

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges

Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum

6. Februar 2014 (06.02.2014)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2014/020113 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61B 5/00 (2006.01) G01N 21/65 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2013/066193

(22) Internationales Anmeldedatum:

1. August 2013 (01.08.2013)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2012 213 600.2

1. August 2012 (01.08.2012) DE

(71) Anmelder: LEICA MICROSYSTEMS CMS GMBH
[DE/DE]; Ernst-Leitz-Str. 17-37, 35578 Wetzlar (DE).

(72) Erfinder: SÄGMÜLLER, Bernd; Am Holderbusch 12,
69514 Laudendach a.d. Bergstr. (DE).

(74) Anwalt: KUDLEK & GRUNERT
PATENTANWÄLTE; Postfach 33 04 29, 80064
München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,
SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) Title: SCANNER FOR SCANNING IMMEDIATE-SECTION SAMPLES

(54) Bezeichnung : SCANNER FÜR DIE ABTASTUNG VON SCHNELLSCHNITT-PROBEN

(57) Abstract: The present invention relates to a scanner for scanning immediate-section samples during surgery using an apparatus for carrying out and evaluating an imaging method using CARS effects or CARS-like effects.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft einen Scanner für die Abtastung von Schnellschnitt-Proben während einer Operation mit einer Einrichtung zur Durchführung und Auswertung eines bildgebenden Verfahrens unter Verwendung von CARS-Effekten oder CARS-artiger Effekte.



WO 2014/020113 A1

5 **Scanner für die Abtastung von Schnellschnitt-Proben**

Beschreibung

10 Die vorliegende Erfindung betrifft einen Scanner für die Abtastung von Schnellschnitt-Proben nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1 sowie ein entsprechendes Verfahren nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 6.

15 Stand der Technik

CARS- oder SRS-Spektroskopie nutzt zur Untersuchung von Materialeigenschaften die kohärente Anti-Stokes-Raman-Streuung und damit einhergehende Effekte aus. Hierbei werden
20 entweder zwei Laserstrahlen unterschiedlicher Frequenz (Pump- und Stokes-Laser) mit geeigneten Frequenzen verwendet, wie etwa beim CARS-Verfahren. Es ist auch möglich, mehrere Frequenzen eines einzelnen Laserstrahls (beispielsweise bei SRS-Verfahren) einzusetzen. Bei SRS-Verfahren
25 handelt es sich somit in der Sprache der vorliegenden Anmeldung um CARS-artige Verfahren. Die so bereitgestellten Strahlen werden in der zu untersuchenden Probe überlagert. Aufgrund einer Wechselwirkung mit der Materie der Probe entsteht ein Laser-ähnlicher Ausgangsstrahl. Dieser Aus-
30 gangsstrahl kann dann resonant verstärkt werden, wenn die Überlagerung der Eingangsfrequenzen einer Raman-Resonanz entspricht. Das erhaltene Signal erscheint um den Betrag der Raman-Resonanz zu niedrigeren bzw. zu höheren Frequen-

- 2 -

zen relativ zur Frequenz der Eingangs-Frequenzen verschoben. Derartige Strahlung wird als Stokes- bzw. Anti-Stokes-Strahlung bezeichnet.

5 CARS-Spektroskopie dient auch zur Untersuchung von thermodynamischen Eigenschaften, beispielsweise der Temperatur, oder wird zur Untersuchung von Materialien verwendet. Sie wird unter anderem in der Molekülspektroskopie, der Plasma- und Verbrennungsdiagnostik, sowie zur Qualitätssicherung
10 von Edelsteinen, beispielsweise Diamanten, verwendet, sowie bei der Untersuchung biologischer Systeme zur Visualisierung von unterschiedlichen Molekülen durch Anregung charakteristischer Schwingungsmodi. Zur Sichtbarmachung von Lipiden werden beispielsweise CH_2 -Schwingungen, für Proteine
15 Amid-Schwingungen, und für DNA-Phosphatschwingungen genutzt. Grundsätzlich können auch Überlagerungen solcher Schwingungsbestandteile verknüpft werden, um detailliertere Ergebnisse zu erhalten. Vorteilhaft ist hierbei, dass keinerlei Markierung mit Fluoreszenz- oder anderen Farbstoffen
20 notwendig ist.

In der Pathologie, hier insbesondere der Onkologie oder der Neurochirurgie, ist es gewünscht, noch während einer Operation Klarheit über beispielsweise die Vollständigkeit einer
25 Resektion oder die Schwere einer Läsion zu erhalten. Hierzu existiert die sogenannte Schnellschnittdiagnostik. Hierbei lamelliert der Pathologe, während der Patient in Narkose verbleibt, beispielsweise einen Tumor und beschreibt ihn. Es werden dann repräsentative Schnitte auf einen Objekthalter
30 aufgebracht und analysiert. Hierzu ist es in der Regel notwendig, repräsentative Schnitte auf einem Objekthalter tiefzufrieren und mit einem Gefrieremikrotom zu schneiden.

- 3 -

Der Schnitt wird anschließend auf einen Objektträger aufgetragen und HE-gefärbt. Das Befundergebnis kann dann nach mikroskopischer Untersuchung dem Operateur mitgeteilt werden. Die weiteren operativen Schritte richten sich nach dem
5 Ergebnis einer derartigen Schnellschnittdiagnostik. Als nachteilig bei der bisherigen Schnellschnittdiagnostik wird angesehen, dass ein Zyklus vom Schnitt bis zur Entscheidung des Chirurgen ca. 20 bis 45 Minuten dauern kann, während der Patient beispielsweise mit geöffnetem Schädel im Operationssaal liegt.
10

Aufgabe der Erfindung ist daher eine Verbesserung der Schnellschnittdiagnostik.

15 Diese Aufgabe wird gelöst durch einen Scanner mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 sowie ein Verfahren mit den Merkmalen des Patentanspruchs 6.

Die erfindungsgemäße Verwendung der schwingungsspektroskopischen Bildgebung durch den CARS oder SRS-Effekt im Rahmen eines Scanners für die Abtastung von Schnellschnitt-Proben ermöglicht eine wesentlich schnellere Analyse von Schnellschnitt-Proben unter Umgehung des Nachteils der vorangehenden Einfrierung und Färbung. Erfindungsgemäß ist somit beispielsweise eine Entscheidung, ob ein Tumor genügend weit
20 entfernt wurde, wesentlich schneller und präziser zu treffen als mit Verfahren gemäß dem Stand der Technik.
25

Als besonders vorteilhaft erweist sich in diesem Zusammenhang, dass bei Verwendung der schwingungsspektroskopischen Bildgebung mit z.B. CARS oder SRS über die Dicke der Schnellschnitt-Probe, d. h. von der Oberseite bis zur Un-
30

- 4 -

terseite, eine im Wesentlichen dreidimensionale Visualisierung bereitstellbar ist, die gegebenenfalls durch weitere Methoden wie die der Hauptkomponentenanalyse unterstützt wird. Hiermit ist der Operateur in der Lage, seine Entscheidung, ob weiteres Gewebe entfernt werden muss, genauer zu treffen, da er nicht nur, wie bei herkömmlichen Techniken, einen Mittelwert bezüglich beispielsweise pathologischen Gewebes über die gesamte Schnellschnitt-Probe, sondern die Verteilung derartigen Gewebes über die Dicke der Schnellschnitt-Probe erhält. Dies liegt unter anderem darin begründet, dass die erfindungsgemäße Untersuchungsmethode im Bereich des langwelligen Anregungslichts arbeitet, und daher schwingungstief in das Gewebe eindringen kann. Der Absorptionsquerschnitt des Anregungslichts im Gewebe ist im nicht-fokussierten Bereich sehr niedrig. Der Informationsgewinn findet daher nur im fokussierten Bereich statt. Mit Hilfe von Objektiven mit passendem und an die Probe angepasstem Arbeitsabstand sowie passender numerischer Apertur kann eine Probe von 500 Mikrometer Dicke gerastert werden. Es sind dickere und dünnere Proben möglich, auch oberflächliches Eindringen und Rastern ist erfindungsgemäß möglich.

Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

25

Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist der erfindungsgemäße Scanner Mittel zur Auswertung erfasster Bilder mittels eines Vergleiches wenigstens von Teilen erfasster Bilder mit Bildern aus Substanzbibliotheken, welche schwingungsspektroskopische Signaturen von CARS oder/und SRS-relevanten Substanzen enthalten oder von entsprechenden Vergleichsproben des Patienten oder anderer Quellen, auf.

30

- 5 -

Mit einem derartigen Vergleich ist eine besonders effektive und schnelle Analyse von erfassten Bildern möglich. Aufgrund der Substratschonung schwingungsspektroskopischer bildgebender Rasterung wie z.B. CARS oder SRS kann ein Eigenvergleich ohne Substanzentnahme durchgeführt werden, was die hier beschriebene Methodik fundamental von der herkömmlichen, auf dem Ablauf Entnahme-Frieren-Schneiden-Färben-Bewerten unterscheidet.

10 Zweckmäßigerweise weist der erfindungsgemäße Scanner wenigstens eine in ihrer Ausgangswellenlänge modifizierbare Laser- oder Lichteinrichtung zur Schwingungsanregung einer Schnellschnitt-Probe auf. Mittels derartiger modifizierbarer oder einstellbarer Laser- bzw. Lichteinrichtungen ist
15 der verwendete Scanner auf unterschiedlichste zu erkennende Substanzen oder Zielmuster in den Schnellschnitt-Proben einstellbar. Man könnte auch die PCR (Principal Component Analyse) mit einbeziehen. Dadurch wird die Methodik hoch personalisiert und richtet sich sogar am einzelnen Patienten aus. Die PCA oder Hauptkomponentenanalyse ist ein Ver-
20 fahren der multivariaten Statistik. Sie dient dazu, umfangreiche Datensätze zu strukturieren, zu vereinfachen und zu veranschaulichen, indem eine Vielzahl statistischer Variablen durch eine geringere Zahl möglichst aussagekräftiger
25 Linearkombinationen (die „Hauptkomponenten“) genähert wird.

Es kann ebenfalls zweckmäßig sein, wenigstens eine Laser- oder Lichteinrichtung mit fester Ausgangswellenlänge zu verwenden. Hier sei beispielsweise an die Verwendung von
30 Faserlasern hingewiesen. Diese Lösung erweist als preiswert. Sie baut ferner klein und ist mit weniger Aufwand bereitstellbar. Auch polychrom arbeitende Systeme, welche auf

- 6 -

einer spektralen schwingungsspektroskopischen Bildgebung basieren, sind von der Erfindung umfasst.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weist der
5 Scanner eine Einrichtung zur Überlagerung von erhaltenen Bildern mit weiteren erhaltenen Bildern und/oder Referenzbildern oder Grafiken auf. Derartige Überlagerungen können beispielsweise unter Zuhilfenahme von Algorithmen ausgeführt werden, welche die einzelnen Signaturen der Bilder
10 gewichten, beispielsweise um strukturelle Besonderheiten hervorzuheben. Proben, die nach dem Schnellschnitt weiter bearbeitet werden, auch in herkömmlicher Manier, können zur Falluntersuchung oder -dokumentation in der erweiterten Bildgebung gescannt und mit den schwingungsspektroskopischen Bildern überlagert oder verrechnet werden, um weitere
15 Details für eine Bewertung der Untersuchung zu erhalten. Weitere Vorteile und Ausgestaltungen der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung und der beiliegenden Zeichnung.

20 Mit dem erfindungsgemäßen Scanner ist es möglich, schnell und wiederholt, d. h. mit hohem Durchsatz, Schnellschnitt-Proben zu analysieren und entsprechende Bilder zur Verfügung zu stellen. Durch Anwendung der schwingungsspektroskopischen Bildaufnahmetechnologie wie z.B. CARS oder SRS ist
25 ein derartiger Scanner gegenüber herkömmlichen Vorrichtungen, welche beispielsweise Immunfärbung, HE-Färbung oder andere Färbetechniken verwenden, wesentlich schneller und leistungsfähiger.

30 Mittels schwingungsspektroskopischen Bildaufnahmetechnologie wie z.B. CARS oder SRS ist es nicht nur möglich, eine Probe manuell oder halbautomatisch zu verarbeiten, wie dies

- 7 -

in der Mikroskopie üblich ist, sondern es ist ferner möglich, mit hohem Durchsatz strukturelle Merkmale zur Verfügung zu stellen (beispielsweise als HE-Falschfarbenbild). Die Merkmale eines HE-gefärbten Bildes ergeben sich durch
5 eine Färbung des Hintergrundes und der hervorzuhebenden Zellmerkmale. Diese unterscheiden sich a priori ebenso durch ihre schwingungsspektroskopischen Signaturen im Raman, CARS oder SRS-Spektrum. Diese Spektren werden in der Bildgebung z.B. entsprechend ihrer Intensität in Hellig-
10 keitswerte umgesetzt, die dann ein Falschfarbenbild ergeben. Dieses Bild kann, muss aber nicht zwingend, ähnlich einem HE-Bild wiedergegeben werden, um z.B. für HE-gewohnte Pathologen den Vergleich so einfach wie möglich zu gestalten und die Fehleranfälligkeit der Interpretation a priori
15 zu minimieren. Vorteilhaft im Sinne der Erfindung ist es, weitere Komponenten aus dem schwingungsspektroskopischen Bild hinzuzufügen. Dies ermöglicht insbesondere eine Zeitersparnis bei der Interpretation, wenn im Rahmen von Forschungsergebnissen neueste Untersuchungen eingebunden werden sollen oder im Forschungsbereich, wenn, auch unter Zu-
20 hilfenahme von mathematischen Analysemethoden wie z.B. der Hauptkomponentenanalyse, Ergebnisse aus Studien mit anderen Proben verglichen werden sollen. Insbesondere ist es möglich, chemische CARS-Sonden bildgebend darzustellen (mit
25 sehr hoher Eindringtiefe), und weitere Substanzen, beispielsweise aus einer Bibliothek abzurufen und als Datensatz oder Bild-Overlay in das ursprüngliche Bild oder den ursprünglichen Datensatz mit einzublenden und derartige überlagerte Bilder in geeigneter Software zu verarbeiten.
30 CARS-Bilder können zweckmäßigerweise vor Ort oder per Fernabfrage bewertet werden.

- 8 -

Vorteilhafterweise können im Rahmen eines Workflow verschiedene Bilder automatisiert erkannt werden, und beispielsweise mittels Stitching-Verfahren zu größeren Bildern zusammengesetzt werden. Da es sich bei den schwingungsspektroskopischen Methoden im wesentlichen um Methoden mit Anregung im langwelligen IR-Bereich handelt, werden die zweidimensionalen zusammenfügbaren und/oder zusammengeführten Bilder auch in der dritten Dimension verknüpft zu sog. Dreidimensionalen Modellen. Diese können dann z.B. mit Hilfe von 3D-Brillen oder einem 3D-Polymerdrucker ausgegeben werden oder, was Stand der Technik ist, auf den Patienten projiziert oder mit Hilfe der sog. „augmented Reality“ per Spiegelbrille dem Operateur eingeblendet werden, um die Qualität der Operation zu verbessern. Schwingungsspektroskopischen Bildaufnahmetechnologie wie z.B. CARS oder SRS kann insbesondere auf Slides, Micro-Tissue-Arrays, gefrorenen Proben oder anderen Probentypen angewendet werden. Zweckmäßigerweise ist die schwingungsspektroskopische Bildaufnahmetechnologie wie z.B. CARS oder SRS auf verschiedene in der Schwingungsspektroskopie aktive Substanzen optimiert, wobei auch geeignete Markersubstanzen oder chemisch induzierte Prozesse im Zusammenhang mit der schwingungsspektroskopischen Bildaufnahmetechnologie wie z.B. CARS oder SRS verwendet werden können.

Mit CARS-Bildgebung ist auch eine Erkennung relativ seltener Ereignisse, beispielsweise unter Verwendung von CARS-Signaturen, durchführbar, wobei hier auch insbesondere Veränderungen der beobachteten Bildausschnitte sowie optische und digitale Vergrößerungsprozesse einsetzbar sind. Durch die digitale Weiterverarbeitung der Bilddaten sind interpolierende Zoom und Pan-Vorgänge möglich, d.h. der Operateur

- 9 -

kann sehr schnell auf dem Substrat navigieren und sich Übersicht über die zu operierenden Stellen im dreidimensionalen Raum verschaffen. Optisch kann durch verschiedene Objektive die Übersicht gegen Detailaufnahmen getauscht werden, oder auch schnelle Übersichtsaufnahmen erzielt werden.

Zur Optimierung der CARS-Bildgebung ist es möglich, die Laserleistung von Pump- oder Stokes-Laser oder gegebenenfalls auch anderer, aktivierender Typen von Lasern anzupassen. Ferner sind in diesem Zusammenhang chemische Einflussnahmen auf zu analysierendes Gewebe bekannt. Diese Vorgehensweise ist vorteilhaft, um z.B. bestimmte Schwingungsbanden hervorzuheben oder wenn gewünscht auch Reaktionen auszuführen, die sich schneller als der herkömmliche Färbeprozess durchführen lassen, da aufgrund der chemischen Markierung bestimmte Charakteristika schneller bestimmen lassen.

Der erfindungsgemäße Scanner hat bevorzugt Zugriff auf Substanzbibliotheken, welche im Rahmen der Kennung von CARS-Signaturen verwendet werden können.

Derartige Substanzbibliotheken können in dem Scanner integriert oder im Rahmen von peripheren Vorrichtungen bereitgestellt werden.

Es sind Algorithmen bekannt, um CARS-Signaturen zu finden und von Hintergrundinformationen zu unterscheiden. Beispielsweise ist es möglich, verschiedene Peaks innerhalb eines Spektrums auszumessen. Hierbei erweist es sich als zweckmäßig, z.B. HWMH-Messungen vorzunehmen, wenn es sich um das quantitative Beschreiben mit Methoden wie z.B. SRS handelt, oder um Hauptkomponentenanalyse, wenn es darum

- 10 -

geht generelle Features bzw. Merkmale zu finden und mit anderen Teilen des Substrats zu vergleichen.

5 Besonders günstig ist die Nutzung von nichtresonanten Hintergründen oder auch anderer Hintergrundarten, wie z. B. Gegenfärbung, um eine bessere Orientierung auf der Probe zu ermöglichen.

10 Es ist ferner möglich, die CARS-Bildgebung mit anderweitigen immuno- oder fluoreszenzgefärbten Teilen der Probe zu überlagern, beispielsweise zur In-Situ-Validierung eines CARS-Falschfarbenbildes. Vorteilhaft ist dieses Verfahren insbesondere im Bereich der medizinischen Forschung einsetzbar, wenn auf große Archive zugegriffen werden kann, um
15 gegenwärtige Forschung gegen historische Zustände zu vergleichen.

Es versteht sich, dass die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in der
20 jeweils angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Die Erfindung ist anhand eines Ausführungsbeispiels in der
25 Zeichnung schematisch dargestellt und wird im Folgenden unter Bezugnahme auf die Zeichnung ausführlich beschrieben.

Figurenbeschreibung

30 Figur 1 zeigt ein Ablaufdiagramm zur Darstellung einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung, und

- 11 -

Figur 2 zeigt eine bevorzugte Ausgestaltung eines erfindungsgemäßen Scanners.

In der in Figur 1 dargestellten bevorzugten Ausgestaltung, insbesondere zur Erläuterung des erfindungsgemäßen Verfahrens, wird zunächst in einem Schritt 101 eine zu untersuchende Probe bereitgestellt. In einem anschließenden Schritt 102 erfolgt eine geeignete Sektionierung der Probe. Die bei der Sektionierung entstehenden einzelnen Schnitte werden in einem Schritt 103 in eine entsprechende Aufnahme-
einrichtung (sogenanntes Cradle) eines CARS-Scanners geladen.

In einem nachfolgenden Schritt 104 werden die jeweiligen Schnitte durch den Scanner erfasst, und in einem anschließenden Schritt 105 aufbereitet.

Als Beispiel für die Aufbereitung in Schritt 105 sei eine HE-Falschfarbendarstellung genannt.

20

Die so aufbereiteten Daten können anschließend in einem Schritt 106 mit archivierten Daten, und/oder in einem Schritt 107 weiteren Bildgebungsverfahren zugeführt werden.

Alternativ zu den Schritten 102, 103 ist es auch möglich, aus der Probe eine Einzelprobe bzw. einen Schnellschnitt zu entnehmen (Schritt 102a), und diese in den Scanner bei Schritt 104 zu geben.

In Figur 2 ist eine bevorzugte Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Scanners insgesamt mit 200 bezeichnet. Der Scanner weist einen Scannertisch 202, und einen Scannerkopf

- 12 -

204 auf. Der Scannerkopf 204 ist bezüglich des Tisches 202 um eine Achse 206 verschwenkbar.

Der Tisch 202 weist eine (nicht dargestellte) Einrichtung
5 zur x-y-Positionierung des Objektträgers 208 auf.

Eine CARS- bzw. SRS-Lasereinheit ist in dem Tisch 202 unterhalb des Objektträgers 208 positionierbar, wobei diese Lasereinheit ebenfalls in x-y-Richtung verschiebbar ausgebildet sein kann.
10

In der bezüglich des Tisches 202 klappbaren Unterseite des Scannerkopfes 204 ist ein Tastkopf 210 ausgebildet, welcher zweckmäßigerweise in einer entsprechenden Öffnung des Scannerkopfes 204 ausgebildet wird, so dass er mit der unteren Fläche des Scannerkopfes 204 bündig ist.
15

Der Tastkopf 210 kann ebenfalls x-y-verschiebbar ausgebildet sein.

20 Der Scanner 200 ist mit einem (schematisch dargestellten) Rechner 220 verbunden.

In dem Scannerkopf 210 befinden sich die notwendigen Filter und Detektoren zur Durchführung einer CARS-Erfassung der von dem Objektträger gehaltenen Probe, d. h. zur Erfassung von der Probe aufgrund der CARS-Steuerung emittierter Strahlung.
25

Alternativ zu der klappbaren Ausgestaltung des Scannerkopfes 204 bezüglich des Tisches 202 sind auch andere Mechanismen zur Positionierung des Tastkopfes 210 über den Objektträger 208 möglich. Beispielsweise ist es möglich, den
30

- 13 -

Scannerkopf 204 bezüglich des Tisches 202 verschiebbar oder
wegdrehbar auszubilden.

5 Das erfindungsgemäße Verfahren kann beliebig wiederholt
werden, bis beispielsweise ausreichende Einzelwellenlängen-
detektionen ausgeführt worden sind. Wenn diese komplett
verfügbar sind, kann die Auswertung erfolgen.

10 Alternativ ist es möglich, automatisch einen spektralen
Scan durchzuführen, und nach Abschluss eines derartigen
Scans zu entscheiden, ob zusätzliche Daten erforderlich o-
der weitere Scanvorgänge notwendig erscheinen. Anschließend
ist eine Auswertung in optimierter Weise möglich.

5

Patentansprüche

1. Scanner für die Abtastung von frisch gewonnen Gewebeproben, **gekennzeichnet durch** eine Einrichtung zur Durchführung und Auswertung eines bildgebenden Verfahrens unter Verwendung einer schwingungsspektroskopischen Bildgebung, insbesondere ein CARS-Bildgebung oder CARS-artiger Bildgebung.
10
2. Scanner nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Auswertung des bildgebenden Verfahrens einen Vergleich wenigstens von Teilen erfasster Bilder mit Substanzbibliotheken, die CARS-Signaturen von möglicherweise relevanten Substanzen oder Gewebebibliotheken, auch mathematisch bearbeitet, enthält, umfasst.
15
20
3. Scanner nach einem der Ansprüche 1 oder 2, gekennzeichnet durch wenigstens eine in ihrer Ausgangswellenlänge modifizierbare Laser- oder Lichteinrichtung zur CARS-Anregung einer zu beobachtenden Schnellschnitt-Probe.
25
4. Scanner nach einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch wenigstens eine Laser- oder Lichteinrichtung mit fester Ausgangswellenlänge, die auch als Pumpquelle genutzt werden kann.
30
5. Scanner nach einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch eine Einrichtung zur Überlagerung eines auf

der Grundlage der schwingungsspektroskopischen Bildgebung erhaltenen Bildes mit anderweitig erhaltenen Bildern oder Ausschnitten von Modellen, die zum Vergleich herangezogen werden können.

5

6. Verfahren für die Abtastung von frisch gewonnen Gewebeproben, gekennzeichnet durch Anwendung eines bildgebenden Verfahrens unter Verwendung einer schwingungsspektroskopischen Bildgebung, insbesondere einer CARS-Bildgebung oder
10 CARS-artiger Bildgebung.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Auswertung des bildgebenden Verfahrens einen Vergleich wenigstens von Teilen erfasster Bilder mit Substanzbibliotheken, die CARS-Signaturen von möglicherweise relevanten Substanzen oder Gewebebibliotheken, auch mathematisch bearbeitet, enthält, umfasst.
15

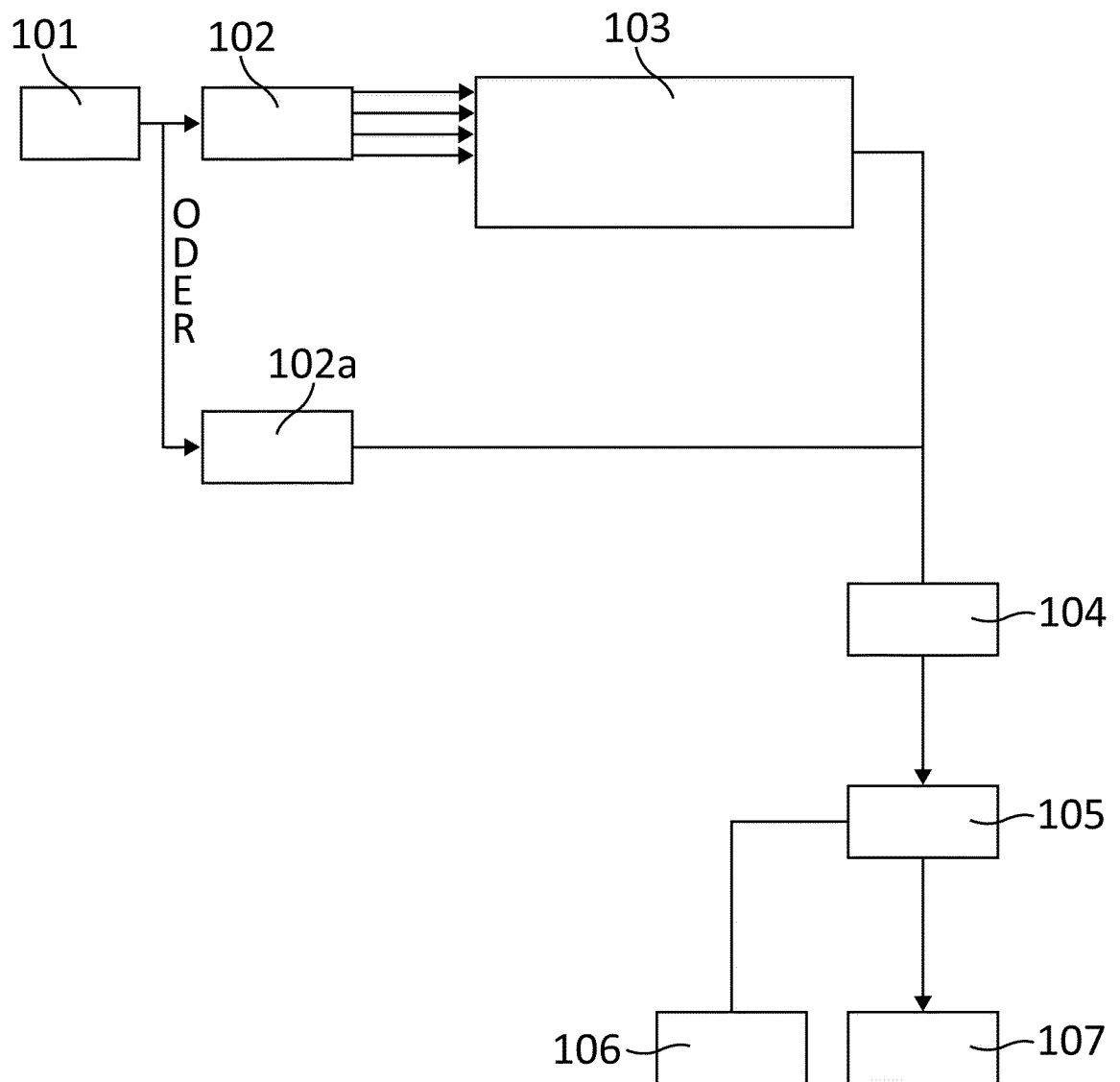


Fig. 1

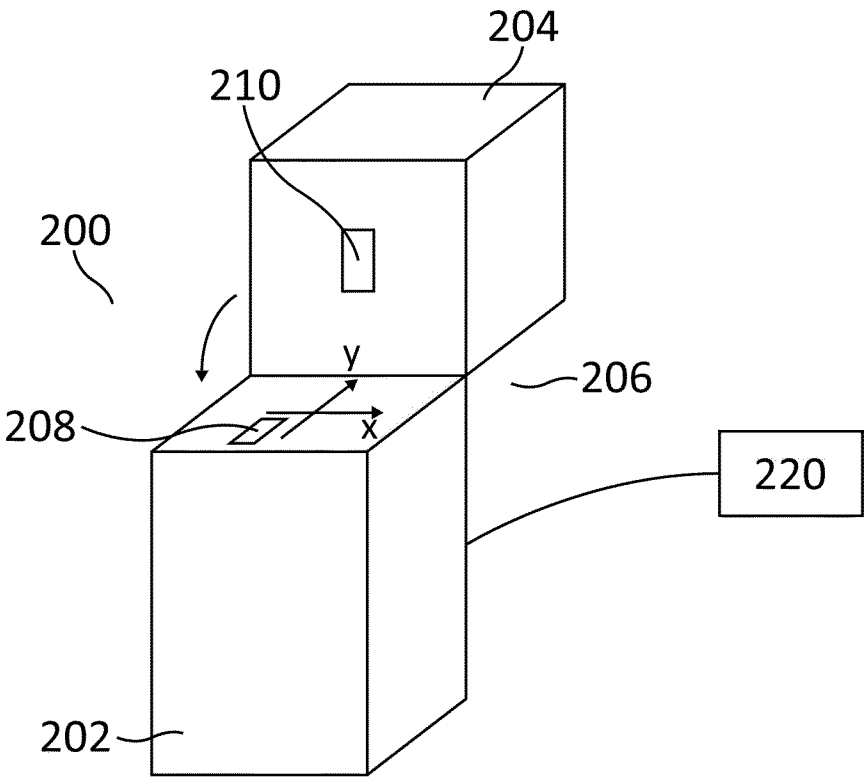


Fig. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/066193

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61B5/00
ADD. G01N21/65

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61B G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/090750 A1 (EDIGER MARWOOD N [US] ET AL EDIGER MARWOOD NEAL [US] ET AL) 28 April 2005 (2005-04-28) abstract paragraph [0017] - paragraph [0019] paragraph [0041] -----	1-7
X	WO 2012/083206 A1 (HILLMAN ELIZABETH MARJORIE CLARE [US]; GROSBURG LAUREN E [US]) 21 June 2012 (2012-06-21) abstract; figure 1 -----	1,5,6
X	DE 10 2010 047578 A1 (JENLAB GMBH [DE]) 12 April 2012 (2012-04-12) the whole document ----- -/-	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 October 2013

Date of mailing of the international search report

31/10/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Windecker, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/066193

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2012/078524 A1 (STEWART SHONA [US] ET AL) 29 March 2012 (2012-03-29) paragraph [0002] - paragraph [0011]; figures 1-3 paragraph [0020] - paragraph [0041] paragraph [0050] - paragraph [0055] -----	1-7
A	WO 2005/052558 A1 (BC CANCER AGENCY [CA]; ZENG HAISHAN [CA]; LUI HARVEY [CA]; HUANG ZHIWE) 9 June 2005 (2005-06-09) abstract -----	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/066193

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005090750 A1	28-04-2005	NONE	
WO 2012083206 A1	21-06-2012	NONE	
DE 102010047578 A1	12-04-2012	DE 102010047578 A1	12-04-2012
		EP 2624743 A2	14-08-2013
		WO 2012062306 A2	18-05-2012
US 2012078524 A1	29-03-2012	NONE	
WO 2005052558 A1	09-06-2005	CA 2547460 A1	09-06-2005
		CN 1890557 A	03-01-2007
		US 2008221457 A1	11-09-2008
		US 2013131488 A1	23-05-2013
		WO 2005052558 A1	09-06-2005

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. A61B5/00

ADD. G01N21/65

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

A61B G01N

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2005/090750 A1 (EDIGER MARWOOD N [US] ET AL EDIGER MARWOOD NEAL [US] ET AL) 28. April 2005 (2005-04-28) Zusammenfassung Absatz [0017] - Absatz [0019] Absatz [0041] -----	1-7
X	WO 2012/083206 A1 (HILLMAN ELIZABETH MARJORIE CLARE [US]; GROSBURG LAUREN E [US]) 21. Juni 2012 (2012-06-21) Zusammenfassung; Abbildung 1 -----	1,5,6
X	DE 10 2010 047578 A1 (JENLAB GMBH [DE]) 12. April 2012 (2012-04-12) das ganze Dokument ----- -/-	1-7



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

22. Oktober 2013

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

31/10/2013

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Windecker, Robert

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2012/078524 A1 (STEWART SHONA [US] ET AL) 29. März 2012 (2012-03-29) Absatz [0002] - Absatz [0011]; Abbildungen 1-3 Absatz [0020] - Absatz [0041] Absatz [0050] - Absatz [0055] -----	1-7
A	WO 2005/052558 A1 (BC CANCER AGENCY [CA]; ZENG HAISHAN [CA]; LUI HARVEY [CA]; HUANG ZHIWE) 9. Juni 2005 (2005-06-09) Zusammenfassung -----	1-7

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2013/066193

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2005090750 A1	28-04-2005	KEINE	
WO 2012083206 A1	21-06-2012	KEINE	
DE 102010047578 A1	12-04-2012	DE 102010047578 A1	12-04-2012
		EP 2624743 A2	14-08-2013
		WO 2012062306 A2	18-05-2012
US 2012078524 A1	29-03-2012	KEINE	
WO 2005052558 A1	09-06-2005	CA 2547460 A1	09-06-2005
		CN 1890557 A	03-01-2007
		US 2008221457 A1	11-09-2008
		US 2013131488 A1	23-05-2013
		WO 2005052558 A1	09-06-2005