



(12) **Patentschrift**

(21) Aktenzeichen: **103 39 784.1**  
 (22) Anmeldetag: **28.08.2003**  
 (43) Offenlegungstag: **25.03.2004**  
 (45) Veröffentlichungstag  
 der Patenterteilung: **16.09.2021**

(51) Int Cl.: **G02B 21/00** (2006.01)  
**G01N 21/64** (2006.01)  
**G01N 21/25** (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(66) Innere Priorität:

**102 39 514.4**      **28.08.2002**  
**103 04 268.7**      **03.02.2003**

(62) Teilung in:

**103 62 400.7; 103 62 402.3; 103 62 401.5**

(73) Patentinhaber:

**Carl Zeiss Meditec AG, 07745 Jena, DE; Klinikum  
 der Johann Wolfgang Goethe Universität in  
 Frankfurt, 60596 Frankfurt, DE**

(74) Vertreter:

**Diehl & Partner Patent- und Rechtsanwaltskanzlei  
 mbB, 80636 München, DE**

(72) Erfinder:

**Haisch, Michael, Dr., 73430 Aalen, DE; Hauger,  
 Christoph, Dr., 73431 Aalen, DE; Wolf, Hartmut,  
 73447 Oberkochen, DE; Hug, Joachim, 73447  
 Oberkochen, DE; Schwarz, Brigitta, 73447  
 Oberkochen, DE; Gaida, Gerhard, Dr., 73430  
 Aalen, DE; Raabe, Andreas, Dr., 60528 Frankfurt,  
 DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:

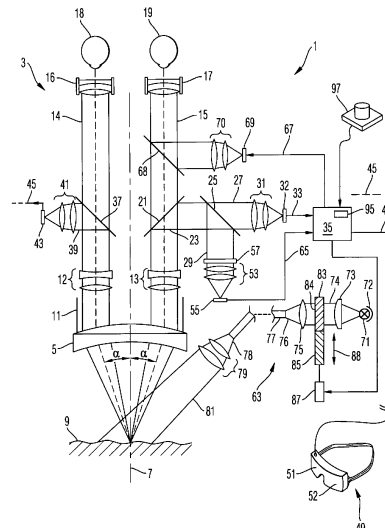
<b>DE</b>	<b>43 20 579</b>	<b>A1</b>
<b>DE</b>	<b>694 02 958</b>	<b>T2</b>
<b>US</b>	<b>6 262 837</b>	<b>B1</b>
<b>US</b>	<b>4 786 155</b>	<b>A</b>

(54) Bezeichnung: **Mikroskopiesystem und Mikroskopieverfahren**

(57) Hauptanspruch: Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffs, wobei das Mikroskopiesystem umfasst:

- eine Mikroskopieoptik (3) mit
- einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera (55) zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich enthält, der eine Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, und
- einem zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs (9), wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält,
- einen Bilddatenspeicher (95) zur Speicherung wenigstens eines während einer Zeitdauer durch die erste Kamera gewonnenen Satzes erster Bilddaten, und
- ein Anzeigesystem (69; 49) zur Anzeige einer Folge von aus wenigstens einer Teilmenge des Satzes erster Bilddaten erzeugten zweiten Darstellungen zeitlich nacheinander und in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer, wobei das Mikroskopiesystem ferner eine Steuerung (35) umfasst, welche dazu

ausgebildet ist, die Teilmenge des Satzes von ersten Bilddaten in Abhängigkeit von Intensitäten der von den ersten Bilddaten des ersten Satzes repräsentierte Bilder zu bestimmen.



## Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein Mikroskopiesystem und ein Mikroskopieverfahren, welche insbesondere der Beobachtung einer Fluoreszenz bei Wellenlängen des nahen Infrarot oder/und des Infrarot einsetzbar sind.

**[0002]** Fluoreszenzfarbstoffe, deren Fluoreszenzwellenlängen im Bereich des nahen Infrarot oder des Infrarot liegen, werden in der Medizin für verschiedene Zwecke eingesetzt, wie beispielsweise zur Sichtbarmachung von bestimmten Gewebearten, Gewebestrukturen, Gewebefunktionen usw. Hierbei wird einem zu untersuchenden Patienten Fluoreszenzfarbstoff oder ein Vorläufer eines solchen Fluoreszenzfarbstoffs verabreicht. Der Farbstoff reichert sich in bestimmten Gewebearten bzw. Gewebestrukturen des Patienten an, und durch Beobachtung des Fluoreszenzlichts können diese Gewebestrukturen bzw. Gewebearten sichtbar gemacht und von einem Beobachter lokalisiert werden. Hierzu werden weiter spezielle optische Hilfsmittel eingesetzt, um das unter Umständen schwache Fluoreszenzlicht für den Beobachter gut sichtbar zu machen.

**[0003]** Ein Beispiel für einen geeigneten Fluoreszenzfarbstoff ist Indocyaningrün (ICG). Aus T. Kuroiwa et al., „Development and Clinical Application of Near-Infrared Surgical Microscope: Preliminary Report“, Minim Invas Neurosurg 2001; 44: 240-242, ist ein Verfahren und System zur Beobachtung der Fluoreszenz dieses Farbstoffs bekannt. Die Anregungswellenlänge der Fluoreszenz des Farbstoffs liegt bei 780 nm und die Fluoreszenzwellenlänge bei 835 nm. Zur mikroskopischen Untersuchung eines mit ICG angereicherten Gewebes wird dieses mit Licht einer Haupt-Wellenlänge von 800 nm aus einer Laserlichtquelle oder einer Halogenlampe beleuchtet, in deren Strahlengang ein Bandpaßfilter angeordnet ist, welcher lediglich Licht mit Wellenlängen zwischen 760 nm und 810 nm, also Licht zur Anregung der Fluoreszenz, zu dem Gewebe passieren läßt. Das Gewebe wird durch eine Mikroskopieoptik auf eine Kamera abgebildet, wobei vor der Kamera ein weiterer Bandpaßfilter angeordnet ist, welcher lediglich Licht mit Wellenlängen zwischen 820 nm und 920 nm, also das Fluoreszenzlicht, passieren läßt. Eine Betrachtung der von der Kamera aufgenommenen Bilder erlaubt es dann, die Gewebebereiche zu identifizieren, in denen der Fluoreszenzfarbstoff angereichert ist. Allerdings ist es dann nicht möglich, auch die umliegenden Gewebebereiche wahrzunehmen, welche Licht mit sichtbaren Wellenlängen bei geeigneter Beleuchtung emittieren würden, da die Laserlichtquelle solches Licht nicht bereitstellt bzw. der Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichts durch den Bandpaßfilter im Strahlengang der Lichtquelle ausgeblendet wird. Ein Operateur, welcher an einem Gewebebereich einen chirurgischen Eingriff vorzunehmen hat, muß somit den Gewebebereich mit sichtbarem Licht beleuchten, um das optische Abbild des Gewebebereichs im sichtbaren Licht wahrzunehmen, und er muß abwechselnd hierzu Fluoreszenzbilder aufnehmen, um die Fluoreszenzstrahlung wahrzunehmen. Ferner treffen ein Lichtstrahl der Laserlichtquelle und ein Lichtstrahl zur Beleuchtung des Gewebebereichs mit sichtbarem Licht abwechselnd und unter unterschiedlichen Winkeln auf den Gewebebereich, so daß für beide Lichtstrahlen unterschiedliche Schattenwirkungen auf dem Objekt hervorgerufen werden, was eine Zuordnung von Bereichen des Fluoreszenzbildes zu Bereichen des optischen Abbilds des Gewebebereichs erschwert und manchmal unmöglich macht.

**[0004]** Diese Prozedur ist aufwendig und erfordert vom Betrachter höchste Konzentration, da er sich das Bild, das bei der jeweils anderen Beleuchtung entstanden ist, merken muß.

**[0005]** DE 43 20 579A1, US 4,786,155 A, DE 694 02 958 T2 und US 6, 262, 837 B1 betreffen Mikroskope zur Beobachtung von sichtbarem Licht und Fluoreszenzlicht, insbesondere zur Anwendung im medizinischen Bereich.

**[0006]** Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Mikroskopiesystem und ein entsprechendes Verfahren bereitzustellen, welches die Möglichkeiten einer mikroskopischen Darstellung in Verbindung mit Fluoreszenzen bei Wellenlängen des nahen Infrarot oder/und des Infrarot erweitert.

**[0007]** Die Aufgabe wird durch die Gegenstände der unabhängigen Ansprüche gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen der Gegenstände sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

**[0008]** Gemäß einer ersten Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz von Indocyaningrün (ICG) vor, wobei das Mikroskopiesystem eine Mikroskopieoptik, ein Anzeigesystem und ein Beleuchtungssystem umfaßt. Die Mikroskopieoptik weist einen ersten Strahlengang auf, um Bilder eines Objektbereichs mit Licht auf eine Lichtdetektionseinheit einer Kamera abzubilden, wobei das Licht einen ersten Wellenlängenbereich enthält, der eine Emissionswellenlänge von Indocyaningrün umfaßt. Der erste Strahlengang dient also dazu, um Fluoreszenzbilder des Objektbereichs zu gewinnen. Die Mikroskopieoptik umfaßt ferner einen zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten Darstellung des Objektbereichs mit Licht, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten

Wellenlängenbereich enthält. Der zweite Strahlengang dient also dazu, Bilder des Objekts im sichtbaren Bereich des Lichtspektrums zu gewinnen.

**[0009]** Das Anzeigesystem stellt die Fluoreszenzbilder und die Bilder des sichtbaren Lichts in Überlagerung dar, so daß ein Benutzer beide Bilder gleichzeitig wahrnehmen kann. Die Fluoreszenzbilder werden somit in die Bilder des sichtbaren Lichts eingeblendet bzw. diesen überlagert.

**[0010]** Das Beleuchtungssystem stellt wenigstens einen auf den Objektbereich gerichteten Beleuchtungslichtstrahl bereit, welcher sowohl Licht des sichtbaren Bereichs des Spektrums, insbesondere blaues oder/und gelbes Licht, als auch Licht einer Anregungswellenlänge von Indocyaningrün enthält.

**[0011]** Die Erfinder haben erkannt, daß mit dem beschriebenen System eine gleichzeitige Beobachtung des Objektbereichs sowohl mit sichtbarem Licht als auch mit Fluoreszenzlicht möglich ist. Hierdurch entfällt das herkömmliche Umschalten zwischen der Beobachtung mit sichtbarem Licht und der Beobachtung mit Fluoreszenzlicht. Ferner wird durch die gemeinsame Bereitstellung des sichtbaren Lichts und des Fluoreszenzanregungslichts in einem gemeinsamen Lichtstrahl eine unterschiedliche Abschattung des jeweiligen Beleuchtungslichts auf einem strukturierten Objekt vermieden, so daß für das Bild mit sichtbarem Licht und das Bild mit Anregungslicht im wesentlichen gleiche Beleuchtungsverhältnisse gegeben sind.

**[0012]** Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist der wenigstens eine Beleuchtungslichtstrahl aus einer einzigen Lichtquelle emittiert, welche also sowohl sichtbares Licht als auch Licht der Anregungswellenlänge von Indocyaningrün emittiert. Die Lichtquelle ist beispielsweise eine Xenonlampe oder eine Halogenlampe.

**[0013]** Die Erfinder haben hier erkannt, daß Lichtquellen, welche Licht im sichtbaren Bereich emittieren, ebenfalls Licht der Anregungswellenlänge von Indocyaningrün emittieren können, dessen Intensität zur Aufnahme eines Fluoreszenzbilds des Objektbereichs durch eine Kamera ausreichend ist. Die Bereitstellung einer separaten Lichtquelle, wie etwa einer Laserlichtquelle, zur Anregung der Fluoreszenz von Indocyaningrün ist somit nicht notwendig.

**[0014]** Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform ist in einem Strahlengang des Beleuchtungssystems ein Filter angeordnet, welcher Licht mit Emissionswellenlängen von Indocyaningrün aus dem Beleuchtungsstrahl im wesentlichen entfernt. Hierdurch ist es möglich, ein besonders kontrastreiches Fluoreszenzbild aufzunehmen.

**[0015]** Gemäß einer weiter bevorzugten Ausführungsform ist in einem Strahlengang des Beleuchtungssystems ein Wärmeschutzfilter vorgesehen, welcher Licht mit Wellenlängen aus dem Beleuchtungslichtstrahl entfernt, welche mit dem Auge lediglich mit geringer Effizienz oder gar nicht wahrnehmbar sind und welche zu einer Erwärmung des beobachteten Objekts führen. Hiermit ist ein wirksamer Schutz des Objekts vor Überwärmung vorgesehen. Dieses Filter ist aus dem Strahlengang des Beleuchtungssystems dann entfernbar, wenn eine Fluoreszenzaufnahme des Objekts aufgenommen werden soll.

**[0016]** Die in dem Beleuchtungssystem vorgesehenen Filter können Transmissionsfilter oder Reflexionsfilter sein.

**[0017]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffes vor, wobei das Mikroskopiesystem eine Mikroskopieoptik, einen Bilddatenspeicher und ein Anzeigesystem umfaßt. Die Mikroskopieoptik umfaßt wiederum einen ersten Strahlengang zur Abbildung eines Fluoreszenzlichtbildes des Objektbereichs auf eine Kamera und einen zweiten Strahlengang zur Bereitstellung eines Bildes des Objektbereichs mit Licht, welches wenigstens sichtbares Licht umfaßt.

**[0018]** Der Bilddatenspeicher ist dazu ausgebildet, Bilddaten zu speichern, welche die von der Kamera während einer Zeitdauer aufgenommenen Fluoreszenzlichtbilder des Objektbereichs repräsentieren.

**[0019]** Das Anzeigesystem ist dazu ausgebildet, das Bild des Objektbereichs mit sichtbarem Licht darzustellen und in Überlagerung hierzu eine Folge von Bildern nacheinander darzustellen, wobei diese dargestellten Bilder aus den gespeicherten Bilddaten erzeugt werden.

**[0020]** Hierdurch ist es möglich, auch schnell ablaufende Vorgänge in dem Objektbereich, welche lediglich bei der Beobachtung mit Fluoreszenzlicht während kurzer Zeit sichtbar sind, in Überlagerung mit dem Bild

im sichtbaren Licht auch dann darzustellen, wenn der schnell ablaufende Vorgang bereits vorüber ist. Dieser schnell ablaufende Vorgang kann dann insbesondere wiederholt dargestellt werden und auch zum Beispiel in Zeitlupe dargestellt werden.

**[0021]** Eine bevorzugte Anwendung liegt im Bereich der Behandlung von Aneurysmen, das heißt Ausbuchtungen von arteriellen Gefäßen im menschlichen Gehirn. Solche Ausbuchtungen werden gemäß einer herkömmlichen Operationstechnik mit einem Clip verschlossen. Es besteht dann ein Bedarf danach, zum einen zu verifizieren, daß die Ausbuchtung vollständig verschlossen ist, und zum anderen sicherzustellen, daß intakte arterielle Blutbahnen in der Umgebung des Clip ordnungsgemäß von Blut durchflossen sind. Für diese Verifikation wird dem Patienten Indocyaningrün verabreicht, und es wird das Einströmen des Farbstoffs in die arteriellen Gefäße durch die Kamera beobachtet. Der Einströmvorgang kann zwischen 0,5 und 2 s dauern. Es ist hierbei wichtig zu sehen, daß Blut mit dem Farbstoff im wesentlichen gleichzeitig in sämtliche interessierende Blutgefäße einströmt. Ein im Vergleich zu anderen umliegenden Gefäßen verzögertes Sichtbarwerden der Fluoreszenz in einem Gefäß ist ein Indiz dafür, daß dieses teilweise verschlossen ist.

**[0022]** Die beschriebene Verifikation kann besonders gut durchgeführt werden, wenn die während des Zeitraums aufgenommenen Bilddaten wiederholt oder/und in Zeitlupe in Überlagerung mit dem Bild des Objektbereichs in sichtbarem Licht dargestellt werden.

**[0023]** Reichert sich der Fluoreszenzfarbstoff hingegen auch in dem Aneurysma an, so ist dies ein Zeichen dafür, daß dieses mit dem Clip nicht vollständig verschlossen wurde.

**[0024]** Gegenüber der herkömmlich für solche Zwecke eingesetzten Röntgenangiographie bietet die vorgeschlagene Behandlung des Aneurysmas den Vorteil, mit einem ohnehin verwendeten Operationsmikroskop in Echtzeit durchgeführt werden zu können, während für die Röntgenangiographie das Operationsmikroskop abgebaut werden muß, das Röntgengerät aufgebaut werden muß und zur Röntgenaufnahme der Chirurg in der Regel den Saal verlassen muß. Auch die Auswertung der herkömmlichen Röntgenangiographie dauert einige zehn Minuten. Ebenfalls ist die erreichbare räumliche und zeitliche Auflösung mit dem vorgeschlagenen Verfahren wesentlich höher als bei der herkömmlichen Röntgenangiographie.

**[0025]** Das Mikroskopiesystem umfaßt vorzugsweise eine Steuerung, welche die gespeicherten Bilder dahingehend analysiert, wann ein Einströmvorgang in dem untersuchten Objektbereich beginnt, das heißt wann Intensitäten des Fluoreszenzlichts an einigen Orten einen Schwellenwert überschreiten.

**[0026]** Die Steuerung kann auch ein Ende des Einströmvorgangs anhand der gespeicherten Bilder feststellen, indem beispielsweise eine zeitliche Änderung einer Zunahme von Intensitäten analysiert wird und dann, wenn eine gewisse Sättigung der Zunahme der Intensitäten festgestellt wird, auf ein Ende des Einstellvorgangs geschlossen wird. Die Steuerung übermittelt dann lediglich eine Teilmenge der gespeicherten Bilddaten zur Darstellung an das Anzeigesystem, nämlich die Daten, die nach Beginn oder/und vor Ende des Einströmvorgangs aufgenommen wurden.

**[0027]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung eines Fluoreszenzfarbstoffs vor, wobei das Mikroskopiesystem eine Mikroskopieoptik, ein Beleuchtungssystem und ein Anzeigesystem umfaßt. Die Mikroskopieoptik umfaßt wiederum einen ersten Strahlengang zur Abbildung eines Fluoreszenzlichtbildes des Objektbereichs auf eine Kamera und einen zweiten Strahlengang zur vergrößerten Darstellung des Objektbereichs mit sichtbarem Licht. Das Anzeigesystem zeigt wiederum das Bild des Objekts in sichtbarem Licht und in Überlagerung hierzu eine Darstellung des Objektbereichs, welche aus von der Kamera bereitgestellten Bilddaten erzeugt wird.

**[0028]** Das Beleuchtungssystem stellt einen Beleuchtungslichtstrahl bereit, welcher Licht einer Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffes enthält. Das Beleuchtungssystem umfaßt einen Lichtmodulator, um eine Intensität des Lichts mit der Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffes zeitlich zu modulieren. Hiermit wird auch die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffes zeitlich moduliert, und die von der Kamera gewonnenen Fluoreszenzbilder werden hinsichtlich ihrer Intensität variieren. Die zeitlich bekannte Variation der Intensität wird ausgenutzt, um Fluoreszenzlichtbilder des Objektbereichs mit hohem Kontrast zu erzeugen, indem beispielsweise in der Darstellung des Fluoreszenzlichtbildes Intensitäten an lediglich solchen Orten dargestellt werden an welchen eine Intensitätsvariation in den von der Kamera aufgenommenen Bilder auftritt.

**[0029]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem vor, welches eine Mikroskopieoptik, ein Beleuchtungssystem und eine Steuerung umfaßt. Die Mikroskopieoptik hat wiederum

einen ersten und einen zweiten Strahlengang, welche insbesondere gemeinsam durch ein Objektiv der Mikroskopieoptik verlaufen können. Der erste Strahlengang bildet den Objektbereich auf eine Kamera zur Erzeugung von Bilddaten ab, welche Bilder des Objektbereichs repräsentieren. Das Beleuchtungssystem stellt einen auf den Objektbereich gerichteten Beleuchtungslichtstrahl bereit, in dessen Strahlengang ein Filter in einer ersten Position anordenbar ist. Ferner umfaßt das Beleuchtungssystem einen Antrieb, um den Filter von einer zweiten Position, in der er nicht in dem Strahlengang angeordnet ist, in die erste Position zu überführen.

**[0030]** Die Steuerung ist dazu ausgebildet, die von der Kamera gewonnenen Bilddaten zu analysieren und in Abhängigkeit von dieser Analyse den Antrieb zur Überführung des Filters in die erste Position anzusteuern. Die Analyse kann insbesondere eine Untersuchung von Lichtintensitäten in Bereichen der von der Kamera aufgenommenen Bilder umfassen.

**[0031]** Der Filter ist vorzugsweise ein solcher Filter, welcher Licht mit Wellenlängen, die größer sind als eine Grenzwellenlänge, aus dem Beleuchtungslichtstrahl entfernt. Die Grenzwellenlänge ist vorzugsweise größer als 690 nm. Ferner ist die Grenzwellenlänge vorzugsweise kleiner als 800 nm.

**[0032]** Damit ist es möglich, mit dem Mikroskopiesystem zwei verschiedene Beleuchtungsarten vorzusehen, wobei von einer Beleuchtungsart auf die andere automatisch umgeschaltet wird, und zwar in Abhängigkeit von einer Analyse der durch eine Kamera von dem Objektbereich aufgenommenen Bilder. Eine bevorzugte Anwendung dieses Mikroskopiesystems liegt in Verbindung mit dem vorangehend geschilderten Aspekt der Erfindung, wo ein Ende beispielsweise eines Einströmvorgangs eines Fluoreszenzfarbstoffs automatisch erfaßt wird. Es ist dann möglich, nach dem erfaßten Ende des Einströmvorgangs, während dem Infrarotlicht zur Anregung der Fluoreszenz auf den Gewebebereich gestrahlt werden muß, den Filter als Wärmeschutzfilter automatisch in den Strahlengang des Beleuchtungssystems einzuführen, um eine unnötige thermische Belastung des Gewebebereichs zu vermindern.

**[0033]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem vor, welches eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur Erzeugung von Fluoreszenzbildern des Objektbereichs und einem zweiten Strahlengang zur Darstellung des Objektbereichs mit sichtbarem Licht und ein Anzeigesystem zur Anzeige von aus dem Fluoreszenzbildern gewonnenen Darstellungen in Überlagerung mit den Darstellungen in sichtbarem Licht umfaßt. Das Mikroskopiesystem umfaßt ferner eine Steuerung, welche dazu ausgebildet ist, die Fluoreszenzbilder im Hinblick auf zusammenhängende Bereiche auszuwerten, in welchen Intensitäten des Fluoreszenzlichts über einem Schwellenwert liegen. Die Steuerung erzeugt dann Bilddaten, welche das Fluoreszenzlichtbild repräsentieren, wobei allerdings lediglich Umfangslinien der zusammenhängenden Bereiche in der Darstellung sichtbar sind. Damit kann der Benutzer den Bereich des Objektfelds, in dem die Fluoreszenzintensität den Schwellenwert übersteigt, einfach anhand der Umfangslinie wahrnehmen, wobei ihm allerdings innerhalb des zusammenhängenden Bereichs eine direkte Wahrnehmung des Bereichs in sichtbarem Licht möglich ist.

**[0034]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform sieht die Erfindung ein Mikroskopiesystem vor, welches mit einer Interferometrievorrichtung versehen ist, um Tiefenprofildaten zu gewinnen, welche eine tiefenabhängige Intensität an Strahlung repräsentieren, welche aus dem Objekt zurück geworfene Analysestrahlung ist, die über einen Strahlscanner auf das Objekt gerichtet wird, wobei durch den Strahlscanner ein Ort in der Objektebene auswählbar ist, auf den die Analysestrahlung gerichtet ist.

**[0035]** Die Gewinnung derartiger Tiefenprofildaten ist herkömmlicherweise zeitaufwendig, und insbesondere ist es aufwendig, die Tiefenprofildaten im gesamten Objektfeld des Mikroskopiesystems zu gewinnen.

**[0036]** Es wird nun ein Mikroskopiesystem mit einer Interferometrievorrichtung vorgeschlagen, welches eine Kamera umfaßt, um ein Bild des Objekts in einem Wellenlängenbereich aufzunehmen, welcher Fluoreszenzlicht umfaßt, und wobei eine Steuerung vorgesehen ist, um das durch die Kamera aufgenommene Bild zu analysieren und darin eine Analyseregion zu bestimmen, welche wenigstens einen zusammenhängenden Bereich in dem von der Kamera aufgenommenen Bild umfaßt, und wobei die Interferometrievorrichtung durch die Steuerung derart angesteuert ist, daß die Tiefenprofildaten in lediglich der Analyseregion gewonnen werden.

**[0037]** Es ist damit möglich, daß die Steuerung aus dem Fluoreszenzbild eine für die jeweilige Anwendung interessierende vorbestimmte Gewebeart, beispielsweise Tumorgewebe, auswählt und die Bereiche des Bildfelds als Analyseregion auswählt, in der die interessierende Gewebeart vorliegt. Es werden dann lediglich in diesen Bereichen Tiefenprofildaten gewonnen, während in den übrigen Bereichen des Bildfelds Tiefenprofildaten nicht gewonnen werden.

**[0038]** Hierdurch ist es möglich, einen Benutzer des Mikroskopiesystems von der Identifizierung der interessierenden Bereich weitgehend zu entlasten und in verhältnismäßig kurzer Zeit Tiefenprofildaten der interessierenden Bereiche für den Benutzer bereitzustellen.

**[0039]** Vorzugsweise umfaßt die Interferometrievorrichtung zur Gewinnung der Tiefenprofildaten eine Optische-Kokärenz-Tomographie-Vorrichtung (OCT-Vorrichtung).

**[0040]** Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung werden nachfolgend anhand von Zeichnungen näher erläutert. Hierbei zeigt

**Fig. 1** eine schematische Darstellung von Strahlengängen in einem Mikroskopiesystem gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung,

**Fig. 2** Transmissionscharakteristiken von Filtern, welche in dem Mikroskopiesystem gemäß **Fig. 1** eingesetzt sind,

**Fig. 3** ein Flußdiagramm zur Erläuterung eines Mikroskopieverfahrens gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung,

**Fig. 4** eine schematische Darstellung einer weiteren Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Mikroskopiesystems,

**Fig. 5** schematische Darstellungen von von dem Mikroskopiesystem der **Fig. 4** erzeugten Bildern zur Erläuterung einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, und

**Fig. 6** eine schematische Detaildarstellung einer in dem Mikroskopiesystem der **Fig. 4** vorgesehenen Interferometrievorrichtung.

**[0041]** Ein in **Fig. 1** schematisch dargestelltes Mikroskopiesystem **1** umfaßt eine Mikroskopieoptik **3** mit einem Objektiv **5** mit einer optischen Achse **7**. In einer Objektebene des Objektivs **5** ist ein zu untersuchendes Objekt **9** angeordnet. Von dem Objekt **9** ausgehendes Licht wird von dem Objektiv **5** in ein paralleles Strahlenbündel **11** überführt, in welchem zwei mit Abstand von der optischen Achse **7** angeordnete Zoomsysteme **12**, **13** angeordnet sind und aus dem parallelen Strahlenbündel **11** jeweils ein Teilstrahlenbündel **14** und **15** herausgreifen und über in **Fig. 1** nicht dargestellte Umlenkprismen Okularen **16** und **17** zuführen, in welche ein Betrachter mit seinem linken Auge **18** bzw. rechten Auge **19** Einblick nimmt, um eine vergrößerte Darstellung des Objekts **9** als Bild wahrzunehmen. Hierbei entspricht das mit dem linken Auge **18** wahrgenommene Bild einem Bild bei Betrachtung unter einem Winkel  $\alpha$  zur optischen Achse, und das von dem rechten Auge **19** wahrgenommene Bild entspricht einem Bild bei Betrachtung des Objekts **9** unter einem Winkel  $-\alpha$  zur optischen Achse **7**, so daß der Betrachter mit seinen beiden Augen **18**, **19** insgesamt ein stereoskopisches Bild des Objekts **9** erhält.

**[0042]** In dem Teilstrahlenbündel **15** ist ein teildurchlässiger Spiegel **21** angeordnet, um einen Teil des Lichts als Strahl **23** auszukoppeln, welcher durch einen weiteren Strahlteiler **25** aufgeteilt wird in Strahlen **27** und **29**. Der Strahl **27** wird über eine Kameraadapteroptik **31** auf eine lichtempfindliche Fläche einer Kamera **32** derart überführt, daß diese ein Bild des Objekts **9** bei Betrachtung unter dem Winkel  $-\alpha$  zur optischen Achse **7** aufnimmt. Die von der Kamera **32** aufgenommenen Bilder werden als Bilddaten über eine Datenleitung **33** an eine Steuerung **35** übermittelt.

**[0043]** Aus dem Teilstrahl **14** koppelt ein teildurchlässiger Spiegel **37** einen Strahl **39** aus, welcher durch eine Kameraadapteroptik **41** auf eine lichtempfindliche Fläche einer weiteren Kamera **43** derart überführt wird, daß diese Bilder des Objekts **9** bei Betrachtung unter dem Winkel  $\alpha$  zur optische Achse **7** aufnehmen kann. Die von der Kamera **43** aufgenommenen Bilder werden als Bilddaten über eine Datenleitung **45** der Steuerung **35** zugeführt. Die Steuerung **35** überträgt die von den Kameras **32**, **43** aufgenommenen Bilder wiederum als Bilddaten über eine Leitung **47** an eine kopfgetragene Anzeigevorrichtung („head mounted display“) **49**, welche von einem Benutzer des Mikroskopiesystems **1** wie eine Brille derart am Kopf getragen wird, daß in der Anzeigevorrichtung **49** integrierte Bildschirme, welche in **Fig. 1** schematisch mit **51** und **52** bezeichnet sind, von dem Benutzer mit dessen linkem bzw. dessen rechtem Auge betrachtet werden können.

**[0044]** Damit erhält der Benutzer, der nicht die Gelegenheit hat, direkt in die Okulare **16**, **17** Einblick zu nehmen, über die Anzeigevorrichtung **49** ebenfalls einen stereoskopischen Eindruck von dem Objekt **9**, und zwar durch Darstellungen, welche Bilder des Objekts **9** in sichtbarem Licht repräsentieren.

**[0045]** Der Strahl **29** wird über eine Kameraadapteroptik **53** auf eine Lichtdetektionsfläche einer Kamera **55** derart überführt, daß diese ein Infrarotbild des Objekts aufnehmen kann. In dem Strahl **29** ist ferner ein Filter

**57** angeordnet, dessen Transmissionscharakteristik in **Fig. 2a** als Kurve **58** schematisch dargestellt ist. In **Fig. 2a** ist ferner durch eine Linie **59** ein Maximum eines Anregungsspektrums des Fluoreszenzfarbstoffs ICG bei 780 nm und mit einer Linie **60** ein entsprechendes Maximum eines Emissionsspektrums des Farbstoffs ICG bei 835 nm eingetragen. Die Transmissionscharakteristik **58** des Filters **57** zeigt eine Schwelle **61** bei etwa 810 nm, unterhalb welcher der Filter **57** im wesentlichen nicht transmittiert und oberhalb welcher der Filter im wesentlichen transparent ist. Damit kann die Kamera **55** Bilder des Objekts **9** aufnehmen, welche eine Verteilung des Farbstoffs in dem Objekt **9** repräsentieren, sofern die Fluoreszenz des Farbstoffs durch ein nachfolgend beschriebenes Beleuchtungssystem **63** des Mikrokopiesystems **1** angeregt wird.

**[0046]** Die von der Kamera **55** aufgenommenen Bilder werden als Bilddaten über eine Datenleitung **65** an die Steuerung **35** übertragen. Die Steuerung **35** überträgt die von der Kamera **55** aufgenommenen Bilder wiederum als Bilddaten über eine Leitung **67** an eine LCD-Anzeige **69**, welche die Bilddaten wiederum als Bild darstellt, welches über eine Kollimationsoptik **70** und einen Einkoppelspiegel **68** zur Überlagerung gebracht wird mit dem Teilstrahl **15**, so daß das Bild der Anzeige **69** ebenfalls von dem Auge **19** des Benutzers in Überlagerung mit dem direkten optischen Abbild des Objekts **9** wahrnehmbar ist. Dabei stellt die LCD-Anzeige **69** das von der Kamera **55** im Infraroten aufgenommene Intensitätsbild beispielsweise in grüner Farbe dar. Hierbei wird Grün als Farbe für die Darstellung unter anderem deshalb gewählt, da das Objekt **9** als menschliches Gewebe im sichtbaren Bereich die Farbe grün nur in sehr geringem Umfang enthält.

**[0047]** Die Steuerung **35** bearbeitet ferner die an dem Bildschirm **51** der Anzeigevorrichtung **49** übertragenen Bilddaten derart, daß der Bildschirm **51** die von der Kamera **55** mit Infrarotlicht aufgenommenen Bilder in Überlagerung mit den Bildern darstellt, die die Kamera **32** mit sichtbarem Licht aufnimmt, so daß auch der Benutzer, der die Anzeige **49** am Kopf trägt, mit seinem rechten Auge ebenfalls eine überlagerte Darstellung der mit sichtbarem Licht aufgenommenen Bilder und der mit Infrarotlicht aufgenommenen Bilder erhält.

**[0048]** Obwohl dies in **Fig. 1** der Übersichtlichkeit halber nicht dargestellt ist, kann auch aus dem dem linken Auge **18** zugeführten Teilstrahlenbündel **14** ein Teilstrahl zur Überführung an eine Infrarotkamera ausgekoppelt werden, deren Bilder wiederum in das Teilstrahlenbündel als sichtbares Licht angekoppelt werden, ähnlich wie dies für das rechte Teilstrahlenbündel **15** mit der LCD-Anzeige **69**, der Kollimationsoptik **70** und dem Einkoppelspiegel **68** bereits erläutert wurde. Dann erhält der Benutzer auch einen stereoskopischen Eindruck von dem Objekt **9** im Infrarotlicht. Die von einer solchen zusätzlichen Kamera aufgenommenen Bilddaten können dann ebenfalls an den Bildschirm **52** der Anzeige **49** übertragen werden, so daß auch der die Anzeige **49** tragende Benutzer einen stereoskopischen Eindruck von der Verteilung des Fluoreszenzfarbstoffs in dem Gewebebereich **9** erhält.

**[0049]** Das Beleuchtungssystem **63** umfaßt als Lichtquelle eine Halogenlampe **71**, einen Reflektor **72** und einen Kollimator **73**, um einen kollimierten Lichtstrahl **74** zu erzeugen, welcher mittels einer oder mehrerer Linsen **75** auf ein Eintrittsende **76** eines Glasfaserbündels **77** gerichtet wird, um von der Lampe **71** emittiertes Licht in das Glasfaserbündel **77** einzukoppeln. Durch das Glasfaserbündel **77** wird das Licht in die Nähe des Objektivs **5** transportiert, tritt dort an einem Austrittsende **78** des Glasfaserbündels **77** aus und wird dann durch eine Kollimationsoptik **79** zu einem auf das zu untersuchende Objekt **9** gerichteten Beleuchtungslichtstrahl **81** kollimiert. Anstatt der Halogenlampe kann auch jegliche andere Art von Lampe eingesetzt werden, beispielsweise eine Xenonlampe. In der Darstellung der **Fig. 1** ist die Kollimationsoptik **79** zwar relativ dicht an dem Objektiv **5** angeordnet, gleichwohl verläuft der Beleuchtungslichtstrahl **81** in der Darstellung unter einem relativ großen Winkel zur optischen Achse **7** des Objektivs **5** auf das Objekt **9** zu. Ein solcher relativ großer Winkel zwischen der Richtung des Beleuchtungslichtstrahls **81** und der Hauptachse **7** des Objektivs kann dazu führen, daß bei der Durchführung eines Eingriffs an einem Boden einer tiefen Ausnehmung in einem Gewebe dieser Boden nicht ausreichend ausgeleuchtet ist und damit das interessierende Gebiet des Objektbereichs weder in dem Fluoreszenzlichtbild noch in dem Bild in sichtbarem Licht zufriedenstellend sichtbar ist. Für solche Anwendungen ist dann bevorzugterweise eine Anordnung eines Beleuchtungssystems gewählt, bei welchem der Beleuchtungslichtstrahl unter einem kleineren Winkel zur Hauptachse **7** auf das Objekt zu verläuft, beispielsweise indem der Lichtstrahl Linsen des Objektivs durchsetzt oder in Linsen des Objektivs Ausnehmungen vorgesehen sind, welche von dem Beleuchtungslichtstrahl durchsetzt sind.

**[0050]** Das Beleuchtungssystem **63** umfaßt ferner eine Filterplatte **83**, welche aus zwei nebeneinander angeordneten Filtern **84** und **85** zusammengesetzt ist und welche mittels eines von der Steuerung **35** angesteuerten Antriebs **87** in eine durch einen Pfeil **88** in **Fig. 1** angedeutete Richtung hin- und herverlagerbar ist, so daß in einer ersten Position der Platte **83** der Filter **84** in dem Strahl **74** angeordnet ist und in einer zweiten Position der Platte **83** der Filter **85** in dem Strahl **74** angeordnet ist.

**[0051]** Eine Transmissionscharakteristik des Filters **84** ist in **Fig. 2b** als eine Kurve **89** eingetragen und in der nachfolgenden Tabelle 1 wiedergegeben:

Tabelle 1

T[%]	$\lambda$ [nm]
< 05	300 - 385
= 50	395 - 410
> 85	420 - 660
> 70	420 - 770
= 70	779
= 0.1	801
< 0.01	810 - 1200

**[0052]** Daraus ist ersichtlich, daß der Filter **84** sichtbares Licht und Licht bis zu einer scharfen Kante **90** bei etwa 800 nm recht gut transmittiert und oberhalb der Kante **90** Licht im wesentlichen nicht transmittiert. Der Filter **84** wird im Strahlengang **74** angeordnet, wenn die Fluoreszenz des Farbstoffs in dem untersuchten Gewebereich **9** beobachtet werden soll. Die Kante **90** liegt mit 800 nm nämlich höher als die Anregungswellenlänge **59** des Farbstoffs ICG, so daß mit dem Lichtstrahl **81** sowohl die Fluoreszenz angeregt wird, welche dann über die von der Kamera **55** aufgenommenen Bilder beobachtbar ist, als auch der Gewebereich mit sichtbarem Licht beleuchtet wird, so daß dieser auch als Normallicht-Bild entweder durch Einblick in die Okulare **16, 17** oder durch Betrachtung der durch die Kameras **32, 43** aufgenommenen Bilder betrachtbar ist.

**[0053]** Wenn die Fluoreszenz nicht beobachtet werden soll, wird durch die Steuerung **35** der Antrieb **87** betätigt, um den Filter **85** in den Strahl **74** zu schieben. Eine Transmissionscharakteristik des Filters **85** ist in **Fig. 2c** schematisch als Kurve **91** dargestellt und in der nachfolgenden Tabelle 2 wiedergegeben:

Tabelle 2

T[%]	$\lambda$ [nm]
< 05	300 - 385
= 50	395-410
> 85	420 - 660
> 70	420 - 660
= 50	680 -710
< 05	720 - 1180

**[0054]** Daraus ist ersichtlich, daß der Filter **85** sichtbares Licht und Licht bis zu einer Kante **93** der Transmissionscharakteristik **91** recht gut transmittiert und Licht mit Wellenlängen oberhalb der Kante **93** im wesentlichen nicht transmittiert. Die Kante **93** liegt bei etwa 710 nm. Der Filter **85** dient als Wärmeschutzfilter und eliminiert langwellige Strahlung aus dem Beleuchtungslichtstrahl **81**, um das untersuchte Gewebe **9** vor einer unnötigen thermischen Belastung zu schützen. Die Kante **93** liegt unterhalb der Wellenlänge **59**, d.h. dem Maximum des Anregungsspektrums des Fluoreszenzfarbstoffs ICG, obwohl sich ein unterer Ausläufer des Anregungsspektrums auch bis unterhalb von 710 nm erstreckt. Allerdings wird die Fluoreszenz des Farbstoffs nicht wesentlich angeregt, wenn der Filter **85** in dem Strahl **74** angeordnet ist.

**[0055]** Die Steuerung **35** umfaßt ferner einen Bildspeicher **95**, um eine Folge von von der Kamera **55** aufgenommenen Bildern bzw. deren Bilddaten zu speichern. Die Steuerung **35** ist ferner dazu ausgebildet, die in dem Speicher **95** gespeicherten Bilddaten an die Anzeige **69** nacheinander zu übermitteln, so daß diese die zuvor von der Kamera **55** aufgenommenen Bilder als zeitliche Abfolge von Bildern darstellt. Neben der Zuführung der gespeicherten Bilddaten **95** an die LCD-Anzeige **69** ist ebenfalls deren Zuführung an die kopfgetragene Anzeigevorrichtung **49** möglich, so daß auch der Benutzer, der die Anzeigevorrichtung **49** trägt, die zuvor von der Kamera **55** aufgenommenen Bilder gewissermaßen als in der Zeit ablaufenden Film betrachten kann.

**[0056]** Diese Möglichkeit der Darstellung eines Filmabschnitts von Infrarotbildern wird beispielsweise dann genutzt, wenn aus einer Beobachtung einer Einströmung des Fluoreszenzfarbstoffs in ein Gefäßsystem Rückschlüsse auf eine Struktur oder/und Funktion des Gefäßsystems möglich sind. Nach Abschluß des Einströmens ist das Gefäßsystem mit dem Farbstoff gefüllt, und es entstehen zunächst keine weiteren Änderungen an dem Infrarotbild, aus welchen weitere Rückschlüsse auf die Strukturfunktion des Gefäßsystems möglich sind. Da ein solcher Einströmvorgang etwa 1 bis 5 Sekunden andauert, müßte ein Operateur während dieser kurzen Zeit die Infrarotbilder mit äußerster Aufmerksamkeit beobachten und sich die zeitliche Abfolge der Einströmung des Farbstoffs in die einzelnen Gefäße besonders gut merken. Durch die Möglichkeit der Speicherung der während des Einströmvorgangs durch die Kamera **55** aufgenommenen Bilder und deren wiederholte Wiedergabe ist es allerdings möglich, daß der Operateur diesen Vorgang wiederholt betrachten und damit eine verbesserte Vorstellung von der Struktur des Gefäßsystems und dessen Funktion erhalten kann.

**[0057]** Eine Möglichkeit eines Verfahrens zum Betrieb des Mikroskopiesystems **1** wird nachfolgend anhand des Flußdiagramms der **Fig. 3** näher erläutert. Zu Beginn einer Beobachtungsprozedur ist der Wärmeschutzfilter **85** in den Strahlengang des Beleuchtungssystems **63** eingeführt, und die Steuerung wartet an einem Schritt **S1** darauf, daß ein Startknopf eines Schalters **97** von dem Operateur oder dessen Assistenten gedrückt wird. Der Startknopf **97** wird sinnvollerweise kurz vor oder nach der Injektion des Fluoreszenzfarbstoffs in den Patienten gedrückt. In einem Schritt **S3** wird der Wärmeschutzfilter **85** aus dem Strahlengang entfernt und der Fluoreszenzaufnahmefilter **84** in den Strahlengang des Beleuchtungssystems **63** eingeführt, und in einem Schritt **S5** wird sodann ein Zähler  $n$  zurückgesetzt, woraufhin ein von der Kamera **55** aufgenommenes Bild  $B(0)$  als Bilddaten in dem Speicher **95** gespeichert wird. Dieses Bild wird von der Steuerung **35** wiederum als Bilddaten an die Anzeige **69** übermittelt und durch diese dargestellt, so daß der Operateur das Bild beim Einblick in das Okular in Überlagerung mit dem unmittelbaren optischen Abbild des Objekts **9** wahrnehmen kann (**S9**). Es wird sodann der Zähler  $n$  erhöht (**S11**), ein nächstes Bild  $B(n)$  aus der Kamera **55** ausgelesen und in dem Speicher **95** abgelegt (**S13**) und dieses Bild in einem Schritt **S15** auch wieder zur Betrachtung durch den Benutzer durch die Anzeige **69** oder **51** dargestellt.

**[0058]** Da bei Beginn der Prozedur das Gefäßsystem keinen Fluoreszenzfarbstoff enthält, werden auch die aufgenommenen Bilder  $B(n)$  im wesentlichen keine Infrarotintensitäten enthalten. Der Farbstoff breitet sich dann durch das Gefäßsystem aus und gelangt schließlich in den durch die Mikroskopieoptik **3** beobachteten Bereich **9**, so daß nach einiger Zeit die Bilder  $B(n)$  Infrarotintensitäten enthalten. Die Steuerung **35** wertet die Intensitäten der Bilder  $B(n)$  aus und vergleicht diese in einem Schritt **S17** mit einem ersten Schwellenwert. Ist die Intensität des zuletzt aufgenommenen Bildes  $B(n)$  kleiner gleich dem Schwellenwert, so wird die Bearbeitung mit dem Schritt **S11** fortgesetzt. Ist der Schwellenwert durch die Intensität in dem Bild  $B(n)$  allerdings überschritten, so zeigt dies den Zeitpunkt an, der als Beginn der Folge von aufgenommenen Bildern verwendet wird, welche später wiederholt zur Betrachtung durch den Benutzer dargestellt werden. Es wird hierzu in einem Schritt **S19** eine Variable  $n_{start}$  gleich dem Wert des Zählers  $n$  gesetzt.

**[0059]** Daraufhin wird der Zähler erhöht (**S20**), das nächste Bild  $B(n)$  ausgelesen und gespeichert (**S21**) sowie angezeigt (**S23**). Die Steuerung **35** vergleicht daraufhin in einem Schritt (**S25**) die Intensität des gerade aufgenommenen Bildes  $B(n)$  mit der Intensität des zuvor aufgenommenen Bildes  $B(n-1)$  und setzt die Bearbeitung mit dem Schritt (**S20**) fort, wenn die Differenz der beiden Intensitäten größer ist als ein geeignet gewählter zweiter Schwellenwert. Dies wird zu Beginn des Einströmvorgangs des Fluoreszenzfarbstoffs in das Gefäßsystem nicht der Fall sein, da dann dessen Konzentration in dem untersuchten Gewebe kontinuierlich zunimmt. Etwas später allerdings, bevor die Konzentration in ihren zunächst stationären Zustand gelangt, wird die Differenz der beiden Intensitäten der Bilder  $B(n)$  und  $B(n-1)$  kleiner als der Schwellenwert, und dies zeigt einen Zeitpunkt an, an dem die Folge der aufgenommenen Bilder beendet werden soll. In einem Schritt **S27** wird der dann vorliegende Wert des Zählers  $n$  in einer Variablen  $n_{ende}$  gespeichert, und es wird der Fluoreszenzaufnahmefilter **83** aus dem Strahl **74** entfernt und dafür der Wärmeschutzfilter **85** in diesen Strahl **74** eingeführt (**S29**).

**[0060]** Daraufhin beginnt das wiederholte Darstellen der aufgenommenen Bilder über die Anzeige **69** bzw. **51**. Hierzu wird zunächst der Zähler  $n$  auf den Wert gesetzt, der dem Start der Folge von Bildern entspricht (**S31**), das Bild  $B(n)$  wird angezeigt (**S33**), und der Zähler  $n$  wird erhöht (**S35**). Ist in einem Schritt **S37** der aktuelle Zählerstand kleiner als der Wert, der dem Ende der Folge von Bildern entspricht, so wird mit der Bearbeitung bei dem Schritt **S33** fortgesetzt. Andernfalls wird in einem Schritt **S39** überprüft, ob der Schalter **97** erneut betätigt wurde. Wenn ja, soll dies das Ende der Prozedur anzeigen. Andernfalls wird die Bearbeitung mit dem Schritt **S31** fortgesetzt, um die Folge von aufgenommenen Bildern erneut darzustellen.

**[0061]** Ferner ist es möglich, zwei separate Lichtquellen einzusetzen, nämlich eine für die Beleuchtung des Objekts mit sichtbarem Licht, welches Licht zur Anregung der Fluoreszenz im wesentlichen nicht umfaßt, und

eine weitere Lichtquelle zur Anregung der Fluoreszenz selbst. Diese Lichtquelle zur Anregung der Fluoreszenz kann bei Bedarf ein- bzw. ausgeschaltet werden.

**[0062]** Bei dem vorangehend anhand der **Fig. 1** beschriebenen Mikroskopiesystem **1** arbeiten die beiden Filter **84** und **85** als Transmissionsfilter. Es ist jedoch auch möglich, stattdessen Reflexionsfilter einzusetzen, welche durch eine geeignete Beschichtung entsprechend präpariert sind. So kann beispielsweise der Reflektor **72** der Halogenlampe abgewandelt werden in zwei separate Reflektoren mit den gewünschten Filtereigenschaften, welche durch einen durch die Steuerung **35** angesteuerten Antrieb austauschbar sind.

**[0063]** Das vorangehend anhand der **Fig. 1** beschriebene Mikroskopiesystem **1** ist mit seinen Filtern **57**, **84** und **85**, deren Transmissionscharakteristiken in den **Fig. 2a**, **Fig. 2b** bzw. **Fig. 2c** dargestellt sind, auf die Beobachtung des Fluoreszenzfarbstoffs ICG optimiert. Es ist jedoch auch möglich, die Prinzipien des vorangehend erläuterten Mikroskopiesystems und Mikroskopieverfahrens auf die Beobachtung anderer Fluoreszenzfarbstoffe zu übertragen, indem die Schwellen **61** und **90** entsprechend an die Anregungswellenlänge und die Fluoreszenzwellenlänge des zu verwendenden Farbstoffs angepaßt werden.

**[0064]** In **Fig. 4** ist ein Strahlengang eines Mikroskopiesystems **1** schematisch dargestellt. Das Mikroskopiesystem **1** umfaßt ein Mikroskopieobjektiv **3**, welches aus mehreren Objektivlinsen **5**, **6** zusammengesetzt ist, welche jeweils mit Antireflexschichten versehen sind, so daß Reflexionen an Linsenoberflächen für sichtbares Licht unterdrückt werden. Optional können die Antireflexschichten zusätzlich auch derart ausgebildet sein, daß Reflexionen für Infrarotlicht an den Linsenoberflächen unterdrückt sind. Das Mikroskopieobjektiv **3** empfängt ein objektseitiges Strahlenbündel **9**, welches als divergentes Strahlenbündel von einer Objektebene **11** ausgeht, und überführt dieses in ein im wesentlichen paralleles bildseitiges Strahlenbündel. In **Fig. 4** oberhalb des Mikroskopieobjektivs **3** sind zwei schematisch dargestellte Zoomsysteme **13** und **14** angeordnet, welche aus dem parallelen bildseitigen Strahlenbündel jeweils ein Teilstrahlenbündel **15** bzw. **16** herausgreifen und jeweils einem Okular **17** bzw. **18** des Mikroskopiesystems **1** zuführen. In die Okulare **17** und **18** kann ein Benutzer mit dem rechten bzw. linken Auge einblicken und ein vergrößertes scharfes Bild der Objektebene **11** erhalten. Zur Erzeugung des scharfen Bilds der Objektebene **11** wird sichtbares Licht verwendet. Hierzu wird die Objektebene **11** auch mit sichtbarem Licht beleuchtet, wozu eine Beleuchtungseinrichtung **21** vorgesehen ist, welche eine Xenonlampe **23** und strahlformende Linsen **25** und **26** umfaßt.

**[0065]** Eine Kamera **33** ist vorgesehen, um ein im wesentlichen scharfes Bild der Objektebene **11** mit sichtbarem Licht aufzunehmen. Hierzu umfaßt die Kamera **33** einen CCD-Kamerachip **35**, dessen lichtempfindliche Fläche in einer Bildebene **37** angeordnet ist. Mit einem Strahlteiler **29** wird aus dem Teilstrahlenbündel **16** ein Strahl **31** ausgekoppelt und einer Kameraadapteroptik **39** zugeführt, welche den Strahl **31** derart überführt, daß in der Bildebene **37** das scharfe Abbild der Objektebene **11** mit sichtbarem Licht entsteht. Von der Kamera **33** erzeugte Bilder können für Dokumentationszwecke verwendet werden oder auch durch Anzeigevorrichtungen dargestellt werden, welche die Objektebene **11** für Benutzer sichtbar machen, welche nicht unmittelbar Einblick in die Okulare **17**, **18** des Mikroskopiesystems **1** nehmen können. Insbesondere können die Bilder der Kamera **33** durch eine am Kopf eines Benutzers getragene Anzeigevorrichtung („head mounted display“) dargestellt werden.

**[0066]** Eine Kamera **41** ist vorgesehen, um Bilder der Objektebene **11** im Infrarotwellenlängenbereich aufzunehmen. Hierzu umfaßt die Kamera **41** einen Kamerachip **43**, dessen lichtempfindliche Fläche in einer Bildebene **45** angeordnet ist, und eine Kameraadapteroptik **47**, welche einen mittels eines Strahlteilers **49** aus dem Teilstrahlenbündel **15** ausgekoppelten Strahl **51** dem CCD-Kamerachip **43** zuführt. Die Kameraadapteroptik **47** ist dabei so ausgelegt, daß für infrarotes Licht in der Bildebene **45** ein im wesentlichen scharfes Bild der Objektebene **11** entsteht. Damit unterscheiden sich die Kameras **33** und **41** dadurch, daß die Kamera **33** für sichtbares Licht ein im wesentlichen scharfes Bild der Objektebene erzeugt und die Kamera **41** für infrarotes Licht, nämlich Licht aus dem Wellenlängenbereich zwischen 820 nm und 870 nm, ein im wesentlichen scharfes Bild der Objektebene erzeugt.

**[0067]** Vor der Kamera **41** ist in dem Strahl **51** noch ein Filter **53** vorgesehen, welcher auf den Fluoreszenzfarbstoff Indocyaningrün derart abgestimmt ist, daß er im wesentlichen nur Licht aus dem Wellenlängenbereich zwischen 820 nm und 870 nm passieren läßt. In diesem Wellenlängenbereich emittiert der Fluoreszenzfarbstoff.

**[0068]** Hierbei kann der Strahlteiler **49** auch derart beschichtet sein, daß er lediglich infrarotes Licht ablenkt.

[0069] Von der Kamera **41** ausgelesene Bilder werden von einer Steuerung bzw. einem Rechner **55** eingelesen.

[0070] Ist in der Objektebene **11** ein zu untersuchendes Gewebe, wie eine menschliche Leber, angeordnet, so sind für den Benutzer in dem Lebergewebe verlaufende Blutgefäße bei Betrachtung alleine durch die Okulare **17**, **18** mit lediglich sichtbarem Licht nur schwierig von dem umliegenden Lebergewebe zu unterscheiden. Deshalb wurde der Patient mit dem Fluoreszenzfarbstoff Indocyaningrün behandelt, welcher sich in den Blutgefäßen stärker als im Lebergewebe anreichert. Damit fluoreszieren die Blutgefäße in dem Wellenlängenbereich zwischen 820 nm und 870 nm mit höherer Intensität als das umliegende Gewebe.

[0071] Ein Beispiel für ein von der Kamera **41** aufgenommenes und der Steuerung **55** zugeführtes Bild ist in **Fig. 2a** schematisch dargestellt. Ein größter Bereich **57** eines Gesichtsfelds **58** des Bildes weist eine sehr geringe Intensität auf. Ein Bereich **59** weist eine etwas höhere Intensität auf, und zwei Bereiche **61**, **62** weisen eine noch etwas höhere Intensität auf. Innerhalb des Bereichs **61** ist ein Bereich **63** angeordnet, der eine noch größere Intensität an Infrarotstrahlung zeigt.

[0072] Es sei angenommen, daß die Bereiche **62** und **63** mit höherer Infrarotintensität Blutgefäßen zugeordnet sind, während der Bereich **57** umliegendem Lebergewebe zugeordnet ist. Der Bereich **59** weist zwar eine geringe Infrarotintensität auf, sei jedoch kein Blutgefäß sondern lediglich geringfügig mit dem Fluoreszenzfarbstoff angereichertes Lebergewebe.

[0073] Das Mikroskopiesystem **1** umfaßt ferner eine Anzeigevorrichtung **65** mit einem in einer Ebene **67** angeordneten LCD-Chip **69**, dessen Bild über eine Projektionsoptik **71** und einen Strahlteiler **73** in das Teilstrahlenbündel **15** eingekoppelt wird, so daß der Benutzer in dem Okular **17** eine Überlagerung aus dem Bild der Objektebene **11** in sichtbarem Licht und der von der Anzeigevorrichtung **65** erzeugten Darstellung erhalten kann. Die Steuerung **55** kann nun auf der Anzeigevorrichtung **65** das von der Kamera **41** ausgelesene Bild, wie es in **Fig. 5a** dargestellt ist, zur Anzeige bringen, und zwar mit Hilfe von sichtbarem Licht, beispielsweise in blauer Farbe. Damit erhält der Benutzer eine gut sichtbare Darstellung des Infrarotbilds in Überlagerung mit dem üblichen Mikroskopbild. Allein hieraus kann der Benutzer schon recht gut auf die vorhandenen Blutgefäße in dem Objektfeld des Mikroskopiesystems schließen.

[0074] Allerdings würde die Überlagerung des normalen Mikroskopbilds durch das Bild gemäß **Fig. 5a** dazu führen, daß die Bereiche **59**, **61** und **62** die Betrachtung des Objekts im sichtbaren Bereich stören, da die Bereiche **59**, **61**, **62** mit dem sichtbaren Bereich flächig überlagert sind. Deshalb führt die Steuerung **55** eine Analyse des von der Kamera **41** eingelesenen Bilds durch und ermittelt diejenigen zusammenhängenden Bereiche des Bildes, deren Intensität einen Schwellwert überschreiten. Ist der Schwellwert geeignet eingestellt, so kann hierdurch zwischen Blutgefäßen und umliegendem Gewebe diskriminiert werden. Im Beispiel des in **Fig. 5a** gezeigten Bildes ist der Schwellwert derart eingestellt, daß die Intensität in dem Bereich **59** niedriger ist als der Schwellwert und die Intensitäten in den Bereichen **62** und **63** höher sind als der Schwellwert.

[0075] Nach der Ermittlung der zusammenhängenden Bereiche, deren Intensitäten den Schwellwert überschreiten, ermittelt die Steuerung **55** Umrißlinien dieser zusammenhängenden Bereiche, das heißt diejenigen Linien, welche die zusammenhängenden Bereiche gegenüber deren Umgebung abgrenzen. Diese Umrißlinien bringt die Steuerung **55** auf der Anzeigevorrichtung **65** zur Anzeige. Das angezeigte Bild wird wie vorangehend beschrieben in den Strahlengang des Mikroskopiesystems eingekoppelt und erzeugt dann im Bildfeld **58** ein Bild, wie es in **Fig. 5b** dargestellt ist. Darin sind lediglich die Umrißlinien **75** der Bereiche **61** und **62** in **Fig. 5a** beispielsweise durch die Darstellung in blauer Farbe hervorgehoben. Damit wird dem Benutzer die Information vermittelt, daß innerhalb der Umrißlinien **75** Blutgefäße angeordnet sind, wobei die Betrachtung der Blutgefäße selbst, also die Betrachtung der Bereiche **62**, **63**, wie gewohnt erfolgen kann und der Benutzer beispielsweise operative Eingriffe daran unter ungehinderter Betrachtung auf die Blutgefäße durchführen kann.

[0076] Im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung **21** ist ein Filter **77** angeordnet, welcher Licht mit der Emissionswellenlänge des Farbstoffs, welches von der Strahlungsquelle **23** ebenfalls emittiert wird, blockiert, so daß solches Licht nicht auf das Objekt fällt. Dadurch wird ein Intensitätsuntergrund in dem von der Kamera **41** gewonnenen Bild reduziert.

[0077] Ferner ist im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung **21** noch ein Filterrad **79** angeordnet, welches von einem von der Steuerung **55** kontrollierten Motor **81** angetrieben ist. Das Filterrad umfaßt mehrere Sektoren, welche abwechselnd für Licht aus dem Wellenlängenbereich von 750 nm bis 820 nm transparent bzw. nicht transparent sind. Für sichtbares Licht sind sämtliche Sektoren des Filterrads **79** gleichermaßen transpa-

rent. In dem Bereich zwischen 750 nm und 820 nm liegt die Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs Indocyaningrün. Durch Drehen des Filtrerrads **79** wird somit die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffs zeitlich moduliert. Entsprechend sind auch die von der Kamera **41** gewonnenen Fluoreszenzbilder zeitlich intensitätsmoduliert, und die Steuerung **55** kann die Zeitabhängigkeit des Fluoreszenzbilds, beispielsweise nach Art eines lock-in-Verfahrens, nutzen, um den Untergrund in dem Fluoreszenzbild weiter zu reduzieren.

**[0078]** Eine Variante zu der vorangehend beschriebenen Beleuchtungsanordnung ist in **Fig. 4** mit gestrichelten Linien dargestellt. Bei dieser Beleuchtungseinrichtung **90** ist mit dem Bezugszeichen **91** eine von der Strahlungsquelle **23** separate Strahlungsquelle symbolisiert, welche zur Beleuchtung der Objektebene mit sichtbarem Licht vorgesehen ist, während die Beleuchtungseinrichtung **21** lediglich zur Beleuchtung der Objektebene **11** mit Licht der Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs vorgesehen ist. Damit sind die beiden Beleuchtungen im sichtbaren Licht und mit Licht der Anregungswellenlänge des Farbstoffs voneinander entkoppelt, und insbesondere kann die Drehung des Filtrerrads **79** nicht die Beleuchtung im sichtbaren Wellenlängenbereich modulieren, was unter Umständen den Benutzer stören könnte. Im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung **90** ist noch ein Filter **93** vorgesehen, welcher für Licht sowohl der Anregungswellenlänge als auch der Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs nicht transparent ist.

**[0079]** Das Mikroskopiesystem **1** umfaßt ferner eine OCT-Vorrichtung **200**, welche einen Analyselichtstrahl **205** emittiert und auf einen Strahlscanner **260** richtet, welcher einen Spiegel aufweist, um den Analyselichtstrahl **205** im wesentlichen senkrecht auf die Objektebene **11** zu richten und dort an einem Ort zu fokussieren. Der Scanner **260** wird von der Steuerung **55** angesteuert, um die Orte auf die der Analyselichtstrahl **205** in der Objektebene **11** gerichtet ist auszuwählen und zu ändern. Die OCT-Vorrichtung **200** nimmt dann ein Tiefenprofil des Objekts an dem ausgewählten Ort in der Objektebene **11** auf und übermittelt das Tiefenprofil an die Steuerung **55**.

**[0080]** OCT-Vorrichtungen sind aus dem Stand der Technik bekannt. Beispiele hierfür sind wie US 5,493,109 und die US 5,795,295, deren Offenbarung voll umfänglich durch Inbezugnahme in die vorliegende Anmeldung aufgenommen wird.

**[0081]** Die Funktion der OCT-Vorrichtung **200** wird nachfolgend anhand der **Fig. 6** erläutert. Sie umfaßt eine breitbandige Lichtquelle (Weißlichtquelle) **220**, deren Strahlung in eine optische Faser **230** eingekoppelt und mit mittels eines Strahlkopplers **240** in zwei Teilstrahlen aufgeteilt wird, welche in optischen Fasern **250** bzw. **270** weitergeführt werden. Der Teilstrahl der Faser **270** wird mittels einer Linse **280** auf einen Referenzspiegel **290** gerichtet, während der Teilstrahl der Faser **250** durch eine Linse **251** kollimiert als Analyselichtstrahl **205** abgestrahlt und auf den Scanner **260** gerichtet wird. Der Scanner **260** richtet den Analyselichtstrahl **205** auf das zu untersuchende Objekt **255**. Die von dem Objekt zurückgeworfene Strahlung wird von dem Scanner **260** in umgekehrte Richtung wieder zu der OCT-Vorrichtung **200** zugeführt und in die Faser **250** eingekoppelt, während die von dem Spiegel **290** zurückgeworfene Strahlung wieder in die Faser **270** eingekoppelt wird. Durch den Strahlkoppler **240** werden die von dem Objekt zurückgeworfene Strahlung in der Faser **250** und die von dem Spiegel **290** zurückgeworfene Strahlung in der Faser **270** überlagert und in eine weitere optische Faser **265** eingekoppelt und durch diese einem Photodetektor **275** zugeführt. Die Ausgabe des Photodetektors wird durch einen Demodulator **285** demoduliert und durch einen Analog-Digital-Wandler **295** in eine durch einen Computer zur Analyse verwertbare Form umgewandelt und an die Steuerung **55** ausgegeben.

**[0082]** Der Detektor **275**, der die von dem Objekt **255** und dem Spiegel **290** zurückgeworfenen Teilstrahlen empfängt, registriert dann ein durch Interferenz erhöhtes Signal, wenn die optischen Weglängen der beiden Teilstrahlen zwischen ihrer Aufteilung am Strahlteiler **240** und ihrer Zusammenführung an diesem Teilstrahler **240** innerhalb der Kohärenzlänge der Lichtquelle übereinstimmen. Um diese Übereinstimmung zu erreichen, ist der Referenzspiegel **290** in eine durch einen Pfeil **291** in **Fig. 6** angedeutete Richtung verschiebbar. Durch Verschieben des Spiegels **290** und jeweilige Datennahme durch den Detektor **275** an einer jeden Verschiebeposition kann somit ein Tiefenprofil des Objekts **255** an dem Ort aufgenommen werden, an dem der Analyselichtstrahl **205** auf das Objekt **255** gerichtet ist. Hierzu ist der Spiegel **290** mechanisch zu verfahren, und entsprechend ist die Aufnahme eines einzigen Tiefenprofils bereits mit einem beträchtlichem Zeitaufwand verbunden.

**[0083]** Die Steuerung **55** steuert den Strahlscanner **260** an, um an verschiedenen Orten des Objekts **255** Tiefenprofile zu gewinnen. Allerdings beschränkt die Steuerung **55** die Aufnahme von den Tiefenprofilen auf die Bereiche bzw. Analyseregionen, die durch die Steuerung **55** vorab bestimmt wurden, und die in **Fig. 5b** mit **62** und **63** bezeichnet sind. Dort nimmt die Steuerung Tiefenprofile entlang mehrerer Linien **211** auf, welche entlang von Geraden **213** innerhalb der Bereiche **62**, **63** verlaufen, wobei die Geraden sich im Bildfeld **58** vertikal

und mit einem vorbestimmten Abstand voneinander erstrecken. Die somit entlang der Linien **211** gewonnenen Tiefenprofile werden auf einem Bildschirm **207** des Mikroskopiesystems **1** dargestellt. Über eine Tastatur **209** oder eine andere Eingabevorrichtung, wie etwa eine Maus, kann der Benutzer die Anordnung der Geraden **213** im Bildfeld, wie etwa deren Orientierung oder Abstand voneinander, auswählen oder auch einen der Bereiche **62, 63** auswählen, dessen Tiefenprofile auf dem Bildschirm **207** nicht dargestellt werden sollen.

**[0084]** Es ist jedoch auch möglich, einzelne der Tiefenprofile über die Anzeigevorrichtung **65** in den Okularstrahlengang des Mikroskops einzublenden, so daß der Benutzer das Tiefenprofil auch beim Einblick in das Mikroskop wahrnehmen kann.

**[0085]** Neben dem vorangehend genannten Farbstoff Indocyaningrün oder davon abgeleiteten Farbstoffen können auch andere Fluoreszenzfarbstoffe in Zusammenarbeit mit Mikroskopiesystem **1** eingesetzt werden. Wesentlich ist hierbei, daß der Wellenlängenbereich, in dem der Benutzer die Objektebene **11** direkt beobachtet und der Wellenlängenbereich, in dem die Kamera **41** ein Bild des Objekts aufnimmt, voneinander separierbar sind. Zur Separation werden die vorangehend beschriebenen Filter **53, 77** und **93** eingesetzt, welche auf den verwendeten Farbstoff abgestimmt sind.

**[0086]** Weiterhin ist es möglich, eine Fluoreszenz von körpereigenen Stoffen zu beobachten. Zudem ist es möglich, ergänzend oder alternativ zu der Auswertung der Fluoreszenzintensität auch eine Fluoreszenzlebensdauer zur Diskriminierung der fluoreszierenden Stoffe bzw. Bereiche im Objektfeld auszuwerten.

**[0087]** Es ist auch möglich, die von der Anzeigevorrichtung **65** erzeugte Darstellung nicht in das Teilstrahlenbündel **15** sondern in das andere Teilstrahlenbündel **16** einzukoppeln. Ferner ist es möglich, mit Hilfe der Anzeigevorrichtung **65** neben dem Fluoreszenzbild noch weitere Daten oder Informationen in das vom Benutzer wahrgenommene Bild des Objekts aufzunehmen.

**[0088]** Auch müssen die Umrißlinien **75** nicht als durchgezogene Linien dargestellt sein. Es ist auch eine Darstellung als unterbrochene Linie, wie etwa gestrichelt, strichpunktiert, gepunktet usw., möglich.

### Patentansprüche

1. Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffs, wobei das Mikroskopiesystem umfasst:

- eine Mikroskopieoptik (3) mit
- einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera (55) zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich enthält, der eine Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, und
- einem zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs (9), wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält,
- einen Bilddatenspeicher (95) zur Speicherung wenigstens eines während einer Zeitdauer durch die erste Kamera gewonnenen Satzes erster Bilddaten, und
- ein Anzeigesystem (69; 49) zur Anzeige einer Folge von aus wenigstens einer Teilmenge des Satzes erster Bilddaten erzeugten zweiten Darstellungen zeitlich nacheinander und in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer, wobei das Mikroskopiesystem ferner eine Steuerung (35) umfasst, welche dazu ausgebildet ist, die Teilmenge des Satzes von ersten Bilddaten in Abhängigkeit von Intensitäten der von den ersten Bilddaten des ersten Satzes repräsentierte Bilder zu bestimmen.

2. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1, wobei das Anzeigesystem dazu ausgebildet ist, die Folge der zweiten Darstellungen wiederholt darzustellen.

3. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Steuerung (35) ferner dazu ausgebildet ist, den Beginn der Teilmenge als diejenigen Bilddaten des Satzes von ersten Bilddaten festzulegen, die ein Bild repräsentieren, deren Intensität einen ersten Schwellwert überschreitet.

4. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Steuerung (35) dazu ausgebildet ist, die Teilmenge des Satzes von ersten Bilddaten in Abhängigkeit von Unterschieden von Intensitäten zeitlich aufeinander folgender, von den ersten Bilddaten des ersten Satzes repräsentierter Bilder zu bestimmen.

5. Mikroskopiesystem nach Anspruch 4, wobei die Steuerung (35) ferner dazu ausgebildet ist, das Ende der Teilmenge als diejenigen Bilddaten des Satzes von ersten Bilddaten festzulegen, die ein Bild repräsentieren, dessen Differenz in der Intensität in Bezug auf das zeitlich vorangehende Bild einen zweiten Schwellwert unterschreitet.

6. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Anzeigesystem dazu ausgebildet ist, die Folge der zweiten Darstellungen in Zeitlupe darzustellen.

7. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei der erste Strahlengang wenigstens ein Okular zur Darstellung der Bilder umfasst.

8. Mikroskopiesystem nach Anspruch 7, wobei das Anzeigesystem die zweite Darstellung in den ersten Strahlengang zum Okular einkoppelt.

9. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei der erste Strahlengang wenigstens eine Lichtdetektionseinheit einer zweiten Kamera zur Erzeugung von zweiten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, und wobei die zweite Darstellung durch das Anzeigesystem angezeigt wird.

10. Mikroskopieverfahren umfassend:

- Anzeigen einer vergrößerten ersten Darstellung eines Objekts zur Betrachtung durch einen Benutzer, wobei eine Fluoreszenz des Objekts in der vergrößerten ersten Darstellung für den Benutzer im Wesentlichen nicht sichtbar ist,
- Aufnehmen einer Folge von Fluoreszenzbildern der Fluoreszenz des Objekts während einer Zeitdauer, und
- Anzeigen der aufgenommenen Folge von Fluoreszenzbildern des Objekts nach Ablauf der Zeitdauer, so dass diese für den Benutzer in Überlagerung mit der vergrößerten ersten Darstellung des Objekts sichtbar sind, wobei die Folge in Abhängigkeit von Intensitäten der Fluoreszenzbilder bestimmt wird.

11. Mikroskopieverfahren nach Anspruch 10, wobei die Folge mehrfach wiederholt angezeigt wird.

12. Mikroskopieverfahren nach Anspruch 10 oder 11, wobei der Beginn der Folge von Fluoreszenzbildern dasjenige Fluoreszenzbild der Fluoreszenzbilder ist, dessen Intensität einen ersten Schwellwert überschreitet.

13. Mikroskopieverfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 12, wobei die Folge von Fluoreszenzbildern in Abhängigkeit von Unterschieden von Intensitäten zeitlich aufeinander folgender Fluoreszenzbilder bestimmt wird.

14. Mikroskopieverfahren nach Anspruch 13, wobei das Ende der Folge von Fluoreszenzbildern dasjenige Fluoreszenzbild der Fluoreszenzbilder ist, dessen Differenz in der Intensität in Bezug auf das zeitlich vorangehende Fluoreszenzbild einen zweiten Schwellwert unterschreitet.

Es folgen 5 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

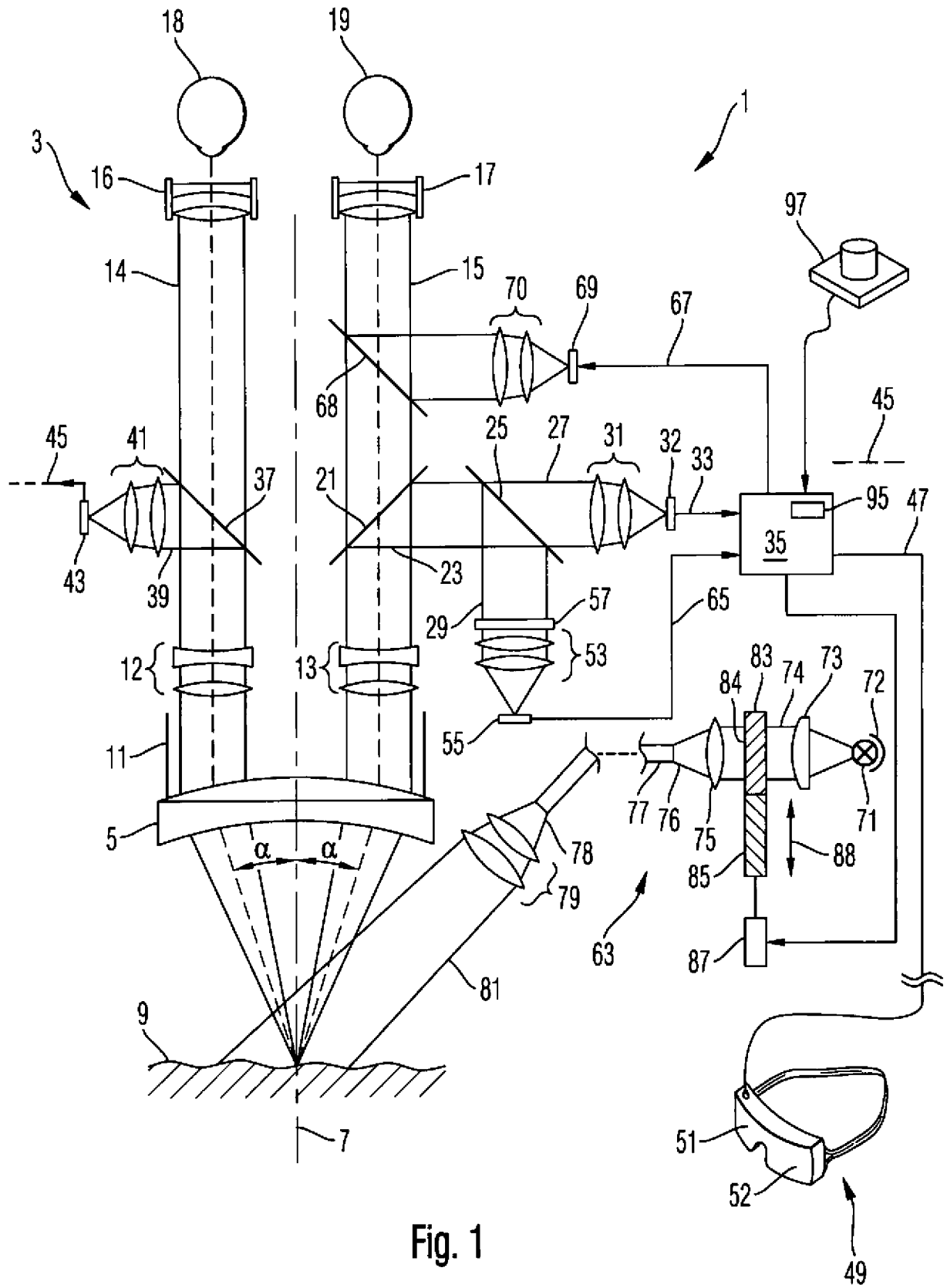


Fig. 1

Fig. 2a

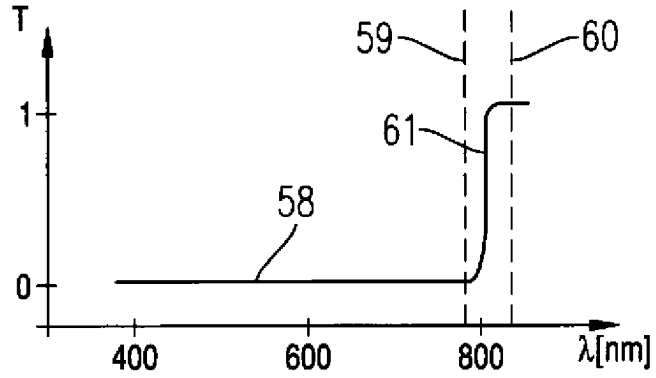


Fig. 2b

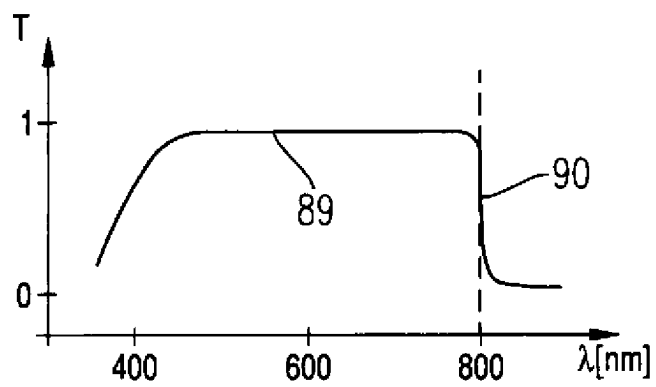


Fig. 2c

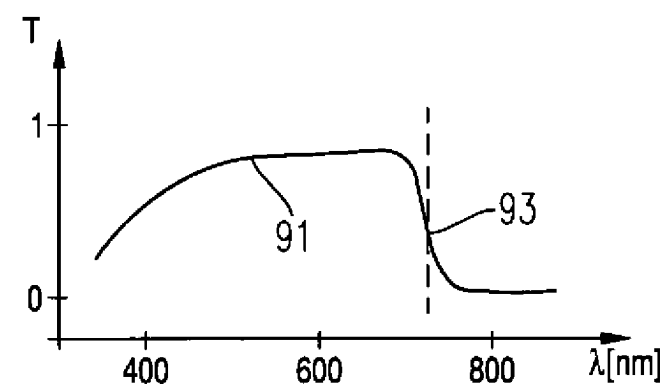
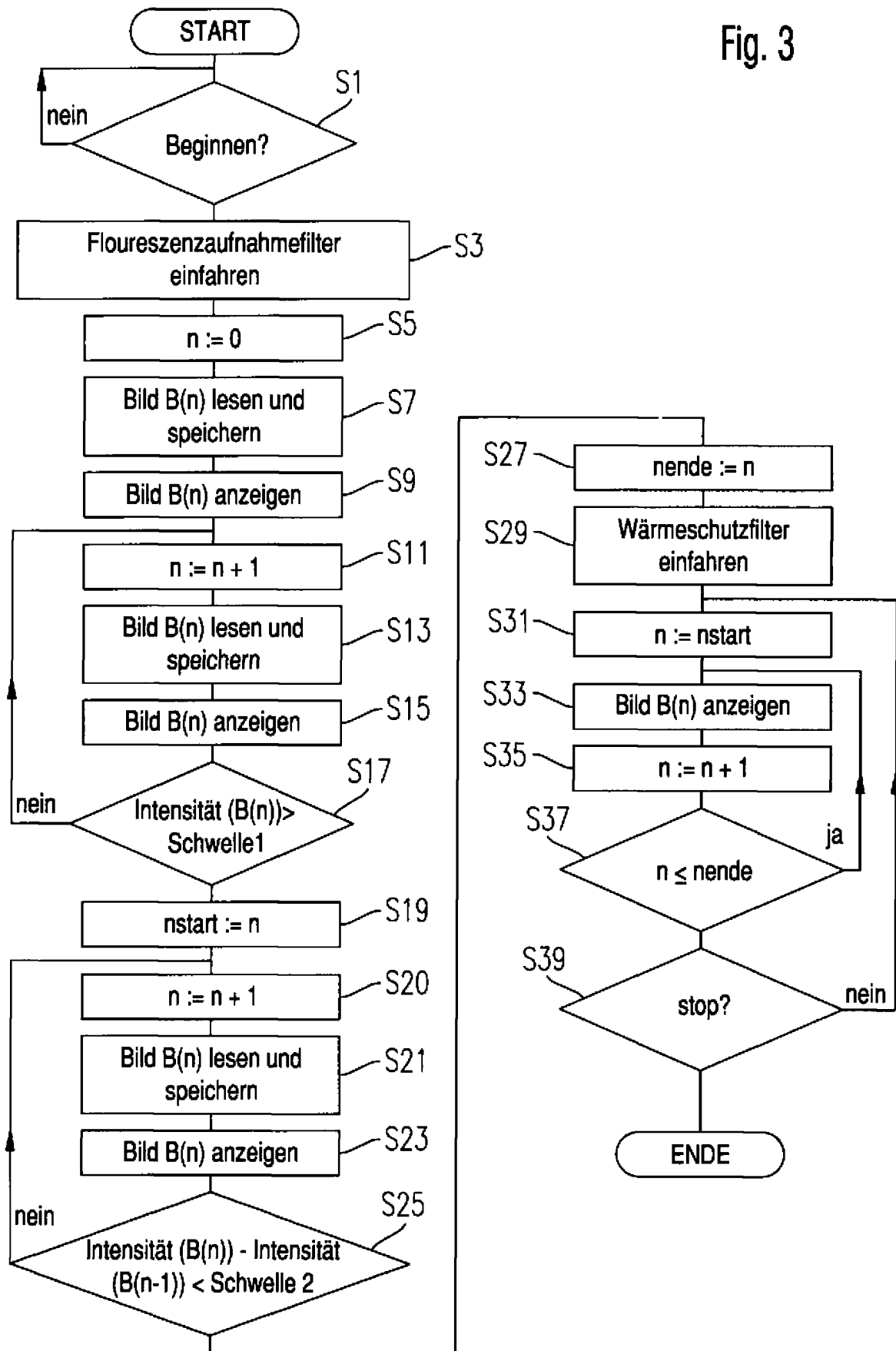


Fig. 3



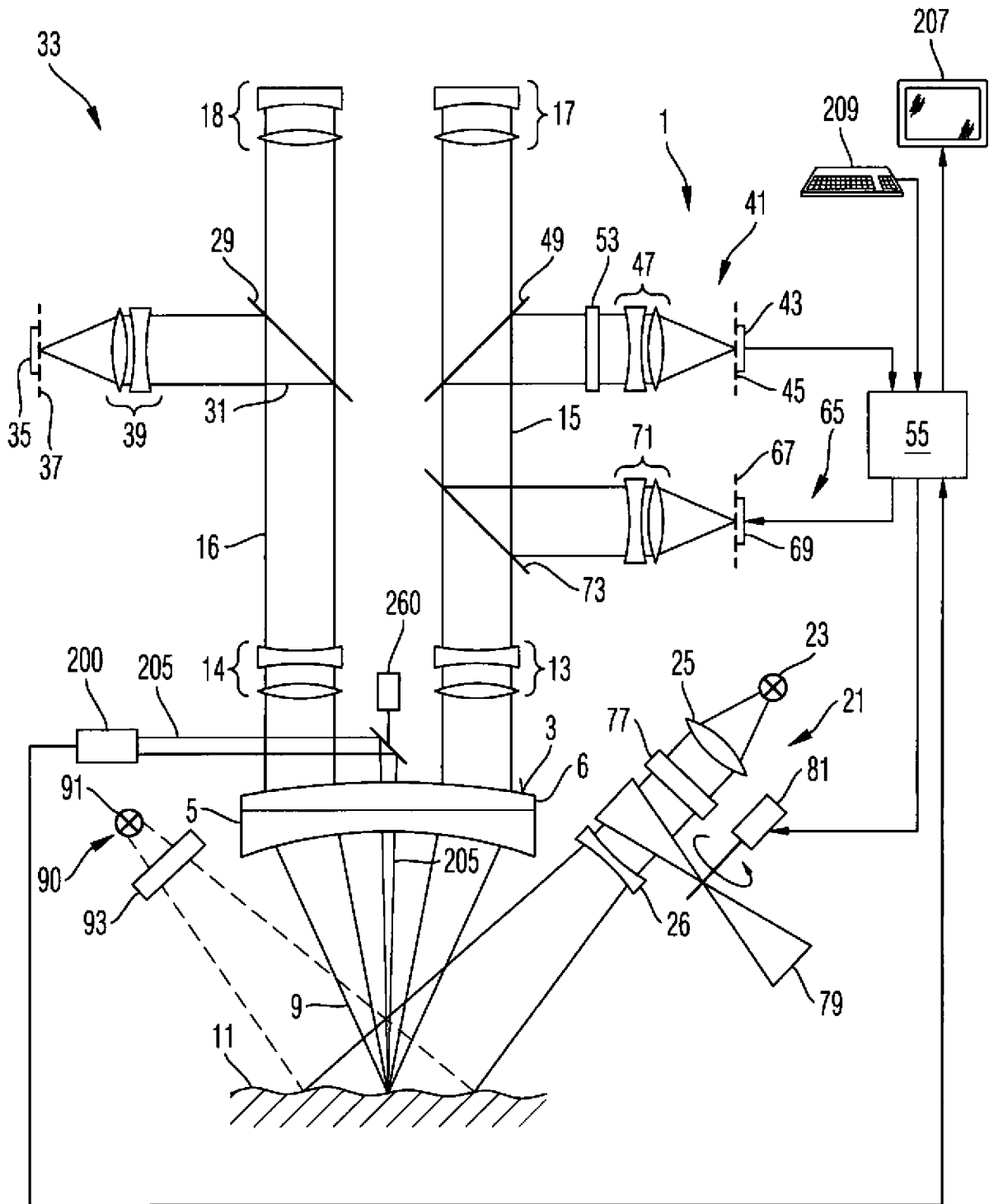


Fig. 4

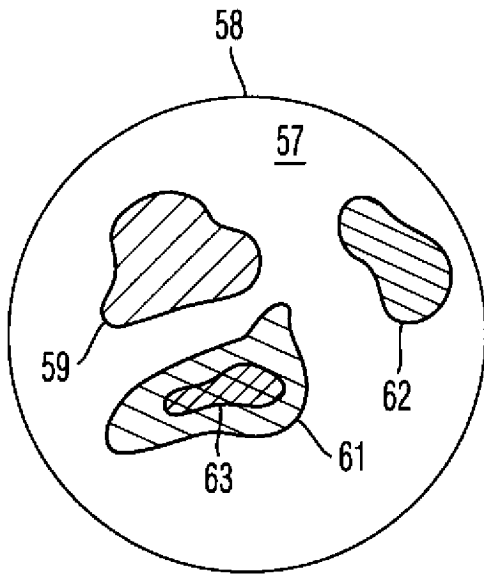


Fig. 5a

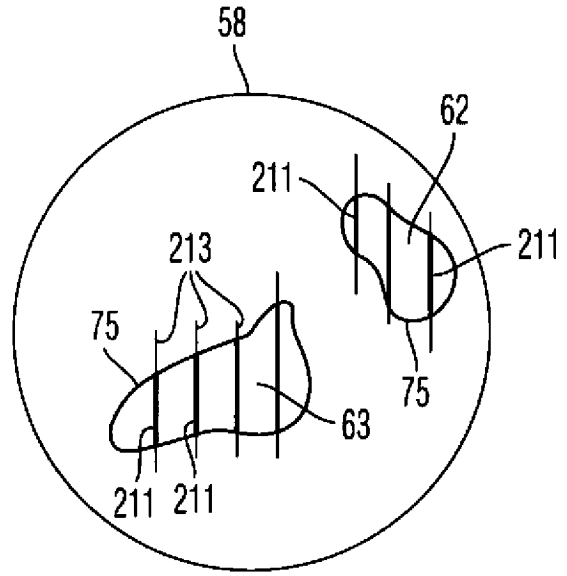


Fig. 5b

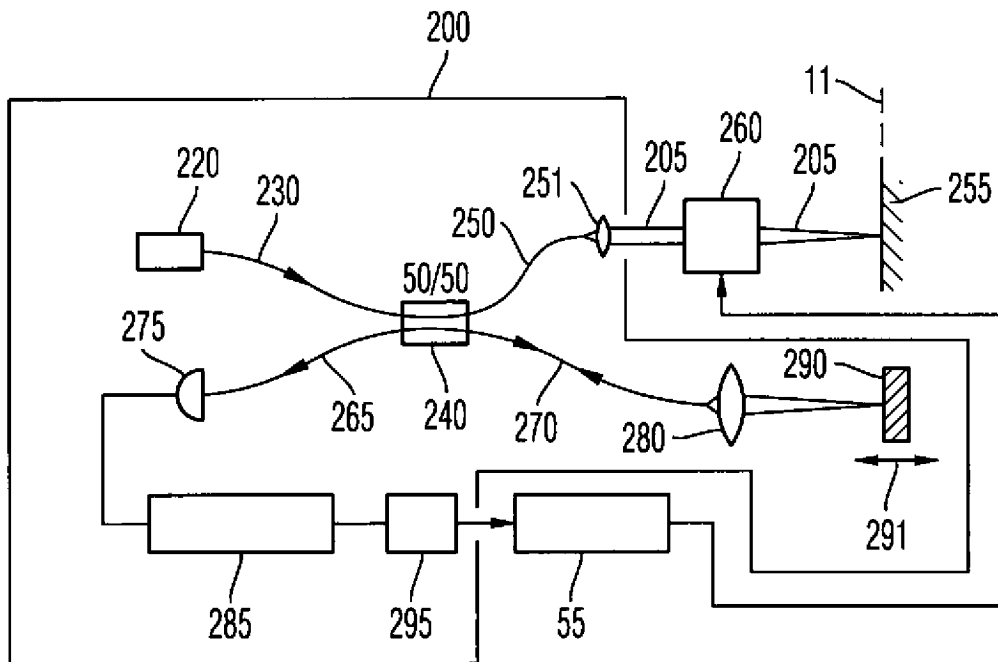


Fig. 6