



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

1 Número de publicación: $2\ 365\ 848$

(51) Int. Cl.:

G02B 21/00 (2006.01)

	`	,
(12	2)	TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA
<u> </u>	_	THE DOCUMENT OF THE PORT OF THE

Т3

- 96 Número de solicitud europea: 03763741 .0
- 96 Fecha de presentación : **08.07.2003**
- Número de publicación de la solicitud: 1520199 97 Fecha de publicación de la solicitud: 06.04.2005
- 🗿 Título: Microscopio óptico capaz de operar una modulación tridimensional rápida de la posición del punto de observación.
- (30) Prioridad: 10.07.2002 IT TO02A0602

73 Titular/es: FONDAZIONE ISTITUTO ITALIANO DI **TECNOLOGIA** Via Morego 30 16163 Genova, IT

- (45) Fecha de publicación de la mención BOPI: 11.10.2011
- (72) Inventor/es: Giardini, Mario, Ettore; Corti, Mario, Vittorio y **Botcherby, Stephen Charles Lauder**
- (45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: 11.10.2011
- (74) Agente: Justo Bailey, Mario de

ES 2 365 848 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Microscopio óptico capaz de operar una modulación tridimensional rápida de la posición del punto de observación

La presente invención se refiere a un microscopio óptico para la observación de una muestra, tanto a través de un ocular como para su uso en una configuración confocal, según se define en el preámbulo de la reivindicación 1.

En la observación de una muestra, por ejemplo para investigación en el campo de la biología celular, en el que es necesario ser capaz de enfocar la imagen sobre diferentes planos de observación y/o rastrear una partícula o una célula durante su movimiento libre por el entorno circundante, es necesario disponer de instrumentos ópticos para la formación de imágenes que permitan una exploración tridimensional rápida y precisa del campo de visión.

En los microscopios dispuestos para rastrear una partícula, el sistema óptico del microscopio debe ser capaz de mantener la partícula enfocada mientras sigue su movimiento completo.

La consecución de estos objetivos utilizando técnicas de exploración cónica de un plano de observación, junto con técnicas tradicionales de autoenfoque para las que el movimiento de la unidad de objetivo del microscopio o de la platina de la muestra tiene lugar a lo largo del eje óptico, según se describe por ejemplo en los documentos US 5483055 y US 4000417, no permite que se efectúe el rastreo tridimensional mediante ajuste de los medios de enfoque en tiempos más cortos de entre 20 ms y 1 s, debido a la inercia de la unidad de objetivo o de la platina de la muestra.

Esto se aplica tanto a los microscopios convencionales para la visión directa por parte de un operario a través de un sistema de ocular, como a microscopios confocales, en los que la exploración de una abertura confocal conjugada respecto a un punto de observación permite la formación de una imagen punto a punto, con mejores contraste y resolución.

En la técnica anterior se puede obtener también la observación con rastreo tridimensional de una partícula mediante la construcción de la imagen volumétrica de la muestra por superposición de imágenes detectadas a través de una exploración de dos dimensiones de una sucesión de planos focales de observación. La exploración axial tiene lugar moviendo el objetivo del microscopio por medio de un actuador, y un dispositivo de cálculo determina la posición de la partícula bajo observación después de haber adquirido varias imágenes en planos diferentes. Soluciones técnicas de este tipo se encuentran descritas en el documento US 5932872 y en el artículo "3D Particle Tracking on the Two-Photon Microscope" de di T. Ragan, P.T. So, H. Kwon y E. Gratton, que apareció en los procedimientos de SPIE, vol. 4262. durante 2001.

El documento DE 19733193 describe un microscopio con un sistema óptico adaptativo en la trayectoria del haz de observación y/o iluminación, con lo que un modulador de frente de onda basado en un elemento óptico reflectante, tal como un espejo deformable, está conectado a través de seccionadores de haz de modo que influye en la fase y/o la amplitud de una onda luminosa de tal modo que se consigue un desplazamiento y una conformación del foco en el espacio objeto sin ninguna influencia mecánica del objetivo o de la platina de la muestra.

El objeto de la presente invención consiste en proporcionar un microscopio óptico para la observación sobre una superficie arbitraria, y el rastreo tridimensional, de partículas, que permite una modulación rápida de la posición del foco a lo largo de una dirección paralela al eje óptico, junto con una exploración en un plano de observación ortogonal a este eje, evitando las desventajas de la técnica anterior.

De acuerdo con la presente invención, este objeto ha sido conseguido por medio de un microscopio óptico que tiene las características que aparecen expuestas en la reivindicación 1.

Realizaciones particulares de la invención han sido definidas en las reivindicaciones dependientes.

En resumen, la presente invención se basa en el principio de modificar la trayectoria óptica de un haz de luz recogido por el objetivo y dirigido hacia un plano de imagen real (en un microscopio confocal), o una dirección de observación (para un microscopio tradicional) introduciendo, aguas abajo del objetivo, un sistema óptico adicional que hace que sea posible modular el plano focal del instrumento sin intervenir en el movimiento de la unidad de objetivo o de la platina portadora de la muestra.

Este sistema forma una trayectoria óptica suplementaria que comprende, en la realización preferida, una lente y un espejo dispuestos cerca del foco de la lente, cuya separación mutua a lo largo del eje óptico del sistema puede ser modificada de tal modo que varíe el plano de observación de la muestra enfocada sobre el plano de imagen.

En una definición óptica general que adoptaremos en la descripción que sigue, un sistema que incluye tanto superficies de refracción como superficies de reflexión, será denominado como un sistema catadióptrico.

En una realización alternativa, la trayectoria óptica suplementaria comprende solamente espejos, y en este caso

2

40

10

15

20

25

30

35

50

45

55

60

60

65

adoptaremos por conveniencia la denominación de sistema catóptrico.

5

10

15

20

35

40

45

50

55

60

Una variante de la trayectoria suplementaria, aplicable tanto a los sistemas catadióptricos como al sistema catóptrico, proporciona la interposición de un par de prismas giratorios entre los elementos del sistema, los cuales se mantienen de ese modo fijos.

Ventajosamente, la arquitectura del microscopio conforme a la invención permite que éste sea formado como un microscopio tradicional para el rastreo de partículas libres por medio de exploración cónica en tres ejes, mejorando el sistema conocido de exploración cónica sobre dos ejes, así como un microscopio confocal para la detección de imágenes sobre una superficie de observación arbitraria y posible rastreo mediante exploración cónica tridimensional.

Otras características y ventajas de la invención serán explicadas con mayor detalle en la descripción detallada que sigue, dada a título de ejemplo no limitativo, con referencia a los dibujos anexos, en los que:

la figura 1 es una representación esquemática de una realización preferida del sistema óptico completo de un microscopio conforme a la invención;

la figura 2 es una representación esquemática de una porción del sistema óptico ilustrado en la figura 1, de acuerdo con una variante de realización; y

la figura 3 es una representación esquemática de una porción del sistema óptico ilustrado, según una realización alternativa.

En la ilustración esquemática de la figura 1, un objeto, o de manera más general una muestra bajo observación, ha sido indicada con 10, iluminada por ejemplo mediante radiación luminosa procedente de una fuente exterior al microscopio, y capaz de difundir la radiación luminosa incidente o la propia radiación de emisión mediante fluorescencia.

30 El sistema óptico del microscopio comprende un objetivo 20, identificado simbólicamente en este caso como una simple lente, dispuesto cerca de la muestra 10 para recoger la luz difundida por, o emitida desde, el mismo, y para formar un haz de luz colimada o enfocada.

La trayectoria óptica del instrumento en su sección inicial comprende una serie de espejos fijos 22, 24, 26 para desviar el haz de luz, utilizados para replegar el haz a los efectos de reducir el tamaño del instrumento, y una lente de campo 27 para la determinación del campo de visión de la imagen del objeto bajo observación.

Un espejo móvil, indicado con 28, es susceptible de inclinación en torno a dos ejes ortogonales por medio de un posicionador piezoeléctrico, y es operable para producir una desviación angular del haz. Esta función puede ser realizada de una manera similar por medio de un par de espejos móviles, cada uno de ellos inclinable en torno a un solo eje, o mediante una lente móvil.

Un sistema óptico 30 adicional, operable para modular la posición del área de observación de muestra a lo largo del eje óptico, está interpuesto en la trayectoria óptica de un modo tal como para introducir una ramificación suplementaria de la trayectoria luminosa.

Un divisor 32 de haz (por ejemplo, un espejo dicroico), se encuentra interpuesto a lo largo de la trayectoria óptica, aguas abajo del sistema 30 para dirigir una porción del haz hacia una lente 34 de recogida (ocular), que permite dirigir la visión a través del instrumento por parte de un operario, y que permite la transmisión de una porción de haz incidente sobre una abertura 36 confocal conjugada con respecto al área de observación, por detrás de la cual se encuentra situado un fotodetector 38 alineado con el eje óptico del sistema, y operable para detectar la intensidad luminosa instantánea del haz.

El sistema óptico 30 adicional incluye un divisor de haz, por ejemplo un espejo parcialmente reflectante, o con preferencia un prisma 40 de polarización según se ha indicado en el dibujo, y una placa 42 de cuarto de onda para la conversión de la polarización del haz, estando una lente 44 y un espejo 46 convergentes dispuestos cerca del foco de la lente.

En una realización actualmente preferida, las posiciones de la lente 44 y del espejo 46, dispuestos perpendicularmente al eje óptico, pueden variar por traslación a lo largo de este eje. A tal efecto, la lente 44 está montada en un posicionador piezoeléctrico y el espejo en un posicionador magnético, o viceversa. Son posibles, no obstante, realizaciones más simples, en las que solamente uno de los dos elementos sea móvil.

En una variante ilustrada con detalle en la figura 2, en la que tanto la lente 44 como el espejo 46 son fijos, se ha interpuesto un par de prismas 48 entre la lente y el espejo, con el fin de modificar la longitud de la trayectoria óptica de la ramificación suplementaria.

Un divisor de haz 50 adicional (de la manera más habitual, en forma de espejo dicroico) es susceptible de ser insertado en la trayectoria óptica para permitir la iluminación del objeto 10 a lo largo del eje óptico, por ejemplo mediante excitación de fluorescencia o mediante captura de una partícula por medio de técnicas de confinamiento óptico (pinzas ópticas). El divisor de haz 50 es capaz de recibir un haz de iluminación procedente de una fuente de luz asociada, no representada, y es capaz de reflejar este haz a lo largo del eje óptico del sistema hacia el objetivo, mientras permite también la transmisión del haz procedente del objeto 10, y recogido por el objetivo, hacia el plano real de imagen o, respectivamente, en la dirección de observación.

10 Un espejo 52, posiblemente insertable aguas abajo del objetivo 20 y de la óptica de colector y de deflector de imagen (elementos 22, 24, 26, 27), excluye estos elementos, permitiendo con ello que el microscopio sea acoplado a una óptica de imagen externa, por ejemplo un puerto auxiliar de un microscopio invertido.

5

15

20

25

30

40

45

50

55

60

65

En una realización alternativa ilustrada en la figura 3, el sistema óptico 30 adicional comprende un espejo convergente 55 y un espejo plano 57 dispuesto cerca del foco del espejo convergente, trasladables a lo largo del eje óptico. Un experto en la materia es capaz de poner fácilmente en práctica la invención en la configuración de espejo solamente, aplicando de igual modo la variante de construcción de la figura 2, interponiendo un par de prismas giratorios entre los espejos para modificar la longitud de la trayectoria óptica de la ramificación suplementaria sin recurrir al movimiento del espejo 57.

La operación de la parte tradicional de recogida de imagen y de curvado de haz del microscopio descrito es bien conocida por los expertos en la materia, y por lo tanto no va a ser descrita con detalle en la presente memoria.

La lente de campo 27, dispuesta en el plano de imagen del objetivo, forma una imagen de la pupila del objetivo 20 sobre el espejo móvil 28, y se selecciona un área de observación (campo de visión) mediante la posición adoptada por el espejo 28, cuya orientación variable permite la exploración del plano de observación ortogonal al eje óptico.

El conjunto formado por la abertura 36 confocal y el fotodetector 38, permite la observación del objeto 10 en configuración confocal y la formación de un mapa de distribución de intensidad en el plano de observación con la variación de la inclinación del espejo 28.

El sistema óptico 30 adicional que constituye el objeto de la invención, permite la traslación del punto de observación confocalmente conjugado con la abertura 36 en una dirección paralela al eje óptico que ha de ser controlado.

En detalle, el divisor de haz 40 intercepta el haz desviado por el espejo 28 y lo dirige hacia la trayectoria suplementaria que comprende los elementos 42, 46.

El haz de luz atraviesa el prisma 40 de polarización y emerge con polarización lineal, siendo la componente de polarización ortogonal perdida por reflexión, y la placa 42 de cuarto de onda proporciona una conversión de la polarización lineal en polarización circular. Tras la reflexión en el espejo 46, que provoca una inversión del sentido de rotación de la polarización circular, ésta se convierte de nuevo en polarización lineal cuando el haz atraviesa de nuevo la placa 42. Finalmente, el prisma de divisor 40 refleja la totalidad del haz polarizado incidente, emitiéndolo a lo largo de la trayectoria principal hacia el plano de imagen real definido por la abertura confocal 36 o, respectivamente, en la dirección de observación de la imagen virtual formada por la lente 34 de recogida.

Diversos ejemplos, no exhaustivos, de aplicaciones para las que está previsto utilizar el microscopio que constituye el objeto de la invención, incluyen el rastreo de partículas y/o de células libres en líquidos, la formación imágenes con técnicas confocales para exploración de muestras sobre superficies arbitrarias, el rastreo y la excitación simultáneos de fluorescencia espacialmente selectiva, y el rastreo y la captura óptica intrínsecamente co-alineados de partículas en líquidos.

En aplicaciones de rastreo de partículas libres por medio de técnicas de exploración cónica, la posición de los elementos 28, 44, 46 (o 28, 55, 57) se hace que cambie de tal modo que se conjuga la posición del punto de observación del objeto con la abertura 36 confocal.

Los actuadores de los elementos móviles están dispuestos de manera que regulan la orientación del espejo 28, y de manera que varían la configuración espacial de la lente 44 – espejo 46 del sistema (o del espejo convergente 55 – espejo plano 57) en un primer modo operativo, de tal modo que se provoca un desplazamiento alternativo (no necesariamente periódico) del área y del plano de observación en torno a un punto de observación, realizando de ese modo una exploración cónica tridimensional. Éstos se encuentran, además, dispuestos para regular la orientación del espejo 28 y variar la configuración espacial del sistema que comprende la lente 44 y el espejo 46 (o el espejo convergente 55 – espejo plano 57) en un segundo modo operativo, de tal modo que realiza un desplazamiento corrector del área y del plano de observación en función de la señal de distribución de intensidad luminosa detectada, emitida por el fotodetector 38 para realizar el rastreo en tres dimensiones de la partícula bajo observación.

La traslación del punto de observación confocalmente conjugada con la abertura 36 a lo largo de una dirección paralela con el eje óptico, es decir, enfocando sobre un plano de observación diferente del objeto 10, se obtiene variando la posición relativa entre la lente 44 y el espejo 46 (o entre el espejo convergente 55 y el espejo plano 57) o, en la realización de la figura 2, mediante la rotación concordante del par de prismas 48, de tal modo que se varíe la longitud de la trayectoria óptica entre la lente y el espejo (o entre espejos, respectivamente).

5

10

15

20

25

35

50

La posición del punto de observación (campo de visión) se modula a lo largo del eje óptico del sistema (indicado en general como eje Z), y sobre un par de ejes de un plano de observación ortogonal al mismo (indicados en general como X e Y), controlando el movimiento del espejo 28 y del sistema catadióptrico formado por la lente 44 y el espejo 46 (o el sistema catóptrico formado por el espejo convergente 55 y el espejo plano 57), a través de actuadores asociados (no representados).

Si la modulación es periódica de acuerdo con una ley sinusoidal a una frecuencia f, por simetría del sistema la intensidad de la luz recogida por el fotodetector 38 varía a una frecuencia 2f, igual al doble de la frecuencia de modulación. Si, por ejemplo, el objeto bajo observación se desplaza a lo largo de un eje de modulación, aparece una componente en la señal detectada a la frecuencia f de modulación, cuya fase proporciona el signo del desplazamiento.

Detectando la señal sincrónicamente con respecto a la señal de modulación, se obtiene por tanto una señal analógica proporcional a la corrección que se necesita impartir a los elementos móviles 28, 44, 46 (o 28, 55, 57) para realinear el punto de observación con el objeto, procedente del fotodetector 38.

Con respecto a las soluciones total o parcialmente digitales, el procesamiento completamente analógico de la señal detectada y de la señal de control de los actuadores permite ventajosamente que se consiga el rastreo en tiempos muy cortos debido a que es necesario el tiempo de conversión de A/D, el tiempo de cálculo, y/o que transcurra el tiempo de conversión de D/A, y se obtiene mayor precisión al no tener la intervención de ruido de cuantificación sobre la determinación de la posición del punto objeto. Existen de ese modo tres señales analógicas disponibles, las cuales son proporcionales a la posición del objeto sobre los tres ejes X, Y y Z, respectivamente.

Con la separación de las señales relativas a los tres ejes en cuanto a frecuencia y/o fase (por ejemplo, modulando la posición del punto de observación sobre el plano ortogonal al eje óptico en cuadratura a la misma frecuencia, de modo que se obtenga una exploración circunferencial del plano, y modulando la posición del punto de observación a lo largo del eje óptico a una frecuencia diferente), es posible efectuar el rastreo del objeto simultáneamente a lo largo de los tres ejes.

En aplicaciones relativas a la exploración de una muestra sobre una superficie arbitraria, la posición de los elementos móviles 28, 44, 46 (o 28, 55, 57) se regula de tal modo que se conjuga con la abertura confocal 36 la observación de un punto objeto cuya posición en el espacio varía de acuerdo con una regla predeterminada.

Los actuadores para los elementos móviles están por tanto dispuestos de modo que regulan la orientación del espejo 28 y varían la configuración espacial del sistema de lente 44 — espejo 46 (o espejo convergente 55 — espejo plano 57) según un tercer modo operativo, de tal modo que provocan el desplazamiento tridimensional del punto de observación sobre una curva (trayectoria) perteneciente a la superficie de observación predeterminada.

Las imágenes de una pluralidad de puntos de observación recogidas a partir del fotodetector 38 son transmitidas a una unidad de procesamiento asociada (no representada) para la reconstrucción de una imagen completa de acuerdo con técnicas conocidas.

Naturalmente, manteniendo los mismos principios de la invención, las realizaciones y los detalles de construcción pueden ser ampliamente variados con respecto a cuanto se ha descrito e ilustrado únicamente a título de ejemplo no limitativo, sin apartarse por ello del ámbito de protección definido en las reivindicaciones anexas.

En particular, se podrían añadir otras ramificaciones suplementarias al sistema, comprendiendo un sistema óptico adicional según se ha descrito, aguas abajo del mismo, para superponer otras regulaciones a lo largo del eje óptico.

REIVINDICACIONES

1.- Un microscopio óptico para la observación de una muestra (10) capaz de difundir o emitir un haz de rayos luminosos, que incluye un sistema óptico principal para la formación de una imagen real o virtual de un área de observación de la muestra (10), que comprende:

una trayectoria óptica principal desde un objetivo (20) hacia un plano de imagen real o, respectivamente, hacia la dirección de observación de una imagen virtual, y

un sistema óptico (30) adicional, interpuesto a lo largo de la citada trayectoria óptica, operable para modular la posición del área de observación de la muestra (10) a lo largo del eje óptico, cuya imagen se forma o se observa en el foco, incluyendo el citado sistema:

5

15

30

35

40

45

50

55

60

- medios ópticos (40) de divisor de haz operables para desviar el citado haz desde la trayectoria óptica principal hacia una ramificación suplementaria de la trayectoria, y
 - un sistema óptico (44, 46; 55, 57) de configuración variable operable para modular la longitud de la trayectoria suplementaria;
- siendo los citados medios de divisor (40) operables para reintroducir el haz que emerge desde el citado sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable, en la citada trayectoria principal hacia el plano de imagen real o, respectivamente, hacia la dirección de observación de la imagen virtual,
- en el que el microscopio incluye medios de actuador operables para mover el citado sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable de una manera predeterminada,
 - que se caracteriza porque los medios móviles (28) de divisor de haz están interpuestos a lo largo de la trayectoria óptica principal, los cuales son operables para dirigir imágenes de un área seleccionada del plano de observación de la muestra (10) hacia el citado plano de imagen real o en la citada dirección de observación, y
 - porque el citado sistema de configuración variable para modular la posición de la citada área de observación de la muestra (10) a lo largo del eje óptico, comprende una lente (44) convergente o un espejo (55) convergente, y un espejo (46, 57) posicionado cerca del foco de dicha lente (44) convergente o de dicho espejo (55) convergente, y perpendicularmente al eje óptico.
 - 2.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque incluye medios fotodetectores (38) dispuestos cerca del plano de imagen real del sistema óptico principal, y alineados con el eje óptico del sistema, para la detección instantánea de la intensidad luminosa del haz, y porque lo citados medios de actuador están dispuestos para regular la orientación de los citados medios desviadores (28) de haz, y para variar la configuración espacial del sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable en un primer modo operativo, de tal manera que provocan un desplazamiento alternativo del área y del plano de observación en torno al punto de observación, consiguiendo de ese modo una exploración en tres dimensiones.
 - 3.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 2, que se caracteriza porque los medios de actuador están dispuestos además para regular la orientación de dichos medios desviadores (28) de haz, y para variar la configuración espacial del sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable en un segundo modo operativo, de tal manera que realiza un desplazamiento corrector del área y del plano de observación en función de la señal emitida por los citados medios fotodetectores (38), para realizar un rastreo en tres dimensiones de un objeto bajo observación.
 - 4.- Un microscopio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que se caracteriza porque incluye una abertura (36) confocal, conjugada con un punto de observación, operable para permitir una transmisión de una porción del haz luminoso hacia medios fotodetectores (38) dispuestos aguas abajo de la citada abertura (36) y alineados con el eje óptico del sistema, y porque los medios de actuador están dispuestos de modo que regulan la orientación de los citados medios desviadores (28) de haz, y para variar la configuración espacial del sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable en un tercer modo operativo, de tal manera que provocan un desplazamiento en tres dimensiones del punto de observación en una trayectoria de observación predeterminada; siendo las imágenes de una pluralidad de puntos de observación, recogidas por los citados medios fotodetectores (38), transmitidas a medios de procesador asociados para la reconstrucción de una imagen completa.
 - 5.- Un microscopio de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que se caracteriza porque el citado sistema de configuración variable es un sistema catadióptrico que comprende una lente (44) y un espejo (46) convergentes.
- 6.- Un microscopio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se caracteriza porque el citado sistema de configuración variable es un sistema catóptrico que comprende un primer espejo (55) convergente y un segundo espejo (57) plano.

- 7.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, que se caracteriza porque los citados medios desviadores de haz comprenden un prisma de polarización (40).
- 5 8.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, que se caracteriza porque los citados medios de divisor de haz comprenden un espejo dicroico.

10

15

25

30

35

40

50

- 9.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, que se caracteriza porque los citados medios de divisor de haz comprenden un espejo parcialmente reflectante.
- 10.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5 o la reivindicación 6, que se caracteriza porque el citado sistema óptico (30) adicional comprende además una placa (42) de cuarto de onda, interpuesta entre los citados medios (40) de divisor de haz y el citado sistema (44, 46; 55, 57) de configuración variable, operable para realizar una conversión de la polarización del haz incidente.
- 11.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5, que se caracteriza porque los citados medios de actuador son operables para variar la distancia relativa entre la lente (44) y el espejo (46).
- 12.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 11, que se caracteriza porque los citados medios de actuador comprenden un posicionador magnético o piezoeléctrico, operable para provocar la traslación de la lente (44) a lo largo del eje óptico.
 - 13.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 11, que se caracteriza porque los citados medios de actuador comprenden un posicionador magnético o piezoeléctrico, operable para provocar la traslación del espejo (46) a lo largo del eje óptico.
 - 14.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 6, que se caracteriza porque los citados medios de actuador comprenden un posicionador magnético o piezoeléctrico, operable para provocar la traslación del espejo plano (57) a lo largo del eje óptico, con el fin de variar la distancia del mismo respecto al espejo (55) convergente.
 - 15.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 5, que se caracteriza porque el sistema catadióptrico comprende un par de prismas (48) giratorios, interpuestos entre la lente (44) y el espejo (46).
 - 16.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 6, que se caracteriza porque el sistema catóptrico comprende un par de prismas (48) giratorios, interpuestos entre el espejo (55) convergente y el espejo (57) plano.
 - 17.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, que se caracteriza porque los citados medios de actuador están dispuestos para comandar la rotación del citado par de prismas (48) en virtud de la cual se cambia la longitud de la ramificación suplementaria de la trayectoria óptica.
 - 18.- Un microscopio de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que dicho desviador de haz móvil comprende un espejo móvil (28) capaz de girar en torno a dos ejes ortogonales.
- 19.- Un microscopio de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que los citados medios desviadores de haz incluyen un par de espejos móviles independientes capaces de girar en torno a ejes ortogonales respectivos.
 - 20.- Un microscopio de acuerdo con la reivindicación 18 o la reivindicación 19, en el que cada espejo móvil se mueve mediante un posicionador piezoeléctrico o magnético respectivo.
 - 21.- Un microscopio de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que incluye un sistema óptico ocular (32, 34) para la observación por parte de un operario.
- 22.- Un microscopio de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que incluye medios para la iluminación coaxial de la muestra, los cuales incluyen una fuente de iluminación y medios (50) de divisor de haz en la trayectoria óptica y capaces de recibir un haz de luz procedente de la fuente, siendo los citados medios (50) de divisor de haz operables para reflejar el haz de luz, a lo largo del eje óptico del sistema hacia el objetivo (20), y para permitir la transmisión hacia el plano de imagen real o, respectivamente, en la dirección de observación del haz de luz recogido por el objetivo (20).
 - 23.- Un microscopio de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que incluye un elemento reflectante (52) susceptible de ser insertado entre el objetivo (20) y los citados medios desviadores (28) de haz, para acoplar el microscopio a una óptica externa de formación de imágenes, y para la exclusión del haz recogido por el objetivo (20).





