PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/10597
G02B 21/14	A1	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Mai 1994 (11.05.94)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE93/00858

(22) Internationales Anmeldedatum: 15. September 1993 (15.09.93)

(30) Prioritätsdaten:
P 42 36 803.0 30. Oktober 1992 (30.10.92) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: LEICA MIKROSKOPIE UND SYSTEME GMBH [DE/DE]; Postfach 20 40, D-35530 Wetzlar (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)* : STANKEWITZ, Hans-Werner [DE/DE]; Taunusstrase 3, D-35579 Wetzlar (DE).

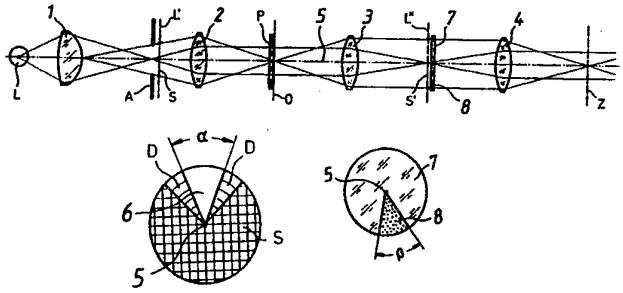
(81) Bestimmungsstaaten: JP, KR, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: PROCESS AND DEVICE FOR CONTRASTING OBJECTS TO BE MICROSCOPICALLY EXAMINED

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR KONTRASTIERUNG MIKROSKOPISCH ZU UNTERSUCHENDER OBJEKTE

(57) Abstract



A contrasting process and device allows a relief contrast to be obtained for microscopic amplitude and/or phase objects. The input aperture (L') of the condenser (2) is partially and asymmetrically masked at the same time as an image (S') of a sector diaphragm (S) is generated in the output aperture (L'') of the objective lens (3), a phase segment (8) of a phase plate (7) covering the image (S') at least partially. The size of the phase segment (8) may be adapted to the size of the image (S') cutout; it may however also be substantially smaller. In the latter case, the sector diaphragm (5) may have additional attenuating sectors (D) made of semi-transparent material with a defined attenuating factor, for example 15 %. The process and device are suitable for transmitted light and/or reflected light microscopy in a normal or inversed beam path.

(57) Zusammenfassung

Es wird ein Kontrastierverfahren sowie eine Vorrichtung zur Durchührung desselben beschrieben, bei dem für mikroskopische Amplituden- und/oder Phasenobjekte ein Reliefkontrast erzielt wird. Dabei wird eine partielle, asymmetrische Ausblendung der Eintrittspupille (L') des Kondensors (2) vollzogen und gleichzeitig in der Austrittspupille (L'') des Objektivs (3) ein Bild (S') einer Sektorblende (S) erzeugt, wobei ein Phasensegment (8) einer Phasenplatte (7) das Bild (S') zumindest teilweise abdeckt. Die Größe des Phasensegments (8) kann der Größe des Ausschnitts des Bildes (S') angepaßt sein; es kann aber auch wesentlich kleiner sein. In letzterem Fall kann die Sektorblende (5) zusätzliche Dämpfungs-Sektoren (D) aufweisen, die aus semi-transparentem Material mit definiertem Dämpfungs-Faktor - beispielsweise 15 % - bestehen. Das Verfahren bzw. Die Vorrichtung sind für Durchlicht- und/oder Auflichtmikroskopie im Normal- bzw. Invers-Strahlengang anwendbar.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	**GA**	Gabon	**MR**	Mauretanien
AU	Australien	**GB**	Vereinigtes Königreich	**MW**	Malawi
BB	Barbados	**GE**	Georgien	**NE**	Niger
BE	Belgien	**GN**	Guinea	**NL**	Niederlande
BF	Burkina Faso	**GR**	Griechenland	**NO**	Norwegen
BG	Bulgarien	**HU**	Ungarn	**NZ**	Neuseeland
BJ	Benin	**IE**	Irland	**PL**	Polen
BR	Brasilien	**IT**	Italien	**PT**	Portugal
BY	Belarus	**JP**	Japan	**RO**	Rumänien
CA	Kanada	**KE**	Kenya	**RU**	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	**KG**	Kirgisistan	**SD**	Sudan
CG	Kongo	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**SE**	Schweden
CH	Schweiz	**KR**	Republik Korea	**SI**	Slowakenien
CI	Côte d'Ivoire	**KZ**	Kasachstan	**SK**	Slowakei
CM	Kamerun	**LI**	Liechtenstein	**SN**	Senegal
CN	China	**LK**	Sri Lanka	**TD**	Tschad
CS	Tschechoslowakei	**LU**	Luxemburg	**TG**	Togo
CZ	Tschechische Republik	**LV**	Lettland	**TJ**	Tadschikistan
DE	Deutschland	**MC**	Monaco	**TT**	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	**MD**	Republik Moldau	**UA**	Ukraine
ES	Spanien	**MG**	Madagaskar	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	**ML**	Mali	**UZ**	Usbekistan
FR	Frankreich	**MN**	Mongolei	**VN**	Vietnam

Verfahren und Vorrichtung zur Kontrastierung mikroskopisch zu untersuchender Objekte

Die Erfindung betrifft ein optisches Kontrastierungsverfahren für mikroskopisch zu untersuchende Amplituden- und/oder Phasenobjekte.

Für die mikroskopische Untersuchung von Objekten, insbesondere von lebenden, ungefärbten Zell- und Gewebematerialien oder von farblosen, transparenten Materialien mit Objektbereichen unterschiedlicher optischer Dicke sind Kontrastverfahren erforderlich, mit deren Hilfe für das menschliche Auge eine bessere Erkennbarkeit von Objektstrukturen erreicht werden kann.

So ist es beispielsweise bekannt, im Beleuchtungstrakt eines Mikroskops eine "schiefe Beleuchtung" dadurch zu erzielen, daß die Aperturblende aus der optischen (Beleuchtungs-)Achse exzentrisch verschoben wird. Die Nachteile dieser bekannten Kontrastierungsverfahren bestehen darin, daß sie schlecht reproduzierbar, nicht kostengünstig zu realisieren und für jedes Objektiv neu einzustellen sind.

Ein weiteres bekanntes Verfahren ist das Phasenkontrastverfahren. Dabei werden durch Einbringen geeigneter optischer Mittel in die hintere Brennebene des Objektivs Kontrasteffekte erzeugt. Da reine Phasenobjekte nur die Phase und nicht die Amplitude des Lichtes ändern, das menschliche Auge bzw. die fotografische Platte wohl auf Amplituden-, nicht aber auf Phasen-Unterschiede anspricht, bleiben sie im normalen Hellfeldbild unsichtbar. Mit dem bekannten Phasenkontrastverfahren werden die durch das (Phasen-)Objekt hervorgerufenen Phasenunterschiede in Amplitudenunterschiede "umgewandelt" und damit sichtbar gemacht. Zernike erkannte be-

reits, daß man nur die Phase des Beleuchtungslichtes um $\lambda/4$ ändern muß, um den Unterschied zwischen einem Phasenobjekt und einem Amplitudenobjekt aufzuheben, d. h. Phasenstrukturen genau wie Amplitudenstrukturen sichtbar zu machen. In der Praxis benutzt man ein ringförmiges Plättchen, den sog. "Phasenring", der in der hinteren Brennebene des Objektivs positioniert wird. Der Phasenring weist eine definierte Dicke und Absorption auf. Die Anwendung eines Phasenrings setzt voraus, daß das Beleuchtungslicht von einer ringförmigen Lichtquelle herkommt. Dies wird konstruktiv durch eine im Bereich des Kondensors angebrachte Blende erreicht. Da der Durchmesser und die Breite dieser Blende die Beleuchtungsapertur beeinflussen, die zur Objektivapertur in einem bestimmten Verhältnis stehen muß, enthält ein bekannter Phasenkontrast-Kondensor mehrere zu den Objektiven konjugierte Ringblenden, die beispielweise auf einer Revolverscheibe angeordnet sind. Die Nachteile bestehen also darin, daß für jedes Mikroskopobjektiv eine speziell gestaltete Ringblende vorhanden und in Wirkstellung gebracht werden muß. Außerdem ist kein "Reliefeffekt" erzielbar und schließlich treten beispielsweise bei der Untersuchung von Flüssigkeitskammern Störungen des Verfahrens auf.

Weitere bekannte Kontrastierungsverfahren betreffen den Modulationskontrast nach Hoffman. Nachteilig ist der hohe Fertigungsaufwand, da Spezialobjektive verwandt werden müssen, die nicht rotationssymmetrisch sind. Darüber hinaus ist dieses Verfahren schwer zu handhaben.

Schließlich ist das Interferenzkontrast-Verfahren zu nennen, das aber auf der Verwendung von optischen Polarisations-Bauteilen komplizierter kristalloptischer Orientierungen beruht, wodurch es fertigungstechnisch sehr aufwendig und damit kostenintensiv ist. Außerdem können mit diesem bekannten Verfahren keine Objekte untersucht werden, die sich beispielweise in Kunststoff-Präparatbehältern befinden, da Kunststoffmaterialien die Polarisationszustände beeinflussen.

Es ist daher die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, die Nachteile der bekannten Verfahren zu vermeiden und ein kombiniertes optisches Kontrastierungsverfahren anzugeben, das bei einfacher Bedienung eine größere Anwendungsbreite für alle infrage kommenden Objekte ermöglicht, wobei neben einer Phasenkontrastierung zusätzlich eine Reliefkontrastierung erfolgt. Die Aufgabe besteht weiterhin darin, eine entsprechende Vorrichtung anzugeben, bei der keine polarisations-optischen Bauteile verwendet werden.

Die Aufgabe wird bei einem Verfahren der eingangs genannten Art erfindungsgemäß durch das kennzeichnende Merkmal des Hauptanspruchs gelöst.

Sie wird weiterhin bei einer Vorrichtung der eingangs genannten Art durch die kennzeichnenden Merkmale des Patentanspruchs 3 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen ergeben sich aus den Unteransprüchen.

Die Erfindung wird nunmehr anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen

Fig. 1a: eine schematische Darstellung eines Teils des Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengangs eines Mikroskops;

Fig. 1b: eine Draufsicht einer erfindungsgemäßen Sektorblende;

Fig. 1c: eine Draufsicht einer erfindungsgemäßen Phasenplatte;

Fig. 2 : das Bild der Sektorblende am Ort der erfindungs gemäßen Phasenplatte mit azimutal korrekt orientiertem Phasensegment.

In Fig. 1a ist ein Teil eines Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengangs in einem Mikroskop schematisch dargestellt. Das Beleuchtungsstrahlenbündel, dessen Achse mit der optischen Achse 5 zusammenfällt, geht von einer Lichtquelle L aus und passiert nach Durchtritt durch einen Kollektor 1 zunächst eine als Irisblende ausgebildete Aperturblende A, sodann einen Kondensor 2 und trifft anschließend auf ein zu mikroskopierendes Durchlicht-Objekt, das in der Figur als Präparat P bezeichnet ist. Genauer gesagt, handelt es sich bei P um einen Präparatträger, beispielweise ein planparalleles Objektgläschen, auf dessen zentralem, von der optischen Achse 5 durchstoßenem Flächenbereich sich das eigentliche Präparat in der Objektebene O befindet. Dieses Präparat kann ein reines Amplitudenobjekt oder ein reines Phasenobjekt oder eine Mischform beider Objektkategorien sein. Nach Verlassen des Objektes tritt das Beleuchtungs- bzw. Abbildungsstrahlenbündel durch ein Objektiv 3, und sodann durch eine Tubuslinse 4. Dieser optisch-geometrische Aufbau ist an sich bekannt.

Die Fig. 1a entspricht insoweit einer Köhler'schen Beleuchtungsanordnung. Es sei aber an dieser Stelle hervorgehoben, daß auch andere Beleuchtungsanordnungen, beispielweise eine sog. "kritische Beleuchtung", Basis für die konstruktive Anordnung der erforderlichen optischen Einzelbauteile sein können.

Mit L' ist die vordere Brennebene des Kondensors 2 bezeichnet; sie wird auch "Eintrittspupille" des Kondensors 2 genannt. Die bereits erwähnte Aperturblende A befindet sich in oder in unmittelbarer Nähe der Kondensor-Eintrittspupille. Mit L" ist die hintere Brennebene des Objektivs 3 bezeichnet; sie wird auch "Austrittspupille" des Objektivs 3 genannt. Mit Z ist eine Zwischenbildebene bezeichnet, wobei die Ebenen L', O, L" und Z konjugierte Ebenen darstellen. Ein Mikroskop-Okular (bzw. eine Mattscheibe bzw. ein Bildschirm) vervollständigt das Beleuchtungs- bzw. Abbildungssystem. Es wurde aus Vereinfachungsgründen jedoch nicht zeichnerisch dargestellt.

In der vorderen Brennebene L' des Kondensors befindet sich - wie in Fig. 1b dargestellt - die erfindungsgemäße Sektorblende S. Fig. 1b zeigt im Vergleich zur Fig. 1a eine in die Zeichenebene umgeklappte Blende. Die Spur der optischen Achse 5 stellt den Kreismittelpunkt dar. Die Sektorblende 5 weist einen Kreisausschnitt - also einen (Kreis-)"Sektor" 6 - auf, dessen Winkel mit α bezeichnet ist. Zu beiden Seiten des Sektors 6 befinden sich im dargestellten Fall zwei symmetrisch angeordnete Dämpfungssektoren D. Auf dessen Bedeutung wird weiter unten noch näher einzugehen sein. Prinzipiell kann die erfindungsgemäße Sektorblende S ohne die zusätzlichen Dämpfungs-Sektoren D gefertigt sein. In diesem Fall besteht sie also lediglich aus einer Kreisscheibe aus opakem Material, die - wie bereits erwähnt - einen kreissektorförmigen Ausschnitt 6 mit einem Winkel α aufweist.

In der hinteren Brennebene L" des Objektivs 3 bzw. in dessen unmittelbarer Nähe befindet sich außerdem eine erfindungsgemäß strukturierte Phasenplatte 7.

Sie ist in Fig. 1c - wiederum um 90 Grad in die Zeichenebene umgeklappt - dargestellt. Sie besteht aus einer kreisförmigen planparallelen Scheibe aus transparentem Material (z.B. Glas) und weist einen kreissektorförmigen Bereich auf, der als Phasensegment 8 bezeichnet wird. Der Sektorwinkel ist mit β angegeben. Der Phasenbelag ist an sich bekannt. Es kann sich beispielweise um einen MgF_2-Schichtbelag handeln, wie er auch bei den bekannten Phasenringen verwendet wird. Durch dieses Phasensegment 8 wird das durchgehende Strahlenbündel hinsichtlich seiner Phasenlage und hinsichtlich seiner Intensität gezielt beeinflußt. Die Gesamtanordnung kann so getroffen sein, daß das Bild des Kreisausschnitts 6 hinsichtlich seiner Fläche und seines Winkels α mit der Fläche und dem Winkel β des Phasensegments 8 übereinstimmt. Es ist indes auch möglich, daß das Phasensegment 8 kleiner oder größer als das Bild des Kreisausschnitts 6 ist. Außerdem ist es möglich, daß die azimutale Orientierung der Phasenplatte 7 derart getroffen ist, daß das

Phasensegment 8 nicht symmetrisch im Ausschnitt des Bildes S' zu liegen kommt.

Zur näheren Veranschaulichung sei auf Fig. 2 verwiesen. Sie zeigt - in etwas größerem Maßstab als bei den Figuren 1b und 1c - das in der hinteren Brennebene L" entworfene Bild A' der Aperturblende A, vgl. die strichlinierte Kreislinie A'. Da sich am Ort der hinteren Brennebene L" auch die Phasenplatte 7 mit ihrem Phasensegment 8 befindet, ist dieses Segment 8 mit seinem Sektorwinkel β in Punkt-Schraffur dargestellt. Mit der durchbrochenen Netz-Schraffur ist das Bild S' der Sektorblende S dargestellt. Wie weiter oben bereits erwähnt, kann man sich zunächst in Fig. 2 die beiden mit D bezeichneten Sektorbereiche wegdenken.

Wenn man nun beispielweise eine Sektorblende S mit einem relativ großen Sektor 6 verwendet und gleichzeitig eine Phasenplatte 7 mit einem relativ kleinen Sektor des Phasensegments 8, so daß $\alpha > \beta$ gilt, so wird bei einer Darstellung gemäß Fig. 2 das Phasensegment 8 innerhalb des - größeren - Kreisausschnitts-Bildes zu liegen kommen. Das bedeutet, daß - bei angenommener symmetrischer Positionierung - zu beiden Seiten des Phasensegments 8 zwei freie, helle, sektorförmige Bereiche auftreten. Natürlich ist auch eine unsymmetrische Positionierung des Phasensegments 8 bezüglich des Kreisausschnitts-Bildes möglich; in einem solchen Fall wird der helle Sektorteil auf der einen Seite des Phasensegments größer sein (also einen größeren Winkel haben), als derjenige auf der anderen Seite des Phasensegments. Bei extrem asymmetrischer Positionierung infolge einer entsprechenden azimutalen Verdrehung der Phasenplatte 7 ist es natürlich auch möglich, daß das Phasensegment 8 nur an einer Seite des Kreisausschnitts des Bildes S' einen hellen Sektorteil freiläßt.

Um in derartigen Fällen in der Ebene L" zu starke Überstrahlungen durch die beiden hellen Sektorteile abzumildern, also zu "dämpfen", kann die Sektorblende zusätzlich mit Dämpfungs-Sektoren

D ausgestattet sein (vgl. Fig. 1b), die aus transparentem Material definierter Durchlässigkeit bestehen. Dabei kann es sich beispielsweise um Grau- oder Farbfilter handeln. Hinsichtlich des Dämpfungs-Grades (Lichtschwächungs-Grades) sind sie beispielsweise demjenigen des Phasensegments 8 angepaßt. Der Lichtschwächungs-Faktor beträgt bei einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beispielsweise 15%.

Diese wahlweise Zusatzausstattung der an sich opaken Sektorblende S mit zwei semi-transparenten Sektoren D zu beiden Seiten der kreissektorförmigen Öffnung 6 liefert das in Fig. 2 gezeigte Bild (mit überlagertem Phasensegment 8). Mit D' ist das Bild beider Dämpfungs-Sektoren D bezeichnet. Nach einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die geometrische Sektorblende derart dimensioniert, daß 5/6 (fünf Sechstel) der Kondensorpupille ausgeblendet werden.

Dadurch, daß es sich bei der Sektorblende S um einen "Kreisausschnitt" 6 handelt, der per definitionem bis zum Mittelpunkt des Kreises (= Spur der optischen Achse 5) reicht, ist sie unabhängig von den Brennweiten des jeweiligen Kondensors bzw. Objektivs. Die Anwendung ist so unempfindlich gegenüber Pupillenschwankungen, daß das Phasensegment 8 auch in einem mittleren Wert der konjugierten Objektpupille angebracht werden kann. Hieraus ergibt sich als gravierender Vorteil, daß normale Objektive unterschiedlicher Brennweiten und Pupillenlagen verwendet werden können.

Wenngleich das erfindungsgemäße Verfahren bzw. die Vorrichtung anhand eines Durchlicht-Strahlengangs erläutert wurde, so sind auch in entsprechender Weise Auflichtanordnungen mit der erfindungsgemäßen Sektorblenden-Phasensegment-Kombination ausrüstbar. Dieses kombinierte Relief- und Phasen-Kontrastierungsverfahren ist darüber hinaus auch für Invers-Mikroskop-Strahlenführungen im Durchlicht- und/oder Auflicht anwendbar.

Bezugszeichen- bzw. Bezugsziffern-Liste

	A	-	Aperturblende
	A'	-	Bild von (A)
5	D	-	Dämpfungs-Sektor(en)
	D'	-	Bild(er) von (D)
	L	-	Lichtquelle
	L'	-	vordere Brennebene ("Eintrittspupille") von (2)
	L"	-	hintere Brennebene ("Austrittspupille") von (3)
10	O	-	Objektebene
	P	-	Präparat
	S	-	Sektorblende
	S'	-	Bild von (S)
	Z	-	Zwischenbildebene
15	α	-	Winkel von (S)
	α'	-	Winkel des Bildes von (6)
	β	-	Sektorwinkel von (8)
	1	-	Kollektor
	2	-	Kondensor
20	3	-	Objektiv
	4	-	Tubuslinse
	5	-	optische Achse
	6	-	Kreisausschnitt ("Sektor") von (S)
	7	-	Phasenplatte
25	8	-	Phasensegment von (7)

Ansprüche

1. Kontrastierungsverfahren für mikroskopisch zu untersuchende Amplituden- und/oder Phasenobjekte, **dadurch gekennzeichnet**, daß zur Erzielung eines Reliefkontrastes im mikroskopischen Bild

   a) eine partielle, asymmetrische Ausblendung der Eintrittspupille (L') des Kondensors (2) erfolgt und

   b) das in der Austrittspupille (L") des Objektivs (3) erzeugte Bild (S') einer Sektorblende (S) zumindest teilweise von einem asymmetrischen Phasensegment (8) abgedeckt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Ausblendung der Eintrittspupille (L') mittels einer Sektorblende (S) erfolgt und das Bild (S') dieser Sektorblende (S) von einem sektorförmigen Phasensegment (8) zumindest teilweise abgedeckt wird.

3. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß in einer eine Lichtquelle (L), einen Kollektor (1), eine Aperturblende (A), einen Kondensor (2), ein Objektiv (3) und - gegebenenfalls - eine Tubuslinse (4) aufweisenden Mikroskopanordnung für ein zwischen dem Kondensor (2) und dem Objektiv (3) befindliches Amplituden-und/oder Phasenobjekt (P) zur Reliefkontrastierung des Objektbildes

a) in der vorderen Brennebene (L') des Kondensors (2) eine Sektorblende (S) angeordnet ist, die aus einer kreisförmigen Blende mit einer sektorförmigen Öffnung (6) mit einem Öffnungswinkel α besteht, und

b) in der hinteren Brennebene (L") des Objektivs (3) eine ein sektorförmiges Phasensegment (8) mit einem Sektorwinkel β aufweisende Phasenplatte (7) vorgesehen und derart azimutal positioniert ist, daß das Phasensegment (8) das an diesem Ort entstehende Bild (S') der sektorförmigen Blendenöffnung (6) zumindest teilweise überlagert.

4. Vorrichtung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sektorblende (S) etwa 5/6 (fünf Sechstel) der Kondensorpupille (L') ausblendet.

5. Vorrichtung nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Phasenplatte (7) derart azimutal positioniert ist, daß das Phasensegment (8) bezüglich des Bildes (S') der sektorförmigen Blendenöffnung (6) symmetrisch angeordnet ist.

6. Vorrichtung nach mindestens einem der Ansprüche 3 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Fläche des Phasensegments (8) der Phasenplatte (7) zwischen 10% und 50% der Fläche des Bildes (S') der sektorförmigen Blendenöffnung (6) der Sektorblende (S) beträgt.

7. Vorrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß der/die angrenzende(n) Sektorbereich(e) (D), dessen/deren Bild(er) (D') nicht von

dem Phasensegment (8) abgedeckt wird/werden, transparent ausgeführt ist/sind, wobei er/sie jedoch eine definierte Schwächung der Intensität des Beleuchtungsstrahlenbündels bewirkt/bewirken.

8. Vorrichtung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Grad der Schwächung der Intensität des Beleuchtungsstrahlenbündels demjenigen des Phasensegments (8) angepaßt ist.

9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 7 und 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Grad der Schwächung der Intensität des Beleuchtungsstrahlenbündels bei dem/den Dämpfungs-Sektor(en) (D) wie auch bei dem Phasensegment (8) 15% beträgt unter der zusätzlichen Bedingung, daß die Flächengröße des Phasensegments (8) der Flächengröße des/der Dämpfungs-Sektors/Sektoren (D) entspricht.

10. Verwendung des Verfahrens bzw. der Vorrichtung nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche für die Durchlicht- und/oder Auflichtmikroskopie im Normal- bzw. Invers-Strahlengang.

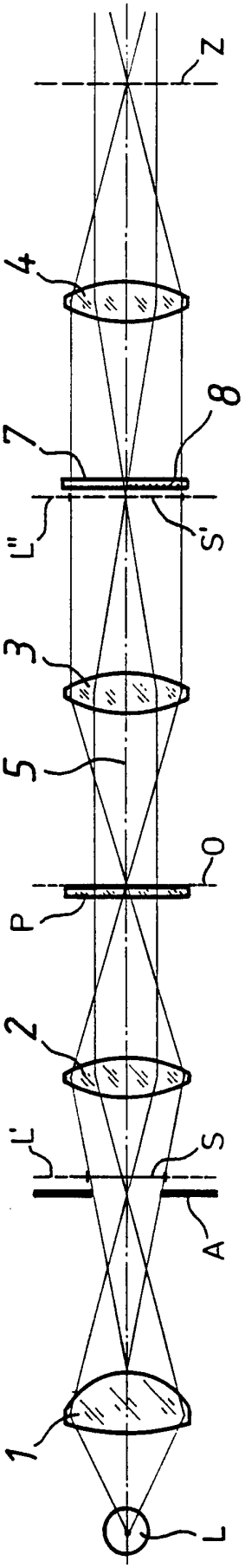


Fig.1a

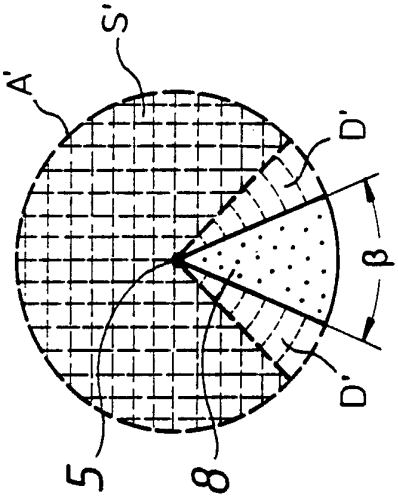


Fig.2

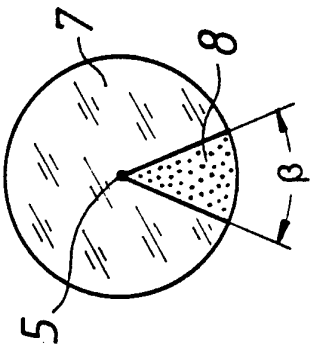


Fig.1c

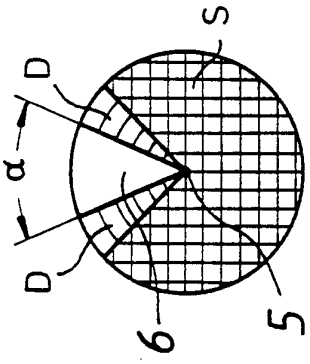


Fig.1b

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No
PCT/DE 93/00858

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 G02B21/14

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)
IPC 5 G02B

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 practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB,A,673 861 (HILGER & WATTS LTD.) 11 June 1952 see page 1, line 76 - page 2, line 17; figures 1-4	1-3,10
A	DE,A,19 63 604 (JENAOPTIK JENA GMBH) 4 February 1971 see page 3, line 14 - page 4, line 4; figures 1,4	1-3,10
A	IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN. vol. 22, no. 11 , April 1980 , NEW YORK US page 5085 E. COURTENS ET AL. 'Microscope attachment for improved visibility of weak phase objects' see the whole document	1,3,10

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in 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 document 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	Date of mailing of the international search report
5 January 1994	14. 01. 94
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016	**Authorized officer** Sarneel, A

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JOURNAL OF THE OPTICAL SOCIETY OF AMERICA vol. 9, no. 6 , June 1992 , NEW YORK US pages 924 - 931 T. NODA ET AL. 'Separation of phase and absorption images in phase-contrast microscopy' see the whole document -----	1,3,10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter nal Application No
PCT/DE 93/00858

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB-A-673861		NONE	
DE-A-1963604	04-02-71	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 93/00858

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 5 G02B21/14

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 5 G02B

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)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GB,A,673 861 (HILGER & WATTS LTD.) 11. Juni 1952 siehe Seite 1, Zeile 76 - Seite 2, Zeile 17; Abbildungen 1-4 ---	1-3,10
A	DE,A,19 63 604 (JENAOPTIK JENA GMBH) 4. Februar 1971 siehe Seite 3, Zeile 14 - Seite 4, Zeile 4; Abbildungen 1,4 ---	1-3,10
A	IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN. Bd. 22, Nr. 11 , April 1980 , NEW YORK US Seite 5085 E. COURTENS ET AL. 'Microscope attachment for improved visibility of weak phase objects' siehe das ganze Dokument --- -/--	1,3,10

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] 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" älteres Dokument, 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 anderen 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	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
5. Januar 1994	14. 01. 94
Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+ 31-70) 340-3016	**Bevollmächtigter Bediensteter** Sarneel, A

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

Internales Aktenzeichen
PCT/DE 93/00858

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	JOURNAL OF THE OPTICAL SOCIETY OF AMERICA Bd. 9, Nr. 6 , Juni 1992 , NEW YORK US Seiten 924 - 931 T. NODA ET AL. 'Separation of phase and absorption images in phase-contrast microscopy' siehe das ganze Dokument -----	1,3,10

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internales Aktenzeichen
PCT/DE 93/00858

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
GB-A-673861		KEINE	
DE-A-1963604	04-02-71	KEINE	