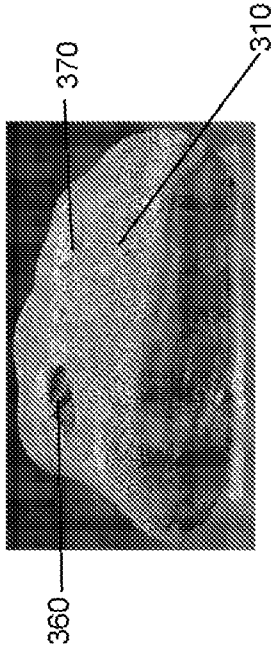


FIG. 28B

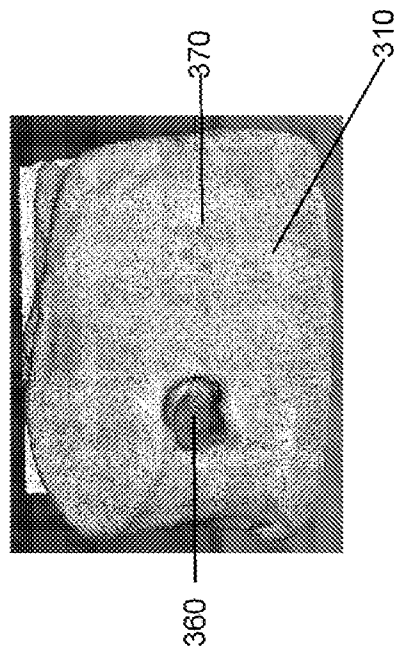


FIG. 27A

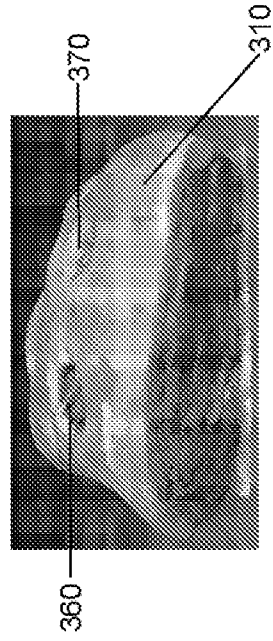


FIG. 27B

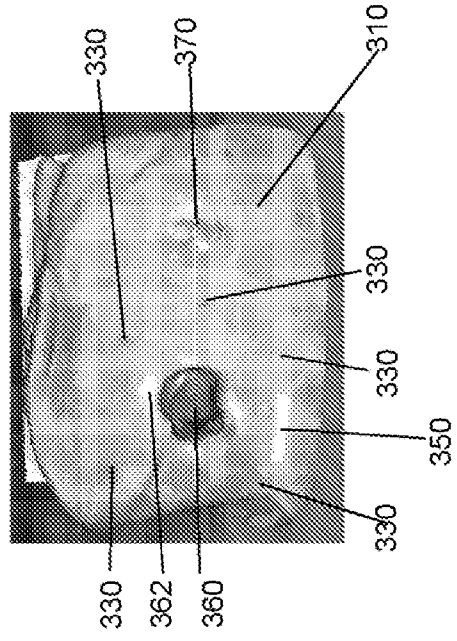


FIG. 29A

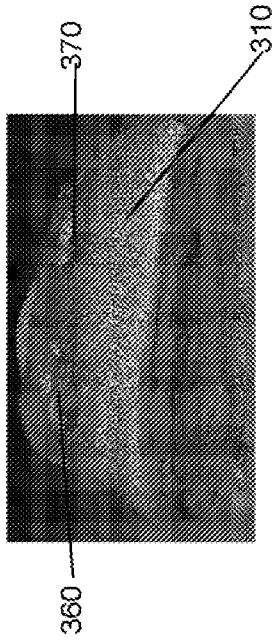


FIG. 29B

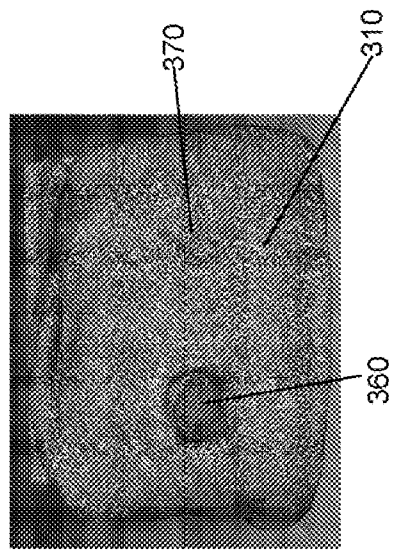


FIG. 30A

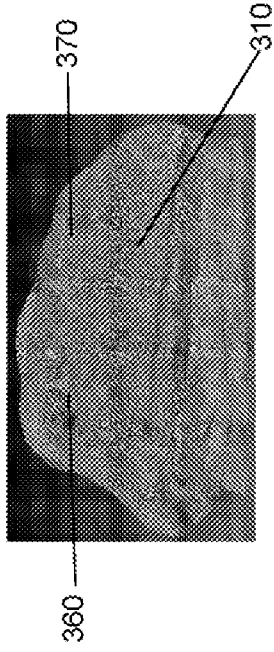


FIG. 30B

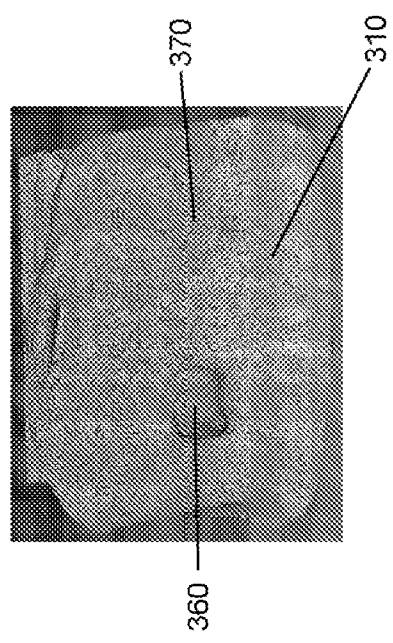


FIG. 32A

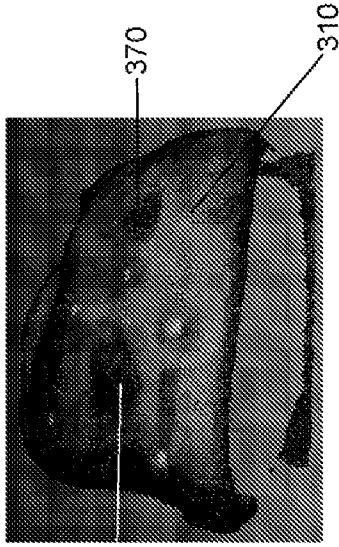


FIG. 32B

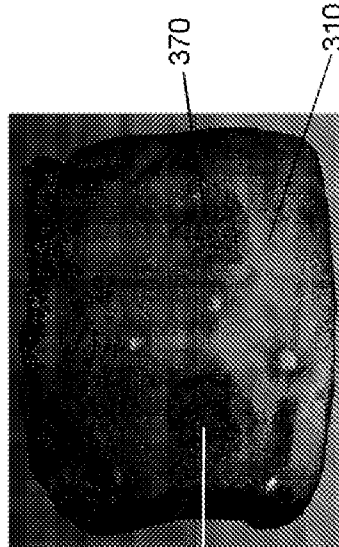


FIG. 31A

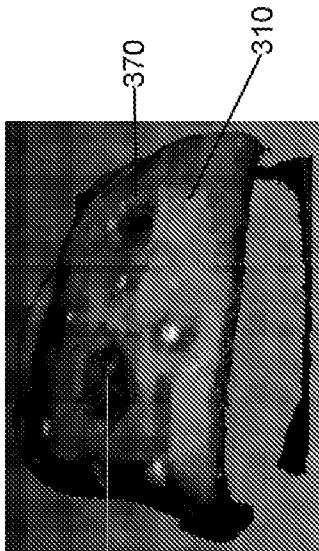


FIG. 31B

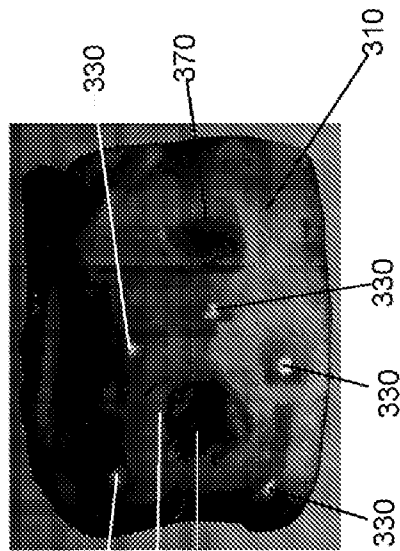


FIG. 34A

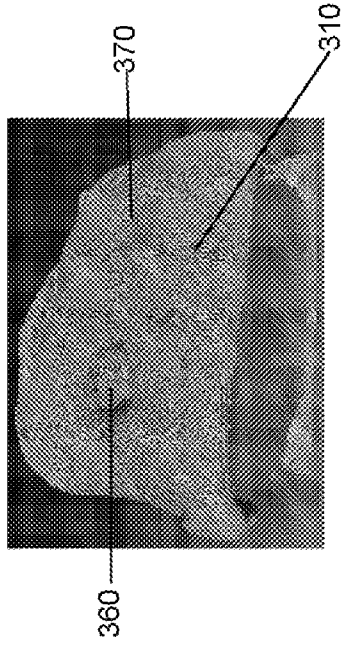


FIG. 34B

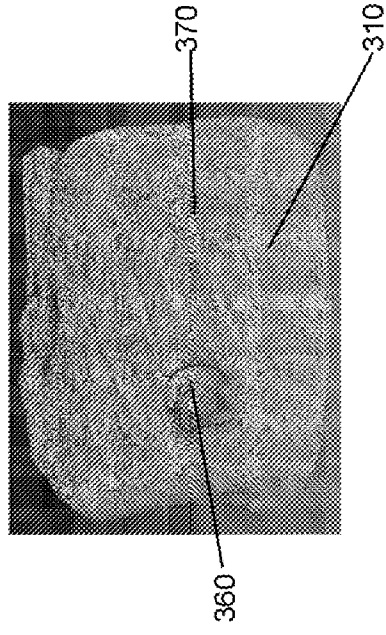


FIG. 33A

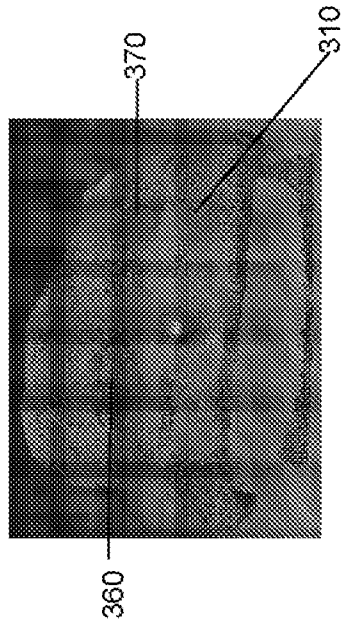


FIG. 33B

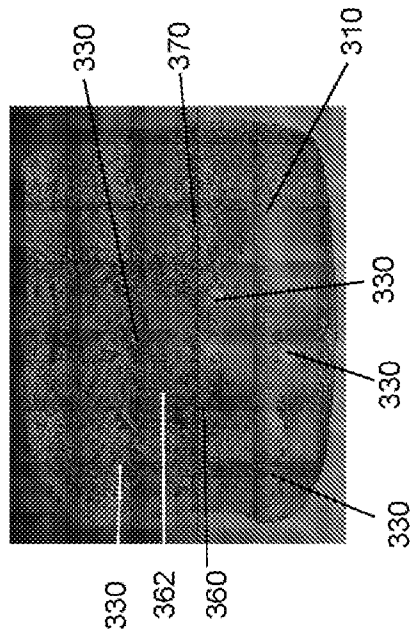


FIG. 35B

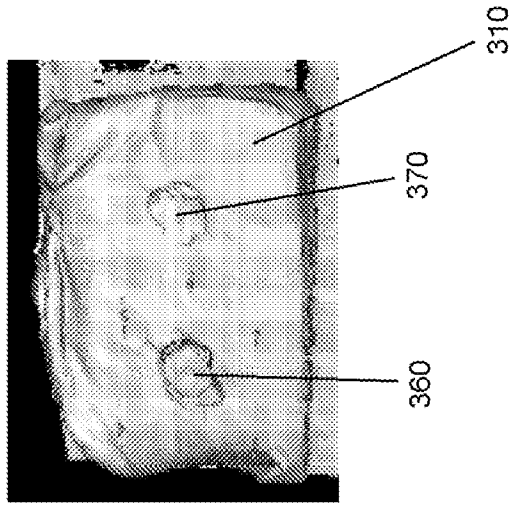


FIG. 35A

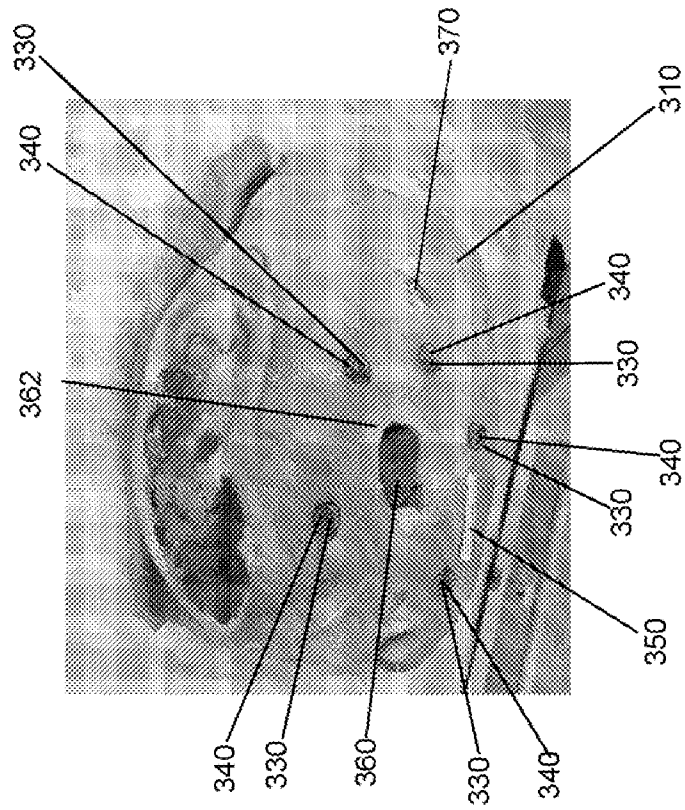


FIG. 36A

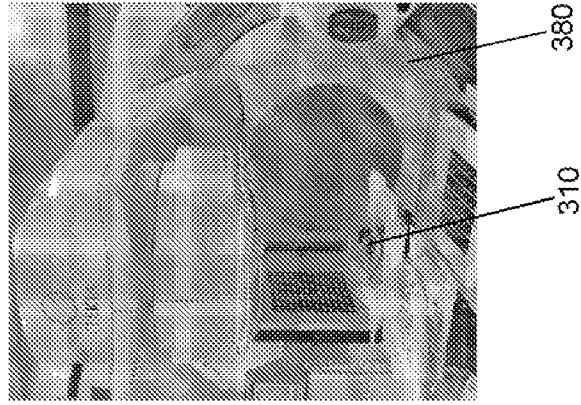


FIG. 35D

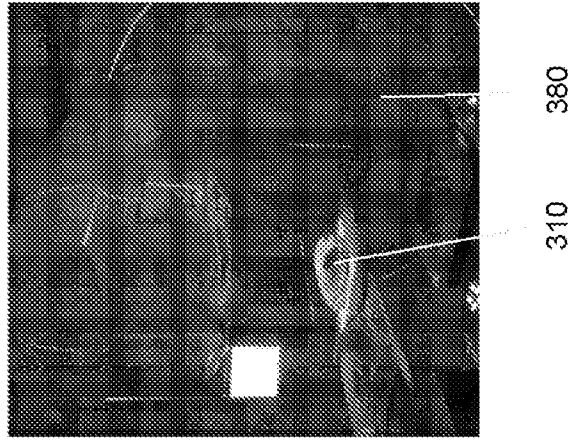


FIG. 35C



FIG. 37

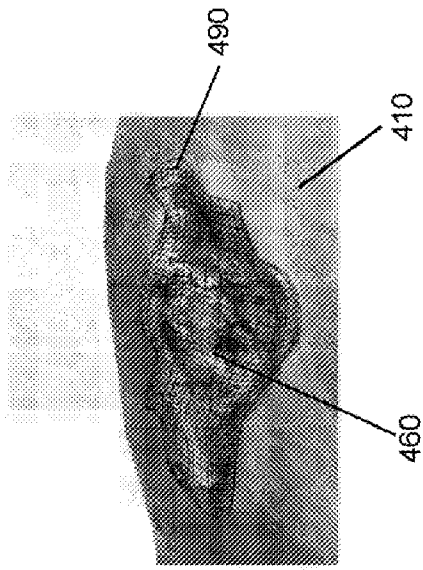
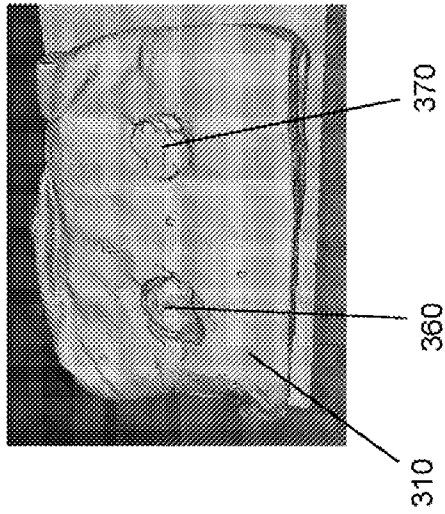


FIG. 36B



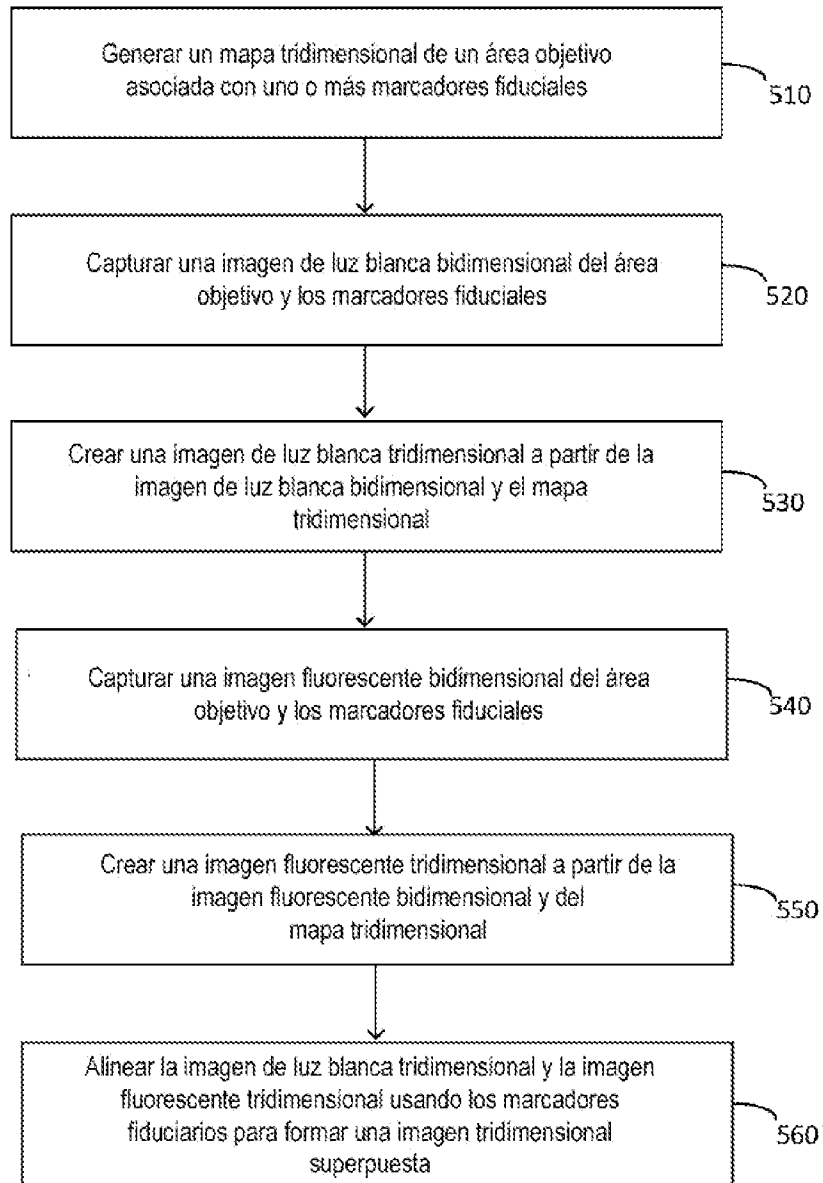


FIG. 38

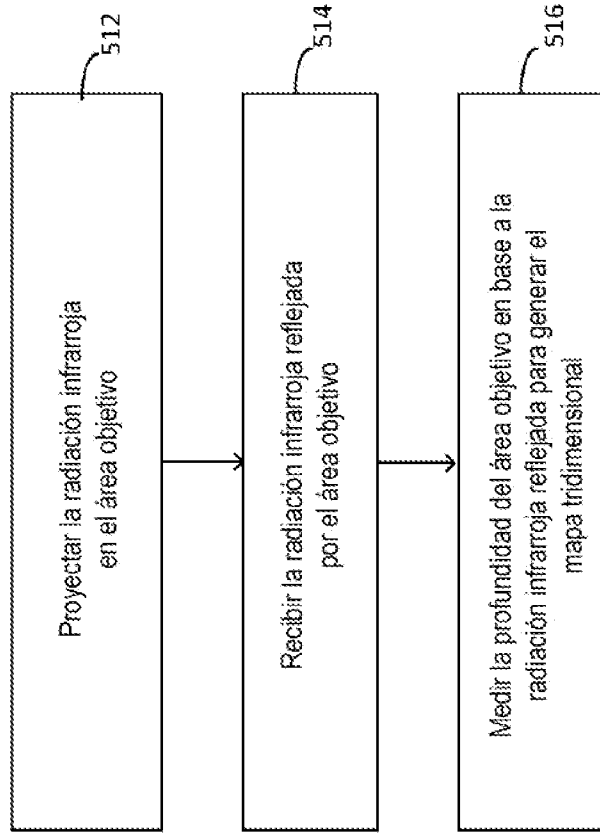


FIG. 40

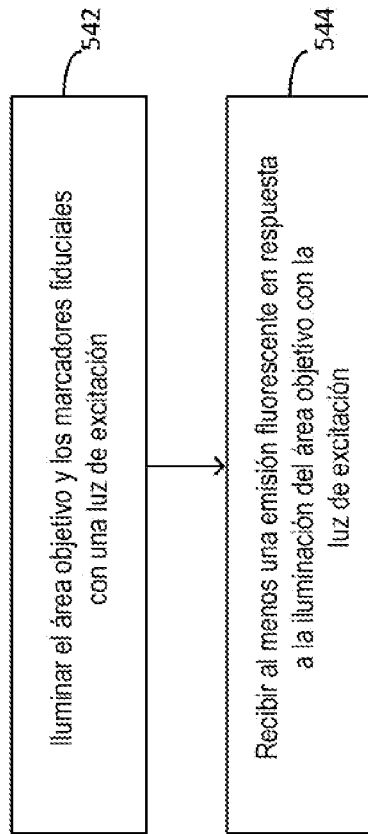


FIG. 39

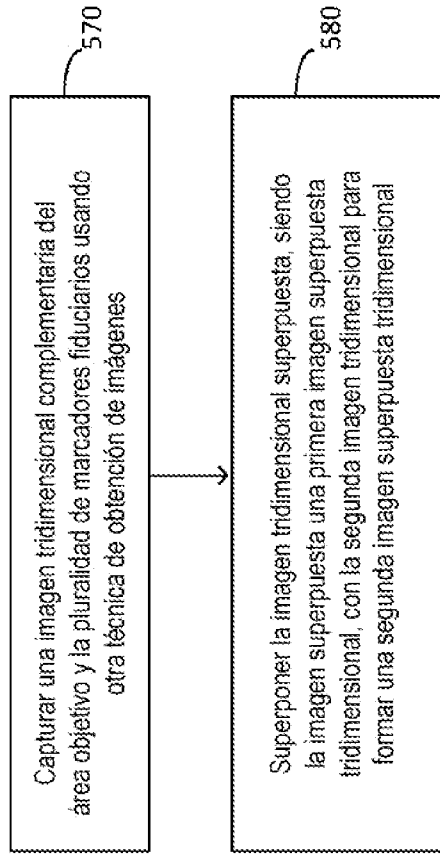


FIG. 41