



(10) **DE 10 2015 216 570 A1** 2016.11.03

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2015 216 570.1**
 (22) Anmeldetag: **31.08.2015**
 (43) Offenlegungstag: **03.11.2016**

(51) Int Cl.: **G01N 21/64** (2006.01)
G02B 21/18 (2006.01)

(71) Anmelder:
Carl Zeiss Meditec AG, 07745 Jena, DE; Carl Zeiss AG, 73447 Oberkochen, DE

(72) Erfinder:
Nieten, Christoph, Dr., 07745 Jena, DE; Geißler, Enrico, 07749 Jena, DE; Wicker, Kai, Dr., 07743 Jena, DE; Regensburger, Alois, 91058 Erlangen, DE

(56) Ermittelte Stand der Technik:

DE 103 36 890 A1
DE 103 39 784 A1
DE 10 2005 005 253 A1
DE 10 2006 006 014 A1
DE 10 2008 034 008 A1

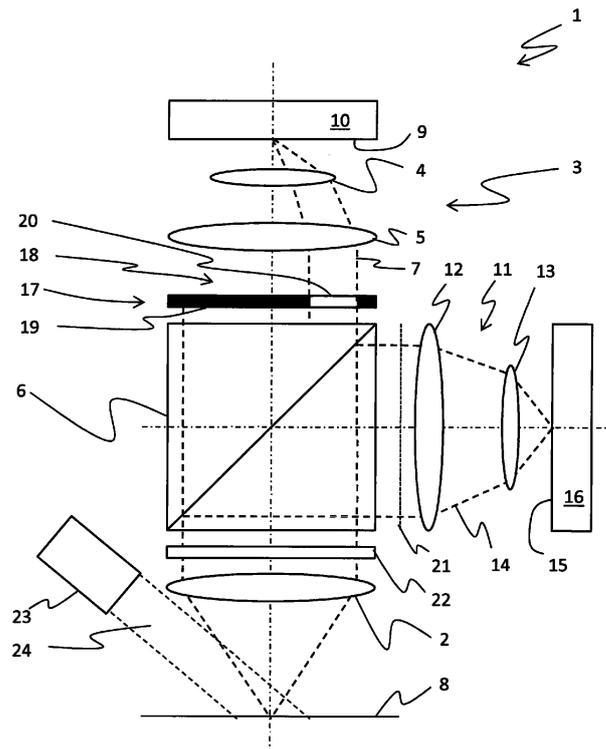
DE 10 2008 062 650 A1
DE 10 2010 026 171 A1
DE 10 2010 033 825 A1
DE 10 2010 044 502 A1
DE 10 2010 044 503 A1
DE 10 2011 010 262 A1
DE 10 2014 008 243 A1
DE 10 2014 016 850 A1
US 8 659 651 B2
US 2004 / 0 109 231 A1
US 2010 / 0 182 418 A1
US 2013 / 0 307 953 A1
EP 2 075 616 A1
WO 2005/ 034 747 A1
WO 2007/ 085 496 A1
JP 2004- 163 413 A
JP 2007- 122 048 A

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Mikroskopiesystem**

(57) Zusammenfassung: Mikroskopiesystem 1 mit einer Bildaufnahmevorrichtung 16, 27, die zur Aufnahme eines Bilds in einem Wellenlängenbereich eingerichtet ist, der eine Fluoreszenzwellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, und mit einem optischen System 2, 3, 11, 28, 29, durch das ein erster Beobachtungsstrahlengang 7, 32 und ein zweiter Beobachtungsstrahlengang 14, 42 definiert ist. Der erste Beobachtungsstrahlengang 7, 32 ist derart eingerichtet, dass ein Objekt in einer Objektebene 8 des optischen Systems in einem sichtbaren Wellenlängenbereich in eine Bildebene abgebildet ist, und der zweite Beobachtungsstrahlengang 14, 42 ist derart eingerichtet, dass das Objekt in dem Wellenlängenbereich, der die Fluoreszenzwellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, in eine Aufnahmeebene 9, 33 der Bildaufnahmevorrichtung abgebildet ist. Erfindungsgemäß ist das optische System derart ausgeführt, dass ein größtes Strahlenbündel, das eine zweite Pupillenebene 21, 35 im zweiten Beobachtungsstrahlengang 14, 42 durchtritt, größer ist als ein größtes Strahlenbündel, das eine erste Pupillenebene 17, 35 im ersten Beobachtungsstrahlengang 7, 32 durchtritt.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Mikroskopiesystem mit einer Bildaufnahmevorrichtung, die zur Aufnahme eines Bilds in einem Wellenlängenbereich eingerichtet ist, der eine Fluoreszenzwellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs umfasst. Das Mikroskopiesystem beinhaltet ein optisches System, durch das ein erster Beobachtungsstrahlengang und ein zweiter Beobachtungsstrahlengang definiert ist. Der erste Beobachtungsstrahlengang ist derart eingerichtet, dass ein Objekt in einer Objektebene des optischen Systems in einem sichtbaren Wellenlängenbereich in eine Bildebene abgebildet ist. Der zweite Beobachtungsstrahlengang ist derart eingerichtet, dass das Objekt in dem Wellenlängenbereich, der die Fluoreszenzwellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, in eine Aufnahmeebene der Bildaufnahmevorrichtung abgebildet ist.

[0002] Digitale Bildaufnahmevorrichtungen wurden in den letzten Jahren im Hinblick auf Empfindlichkeit, Geschwindigkeit und Pixelzahl immer weiter fortentwickelt. Nicht zuletzt aufgrund der gesunkenen Herstellungskosten haben digitale Bildaufnahmevorrichtungen mittlerweile in vielen Anwendungsfeldern Einzug gehalten, in denen bisher stets rein analoge Systeme verwendet wurden. Für eine Anwendung einer digitalen Bildaufnahmevorrichtung in einem Mikroskopiesystem in Form eines Operationsmikroskops besteht die besondere Herausforderung, dass der digitale Bildeindruck einer dargestellten Operationsszene dem Bildeindruck entsprechen muss, den ein Chirurg aus einem klassischen, rein optischen System kennt, da der Chirurg auf Basis seiner Erfahrung und der dargestellten Operationsszene Entscheidungen über den Eingriff treffen muss. Als relevante Kriterien für den Bildeindruck sind hier beispielsweise Farbtreue, Auflösung aber auch Latenz zu nennen. Eine zusätzliche Herausforderung ergibt sich, wenn neben einem visuellen Bild auch ein Fluoreszenzbild für die Bewertung einer Operationsszene verwendet werden soll.

[0003] Aus der DE 10 2010 026 171 A1 ist ein digitales Mikroskopiesystem bekannt, das ein Zoomgruppe mit mindestens zwei bewegbaren Zoomkomponenten umfasst. Zwischen den bewegbaren Zoomkomponenten ist ein Blendenvorrichtung in Form eines Shutters angeordnet, die sich für alle Vergrößerungen der Zoomgruppe in einem Blendenbereich um einen Ort einer Pupillenebene des Mikroskopiesystems befindet. Durch Öffnen und Schließen verschiedener Teilflächen der Blendenvorrichtung lassen sich verschiedene Beobachtungsstrahlengänge, in der DE 10 2010 026 171 A1 als Stereokanäle bezeichnet, sequentiell auswählen. Dabei ist es möglich, durch gleichzeitiges Öffnen aller Teilflächen des Shutters einen Beobachtungsstrahlengang auszuwählen, durch den ein monoskopisches Einzelbild

erzeugt wird. Eine Kamera zur Aufnahme eines Fluoreszenzbilds ist in der DE 10 2010 026 171 A1 nicht offenbart.

[0004] Aus der DE 10 2005 005 253 A1 sind verschiedene Mikroskopiesysteme bekannt, die jeweils eine Kamera zur Aufnahme eines Bilds in einem Fluoreszenzwellenlängenbereich umfassen. In einem ersten Ausführungsbeispiel umfasst das Mikroskopiesystem ein optisches System mit einem Hauptobjektiv und mehrere TeiLOPTIKEN, durch die verschiedene Beobachtungsstrahlengänge von einem Objekt zu den rechten und linken Augen eines Haupt- und eines Nebenbeobachters definiert sind. In einem zu einem Auge des Nebenbeobachters führenden Strahlengang ist ein Rhomboidprisma angeordnet, dessen Hauptfläche als dichroitischer Strahlteiler ausgeführt ist. Licht, welches von dem Objekt ausgeht und auf das Rhomboidprisma auftrifft, wird an der Hauptfläche in einen sichtbares Licht umfassenden Wellenlängenbereich und in einen die Fluoreszenzwellenlänge umfassenden Wellenlängenbereich aufgeteilt. Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich wird nachfolgend dem Auge des Nebenbeobachters zugeführt, und Licht im Fluoreszenzwellenlängenbereich wird zur Kamera weitergeleitet.

[0005] In einem zweiten Ausführungsbeispiel der DE 10 2005 005 253 A1 ist in einem Hauptbeobachter-Strahlengang ein Strahlteiler angeordnet, der sowohl Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich als auch Licht in dem die Fluoreszenzwellenlänge umfassenden Wellenlängenbereich transmittiert und reflektiert. Das reflektierte Licht wird zwei TeiLOPTIKEN zugeführt, durch die die Nebenbeobachter-Strahlengänge definiert sind. In den Nebenbeobachter-Strahlengängen ist ein weiterer Strahlteiler angeordnet, der so ausgelegt ist, dass sichtbares Licht den Strahlteiler passiert und Licht im Fluoreszenzwellenlängenbereich reflektiert wird. Im reflektierten Strahl ist nachfolgend eine Kamera zur Aufnahme eines Bilds im Fluoreszenzwellenlängenbereich angeordnet.

[0006] Nachteilig an den aus der DE 10 2005 005 253 A1 bekannten Mikroskopiesystemen ist, dass das Fluoreszenzlicht eine geringe Intensität aufweist, so dass eine effiziente Detektion schwierig ist.

[0007] Demgemäß ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Mikroskopiesystem mit einer Bildaufnahmevorrichtung zur Aufnahme eines Bilds in einem Fluoreszenzwellenlängenbereich bereitzustellen, das sich durch eine verbesserte Detektion des Fluoreszenzlichts auszeichnet.

[0008] Die Aufgabe wird gelöst durch ein Mikroskopiesystem mit den Merkmalen des Anspruchs 1. Erfindungsgemäß ist das optische System derart ausgeführt, dass ein größtes Strahlenbündel, das ei-

ne zweite Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang durchtritt, größer ist als ein größtes Strahlenbündel, das eine erste Pupillenebene im ersten Beobachtungsstrahlengang durchtritt.

[0009] Unter einer Pupillenebene im Sinne der vorliegenden Erfindung ist dabei eine Ebene zu verstehen, die quer zu einer optischen Achse des optischen Systems angeordnet ist und die eine Gerätepupille umfasst. Eine Gerätepupille ist dabei allgemein als ein Ort definiert, an dem sich Hauptstrahlen, die von verschiedenen Punkten in der Objektebene des optischen Systems ausgehen, schneiden. Ein Hauptstrahl eines Punktes in der Objektebene ist repräsentativ für das von dem Punkt in der Objektebene ausgehende Lichtbündel und kann beispielsweise als energetisches Mittel aller Strahlen, die von dem Punkt ausgehen und das optische System in einem Beobachtungsstrahlengang von der Objektebene bis zur Bildebene durchlaufen, definiert sein.

[0010] Durch die Ausgestaltung des optischen Systems derart, dass ein größtes Strahlenbündel, das eine zweite Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang durchtritt, größer ist als ein größtes Strahlenbündel, das eine erste Pupillenebene im ersten Beobachtungsstrahlengang durchtritt, ist sichergestellt, dass ein vergleichsweise großer Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts zur Bildaufnahmevorrichtung geleitet wird, wodurch die Detektion des Fluoreszenzlichts erleichtert ist. Insbesondere ist bei dem erfindungsgemäßen Mikroskopiesystem ein Verhältnis aus der Intensität des Fluoreszenzlichts (im zweiten Beobachtungsstrahlengang) und der Intensität des Lichts im sichtbaren Wellenlängenbereich (im ersten Beobachtungsstrahlengang) größer als bei den bekannten Mikroskopiesystemen, bei denen die Strahlenbündel des Fluoreszenzlichts und die Strahlenbündel des sichtbaren Lichts dieselbe Pupillenebene durchlaufen und gleich groß ausgebildet sind.

[0011] In einer Weiterbildung der Erfindung umfasst das Mikroskopiesystem eine weitere Bildaufnahmevorrichtung, die in der Bildebene des ersten Beobachtungsstrahlengangs angeordnet und zur Aufnahme eines Bilds des Objekts im sichtbaren Wellenlängenbereich eingerichtet ist. Das optische System beinhaltet ferner einen Strahlteiler, der derart ausgestaltet und in dem optischen System angeordnet ist, dass der erste Beobachtungsstrahlengang durch den Strahlteiler geführt und der zweite Beobachtungsstrahlengang am Strahlteiler reflektiert ist oder umgekehrt. Auf diese Weise ist ein Teil des ersten Beobachtungsstrahlengangs, der sich von dem Strahlteiler bis zur Bildebene erstreckt, räumlich getrennt von einem Teil des zweiten Beobachtungsstrahlengangs, der sich von dem Strahlteiler bis zur Bildaufnahmevorrichtung erstreckt. Bevorzugt ist der Strahlteiler als dichroitischer Strahlteiler ausgeführt, so dass ei-

ne Trennung des einfallenden Lichts in einen Anteil, der sichtbares Licht umfasst, und in einen Anteil, der den Fluoreszenzwellenlängenbereich umfasst, ermöglicht ist. Weiter bevorzugt sind die erste Pupillenebene und die zweite Pupillenebene in den räumlich voneinander getrennten Teilen der jeweiligen Beobachtungsstrahlengänge angeordnet. Der Vorteil dieser Weiterbildung ist darin zu sehen, dass das im zweiten Beobachtungsstrahlengang erzeugte Bild des Objekts im Fluoreszenzwellenlängenbereich gleichzeitig mit dem im ersten Beobachtungsstrahlengang erzeugten Bild des Objekts im sichtbaren Wellenlängenbereich aufgenommen, betrachtet und/oder detektiert werden kann.

[0012] In einer Weiterbildung der Erfindung ist das optische System derart ausgebildet, dass die erste Pupillenebene im ersten Beobachtungsstrahlengang mit der zweiten Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang zusammenfällt, so dass eine gemeinsame Pupillenebene gebildet ist. In der gemeinsamen Pupillenebene ist eine schaltbare Blendenvorrichtung angeordnet, die in einen ersten Betriebszustand und einen zweiten Betriebszustand versetzbar ist, wobei in dem ersten Betriebszustand der Blendenvorrichtung eine erste Transmissionsfläche in der gemeinsamen Pupillenebene angeordnet ist, die der erste Beobachtungsstrahlengang durchtritt, und in dem zweiten Betriebszustand der Blendenvorrichtung eine zweite Transmissionsfläche in der gemeinsamen Pupillenebene angeordnet ist, die der zweite Beobachtungsstrahlengang durchtritt. Die zweite Transmissionsfläche ist größer ausgeführt als die erste Transmissionsfläche. Diese Ausgestaltungsform der Erfindung zeichnet sich dadurch aus, dass der erste Beobachtungsstrahlengang und der zweite Beobachtungsstrahlengang zumindest weitgehend durch dieselben optischen Elemente geführt sind, so dass eine kompakte Ausgestaltung des Mikroskopiesystems ermöglicht ist. Die Betrachtung beziehungsweise Detektion des Bilds des Objekts im sichtbaren Wellenlängenbereich über den ersten Beobachtungsstrahlengang und des Bilds des Objekts im Fluoreszenzwellenlängenbereich über den zweiten Beobachtungsstrahlengang erfolgt dabei sequentiell. Durch die unterschiedlichen Größen der Transmissionsflächen ist sichergestellt, dass das größtes Strahlenbündel, das die gemeinsame Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang durchtritt, größer ist als das größtes Strahlenbündel, das die gemeinsame Pupillenebene im ersten Beobachtungsstrahlengang durchtritt. Damit passiert ein vergleichsweise großer Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts die gemeinsame Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang, und das Fluoreszenzlicht weist eine vergleichsweise große Intensität auf, so dass die Detektion erleichtert ist.

[0013] In einer Weiterbildung der Erfindung ist die Bildaufnahmevorrichtung zusätzlich zur Aufnahme

des Bilds in dem Wellenlängenbereich, der die Fluoreszenzwellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, auch zur Aufnahme eines Bilds im sichtbaren Wellenlängenbereich ausgebildet. Der erste Beobachtungsstrahlengang ist derart eingerichtet, dass das Objekt in dem sichtbaren Wellenlängenbereich in die Aufnahmeebene der Bildaufnahmevorrichtung abgebildet ist. Es können also mit einer einzigen Bildaufnahmevorrichtung sowohl Bilder im Fluoreszenzwellenlängenbereich als auch im sichtbaren Wellenlängenbereich aufgenommen werden, wodurch das Mikroskopiesystem kompakt ausgestaltet werden kann.

[0014] In einer Weiterbildung der Erfindung ist durch das optische System ein dritter Beobachtungsstrahlengang definiert, der derart eingerichtet ist, dass das Objekt im sichtbaren Wellenlängenbereich in die Bildebene abgebildet ist. Die Blendenvorrichtung ist in einen dritten Betriebszustand versetzbar, in dem eine dritte Transmissionsfläche in der gemeinsamen Pupillenebene angeordnet ist, die der dritte Beobachtungsstrahlengang durchtritt. Dabei ist die dritte Transmissionsfläche im dritten Betriebszustand an einem anderen Ort in der gemeinsamen Pupillenebene angeordnet ist als die erste Transmissionsfläche im ersten Betriebszustand, so dass durch die erste Transmissionsfläche und die dritte Transmissionsfläche eine Stereobasis beziehungsweise eine Stereoperspektive in der gemeinsamen Pupillenebene definiert ist. Damit können im ersten Betriebszustand und im dritten Betriebszustand mit der Bildaufnahmevorrichtung Bilder im sichtbaren Wellenlängenbereich aus unterschiedlichen Perspektiven aufgenommen werden. Durch Wiedergabe und Betrachtung der Bilder auf einer entsprechend eingerichteten Bildwiedergabeeinheit kann ein stereoskopischer Bildeindruck vermittelt werden.

[0015] In einer Weiterbildung der Erfindung umfasst das Mikroskopiesystem eine Steuerungseinrichtung zur Ansteuerung der Blendenvorrichtung, die dazu ausgebildet ist, die Blendenvorrichtung sequentiell in beliebiger Reihenfolge in den ersten Betriebszustand, den zweiten Betriebszustand und den dritten Betriebszustand zu versetzen. Dabei ist eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den zweiten Betriebszustand versetzt ist, größer als eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den ersten Betriebszustand und/oder den dritten Betriebszustand versetzt ist. Durch die längere Verweildauer der Blendenvorrichtung im zweiten Betriebszustand gelangt mehr Fluoreszenzlicht zur Bildaufnahmevorrichtung, wodurch die Detektion des Fluoreszenzlichts verbessert ist. Insbesondere lassen sich Aussteuerung und Rauschen des Fluoreszenzbilds optimieren.

[0016] In einer Weiterbildung der Erfindung ist in dem ersten Beobachtungsstrahlengang und/oder in dem zweiten Beobachtungsstrahlengang ein Filter

angeordnet, dessen Filtercharakteristik derart ausgelegt ist, dass Licht in einem Wellenlängenbereich, durch den die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffs angeregt wird, unterdrückt ist. Dadurch ist die Bildqualität des Bilds im sichtbaren Wellenlängenbereich und/oder des Bilds im Fluoreszenzwellenlängenbereich verbessert.

[0017] In einer Weiterbildung der Erfindung ist in dem Mikroskopiesystem eine Vorrichtung zum Einbringen und Entfernen eines Filters in den zweiten Beobachtungsstrahlengang der Filter vorhanden, wobei eine Filtercharakteristik des Filters derart ausgelegt ist, dass Licht in einem Wellenlängenbereich, durch den die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffs angeregt wird, unterdrückt ist, und wobei die Vorrichtung zum Einbringen und Entfernen des Filters derart angesteuert ist, dass der Filter nur im zweiten Betriebszustand in den zweiten Beobachtungsstrahlengang eingebracht ist.

[0018] Nachfolgend wird die Erfindung anhand von Figuren näher erläutert. Dabei zeigen im Einzelnen

[0019] Fig. 1: eine erste Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Mikroskopiesystems;

[0020] Fig. 2: eine zweite Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Mikroskopiesystems;

[0021] Fig. 3a und Fig. 3b: zwei Betriebszustände einer Blendenvorrichtung aus Fig. 1 oder Fig. 2;

[0022] Fig. 4a bis Fig. 4c: eine dritte Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Mikroskopiesystems in drei unterschiedlichen Betriebszuständen;

[0023] Fig. 5a bis Fig. 5c: drei Betriebszustände einer Blendenvorrichtung aus dem Mikroskopiesystem gemäß Fig. 4a bis Fig. 4c; und

[0024] Fig. 6a und Fig. 6b: weitere mögliche Schaltstellungen der Blendenvorrichtung aus dem Mikroskopiesystem gemäß Fig. 4a bis Fig. 4c.

[0025] In Fig. 1 ist ein erstes Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Mikroskopiesystems **1** dargestellt, das eine Untersuchung eines Objekts sowohl mit Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich als auch mittels Fluoreszenzanalyse ermöglicht.

[0026] Das Mikroskopiesystem **1** umfasst ein optisches System, welches ein Hauptobjektiv **2**, eine erste Linsengruppe **3**, bestehend aus einer ersten Linse **4** und einer zweiten Linse **5**, und einen Strahlteiler **6** beinhaltet. Durch das Hauptobjektiv **2**, die erste Linsengruppe **3** und den Strahlteiler **6** ist ein erster Beobachtungsstrahlengang **7** definiert, der von einem Objekt in einer Objektebene **8** zu einer ersten Bildebene **9** einer ersten Bildaufnahmevorrichtung **10** verläuft.

[0027] Die erste Linsengruppe **3** ist in diesem Ausführungsbeispiel als Zoom-System ausgestaltet. Ohne den Rahmen der Erfindung zu verlassen kann anstelle oder ergänzend zu der ersten Linsengruppe **3** auch eine Tubuslinse oder ein Tubuslinsensystem im ersten Beobachtungsstrahlengang angeordnet sein, so dass ein Bild des Objekts in der ersten Bildebene **9** der ersten Bildaufnahmevorrichtung **10** entsteht.

[0028] Die erste Bildaufnahmevorrichtung **10** ist zur Aufnahme von Einzelbildern und/oder Videosequenzen des Objekts in einem Wellenlängenbereich, der sichtbares Licht umfasst, ausgebildet. Sie kann beispielsweise als RGB-Kamera (3-Chip oder Bayer-Pattern) ausgeführt sein.

[0029] Zur Durchführung einer Fluoreszenzanalyse beinhaltet das optische System des Mikroskopiesystems **1** weiterhin eine zweite Linsengruppe **11** mit einer dritten Linse **12** und einer vierten Linse **13**. Durch das Hauptobjektiv **2**, die zweite Linsengruppe **11** und den Strahlteiler **6** ist ein zweiter Beobachtungsstrahlengang **14** definiert, der von dem Objekt in der Objektebene **8** zu einer zweiten Bildebene **15** einer zweiten Bildaufnahmevorrichtung **16** verläuft.

[0030] Die zweite Linsengruppe **11** ist in diesem Ausführungsbeispiel ebenfalls als Zoom-System ausgestaltet. Ohne den Rahmen der Erfindung zu verlassen kann anstelle oder ergänzend zu der zweiten Linsengruppe **11** auch eine Tubuslinse oder ein Tubuslinsensystem im zweiten Beobachtungsstrahlengang **14** angeordnet sein, so dass ein Bild des Objekts in der Bildebene **15** der zweiten Bildaufnahmevorrichtung **16** entsteht.

[0031] Die zweite Bildaufnahmevorrichtung **16** ist zur Aufnahme von Einzelbildern und/oder Videosequenzen des Objekts in einem Wellenlängenbereich, der eine Fluoreszenzwellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, eingerichtet. Die Begriffe „Fluoreszenzwellenlänge“ und „Fluoreszenzwellenlängenbereich“ bezeichnen im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Emissionswellenlänge beziehungsweise einen Emissionswellenlängenbereich, in der beziehungsweise in dem ein Fluoreszenzfarbstoff Licht nach einer Anregung emittiert.

[0032] Unter Fluoreszenz ist eine spontane Emission von Licht zu verstehen, die beim Übergang eines Moleküls von einem Zustand hoher Energie in einen Zustand niedriger Energie erfolgt. Fluoreszenz tritt auf, wenn Licht in einem bestimmten Anregungswellenlängenbereich auf das Molekül trifft. Dabei werden Photonen absorbiert und Elektronen des Moleküls auf ein energetisch höheres Orbital gehoben. Fallen die Elektronen von dort wieder auf ihr ursprüngliches Niveau zurück, wird Energie in Form von Wärme und Licht abgegeben. Das abgestrahlte Fluoreszenzlicht ist dabei immer langwelliger als das Anregungslicht.

[0033] Für eine Fluoreszenzanalyse ist es zunächst erforderlich, das Objekt mit einem Fluoreszenzfarbstoff anzureichern. Der Fluoreszenzfarbstoff reichert sich in bestimmten Strukturen oder Gewebearten des Objekts (beispielsweise in Tumorgewebe) in erhöhter Konzentration an. Durch eine Bestrahlung des Objekts mit Licht in dem Anregungswellenlängenbereich wird die Fluoreszenz des Farbstoffes angeregt. Die Strukturen oder Gewebearten, in denen der Fluoreszenzfarbstoff angereichert ist, emittieren dabei verstärkt Fluoreszenzlicht, so dass diese Strukturen oder Gewebearten visuell oder durch Auswertung eines elektronisch aufgenommenen Bildes detektiert werden können.

[0034] In der Medizintechnik kommen als Fluoreszenzfarbstoffe häufig Protoporphyrin IX (PpIX), Fluorescein oder Indocyanine Green (ICG) zum Einsatz. Die Anregungswellenlängenbereiche liegen für PpIX bei ca. 400 bis 500 nm, für Fluorescein bei ca. 485 bis 505 nm und für ICG bei ca. 790 bis 810 nm. Die Fluoreszenzwellenlängenbereiche liegen für PpIX bei ca. 600 bis 750 nm, für Fluorescein bei ca. 500 bis 650 nm und für ICG bei ca. 800 bis 1000 nm.

[0035] Zur Anregung der Fluoreszenz umfasst das Mikroskopiesystem eine Beleuchtungseinheit **23**, die Licht im Anregungswellenlängenbereich des Fluoreszenzfarbstoffs emittiert. Die Beleuchtungseinheit kann ergänzend auch zur Beleuchtung des Objekts mit Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich ausgebildet sein. Im vorliegenden Ausführungsbeispiel ist ein Beleuchtungsstrahlengang **24** an dem Hauptobjektiv **2** zu der Objektebene **8** geführt. Ohne den Rahmen der Erfindung zu verlassen kann der Beleuchtungsstrahlengang auch ober- oder unterhalb des Hauptobjektivs über einen Strahlteiler oder einen Spiegel in einen Beobachtungsstrahlengang oder zwischen verschiedenen Beobachtungsstrahlengängen eingekoppelt werden.

[0036] In einer dem ersten Beobachtungsstrahlengangs **7** des Mikroskopiesystems zugeordneten ersten Pupillenebene **17** befindet sich eine Blendenvorrichtung **18**, die einen lichtundurchlässigen Bereich **19** sowie eine erste Transmissionsfläche **20** aufweist. Durch die erste Transmissionsfläche **20** ist ein Strahlenbündel, das die erste Pupillenebene **17** im ersten Beobachtungsstrahlengang durchtritt, beschränkt.

[0037] Im zweiten Beobachtungsstrahlengang **14** ist eine zweite Pupillenebene **21** ausgebildet, die von Strahlenbündel, die von dem Objekt in der Objektebene **8** ausgehen und an dem Strahlteiler **6** reflektiert werden, durchtreten ist. Das optische System ist derart ausgeführt, dass ein größtes Strahlenbündel, das die zweite Pupillenebene **21** im zweiten Beobachtungsstrahlengang **14** durchtritt, größer ist als das größtes Strahlenbündel, das die erste Pupillenebene

17 durch die erste Transmissionsfläche **20** hindurch durchtritt.

[0038] Der Strahlteiler **6** ist bevorzugt dichroitisch ausgeführt, so dass eine Trennung eines einfallenden Lichtstrahls in einen Anteil, der sichtbares Licht umfasst, und einen Anteil, der einen Fluoreszenzwellenlängenbereich umfasst, ermöglicht ist. Für den Erfindungsgedanken ist es dabei zweitrangig, ob sichtbares Licht transmittiert und Fluoreszenzlicht reflektiert wird, oder umgekehrt. Die durch den Strahlteiler erzielte räumliche Trennung zwischen dem ersten Beobachtungsstrahlengang und dem zweiten Beobachtungsstrahlengang im Bereich zwischen dem Strahlteiler und den Beobachtungsrichtungen hat zur Folge, dass in dem ersten und dem zweiten Beobachtungsstrahlengang jeweils eine eigene Pupillenebene ausgebildet sind. Die Anordnung der Blenden Vorrichtung in der ersten Pupillenebene des ersten Beobachtungsstrahlengang bewirkt, dass ein Verhältnis, gebildet aus dem Anteil des reflektierten Lichts, der die erste Pupillenebene passiert, und dem gesamten am Objekt reflektierten Lichts, kleiner ist als ein Verhältnis, gebildet aus dem Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts, der die zweite Pupillenebene passiert, an dem gesamten von dem Objekt emittierten Fluoreszenzlichts. Damit steht ein im Verhältnis großer Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts für eine Detektion zur Verfügung.

[0039] Optional ist im Strahlengang zwischen dem Hauptobjektiv **2** und dem Strahlteiler **6** ein Filter **22** angeordnet, dessen Filtercharakteristik einen geringen Transmissionsgrad für Licht im Anregungswellenlängenbereich des Fluoreszenzfarbstoffs aufweist. Dadurch ist die Qualität des aufgenommenen Bilds an der ersten und/oder zweiten Bildaufnahmevorrichtung verbessert.

[0040] Bevorzugt ist die zweite Bildaufnahmevorrichtung **16** derart ausgestaltet, dass der der Fluoreszenzwellenlängenbereich mit erhöhter Qualität detektiert werden kann. Insbesondere kann diese Bildaufnahmevorrichtung speziell an die geringe Intensität des Fluoreszenzlichts angepasst sein, z. B. durch eine verringerte Auflösung und/oder vergrößerte Detektorfläche pro Pixel, sowie einen geringen Pegel von Signalauschen.

[0041] In **Fig. 2** ist ein weiteres Ausführungsbeispiel der Erfindung dargestellt. Gleichwirkende Elemente des Mikrokopiesystems sind dabei mit denselben Bezugszeichen versehen, die im Zusammenhang mit dem ersten Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 1** verwendet wurden. Das Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 2** unterscheidet sich von dem Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 1** dadurch, dass zwischen dem Objektiv **2** und dem Strahlteiler **6** ein Zoomsystem **25** angeordnet ist, welches die Zoomsysteme in dem ersten Beobachtungsstrahlengang und

dem zweiten Beobachtungsstrahlengang aus **Fig. 1** ersetzt. Dadurch kann das Mikrokopiesystem kompakter ausgestaltet werden.

[0042] Anhand der **Fig. 3a** und **Fig. 3b** wird eine optionale Ergänzung zu den Ausführungsbeispielen gemäß **Fig. 1** und **Fig. 2** vorgestellt. In diesen ergänzenden Ausführungsbeispielen ist die Blenden Vorrichtung **18** derart schaltbar ausgeführt, dass in einem Betriebszustand eine erste Transmissionsfläche **20** und in einem weiteren Betriebszustand eine weitere Transmissionsfläche **26** in der ersten Pupillenebene **17** angeordnet ist. Die weitere Transmissionsfläche **26** unterscheidet sich dabei von der ersten Transmissionsfläche **20** durch ihre Lage in der ersten Pupillenebene **17** sowie optional durch ihre Form und/oder Größe.

[0043] Die Schaltbarkeit der Blenden Vorrichtung **18** kann mechanisch oder elektrooptisch realisiert sein. Ein Beispiel für eine mechanische Umsetzung stellt ein drehbares Blendenrad dar, das eine Blendenöffnung aufweist, die durch Drehung des Blendenrads an unterschiedlichen Stellen in der Pupillenebene **17** platziert werden kann. Die erste und die weitere Transmissionsfläche ist dabei durch eine entsprechende Platzierung der Blendenöffnung in der Pupillenebene **17** verwirklicht. Auf elektrooptischem Wege ist eine schaltbare Blenden Vorrichtung beispielsweise mit Hilfe einer Flüssigkristallblende realisierbar. Durch entsprechende Ansteuerung der Flüssigkristallblende können bestimmte Teilbereiche oder die gesamte Blende geöffnet werden. Weitere Möglichkeiten zur Ausgestaltung einer schaltbaren Blenden Vorrichtung sind in der DE 10 2011 010 262 A1 offenbart, deren Inhalt diesbezüglich vollumfänglich in diese Anmeldung übernommen wird.

[0044] Durch die Schaltung der Blenden Vorrichtung in einen ersten und einen weiteren Betriebszustand können mit der ersten Bildaufnahmevorrichtung **10** sequentiell Bilder des Objektbereichs im sichtbaren Wellenlängenbereich aus unterschiedlichen Perspektiven aufgenommen werden. Durch Wiedergabe der Bilder auf einer geeigneten Bildwiedergabeeinheit kann das Objekt stereoskopisch dargestellt werden. In einem weiteren, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel ist die schaltbare Blenden Vorrichtung derart ansteuerbar, dass die Lagen der ersten Transmissionsfläche **20** und/oder der weiteren Transmissionsfläche **26** in der ersten Pupillenebene variabel eingestellt werden können, so dass eine Stereobasis und/oder Stereoperspektive für die stereoskopische Wiedergabe des Objekts variierbar ist.

[0045] In den **Fig. 4a**, **Fig. 4b** und **Fig. 4c** ist ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Mikrokopiesystems in verschiedenen Betriebszuständen dargestellt. Im Gegensatz zu den zuletzt behandelten Ausführungsbeispielen weist das Mikro-

skopiesystem gemäß **Fig. 4a bis Fig. 4c** nur eine Bildaufnahmevorrichtung **27** auf, die sowohl zur Aufnahme von Bildern im sichtbaren Wellenlängenbereich als auch im Fluoreszenzwellenlängenbereich eingerichtet ist. Auf einen Strahlteiler zur Aufteilung des eintreffenden Lichts in einen Anteil im sichtbaren Wellenlängenbereich und einen Anteil im Fluoreszenzwellenlängenbereich kann bei diesem Ausführungsbeispiel verzichtet werden.

[0046] Das Mikroskopiesystem **1** umfasst ein optisches System, welches ein Hauptobjektiv **28** und eine Linsengruppe **29**, bestehend aus einer ersten Linse **30** und einer zweiten Linse **31**, beinhaltet. Die Linsengruppe **29** ist in diesem Ausführungsbeispiel als Zoom-System ausgestaltet. Ohne den Rahmen der Erfindung zu verlassen kann anstelle oder ergänzend zu der Linsengruppe **29** auch eine Tubuslinse oder ein Tubuslinsensystem im ersten Beobachtungsstrahlengang **32** angeordnet sein, so dass ein Bild des Objekts in der Bildebene **33** der Bildaufnahmevorrichtung **27** entsteht.

[0047] Optional ist im Strahlengang zwischen dem Hauptobjektiv **28** und der Linsengruppe **29** ein Filter **34** angeordnet, dessen Filtercharakteristik einen geringen Transmissionsgrad für Licht im Anregungswellenlängenbereich des Fluoreszenzfarbstoffs aufweist. Dadurch ist die Qualität des aufgenommenen Bilds an der Bildaufnahmevorrichtung verbessert.

[0048] In einer Pupillenebene **35** ist eine schaltbare Blendenvorrichtung **36** angeordnet, die wie oben bereits beschrieben als mechanische oder elektrooptische Einheit ausgeführt sein kann. In **Fig. 4a** ist die schaltbare Blendenvorrichtung in einen ersten Betriebszustand versetzt, in dem eine erste Transmissionsfläche **37** in der Pupillenebene **35** angeordnet ist. Dadurch ist ein erster Beobachtungsstrahlengang **32** definiert, der von einem Objekt in einer Objektebene **8** zu einer Bildebene **33** der Bildaufnahmevorrichtung **27** verläuft.

[0049] In **Fig. 4b** ist die schaltbare Blendenvorrichtung in einem zweiten Betriebszustand dargestellt, in dem eine zweite Transmissionsfläche **38** in der Pupillenebene **35** angeordnet ist. Dadurch ist ein zweiter Beobachtungsstrahlengang **42** definiert, der von dem Objekt zu der Bildebene **33** der Bildaufnahmevorrichtung **27** verläuft. Die zweite Transmissionsfläche **38** ist dabei größer ausgeführt als die erste Transmissionsfläche **37**.

[0050] Bei der in **Fig. 4c** dargestellten Konfiguration ist die schaltbare Blendenvorrichtung in einen dritten Betriebszustand versetzt, in dem eine dritte Transmissionsfläche **39** in der Pupillenebene **35** ausgebildet ist, die sich von der ersten Transmissionsfläche **37** zumindest hinsichtlich ihrer Lage in der Pupillenebene, optional auch hinsichtlich Größe und/oder

Form unterscheidet. Dadurch ist ein dritter Beobachtungsstrahlengang **43** definiert, der von dem Objekt zu der Bildebene **33** der Bildaufnahmevorrichtung **27** verläuft.

[0051] Der in **Fig. 4b** gezeigte zweite Betriebszustand dient bevorzugt zur Durchführung einer Fluoreszenzanalyse. In diesem Betriebszustand wird mit Hilfe der Bildaufnahmevorrichtung **27** ein Fluoreszenzbild des Objekts in der Objektebene **8** aufgenommen. Durch die Anordnung einer großen Transmissionsfläche in der Pupillenebene ist sichergestellt, dass ein großer Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts zu der Bildaufnahmevorrichtung geleitet wird, so dass die Detektion des Fluoreszenzlichts verbessert und die Qualität des aufgenommenen Fluoreszenzbilds verbessert ist.

[0052] Durch die Schaltung der Blendenvorrichtung **36** in den ersten und den dritten Betriebszustand können mit der ersten Bildaufnahmevorrichtung **37** sequentiell Bilder des Objektbereichs im sichtbaren Wellenlängenbereich aus unterschiedlichen Perspektiven aufgenommen werden. Durch Wiedergabe der Bilder auf einer geeigneten Bildwiedergabeeinheit kann das Objekt stereoskopisch dargestellt werden. In einem weiteren, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel ist die schaltbare Blendenvorrichtung derart ansteuerbar, dass die Lagen der ersten Transmissionsfläche **37** und/oder der weiteren Transmissionsfläche **39** in der ersten Pupillenebene variabel eingestellt werden können, so dass eine Stereobasis und/oder Stereoperspektive für die stereoskopische Wiedergabe des Objekts variierbar ist. In wiederum einem weiteren, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel umfasst das Mikroskopiesystem eine Steuerungseinrichtung zur Ansteuerung der Blendenvorrichtung, die dazu ausgebildet ist, die Blendenvorrichtung wiederholend sequentiell in beliebiger Reihenfolge in den ersten Betriebszustand, den zweiten Betriebszustand und den dritten Betriebszustand zu versetzen. Bevorzugt ist dabei eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den zweiten Betriebszustand versetzt ist, größer als eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den ersten Betriebszustand und/oder den dritten Betriebszustand versetzt ist. Besonders bevorzugt ist die Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den ersten Betriebszustand versetzt ist, gleich oder maximal um 10% verschieden zu der Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den dritten Betriebszustand versetzt ist, und die Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den zweiten Betriebszustand versetzt ist, ist mindestens doppelt so groß wie die Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung in den ersten Betriebszustand versetzt ist.

[0053] In einem weiteren, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel ist ein Element zur Strahlbeeinflussung in der Transmissionsfläche vorgesehen, beispielsweise ein Filter. Dieses Element muss jedoch

so ausgeführt sein, dass das Licht im sichtbaren Wellenlängenbereich, das im ersten beziehungsweise dritten Betriebszustand die erste beziehungsweise dritte Transmissionsfläche passiert und das Licht im Fluoreszenzwellenlängenbereich, das im zweiten Betriebszustand die zweite Transmissionsfläche passiert, eine ausreichende Intensität zur Betrachtung beziehungsweise Detektion des Bilds im sichtbaren Wellenlängenbereich beziehungsweise im Fluoreszenzwellenlängenbereich aufweist. Beispielsweise sollte ein Element in der Transmissionsfläche eine Transmission von mehr als 80%, insbesondere von mehr als 90%, weiter insbesondere von mehr als 95% in den jeweiligen Wellenlängenbereichen nicht unterschreiten.

[0054] In den **Fig. 5a**, **Fig. 5b** und **Fig. 5c** ist die Blendenvorrichtung **36** beispielhaft in einer Draufsicht in dem ersten Betriebszustand (**Fig. 5a**), dem zweiten Betriebszustand (**Fig. 5c**) und dem dritten Betriebszustand (**Fig. 5b**) dargestellt. Deutlich ersichtlich ist, dass die erste Transmissionsfläche **37** sich in der Lage von der dritten Transmissionsfläche **39** unterscheidet, so dass durch beide Transmissionsflächen **37**, **39** eine Stereobasis geschaffen ist, die eine Aufnahme des Objekts aus verschiedenen Perspektiven und eine nachfolgende stereoskopische Darstellung des Objekts in einer Bildwiedergabeeinheit erlaubt. Aus **Fig. 5c** ist zu erkennen, dass die zweite Transmissionsfläche **38** deutlich größer ausgeführt ist als die erste und die dritte Transmissionsfläche **37**, **39**, so dass ein größerer Lichtanteil durch die dritte Transmissionsfläche geleitet werden kann.

[0055] In einem ergänzenden, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel wird die Beleuchtungseinheit **23** synchronisiert zu den Betriebszuständen betrieben. Besonders bevorzugt wird die Beleuchtungseinheit **23** dabei derart angesteuert, dass während des zweiten Betriebszustands, in dem Fluoreszenzlicht detektiert wird, verstärkt Licht in einem Wellenlängenbereich abgestrahlt wird, der eine Anregungswellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, so dass die Fluoreszenz des in dem Objekt angereicherte Fluoreszenzfarbstoff angeregt wird.

[0056] In einer weiteren, ergänzenden, nicht dargestellten Ausführungsbeispiel wird die Beleuchtungseinheit **23** derart angesteuert, dass während des zweiten Betriebszustands weitgehend oder ausschließlich Licht in einem Anregungswellenlängenbereich des Fluoreszenzfarbstoffs abgegeben wird. Gleichzeitig wird dieser Anregungswellenlängenbereich mit Hilfe der zuvor beschriebenen Filter in den Beobachtungsstrahlengängen zumindest weitgehend unterdrückt. Dadurch ist sichergestellt, dass nahezu ausschließlich Fluoreszenzlicht und kein Beleuchtungslicht detektiert wird. Somit kann trotz der Verwendung einer Bildaufnahmevorrichtung für al-

le Strahlengänge eine Trennung zwischen Fluoreszenzsignal und Weißlichtsignal erfolgen.

[0057] Bei einer Verwendung des Mikroskopiesystems in einem medizinischen Verfahren können Situationen auftreten, in denen dem Arzt die Bildinformationen für das visuelle und das Fluoreszenzbild gleichzeitig zu Verfügung stehen müssen, beispielsweise in Form einer Überlagerung beider Bilder oder einer Augmentierung bestimmter Areale aus dem Fluoreszenzbild im visuellen Bild. Allen bisher betrachteten Ausführungsbeispielen ist gemein, dass ein Fluoreszenzbild nur monoskopisch aufgenommen wird. Bei einer Aufnahme der visuellen Szenen als Stereobild liegen jedoch Informationen über die dreidimensionale Struktur des Objekts in der Objektebene vor. Aus der Literatur sind Verfahren bekannt, ein monokulares Bild auf Stereobilder zu mappen und auf diese Weise die effizient detektierten Fluoreszenzbilder auf ein Stereobild übertragen.

[0058] In den **Fig. 6a** und **Fig. 6b** sind zwei weitere Betriebszustände der schaltbaren Blendenvorrichtung gezeigt, die jeweils für sich oder sequentiell hintereinander angesteuert den dritten Betriebszustand gemäß **Fig. 5c** ersetzen können. In den weiteren Betriebszuständen sind die Transmissionsflächen **40**, **41** bevorzugt so ausgestaltet, dass ein größtes Strahlenbündel, das die Transmissionsflächen **40**, **41** durchtritt, größer ist als ein größtes Strahlenbündel, das die erste und/oder dritte Transmissionsfläche **37**, **39** durchtritt, jedoch kleiner, als das größte Strahlenbündel, welches die Pupillenebene **35** ohne darin angeordnete Blendenvorrichtung durchtreten könnte. Bevorzugt wird in den weiteren Betriebszuständen jeweils nur ein Teil der Pupillenebene geöffnet. Besonders bevorzugt sind die Teile der Pupillenebene, die in den zwei weiteren Betriebszuständen geöffnet werden, wie in **Fig. 6a** und **Fig. 6b** dargestellt punktsymmetrisch zu einer optischen Achse des Hauptobjektivs **2** angeordnet.

[0059] Durch eine sequentielle Ansteuerung der Blendenvorrichtung gemäß **Fig. 6a** und **Fig. 6b** können Stereo-Fluoreszenzbilder aufgenommen werden. Da die Transmissionsflächen in den weiteren Betriebszuständen größer ausgestaltet sind als die erste und die dritte Transmissionsfläche, die bei der Aufnahme eines Bilds im sichtbaren Wellenlängenbereich von den Beobachtungsstrahlengängen durchtreten werden, wird immer noch ein vergleichsweise großer Anteil des emittierten Fluoreszenzlichts zur Bildaufnahmevorrichtung geleitet, wodurch die Detektion des Fluoreszenzlichts erleichtert ist.

[0060] Das erfindungsgemäße Mikroskopiesystem vereint eine visuelle Betrachtung eines Objekts mit der Möglichkeit einer Fluoreszenzanalyse. Es zeichnet sich unter anderem dadurch aus, dass Fluoreszenzlicht, welches mit niedriger Intensität emittiert

wird, sicher detektiert werden kann. Auf diese Weise lässt sich eine Bildqualität des Fluoreszenzbilds verbessern. Alternativ dazu kann die verbesserte Detektion auch genutzt werden, um eine verabreichte Menge eines Fluoreszenzfarbstoffs zu reduzieren und damit die Patientenbelastung zu verringern.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- DE 102010026171 A1 [0003, 0003, 0003]
- DE 102005005253 A1 [0004, 0005, 0006]
- DE 102011010262 A1 [0043]

Patentansprüche

1. Mikroskopiesystem (1) mit

- einer Bildaufnahmeverrichtung (16, 27), die zur Aufnahme eines Bilds in einem Wellenlängenbereich eingerichtet ist, der eine Fluoreszenzwellenlänge eines Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, und mit
- einem optischen System (2, 3, 11, 28, 29), durch das ein erster Beobachtungsstrahlengang (7, 32) und ein zweiter Beobachtungsstrahlengang (14, 42) definiert ist,
- wobei der erste Beobachtungsstrahlengang (7, 32) derart eingerichtet ist, dass ein Objekt in einer Objektebene (8) des optischen Systems in einem sichtbaren Wellenlängenbereich in eine Bildebene abgebildet ist, und
- wobei der zweite Beobachtungsstrahlengang (14, 42) derart eingerichtet ist, dass das Objekt in dem Wellenlängenbereich, der die Fluoreszenzwellenlänge des Fluoreszenzfarbstoffs umfasst, in eine Aufnahmeebene (9, 33) der Bildaufnahmeverrichtung (16, 27) abgebildet ist,

dadurch gekennzeichnet, dass das optische System derart ausgeführt ist, dass ein größtes Strahlenbündel, das eine zweite Pupillenebene (21, 35) im zweiten Beobachtungsstrahlengang (14, 42) durchtritt, größer ist als ein größtes Strahlenbündel, das eine erste Pupillenebene (17, 35) im ersten Beobachtungsstrahlengangs (7, 32) durchtritt.

2. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass

- das Mikroskopiesystem eine weitere Bildaufnahmeverrichtung (10) umfasst, die in der Bildebene des ersten Beobachtungsstrahlengangs (7) angeordnet und zur Aufnahme eines Bilds des Objekts im sichtbaren Wellenlängenbereich eingerichtet ist, und dass
- das optische System einen Strahlteiler (6) umfasst, wobei der erste Beobachtungsstrahlengang (7) durch den Strahlteiler geführt ist und der zweite Beobachtungsstrahlengang (14) am Strahlteiler reflektiert ist oder umgekehrt.

3. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass in dem ersten Beobachtungsstrahlengang (7, 32) und/oder in dem zweiten Beobachtungsstrahlengang (14, 42) ein Filter (22, 34) angeordnet ist, dessen Filtercharakteristik derart ausgelegt ist, dass Licht in einem Wellenlängenbereich, durch den die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffs angeregt wird, unterdrückt ist.

4. Mikroskopiesystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass

- das optische System derart ausgebildet ist, dass die erste Pupillenebene im ersten Beobachtungsstrahlengang (32) mit der zweiten Pupillenebene im zweiten Beobachtungsstrahlengang (42) zusammenfällt,

so dass eine gemeinsame Pupillenebene (35) gebildet ist, und dass

- in der gemeinsamen Pupillenebene (35) eine schaltbare Blendenvorrichtung (36) angeordnet ist, die in einen ersten Betriebszustand und einen zweiten Betriebszustand versetzbar ist,
- wobei in dem ersten Betriebszustand der Blendenvorrichtung (36) eine erste Transmissionsfläche (37) in der gemeinsamen Pupillenebene (35) angeordnet ist, die der erste Beobachtungsstrahlengang (32) durchtritt, und
- wobei in dem zweiten Betriebszustand der Blendenvorrichtung (36) eine zweite Transmissionsfläche (38) in der gemeinsamen Pupillenebene (35) angeordnet ist, die der zweite Beobachtungsstrahlengang (42) durchtritt,
- wobei die zweite Transmissionsfläche (38) größer ist als die erste Transmissionsfläche (37).

5. Mikroskopiesystem nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Bildaufnahmeverrichtung (27) zur Aufnahme eines Bilds im sichtbaren Wellenlängenbereich ausgebildet ist, und dass der erste Beobachtungsstrahlengang (32) derart eingerichtet ist, dass das Objekt in dem sichtbaren Wellenlängenbereich in die Aufnahmeebene (33) der Bildaufnahmeverrichtung (27) abgebildet ist.

6. Mikroskopiesystem nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass

- durch das optische System ein dritter Beobachtungsstrahlengang (43) definiert ist, der derart eingerichtet ist, dass das Objekt in der Objektebene (8) des optischen Systems im sichtbaren Wellenlängenbereich in die Bildebene abgebildet ist,
- wobei die Blendenvorrichtung (36) in einen dritten Betriebszustand versetzbar ist, in dem eine dritte Transmissionsfläche (39) in der gemeinsamen Pupillenebene (35) angeordnet ist, die der dritte Beobachtungsstrahlengang (43) durchtritt, und
- wobei die dritte Transmissionsfläche (39) im dritten Betriebszustand an einem anderen Ort in der gemeinsamen Pupillenebene (35) angeordnet ist als die erste Transmissionsfläche (37) im ersten Betriebszustand, so dass durch die erste Transmissionsfläche (37) und die dritte Transmissionsfläche (39) eine Stereobasis in der gemeinsamen Pupillenebene (35) definiert ist.

7. Mikroskopiesystem nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Mikroskopiesystem eine Steuerungseinrichtung zur Ansteuerung der Blendenvorrichtung (36) umfasst, die dazu ausgebildet ist, die Blendenvorrichtung (36) sequentiell in beliebiger Reihenfolge in den ersten Betriebszustand, den zweiten Betriebszustand und den dritten Betriebszustand zu versetzen, wobei eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung (36) in den zweiten Betriebszustand versetzt ist, größer ist als eine Zeitdauer, in der die Blendenvorrichtung (36) in den ersten Betriebszu-

stand und/oder den dritten Betriebszustand versetzt ist.

8. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 4 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass in dem zweiten Beobachtungsstrahlengang (42) ein Filter (34) angeordnet ist, dessen Filtercharakteristik derart ausgelegt ist, dass Licht in einem Wellenlängenbereich, durch den die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffs angeregt wird, unterdrückt ist.

9. Mikroskopiesystem nach einem der Ansprüche 4 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine Vorrichtung zum Einbringen und Entfernen eines Filters in den zweiten Beobachtungsstrahlengang (42) vorhanden ist, wobei eine Filtercharakteristik des Filters derart ausgelegt ist, dass Licht in einem Wellenlängenbereich, durch den die Fluoreszenz des Fluoreszenzfarbstoffs angeregt wird, unterdrückt ist, und wobei die Vorrichtung zum Einbringen und Entfernen des Filters derart angesteuert ist, dass der Filter nur im zweiten Betriebszustand in den zweiten Beobachtungsstrahlengang (42) eingebracht ist.

Es folgen 5 Seiten Zeichnungen

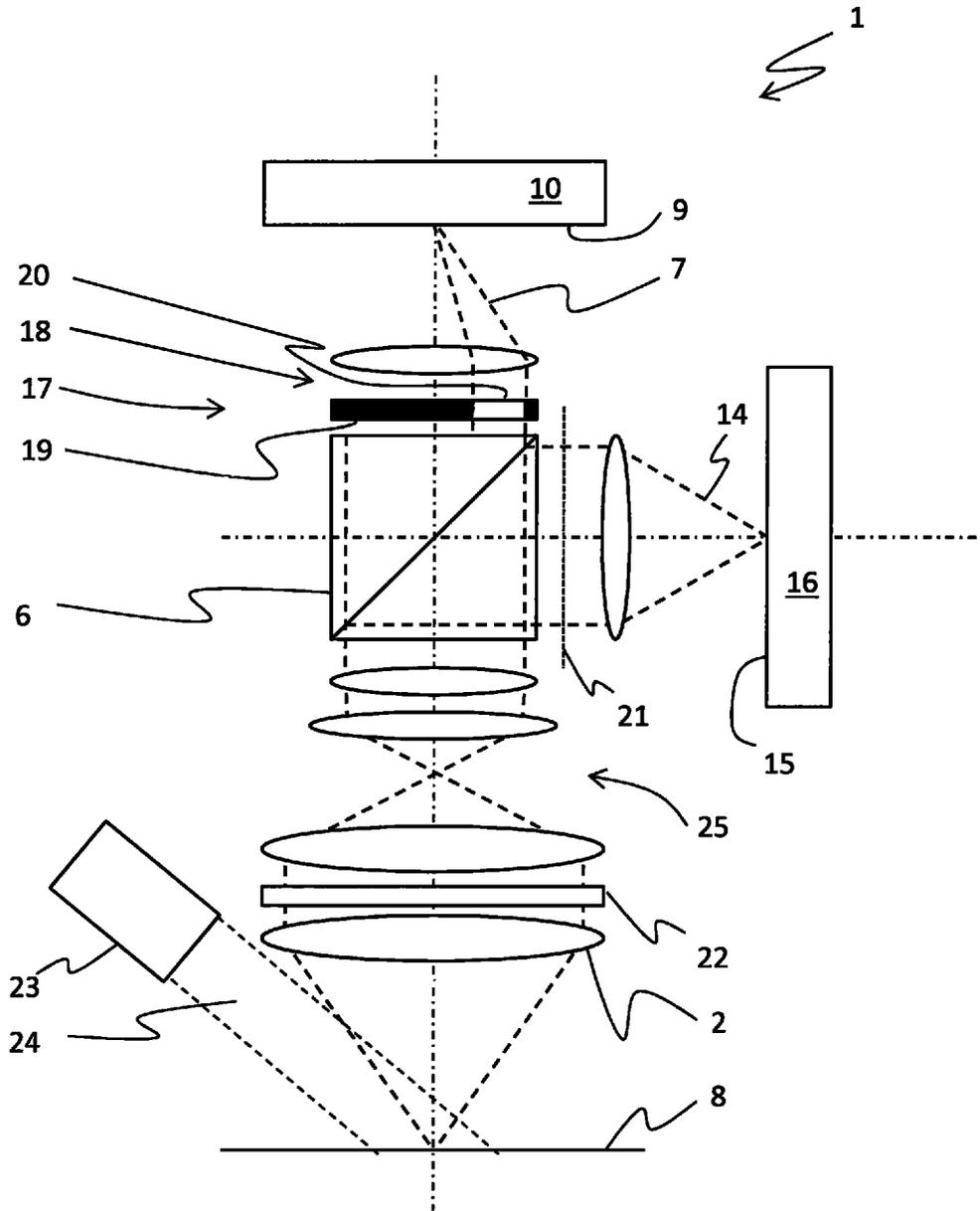


Fig. 2

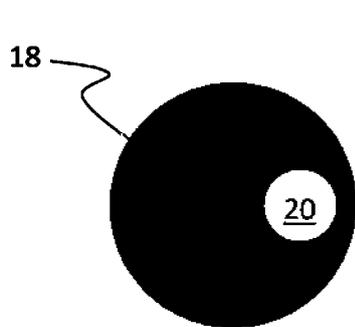


Fig. 3a

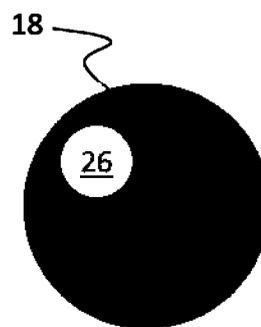


Fig. 3b

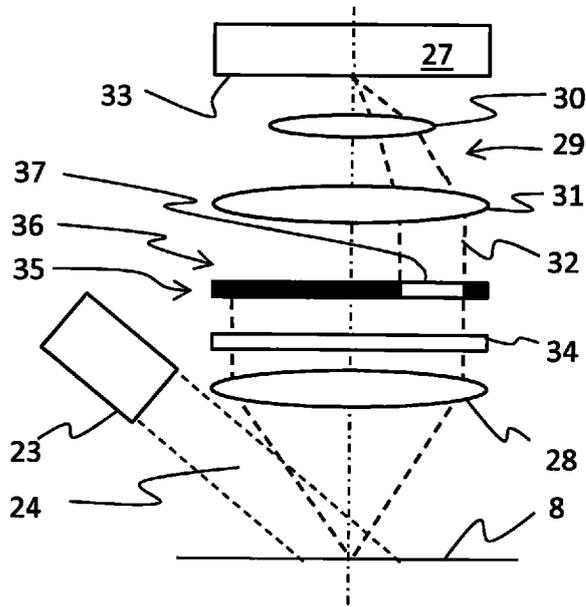


Fig. 4a

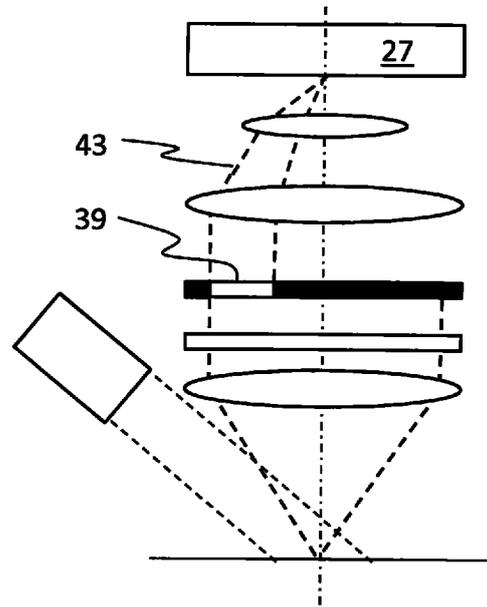


Fig. 4c

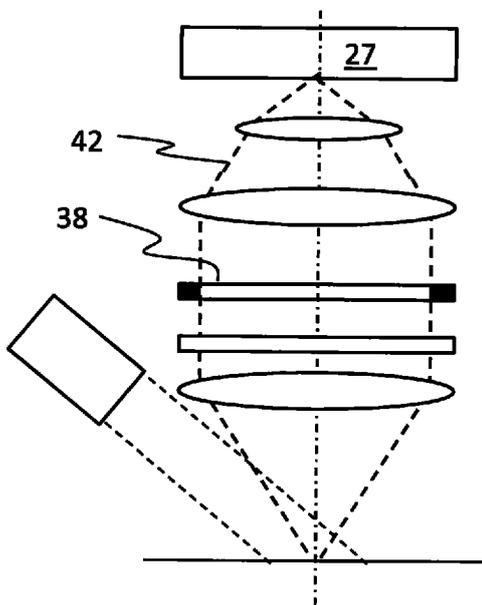


Fig. 4b

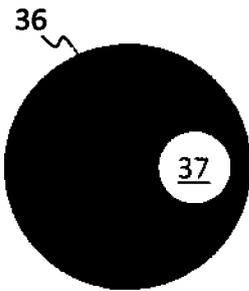


Fig. 5a

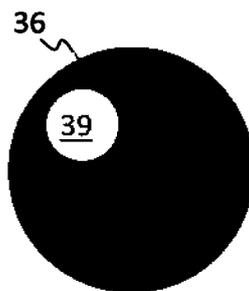


Fig. 5b

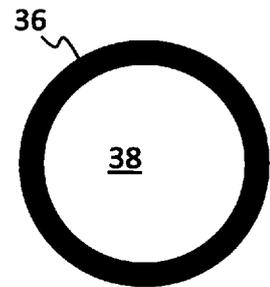


Fig. 5c

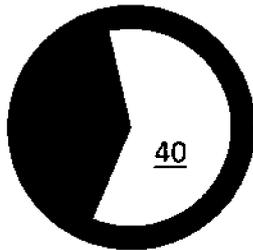


Fig. 6a

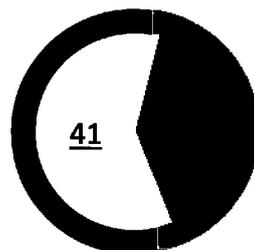


Fig. 6b