



(10) **DE 103 62 402 B3** 2022.03.03

(12) **Patentschrift**

(21) Aktenzeichen: **103 62 402.3**
(22) Anmeldetag: **28.08.2003**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **03.03.2022**

(51) Int Cl.: **G02B 21/00 (2006.01)**
G01N 21/64 (2006.01)
G01B 9/02 (2022.01)

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 aus:

103 39 784.1

(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:

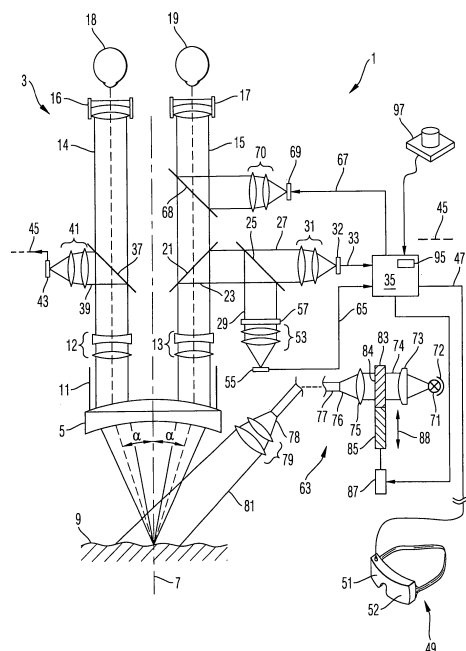
**Haisch, Michael, 73430 Aalen, DE; Hauger,
Christoph, Dr., 73431 Aalen, DE; Wolf, Hartmut,
73447 Oberkochen, DE; Hug, Joachim, 73447
Oberkochen, DE; Schwarz, Brigitta, 73447
Oberkochen, DE; Gaida, Gerhard, 73430 Aalen,
DE; Raabe, Andreas, 60528 Frankfurt, DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:

US	6 262 837	B1
US	4 786 155	A
JP	2000- 292 705	A

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

(57) Zusammenfassung: Es wird ein Mikroskopiesystem und ein Mikroskopieverfahren vorgeschlagen, um in einem Gewebe angereicherte Fluoreszenzfarbstoffe zu beobachten. Hierzu umfasst das Mikroskopiesystem geeignete Filter, um einen zu untersuchenden Gewebebereich gleichzeitig als Normallichtbild und als Fluoreszenzlichtbild zu betrachten. Ferner ist es möglich, Folgen von Fluoreszenzlichtbildern wiederholt in Überlagerung mit den Normallichtbildern zu betrachten. Ein Ende der Folge von Bildern kann automatisch festgelegt werden, und dies in Verbindung mit dem Einführen eines Wärmeschutzfilters in den Strahlengang eines Beleuchtungssystems. Ferner kann ein Fluoreszenzlichtbild analysiert werden zur Identifizierung wenigstens eines zusammenhängenden fluoreszierenden Bereichs. Dieser kann in einem Fluoreszenzlichtbild durch eine Umfangslinie dargestellt werden, oder es kann eine Bestimmung von ergänzenden Daten lediglich in dem zusammenhängenden Bereich durchgeführt werden. Eine Beleuchtung des Objekts mit Licht, welches eine Fluoreszenz anregt, kann moduliert erfolgen, um fluoreszierende Bereiche besser identifizieren zu können.



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] JP 2000- 292 705 A offenbart ein System, mit welchem Weißlichtbilder eines Objekts mittels sichtbarem Licht aufgenommen und Tiefenprofilinformation über das Objekt mittels optischer Kohärenztomographie erfasst werden können. Die Aufnahme der Weißlichtbilder und das Erfassen der Tiefenprofilinformation werden unabhängig voneinander durchgeführt.

[0005] In US 4 786 155 A ist ein Mikroskop offenbart, welches sichtbare und gewandelte Bilder in Echtzeit überlagert darstellen kann.

[0006] US 6 262 837 B1 offenbart ein Mikroskop zur zeitsequenziellen Detektion von verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen.

[0007] 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.

[0008] 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.

[0009] 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 Strahlen-

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

[0010] 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.

[0011] 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.

[0012] 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.

[0013] 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.

[0014] 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 Fluoreszenzbildes 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.

[0015] 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.

[0016] 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.

[0017] Die in dem Beleuchtungssystem vorgesehenen Filter können Transmissionsfilter oder Reflexionsfilter sein.

[0018] 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.

[0019] Der Bilddatenspeicher ist dazu ausgebildet, Bilddaten zu speichern, welche die von der Kamera während einer Zeitdauer aufgenommenen Fluoreszenzlichtbilder des Objektbereichs repräsentieren.

[0020] 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.

[0021] 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.

[0022] 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.

[0023] 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.

[0024] 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.

[0025] 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.

[0026] 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.

[0027] 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.

[0028] 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.

[0029] 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.

[0030] 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.

[0031] 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.

[0032] 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.

[0033] 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 Einstromvorgangs eines Fluoreszenzfarbstoffs automatisch erfasst wird. Es ist dann möglich, nach dem erfassten Ende des Einstromvorgangs, 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.

[0034] 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.

[0035] 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.

[0036] Die Gewinnung derartiger Tiefenprofildaten ist herkömmlicherweise zeitaufwendig, und insbesondere ist es aufwendig, die Tiefenprofildaten im gesamten Objektfeld des Mikroskopiesystems zu gewinnen.

[0037] 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 Tiefenprofilaten in lediglich der Analyseregion gewonnen werden.

[0038] 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 Tiefenprofilaten gewonnen, während in den übrigen Bereichen des Bildfelds Tiefenprofilaten nicht gewonnen werden.

[0039] Hierdurch ist es möglich, einen Benutzer des Mikroskopiesystems von der Identifizierung der interessierenden Bereich weitgehend zu entlasten und in verhältnismäßig kurzer Zeit Tiefenprofilaten der interessierenden Bereiche für den Benutzer bereitzustellen.

[0040] Vorzugsweise umfasst die Interferometrievorrichtung zur Gewinnung der Tiefenprofilaten eine Optische-Kohärenz-Tomographie-Vorrichtung (OCT-Vorrichtung).

[0041] Nachfolgend werden vorteilhafte Merkmalskombinationen beschrieben.

[0042] Gemäß einer Merkmalskombination 1 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz von Indocyaningrün, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich enthält, der eine Emissionswellenlänge von Indocyaningrün umfasst, und einem zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält, ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den ersten Bilddaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer, und ein Beleuchtungssystem zur Bereitstellung wenigstens eines auf den Objektbereich gerichteten Beleuchtungslichtstrahls, wobei der wenigstens eine Beleuchtungslichtstrahl Licht mit Wellenlängen aus dem zweiten Wellenlängenbereich und einer Anregungswellenlänge von Indocyaningrün enthält.

[0043] Gemäß einer Merkmalskombination 2 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem gemäß der Merkmalskombination 1, wobei das Licht des wenigstens einen Beleuchtungslichtstrahls von einer einzigen Lichtquelle emittiert wird.

[0044] Gemäß einer Merkmalskombination 3 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem gemäß der Merkmalskombination 2, wobei die Lichtquelle eine Xenonlampe oder eine Halogenlampe umfasst.

[0045] Gemäß einer Merkmalskombination 4 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer Merkmalskombinationen 1 bis 3, wobei das Beleuchtungssystem einen in einem Strahlengang des Beleuchtungssystems angeordneten ersten Filter umfasst, welcher Licht mit Emissionswellenlängen von Indocyaningrün aus dem Beleuchtungslichtstrahl im Wesentlichen entfernt.

[0046] Gemäß einer Merkmalskombination 5 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer Merkmalskombinationen 1 bis 4, wobei das Beleuchtungssystem einen in dem Strahlengang des Beleuchtungssystems anordenbaren zweiten Filter umfasst, welcher Licht mit Wellenlängen aus dem Beleuchtungslichtstrahl entfernt, die größer sind als 710 nm, insbesondere größer als 690 nm.

[0047] Gemäß einer Merkmalskombination 6 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer Merkmalskombinationen 4 oder 5, wobei der erste oder/und der zweite Filter einen Transmissionsfilter oder einen Reflexionsfilter umfassen.

[0048] Gemäß einer Merkmalskombination 7 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffs, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera 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

ßerten ersten Darstellung des Objektbereichs, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält, einen Bilddatenspeicher zur Speicherung wenigstens eines während einer Zeitdauer durch die erste Kamera gewonnenen Satzes erster Bilddaten, und ein Anzeigesystem 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.

[0049] Gemäß einer Merkmalskombination 8 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 7, wobei das Anzeigesystem dazu ausgebildet ist, die Folge der zweiten Darstellungen wiederholt darzustellen.

[0050] Gemäß einer Merkmalskombination 9 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 7 oder 8, ferner umfassend eine Steuerung, welche dazu ausgebildet ist, die Teilmenge des Satzes von ersten Bilddaten in Abhängigkeit von Intensitäten der von den ersten Bilddaten des ersten Satzes repräsentierten Bilder zu bestimmen.

[0051] Gemäß einer Merkmalskombination 10 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 7 oder 8, ferner umfassend eine Steuerung, welche 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.

[0052] Gemäß einer Merkmalskombination 11 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffs, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera 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, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält, ein Beleuchtungssystem zur Bereitstellung wenigstens eines auf den Objektbereich gerichteten Beleuchtungslichtstrahls, wobei der wenigstens eine Beleuchtungslichtstrahl Licht mit einer Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs enthält und wobei das Beleuchtungssystem einen Lichtmodulator zur Variation einer Intensität des Lichts mit der Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs aufweist, und ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den ersten Bilddaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer.

[0053] Gemäß einer Merkmalskombination 12 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 11, wobei der Intensitätsmodulator ein Filterrad umfasst.

[0054] Gemäß einer Merkmalskombination 13 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 12, wobei das Filterrad einen Reflexionsfilter oder einen Transmissionsfilter umfasst.

[0055] Gemäß einer Merkmalskombination 14 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer der Merkmalskombinationen 11 bis 13, wobei das Beleuchtungssystem eine Lichtquelle umfasst, die Licht mit der Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs und sichtbares Licht emittiert.

[0056] Gemäß einer Merkmalskombination 15 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 11, wobei der Intensitätsmodulator eine erste Lichtquelle umfasst, die Licht mit der Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs mit änderbarer Intensität emittiert.

[0057] Gemäß einer Merkmalskombination 16 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 15, wobei das Beleuchtungssystem eine zweite Lichtquelle umfasst, welche Licht emittiert, welches Anregungswellenlängen des Fluoreszenzfarbstoffs nicht enthält.

[0058] Gemäß einer Merkmalskombination 17 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs repräsentieren, ein Beleuchtungssystem zur Bereitstellung wenigstens eines auf den Objektbereich gerichteten Beleuchtungslichtstrahls, wobei das Beleuchtungssystem einen in einer

ersten Position in einem Strahlengang des Beleuchtungssystems anordenbaren ersten Filter, welcher Licht mit Wellenlängen, die größer sind als eine Grenzwellenlänge, aus dem Beleuchtungslichtstrahl entfernt, und einen Antrieb umfasst, um den ersten Filter von einer zweiten Position, in der er nicht in dem Strahlengang angeordnet ist, in die erste Position zu überführen, und eine Steuerung, welche dazu ausgebildet ist, den Antrieb zur Überführung des ersten Filters von der zweiten in die erste Position in Abhängigkeit von Intensitäten der von den ersten Bilddaten repräsentierten Bilder anzusteuern.

[0059] Gemäß einer Merkmalskombination 18 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 17, wobei die Grenzwellenlänge in einem Bereich von 690nm bis 720nm liegt oder in einem Bereich von 720nm bis 750nm liegt oder in einem Bereich von 750nm bis 780nm liegt oder in einem Bereich von 780nm bis 800nm liegt.

[0060] Gemäß einer Merkmalskombination 19 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 17 oder 18, wobei die ersten Bilddaten Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich enthält, der eine Emissionswellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs umfasst.

[0061] Gemäß einer Merkmalskombination 20 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 19, wobei die Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs größer ist als die Grenzwellenlänge.

[0062] Gemäß einer Merkmalskombination 21 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer der Merkmalskombinationen 17 bis 20, wobei die Mikroskopieoptik ferner einen zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs umfasst, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält.

[0063] Gemäß einer Merkmalskombination 22 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombinationen 21, ferner umfassend ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den ersten Bilddaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer.

[0064] Gemäß einer Merkmalskombination 23 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz eines Fluoreszenzfarbstoffs, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera 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, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden ersten Wellenlängenbereich enthält, eine Steuerung, welche dazu ausgebildet ist, zweite Bilddaten zu erzeugen, welche wenigstens eine Umfangslinie eines zusammenhängenden Bereichs von über einem Schwellenwert liegenden Intensitäten in wenigstens einem von den ersten Bilddaten repräsentierten Bild des Objektbereichs repräsentieren, und ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den zweiten Bilddaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer.

[0065] Gemäß einer Merkmalskombination 24 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem, wobei das Mikroskopiesystem umfasst: eine Mikroskopieoptik mit einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich umfasst, der eine Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs enthält, eine Steuerung von über einem Schwellenwert liegenden Intensitäten in wenigstens einem von den ersten Bilddaten repräsentierten Bild des Objektbereichs repräsentieren, und eine Interferometrievorrichtung mit einem Strahlscanner zur Abtastung des Objektbereichs mit einem Analysestrahl in Abhängigkeit von den erzeugten Ortsdaten, und einem Strahlungsdetektor zur Gewinnung von Tiefenprofildaten welche eine aus dem Objekt zurückgeworfene Intensität an Analysestrahlung repräsentieren.

[0066] Gemäß einer Merkmalskombination 25 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 24, wobei die Steuerung die Interferometrievorrichtung derart ansteuert, dass diese die Tiefenprofildaten lediglich in dem wenigstens einen zusammenhängenden Bereich gewinnt.

[0067] Gemäß einer Merkmalskombination 26 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 24 oder 25, wobei die Interferometrievorrichtung eine Optische-Kohärenz-Tomographie-Vorrichtung umfasst.

[0068] Gemäß einer Merkmalskombination 27 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer der Merkmalskombinationen 24 bis 26, wobei die Mikroskopieoptik ferner einen zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs umfasst, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält.

[0069] Gemäß einer Merkmalskombination 28 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 27, ferner umfassend ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den Tiefenprofildaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer.

[0070] Gemäß einer Merkmalskombination 29 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer der Merkmalskombinationen 1 bis 28, wobei der erste Strahlengang wenigstens ein Okular zur Darstellung der Bilder umfasst.

[0071] Gemäß einer Merkmalskombination 30 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach der Merkmalskombination 29, wobei das Anzeigesystem die zweite Darstellung in den ersten Strahlengang zum Okular einkoppelt.

[0072] Gemäß einer Merkmalskombination 31 wird bereitgestellt ein Mikroskopiesystem nach einer der Merkmalskombinationen 1 bis 30, wobei der erste Strahlengang den Objektbereich auf 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.

[0073] Gemäß einer Merkmalskombination 32 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren zur Sichtbarmachung einer Fluoreszenz von Indocyaningrün, wobei das Verfahren umfasst: Anzeigen einer Darstellung eines ersten Bildes eines Objekts mit sichtbarem Licht für eine Betrachtung durch einen Benutzer, Aufnehmen eines zweiten Bildes eines Objekts mit Licht, welches Emissionswellenlängen von Indocyaningrün enthält, Anzeigen des zweiten Bildes in Überlagerung mit dem ersten Bild für die Betrachtung durch den Benutzer, und Beleuchten des Objekts mit wenigstens einem Lichtstrahl, der sichtbares Licht und Licht mit einer Anregungswellenlänge von Indocyaningrün enthält.

[0074] Gemäß einer Merkmalskombination 33 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren nach der Merkmalskombination 32, wobei der wenigstens eine Lichtstrahl von einer einzigen Lichtquelle erzeugt wird, die das sichtbare Licht und das Licht mit der Anregungswellenlänge von Indocyaningrün emittiert.

[0075] Gemäß einer Merkmalskombination 34 wird bereitgestellt ein 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.

[0076] Gemäß einer Merkmalskombination 35 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren umfassend: Beleuchten eines Objekts mit Licht mit Wellenlängen, die größer sind als eine Grenzwellenlänge, und Aufnehmen einer Folge von Bildern Objekts während der Beleuchtung des Objekts mit dem Licht der Wellenlängen, die größer sind als die Grenzwellenlänge, Beenden der Beleuchtung des Objekts mit dem Licht der Wellenlängen, die größer sind als die Grenzwellenlänge in Abhängigkeit von einer Analyse der aufgenommenen Folge von Bildern, und Beleuchten eines Objekts mit Licht mit Wellenlängen, die kleiner sind als die Grenzwellenlänge, und Anzeigen einer Darstellung des mit Licht mit Wellenlängen, die kleiner sind als die Grenzwellenlänge, beleuchteten Objekts für eine Betrachtung durch einen Benutzer und Anzeigen einer in Abhängigkeit von der aufgenommenen Folge von Bildern erzeugten Darstellung für die Betrachtung durch den Benutzer.

[0077] Gemäß einer Merkmalskombination 36 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren nach der Merkmalskombination 35, wobei dem Objekt zusammen mit dem Beleuchten mit dem Licht mit den Wellenlängen, die größer sind als die Grenzwellenlänge, ein Fluoreszenzfarbstoff verabreicht wird.

[0078] Gemäß einer Merkmalskombination 37 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren umfassend: Beleuchten eines zu beobachtenden Objekts mit Licht aus einem ersten Wellenlängenbereich, welcher sichtbares Licht umfasst, Erzeugen eines durch einen Benutzer betrachtbaren Abbilds des Objekts in dem ersten Wellenlängenbereich, Aufnehmen eines Bildes des Objekts mit Licht aus einem zweiten Wellenlängenbereich, welcher mit dem ersten Wellenlängenbereich höchstens teilweise überlappt, Analysieren des aufgenommenen Bildes und identifizieren wenigstens eines zusammenhängenden Bereichs in dem aufgenommenen Bild, in dem Intensitätswerte größer als ein Schwellwert sind, und Erzeugen eines durch den Benutzer betrachtbaren Abbilds eines Umfangs des wenigstens einen zusammenhängenden Bereichs in Überlagerung mit dem Abbilds des Objekts in dem ersten Wellenlängenbereich.

[0079] Gemäß einer Merkmalskombination 38 wird bereitgestellt ein Mikroskopieverfahren, umfassend: Aufnehmen eines Bildes eines Objektfeldes mit Licht, welches eine Anregungswellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs enthält, Analysieren des aufgenommenen Bildes und identifizieren wenigstens eines zusammenhängenden Bereichs in dem aufgenommenen Bild, in dem Intensitätswerte größer als ein Schwellwert sind, und Gewinnen von Tiefenprofildaten lediglich in einer in Abhängigkeit von dem wenigstens einen identifizierten zusammenhängenden Bereich bestimmten Analyseregion des Objektfeldes, wobei die Analyseregion kleiner als das Objektfeld ist.

[0080] 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.

[0081] 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 α 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.

[0082] 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.

[0083] 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 α 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.

[0084] 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.

[0085] 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 Mikroskopiesystems 1 angeregt wird.

[0086] 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.

[0087] Die Steuerung 35 bearbeitet ferner die an dem Bildschirm 51 der Anzeigevorrichtung 49 übertragene 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.

[0088] 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.

[0089] 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.

[0090] 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.

[0091] Eine Transmissionscharakteristik des Filters 84 ist in **Fig. 2b** als eine Kurve 89 eingetragen und in der nachfolgenden Tabelle 1 wiedergegeben:

Tabelle 1

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

[0092] 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 Gewebebereich 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 Gewebebereich 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.

[0093] 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[%]	λ [nm]
< 05	300 - 385
= 50	395 - 410
> 85	420 - 660
> 70	420 - 660
= 50	680 - 710
< 05	720 - 1180

[0094] 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.

[0095] 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.

[0096] Diese Möglichkeit der Darstellung eines Filmabschnitts von Infrarotbildern wird beispielsweise dann genutzt, wenn aus einer Beobachtung einer Einstromung des Fluoreszenzfarbstoffs in ein Gefäßsystem Rückschlüsse auf eine Struktur oder/und Funktion des Gefäßsystems möglich sind. Nach Abschluß des Einstromens 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 Einstromvorgang 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 Einstromung des Farbstoffs in die einzelnen Gefäße besonders gut merken. Durch die Möglichkeit der Speicherung der während des Einstromvorgangs 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.

[0097] 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.

[0098] 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.

[0099] 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 Bear-

beutung mit dem Schritt (S20) fort, wenn die Differenz der beiden Intensitäten größer ist als ein geeignet gewählter zweiter Schwellenwert. Dies wird zu Beginn des Einstromvorgangs 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 nende gespeichert, und es wird der Fluoreszenzaufnahmefilter 83 aus dem Strahl 74 entfernt und dafür der Wärmeschutzfilter 85 in diesen Strahl 74 eingeführt (S29).

[0100] 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.

[0101] 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.

[0102] 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.

[0103] 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.

[0104] In **Fig. 4** ist ein Strahlengang eines Mikroskopiesystems 1 schematisch dargestellt. Das Mikroskopiesystem 1 umfasst eine Mikroskopieoptik 3, welche ein Mikroskopieobjektiv 5 umfasst, welches aus mehreren Objektivlinsen 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 Mikroskopobjektiv 5 empfängt ein objektseitiges Strahlenbündel 8, welches als divergentes Strahlenbündel von einem Objektbereich 9 ausgeht, und überführt dieses in ein im Wesentlichen paralleles bildseitiges Strahlenbündel. In **Fig. 4** oberhalb des Mikroskopobjektivs 5 sind zwei schematisch dargestellte Zoomsysteme 12 und 13 angeordnet, welche aus dem parallelen bildseitigen Strahlenbündel jeweils ein Teilstrahlenbündel 14 bzw. 15 herausgreifen und jeweils einem Okular 16 bzw. 17 des Mikroskopiesystems 1 zuführen. In die Okulare 16 und 17 kann ein Benutzer mit dem rechten bzw. linken Auge einblicken und ein vergrößertes scharfes Bild des Objektbereichs 9 erhalten. Zur Erzeugung des scharfen Bilds des Objektbereichs 9 wird sichtbares Licht verwendet. Hierzu wird der Objektbereich 9 auch mit sichtbarem Licht beleuchtet, wozu eine Beleuchtungseinrichtung 63a vorgesehen ist, welche eine Xenonlampe 71a und strahlformende Linsen 73a und 75a umfasst.

[0105] Eine Kamera 38 ist vorgesehen, um ein im Wesentlichen scharfes Bild des Objektbereichs 9 mit sichtbarem Licht aufzunehmen. Hierzu umfasst die Kamera 38 einen CCD-Kamerachip 43a, dessen lichtempfindliche Fläche in einer Bildebene 44 angeordnet ist. Mit einem Strahlteiler 37a wird aus dem Teilstrahlenbündel 14 ein Strahl 39 ausgekoppelt und einer Kameraadapteroptik 41 zugeführt, welche den Strahl 39 derart überführt, dass in der Bildebene 44 das scharfe Abbild des Objektbereichs 9 mit sichtbarem Licht entsteht. Von der Kamera 38 erzeugte Bilder können für Dokumentationszwecke verwendet werden oder auch durch Anzeigevorrichtungen dargestellt werden, welche den Objektbereich 9 für Benutzer sichtbar machen, welche nicht unmittelbar Einblick in die Okulare 16, 17 des Mikroskopiesystems 1 nehmen können. Insbesondere

können die Bilder der Kamera 38 durch eine am Kopf eines Benutzers getragene Anzeigevorrichtung („head mounted display“) dargestellt werden.

[0106] Eine Kamera 54 ist vorgesehen, um Bilder des Objektbereichs 9 im Infrarotwellenlängenbereich aufzunehmen. Hierzu umfasst die Kamera 54 einen Kamerachip 55a, dessen lichtempfindliche Fläche in einer Bildebene 56 angeordnet ist, und eine Kameraadapteroptik 53, welche einen mittels eines Strahlteilers 21 aus dem Teilstrahlenbündel 15 ausgekoppelten Strahl 23a dem CCD-Kamerachip 55a zuführt. Die Kameraadapteroptik 53 ist dabei so ausgelegt, dass für infrarotes Licht in der Bildebene 56 ein im Wesentlichen scharfes Bild des Objektbereichs 9 entsteht. Damit unterscheiden sich die Kameras 38 und 54 dadurch, dass die Kamera 38 für sichtbares Licht ein im Wesentlichen scharfes Bild des Objektbereichs 9 erzeugt und die Kamera 54 für infrarotes Licht, nämlich Licht aus dem Wellenlängenbereich zwischen 820 nm und 870 nm, ein im Wesentlichen scharfes Bild des Objektbereichs 9 erzeugt.

[0107] Vor der Kamera 54 ist in dem Strahl 23a noch ein Filter 57a 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.

[0108] Hierbei kann der Strahlteiler 21 auch derart beschichtet sein, dass er lediglich infrarotes Licht ablenkt.

[0109] Von der Kamera 54 ausgelesene Bilder werden von einer Steuerung bzw. einem Rechner 35 eingelesen.

[0110] Ist in dem Objektbereich 9 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 16, 17 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.

[0111] Ein Beispiel für ein von der Kamera 54 aufgenommenes und der Steuerung 35 zugeführtes Bild ist in **Fig. 5a** schematisch dargestellt. Ein größter Bereich 101 eines Gesichtsfelds 103 des Bildes weist eine sehr geringe Intensität auf. Ein Bereich 105 weist eine etwas höhere Intensität auf, und zwei Bereiche 107, 109 weisen eine noch etwas höhere Intensität auf. Innerhalb des Bereichs 107 ist ein Bereich 111 angeordnet, der eine noch größere Intensität an Infrarotstrahlung zeigt.

[0112] Es sei angenommen, dass die Bereiche 109 und 111 mit höherer Infrarotintensität Blutgefäßen zugeordnet sind, während der Bereich 101 umliegendem Lebergewebe zugeordnet ist. Der Bereich 105 weist zwar eine geringe Infrarotintensität auf, sei jedoch kein Blutgefäß sondern lediglich geringfügig mit dem Fluoreszenzfarbstoff angereichertes Lebergewebe.

[0113] Das Mikroskopiesystem 1 umfasst ferner eine Anzeigevorrichtung 66 mit einem in einer Ebene 69' angeordneten LCD-Chip 69, dessen Bild über eine Projektionsoptik 70 und einen Strahlteiler 68 in das Teilstrahlenbündel 15 eingekoppelt wird, so dass der Benutzer in dem Okular 17 eine Überlagerung aus dem Bild des Objektbereichs 9 in sichtbarem Licht und der von der Anzeigevorrichtung 66 erzeugten Darstellung erhalten kann. Die Steuerung 35 kann nun auf der Anzeigevorrichtung 66 das von der Kamera 54 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.

[0114] Allerdings würde die Überlagerung des normalen Mikroskopbilds durch das Bild gemäß **Fig. 5a** dazu führen, dass die Bereiche 105, 107 und 109 die Betrachtung des Objekts im sichtbaren Bereich stören, da die Bereiche 105, 107, 109 mit dem sichtbaren Bereich flächig überlagert sind. Deshalb führt die Steuerung 35 eine Analyse des von der Kamera 54 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 105 niedriger ist als der Schwellwert und die Intensitäten in den Bereichen 109 und 111 höher sind als der Schwellwert.

[0115] Nach der Ermittlung der zusammenhängenden Bereiche, deren Intensitäten den Schwellwert überschreiten, ermittelt die Steuerung 35 Umrisslinien dieser zusammenhängenden Bereiche, das heißt diejenigen Linien, welche die zusammenhängenden Bereiche gegenüber deren Umgebung abgrenzen. Diese Umrisslinien bringt die Steuerung 35 auf der Anzeigevorrichtung 66 zur Anzeige. Das angezeigte Bild wird wie vorangehend beschrieben in den Strahlengang des Mikroskopiesystems eingekoppelt und erzeugt dann im Bildfeld 103 ein Bild, wie es in **Fig. 5b** dargestellt ist. Darin sind lediglich die Umrisslinien 113 der Bereiche 107 und 109 in **Fig. 5a** beispielsweise durch die Darstellung in blauer Farbe hervorgehoben. Damit wird dem Benutzer die Information vermittelt, dass innerhalb der Umrisslinien 113 Blutgefäße angeordnet sind, wobei die Betrachtung der Blutgefäße selbst, also die Betrachtung der Bereiche 109, 111, wie gewohnt erfolgen kann und der Benutzer beispielsweise operative Eingriffe daran unter ungehinderter Betrachtung auf die Blutgefäße durchführen kann.

[0116] Im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung 63a ist ein Filter 84a angeordnet, welcher Licht mit der Emissionswellenlänge des Farbstoffs, welches von der Strahlungsquelle 71a ebenfalls emittiert wird, blockiert, so dass solches Licht nicht auf das Objekt fällt. Dadurch wird ein Intensitätsuntergrund in dem von der Kamera 54 gewonnenen Bild reduziert.

[0117] Ferner ist im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung 63a noch ein Filterrad 86 angeordnet, welches von einem von der Steuerung 35 kontrollierten Motor 87 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 86 gleichermaßen transparent. In dem Bereich zwischen 750 nm und 820 nm liegt die Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs Indocyaningrün. Durch Drehen des Filterrads 86 wird somit die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffs zeitlich moduliert.

[0118] Entsprechend sind auch die von der Kamera 54 gewonnenen Fluoreszenzbilder zeitlich intensitätsmoduliert, und die Steuerung 35 kann die Zeitabhängigkeit des Fluoreszenzbilds, beispielsweise nach Art eines lock-in-Verfahrens, nutzen, um den Untergrund in dem Fluoreszenzbild weiter zu reduzieren.

[0119] Eine Variante zu der vorangehend beschriebenen Beleuchtungsanordnung ist in **Fig. 4** mit gestrichelten Linien dargestellt. Bei dieser Beleuchtungseinrichtung 63b ist mit dem Bezugszeichen 71b eine von der Strahlungsquelle 71a separate Strahlungsquelle symbolisiert, welche zur Beleuchtung der Objektebene mit sichtbarem Licht vorgesehen ist, während die Beleuchtungseinrichtung 63a lediglich zur Beleuchtung des Objektbereichs 9 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 Filterrads 86 nicht die Beleuchtung im sichtbaren Wellenlängenbereich modulieren, was unter Umständen den Benutzer stören könnte. Im Strahlengang der Beleuchtungseinrichtung 63b ist noch ein Filter 84b vorgesehen, welcher für Licht sowohl der Anregungswellenlänge als auch der Emissionswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs nicht transparent ist.

[0120] 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 den Objektbereich 9 zu richten und dort an einem Ort zu fokussieren. Der Scanner 260 wird von der Steuerung 35 angesteuert, um die Orte, auf die der Analyselichtstrahl 205 in dem Objektbereich 9 gerichtet ist, auszuwählen und zu ändern. Die OCT-Vorrichtung 200 nimmt dann ein Tiefenprofil des Objekts an dem ausgewählten Ort in dem Objektbereich 9 auf und übermittelt das Tiefenprofil an die Steuerung 35.

[0121] 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.

[0122] 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 einge-

koppelt, 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-DigitalWandler 295 in eine durch einen Computer zur Analyse verwertbare Form umgewandelt und an die Steuerung 35 ausgegeben.

[0123] 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.

[0124] Die Steuerung 35 steuert den Strahlscanner 260 an, um an verschiedenen Orten des Objekts 255 Tiefenprofile zu gewinnen. Allerdings beschränkt die Steuerung 35 die Aufnahme von den Tiefenprofilen auf die Bereiche bzw. Analyseregionen, die durch die Steuerung 35 vorab bestimmt wurden, und die in **Fig. 5b** mit 109 und 111 bezeichnet sind. Dort nimmt die Steuerung Tiefenprofile entlang mehrerer Linien 211 auf, welche entlang von Geraden 213 innerhalb der Bereiche 109, 111 verlaufen, wobei die Geraden sich im Bildfeld 103 vertikal und mit einem vorbestimmten Abstand voneinander erstrecken. Die somit entlang der Linien 211 gewonnen 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 109, 111 auswählen, dessen Tiefenprofile auf dem Bildschirm 207 nicht dargestellt werden sollen.

[0125] Es ist jedoch auch möglich, einzelne der Tiefenprofile über die Anzeigevorrichtung 66 in den Okularstrahlengang des Mikroskops einzublenden, so dass der Benutzer das Tiefenprofil auch beim Einblick in das Mikroskop wahrnehmen kann.

[0126] 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 den Objektbereich 9 direkt beobachtet und der Wellenlängenbereich, in dem die Kamera 54 ein Bild des Objekts aufnimmt, voneinander separierbar sind. Zur Separation werden die vorangehend beschriebenen Filter 57a, 84a und 84b eingesetzt, welche auf den verwendeten Farbstoff abgestimmt sind.

[0127] 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.

[0128] Es ist auch möglich, die von der Anzeigevorrichtung 66 erzeugte Darstellung nicht in das Teilstrahlenbündel 15 sondern in das andere Teilstrahlenbündel 14 einzukoppeln. Ferner ist es möglich, mit Hilfe der Anzeigevorrichtung 66 neben dem Fluoreszenzbild noch weitere Daten oder Informationen in das vom Benutzer wahrgenommene Bild des Objekts aufzunehmen.

[0129] Auch müssen die Umrisslinien 113 nicht als durchgezogene Linien dargestellt sein. Es ist auch eine Darstellung als unterbrochene Linie, wie etwa gestrichelt, strichpunktirt, gepunktet usw., möglich.

Patentansprüche

1. Mikroskopiesystem, wobei das Mikroskopiesystem umfasst:
 - eine Mikroskopieoptik mit
 - einem ersten Strahlengang zur optischen Abbildung eines Objektbereichs (9) auf eine Lichtdetektionseinheit einer ersten Kamera (54) zur Erzeugung von ersten Bilddaten, welche Bilder des Objektbereichs mit

Licht repräsentieren, welches Wellenlängen aus einem ersten Wellenlängenbereich umfasst, der eine Emissionswellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs enthält,

- eine Steuerung (35), welche dazu ausgebildet ist, Ortsdaten zu erzeugen, welche wenigstens einen zusammenhängenden Bereich (107, 109) von über einem Schwellenwert liegenden Intensitäten in wenigstens einem von den ersten Bilddaten repräsentierten Bild des Objektbereichs repräsentieren, und
- eine Interferometrievorrichtung (200) mit einem Strahlscanner (260) zur Abtastung des Objektbereichs mit einem Analysestrahl (205) in Abhängigkeit von den erzeugten Ortsdaten und einem Strahlungsdetektor zur Gewinnung von Tiefenprofildaten, welche eine aus dem Objekt zurückgeworfene Intensität an Analysestrahlung repräsentieren.

2. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1, wobei die Steuerung die Interferometrievorrichtung derart ansteuert, dass diese die Tiefenprofildaten lediglich in dem wenigstens einen zusammenhängenden Bereich gewinnt.

3. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Interferometrievorrichtung eine Optische-Kohärenz-Tomographie-Vorrichtung umfasst.

4. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Mikroskopieoptik ferner einen zweiten Strahlengang zur Bereitstellung einer vergrößerten ersten Darstellung des Objektbereichs umfasst, wobei die erste Darstellung Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentiert, welches Wellenlängen aus wenigstens einem sichtbares Licht umfassenden zweiten Wellenlängenbereich enthält.

5. Mikroskopiesystem nach Anspruch 4, ferner umfassend ein Anzeigesystem zur Anzeige einer aus den Tiefenprofildaten erzeugten zweiten Darstellung in Überlagerung mit der ersten Darstellung für eine Betrachtung durch einen Benutzer.

6. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei der erste Strahlengang wenigstens ein Okular zur Darstellung der Bilder umfasst.

7. Mikroskopiesystem nach Anspruch 6, wobei das Anzeigesystem die zweite Darstellung in den ersten Strahlengang zum Okular einkoppelt.

8. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der erste Strahlengang den Objektbereich auf wenigstens eine Lichtdetektionseinheit einer zweiten Kamera zur Erzeugung von zweiten Bilddaten abbildet, welche Bilder des Objektbereichs mit Licht repräsentieren, und wobei die zweite Darstellung durch das Anzeigesystem angezeigt wird.

9. Mikroskopieverfahren, umfassend:

- Aufnehmen eines Bildes eines Objektbereichs mit Licht, welches eine Anregungswellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs enthält,
- Analysieren des aufgenommenen Bildes und identifizieren wenigstens eines zusammenhängenden Bereichs in dem aufgenommenen Bild, in dem Intensitätswerte größer als ein Schwellwert sind, und
- Gewinnen von Tiefenprofildaten lediglich in einer in Abhängigkeit von dem wenigstens einen identifizierten zusammenhängenden Bereich bestimmten Analyseregion des Objektbereichs, wobei die Analyseregion kleiner als der Objektbereich ist.

Es folgen 5 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

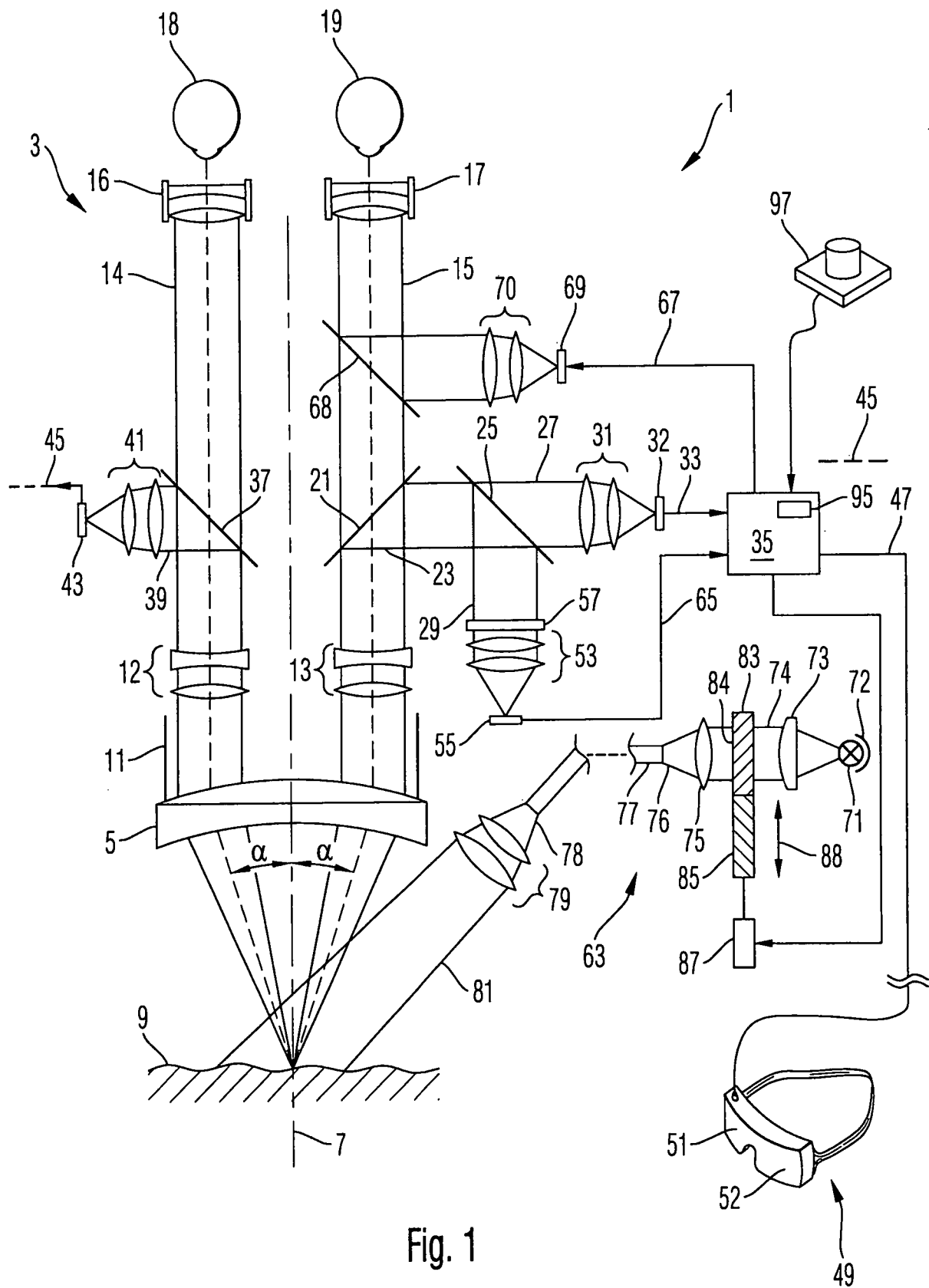


Fig. 2a

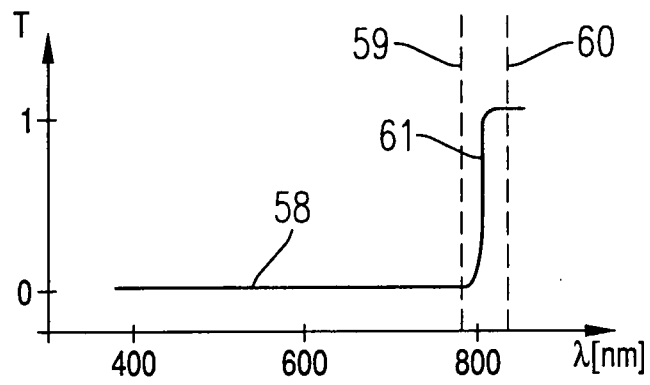


Fig. 2b

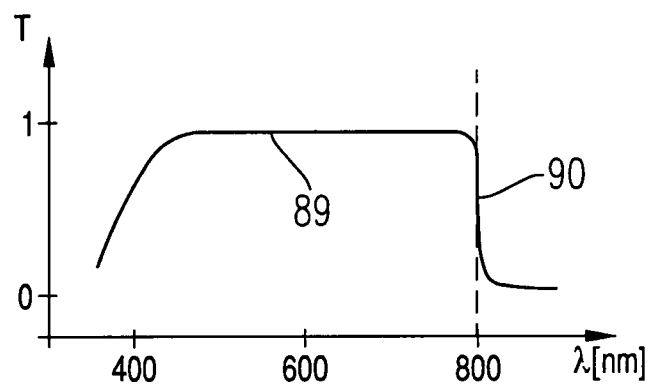


Fig. 2c

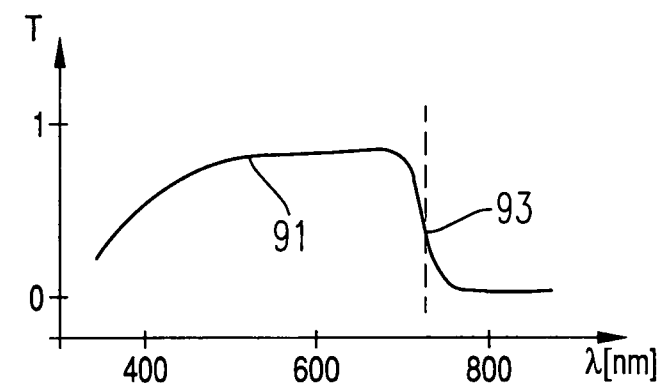
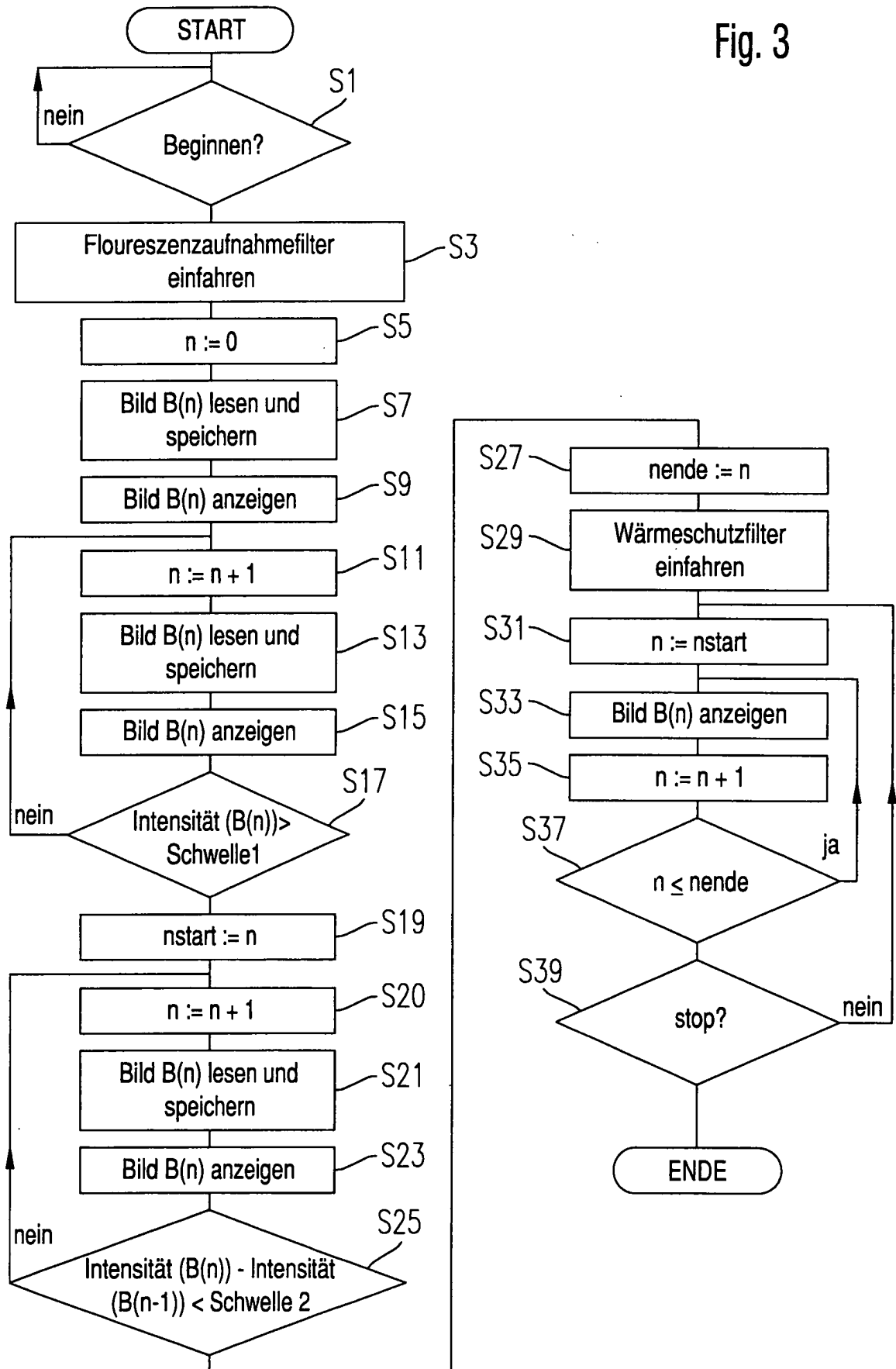


Fig. 3



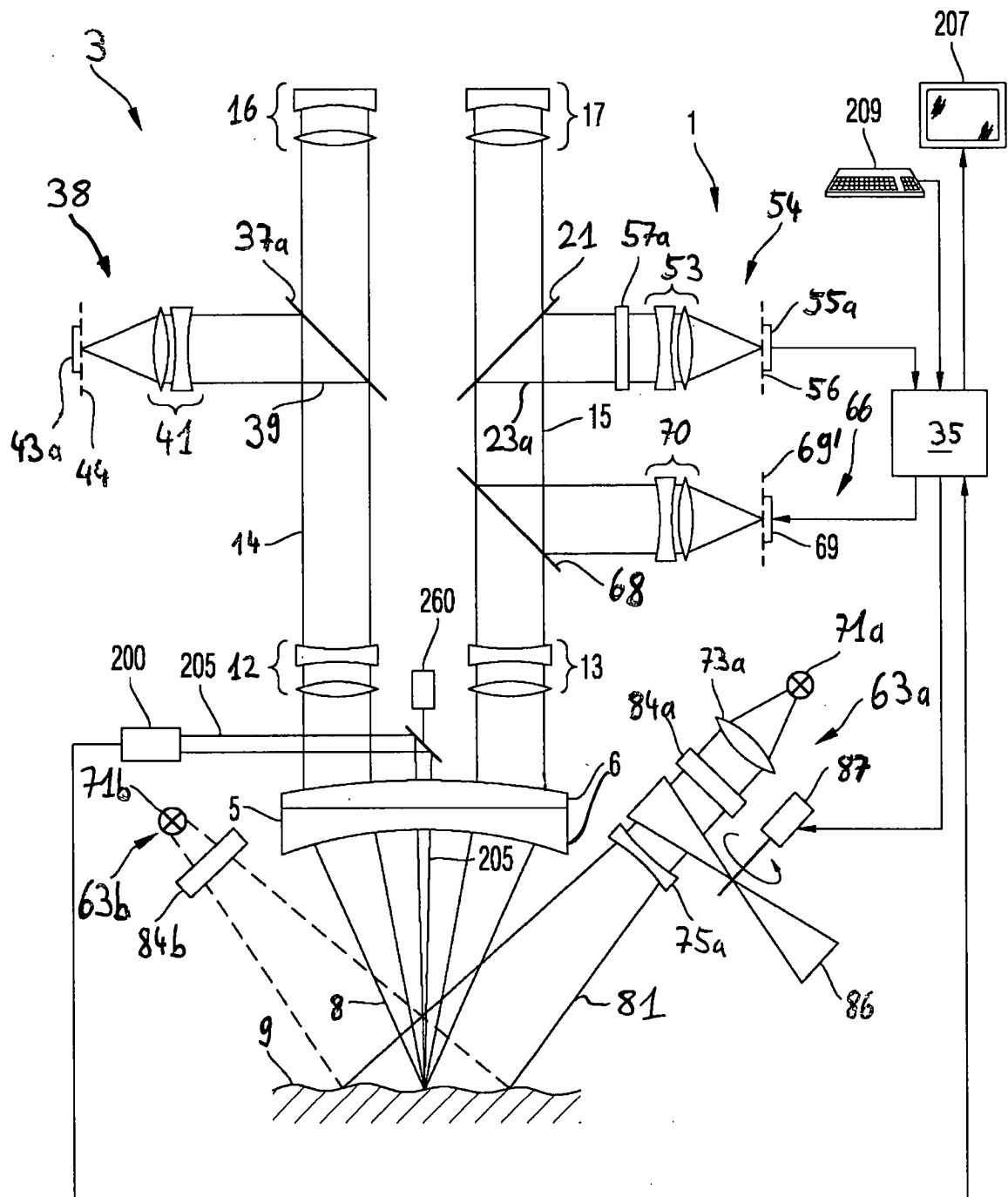


Fig. 4

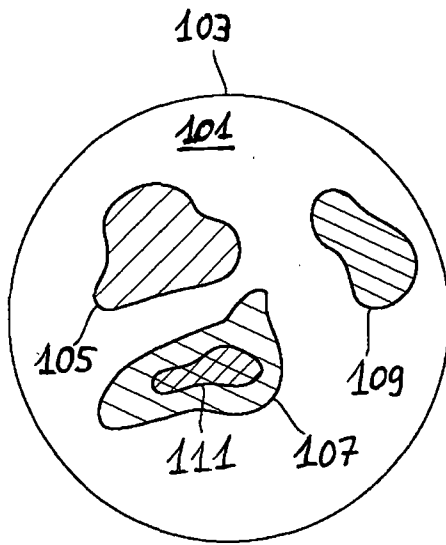


Fig. 5a

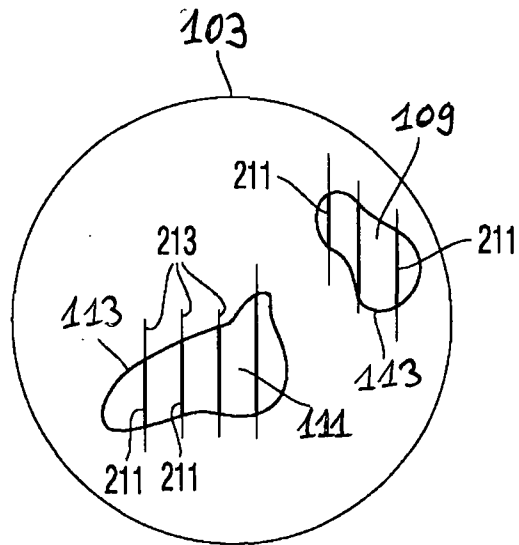


Fig. 5b

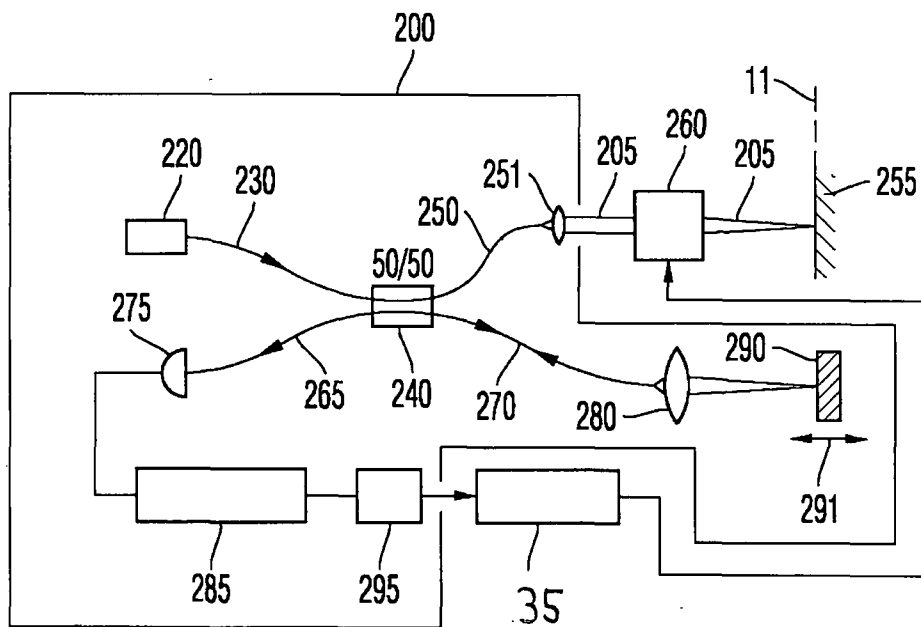


Fig. 6