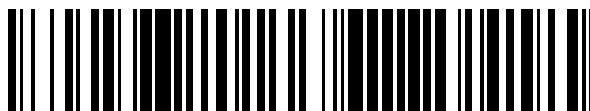


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 757**

51 Int. Cl.:

G02B 21/16

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2007** **E 07703146 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.12.2014** **EP 1979780**

54 Título: **Sistema de microscopio**

30 Prioridad:

30.01.2006 DE 102006004232

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

18.03.2015

73 Titular/es:

CARL ZEISS MEDITEC AG (100.0%)
Göschwitzer Strasse 51-52
07745 Jena , DE

72 Inventor/es:

STEFFEN, JOACHIM;
JESS, HELGE y
HAUGER, CHRISTOPH

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 531 757 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

Sistema de microscopio

La invención se refiere a un sistema de microscopio de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación independiente 1. Dicho con mayor exactitud, la presente invención se refiere a un sistema de microscopio, que es adecuado para

posibilitar una observación secuencial de un objeto de investigación utilizando diferentes colorantes fluorescentes. En el sistema de microscopio se puede tratar, por ejemplo, de un estéreo microscopio y en particular de un microscopio de operaciones.

Los colorantes de fluorescencia, que irradian como consecuencia de una iluminación con radiación de excitación electromagnética de una primera zona de longitudes de ondas (que se designa a continuación como banda de excitación) una radiación de fluorescencia electromagnética de una segunda zona de longitudes de ondas diferente de la primera zona de longitudes de ondas (es decir, la distancia de excitación) (que se designa a continuación como banda de fluorescencia), se emplean en la medicina para diferentes finalidades. Ejemplos son la visibilidad de determinados tipos de tejidos, de estructuras de tejidos, de funciones de tejidos, etc. En este caso, se administra a un paciente a investigar un colorante fluorescente o un precursor de un colorante fluorescente de este tipo. El colorante se enriquece en determinados tipos de tejidos o bien estructuras de tejidos del paciente, y a través de observación de la radiación fluorescente se pueden hacer visibles estas estructuras de tejidos o bien tipos de tejidos o, en cambio, también el proceso del enriquecimiento y se pueden localizar por un observador. A tal fin, se emplean, en caso necesario, medios auxiliares ópticos más especiales (como por ejemplo cámaras de infrarrojos o cámaras-UV y amplificadores ópticos), puesto que la radiación de fluorescencia es, dado el caso, muy débil y/o está fuera del espectro visible visualmente (aproximadamente 380-780 nm).

Un ejemplo de un colorante de fluorescencia adecuado es indocianina verde (ICG). La banda de excitación de la fluorescencia de este colorante fluorescente está entre 400 nm y 780 nm y la banda de fluorescencia está en aproximadamente 830 nm (y, por lo tanto, fuera de la zona visible en la zona infrarroja próxima). Para la investigación microscópica de un tejido enriquecido con ICG por medio de un sistema de microscopio se dispone en una trayectoria de la radiación de iluminación delante de una fuente de luz (por ejemplo, fuente de luz láser o una lámpara de xenon o una lámpara halógena) un filtro pasabanda de iluminación, cuya característica del filtro se selecciona para que deje pasar la radiación de iluminación de la banda de excitación para ICG (400 nm a 780 nm) hacia el tejido. El tejido es reproducido a través de una óptica de microscopio sobre la primera trayectoria de los rayos de observación sobre una cámara infrarroja (cámara-IR), de manera que en la primera trayectoria de los rayos de observación delante de la cámara-IR está dispuesto un filtro pasabanda de observación, que deja pasar radiación electromagnética de la banda de fluorescencia de ICG (aproximadamente 830 nm), pero no deja pasar la radiación de iluminación. Los datos de la imagen generados a través de la cámara-IR se pueden representar a través de procesamiento electrónico de imágenes sobre un monitor en la zona visible, de manera que la primera trayectoria de los rayos de observación permite una observación de la radiación de fluorescencia. Al mismo tiempo se reproduce el tejido a través de la óptica del microscopio sobre una segunda trayectoria de observación sin filtro de observación sobre una cámara de observación (por ejemplo, una cámara-CCD de 3 chips) y/o un ocular, de manera que para la prevención de errores de colores a través de la porción infrarroja de la radiación de fluorescencia delante de la cámara de observación está previsto un filtro de bloqueo de infrarrojos (filtro de bloqueo IR), que no deja pasar longitudes de ondas de más de aproximadamente 700 nm. De esta manera, la segunda trayectoria de los rayos de observación permite una observación del tejido bajo radiación de iluminación. A este respecto se conoce superponer electrónicamente y representar de manera correspondiente la radiación de la cámara-IR y de la cámara de observación de la primera y de la segunda trayectorias de los rayos de observación, respectivamente.

Una estructura correspondiente se conoce, por ejemplo, a partir de la publicación alemana DE 103 39 784 A1.

La observación simultánea descrita anteriormente del objeto de investigación bajo radiación de iluminación y de la radiación de fluorescencia facilita una orientación con respecto al objeto de investigación en una medida considerable. Esto tiene importancia, por ejemplo, en el marco de una operación.

Además, se conoce la utilización de protoporfirina IX como colorante de fluorescencia. La banda de excitación de la fluorescencia de este colorante de fluorescencia está aproximadamente en 400 nm y la banda de fluorescencia está entre aproximadamente 630 y 730 nm. De manera correspondiente se utiliza en un sistema de microscopio para la iluminación un filtro de iluminación formado por dos filtros pasabanda, que deja pasar solamente radiación de iluminación en la banda de longitudes de ondas de 400-430 nm hacia un tejido enriquecido con protoporfirina IX. En una primera trayectoria de los rayos de iluminación está dispuesto un filtro de observación, que deja pasar la radiación de fluorescencia y no deja pasar la radiación de iluminación. Puesto que la banda de fluorescencia se encuentra de forma predominante en la zona visible y solamente se solapa parcialmente con la zona infrarroja de la zona próxima, se puede realizar una observación con una cámara de observación convencional. Si se realiza la observación por medio de una cámara de observación convencional, entonces, sin embargo, no se puede disponer delante de esta cámara de observación ningún filtro de bloqueo-IR, puesto que de lo contrario una parte de la

radiación de fluorescencia no puede llegar a la cámara.

Otros colorantes de fluorescencia son conocidos por el técnico y/o pueden ser hallados fácilmente por el técnico. En este caso, en investigaciones en seres vivos es deseable, además de una intensidad lo más alta posible de la radiación de fluorescencia y una distancia suficiente entre la banda de excitación respectiva y la banda de fluorescencia, adicionalmente una buena compatibilidad y degradabilidad del colorante de fluorescencia en el organismo observado.

A partir de los ejemplos anteriores se muestra claramente que cada colorante de fluorescencia hace necesaria, de acuerdo con su banda de excitación y su banda de fluorescencia, una adaptación de un sistema de microscopio utilizado. Esto se ilustra especialmente con la ayuda de la utilización del filtro de bloqueo-IR delante de la cámara de observación, cuyo filtro de bloqueo-IR debe estar previsto en el caso de utilización de ICG como colorante de fluorescencia delante de la cámara de observación, pero no debe estar previsto en el caso de utilización de protoporfirina IX como colorante de fluorescencia.

En virtud del número grande y, en parte, diferente de filtros necesarios para una observación de fluorescencia, un reequipamiento de un sistema de microscopio para una observación de diferentes colorantes de fluorescencia es muy costoso. Esto tiene como consecuencia que, por ejemplo, en el marco de una operación solamente se utiliza un colorante de fluorescencia, puesto que no está justificado un reequipamiento laborioso del microscopio durante la operación. Con frecuencia tampoco es posible un reequipamiento de este tipo del microscopio por razones de higiene.

Además, existe el peligro de que se mezclen entre sí filtros de diferentes colorantes de fluorescencia durante el reequipamiento de manera errónea y de esta manera se pierda la sintonización de los filtros individuales. Si se utiliza un número diferente de filtros para diferentes colorantes de fluorescencia, en el caso de un reequipamiento del sistema de microscopio entre los colorantes de fluorescencia a través del intercambio de los filtros existe adicionalmente el peligro de que permanezcan por error en el sistema de microscopio o incluso no se utilicen en absoluto.

La utilización de filtros no sintonizados sobre un colorante de fluorescencia utilizado permanece fácilmente inadvertida, puesto que la falta de radiación de fluorescencia se puede atribuir a la ausencia de un enriquecimiento del colorante de fluorescencia en el objeto de investigación (por ejemplo, debido a que no está presente tejido de tumor, etc.). En microscopios de operaciones, un error de este tipo puede tener consecuencias graves para la salud de un paciente, puesto que los tejidos de tumor permanecen en el cuerpo y puede ser necesaria otra operación. Además, existe el peligro de que a un paciente en un ensayo para hacer visible a pesar de todo una radiación de fluorescencia, sean administrada cantidades innecesariamente grandes de colorante de fluorescencia, lo que puede conducir a reacciones alérgicas.

La publicación europea EP 0 339 582 A2 publica un sistema de microscopio con las características del preámbulo de la reivindicación independiente 1.

Partiendo de aquí, el cometido de la presente invención es proporcionar un microscopio y en particular un microscopio de operación, que permite la observación secuencial de radiación de fluorescencia de diferentes colorantes de fluorescencia en un plano del objeto de una manera especialmente sencilla y fiable.

El cometido anterior se soluciona en un sistema de microscopio para la observación de radiación de fluorescencia de diferentes colorantes de fluorescencia en un plano del objeto con las características del preámbulo de la reivindicación 1 a través de las características de la parte de caracterización de la reivindicación independiente 1.

Un sistema de iluminación del sistema de microscopio para la iluminación de un plano del objeto con radiación de iluminación presenta al menos dos estados de funcionamiento diferentes, de manera que en uno de los al menos dos estados de funcionamiento la radiación de iluminación presenta un espectro, que comprende un primer estado de excitación de un primer colorante de fluorescencia y al mismo tiempo está parcialmente libre de una banda de excitación de otro colorante de fluorescencia o en al menos otro estado de funcionamiento la radiación de iluminación presenta un espectro, que comprende la banda de excitación del otro colorante de fluorescencia. Además, también un sistema de observación del sistema de microscopio para la preparación de una primera trayectoria de los rayos de observación para la reproducción óptica del plano del objeto presenta al menos dos estados de funcionamiento diferentes, de manera que en uno de los al menos dos estados de funcionamiento la radiación de observación conducida en la primera trayectoria de los rayos de observación presenta al menos por secciones un espectro, que comprende una primera banda de fluorescencia del primer colorante de fluorescencia y en al menos otro estado de funcionamiento la radiación de observación conducida en la primera trayectoria de los rayos de observación está al menos por secciones parcialmente libre de la primera banda de fluorescencia del primer colorante de fluorescencia.

En esta solicitud se entiende por un espectro, que está parcialmente libre de una banda, que después de una normalización tanto del espectro como también de la banda, menos del 40 % y con preferencia menos de 10 % de la

superficie de la banda está solapado por el espectro.

Además está claro para el técnico que el sistema de iluminación y el sistema de observación pueden presentar, respectivamente, más que dos y también un número diferente de estados de funcionamiento y que el sistema de observación puede presentar más que una sola trayectoria de los rayos de observación.

- 5 Además, el sistema de microscopio presenta un control, que está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación al segundo estado de funcionamiento.

- 10 De esta manera, el control proporciona un acoplamiento (por ejemplo mecánico y/o eléctrico) de los estados de funcionamiento del sistema de iluminación y del sistema de observación. En este caso, se puede iniciar una conmutación de los estados de funcionamiento, por ejemplo, opcionalmente a través del control o, en cambio, se puede realizar tan pronto como se detecta a través del control una modificación de un estado de funcionamiento del sistema de iluminación y/o del sistema de observación. Además, se puede realizar una conmutación de los estados de funcionamiento del sistema de iluminación y del sistema de observación de acuerdo con una forma de realización esencialmente al mismo tiempo, es decir, dentro de un intervalo inferior a 10 segundos y con preferencia inferior a 1 segundo.

- 20 Puesto que el sistema de iluminación y el sistema de observación presentan, respectivamente, al menos dos estados de funcionamiento adaptados en cada caso a diferentes colorantes de fluorescencia, y el control conmuta los estados de funcionamiento del sistema de iluminación y del sistema de observación de forma automática de manera que los estados de funcionamiento están adaptados en cada caso al colorante de fluorescencia a observar, el sistema de microscopio se pueden conmutar de una manera especialmente rápida, sencilla y fiable entre la observación de diferentes colorantes de fluorescencia. Esto permite una observación de diferentes fluorescencias por medio del sistema de microscopio también en condiciones difíciles, como por ejemplo durante una operación. Además, se evita una observación errónea en virtud de la sintonización deficiente del sistema de iluminación y del sistema de observación. A través de la previsión del control de una manera especialmente sencilla y efectiva.

- 30 Además, en la primera trayectoria de los rayos de observación está dispuesto un filtro de bloqueo de infrarrojos soportado por un soporte de filtro de infrarrojos, cuyo soporte de filtro de infrarrojos presenta un primer estado de funcionamiento, en el que el filtro de bloqueo de infrarrojos está dispuesto en la primera trayectoria de los rayos de observación, y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que la primera trayectoria de los rayos de observación está libre del filtro de bloqueo de infrarrojos. En este caso, por un filtro de bloqueo de infrarrojos se enciente un filtro que es no transparente para radiación de infrarrojos de zona próxima y, por ejemplo, para radiación de infrarrojos de zona próxima con una longitud de ondas mayor que 700 nm. En este caso, el control está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación y el soporte de filtro de infrarrojos al primer estado de funcionamiento o tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación y el soporte del filtro de infrarrojos al segundo estado de funcionamiento. De esta manera, el control asegura automáticamente que también el estado de funcionamiento del soporte del filtro de infrarrojos corresponda al colorante de fluorescencia investigado en cada caso.

- 40 Además, en al menos un estado de funcionamiento del sistema de iluminación en una trayectoria de los rayos de iluminación acondicionada por el sistema de iluminación está dispuesto un filtro de iluminación soportado por un soporte de filtro de iluminación, que es permeable para la banda de excitación de un colorante de fluorescencia a observar y al mismo tiempo es esencialmente no transparente para la banda de excitación de otro colorante de fluorescencia.

- 45 En esta solicitud se entiende por un filtro, que es esencialmente permeable para una banda, que el filtro deja pasar radiación en una zona de longitudes de ondas, que comprende al menos 50 % y con preferencia al menos 70 % y de una manera especialmente preferida al menos 90 % de la anchura de la banda, hasta más del 50 % y con preferencia más del 70 % y de una manera especialmente preferida más del 90 % (con relación a la intensidad de la radiación). De manera correspondiente, se entiende por un filtro, que es esencialmente / parcialmente no transparente para una banda, que el filtro deja pasar radiación en una zona de longitudes de ondas, que comprende como máximo 40 % y con preferencia como máximo 20 % y de una manera especialmente preferida como máximo 10 % de la anchura de la banda, hasta más del 50 % (con relación a la intensidad de la radiación).

- 50 Además, de acuerdo con la invención, en al menos un estado de funcionamiento del sistema de observación en la trayectoria de los rayos de observación está dispuesto un filtro de observación soportado por un primer soporte del filtro de observación, que es permeable para la banda de fluorescencia de un colorante de fluorescencia observado y al mismo tiempo es esencialmente no transparente para la banda de fluorescencia de otro colorante de fluorescencia.

De acuerdo con una forma de realización, el sistema de observación puede comprender una segunda trayectoria de los rayos de observación para la reproducción óptica del plano del objeto, en el que en la segunda trayectoria de los

- rayos de observación está dispuesto un segundo soporte del filtro de observación, que lleva al menos otro filtro de observación y es conmutable entre al menos un primer estado de funcionamiento y un segundo estado de funcionamiento, y en el que el control está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación como también el segundo soporte del filtro de observación en el primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto el sistema de iluminación como también el segundo soporte del filtro de observación en el segundo estado de funcionamiento. Por consiguiente, el sistema de microscopio de acuerdo con esta forma de realización puede estar configurado como estéreo microscopio. En este caso, los espectros de la radiación de observación guiados en la primera y en la segunda trayectoria de los rayos de observación pueden ser opcionalmente iguales o diferentes.
- De acuerdo con una forma de realización, al menos un soporte de filtro es conmutable entre un primer estado de funcionamiento, en el que un primer filtro soportado por el soporte de filtro está dispuesto en la segunda trayectoria de los rayos de observación, y al menos un segundo estado de funcionamiento, en el que el primer filtro soportado por el soporte del filtro está dispuesto fuera de la segunda trayectoria de los rayos de observación.
- En este caso, al menos un soporte de filtro puede presentar un elemento de soporte alojado de forma giratoria alrededor de un eje de articulación, y puede estar previsto un accionamiento para la rotación del elemento de soporte, y el al menos un filtro soportado por el soporte de filtro puede estar dispuesto a distancia del eje de articulación sobre el elemento de soporte. De esta manera, el soporte de filtro puede estar configurado como rueda de filtro.
- De manera alternativa o adicional, al menos un soporte de filtro puede presentar un elemento de soporte móvil linealmente y puede estar previsto un accionamiento para mover el elemento de soporte, y el al menos un filtro puede estar dispuesto sobre el elemento de soporte. De esta manera, el soporte de filtro puede estar configurado como filtro de corredera.
- De manera alterativa o adicional, al menos un soporte de filtro puede llevar un filtro, cuyo filtro presenta en un primer estado de funcionamiento del soporte de filtro una primera característica de filtro, y cuyo filtro presenta en un segundo estado de funcionamiento del soporte de filtro una segunda característica de filtro, que es diferente de la primera característica de filtro. De esta manera, el soporte de filtro puede llevar un filtro conmutable (como por ejemplo un filtro-LC conmutable electrónicamente).
- Adicional o alternativamente, al menos un soporte de filtro puede presentar un primer estado de funcionamiento, en el que un filtro soportado por el soporte de filtro forma con un chorro del núcleo de la trayectoria de los rayos correspondiente respectiva (es decir, un rayo de máxima intensidad de la trayectoria de los rayos) un primer ángulo de inclinación, así como puede presentar un segundo estado de funcionamiento, en el que el filtro forma con el chorro del núcleo un segundo ángulo de inclinación diferente del primer ángulo de inclinación, en el que el filtro para radiación guiada en la trayectoria de los rayos correspondiente para los al menos dos ángulos de inclinación diferentes presenta al menos dos características de filtro diferentes, y está previsto un accionamiento para el basculamiento del filtro.
- En este caso, en el marco de esta solicitud se consideran diferentes las características del filtro cuando, respectivamente, al menos un canto del filtro ascendente o descendente de los filtros respectivos (con respecto a aquellas longitudes de ondas, en las que se deja pasar el 50 % de la radiación) está desplazado al menos 20 nm y con preferencia al menos 60 nm y de manera especialmente preferida al menos 180 nm.
- De acuerdo con una forma de realización, respectivamente, el soporte de filtro de iluminación lleva al menos dos filtros de iluminación con diferentes características del filtro, y el primero y/o el segundo soportes de filtro de observación llevan al menos dos filtros de observación con diferentes características de filtro. De acuerdo con una forma de realización, en este caso una característica de filtro respectiva comprende en cada caso la banda de excitación o bien el estado de fluorescencia de un colorante de fluorescencia a observar y excluye al mismo tiempo la banda de excitación o bien la banda de fluorescencia de otro colorante de fluorescencia.
- El al menos un filtro de iluminación y/o el al menos un filtro de observación y/o el filtro de bloqueo de infrarrojos pueden ser, por ejemplo, un filtro de transmisión o un filtro de reflexión. En este caso, por ejemplo, también se pueden utilizar hologramas reflectantes del volumen o divisores del rayo en función de las longitudes de ondas como filtro.
- De acuerdo con otra forma de realización, el sistema de microscopio presenta, además, una fuente de rayos de excitación para la iluminación del plano del objeto con radiación de excitación, en el que la anchura de banda de un espectro de la radiación de excitación es inferior a 300 nm y con preferencia es inferior a 200 nm y comprende esencialmente la banda de excitación de un colorante fluorescente a observar, y en el que la fuente de rayos de excitación presenta un primer estado de funcionamiento, en el que se emite radiación de excitación, y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que no se emite ninguna radiación de excitación, y en el que el control está configurado para conmutar opcionalmente tanto la fuente de rayos de excitación como también el sistema de observación al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto la fuente de rayos de excitación como también el sistema de observación al segundo estado de funcionamiento. Como consecuencia, se puede realizar

una adaptación del estado de funcionamiento del sistema de iluminación a través de la conexión o desconexión, respectivamente, de la fuente de rayos de excitación. De manera alternativa, la fuente de rayos de excitación puede estar prevista también adicionalmente al sistema de iluminación o puede sustituirlo. En este caso, por un espectro, que comprende una banda esencialmente debe entenderse que después de una normalización tanto el espectro como también la banda se solapan más del 50 % y con preferencia más del 70 % y de manera especialmente preferida más del 90 % de la superficie de la banda por el espectro.

De acuerdo con otra forma de realización, el sistema de iluminación comprende, además, una instalación de calibración, cuya instalación de calibración recibe los datos de la imagen generados por la cámara y presenta un primer estado de funcionamiento, en el que calibra en color los datos de la imagen, y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que deja inalterados los datos de la imagen, en el que el control está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación y para conmutar la instalación de calibración al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación y la instalación de calibración al segundo estado de funcionamiento. Por consiguiente, se puede corregir electrónicamente un error de color presente en los datos de la imagen.

De acuerdo con otra forma de realización, el sistema de microscopio presenta, además, una interfaz de comunicación conectada con el control, cuya interfaz de comunicación posibilita una entrada de un colorante fluorescente deseado, respectivamente, y el control controla los estados de funcionamiento de los soportes de filtro y/o de la fuente de rayos de excitación y/o de la instalación de calibración en función de un colorante fluorescente indicado, respectivamente, a través de la interfaz de comunicación de acuerdo con una dependencia predeterminada. Esta dependencia predeterminada puede estar registrada, por ejemplo, en una base de datos del control.

Una forma de realización preferida de la invención se explica en detalle a continuación con la ayuda de dibujos. En este caso:

La figura 1 muestra una representación esquemática de trayectorias de rayos en un sistema de microscopio de acuerdo con una forma de realización de la presente invención.

Las figuras 2A, 2B y 2C muestran representaciones esquemáticas de soportes de filtros, que se pueden utilizar en el sistema de microscopio según la figura 1; y

Las figuras 3A, 3B y 3C muestran características de transmisión de filtros, que son soportados por los soportes de filtros según las figuras 2A, 2B y 2C.

Un sistema de microscopio 1 representado de forma esquemática en la figura 1 comprende una óptica de microscopio 2 con un objetivo 20 con un eje óptico (eje principal,) 21. En un plano del objeto 20 está dispuesto un objeto 22 a investigar. La luz que parte desde el objeto 22 se transfiere desde el objetivo 20 hasta un haz de rayos paralelo, en el que están dispuestos dos sistemas de Zoom 30, 31 dispuestos a distancia del eje óptico 21 y desde el haz de rayos paralelos se proyecta, respectivamente, un haz de rayos parciales y de esta manera forman primeras y segundas trayectorias de observación 33 y 32. Los haces de rayos parciales de las primeras y segundas trayectorias de rayos de observación 33 y 32 son alimentadas a través de oculares 34 de prismas de desviación no representados en la figura 1, en los que un observador mira con su ojo izquierdo 40 o bien su ojo derecho 41, para realizar una representación ampliada del objeto 22 como imagen. A este respecto, la imagen percibida con el ojo izquierdo 40 corresponde a una imagen durante la observación bajo un ángulo α con respecto al eje óptico, y la imagen percibida por el ojo derecho 41 corresponde a una imagen durante la observación del objeto 22 bajo un ángulo $-\alpha$ con respecto al eje óptico 21, de manera que el observador recibe con sus dos ojos 40, 41, en general, una imagen estereoscópica del objeto 22.

En la segunda trayectoria de los rayos de observación 32 está dispuesto un espejo 36 parcialmente transparente, para desacoplar una parte de la luz como rayo. El rayo desacoplado de esta manera se alimenta a un ocular 50, a través del cual un observador secundario puede percibir una representación ampliada del objeto 22 como imagen. De manera alternativa, el rayo se puede conducir también a una cámara, etc.

En la primera y en la segunda trayectoria de los rayos de observación 33, 32 para la reproducción óptica del objeto 22 del sistema de microscopio 1 representado en la figura 1 están dispuestos, respectivamente, un primero y un segundo soportes de filtro de observación 60, 60'. En la figura 1, el primero y el segundo soportes de filtro de observación 60, 60' presentan, respectivamente, discos de aluminio alojados de forma giratoria que llevan, respectivamente, dos filtros de transmisión diferentes 61, 62 o bien 61', 62', así como, respectivamente, un orificio 63 y 63', respectivamente. En lugar de aluminio, los soportes de filtros de observación 60, 60' pueden estar formados, respectivamente, por ejemplo, de plástico duro o de otro material adecuado.

En este caso, los filtros de transmisión 61 y 61' son idénticos con respecto a su característica de filtro respectiva (característica de transmisión) y los filtros de transmisión 62 y 62' son diferentes con respecto a su característica de filtro respectiva. En la forma de realización mostrada, los filtros 61 y 61' presentan la característica de filtro 61c

mostrada en la figura 3A con línea continua, el filtro 62 presenta la característica de filtro 62c mostrada en la figura 3B con línea continua y el filtro 62' presenta la característica de filtro 62c' mostrada en la figura 3B con línea continua. La característica de filtro 61c de los filtros 61, 61' muestra un umbral aproximadamente a 620 nm, por debajo del cual los filtros 61, 61' son esencialmente no transparentes y por encima del cual los filtros 61, 61' no esencialmente transparentes. La característica de filtro 62c y 62c' de los filtros 62, 62' muestra un umbral aproximadamente en 700 nm o bien 900 nm, por debajo del cual los filtros 62, 62' son esencialmente transparentes y por encima del cual los filtros 62, 62' son esencialmente no transparentes.

En las figuras 3A, 3B y 3C se indican, además, la banda de fluorescencia F1 y la banda de excitación A1 del colorante fluorescente protoporfirina IX así como la banda de fluorescencia F2 y la banda de excitación A2 de la sustancia fluorescente ICG (indocianina verde).

Por medio de dos accionamientos 64, 64', que están conectados, respectivamente, con un control 3 y que son controlados por éste, los primeros y los segundos soportes de filtros de observación 60, 60' se pueden conmutar, respectivamente, opcionalmente a un primer estado de funcionamiento, en el que los filtros 61, 61', a un segundo estado de funcionamiento, en el que los filtros 62, 62', y a un tercer estado de funcionamiento, en el que los filtros 63, 63' están dispuestos, respectivamente, en la primera o bien en la segunda trayectoria de los rayos de observación 33, 32. De esta manera, el control 3 puede controlar opcionalmente los primeros y los segundos soportes de filtros de observación 60, 60' por medio de los accionamientos 64 y 64', de manera que en la primera trayectoria de los rayos de observación 33 está dispuesto un filtro con la misma característica de filtro o, en cambio, con una característica de filtro diferente que en la segunda trayectoria de los rayos de observación 32.

Por ejemplo, en el caso de una excitación de ICG introducida en el objeto 22, se puede disponer el filtro 62 en la primera trayectoria de los rayos de observación 33 para posibilitar una observación del objeto 22 bajo radiación de excitación (en general, luz blanca) con bloqueo simultáneo de radiación de infrarrojos de zona próxima. En virtud del bloqueo de la radiación de infrarrojos de zona próxima por encima de 700 nm, el espectro en la primera trayectoria de los rayos de observación 33 en la sección detrás del filtro 62 está parcialmente libre de la banda de fluorescencia de protoporfirina IX. En este caso, por un espectro, que está parcialmente libre de una banda, se entiende que después de una normalización tanto del espectro como también de la banda, menos del 40 % y con preferencia menos de 20 % y de manera especialmente preferida menos del 10 % de la superficie de la banda está solapado por el espectro. Al mismo tiempo, en la segunda trayectoria de los rayos de observación 32, por ejemplo, se puede disponer el orificio 63 para una observación simultánea del objeto 22 bajo radiación de excitación y de la fluorescencia del colorante ICG introducido en el objeto 22.

En este caso, la presente invención no está limitada a los soportes de filtros de observación y a los filtros de observación anteriores. En su lugar, los soportes de los filtros de observación pueden llevar, respectivamente, un número discrecional de filtros con diferentes características de filtros. La figura 2A muestra de forma esquemática una vista sobre un soporte de filtro de observación 60*utilizable de forma alternativa, que presenta tres filtros de observación 61*, 62*, 65* con diferentes características de filtro así como un orificio 63*. En este caso, en el marco de esta solicitud, las características de filtros se consideran diferentes cuando, respectivamente, al menos un canto de filtro ascendente o descendente de los filtros respectivos (con respecto a aquella longitud de onda, en la que se deja pasar exactamente el 50 % de la radiación) está desplazado al menos 20 nm y con preferencia al menos 60 nm y de manera especialmente preferida al menos 180 nm.

A partir de la primera trayectoria de los rayos de observación 33, otro espejo 39 parcialmente transparente desacopla otro rayo, que se transfiere a través de una óptica de adaptación de la cámara 55 sobre una superficie 56' foto sensible 56' de una cámara-CCD 56, de tal manera que ésta puede registrar imágenes del objeto 22 durante la observación bajo un ángulo $-\alpha$ con respecto al eje óptico 21. En este caso, la cámara-CCD 56 no presenta ningún filtro de bloqueo de infrarrojos incorporado fijamente.

En su lugar, en la trayectoria entre el espejo 39 parcialmente transparente y la óptica de la cámara 55 está dispuesto, además, un soporte de filtro de infrarrojos 57, que se representa de forma esquemática en la vista en planta superior en la figura 2B. En este caso, el soporte del filtro de infrarrojos 57 presenta en la forma de realización mostrada en la figura 2B un soporte metálico desplazable linealmente por medio de un accionamiento 58 perpendicularmente al rayo entre dos estados de funcionamiento, que lleva un filtro de bloqueo de infrarrojos 57'. Además, el soporte metálico presenta un orificio 57''. El filtro de bloqueo de infrarrojos 57' es un filtro de reflexión esencialmente opaco para radiación infrarroja de zona próxima con una longitud de ondas mayor de 700 nm con la característica de filtro 57c mostrada de forma esquemática en la figura 3C.

En un primer estado de funcionamiento del soporte de filtro de infrarrojos 57, al filtro de bloqueo de infrarrojos 57' está dispuesto en el rayo entre el espejo 39 parcialmente transparente y la óptica de la cámara 55, y en un segundo estado de funcionamiento, el orificio 57'' está dispuesto en el rayo y éste está libre, por lo tanto, del filtro de bloqueo de infrarrojos 57'. De esta manera, el espectro en la primera trayectoria de los rayos de observación 33 en el primer estado de funcionamiento en la sección entre el filtro de bloqueo de infrarrojos 57' y la cámara-CCD 56 está

parcialmente libre de la banda de fluorescencia de protoporfirina IX.

El accionamiento 58 está conectado con el control 3, que controla a través del accionamiento 58 un estado de funcionamiento respectivo del soporte de filtro de infrarrojos 57.

5 De manera alternativa al soporte de filtro de infrarrojos 57 desplazable linealmente por medio del accionamiento 58 descrito anteriormente se puede utilizar también un soporte de filtro de infrarrojos 57* mostrado de forma esquemática en la figura 2C, que lleva un filtro-LC 57* conmutable eléctricamente a través de control 3, que es opaco en un primer estado de funcionamiento del soporte de filtro 57* para radiación infrarroja de zona próxima con una longitud de ondas mayor de 700 nm y en un segundo estado de funcionamiento para radiación infrarroja de zona próxima con una longitud de ondas mayor de 730 nm.

10 Además, de manera alternativa al soporte de filtro de infrarrojos 57 desplazable linealmente por medio del accionamiento 58, descrito anteriormente, se puede utilizar también un soporte de filtro que lleva un filtro de manera similar al mostrado en la figura 2C, que presenta un primer estado de funcionamiento, en el que un filtro llevado por el soporte de filtro forma con un rayo del núcleo de la trayectoria de rayos correspondiente respectiva un primer ángulo de inclinación, así como un segundo estado de funcionamiento, en el que el filtro forma con el rayo del núcleo
15 un segundo ángulo de inclinación diferente del primer ángulo de inclinación. En este caso, el filtro presenta para radiación guiada en la trayectoria respectiva de los rayos para al menos dos ángulos de inclinación diferentes al menos dos características de filtro diferentes, y está previsto un accionamiento para el basculamiento del filtro. A diferencia del filtro mostrado en la figura 2C, la característica del filtro no se conmuta, por lo tanto, directamente a través de conmutación eléctrica del filtro, sino indirectamente a través de la modificación del ángulo de la radiación
20 que pasa a través del mismo. Un filtro de este tipo puede estar realizado, por ejemplo, a través de un holograma reflectante del volumen.

Aunque el soporte de filtro de infrarrojos 57 está dispuesto en la forma de realización mostrada en la figura 1 directamente delante de la óptica de la cámara 55 y, por lo tanto, delante de la cámara-CCD 56, el soporte de filtro de infrarrojos puede estar dispuesto de manera alternativa en un lugar discrecional entre el objeto 22 y el espejo 39
25 parcialmente transparente en la primera trayectoria respectiva de los rayos de observación 33. De esta manera el soporte de filtro de infrarrojos conmutable entre al menos dos estados de funcionamiento puede estar integrado, por ejemplo, en el espejo 39 parcialmente transparente o en la cámara-CCD 56 o en el primer soporte de filtro de observación 60.

Las imágenes registradas por la cámara-CCD 56 son transmitida como datos de la imagen a través de una línea de
30 datos a una unidad de evaluación (no mostrada).

De acuerdo con la forma de realización mostrada en la figura 1, las imágenes registradas por la cámara-CCD 56 son transmitidas como datos de la imagen a través de una línea adicional de datos a una instalación de calibración 59, para corregir errores de color. La instalación de calibración 59 está conectada con el control 3 y presenta un primer estado de funcionamiento, en el que calibra en color electrónicamente los datos de la imagen para la corrección del error del color (provocado, por ejemplo, a través de radiación de infrarrojos), y los datos de la imagen corregidos de esta manera son transmitidos a la unidad de evaluación. Además, la instalación de calibración 59 presenta un
35 segundo estado de funcionamiento, en el que transmite los datos de la imagen inalterados a la unidad de evaluación. Los dos estados de funcionamiento de la instalación de calibración son controlados a través del control, como se describirá todavía. En el caso de la previsión de una instalación de calibración correspondiente, se puede prescindir también opcionalmente del soporte de filtro de infrarrojos separado.

Además, se manera alternativa, se conoce por el técnico para la corrección de errores de color provocados por radiación infrarroja en datos de la imagen creados por una cámara también un funcionamiento cíclico de una fuente de iluminación que provoca la radiación infrarroja y la lectora contra cíclica de la cámara así como la utilización de una cámara de 3 chips con un divisor del color, que conduce porciones de infrarrojos para la prevención de un error
45 del color provocado por la radiación infrarroja totalmente sobre un canal rojo de la cámara. Además, se conocen por el técnico cámaras con un filtro RR'GB-Bayer, en el que la parte-R del filtro RR'GB-Bayer deja pasar solamente radiación con una longitud de onda inferior a 700 nm y la parte-R' del filtro RR'GB-Bayer deja pasar, por ejemplo, solamente radiación con una longitud de onda entre 700 nm y 730 nm o por ejemplo solamente deja pasar radiación con una longitud de onda de hasta 730 nm. Un filtro RR'GB-Bayer de este tipo permite una lectura separada de una
50 porción infrarroja contenida en una radiación incidente.

En el caso de utilización de los principios alternativos mencionados anteriormente para la corrección de errores de color provocados especialmente a través de radiación infrarroja en datos de la imagen creados por una cámara, se puede prescindir opcionalmente de la previsión del filtro de bloqueo de infrarrojos 57', 57* separado descrito anteriormente delante de la cámara-CCD 56. Además, se puede prescindir opcionalmente de la previsión el filtro de
55 bloqueo de infrarrojos 57', 57* descrito anteriormente delante de la cámara-CCD 56, cuando el filtro 62 soportado por el primer soporte de filtro de observación 60 con la característica de filtro 62c está dispuesto en la primera trayectoria de los rayos de observación 33.

A partir de la segunda trayectoria de los rayos de observación 32, otro espejo 38 parcialmente transparente desacopla otro rayo, que es transferido a través de una óptica de adaptación de la cámara 53 sobre una superficie 54' foto sensible de una cámara infrarroja 54, de tal manera que ésta puede registrar imágenes infrarrojas del objeto 22 durante la observación bajo el ángulo α con respecto al eje óptico 21. A tal fin, en el rayo entre el espejo 38 parcialmente transparente y la óptica de la cámara 53 está dispuesto un filtro de infrarrojos 52. El filtro de infrarrojos 52 es un filtro de reflexión esencialmente transparente para radiación infrarroja de zona próxima con una longitud de onda mayor de 800 nm, con la característica de filtro 52c mostrada de forma esquemática con línea de trazos en la figura 3C. La característica de filtro 52c muestra un umbral aproximadamente en 800 nm, por encima del cual el filtro 52 es esencialmente transparente y por debajo del cual el filtro 52 es esencialmente no transparente. Las imágenes infrarrojas registradas por la cámara de infrarrojos 54 son transmitidas como datos de la imagen a través de una línea de datos a la unidad de evaluación.

De manera alternativa al filtro 52 con la característica de filtro 52c mostrada en la figura 3C, que puede colaborar, en los estados de funcionamiento correspondientes de los soportes de filtros respectivos con el filtro 62' con la característica de filtro 62c', el filtro 52 puede estar configurado también como pasabanda con una zona de paso de aproximadamente 800 nm hasta 900 nm. El filtro 62' se puede suprimir entonces.

La unidad de evaluación transmite las imágenes registradas por las cámaras 54 y 56 como datos de la imagen a través de una línea no mostrada a un monitor 5. A tal fin, la unidad de evaluación transmite los datos de la imagen creados por la cámara infrarroja 54 en primer lugar a la zona visible.

El sistema de microscopio 1 mostrado en la figura 1 presenta, además, un sistema de iluminación 70, que comprende una lámpara de xenon 71, una óptica de iluminación 72, 73 así como un soporte de filtro de iluminación 76. En lugar de la lámpara de xenon 71 se puede emplear también cualquier otro tipo de lámpara, por ejemplo una lámpara halógena.

En la representación de la figura 1, la óptica de iluminación 72, 73 está dispuesta, en efecto, relativamente ajustada al objetivo 20, aunque un eje principal de una trayectoria de los rayos de iluminación 75 acondicionada por la óptica de iluminación 72, 73 se extiende en la representación bajo un ángulo relativamente grande con respecto al eje óptico 21 del objetivo 20 sobre el objeto 22. Tal ángulo relativamente grande entre el eje principal de la trayectoria de los rayos de iluminación 75 y el eje óptico 21 del objetivo puede servir para que en el caso de una investigación, por ejemplo de un tejido (que corresponde al objeto 22), en un fondo de una escotadura profunda en el tejido este fondo no esté suficientemente iluminado y, por lo tanto, la región de interés del objeto 22 no es visible en una medida suficiente. Para tales aplicaciones se selecciona entonces con preferencia una disposición de un sistema de iluminación 70, en el que el eje principal de la trayectoria de los rayos de iluminación 75 se extiende bajo un ángulo más pequeño con respecto al eje óptico 21 sobre el objeto (por ejemplo, en el que el rayo de luz atraviesa lentes del objetivo o en lentes del objetivo están previstas unas escotaduras, que son atravesadas por el rayos de luz de iluminación).

El soporte de filtro de iluminación 76 del sistema de iluminación 70 está dispuesto en la trayectoria de los rayos de iluminación 75. En la forma de realización mostrada, el soporte de filtro de iluminación 76 es un disco circular alojado de forma giratoria y lleva un primer filtro de iluminación 77, que es transparente para la banda de excitación A1 del colorante fluorescente protoporfirina IX y al mismo tiempo es esencialmente no transparente para la banda de excitación A2 del colorante fluorescente ICG. La característica de filtro 77c correspondiente se muestra con línea de trazos en la figura 3A.

En este caso se entiende por un filtro, que es esencialmente transparente para una banda, que el filtro deja pasar radiación en una zona de longitudes de onda, que comprende al menos el 50 % y con preferencia al menos el 70 % y de una manera especialmente preferida al menos el 90 % de la anchura de la banda, de más del 50 % y con preferencia más del 70 % y de una manera especialmente preferida más del 90 % (con respecto a la intensidad de la radiación). De manera correspondiente, por un filtro, que es esencialmente / parcialmente no transparente para una banda, se entiende que el filtro deja pasar radiación en una zona de longitudes de onda, que comprende como máximo el 40 % y con preferencia como máximo el 20 % y de una manera especialmente preferida como máximo el 10 % de la anchura de la banda, de más del 50 % (con respecto a la intensidad de la radiación).

Además, el soporte de filtro de iluminación 76 lleva un segundo filtro de iluminación 78, que presenta la característica e filtro 78c mostrada con línea de trazos en la figura 3B. El segundo filtro de iluminación 78 es transparente, por lo tanto, para radiación entre 400 nm y 780 nm y, por lo tanto, para radiación de las bandas de excitación A1, A2 (y, en general, para luz blanca), y presenta para radiación con una longitud de ondas de más de 780 nm una tasa de transmisión inferior al 5 %.

Además, el soporte de filtro de iluminación 76 lleva un filtro de bloqueo de infrarrojos 74 no transparente para radiación infrarroja por encima de 700 nm, que sirve para impedir un calentamiento excesivo del objeto 22 en el caso de radiación de luz blanca a través de la lámpara de xenon 71. De acuerdo con una forma de realización alternativa no mostrada propiamente, el filtro de bloqueo de infrarrojos 74 puede estar dispuesto también separado del soporte

de filtro de iluminación 76 en la trayectoria de los rayos de iluminación 75 y opcionalmente (comparable con el soporte de filtro de infrarrojos 57) puede presentar varios estados de funcionamiento controlados por el control 3. La característica de filtro del filtro de bloqueo de infrarrojos 74 es comparable a la característica de filtro 57c mostrada en la figura 3C, pero también puede ser diferente de ésta.

- 5 Es evidente que el soporte de filtro de iluminación 76 puede llevar también más o menos de tres filtros de iluminación. Además, el filtro de iluminación 76 puede presentar de manera alternativa adicionalmente también un orificio, para dejar pasar radiación de iluminación no filtrada.

- 10 A través de un accionamiento 79, que está conectado con el control 3, el soporte de filtro de iluminación 76 es conmutable entre un primer estado de funcionamiento, en el que el primer filtro de iluminación 77 llevado por el soporte de filtro de iluminación 76 está dispuesto en la trayectoria de los rayos de iluminación 75, un segundo estado de funcionamiento, en el que el segundo filtro de iluminación 78 del soporte de filtro de iluminación 76 está dispuesto en la trayectoria de los rayos de iluminación 75, y un tercer estado de funcionamiento, en el que el filtro de bloqueo de infrarrojos 74 está dispuesto en la trayectoria de los rayos de iluminación 75.

- 15 Por consiguiente, la radiación de iluminación del sistema de iluminación 70, que está guiada hacia el objeto 22, en el primer estado de funcionamiento del soporte de filtro de iluminación 76 presenta un espectro, que comprende la banda de excitación A1 del colorante fluorescente protoporfirina IX y al mismo tiempo está parcialmente libre de la banda de excitación A2 del colorante fluorescente ICG. Además, la radiación de iluminación del sistema de iluminación 70, guiada hacia el objeto 22, en el segundo estado de funcionamiento del soporte de filtro de iluminación 76 presenta un espectro, que comprende la segunda banda de excitación A2 del colorante fluorescente ICG y corresponde a luz blanca abierta en la forma de realización mostrada hasta 780 nm. En el tercer estado de funcionamiento e realiza una iluminación bajo luz blanca hasta 700 nm, siendo eliminada por filtración la radiación infrarroja de zona próxima para la prevención de un calentamiento excesivo del objeto 22 observado.
- 20

Además, la lámpara de xenon 71 está conectada con el control 3 y presenta un estado de funcionamiento conectado y un estado de funcionamiento desconectado.

- 25 Los filtros 57', 61, 61', 62, 62', 77 utilizados anteriormente pueden ser opcionalmente filtros de transmisión o filtros de reflexión. Además, los filtros anteriores pueden ser opcionalmente filtros pasabanda (ver los filtros 52, 57, 61, 62, 62') o también filtros de muesca (ver los filtros 77, 78).

- 30 El sistema de microscopio 1 mostrado en la figura 1 presenta, además, un diodo 80 para la iluminación del objeto 22 con radiación de excitación 81. En la forma de realización mostrada, se refleja la radiación de excitación 81 sobre un espejo 82 a lo largo del eje principal 21 del objetivo 20. La anchura de banda del espectro de la radiación de excitación 81 generada por el diodo 80 comprende esencialmente la banda de excitación A2 del colorante fluorescente ICG. En este caso, por un espectro, que comprende esencialmente una banda, debe entenderse que después de una normalización tanto del espectro como también de la banda, más del 50 % y con preferencia más del 70 % y de una manera especialmente preferida más del 90 % de la superficie de la banda son solapados por el espectro. El diodo 80 es controlado por el control 3 y presenta un primer estado de funcionamiento, en el que emite radiación de excitación, y un segundo estado de funcionamiento, en el que no emite radiación de excitación.
- 35

El control 3 del sistema de microscopio 1 se forma en la forma de realización mostrada por un microprocesador instalado de manera adecuada de acuerdo con la técnica de programación.

- 40 El control 3 está conectado con un teclado 4, que posibilita una entrada de un colorante fluorescente deseado en cada caso a través de un usuario, por ejemplo en forma de un código. Además, el control 3 está conectado con un monitor 5, para representar un estado de funcionamiento respectivo del control 3. El monitor 5 es utilizado al mismo tiempo por la unidad de evacuación para la representación de datos de la imagen.

- 45 El control 3 controla los estados de funcionamiento respectivos de los soportes de filtro 57, 60, 60', 76, de la lámpara de xenon 71, del diodo 80 así como de la instalación de calibración 59, en función de un colorante fluorescente introducido en cada caso a través del teclado 4 de acuerdo con una dependencia predeterminada. Esta dependencia predeterminada está depositada en una tabla en una base de datos 6 del control 3 e indica para una pluralidad de colorantes fluorescentes los estados de funcionamiento, adecuados en cada caso para una observación, de los soportes de filtros 57, 60, 60', 76, de la lámpara de xenon 71, del diodo 80 así como de la instalación de calibración 59. En este caso, se pueden registrar también diferentes dependencias para el mismo colorante fluorescente para diferentes métodos de investigación.
- 50

El modo de trabajo el control 3 se explica a continuación con la ayuda de tres ejemplos. No obstante, la invención no está limitada a estos ejemplos.

Ejemplo 1

El control 3 recibe a través del teclado un código, que indica que debe realizarse al mismo tiempo una observación

del objeto 22 bajo luz blanca y una observación de un colorante fluorescente ICG.

Después de la obtención de tal código, el control busca en la base de datos 6 una dependencia adecuada de los estados de funcionamiento de los elementos (en el ejemplo: soporte de filtro 57, 60, 60', 76, lámpara de xenon 71, diodo 80 así como instalación de calibración 59) del sistema de microscopio 1.

- 5 Como consecuencia de la dependencia detectada, el control 3 realiza automáticamente un estado de funcionamiento conectado de la lámpara de xenon 71 y controla el accionamiento 79 del sistema de iluminación 70, de manera que el soporte de filtro de iluminación 76 dispone el filtro de iluminación 78 con la característica de filtro 78c en la trayectoria de los rayos de iluminación 75. Como consecuencia, se ilumina el objeto 22 esencialmente con luz blanca, de manera que se evita en gran medida una radiación del objeto con radiación-UV o bien radiación infrarroja.
- 10 Al mismo tiempo, el control 3 controla los accionamientos 64 y 64' automáticamente, de manera que el primer soporte de filtro de iluminación 60 dispone el filtro de observación 62 con la característica de filtro 62c y el segundo soporte de filtro de observación 60' dispone el filtro de observación 62' con la característica de filtro 62c' en la primera o bien en la segunda trayectoria de los rayos de observación 33, 32. De esta manera, ambas trayectorias de los rayos de observación 32, 33 y la cámara-CCD 56 permiten una observación del objeto 22 bajo luz blanca. En la
- 15 primera trayectoria de los rayos de observación 33 tiene lugar, además, una filtración de radiación infrarroja de zona próxima, para evitar un error del color en imágenes registradas por la cámara-CCD 56 como consecuencia de radiación infrarroja. La segunda trayectoria de los rayos de observación 32 permite, además, una observación de la fluorescencia de ICG por medio de la cámara de infrarrojos 54.
- 20 De manera alternativa a la disposición del filtro de observación 62 con la característica de filtro 62c en la primera trayectoria de los rayos de observación 33, el control puede controlar los accionamientos 58 y 64 en función de la base de datos automáticamente también, para que el filtro de bloqueo de infrarrojos 57 y el orificio 63 del primer soporte de filtro de observación 60 estén dispuestos en la trayectoria de los rayos correspondiente.
- Además, alternativamente el control 3 puede controlar la instalación de calibración 59 en función de la base de datos automáticamente, para que calibre en color los datos de la imagen generados por la cámara-CCD 56, para corregir
- 25 un punto de color presente, dado el caso, en virtud de la fluorescencia del colorante fluorescente ICG.

Ejemplo 2

El control 3 recibe a través del teclado un código, que indica que debe realizarse una observación de un colorante fluorescente protoporfirina IX bajo excitación a través de la lámpara de xenon 71.

- 30 Después de la obtención de tal código, el control busca en la base de datos 6 automáticamente una dependencia de los estados de funcionamiento de los elementos del sistema de microscopio 1.
- Como consecuencia de la dependencia detectada, el control 3 realiza automáticamente un estado de funcionamiento conectado de la lámpara de xenon 71 y controla el accionamiento 79 del sistema de iluminación 70, de manera que el soporte de filtro de iluminación 76 dispone el filtro de iluminación 78 con la característica de filtro 77c en la trayectoria de los rayos de iluminación 75. Como consecuencia, se ilumina el objeto 22 esencialmente sólo con
- 35 radiación de excitación para protoporfirina IX, mientras que el espectro de la trayectoria de los rayos de iluminación está parcialmente libre de la banda de excitación de ICG.
- Al mismo tiempo, el control 3 controla los accionamientos 64 y 64' automáticamente, de manera que el primer soporte de filtro de iluminación 60 dispone el filtro de observación 61 y el segundo soporte de filtro de observación 60' dispone el filtro de observación 61' con la característica de filtro 61c respectiva en la primera o bien en la
- 40 segunda trayectoria de los rayos de observación 33, 32. De esta manera, ambas trayectorias de los rayos de observación 32 y 33 permiten una observación de la fluorescencia. Además, en virtud del solape entre las características de filtro 77c y 61c es posible al mismo tiempo una observación estereoscópica el objeto 22.
- Adicionalmente, el control controla el accionamiento 58 automáticamente, de manera que el orificio 57" del soporte de filtro de observación 57 está dispuesto en la trayectoria respectiva de los rayos. Como consecuencia, la cámara-CCD 56 puede registrar la fluorescencia en toda la banda de fluorescencia F1 del colorante fluorescente
- 45 protoporfirina IX. Además, el control 3 controla la instalación de calibración 59, de manera que no calibra en color los datos de la imagen generados por la cámara-CCD 56 con respecto a la radiación infrarroja de zona próxima, sino que solamente amplifica porciones rojas presentes en las imágenes obtenidas. No es posible un error de color en virtud de la radiación infrarroja de la radiación de iluminación, puesto que el espectro de la radiación de iluminación
- 50 en virtud de la característica de filtro 77c del filtro de iluminación 77 está suficientemente distanciado de la zona infrarroja.

Ejemplo 3

El control 3 recibe a través del teclado un código, que indica que debe realizarse una observación de un colorante

fluorescente ICG bajo excitación a través del diodo 80.

Después de la obtención de tal código, el control busca en la base de datos 6 una dependencia adecuada de los estados de funcionamiento de los elementos del sistema de microscopio 1.

Como consecuencia de la dependencia detectada, el control 3 realiza automáticamente un estado de funcionamiento conectado de la lámpara de xenon 71 y adicionalmente controla un estado conectado y desconectado alternativamente del diodo 80. Además, el control 3 controla el accionamiento 79 del sistema de iluminación 70 automáticamente, de manera que el soporte de filtro de iluminación 76 dispone el filtro de bloqueo de infrarrojos 74 en la trayectoria de los rayos de iluminación 75. Como consecuencia, se irradia el objeto 22 alternando o bien sólo a través de la lámpara de xenon 71 con luz blanca o a través de la lámpara de xenon 71 con luz blanca y al mismo tiempo a través del diodo 80 con radiación de excitación para ICG.

Además, el control 3 controla los accionamientos 64 y 64' automáticamente, de manera que el primer soporte de filtro de iluminación 60, el orificio 63 y el segundo soporte de filtro de observación 60' disponen el filtro 62' con la característica de filtro 62c' en la primera o bien en la segunda trayectoria de los rayos de observación 33, 32. Además, el control controla el accionamiento 58, de manera que el soporte de filtro de infrarrojos 57 dispone el filtro de bloqueo de infrarrojos 57' en la trayectoria de los rayos delante de la cámara-CCD 56.

Por consiguiente, el control 3 lee la cámara de infrarrojos 54 de forma sincronizada con una activación del diodo 80 y la cámara-CCD 56 de forma permanente. Las imágenes registradas en las pausas de iluminación del diodo 80 por la cámara-CCD 56 son extraídas a través del control 3 de imágenes registradas en las fases de iluminación del diodo 80 a través de la cámara de infrarrojos 54. De esta manera, se posibilita una separación especialmente nítida entre la imagen de fluorescencia obtenida a través de la cámara de infrarrojos 54 y la imagen del objeto 22 obtenida a través de la cámara-CCD 56 con una observación estereoscópica visual simultánea del objeto.

En la forma de realización mostrada, se lleva a cabo una conmutación de los estados de funcionamiento respectivos a través del control 3 de una manera esencialmente sincronizada. Esto significa que la distancia entre la conmutación del estado de funcionamiento de un primer elemento del sistema de microscopio hasta la conmutación del estado de funcionamiento de un último elemento del sistema de microscopio es inferior a 10 segundos y con preferencia inferior a 5 segundos y de una manera especialmente preferida inferior a 1 segundo.

Alternativamente al control eléctrico 3 descrito anteriormente por medio de un microprocesador, el control 3 puede estar realizado también de una manera analógica o incluso mecánica (por ejemplo por medio de ruedas dentadas y/o cables de tracción).

Además, alternativamente se puede iniciar una conmutación no a través de una entrada por medio del teclado 4, sino porque el control detecta una modificación (realizada manualmente a través de un usuario) de un estado de funcionamiento de al menos un elemento del sistema de microscopio 1 automáticamente a través de sensores adecuados y adapta de manera correspondiente automáticamente los estados de funcionamiento de los restantes elementos del sistema de microscopio 1 de acuerdo con la dependencia predeterminada.

Puesto que el control conmuta los estados de funcionamiento de los elementos del sistema de iluminación y de los elementos del sistema de observación automáticamente de manera que los estados de funcionamiento están adaptados, respectivamente, a un colorante fluorescente a observar, el sistema de microscopio de acuerdo con la invención puede observar de una manera especialmente sencilla y fiable también en condiciones higiénicas difíciles secuencialmente diferentes colorantes fluorescentes. Una observación errónea en virtud de sintonización deficiente del sistema de iluminación y del sistema de observación se evita de una manera especialmente sencilla y efectiva a través de la previsión del control.

Se subraya que la presente invención no está limitada a al sistema de microscopio mostrado en la figura 1 o a la utilización de los colorantes fluorescentes descritos anteriormente.

En resumen, se propone un sistema de microscopio para observar secuencialmente diferentes colorantes fluorescentes enriquecidos en un tejido dispuesto en un plano del objeto. A tal fin, un sistema de iluminación el sistema de microscopio para la iluminación del plano del objeto con radiación de iluminación presenta al menos dos estados de funcionamiento diferentes, de manera en al menos uno de los dos estados de funcionamiento la radiación de iluminación presenta un espectro, que comprende una banda de excitación de un primer colorante fluorescente y al mismo tiempo está parcialmente libre de una banda de excitación de otro colorante fluorescente. Además, también un sistema de observación el sistema de microscopio para la preparación de una primera trayectoria de los rayos de observación para la reproducción óptica del plano del objeto presenta al menos dos estados de funcionamiento diferentes, de manera que en uno de los al menos dos estados de funcionamiento, la radiación de observación guiada en la primera trayectoria de los rayos de observación presenta, al menos por seccione, un espectro, que comprende la banda de fluorescencia del primer colorante de fluorescencia y en al menos otro estado de funcionamiento, la radiación de observación guiada en la primera trayectoria de los rayos de observación está al menos, por secciones, parcialmente libre de la banda de fluorescencia el primer colorante

fluorescente. Además, el sistema de microscopio presenta un control, que está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto el sistema de iluminación como también el sistema de observación al segundo estado de funcionamiento.

5

10

REIVINDICACIONES

- 1.- Sistema de microscopio (1) para la observación de fluorescencias de diferentes colorantes fluorescentes en un plano del objeto (22), en el que el sistema de microscopio (1) comprende un sistema de iluminación (70) para la iluminación del plano del objeto (22) con radiación de iluminación así como un sistema de observación (2) para la preparación de una primera trayectoria de los rayos (33) para la reproducción óptica del plano del objeto (22), en el que el sistema de observación (2) comprende una cámara (56) y un primer soporte de filtro de observación (60), en el que el soporte de filtro de observación (60) lleva al menos dos filtros de observación (61, 62) con diferentes características del filtro (61c, 62c), en el que la característica respectiva del filtro (61c, 62c) comprende, respectivamente, la banda de fluorescencia de un colorante fluorescente a observar y al mismo tiempo excluye parcialmente la banda de fluorescencia de otro colorante de fluorescencia, en el que el sistema de iluminación (70) presenta un primer estado de funcionamiento, en el que la radiación de iluminación presenta un espectro, que comprende una primera banda de excitación (A1) de un primer colorante fluorescente y al mismo tiempo está parcialmente libre de una segunda banda de excitación (A2) de un segundo colorante de fluorescencia diferente del primer colorante de fluorescencia, y en el que el sistema de observación (2) presenta un primer estado de funcionamiento, en el que un primer filtro de observación soportado por el soporte de filtro de observación (60) está dispuesto en la primera trayectoria de los rayos de observación (33) y una radiación de observación guiada en la primera trayectoria de los rayos de observación presenta, por lo tanto, por secciones un espectro, que comprende una primera banda de fluorescencia (F1) del primer colorante fluorescente, en el que el sistema de iluminación (70) presenta al menos un segundo estado de funcionamiento, en el que la radiación de iluminación presenta un espectro, que comprende la segunda banda de excitación (A2) del segundo colorante fluorescente, y en el que el sistema de observación (2) presenta al menos un segundo estado de funcionamiento, en el que un segundo filtro de observación soportado por el soporte de filtro de observación (60) está dispuesto en la primera trayectoria de los rayos de observación (33) y una radiación de observación guiada en la primera trayectoria de los rayos de observación (33) presenta, por lo tanto, por secciones un espectro, que está parcialmente libre de la primera banda de fluorescencia (F1) del primer colorante fluorescente, en el que en al menos un estado de funcionamiento del sistema de iluminación (70) en una trayectoria de los rayos de iluminación (75) acondicionada por el sistema de iluminación (70) está dispuesto un filtro de iluminación (77) soportado por un soporte de filtro de iluminación (76), que es permeable para la banda de excitación (A1, A2) de un colorante fluorescente a observar y al mismo tiempo es esencialmente no transparente para la banda de excitación (A2, A1) de otro colorante fluorescente, y el sistema de iluminación (70) comprende una lámpara, que está configurada para emitir luz blanca, caracterizado por que el primer colorante fluorescente es protoporfirina IX y el segundo colorante fluorescente es indocianina verde, el sistema de iluminación (2) comprende, además, un filtro de bloqueo de infrarrojos (57') soportado por un soporte de filtro de infrarrojos (57), en el que el soporte de filtro de infrarrojos (57) está previsto adicionalmente al soporte de filtro de observación (60) y presenta un primer estado de funcionamiento, en el que la primera trayectoria de los rayos de observación (33) delante de la cámara (56) está libre del filtro de bloqueo de infrarrojos (57') y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que el filtro de bloqueo de infrarrojos (57') está dispuesto en la primera trayectoria de los rayos de observación (33) delante de la cámara (56), y el sistema de microscopio (1) presenta, además, un control (3), que está configurado para conmutar tanto el sistema de iluminación (70) como también el sistema de observación (2) y el soporte del filtro de infrarrojos (57) al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto el sistema de iluminación (70) como también el sistema de observación (2) y el soporte de filtro de infrarrojos (57) al segundo estado de funcionamiento.
- 2.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con la reivindicación 1, en el que en al menos un estado de funcionamiento del sistema de observación (2) en la primera trayectoria de los rayos de observación (33) está dispuesto un filtro de observación (62) soportado por un primer soporte de filtro de observación (60), que es permeable para la banda de fluorescencia (F1) de un colorante fluorescente observada y al mismo tiempo para la banda de fluorescencia (F2) de otro colorante fluorescente es esencialmente no transparente.
- 3.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el sistema de observación (2) comprende una segunda trayectoria de los rayos de observación (32) para la reproducción óptica del plano del objeto (22), en el que en la segunda trayectoria de los rayos de observación (32) está dispuesto un segundo soporte de filtro de observación (60'), que lleva al menos otro filtro de observación (61', 62') y es conmutable entre un primer estado de funcionamiento y un segundo estado de funcionamiento, y en el que el control (3) está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación (70) como también el segundo soporte de filtro de observación (60') en el primer estado de funcionamiento o tanto el sistema de iluminación (70) como también el segundo soporte de filtro de observación (60') al segundo estado de funcionamiento.
- 4.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el segundo soporte de filtro de observación (60') lleva en el segundo estado de funcionamiento un filtro (62'), que permite una observación de la fluorescencia del segundo colorante fluorescente.
- 5.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con la reivindicación 3 ó 4, en el que al menos un soporte de filtro (60') es conmutable entre un primer estado de funcionamiento, en el que un primer filtro (61') soportado por el soporte de filtro (60') está dispuesto en la segunda trayectoria de los rayos de observación (32) y al menos un segundo estado

de funcionamiento, en el que el primer filtro (61') soportado por el soporte de filtro (60') está dispuesto fuera de la segunda trayectoria de los rayos de observación (32).

5 6.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que al menos un soporte de filtro (60, 60', 76) presenta un elemento de soporte alojado de forma giratoria alrededor de un eje de articulación (A), y un accionamiento (64, 64', 79) para la rotación del elemento de soporte, y el al menos un filtro (61, 61', 77) soportado por el soporte de filtro (60, 60', 76) está dispuesto, a distancia del eje de articulación (A) sobre el elemento de soporte.

10 7.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que al menos un soporte de filtro (57) presenta un elemento de soporte móvil linealmente, y está previsto un accionamiento (58) para el movimiento del elemento de soporte, y el al menos un filtro (57') está dispuesto sobre el elemento de soporte.

8.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que al menos un soporte de filtro (57*) lleva un filtro (57**), cuyo filtro (57**) presenta en un primer estado de funcionamiento del soporte de filtro (57*) una primera característica de filtro, y cuyo filtro (57**) presenta en un segundo estado de funcionamiento del soporte de filtro (57*) una segunda característica de filtro, que es diferente de la primera característica de filtro.

15 9.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, en el que al menos un soporte de filtro presenta un primer estado de funcionamiento, en el que un filtro soportado por el soporte de filtro forma con un chorro del núcleo de la trayectoria de los rayos correspondiente, respectivamente, un primer ángulo de inclinación, así como presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que el filtro forma con el chorro del núcleo un segundo ángulo de inclinación diferente del primer ángulo de inclinación, en el que el filtro para radiación guiada en la trayectoria de los rayos correspondiente para los al menos dos ángulos de inclinación diferentes presenta al menos dos características de filtro diferentes, y está previsto un accionamiento para el basculamiento del filtro.

20 10.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el soporte de filtro de iluminación (76) lleva al menos dos filtros de iluminación (77, 78) con diferentes características de filtro, y en el que el primero y/o el segundo soporte de filtro de observación (60, 60') lleva al menos dos filtros de observación (61, 61', 62, 62') con diferentes características de filtro.

25 11.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el al menos un filtro de iluminación (77) y/o el al menos un filtro de observación (61, 61', 62, 62') y/o el filtro de bloqueo de infrarrojos (57') comprenden un filtro de transmisión o un filtro de reflexión.

30 12.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, en el que el sistema de microscopio (1) presenta, además, una fuente de rayos de excitación (80) para la iluminación del plano del objeto (2) con radiación de excitación, en el que la anchura de banda de un espectro de la radiación de excitación es inferior a 200 nm y con preferencia es inferior a 100 nm y comprende esencialmente la banda de excitación (A2) de un colorante fluorescente a observar, y en el que la fuente de rayos de excitación (80) presenta un primer estado de funcionamiento, en el que se emite radiación de excitación, y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que no se emite ninguna radiación de excitación, y en el que el control (3) está configurado para conmutar opcionalmente tanto la fuente de rayos de excitación (80) como también el sistema de observación (2) al primer estado de funcionamiento o para conmutar tanto la fuente de rayos de excitación (80) como también el sistema de observación (2) al segundo estado de funcionamiento.

40 13.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, en el que el sistema de iluminación (70) comprende, además, una primera cámara (56) dispuesta en la primera o en la segunda trayectoria de los rayos de observación (33, 32) para la generación de datos de la imagen, así como una instalación de calibración (59), cuya instalación de calibración (59) recibe los datos de la imagen generados por la cámara (56) y presenta un primer estado de funcionamiento, en el que los datos de la imagen están calibrados en color, y presenta un segundo estado de funcionamiento, en el que deja inalterados los datos de la imagen, y en el que el control (3) está configurado para conmutar opcionalmente tanto el sistema de iluminación (70) como también el sistema de observación (2) y la instalación de calibración (59) a la primer estado de funcionamiento o conmutar tanto el sistema de iluminación (70) como también el sistema de observación (2) y la instalación de calibración (59) al segundo estado de funcionamiento.

50 14.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el sistema de microscopio (1) presenta, además, una interfaz de comunicación (4) conectada con el control (3), cuya interfaz de comunicación (4) posibilita una entrada de un colorante fluorescente deseado, respectivamente, y en el que el control (3) controla los estados de funcionamiento de los soportes de filtro (57, 60, 60', 76) y/o de la fuente de rayos de excitación (80) y/o de la instalación de calibración (57) en función de un colorante fluorescente indicado, respectivamente, a través de la interfaz de comunicación (4) de acuerdo con una dependencia predeterminada.

55 15.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el sistema de observación (2) comprende al menos una segunda cámara (54) y un filtro (52) dispuesto delante de la segunda

cámara (54), en el que a la segunda cámara (54) se puede alimentar a través del filtro (52) una radiación de observación conducida desde la segunda trayectoria de los rayos de observación (32), y en el que el filtro (52) es un filtro de infrarrojos esencialmente permeable para radiación de infrarrojos de zona próxima o un filtro pasabanda con una zona de paso para longitudes de ondas entre 800 nm y 900 nm.

- 5 16.- Sistema de microscopio (1) de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 15, en el que la lámpara del sistema de iluminación (70) es una lámpara de xenón (71) o una lámpara halógena.

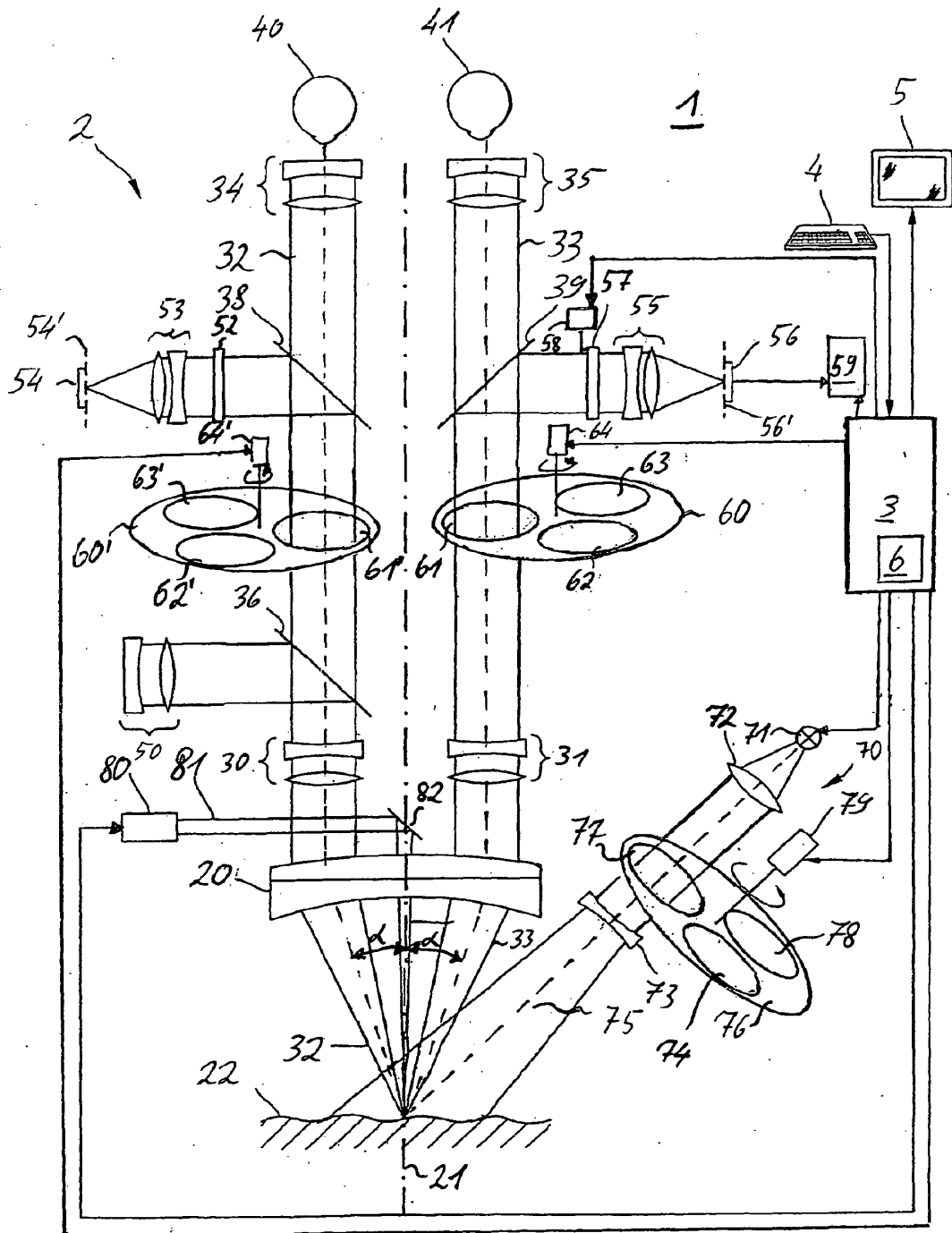
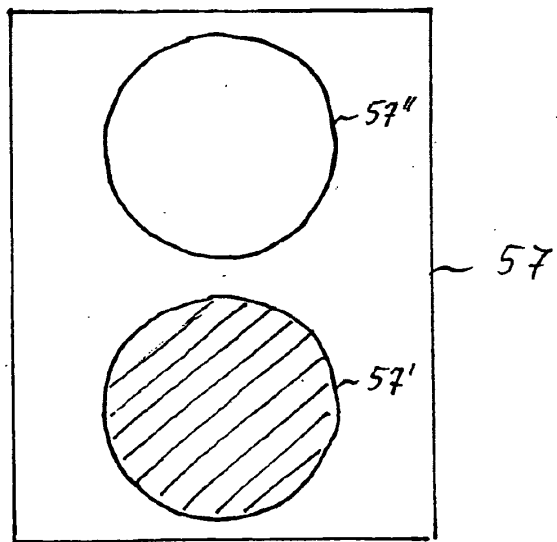
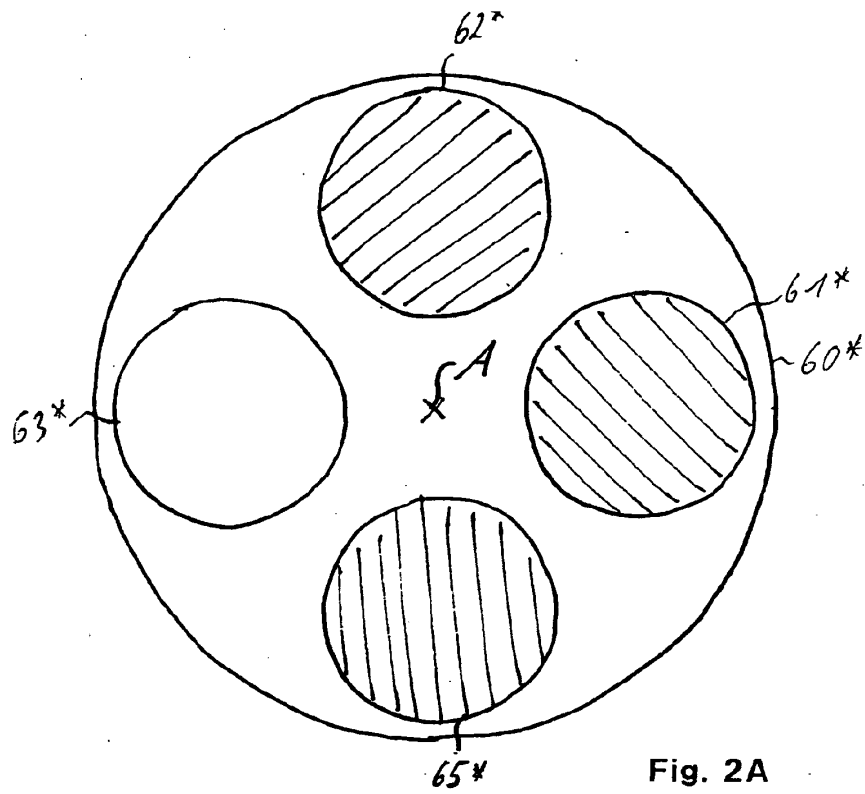


Fig. 1



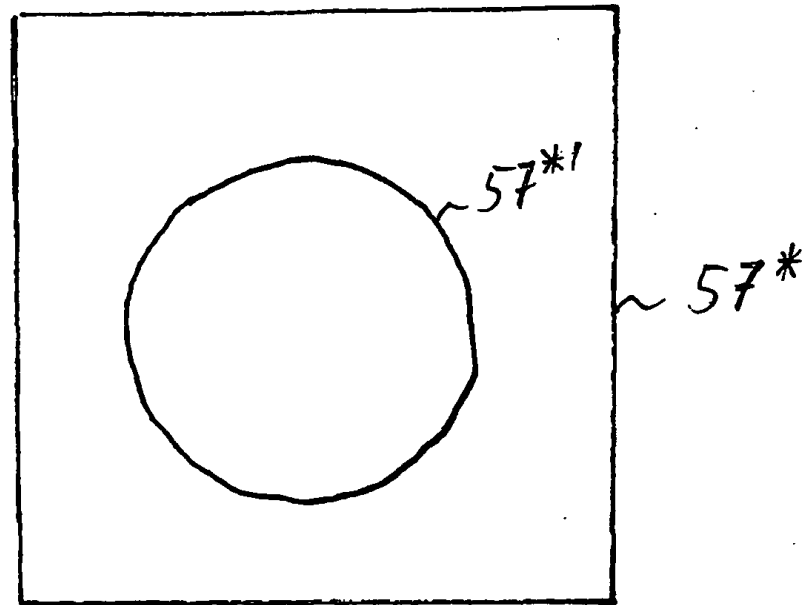


Fig. 2C

