

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
26. Juni 2003 (26.06.2003)

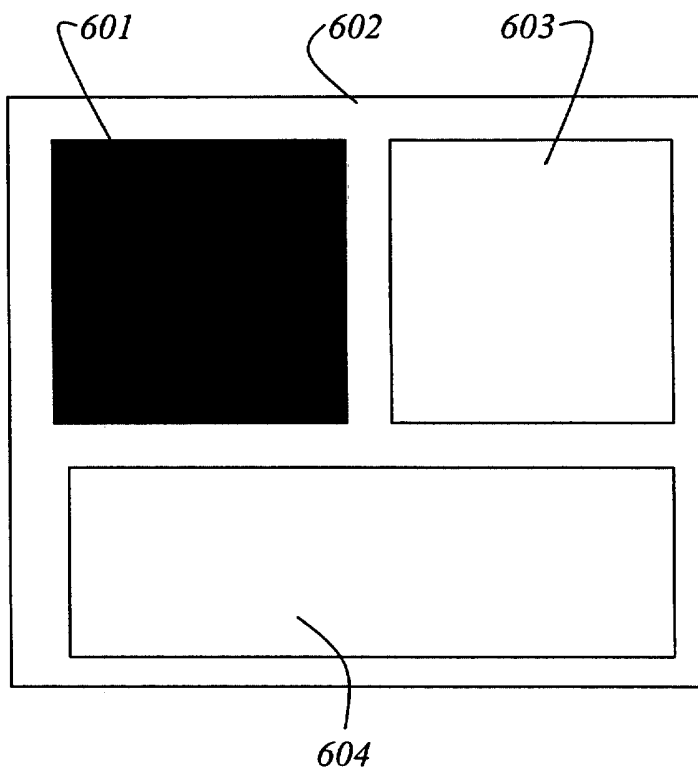
PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/052694 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G06T 7/00**
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/13914
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
9. Dezember 2002 (09.12.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
101 61 613.9 15. Dezember 2001 (15.12.2001) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **LEICA MICROSYSTEMS HEIDELBERG GMBH** [DE/DE]; Am Friedensplatz 3, 68165 Mannheim (DE).
- (72) Erfinder; und  
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **OLSCHEWSKI, Franck** [DE/DE]; Mühlweg 9, 69118 Heidelberg (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): CN, JP, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).
- Veröffentlicht:**  
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR SELF-MONITORING A MICROSCOPE SYSTEM, MICROSCOPE SYSTEM, AND SOFTWARE FOR SELF-MONITORING A MICROSCOPE SYSTEM

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR SELBSTÜBERWACHUNG EINES MIKROSKOPSYSTEMS, MIKROSKOPSYSTEM UND SOFTWARE ZUR SELBSTÜBERWACHUNG



(57) Abstract: The invention relates to a method, a software, and a microscope system for monitoring and controlling loss of information. The observation of unavailable information and the comparison between ideal loss and real loss enables an explanation component to be produced by means of a control quantity. The microscope system informs the user in a suitable manner, e.g. by means of a display, of the defined actions to carry out in order to eliminate the defect.

(57) Zusammenfassung: Diese Erfindung umfasst ein Verfahren, eine Software und ein Mikroskopsystem zur Überwachung und Kontrolle von Informationsverlust. Die Beobachtung nicht vorhandener Information und der Vergleich Idealverlust zu Realverlust erzeugt eine Erklärungskomponente durch eine Regelmenge. Der Benutzer wird in geeigneter Art und Weise von Mikroskopsystem z.B. über ein Display angewiesen bestimmte Aktionen auszuführen, um den Mangel zu beseitigen.



WO 03/052694 A2

**Verfahren zur Selbstüberwachung eines Mikroskopsystems,**  
**Mikroskopsystem und Software zur Selbstüberwachung**

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Selbstüberwachung eines Mikroskopssystems.

- 5 Des weiteren betrifft die Erfindung ein Mikroskopsystem und eine Software zur Selbstüberwachung eines Mikroskopsystems. Wobei das Mikroskopsystem ein Scanmikroskop aufweist, das einen Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengang definiert, dass im Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengang mehrere, eine optische Konfiguration festlegende,  
10 Mittel vorgesehen sind, und dass das Scanmicroskop mit einem Steuerrechner verbunden ist, der ein Display aufweist.

Das Dokument Kundur, Hatzinakos (1996), Blind Image Deconvolution: „An Algorithmic Approach to Practical Image Restoration“. IEEE Signal Processing Magazine, May 1996 beschreibt neben vielen anderen beispielhaft den  
15 zugrundeliegenden Stand der Technik zur Beurteilung und Verbesserung optisch bandlimitierender Systeme ohne Vorwissen. In Publikationen wie Bovic (2000) Handbook of Image and Video Processing, Academic Press wird der Stand der Technik zur Verbesserung der Bilddaten optisch bandlimitierter Systeme unter Nutzung von Vorwissen ausführlich beschrieben. Durch  
20 derartige - dort ausführlich beschriebenen und diskutierten – Gattungen von algorithmischen Komponenten, die vorteilhafterweise als Software realisiert werden, erschliesst sich die Möglichkeit die von einem Mikroskopsystem gelieferten Bilddaten zu verbessern, aber auch die Betriebsweise des Mikroskopsystems selber zu überwachen. Die Lehre dieser Erfindung ist die  
25 geeignete Verknüpfung technischer Mittel um aus einer derartigen Überwachung Handlungsanweisungen für Benutzer zum Zwecke der

Ergonomieerhöhung zu schaffen. Insbesondere Trainingszeiten sollen minimiert werden und damit eine Wertsteigerung des Mikroskopsystems erzielt werden. Der in obigen Publikationen erwähnte Stand der Technik wird hier im wesentlichen so angesehen, als wäre er in dieser Beschreibung  
5 enthalten.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde ein Verfahren zu schaffen, mit dem schnell ein Benutzer eines Mikroskops zu einer optimalen von Fehlern bereinigten Abbildung eines Objekts gelangen kann. Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren mit den Merkmalen des kennzeichnenden Teils  
10 des Anspruchs 1.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es ein Scanmikroskop zu schaffen, mit dem ein Benutzer des Scanmikroskops schnell zu einer optimalen, von Fehlern bereinigten Abbildung eines Objekts gelangt. Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Mikroskop gelöst, das die Merkmale des kennzeichnenden  
15 Teils des Anspruchs 11 umfasst.

Eine zusätzliche Aufgabe der Erfindung ist es eine Software schaffen, mit der ein Scanmikroskop bei der Endkontrolle in der Produktion bezüglich der Qualität überprüft werden kann, oder mit der eine schnelle, optimale Bilderfassung auch durch einen weniger geübten Benutzer möglich ist. Die  
20 vorstehende Aufgabe wird gelöst durch eine Software, die durch die kennzeichnenden Merkmale des Anspruchs 15 bestimmt ist.

Es ist von Vorteil, dass eine einfache Nutzung für den Anwender (Erhöhung der Ergonomie), der Reduktion der Fehlerrate (Sicherheit) und Reduktion der Lernzeit (Kosten) erreicht wird. Hinzu kommt, dass die Erfindung ebenfalls für  
25 ist die Diagnose von Fertigungsfehlern während der Montage von Mikroskopen eingesetzt werden kann. Ist nämlich eine optische Komponente des Mikroskops nicht richtig eingebaut oder justiert, so kommt es zu Abbildungsfehlern. Die Erfindung ermöglicht dann ein schnelles Auffinden der Fehlerquellen. Die Erfindung führt zum erfolgreichen Mikroskopieren und  
30 erzielt eine bessere Akzeptanz des Systems bei den Benutzern. Den vollen Nutzen der im Stand der Technik beschriebenen losen Sammlung von Einzelfunktionen enthält der Benutzer nur, wenn alle einzelnen Komponenten

in ein Gesamtsystem eingebunden sind, die notwendigerweise durch eine intelligente Verquickung von Software- und Hardwarekomponenten realisiert ist. Das meiste des Verfahrens lässt sich sowohl in einem Steuerrechner als auch in Elektronik /FPGAs / DSP realisieren. Das Verfahren, das System und  
5 die Software finden Anwendung bei Scan-Mikroskopen (Confocal, Multiphoton), CCD-Fluoreszenz-Mikroskopen und 4-Pi-Mikroskopen.

Besonders Vorteilhaft ist es wenn das Verfahren die folgenden Schritte umfasst:

- 10 - Übermitteln der ausgewählten optischen Konfiguration an einen Steuerrechner;
- Aufnehmen eines Bildes einer Probe mit dem Scanmikroskop
- Berechnen der Fouriertransformierten des Bildes
- Bestimmung der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion,
- 15 - Vergleichen der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion, und
- Auswerten und Anzeigen der Vergleichsergebnisse.

Das Vergleichen der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes  
20 mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion liefert einen Satz von Merkmalen liefert, die für die weitere Auswertung herangezogen werden. Dabei kann die Auswertung aus der Anzeige von Merkmalen auf einem Display bestehen. Ebenso kann die Auswertung der Merkmale durch Inferenz über eine  
25 Erläuterungsdatenbank eine Erklärung bestimmt und die Ergebnisse angezeigt werden. In vorteilhafter Weise werden sie Auflösungsgrenzen dadurch bestimmt, dass durch eine mathematische Transformation die Minima in der Fouriertransformierten des Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion maximiert und die restlichen Werte unterdrückt werden. Dabei kann die  
30 Optische-Transfer-Funktion einer Datenbank entnommen werden.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

- Fig. 1 eine schematische Darstellung eines Mikroskopssystems gemäß der Erfindung,
- 5 Fig. 2 ein Blockdiagramm des erfindungsgemäßen Verfahrens,
- Fig. 3 eine schematische Darstellung des Verfahrens mit einer Visualisierung der Auswirkung auf die aufgenommenen Bilddaten,
- Fig. 4 erläutert das Prinzip der Inferenz, und
- 10 Fig. 5 eine schematische Darstellung eines User-Interfaces, über das der Benutzer ein Feedback zu seinen Einstellungen des Mikroskops bzw. Messungen erhält.

In Fig. 1 ist das Ausführungsbeispiel eines konfokalen Scanmikroskops 100 schematisch gezeigt. Dies soll jedoch nicht als Beschränkung der Erfindung  
15 aufgefasst werden. Es ist dem Fachmann hinlänglich klar, dass die Erfindung auch mit einem konventionellen Mikroskop oder konventionellen Scanmikroskop realisiert werden kann. Der von mindestens einem Beleuchtungssystem 1 kommende Lichtstrahl 3 definiert einen Beleuchtungslichtstrahl 4, der von einem Strahlteiler oder einem geeigneten  
20 Umlenkmittel 5 zu einem Scanmodul 7 reflektiert wird. Bevor der Beleuchtungslichtstrahl 4 auf das Umlenkmittel 5 trifft, passiert dieser ein Beleuchtungspinhole 6. Das Scanmodul 7 umfasst einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 9, der den Beleuchtungslichtstrahl 4 durch eine Scanoptik 12 und eine Mikroskopoptik 13 hindurch über bzw. durch ein Objekt  
25 15 führt. Der Beleuchtungslichtstrahl 4 wird bei nicht transparenten Objekten 15 über die Objektoberfläche geführt. Bei biologischen Objekten 15 (Präparaten) oder transparenten Objekten kann der Beleuchtungslichtstrahl 4 auch durch das Objekt 15 geführt werden. Zu diesen Zwecken werden nichtleuchtende Präparate ggf. mit einem geeigneten Farbstoff präpariert  
30 (nicht dargestellt, da etablierter Stand der Technik). Dies bedeutet, dass verschiedene Fokusebenen des Objekts nacheinander durch den

Beleuchtungslichtstrahl 4 abgetastet werden. Die nachträgliche Zusammensetzung ergibt dann ein dreidimensionales Bild des Objekts. Der vom Beleuchtungssystem 1 kommende Lichtstrahl 3 und der Beleuchtungslichtstrahl 4 sind als durchgezogene Linie dargestellt. Das vom Objekt 15 ausgehende Licht definiert einen Detektionslichtstrahl 17. Dieser gelangt durch die Mikroskopoptik 13, die Scanoptik 12 und über das Scanmodul 7 zum Strahlteiler 5, passiert diesen und gelangt über ein Detektionsspinnhole 18 auf mindestens einen Detektor 19, der hier als Photomultiplier ausgeführt ist. Es ist dem Fachmann klar, daß auch andere Detektionskomponenten wie Dioden, Diodenarrays, CCD Chips oder CMOS Bildsensoren eingesetzt werden können. Der vom Objekt 15 ausgehende bzw. definierte Detektionslichtstrahl 17 ist in Fig. 1 als gestrichelte Linie dargestellt. Im Detektor 19 werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt ausgehenden Lichtes proportionale Detektionssignale erzeugt und an einen Steuerrechner 23 weitergegeben. Die im Scanmodul 7 mit Hilfe eines induktiv oder kapazitiv arbeitenden Positionssensors 11 erfassten Positionssignale werden ebenfalls an den Steuerrechner 23 übergeben. Es ist für einen Fachmann selbstverständlich, dass die Position des Scanspiegels 9 auch über die Verstellsignale ermittelt werden kann. Dem Steuerrechner 23 ist ein Display 27 zugeordnet, auf dem der Benutzer Hinweise zur Einstellung des Mikroskopsystems entnehmen kann. Ferner ist mit dem Steuerrechner 23 eine Tastatur 28, eine Einstellvorrichtung 29 für die Komponenten des Mikroskopsystems und eine Maus 30 verbunden.

Die Abbildungseigenschaften von Mikroskopen auch Scanmikroskopen sind durch die physikalischen Eigenschaften der optischen Abbildung, der Güte der im Mikroskop eingebauten optischen Komponenten, der Probe und deren Umgebung (Einbettmedium) bestimmt. Diese Werte sind teilweise bekannt aber auch teilweise unbekannt. Zum a priori Wissen gehört in der Regel das optische Design des für die Abbildung verwendeten Mikroskops und die damit verbundenen und gewünschten Abbildungseigenschaften. Zum nicht vorab bekannten Wissen (a priori knowledge) gehören die Effekte innerhalb der Probe (z.B. Brechungsindex, Streuung) und in den Randgebieten (optimale Anpassung der Brechungsindices).

Bei der Konfiguration von Mikroskop-Systemen durch den Anwender oder Benutzer wird immer nur mit derart beschränktem Wissen gearbeitet. Eventuell macht der Anwender systematische Fehler aufgrund von Unwissen oder in der Probe selber treten nicht erwartete Effekte auf. Bewertet werden

5 kann das Ergebnis in der Regel nur durch das erfasste Bild selber, wobei evtl. das Wissen eines Fachmanns notwendig ist. In der Regel werden, wenn die gemessenen Bilddaten unbefriedigend sind, die Konfiguration und die Aufnahmeparameter in einer aufwendigen „Trial-and-Error“ Prozedur angepasst. Der Fachmann bringt die Beobachtung mit dem mental

10 vorhandenen Systemmodell in Einklang, indem er aus den Beobachtungen Erklärungshypothesen generiert und diese mit dem durch Ausbildung und Erfahrung gewachsenen Wissen auf Plausibilität prüft. Dieser Vorgang lässt sich, wie weiter unten gezeigt wird, automatisieren, indem man eine Datenbank mit Fakten und Regeln bereitstellt, welche die

15 Beobachtungsgrößen geeignet miteinander verknüpft und einer Inferenzmaschine zugänglich macht, die systematisch und iterativ die Fakten und Regeln durcharbeitet bis keine weiteren Fakten aus den initialen Fakten und den bereitgestellten Regeln mehr ableiten lassen. Erklärungen und Tips für den Benutzer sind als Teilmenge der abgeleiteten Fakten aufzufassen.

20 Durch den Einbezug statistischer Methoden lassen sich - durch Auswertung der Fakten, die aus der statistischen Menge erfasster Pixel eines Bildes gewonnen werden - auch Signifikanzaussagen generieren. Derartige statistische Heuristiken erlauben eine zusätzliche Absicherung der generierten Erklärungen wodurch das automatisiertes Verfahren deutlich mehr leisten

25 kann als der Experte, der häufig unbewusst und aus dem Bauch heraus arbeitet, ohne ein explizites Erklärungsmodell liefern zu können. Selbstverständlich hängt die Leistungsfähigkeit eines derartigen Systems von der gewählten Implementierung und deren Qualität ab, die diese Meldung als Freiheitsgrad offenlässt und nicht weiter definiert.

30 In Fig 2 ist ein Blockdiagramm des erfindungsgemäßen Verfahrens dargestellt mit dem eine schnelle und optimale Einstellung eines Scanmikroskops erreicht wird. Die Qualität der Bilddaten und die Gesamtdauer des Arbeitsprozesses bis ein gutes Bild entsteht, sind die Kenngrößen an denen sich Laien und

Experten messen lassen müssen. Das erfindungsgemäße Verfahren unterstützt dabei einen Laien und unterbreitet ihm eine Vielzahl von Vorschlägen, wie eine optimale Abbildung oder Einstellung erreicht werden kann. Aus den aufgenommenen Bilddaten (Messungen) kann man auf die

5 Defekte der Bildgebung indirekt schließen, indem man Theorie mit Messung vergleicht. Das erfindungsgemäße Verfahren lässt sich am besten an Hand des Blockdiagramms (Fig. 2) beschreiben. Zuerst erfolgt das Übermitteln 300 der ausgewählten optischen Konfiguration des Mikroskops an den Steuerrechner 23. Dies ist erforderlich, da der Steuerrechner 23 in einem

10 eigens dafür vorgesehenen Speicherbereich die Konfiguration ablegt, damit sie jederzeit für die nachfolgend notwendigen Berechnungen abgerufen werden kann. Es ist dem Fachmann hinreichend bekannt, daß derartige Übermittlungen in einem Mikroskop auch zu Zwecken der automatisierten Mikroskopkonfiguration und insbesondere während der normalen Arbeit

15 stattfindet. In einer besonders eleganten Implementierung dieser Erfindung wird natürlich nur einmal ein Satz von Konfigurationsdaten an die verschiedenen Komponenten übertragen, wobei alle nicht direkt mit dieser Meldung zusammenhängenden Komponenten nicht dargestellt sind. Die optische Konfiguration kann, ohne hier eine abschließende Liste zu geben,

20 folgende Elemente umfassen: die numerische Apertur des verwendeten Objektivs, die Vergrößerung des verwendeten Objektivs, den Brechungsindex des Immersionsmediums, die Zwischenvergrößerung der Mikroskopoptik, die Form der Apertur, die Wellenlänge der Beleuchtung, die Wellenlänge der Detektion, die Anzahl Abtastpunkte pro Richtung (x,y,z) etc. Die konkrete

25 Menge an relevanten Parametern der optischen Abbildungskonfiguration hängt natürlicherweise von der im System implementierten optischen Konfiguration ab, und kann bei unterschiedlichen Ausprägungen variieren. Als Beispiel sei ein spektral detektierendes Konfokalmikroskop mit einem filterbasierten Konfokalmikroskop verglichen, wobei einmal der spektrale

30 Detektionszweig und das anderemal die optischen Filtercharakteristiken berücksichtigt werden müssen. Ein weiteres Beispiel sei der Vergleich eines punktförmig abtastenden Konfokalmikroskops mit einer CCD basierten Wide-field Mikroskop Lösung, in der die Bildformate (Abtastpunkte pro



Abtastfreiheitsgrad) einmal völlig frei gewählt werden können und bei CCD Systemen relativ fix sind. Es ist selbstverständlich, dass die optische Konfiguration von Benutzer auch durch Eingabe an den Steuerrechner 23 übergeben werden kann, was im Sinne dieser Meldung auch als Übermittlung  
5 300 verstanden wird. Ebenso ist es denkbar, dass bei einer während der Arbeitsprozesses geänderten optischen Konfiguration, diese automatisch an dem Steuerrechner 23 übergeben werden kann, was im Sinne dieser Meldung auch als Übermittlung 300 verstanden wird. Dem Fachmann ist bei jeder Form von Realisierung auch eine Übermittlung 300 der Parameter aus  
10 unterschiedlichen Softwarekomponenten in eine zentrale für diesen Prozess zuständige Komponente auf dem Steuerrechner stattfindet geläufig. Zur Vereinfachung wird Steuerrechner auch als Synonym für diese Komponente genutzt in dem Sinne das er Software- und Hardwarekomponenten beinhaltet. Der Steuerrechner beinhaltet speziell für diese Konfigurationen einen  
15 Speicher (nicht dargestellt, da er auch als Speicherbereich in dem sowieso für einen Rechner notwendigen Speicher ausgeprägt sein kann) für die Verwaltung passender optische Konfigurationen, die für die nachfolgenden Berechnungen in erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden. In einem nächsten Schritt erfolgt das „Aufnehmen eines Bildes“ 301 mit dem  
20 Scanmikroskop. Aus den aufgenommenen Bilddaten (Intensität)  $I(\mathbf{x})$  wird eine spektrales Modell 302 des Bildes, vorteilhafterweise direkt durch die Fouriertransformierte des Bildes, berechnet. Im nachfolgenden wird mit der Fouriertransformierten weiterargumentiert, da diese das bekannteste spektrale Modell in der Bildverarbeitung ist. Es sei aber darauf hingewiesen, daß es  
25 eine Vielzahl weiterer Möglichkeiten gibt. Passend zu der optischen Konfiguration wird aus einer auf dem Steuerrechner enthaltenen Datenbank oder aus einem auf dem Steuerrechner enthaltenen Simulationsprogramm eine optische Transferfunktion berechnet 303. Es ist dem Fachmann klar, daß die Ausführungsreihenfolge, wie im Blockschaltbild durch parallele Pfade  
30 angedeutet, willkürlich ist. Nach der Bestimmung der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen – Transfer – Funktion (OTF) kann man aus dem Vergleich der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes und der Auflösungsgrenzen der zur

ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion, Rückschlüsse auf die Qualität des gerade montierten Mikroskops bzw. Rückschlüsse auf die Konfigurationseinstellung des zur Untersuchung von Proben verwendeten Mikroskops treffen. Hierzu werden in einem Vergleich 304 die OTF und das spektrale Modell des Bildes verglichen. Die Ausgaben des Vergleichers 304, der, wie unten gezeigt, ein komplexes vektorielles Ergebnis liefert, werden ausgewertet 305. Anschliessend an das Auswerten 305 erfolgt das Anzeigen der Vergleichsergebnisse bzw. der Auswertungen. Das Anzeigen kann z.B. auch direkt auf dem Display 27 erfolgen, wobei das Auswerten hinfällig wird.

Die digitale Erfassung von Signalen, Bildern, Volumen wird in der Regel durch ein lineares Modell der Form:

$$I(\mathbf{x}) = o(\mathbf{x}) \otimes h(\mathbf{x}) + n(\mathbf{x}) \quad \text{Gleichung 1}$$

dabei ist:  $I(\mathbf{x})$  das gemessene Bild;

15  $\mathbf{x}$  der Vektor der Abtastkoordinaten, bzw. die Ortskoordinaten für eine bestimmte Bildinformation im aufgenommenen Bildabschnitt;

$o(\mathbf{x})$  die Probe;

$\otimes$  der Faltungsoperator;

20  $n(\mathbf{x})$  alle Formen von Rauschen (elektronisch, Photonenrauschen, alles was nicht modelliert wurde); und

$h(\mathbf{x})$  die sogenannte Point-Spread-Function (PSF)

Dieses Modell ist dimensionslos und lässt sich auf alle drei Raumrichtungen und spektrale Komponenten anwenden. Die PSF entspricht der Abbildung eines Punktes (eines Objekts kleiner als die Auflösung des Mikroskops) der charakteristisch verschmiert wurde. Während der realen Bildgebung gilt gemäß der in erster Näherung gut validierten linearen Theorie für alle Punkte eines Bildes aus diesem Spektralbereich. Die PSF ist dem Optiker in der Theorie bekannt, dem Mikroskophersteller aus dem Design bekannt und kann auch durch den Benutzer gemessen werden. Das Messen durch den Benutzer ist

ein aufwendiger Versuch und erfordert einiges an Wissen. Die PSF wird zusätzlich durch Umwelteinflüsse innerhalb der Probe teilweise stark verändert werden. In der Praxis können diese Umwelteinflüsse derart stark werden (z.B. bei sehr schlechter Mikroskopie, falschem Einbettmedium  
 5 (Wasser statt Öl) etc.), dass die Theorie zusammenbricht. Die PSF ist entartet und verändert sich lokal im Volumen. Bei guter Einstellung ist die Theorie allerdings sehr gut.

Die Faltung vereinfacht sich nach Fourier-Transformation zu einer einfachen Multiplikation. Die Bildgebung hat dann die Form:

$$10 \quad I(\mathbf{f}) = o(\mathbf{f})h(\mathbf{f}) + n(\mathbf{f}) \quad \text{Gleichung 2}$$

Dabei sind die in Gleichung 2 genannten Größen die Fouriertransformierten der Größen in Gleichung 1 und  $\mathbf{f}$  stellt den lateralen Ortsfrequenzvektor dar. In Gleichung 3 ist das Rauschen außer Acht gelassen worden. Die Fourier Transformierte der Point Spread Funktion  $h(\mathbf{x})$  ist  $h(\mathbf{f})$  und wird in der  
 15 optischen Literatur als Optical Transfer Function bezeichnet.

$$I(\mathbf{f}) = o(\mathbf{f})h(\mathbf{f}) \quad \text{Gleichung 3}$$

An der Gleichung 3 sieht man, dass im Frequenzraum und in der Theorie im Prinzip Nullstellen der PSF erhalten bleiben. Dies entspricht einem totalen Informationsverlust für Strukturen dieser Ortsfrequenz. Zusätzlich enthält die  
 20 Fouriertransformierte noch die Nullstellen des Bildes (die Frequenzen die nicht im Bild vorhanden waren). Ist die theoretische PSF  $h(\mathbf{x})$  bekannt, so erwartet der Benutzer und der Mikroskopdesigner bei optimalen Einstellungen nur kleine Abweichungen von diesem Ideal. Diese kann man an der Lage der Nullstellen der optischen Transferfunktion messen.

25 Eine praktische Einschränkung für detaillierte Auswertungen mag zur Zeit davon gegeben sein, wenn die Nullstellen - die auf stetigen Kurven im Frequenzraum liegen - eine zu komplexe Form haben. Diese Einschränkung wird von der verfügbaren Rechenleistung heutiger Computersysteme begründet und der damit verbundenen hohen Rechenzeit gegeben, ist aber  
 30 kein generell limitierendes Element und wird im Rahmen der Steigerung der Rechnerleistung gelöst werden, so daß immer detailliertere Auswertungen in

immer kürzerer Zeit möglich werden.

In der Praxis werden bei einem derartigen Verfahren keine Nullstellen gesucht, was aufgrund des Rauschens nicht durchgeführt werden kann. Bei verrauschten Bildsignalen, liegen mitunter keine Nullstellen vor. Man arbeitet  
 5 in der Praxis stattdessen z.B. mit dem logarithmierten Powerspektrum (siehe Gleichung 4)

$$\log(|I(\mathbf{f})|^2) = \log(|o(\mathbf{f})h(\mathbf{f}) + n(\mathbf{f})|^2) \quad \text{Gleichung 4}$$

oder ähnlichen Funktionen und sucht negative Minima, was in der Praxis besser und robuster funktioniert. Generalisiert läßt sich hierfür aber jede  
 10 mathematische Transformation einsetzen, die Minima in der Fouriertransformierten des Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion maximiert und die restlichen Werte unterdrückt werden. Es bleibt zu bemerken, daß für dieses Verfahren die Aufnahme eines Bildes mit Struktur  
 15 Nullstellen besteht. In der weiter unten beschriebenen Inferenzmaschine läßt sich dies allerdings relativ einfach als Satz Fakten und Regeln berücksichtigen, wodurch der Benutzer eine Warnung auf dem Display 27 sieht.

Es gibt aber noch weitere Alternativen zur oben beschriebenen  
 20 Fouriertransformation. Die Realisierung des spektralen Modells kann durch die direkte Berechnung einer Fouriertransformation erfolgen, durch den Welch-Algorithmus oder durch den Fit von ARMA- (auto regressive moving average) Modellen auf die Bilddaten erfolgen.

Durch die Anwendung dieser Vorverarbeitungen lassen sich Muster im  
 25 Fourierraum ableiten, die verglichen werden müssen. Der Vergleich der Lage der Minima läßt sich anschaulich als Vergleich der Auflösungsgrenzen des Mikroskopsystems mit der Theorie deuten. Gesucht wird prinzipiell ein Verschiebungsvektorfeld, welches für jeden Bildpunkt einen Verschiebungsvektor sucht, der die Abweichung der gewünschten Nullstellen  
 30 von den realen beschreibt. Aus diesem Verschiebungsvektorfeld lassen sich Abweichungen vom Ideal direkt ablesen. Dies ist, wie Bewegungsdetektion,

eine recht anspruchsvolle Rechenaufgabe, aber durch einen Fit hinreichend genau lösbar. Eine derartiges Verschiebungsfeld läßt sich durch Vorgabe eines Modells direkt berechnen, wobei alle Elemente des Verschiebungsfeldes als Merkmal der Abweichung dienen kann. Derartige

5 Verschiebungsfelder werden z.B. auch bei der Bewegungsdetektion (optical flow) gesucht, wobei die Intensität zwischen zwei Bildern erhalten wird und die Verschiebung zwischen zwei Bildern durch eine Bewegung erklärt und somit ein Geschwindigkeitsvektorfeld gesucht wird. Hier gilt auch die Intensitätserhaltung, wobei eine statische Verzerrung gesucht wird. Ein voll

10 besetztes Vektorfeld ist relativ viel Information und meist unnötiges Datenmaterial, aber das Maximum an Information das sich ablesen läßt. Ein pragmatischer Ansatz der schon zu befriedigenden Zielen führt, ist in Gleichung 5 dargestellt.

$$h' = h(\mathbf{M}\mathbf{f})$$

Gleichung 5

15 Dieser einfache Ansatz aus Gleichung 5 lässt nur lineare Abweichungsfehler (Rotation, Verzerrung) zwischen der theoretischen PSF  $h(\mathbf{f})$  und der realen PSF  $h'(\mathbf{f})$  zu und stellt im wesentlichen eine stark reduzierte Teilmenge aller Verschiebungsvektorfelder dar. Im Ortsraum entspricht die Parameter maximal einer drei mal drei Matrix die im wesentlichen neun Merkmale zur

20 Beschreibung der Verzerrung liefert, die sich wahlweise als Koeffizienten oder als Eigenvektoren darstellen lassen, je nach mathematischem Gusto des Designers. Man fittet  $\mathbf{M}$  so, dass die Nullstellen des Modells  $h'(\mathbf{f})$  mit den (negativen) Minima des gemessenen und nachbearbeiteten  $\log(|I(\mathbf{f})|^2)$  übereinstimmen und nur ein Minimaler Restfehler übrigbleibt, wobei ein

25 geeignetes Fehlermaß wie die quadratische Abweichungssumme gewählt werden muss.

Es sei erwähnt das hier prinzipiell alle Vektornormen aber auch gewichtete statistische Abweichungsmaße genutzt werden können, wobei eine Auflistung diese Abhandlung sprengen würde. Es sei weiterhin erwähnt, daß in einer

30 computerbasierten Realisierung naturgemäß Festkomma- oder sogar Ganzzahlarithmetik gegenüber obigen Darstellungen bevorzugt werden, diese

technischen Kniffe sind aber dem Fachmann hinreichend bekannt.

Bei der dreidimensionalen Bildaufnahme kann man durch die Ermittlung der Abweichungsmatrizen aus den einzelnen Schnitten eines Volumens von der theoretischen 2D-PSF auch Aussagen über die 3D-Bildgebung machen, ohne  
5 eine 3D-PSF direkt zu ermitteln. Durch diese Reduktion auf Schnitte von PSFs lassen sich auch 3D-Verformungen der PSF ermitteln, wie sie bei optischen Fehlanpassungen (Öl/Wasser) entstehen. In diesem Fall wird die oben beschriebene Featureberechnung nicht anhand einer 3D-Messung durchgeführt, sondern anhand von Sequenzen von 2D-Messungen, wobei das  
10 generelle Verfahren gleich bleibt und durch diese Beschreibung hinreichend genau beschrieben ist. Der wesentliche Unterschied ist, dass sequentiell eine größere Menge von Merkmalen ermittelt werden.

Der Fit der PSF an die realen Minima in den Bilddaten kann mit unterschiedlichsten Such-Algorithmen mit Rechnertechnologien des Stand der  
15 Technik durchgeführt werden, wie sie in Michalewicz Z., Fogel D.B.: How to solve it: Modern Heuristics. Heidelberg: Springer, 2000 und Gershenfeld (1998): The Nature of Mathematical Modeling. Cambridge: beschrieben sind. Diese beiden Publikationen beschreiben allerdings nur einen kleinen Teil des verfügbaren Stand der Techniken von Such und Fit- Algorithmen, die hier nicht  
20 alle aufgezählt werden können.

Die oben gewählte einfache Darstellung des Matrix Fits, schliesst natürlich nicht aus, daß in Folge des technischen Fortschritts auch kompliziertere nichtlineare mathematische Warping-Modelle zur Angleichung der  
25 Theoretischen an die reale PSF genutzt werden, die durch die aktuelle Rechnertechnologie noch nicht handhabbar sind, um mehr beschreibende Merkmale zu generieren.

Wie oben beschrieben sind für die Anwendung derartiger Algorithmen Bilddaten notwendig. Aus diesem Grund sind Teile der nachfolgenden Verfahren erst bei hinreichend guter Voreinstellung des Mikroskops  
30 anwendbar (zum Finetuning) bzw. dienen dazu festzustellen, dass man davon weit weg ist.

Durch den oben beschriebenen Fit auf beispielsweise eine

Deformationsmatrix  $M$  wird die Deformation quantifizierbar und lässt sich zur Diagnose heranziehen. Abweichungen von der optimalen Form sind in z.B. vorgegebene Toleranzklassen einteilt, die dazu dienen die Einstellung zu bewerten und dem Benutzer Feedback zu geben. Aufgrund der Messung aus dem Verfahren lassen sich Defekte und Konfigurationsprobleme ermitteln. Beispiele für messbare Abweichungen sind sphärische Aberration und Astigmatismus, die als Verbreiterung der PSF auftreten, Coma, die als Kometenschweif auftritt, etc. Derartige Verfahren lassen sich als Software mit einer Datenbank, einem User-Interface und einer Erläuterungsdatenbank mit Erklärungskomponente implementieren. Dies kann zur Qualitätssicherung (intern in der Fertigung und extern bei Kunden, z.B. in einer Multi-User-Umgebung) herangezogen werden, wobei ein Software-Assistent als Erklärungskomponente dem Nutzer ein Feedback gibt und ihn zu gewissen Aktionen veranlasst bzw. auf gewisse Aktionen hinweist, wie z.B. „so nicht, weil....“ oder „Bauteil kaputtgegangen“ oder „Falsches Einbettmedium“.

Auf der Basis der Abweichung kann man für Dekonvolutionsverfahren (beispielsweise) das System entscheiden lassen, ob die Aufnahme einer PSF notwendig ist oder ob man mit theoretischen Größen weiterrechnen kann. Derartige inverse Filter sind relativ instabil, mathematisch kompliziert und liefern in der Regel Artefakte. Diese Artefakte sind auch für den Experten nicht eindeutig ersichtlich, da die Möglichkeit der Vergleichsmessung fehlt. Nichtsdestotrotz sind diese Algorithmen attraktiv, da Sie eine Auflösungsverbesserung versprechen. In der Praxis wird jede Form der Entfaltung vom Benutzer als Black Box betrachtet und (leider nur) selten geprüft. In vielen sicherheitsrelevanten Applikationen (Medizin, Forschung) wird eine derartige Technik aus diesem Grund oft nicht verwendet. Eine a-priori-Prüfung der zugrundeliegenden Messdaten ist sinnvoll, die prüft, ob die Qualität hinreichend für eine anschließende Entfaltung ist. Auf diese Art kann der angeschlossene Steuerrechner direkt die Empfehlung aussprechen, dass “die schlechte Messung durch Entfaltung zu einer noch schlechteren Messung führt”. Mit einer derartigen Technologie ist dann die Akzeptanz inverser Filter im Markt sicherlich verbessert, wobei hinzuzufügen ist, dass die Auswertung der Verschiebungsfelder nicht trivial ist.

Das Prinzip der Inferenz über Faktenwissen ist seit langem Standard in der KI (Künstlichen Intelligenz), in der eine Folge von Fakten der Form

WENN A DANN B

WENN C DANN E

5 ...

WENN A UND C DANN D ODER F

In diesen Regeln sind die Variablen (hier A, B, C, D, F) logische Aussagen die sich überprüfen lassen. Alle Regeln sind in einer Datenbank angeordnet und werden über Backtracking-Algorithmen bearbeitet. Die Fakten werden in einer  
10 Liste geführt (z.B. A ist wahr) und alle Regeln durchgeprüft, neue Fakten über die Regelmenge generiert, bis bei einem neueren Durchlauf keine weiteren Fakten mehr erzeugt werden. Als Beispiel: Die Regel (Wenn XX DANN YY) ist wahr wenn die Prämisse XX eintritt und wird somit zu einem neuen Fakt. Dieses alte Konzept läßt sich direkt anwenden, wenn die geeignete Menge an  
15 Merkmalen geeignet kodiert vorliegt. Im Falle des Matrixbeispiels von oben sind die Matrixelemente die Merkmale in ungünstiger Form. In einer günstigeren Form liegt dieselbe Information als Eigenvektoren und Eigenwerte dieser Matrix vor, wobei dem Fachmann hinreichend klar ist, daß diese Merkmalstransformation direkt im ersten Fit mitberechnet werden kann und  
20 dementsprechend hier nicht beschrieben wurde. Es ist dem Fachmann auch hinlänglich klar, daß man auch unter Zuhilfenahme der Original Matrixkomponenten die nachfolgen beispielhaft aufgeführten Regeln formulieren kann, wobei die Lesbarkeit stark zu leiden hätte. In der Theorie erwartet man z.B. daß die Eigenwerte  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$  der Abweichungsmatrix alle 1 (in Worten  
25 eins) sind. Die Regel

$$A = (E_1 > E_2) \text{ AND } (E_1 > E_3)$$

würde zum Beispiel eine eiförmige Verzerrung in eine Vorzugsrichtung beschreiben, wobei durch ähnliche Regeln über die Eigenvektoren auch aussagen über die Richtung gewonnen werden können. Durch eine Handvoll  
30 Regeln lassen sich den Daten so schon eine relativ einfache Interpretation wie „Eiförmige Verzerrung der PSF“ geben. Die Inferenzmaschine kann dann



durch iterative Konstruktion einer Erklärung immer detailliertere Auswertungen vornehmen, wobei die Art der Auswertung explizit durch das hinterlegte Regelwerk hinterlegt werden, das bei hinreichend feinen Aussagen schon grosses Ausmaß annehmen kann. Durch die Hinzunahme der ursprünglichen optischen Konfiguration in die Faktenbasis, lassen sich noch feinere Aussagen erreichen. Die Leistungsfähigkeit des Systems hängt nur von der Anzahl an Regeln, der Qualität der Regeln, den bereitgestellten initialen Fakten und der Messgenauigkeit dieser Fakten ab und läßt so sehr viele Freiheitsgrade zur Implementierung.

5  
10 Eine mögliche Schlußfolgerungskette nach einigen Iterationen wäre (beispielhaft):

WENN („Verzerrung liegt vor“

AND „Eigenwert 3 zu groß“

AND „Eigenwert 2 zu klein“

15 AND „Eigenvektor 3 liegt nahe bei z Achse“)

DANN „Zu wenig Auflösung in z“

Die nächste Schlußfolgerung könnte sein:

WENN „Zu wenig auflösung in z“ AND „Wasserobjektiv“

DANN „Prüfen Sie ob Sie nicht ein Öl-Objektiv mit Wasser betreiben“

20 Die Einfachheit dieser Beispiele dient nur den eigentlichen Vorgang transparent zu machen. Bei einer geeigneten Realisierung, werden sich weit größere Inferenzketten ergeben, die aber den Rahmen der Darstellung hier sprengen würden.

Es bleibt zu bemerken, daß auch neuere Abwandlungen des Inferenz Kerngedankens wie Fuzzy Regeln, Neuro-Fuzzy Regeln, Bayes Netzwerke nichts am Prinzip ändern, sondern nur anstatt den harten Entscheidungsgrenzen die durch boolsche Logik vorgegeben ist, weiche und stetige Aussagen über die Regelbasis generieren. In diesen Ansätzen werden die althergebrachten Logikelemente AND, OR, NOT, IF, THEN ... durch weichere Äquivalente explizit oder implizit ersetzt. Im Falle

25  
30

wahrscheinlichkeitstheoretischer Ansätze wird für die Regeln nach dem Bayes Ansatz eine Wahrscheinlichkeit durch das Regelwerk zugewiesen, wobei die Regeln mit maximaler Wahrscheinlichkeit ausgewählt werden. Dies ist dem Fachmann hinreichend bekannt und kann im Falle einer Implementierung  
5 vorteilhaft sein ohne der Lehre dieser Erfindung zu widersprechen.

Es bleibt weiterhin zu bemerken, daß durch die Wahl der Merkmale und der Regelbasis unterschiedliche Instrumente mit demselben Prinzip generiert werden können. Ein Mittel zur Messung der Strahleinkopplung eines Lasers in ein Scanmikroskop ergibt sich zum Beispiel durch die Aufnahme eines Beads  
10 und Analyse der Daten durch obige Matrix-Fit Prozedur. Der Eigenvektor nahe der z-Achse könnte angezeigt werden, oder der Winkel dieses Vektors zur z-Achse oder die Inferenzmaschine könnte zur Einteilung in Toleranzklassen wie „gut“, „mittelprächtig“, „schlecht“ herangezogen werden. Ein derartiges System würde eher in einer Fertigung oder bei einem Servicetechniker zu  
15 finden sein. Obiges Beispiel jedoch würde mit einer anderen Regelbasis und anderen Merkmalen dem Benutzer Handlungsanweisungen, Tips, Tricks und Hilfen geben. Wie sofort auffällt, ist eine Toleranzklassengeneration nur ein spezieller Satz von Regeln.

In der Regel werden die gefundenen Fakten des Inferenzlaufes ausgegeben,  
20 wobei höchstwahrscheinlich nur eine in der Datenbank vorgemerkte Teilmenge ausgegeben wird, da interne und detaillierte Zwischenergebnisse den Benutzer nicht interessieren. Ggfs. kann man auch einen benutzerkonfigurierbaren Softwarefilter unterschiedlich detaillierte Erklärungen passieren lassen. Die Wahl welche Regeln ausgegeben werden obliegt dem  
25 Geschmack des Systemdesigners und nicht zuletzt dem Zweck, da ein Servicetechniker mit internen Schlussfolgerungen eventuell mehr anfangen kann als der unbedarfte Benutzer den es nicht interessiert. Auch die Wahl der Ausgabe ist ein Freiheitsgrad, wobei bei Kundensystemen neben dem Bildschirm auch an Sprachausgabe zu denken ist.

30 Fig. 3 beschreibt beispielhaft das Verfahren. Ein Bild 401 wird über die spektrale Modellbildung in eine Fouriertransformierte 402 (oder ein ähnliches, artverwandtes spektrales Modell) überführt. In der Fouriertransformierten

erkennt man direkt die Bandbegrenzung, hier durch eine runde Struktur 402a in der Bildmitte charakterisiert. Interessant ist der Rand 402b dieser Struktur 402a, der die Grenze des Informationsverlusts darstellt. Durch die Verarbeitung wird im Fourierbild 402 diese Grenze herausgearbeitet, wobei

5 das Resultat 403 diese Grenze 403a nachzieht. Parallel dazu liefert die Theorie 404 eine ähnliche Randlage, wenn man die OTF der gleichen Verarbeitung unterzieht (hier nicht dargestellt). Die verarbeitete OTF 405 zeigt eine ähnliche aber im Fehlerfall nicht identische Randstruktur 405a. Der Vergleich 304 passt diese beiden Strukturen aneinander an, indem er

10 algorithmisch ein Verschiebungsvektorfeld 406 berechnet und dieses hinreichend charakterisiert. In der Praxis ist dies eine interne Funktion, da Sie mit hohem Rechenaufwand verknüpft ist, wählt man für das Verschiebungsfeld ein einfaches mathematisches Modell mit nur wenig Freiheitsgeraden, die als Parameter 407 ermittelt werden. Diese werden dann

15 der Auswertung weitergeleitet, bzw. direkt dargestellt.

In Fig.4 ist die anschließende Inferenz illustriert. Aus der Menge aller Regeln und Fakten 501, werden iterativ einzelne Regeln 502 herausgegriffen und Ihre Prämissen geprüft. Durch die Iterative Ausführung wird so zur Laufzeit dieses Verfahrens ein Baum von Regeln mit erfüllter Prämisse 503 erzeugt, den man

20 als Argumentation oder Beweis interpretieren kann. Der Prozess geht weiter bis keine weiteren Regeln mehr bewiesen werden.

Fig. 5 zeigt exemplarisch die Skizze eines möglichen User Interfaces 602. Dies beinhaltet eine Bildanzeige 601 sowie alle benötigten Bedienelemente zur Steuerung des Systems 603. Es ist dem Fachmann hinreichend klar, daß

25 diese Elemente von der gewählten Implementierung abhängig sind und für ein spektral einstellbares Konfokalmikroskop anders aussehen als für ein Standardmikroskop. Zusätzlich enthält das User Interface noch eine Erklärungskomponente 604, in denen das abgeleitete Faktenwissen für den Benutzer in Textform dargestellt werden. Selbstverständlich sind andere

30 Abwandlungen wie Sprachausgabe möglich.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und

Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

	1	Beleuchtungssystem
	3	Lichtstrahl
	4	Beleuchtungslichtstrahl
5	5	Strahlteiler
	6	Beleuchtungspinhole
	7	Scanmodul
	9	Scanspiegel
	11	Positionssensor
10	12	Scanoptik
	13	Mikroskopoptik
	15	Objekt
	17	Detektionslichtstrahl
	18	Detektionspinhole
15	19	Detektor
	23	Steuerrechner
	27	Display
	28	Tastatur
	29	Einstellvorrichtung
20	30	Maus
	100	Scanmikroskop
	300	Übermitteln optischer Konfiguration
	301	Datenaufnahme/Bildaufnahme/Volumenaufnahme
	302	Spektrale Modellbildung / Fouriertransformation mit anschliessender
25		Segmentierung der optischen Auflösungsgrenze
	303	Bestimmung OTF

- 304 Vergleich
- 305 Auswertung
- 401 Bild (auch Volumen)
- 402 fouriertransformiertes Bild
- 5 402a runde Struktur
- 402b Rand
- 403 Segmentierte Auflösungsgrenzen im Fourierraum des Bildes
- 403a Grenze
- 404 Theorie (graue)
- 10 405 Segmentierte Auflösungsgrenzen im Fourierraum von der Theorie vorhergesagt
- 405a Randstruktur
- 406 Verschiebungsvektorfeld im Vergleich
- 407 Parameter
- 15 501 Menge aller Regeln und Fakten
- 502 Menge aller Regeln
- 503 Menge aller Regeln mit erfüllter Prämisse (die somit faktisch sind)
- 504 Menge aller Regeln mit nicht erfüllter Prämisse
- 601 Bildanzeige
- 20 602 User Interface
- 603 Bedienelemente zur Steuerung (Buttons, Slider...)
- 604 Erklärungskomponente mit Textmeldungen

### Patentansprüche

1. Verfahren zur gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:
  - Übermitteln (300) der ausgewählten optischen Konfiguration an einen Steuerrechner;
- 5
  - Aufnehmen (301) eines Bildes einer Probe mit dem Scanmikroskop
  - Berechnen (302) der Fouriertransformierten des Bildes
  - Bestimmung (303) der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion,
  - Vergleichen (304) der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten
- 10
  - des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion, und
  - Auswerten (305) und Anzeigen der Vergleichsergebnisse.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Konfiguration die numerische Apertur des verwendeten Objektivs, die Vergrößerung des verwendeten Objektivs, den Brechungsindex des Immersionsmediums, die Zwischenvergrößerung der Mikroskopoptik, die Form der Apertur, die Wellenlänge der Beleuchtung, die Wellenlänge der Detektion, die Anzahl Abtastpunkte etc. umfasst.
- 15
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das
- 20
  - Vergleichen (304) der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion einen Satz von Merkmalen liefert, die für die weitere Auswertung herangezogen werden.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Auswertung (305) aus der Anzeige von Merkmalen besteht.
5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Auswertung (305) der Merkmale durch Inferenz über eine Erläuterungsdatenbank eine Erklärung bestimmt und diese anzeigt.  
5
6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Auflösungsgrenzen dadurch bestimmt werden, dass durch eine mathematische Transformation die Minima in der Fouriertransformierten des Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion maximiert und die restlichen Werte unterdrückt werden.  
10
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Vergleich der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion durch den Fit einer geometrischen Transformation auf die Beobachtungsdaten erfolgt und die Parameter der Transformation als Merkmale verwendet werden.  
15
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das aufgenommene Bild 3-dimensional ist.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Optische-Transfer-Funktion einer Datenbank entnommen wird.  
20
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Optische-Transfer-Funktion aus den Parametern der ausgewählten optischen Konfiguration berechnet wird.
11. Mikroskopsystem mit einem Scanmikroskop (100) das einen Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengang (4, 17) definiert, dass im Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengang (4, 17) mehrere eine optische Konfiguration festlegende Mittel vorgesehen sind und dass das Scanmikroskop (100) mit einem Steuerrechner (23) verbunden ist, der ein Display (27) aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass auf dem Steuerrechner (23) eine Überwachung der Auflösungsgrenzen erfolgt und auf dem Display (27) eine Erklärungskomponente (604) dargestellt ist, die dem Benutzer die  
25  
30

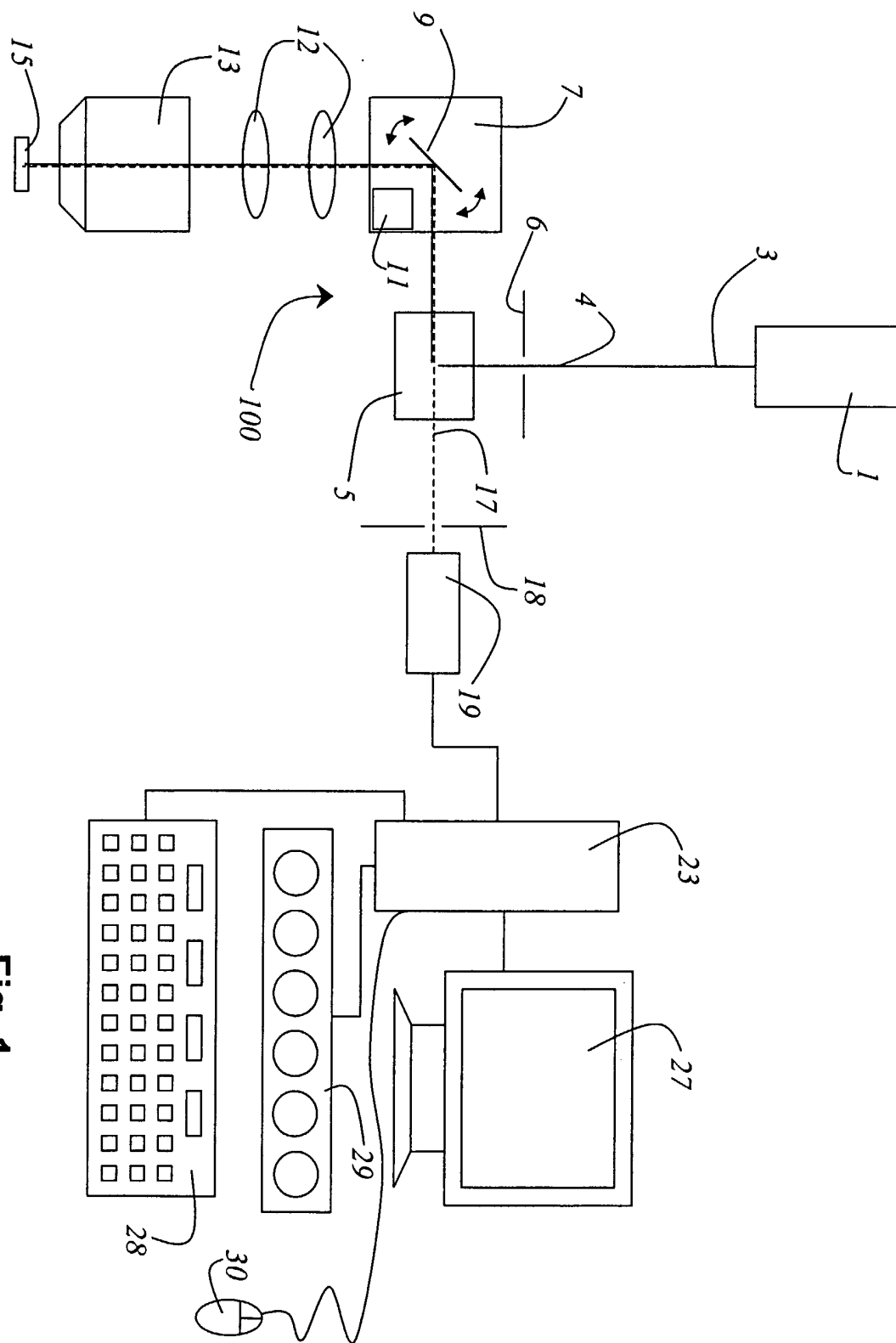


Ergebnisse der Überwachung der Auflösungsgrenzen präsentiert und eine Erklärung liefert.

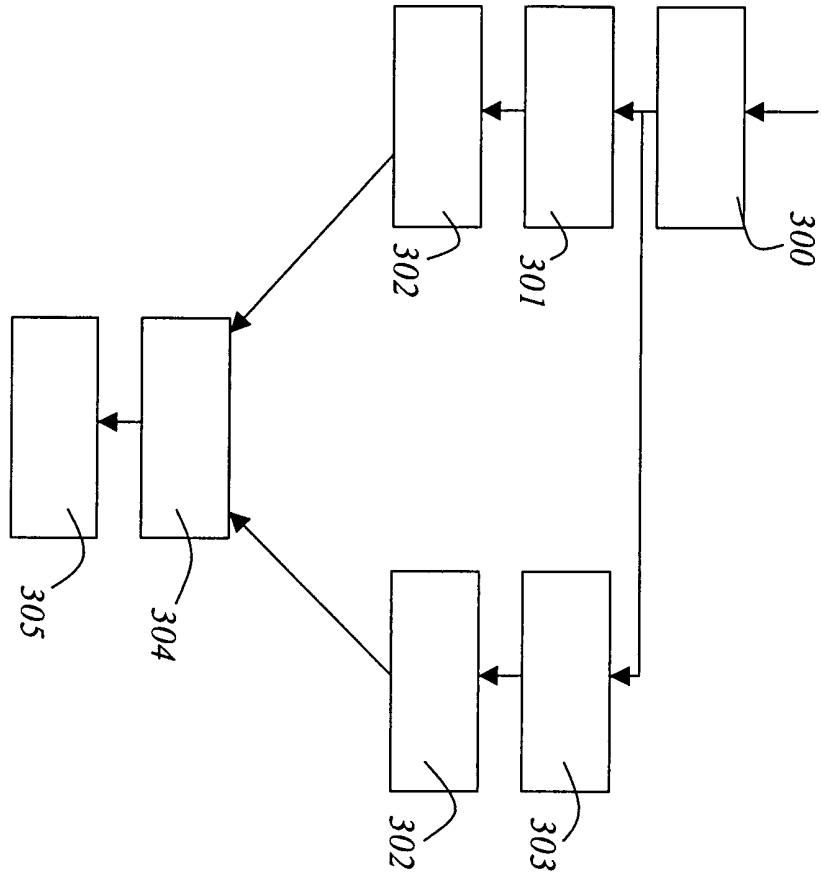
12. Mikroskopsystem nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass
- 5 - Mittel zum Übermitteln der ausgewählten optischen Konfiguration an den Steuerrechner (23);
  - Mittel (19) zum Aufnehmen eines Bildes eines Objekts (15);
  - Mittel zum Berechnen der Fouriertransformierten des Bildes;
  - Mittel zur Bestimmung der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion,
  - 10 - Mittel zum Vergleichen der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion, und
  - 15 - Mittel zum Auswerten und Anzeigen der Vergleichsergebnisse vorgesehen sind.
13. Mikroskopsystem nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Konfiguration die numerische Apertur des verwendeten Objektivs, die Vergrößerung des verwendeten Objektivs (13), den Brechungsindex des Immersionsmediums, die Zwischenvergrößerung der Mikroskopoptik, die Form
- 20 der Apertur, die Wellenlänge der Beleuchtung, die Wellenlänge der Detektion, die Anzahl Abastatpunkte in allen Raumrichtungen und entlang der spektralen Achse etc. umfasst.
14. Mikroskopsystem nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass eine Erläuterungsdatenbank vorgesehen ist und dass das Mittel zur
- 25 Auswertung durch Inferenz über die Erläuterungsdatenbank realisiert ist.
15. Software auf einem Datenträger dadurch gekennzeichnet, dass die Software eine Datenaufnahme mit einem Scanmikroskop (100) durchführt und eine gleichzeitige Überwachung mit folgenden Schritten durchführt:
- 30 - Übermitteln der ausgewählten optischen Konfiguration an einen Steuerrechner (23);

- Aufnehmen eines Bildes eines Objekts (15) mit dem Scanmikroskop (100);
  - Berechnen der Fouriertransformierten des Bildes
  - Bestimmung der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion,
- 5
- Vergleichen der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration passenden Optischen-Transfer-Funktion, und
  - Auswerten und Anzeigen der Vergleichsergebnisse.
- 10
16. Software nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die optische Konfiguration die numerische Apertur des verwendeten Objektivs (13), die Vergrößerung des verwendeten Objektivs (13), den Brechungsindex des Immersionsmediums, die Zwischenvergrößerung der Mikroskopoptik, die Form der Apertur, die Wellenlänge der Beleuchtung, die Wellenlänge der
- 15
- Detektion, die Abtastpunkte entlang der Raumachsen und der Spektralen Achsen etc. umfasst.
17. Software nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Vergleichen der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes mit den Auflösungsgrenzen der zur ausgewählten optischen Konfiguration
- 20
- passenden Optischen-Transfer-Funktion einen Satz von Merkmalen liefert, die für die weitere Auswertung herangezogen werden.
18. Software nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Auswertung aus der Anzeige von Merkmalen besteht.
19. Software nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die
- 25
- Auswertung der Merkmale durch Inferenz über eine Erläuterungsdatenbank eine Erklärungskomponente (604) bestimmt und diese anzeigt.
20. Software nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Auflösungsgrenzen dadurch bestimmt werden, dass durch eine mathematische Transformation die Minima in der Fouriertransformierten des
- 30
- Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion maximiert und die restlichen Werte unterdrückt werden.

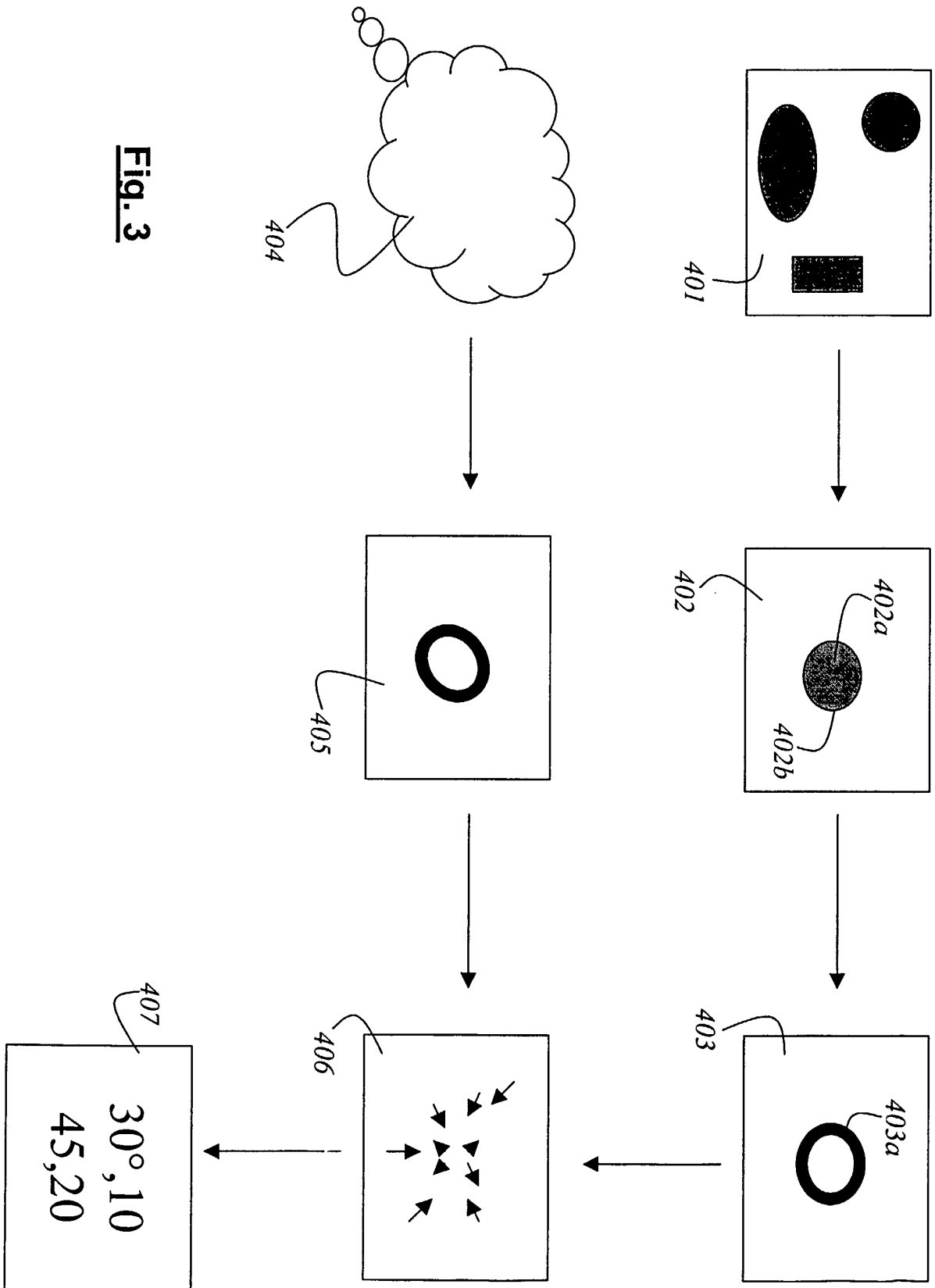
21. Software nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Vergleich der Auflösungsgrenzen der Fouriertransformierten des Bildes und der Optischen-Transfer-Funktion durch den Fit einer geometrischen Transformation auf die Beobachtungsdaten erfolgt und die Parameter der Transformation als Merkmale verwendet werden.
- 5
22. Software nach einem der Ansprüche 15 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass das aufgenommene Bild 3-dimensional ist.
23. Software nach einem der Ansprüche 15 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Optische-Transfer-Funktion einer Datenbank entnommen wird.
- 10
24. Software nach einem der Ansprüche 15 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Optische-Transfer-Funktion aus den Parametern der ausgewählten optischen Konfiguration berechnet wird.



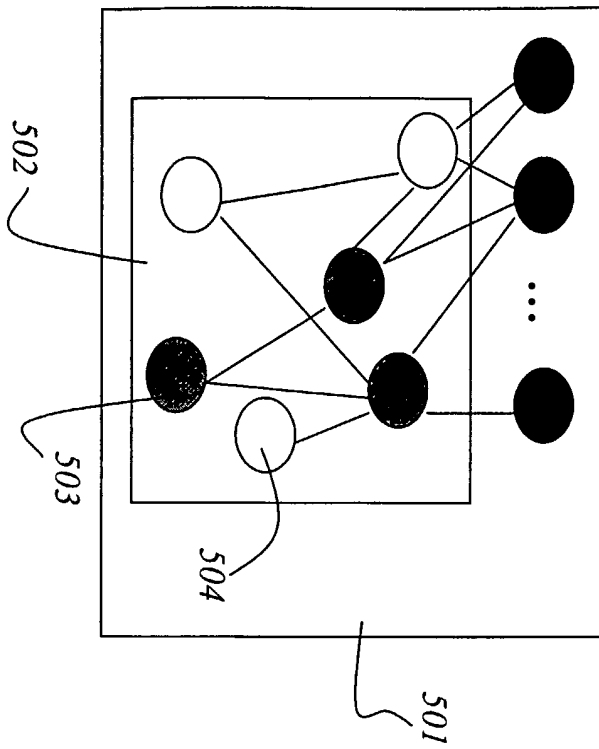
**Fig. 1**



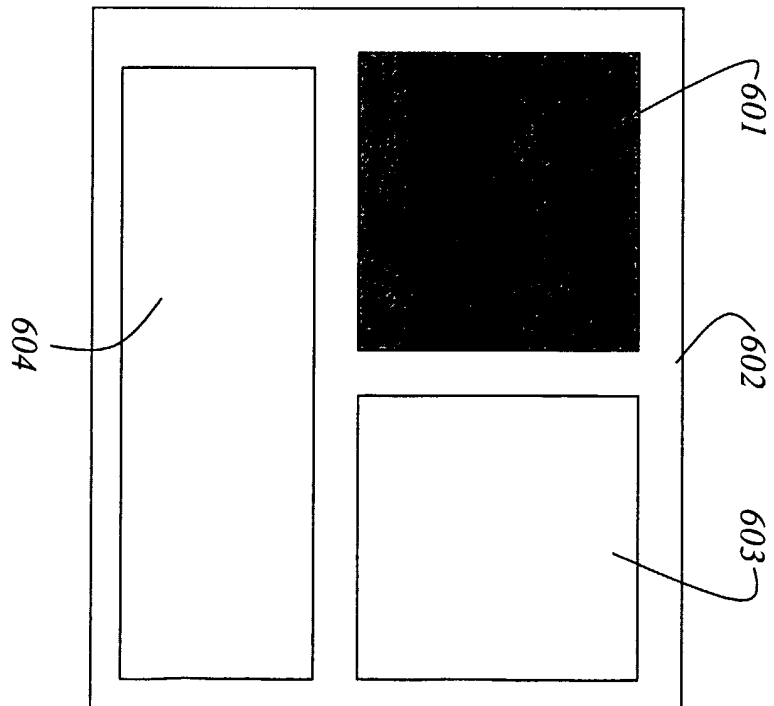
**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**



**Fig. 5**