

(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
18. Juni 2015 (18.06.2015)



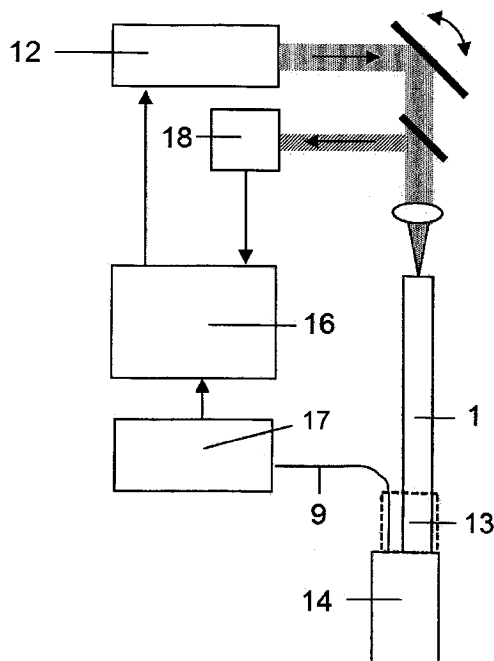
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2015/085978 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:
A61B 5/00 (2006.01) *A61B 1/04* (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2014/000597
- (22) Internationales Anmeldedatum:
20. November 2014 (20.11.2014)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2013 020 703.7
9. Dezember 2013 (09.12.2013) DE
10 2014 005 617.1
14. April 2014 (14.04.2014) DE
- (71) Anmelder: **FRIEDRICH-SCHILLER-UNIVERSITÄT JENA** [DE/DE]; Fürstengraben 1, 07743 Jena (DE).
LEIBNIZ-INSTITUT FÜR PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E. V. [DE/DE]; Albert-Einstein-Straße 9, 07745 Jena (DE).
- (72) Erfinder: **DOCHOW, Sebastian**; Ernst-Zielinski-Str. 15, 07745 Jena (DE). **POPP, Jürgen**; Am Wiesenbach 30, 07751 Kunitz (DE).
- (74) Anwälte: **BIEBER, Björn** et al.; Patent- und Rechtsanwaltskanzlei Bock Bieber Donath, Hans-Knöll-Straße 1, 07745 Jena (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE WITH A RAMAN PROBE, AND METHOD USING SAID DEVICE

(54) Bezeichnung : VORRICHTUNG MIT EINER RAMAN-SONDE UND EIN VERFAHREN UNTER VERWENDUNG DIESER VORRICHTUNG



(57) Abstract: The invention relates to a device with a Raman probe. The aim of the invention is to provide a device which comprises a Raman probe and which allows an in vivo endoscopic examination of biological tissue. This is achieved in that the device comprises a laser light source (12), a detector (18), a detection and control unit (16), a Raman spectrometer (17), an external fiber (9), and a measurement probe (14) which contains a bundle (13) of light guides with at least one fiber (1). A focusing element in the form of two transparent optical lenses with a transparent optical cube positioned between the lenses is arranged on the head of the measurement probe (14), and a filter layer, an absorber, a mirror, and a filter are introduced into the cube. Excitation light can be guided from the laser light source (12) through the cube via the fibers (1) and onto a biological tissue sample, and Raman signal beams coming from the tissue sample can be guided through the cube via the external fibers (9) and into the Raman spectrometer (17).

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung mit einer Raman-Sonde. Die Aufgabe der Erfindung, ein Vorrichtung mit einer Raman-Sonde anzugeben, welche eine endoskopische Untersuchung von biologischem Gewebe in vivo ermöglicht, wird dadurch gelöst, dass die Vorrichtung eine Laserlichtquelle (12), einen

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

Fig. 1



KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eingehen (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe h)

Detektor (18), eine Detektions- und Steuereinheit (16), ein Raman-Spektrometer (17), eine externe Faser (9) sowie eine, ein Bündel (13) von Lichtleitern mit mindestens einer Faser (1) enthaltende Messsonde (14) umfasst, wobei ein Fokussierelement am Kopf der Messsonde (14) in Form zweier transparenter optischer Linsen mit dazwischen positioniertem transparenten optischen Kubus angeordnet ist und in dem Kubus eine Filterschicht, ein Absorber, ein Spiegel und ein Filter eingebracht sind, wobei Anregungslicht von der Laserlichtquelle (12) über die Faser (1) durch den Kubus hindurch auf eine biologische Gewebeprobe führbar und Raman-Signalstrahlung von der Gewebeprobe kommend durch den Kubus hindurch über die externe Faser (9) in das Raman-Spektrometer (17) leitbar ist.

Vorrichtung mit einer Raman- Sonde und ein Verfahren unter Verwendung dieser Vorrichtung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung mit einer Raman-
5 Sonde und ein Verfahren unter Verwendung dieser Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag- Strahlung, wie bspw. Fluoreszenzstrahlung, und eines Raman- Spektrums, insbesondere zur endoskopischen *in vivo*- Untersuchung von biologischem Gewebe, wobei eine Klassifizierung nach Gewebetyp erfolgt.

10 Laser-Scanning- Mikroskope, insbesondere Multiphotonen- Fluoreszenz-Mikroskope (meist Zwei-Photonen- Fluoreszenz) oder faserbasierte Fluoreszenzendoskope werden u.a. für die Detektion verschiedener biologischer Gewebe eingesetzt.

15 Bei der herkömmlichen Fluoreszenzmikroskopie wird in einem fluoreszierenden Molekül ein Elektron durch die Absorption jeweils eines Photons angeregt, also in einen höheren Energiezustand versetzt.

20 Die Methode der Fluoreszenzbildgebung erfordert meistens einen Farbstoff, welcher in irgendeiner geeigneten Weise im Zielgebiet eines biologischen Gewebes (bspw. dem Tumorgewebe) angereichert werden muss. In manchen Fällen kann auch die so genannte Autofluoreszenz des biologischen Gewebes genutzt werden, also die Fluoreszenz, die in
25 verschiedenen Geweben ohne die Zugabe eines Farbstoffes auftritt.

Fluoreszenz hat den Vorteil einer hohen Quanteneffizienz des Prozesses, wodurch eine Echtzeit- Bildgebung des betrachteten biologischen Gewebes möglich ist.

Standard sind hier Bildwiederholfrequenzen bis 60 Hz. Dadurch ist die
30 schnelle Erzeugung eines Übersichtsbildes, bspw. von biologischem Gewebe, möglich, wobei voneinander verschiedene Gewebeareale/-typen bildlich unterschiedlich dargestellt werden können.

Bei der Zwei-Photonen- Fluoreszenzmikroskopie wird die Anregung des
35 Elektrons durch die gleichzeitige Absorption zweier Photonen

- 2 -

hervorgerufen (Zwei-Photonen- Absorption). Auch eine Anregung mit drei oder mehr gleichzeitig eintreffenden Photonen ist möglich.

Mit Hilfe eines starken, fokussierten Laserstrahls werden beim Multiphotonen-Fluoreszenz- Mikroskop nichtlineare optische Effekte erzeugt, die auf dem Zusammenspiel mehrerer gleichzeitig in einem Molekül eintreffenden Photonen beruhen. Die Stärke des erzeugten Signals steigt daher nicht linear mit der Zahl der eingestrahnten Photonen, sondern mit dem Quadrat (bei Zwei-Photonen- Effekten) oder der dritten Potenz (bei Drei-Photonen- Effekten).

Mit der Multiphotonen- Fluoreszenzmikroskopie können tiefere Bereiche, bspw. von 200 μm bis zu 1000 μm erreicht werden, wodurch Fluoreszenzaufnahmen von lebenden, biologischen Geweben möglich sind, die anderweitig für die Bildgebung unerreichbar sind. (Die konfokale Laser-Scanning- Mikroskopie weist bspw. eine Eindringtiefe je nach Präparat von nur 50 bis 80 μm auf).

Mittels 2-Photonen- Laser- Mikroskopie können bspw. die Tumorzellen in der Kokultur anhand der GFP-Fluoreszenz identifiziert werden (<https://www.thieme-connect.com/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1202420>).

Mit der Multiphotonen- Fluoreszenzmikroskopie kann ausgewertet werden, ob der Farbstoff bzw. das biologische Gewebe eine Fluoreszenz zeigt, was jedoch in den meisten Fällen nicht spezifisch genug ist, um zu erkennen, ob es sich um tumoröses Gewebe handelt, oder zu charakterisieren, um welchen Tumortyp es sich handelt.

Daher werden in vielen Fällen mehrere Farbstoffe verwendet oder, im Falle der Autofluoreszenz, mehrere Fluorophore angeregt, um die Spezifität zu erhöhen. Dies gelingt jedoch nur begrenzt, da bspw. verschiedene Färbemethoden für den gleichen Gewebetyp gefunden werden müssen.

Der Nachteil der bekannten Fluoreszenztechniken zur Untersuchung von biologischem Gewebe besteht somit darin, dass man durch sie nur erkennen kann, dass bspw. eine Gewebeveränderung vorliegt. Diese

- 3 -

Erkennung kann, wie zuvor stehend bereits beschrieben, sehr schnell an Hand eines Fluoreszenzübersichtsbildes gewonnen werden. Diese Technik der Bereitstellung eines schnellen Übersichtsbildes, bspw. zur Anzeige, ob eine Veränderung im biologischen Gewebe vorliegt oder nicht, wird als „Red-Flag“- Technik bezeichnet.

Die Strahlung, die bei dieser Technik verwendet wird, ist im Folgenden als „Red-Flag- Strahlung“ bezeichnet.

Nachteilig an den bekannten Fluoreszenztechniken (Fluoreszenzmikroskopie und -endoskopie) ist somit, dass man mit ihnen nicht klassifizieren / charakterisieren kann, um welche Gewebeveränderung es sich konkret handelt (bspw. ob ein Tumorgewebe vorliegt und wenn „ja“, welche Art von Tumorgewebe gegeben ist).

Ansatzpunkte für eine gegenüber der Fluoreszenzmikroskopie und -endoskopie spezifischen Klassifizierung von biologischem Gewebe bietet die Raman- Spektroskopie.

Diese Raman- Spektroskopie basiert auf der inelastischen Lichtstreuung von Photonen, welche detaillierte, chemische Informationen über die Probe enthalten, anhand derer eine Klassifikation vorgenommen werden kann.

Bei der Raman- Spektroskopie wird die zu untersuchende Materie mit monochromatischem Licht bestrahlt, üblicherweise aus einem Laser. Im Spektrum des an der Probe gestreuten Lichts werden neben der eingestrahlten Frequenz (Rayleigh- Streuung) noch weitere Frequenzen beobachtet, die auf einer Wechselwirkung des Lichtes mit der Materie, dem sogenannten Raman- Effekt beruhen.

Die Frequenzunterschiede zum eingestrahlten Licht entsprechen den für das Material charakteristischen Energien von Rotations-, Schwingungs-, Phonon- oder Spin-Flip- Prozessen.

Da die Wellenlänge des Lichts, d. h. seine Farbe, von der Energie des Lichtes abhängt, bewirkt dieser Energieübertrag eine Verschiebung der Wellenlänge des gestreuten Lichtes gegenüber dem eingestrahlten Licht, die sogenannte Raman- Verschiebung.

5 Aus dem erhaltenen Spektrum („Stokes- Seite“ bzw. „Anti-Stokes- Seite“ des Spektrums) lassen sich, ähnlich dem Spektrum der Infrarotspektroskopie, Rückschlüsse auf die untersuchte Substanz ziehen.

Neben der klassischen Raman- Spektroskopie existieren noch einige Varianten und Weiterentwicklungen. Dazu gehören:

- 10 • auf der nichtlinearen Raman- Streuung basierende Verfahren, wie bspw. die kohärente Anti-Stokes-Raman- Streuung (s.g. CARS),
- auf der oberflächenverstärkten Raman- Streuung basierende Verfahren (s.g. SERS) und
- die spitzenverstärkten Raman- Spektroskopie (s.g. TERS) als Kombination aus SERS und Rasterkraftmikroskopie (s.g. AFM).

15 Die Raman- Spektroskopie erlaubt auch Aussagen über wässrige Systeme, welche über Infrarot- Spektroskopie schwer zugänglich sind. So sind nicht nur abiotische, sondern auch biotische Systeme der Analyse zugänglich. Es ist prinzipiell sogar möglich, einzelne Spezies
20 von Bakterien oder biologisches Gewebe mittels Raman- Spektroskopie zu unterscheiden.

Durch die schwache Quanteneffizienz bei der Raman- Spektroskopie sind jedoch lange Messzeiten notwendig. Die Dauer der Aufnahme eines
25 s.g. Raman-Spektrums liegt im Bereich von mehreren 100 Millisekunden, was den Anforderungen einer schnellen Bildgebung nicht gerecht wird.

30 Weiterhin müssen diese Art von Sonden gefiltert werden um die intrinsischen Untergründe zu unterdrücken. Dies geschieht zum Beispiel durch separat gefertigte Filter, welche dann auf die Sonde gebracht werden (siehe dazu bspw. US 6,222,970 B1) oder durch Beschichtungen des Faserbündels (siehe dazu bspw. US 7,383,077 B2).

- 5 -

Auch ist bekannt, einen Messkopf in seinen Dimensionen größer zu gestalten und die beide Lichtwege (Anregungs- und Detektionslichtweg) getrennt über Linsen / Spiegel und Filter zu trennen. Dies wird u.a. von Shim, M.G. in "Evaluation of fiber optic probes for in-vivo Raman spectroscopy" [Proceedings of SPIE 3257 208 – 217 (1998)] und von Short, M.A. et al. in "Development and preliminary results of an endoscopic Raman probe for potential in vivo diagnosis of lung cancer." [Optics Letters 33, 711-713 (2008)] vorgeschlagen.

Da Anregungsweg und Sammelweg unterschiedliche sowie genau gegensätzliche Filter benötigen, werden gemäß diesem Stand der Technik immer Sonden mit getrenntem Anregungs- und Sammelweg vorgeschlagen, welche Punktsonden sind.

Dieser Aufbau hat den Nachteil, dass er sehr voluminös ist und nicht in kleine Gefäße oder Katheter eingeführt werden kann bzw. der ungefilterte Teil der Fasern nur sehr kurz sein darf, da sonst die Störsignale die gewünschten Raman- Signale überlagern.

Auch kann mit diesen Punktsonden keine Bildgebung für schnelle Übersichtsbilder erfolgen.

Aus der DE 94 14 467 U1 ist bspw. ein Raman- Spektrometer mit einer externen, ein Lichtleiterbündel enthaltenden Messsonde zum Aufsetzen auf die Oberfläche einer Probe und mit einem Laser zur Anregung von Raman- Strahlung in der Probe bekannt, wobei das Laserlicht in eine oder mehrere zentrale Fasern des Lichtleiterbündels eingekoppelt und über ein Fokussierelement auf die Probenoberfläche geführt wird und das von der Probe emittierte Raman- Licht über das Fokussierelement in weitere Fasern des Lichtleiterbündels eingekoppelt und in das Gehäuse des Spektrometers eingeleitet wird.

Das Fokussierelement enthält dabei einen transparenten optischen Körper mit einer ersten planen Oberfläche, die mit einer ebenfalls planen Endoberfläche des Lichtleiterbündels entweder direkt in Kontakt ist oder auf welche die Endoberfläche des Lichtleiterbündels abgebildet wird, mit einer zweiten Oberfläche, die mit der Probenoberfläche in Kontakt gebracht werden kann und mit einer dritten, mantelförmig geschlossenen, verspiegelten oder totalreflektierenden Oberfläche.

- 6 -

Das Fokussierelement ist dabei lösbar auf das Ende des Lichtleiterbündels aufgesteckt und in die zentralen Fasern des Lichtleiterbündels ist ein optischer Filtereinsatz eingesetzt.

5

Der optische Filtereinsatz enthält zwei transparente Kugeln oder Gradientenindexlinsen (GRIN-Linsen) zur Lichtkollimation, zwischen denen sich eine Filterplatte (Interferenzfilter) befindet, deren Ebene nicht exakt senkrecht auf die Verbindungslinie der Mittelpunkte der beiden Kugeln oder GRIN- Linsen steht.

10

Dieser Filtereinsatz dient der Unterdrückung von unerwünschter Raman-Streuung des Fasermaterials in die zentralen Fasern. Die leicht geneigte Filterplatte (der leicht geneigte Interferenzfilter) bewirkt, dass Licht des Lasers nicht direkt rückreflektiert wird.

15

Die DE 10 2004 015 946 B3 offenbart eine Vorrichtung (Raman- Sonde) und ein Verfahren zur Erzeugung und zur Detektion eines Raman-Spektrums eines zu untersuchenden Mediums, welche bei vorgegebenen Anforderungen hinsichtlich der stofflichen Analytik (Zahl der Komponenten, Konzentrationen, erforderliche Nachweisgrenzen) eine Erzeugung und Detektion eines Raman- Spektrums ermöglichen. Die Raman- Sonde weist dabei eine optische Faser auf, wobei das erste Ende der optischen Faser über ein Mittel zum Einkoppeln und Auskoppeln von Licht, d. h. über ein geeignetes optisches Kopplungselement sowohl mit einer (Anregungs-) Lichtquelle als auch mit einer Detektionseinheit zur Erfassung eines Raman- Spektrums verbunden ist und über einen freigelegten Teil der optischen Faser Licht in das zu untersuchende Medium ausgekoppelt und Rückstreulicht aus dem zu untersuchenden Medium in die Faser eingekoppelt wird.

20

25

30

Der Nachteil der beiden technischen Lösungen gemäß DE 94 14 467 U1 und DE 10 2004 015 946 B3 besteht darin, dass die Raman- Sonde immer auf den Punkt aufgesetzt bzw. fokussiert werden muss, der gemessen werden soll, so dass die Sonde in ihrer Position geändert werden muss.

35

Hinzu kommt, dass die Raman- Spektren gemäß DE 94 14 467 U1 und DE 10 2004 015 946 B3 für eine Bildgebung in Form schneller Übersichtsbilder, bspw. im Zusammenhang mit der Untersuchung von biologischem Gewebe, ungeeignet ist.

5

Aus der Publikation von Kenny Kong et al. „Diagnosis of tumors during tissue-conserving surgery with integrated autofluorescence and Raman scattering microscopy“

(www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1311289110)

10 ist die Kombination beider Techniken (Fluoreszenz- und Raman-Spektroskopie) vermittelt eines kombinierten Fluoreszenz- und Raman-Mikroskops bekannt, welche zu einem enormen Zeitvorteil gegenüber den bekannten Untersuchungsmethoden führt.

15 Die Fluoreszenzspektroskopie wird bei dieser kombinierten Methode genutzt, um das erfasste Bild des biologischen Gewebes in s.g. Cluster aufzuteilen. Dies wird durch die Anregung der Autofluoreszenz bei zwei verschiedenen Wellenlängen realisiert. Die Intensitäten der auftretenden Autofluoreszenz werden dabei zueinander ins Verhältnis gesetzt und das
20 Bild so in viele Cluster mit gleichen Intensitätsverhältnissen geteilt.

Innerhalb eines solchen Abschnittes, so postuliert Kong et al., ändert sich der Gewebetyp nicht. D.h. mit der Aufnahme und Klassifikation eines einzelnen (oder mehreren) Raman- Spektren innerhalb eines solchen Clusters kann der vorliegende Gewebecluster sehr spezifisch klassifiziert
25 werden und die Aufnahmedauer eines gesamten und gleichzeitig sehr spezifischen Bildes extrem reduziert werden.

Der Nachteil dieser technischen Lösung besteht darin, dass ein Mikroskop mit Objektiv verwendet werden muss, um das biologische
30 Gewebe *in vitro* zu charakterisieren, da die faserbasierte Aufnahme von Raman- Spektren Filter auf einer Sondenspitze erfordert.

Eine endoskopische Untersuchung von biologischem Gewebe *in vivo* (bspw. im Lungen, Prostata- oder Darmbereich eines Patienten) ist mit
35 dieser technischen Lösung nicht möglich.

- 8 -

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung mit einer Raman- Sonde sowie ein Verfahren unter Verwendung dieser Vorrichtung anzugeben, welche die Nachteile des Standes der Technik vermeiden, insbesondere eine schnelle endoskopische Untersuchung von biologischem Gewebe *in vivo* ermöglichen, wobei eine Klassifizierung nach Gewebetyp erfolgt.

Gelöst wird diese Aufgabe erfindungsgemäß durch eine Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag-Strahlung sowie eines Raman- Spektrums gemäß dem ersten Patentanspruch sowie einem Verfahren gemäß dem 10. Patentanspruch. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den nachgeordneten Ansprüchen angegeben.

Das Wesen der Erfindung besteht darin, dass durch die endoskopische Bereitstellung eines schnellen Red-Flag- Strahlungsübersichtsbildes (bspw. eines schnellen Fluoreszenzübersichtsbildes) eine Unterteilung eines zu untersuchenden Ausschnitts eines biologischen Gewebes *in vivo* erfolgt und in Kombination mit einer anschließenden spezifischen Charakterisierung mittels Raman- Spektroskopie *in vivo* in den entsprechend unterteilten, ausgewählten Regionen des im Übersichtsbild dargestellten Gewebes eine Klassifizierung nach Gewebetyp erfolgt, ohne eine Entnahme von biologischem Gewebe aus inneren oder äußeren Körperregionen vornehmen und ohne die Position der Sonde nachstellen zu müssen.

Dazu umfasst die Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag- Strahlung sowie eines Raman- Spektrums eine Laserlichtquelle zur Generierung von Strahlung in einer biologischen Gewebeprobe und eine, ein Bündel von Lichtleitern (zentrale Faser) und eine externe Faser enthaltende Messsonde zum Aufsetzen auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe, wobei diese Gewebeprobe durch die über das Bündel von Lichtleitern führbare Strahlung der Laserlichtquelle (Red- Flag- Anregungsstrahlung) abrasterbar ist, um ein Red-Flag- Übersichtsbild der Gewebeprobe mittels der gleichen oder einer anderen externen Faser zu erzeugen, welches in das Gehäuse einer

- 9 -

Detektions- und Steuereinheit auf einen Detektor für Red- Flag-Strahlung leitbar ist.

5 Dabei ist anschließend Laserlicht (Raman- Anregungsstrahlung) in eine (oder mehrere) zentrale Faser(n) des Bündels mittels der Detektions- und Steuereinheit an Hand des Red-Flag- Übersichtsbildes gezielt, adressierbar einkoppelbar und über ein Fokussierelement auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe führbar, so dass an jedem Punkt des Red-Flag- Übersichtsbildes gezielt adressierbar Raman-Strahlung für die Aufnahme von Ramanspektren erzeugbar ist, ohne die Messsonde bewegen zu müssen.

15 Die von der Gewebeprobe emittierte, von der Messsonde erfasste Raman- Strahlung ist dabei über die externe Faser der Messsonde in das Gehäuse der Detektionseinheit in ein einem Raman- Spektrometer leitbar.

20 Wesentlich dabei ist, dass das Fokussierelement am Kopf der Messsonde in Form einer transparenten optischen Linse (für die Anregungsstrahlung für die Red-Flag- und die Raman- Strahlung) und einer unmittelbar daneben angeordneten transparenten optischen Linse (für die Signalstrahlung in Form der Red-Flag- und der Raman- Strahlung) angeordnet ist. Vermittels dieser beiden Linsen ist das Laserlicht der Fasern des Lichtleiterbündels als Anregungsstrahlung kollimiert einkoppelbar und die Signalstrahlung in die bildgebenden Fasern auskoppelbar.

30 Wesentlich ist dabei weiterhin, dass der Linse, welche das Anregungslicht für die Raman- Strahlung kollimiert, ein transparenter optischer Kubus mit einer anschließenden transparenten dritten optischen Linse nachgeordnet ist, so dass der Kubus direkt zwischen der Linse der Raman- Anregungsstrahlung und dieser dritten Linse positioniert ist, wobei in dem Kubus eine Filterschicht, ein Absorber, ein Spiegel und ein Filter in der Art eingebracht sind, dass durch die Filterschicht der in den Fasern (der Raman- Anregungsstrahlung) entstandene Untergrund auf den Absorber lenkbar ist (Adsorption von Strahlung größer als

35

- 10 -

800 nm aus der Raman- Anregungsstrahlung) und die „bereinigte“ Raman- Anregungsstrahlung durch die dritte Linse auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe führbar ist.

- 5 Die durch die Probe generierte Raman- Signalstrahlung ist mittels der dritten Linse sammel- und kollimierbar.

Wichtig dabei ist, dass die Raman- Anregungs- und die Raman- Signalstrahlung durch den Filter im Kubus trennbar ist, so dass die durch
10 den Filter (in Form eines Notchs oder Bandpass) abgetrennte Raman- Signalstrahlung im Kubus durch den Spiegel umlenkbar und über Linse (für die Raman- Signalstrahlung) in die externe bildgebende Faser einkoppelbar ist. Dadurch erfolgt durch den Filter die „Bereinigung“ des Raman- Signals von der Anregungsstrahlung, wobei die bereinigte
15 Raman- Signalstrahlung in das Gehäuse der Detektionseinheit mit Raman- Spektrometer mündet.

Die Detektions- und Steuereinheit dient dabei der Detektion und Auswertung des schnellen Red-Flag- Übersichtsbildes eines
20 biologischen Gewebes (bspw. in Form eines schnellen Fluoreszenzübersichtsbildes), der Bildunterteilung und der Auswahl der Gebiete des unterteilten Red-Flag- Übersichtsbildes zur Steuerung für die anschließende spezifische Charakterisierung des Gewebeausschnittes mittels Raman- Spektroskopie im Sinne der Publikation „Diagnosis
25 of tumors during tissue-conserving surgery with integrated autofluorescence and Raman scattering microscopy“ von Kong et. al (www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1311289110).

Dabei ist Laserlicht in Form der Raman- Anregungsstrahlung gezielt und adressierbar in eine (oder mehrere) zentrale Faser(n) des Bündels
30 einkoppelbar und über den Kubus mit dem Fokussierelement auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe führbar.

Besonders vorteilhaft sind dabei die drei verwendeten Linsen als Gradientenindexlinsen ausgeführt, wobei das Bündel von Lichtleitern
35 sowie die externe Faser zu einem Faserkombinationsbündel zusammengefasst ist und gemeinsam mit der Messsonde von einer im

- 11 -

Wesentlichen hohlzylindrischen Umhüllung umgeben wird (bspw. ein Kanal eines Endoskops). Dabei ist die Stirnfläche der dritten Linse nicht umhüllt und der Innendurchmesser des Hohlzylinders stimmt im Wesentlichen mit dem Außendurchmesser des Faserkombinationsbündels und der Messsonde überein.

Das Faserkombinationsbündel kann bis zu 10 Metern lang sein und einen Außendurchmesser von bis zu 10 mm aufweisen.

Das Faserkombinationsbündel aus dem Bündel von Lichtleitern mit zentraler Faser und der externen Faser besteht aus Quarzglasfasern, wobei das Bündel von Lichtleitern die Red-Flag- Anregungsstrahlung sowie die Red-Flag- Strahlung transportiert und die zentrale bildgebende Faser (Imaging- Faser) umfasst, welche die Raman- Anregungsstrahlung transportiert. Die externe Faser ist dabei eine Multimode-Faser mit einem Durchmesser von bspw. 100 μm , welche sämtlich Raman-Signalstrahlung transportiert. Die bildgebende Faser kann dabei mit vielen lichtleitenden Kernen umgeben sein oder als Faserbündel aus vielen einzelnen zu dem Bündel zusammengesetzten Fasern bestehen.

Der Adsorber adsorbiert sämtliche Strahlung über 800 nm.

Der Filter (bspw. ein Notch oder Bandpass) „bereinigt“ des Raman-Signals, die größer als 800 nm ist, von der Anregungsstrahlung.

Die verwendete Laserlichtquelle ist bspw. ein Nd-YAG-Laser, ein He-Ne-Laser oder ein Halbleiterlaser.

Die von diesem Laser mittels Anregungsstrahlung erzeugte Red-Flag-Strahlung kann eine Autofluoreszenz- Strahlung, eine Zwei- oder Dreiphotonenfluoreszenz- Strahlung, kohärente Anti-Stokes-Raman-Strahlung oder stimulierte Raman- Streuungsstrahlung sein.

Die Detektions- und Steuereinheit ist eine geeignete, an sich bekannte Scanneroptik (bspw. Laserscanningmikroskop), mittels derer die Red-

- 12 -

Flag- Strahlung detektierbar ist, welche datenleitend mit der Software eines Computers in Verbindung steht.

5 Der Steuerteil der Detektions- und Steuereinheit übernimmt dabei die von dem Detektionsteil der Detektions- und Steuereinheit erzeugten, vermittelt der Software des Computers bearbeiteten Signale (ausgewertetes Red- Flag- Übersichtsbild) und dient der Steuerung der Raman- Anregungsstrahlung, in dem die Position der von der Laserlichtquelle in das Bündel von Lichtleitfasern einkoppelbare Raman-
10 Anregungs-strahlung gezielt, adressierbar auf Punkte des im Red- Flag- Übersichtsbild dargestellten, zu untersuchenden biologischen Gewebes richtbar ist, welche den zuvor gezielt ausgewählten Punkten / Spots im Red- Flag- Übersichtsbild oder dem entsprechenden Clusterbild (wie Kenny Kong et al.) entsprechen.

15 Bei dem Verfahren zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag-Strahlung und eines Raman- Spektrums unter Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird mittels der Laserlichtquelle eine Anregungsstrahlung über die bildgebende Faser durch die Linse für die
20 Anregungsstrahlung, durch die Filterschicht des Kubus und dritte, dem Kubus nachgeordnete Linse hindurch auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe geführt und vergrößert oder verkleinert abgebildet.

25 Die von der Probe emittierte Red-Flag- Signalstrahlung wird dann von der dritten, dem Kubus nachgeordnete Linse über die Filterschicht des Kubus, durch den Filter hindurch über den Spiegel im Kubus durch die Linse für die Faser hindurch in die Bildleitfaser geführt.

30 Die Signalstrahlung in Form der Red-Flag- Strahlung wird in die Detektionseinheit geleitet, wobei auf Grundlage der ausgewerteten Signale der Detektionseinheit über die Auswerte- und Steuereinheit die Raman- Anregungsstrahlung von der Laserlichtquelle gezielt adressierbar, einzelne in eine zentrale Faser des Bündels eingeleitet wird.

35

- 13 -

Die Raman- Anregungsstrahlung wird dabei ebenfalls über die bildgebende Faser, durch die Linse für die Anregungsstrahlung, durch die Filterschicht des Kubus und die dritte, dem Kubus nachgeordnete Linse hindurch auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe geführt.

Die von der Probe emittierte Raman- Signalstrahlung wird ebenfalls von der dritten, dem Kubus nachgeordnete Linse über die Filterschicht des Kubus, durch den Filter im Kubus hindurch über den Spiegel im Kubus durch die Linse für die Signalstrahlung hindurch in die externe Faser (Multimodefaser) geführt.

Die Signalstrahlung in Form Raman- Strahlung wird dabei in das Raman- Spektrometer weitergeleitet, wobei aus dem detektierten Raman- Spektrum des gezielt ausgewählt untersuchten Ausschnitts aus der Oberfläche der biologischen Gewebeprobe Strukturparameter des Gewebes ermittelt werden, die Rückschlüsse auf die Eigenschaften des zu charakterisierenden Gewebeausschnitts liefern.

Durch den Einsatz der erfindungsgemäßen kombinierten Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag- Strahlung und eines Raman- Spektrums ist es möglich, eine endoskopische Untersuchung von biologischem Gewebe *in vivo* durchzuführen, wobei die Messdauer gering ist, da vermittelt der angewendeten „Red-Flag“- Technik (bspw. Bereitstellung eines Fluoreszenzübersichtsbildes für die Gewebeausschnittunterteilung) eine Bildunterteilung mit gezielter Bereichsauswahl für eine anschließende spezifische Charakterisierung des biologischen Gewebes im ausgewählten Bereich mittels Raman- Spektroskopie (bspw. Tumorgewebe, kein Tumorgewebe) möglich ist.

Durch die kleine Bauform sind die bildgebende Faser, die Bildleitfaser und der Faserkopf / die Messsonde mit erfindungsgemäß ausgestaltetem Kubus in eine Umhüllung, insbesondere einen Kanal eines Endoskops integrierbar, so dass eine Klassifizierung nach dem Typ des biologischen Gewebes erfolgen kann, ohne eine Entnahme von biologischem Gewebe aus inneren Körperregionen vornehmen zu müssen.

Eine Erweiterung des Konzeptes der Vorrichtung mit einer Ramansonde und des Verfahrens unter Verwendung dieser Vorrichtung auf Prozesse allgemein, welche einen intrinsischen Untergrund in optischen Fasern oder Kombinationen von optischen Fasern generieren, liegt ebenfalls im Rahmen der Erfindung. Anwendungsbeispiele dafür sind:

- Fluoreszenz
- Zweiphotonenfluoreszenz
- Dreiphotonenfluoreszenz
- Second-Harmonic-Generation
- Raman
- CARS
- OCT

Die Erfindung wird nachstehend an Hand der Ausführungsbeispiel und der Figuren näher erläutert. Dabei zeigen:

Fig. 1: eine schematische Übersichtsdarstellung einer Ausführungsform der Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag-Strahlung und eines Raman- Spektrums,

Fig. 2: eine schematische Darstellung der Messsonde gemäß Fig. 1,

Fig. 3: eine schematische Übersichtsdarstellung weiterer drei Ausführungsbeispiele,

Fig. 4: eine schematische Darstellung der Linearanordnung der „19 MM Fasern“ gemäß Fig. 3 und

Fig. 5: eine schematische Darstellung der über den äußeren Umfang der Anregungsfaser verteilten „19 MM Fasern“ gemäß Fig. 3.

Die in Fig. 1 schematisch dargestellte Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag- Strahlung und eines Raman- Spektrums umfasst eine Laserlichtquelle (12) zur Anregung von Strahlung in einer biologischen Gewebeprobe und eine externe, ein Bündel von Lichtleitern mit mindestens einer Faser (1) enthaltende Messsonde (14) zum Aufsetzen auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe, wobei Laserlicht in eine oder mehrere Fasern (1) des Bündels von Lichtleitern einkoppelbar und über ein Fokussierelement auf die

- 15 -

Oberfläche der biologischen Gewebeprobe führbar ist und von der Gewebeprobe emittiertes Licht über das Fokussierelement in eine weitere Faser (9) einkoppelbar und in das Gehäuse einer Detektionseinheit (16) mit einem Raman- Spektrometer leitbar ist, wobei
5 dass das Fokussierelement am Kopf der Messsonde (14), wie in Fig. 2 dargestellt, in Form einer transparenten optischen Linse (2) und einer unmittelbar daneben angeordneten transparenten optischen Linse (8) angeordnet ist, vermittels derer das Laserlicht der Faser (1) als Raman- Anregungsstrahlung kollimiert einkoppelbar und die Raman-
10 Signalstrahlung in die externe Faser (9) auskoppelbar ist.

Dabei ist der Linse (2), wie in Fig. 2 dargestellt, ein transparenter optischer Kubus (3) mit anschließender transparenter optischer Linse (6) nachgeordnet, so dass der Kubus (3) direkt zwischen der Linse (2) und
15 der Linse (6) positioniert ist, wobei in dem Kubus (3) eine Filterschicht (4), eine Absorber (5), ein Spiegel (7) und ein Filter (10) in der Art eingebracht sind, dass durch die Filterschicht (4) der in den Fasern (1) entstandene Raman- Untergrund auf den Absorber (5) lenkbar und Raman- Anregungsstrahlung durch eine Linse (6) auf die Oberfläche
20 der biologischen Gewebeprobe führbar ist.

Die durch die Probe generierte Raman- Signalstrahlung ist durch die Linse (6) sammel- und kollimierbar, wobei die Raman- Anregungs- und die Raman- Signalstrahlung durch den Filter (10) im Kubus (3) trennbar
25 ist, so dass die durch den Filter (10) abgetrennte Raman- Signalstrahlung im Kubus (3) durch den Spiegel (7) umlenkbar und über die Linse (8) in eine externe Faser (9) koppelbar ist.

Die in eine externe Faser (9) eingekoppelte Signalstrahlung ist in das
30 Gehäuse der Detektions- und Steuereinheit (16) mit Raman- Spektrometer (17) einleitbar.

Die in der Fig. 2 dargestellte Linse (2), die Linse (6) und die Linse (8) sind als Gradientenindexlinsen ausgeführt.

35

- 16 -

Das Bündel von Lichtleitern, welches mindestens eine Faser (1) enthält sowie die externe Faser (9) sind zu einem Faserkombinationsbündel (13) zusammengefasst, welches gemeinsam mit der Messsonde (14) von einer (in der Figur nicht dargestellten) im Wesentlichen hohlzylindrischen
5 Umhüllung umgeben sein, wobei die Stirnfläche der Linse (6) nicht umhüllt ist und der Innendurchmesser des Hohlzylinders im Wesentlichen mit dem Außendurchmesser des Faserkombinationsbündels (13) / der Messsonde (14) übereinstimmt. Die nicht in der Fig. 2 dargestellte Umhüllung kann bspw. ein Kanal eines Endoskops sein.

10 Das Faserkombinationsbündel (13) kann bis zu 10 Metern lang sein, einen Außendurchmesser von bis zu 10 mm aufweisen, aus Quarzglasfasern bestehen.

Die Faser (1) ist eine bildgebende Faser (Imaging- Faser).

15

Die externe Faser (9) ist eine Multimode-Faser mit einem Durchmesser von bspw. 100 μm .

Der Adsorber (5) adsorbiert sämtliche Strahlung über 800 nm.

20

Der Filter (10) kann bspw. ein Bandpass zum „Bereinigen“ des Raman-Signals von 785 nm- Anregungsstrahlung sein.

Die Laserlichtquelle kann bspw. ein Nd-YAG-Laser, ein He-Ne-Laser
25 oder ein Halbleiterlaser sein.

Die Red-Flag- Strahlung, welche bei der bestimmungsgemäßen Verwendung der Vorrichtung eingesetzt wird, kann bspw. eine Autofluoreszenz- Strahlung, Zwei- oder Dreiphotonenfluoreszenz-
30 Strahlung (SHG oder THG), kohärente Anti-Stokes-Raman-Strahlung (CARS) oder stimulierte Raman- Streuungsstrahlung (SRS) sein.

Der von der Detektions- und Steuereinheit umfasste Detektor (18) für die der Red-Flag- Signalstrahlung kann als photo-optischer Detektor,
35 ausgeführt sein, mittels derer die Red-Flag- Strahlung als Red- Flag- Übersichtsbild detektierbar ist.

- 17 -

Die Vorrichtung weist, wie in Fig. 1 dargestellt, eine Detektions- und Steuereinheit (16) zur Auswertung des von dem Detektor (18) ermittelten Red- Flag- Übersichtsbild auf, wobei durch die Detektions- und Steuereinheit (16) die Steuerung der Raman- Anregungsstrahlung gezielt adressierbar, einzelne in eine Faser (1) des Bündels von Lichtleitern (13) auf Grundlage der ausgewerteten Signale generierbar ist.

Bei dem Verfahren zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag-Strahlung und eines Raman- Spektrums wird unter Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mittels der Laserlichtquelle (12) eine Raman- Anregungsstrahlung über die Faser (1), durch die Linse (2), die Filterschicht (4) des Kubus (3) und die Linse (6) hindurch auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe geführt.

Die durch die Raman- Anregungsstrahlung von der Probe emittierte Raman- Signalstrahlung wird von der Linse (6) über die Filterschicht (4) des Kubus (3), durch den Filter (10) hindurch über den Spiegel (7) durch die Linse (8) hindurch in die externe Faser (9) geführt und in das Raman- Spektrometer (17) zur Aufnahme des Raman- Spektrums geleitet.

Dabei wird die Raman- Anregungsstrahlung auf Grundlage zuvor vom Detektor (18) aufgenommenen und mittels der Software und des Computers der Detektions- und Steuereinheit (16) ausgewerteten Signale des Red-Flag- Übersichtsbildes des zu untersuchenden biologischen Gewebes über die Detektions- und Steuereinheit (16) von der Laserlichtquelle (12) gezielt adressierbar in eine zentrale Faser (1) des Bündels von Lichtleitern eingeleitet.

Auf Grund der Auswertung der Detektions- und Steuereinheit (16) liegt dabei ein Red-Flag- Übersichtsbild über das gesamte zu untersuchende Gewebe vor. In diesem Übersichtsgebiet werden gezielt Cluster mit gleichen Signalintensitätsverhältnissen ermittelt, die als Adressierungsorte für die Raman- Anregungsstrahlung dienen, wobei von jedem Cluster ein Ramanspektrum im Sinne der Publikation „Diagnosis of tumors during tissue-conserving surgery with integrated

autofluorescence and Raman scattering microscopy“ von Kong et. al
(www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1311289110) aufzunehmen ist.

5 Die Raman- Anregungsstrahlung wird dabei gezielt in die Faser (1)
eingekoppelt, welche als bildgebende Faser dem adressierten,
vorgegebenen Zielgebiet zugeordnet ist (siehe Fig. 2).

Über die Faser (1), durch die Linse (2), die Filterschicht (4) des Kubus
(3) und die Linse (6) hindurch wird dabei die Raman-
Anregungsstrahlung auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe
10 geführt und die von der Probe emittierte Raman- Signalstrahlung wird
dann von der Linse (6) über die Filterschicht (4) des Kubus (3), durch
den Filter (10) hindurch über den Spiegel (7) durch die Linse (8)
hindurch in die externe Faser (9) geführt.

15 Mit Hilfe der Faser (9) wird dann die Signalstrahlung in Form Raman-
Anregungsstrahlung in das Raman- Spektrometer (17) geleitet.

Durch die Filterschicht (4) und den Adsorber (5) im Kubus (3) wird
dabei die Raman- Anregungsstrahlung auf den Bereich unter 800 nm
20 „bereinigt“.

Vermittels des Filters (10) im Kubus (3) wird ermöglicht, dass die
Raman- Signalstrahlung im Bereich über 800 nm in die Faser (9)
passieren kann.

25 In dem Raman- Spektrometer (17) werden aus dem detektierten Raman-
Spektrum des gezielt ausgewählt untersuchten Ausschnitts aus der
Oberfläche der biologischen Gewebeprobe Strukturparameter des
Gewebes ermittelt, welche Rückschlüsse auf die Eigenschaften des zu
charakterisierenden Gewebeausschnitts liefern, in dem das detektierte
30 Spektrum gemäß dem Stand der Technik mit Referenzspektren
verglichen wird.

Die zuvor stehende beschriebene Vorrichtung mit einer Ramansonde und
35 das entsprechende Verfahren unter Verwendung dieser ist auch bei

- 19 -

Prozessen, welche einen intrinsischen Untergrund in optischen Fasern oder Kombinationen von optischen Fasern generieren, wie bspw.

- Fluoreszenz
- Zweiphotonenfluoreszenz
- 5 • Dreiphotonenfluoreszenz
- Second-Harmonic-Generation
- Raman
- CARS
- OCT

10 anwendbar.

Dazu veranschaulicht die Fig. 3 diese Anwendungsbeispiele schematisch.

15 Für diese Ausführungsbeispiele ist ein Durchmesser der Sammelfaser (500 μ m MM Fiber in Fig. 3) vorgesehen, welcher dem Durchmesser der Anregungsfaser (Imaging Faser in Fig. 3) entspricht, was für praktische Anwendungen, bspw. in der Medizintechnik problematisch sein kann.

20 Gelöst wird dieses Problem der gleichen Durchmesser der Faser zum Sammeln sowie wie zum Anregen durch die Verwendung eines Querschnittswandler, bei dem die „19 MM Fasern“ nicht (wie üblich) in kompakter Kreisform, sondern zu einer Linie angeordnet sind, wie in
25 Fig. 4 dargestellt.

Die wesentlich kompaktere Ausführung ist nicht nur durch die Linearanordnung der „19 MM Fasern“ möglich (siehe Fig. 4), sondern kann auch dadurch erzeugt werden, dass die einzelnen „19 MM Fasern“
30 [deren Summe ihrer Einzeldurchmesser dem Durchmesser der Anregungsfaser (Imaging Faser in Fig. 3) entsprechen] in wesentlichen gleichmäßig um den äußeren Umfang der Anregungsfaser verteilt und von dieser gehalten sind (siehe dazu Fig. 5).

35 Alle in der Beschreibung, den Ausführungsbeispielen und den nachfolgenden Ansprüchen dargestellten Merkmale können sowohl

- 20 -

einzel­n als auch in beliebiger Kombination miteinander
erfindungswesentlich sein.

Bezugszeichenliste

	1	-	Faser (Imaging Faser/bildgebende Faser)
5	12	-	Laserlichtquelle
	13	-	Faserkombinationsbündel
	14	-	Messsonde
	16	-	Detektions- und Steuereinheit
	17	-	Raman- Spektrometer
10	18	-	Detektor
	2	-	Linse
	3	-	Kubus
	4	-	Filterschicht
	5	-	Absorber
15	6	-	Linse
	7	-	Spiegel
	8	-	Linse
	9	-	externe Faser (Sammelfaser)
	10	-	Filter
20			

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag-Strahlung und eines Raman-Spektrums umfassend eine
5 Laserlichtquelle (12) zur Generierung von Red-Flag- und von Raman- Strahlung in einer biologischen Gewebeprobe, einen Detektor (18) zur Detektion eines Red-Flag- Übersichtsbildes, eine Detektions- und Steuereinheit (16) zur Auswertung des Red- Flag-Übersichtsbildes und zur Steuerung der Raman- Anregungsstrahlung,
10 sowie eine, ein Bündel von Lichtleitern mit mindestens einer Faser (1) enthaltende Messsonde (14) zum Aufsetzen auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe, wobei Laserlicht in eine oder mehrere Fasern (1) des Bündels von Lichtleitern einkoppelbar und über ein Fokussierelement auf die Oberfläche der biologischen
15 Gewebeprobe führbar ist und von der Gewebeprobe emittiertes Licht über das Fokussierelement auf den Detektor (18) für Red-Flag-Signalstrahlung und/oder ein Raman-Spektrometer (17) für Raman-Signalstrahlung leitbar ist, wobei das Fokussierelement am Kopf der Messsonde (14) in Form einer transparenten optischen Linse (2) und
20 einer unmittelbar daneben angeordneten transparenten optischen Linse (8) angeordnet ist, mittels derer das Laserlicht der Faser (1) als Raman-Anregungsstrahlung kollimiert einkoppelbar und die Raman- Signalstrahlung in die externe Faser (9) auskoppelbar ist, dadurch gekennzeichnet, dass der Linse (2) ein transparenter
25 optischer Kubus (3) mit anschließender transparenter optischer Linse (6) nachgeordnet ist, so dass der Kubus (3) direkt zwischen der Linse (2) und der Linse (6) positioniert ist, wobei in dem Kubus (3) eine Filterschicht (4), eine Absorber (5), ein Spiegel (7) und ein Filter (10) in der Art eingebracht sind, dass durch die
30 Filterschicht (4) der in der Faser (1) entstandene Untergrund auf den Absorber (5) lenkbar und Anregungsstrahlung durch eine Linse (6) auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe führbar ist, durch die Gewebeprobe generierte Raman-Signalstrahlung durch die Linse (6) sammel- und kollimierbar ist, die Raman- Anregungs- und
35 die Raman- Signalstrahlung durch den Filter (10) im Kubus (3) trennbar ist, so dass die durch den Filter (10) abgetrennte Raman-

- 23 -

Signalstrahlung im Kubus (3) durch den Spiegel (7) umlenkbar und über die Linse (8) in die externe Faser (9) koppelbar ist, die in das Raman- Spektrometer (17) mündet.

- 5 2. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Linse (2), die Linse (6) und die Linse (8) als Gradientenindexlinsen ausgeführt sind.
- 10 3. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Bündel von Lichtleitern mit der Faser (1), die externe Faser (9) und die Messsonde (14) eine im Wesentlichen hohlzylindrische Umhüllung aufweisen, wobei die Stirnfläche der Linse (6) nicht umhüllt ist und der Innendurchmesser des Hohlzylinders im Wesentlichen mit dem Außendurchmesser des Bündels von
15 Lichtleitern zuzüglich der Faser (9) sowie mit dem Außendurchmesser der Messsonde (14) übereinstimmt.
- 20 4. Vorrichtung gemäß Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das die Umhüllung ein Kanal eines Endoskops ist und das Bündel von Lichtleitern mit der mindestens einen Faser (1) sowie die externe Faser (9) zu einem Faserkombinationsbündel (13) zusammengefasst ist.
- 25 5. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Laserlichtquelle ein Nd-YAG-Laser, ein He-Ne-Laser oder ein Halbleiterlaser ist.
- 30 6. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die einzustrahlende Red-Flag- Strahlung eine Autofluoreszenz-Strahlung, Zwei- oder Dreiphotonenfluoreszenz- Strahlung, kohärente Anti-Stokes-Raman-Strahlung oder stimulierte Raman-Streuungsstrahlung ist.
- 35 7. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Detektor (18) ein photo-optischer Detektor ist, mittels dessen das Red-Flag- Übersichtsbild detektierbar ist.

8. Vorrichtung gemäß einem oder mehrerer der voran stehenden Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Detektions- und Steuereinheit (16) einen Software enthaltenden Computer zur Auswertung der von dem Detektor (18) erzeugten Red-Flag-Übersichtsbildes umfasst, wobei durch die Detektions- und Steuereinheit (16) die Raman- Anregungsstrahlung gezielt adressierbar, einzelne in mindestens eine der Fasern (1) des Bündels von Lichtleitern (13) durch die Strahlung der Laserlichtquelle (12) generierbar ist.
9. Vorrichtung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchmesser der externen Faser (9) gleich dem Durchmesser der Faser (1) ist, in dem die externe Faser (9) durch einen Querschnittswandler ausgebildet ist, bei dem 19 MM Fasern als Linear- oder Kreisanordnung einzelnen und im wesentlichen gleichmäßig um den äußeren Umfang der Faser (1) verteilt sind und von dieser gehalten werden, wobei die Summe der Einzeldurchmesser der 19 MM Fasern dem Durchmesser der Faser (1) entspricht.
10. Verfahren zur Erzeugung und zur Detektion von Red-Flag- Strahlung und eines Raman- Spektrums unter Verwendung einer Vorrichtung gemäß einem oder mehrerer der voran stehenden Ansprüche 1 bis 8 bei dem
- mittels der Laserlichtquelle (12) eine Red-Flag- Anregungsstrahlung über das Bündel von Lichtleitern mit mindestens einer Faser (1) auf die Oberfläche einer biologischen Gewebeprobe geführt wird,
 - von der Probe emittierte Red-Flag- Signalstrahlung auf den Detektor (18) geführt wird,
 - die vom Detektor (18) als Red-Flag- Übersichtsbild erfassten Signale in der Detektions- und Steuereinheit (16) Computergestützt ausgewertet werden wird, wobei auf Grundlage der

- 25 -

ausgewerteten mittels der Detektions- und Steuereinheit (16) die Raman- Anregungsstrahlung von der Laserlichtquelle (12) gezielt adressierbar, einzelne in eine Faser (1) des Bündels von Lichtleitern (13) eingeleitet wird,

5

- diese Raman- Anregungsstrahlung über die Faser (1), durch die Linse (2), die Filterschicht (4) des Kubus (3) und die Linse (6) hindurch auf die Oberfläche der biologischen Gewebeprobe geführt wird,

10

- von der Probe emittierte Raman- Signalstrahlung von der Linse (6) über die Filterschicht (4) des Kubus (3), durch den Filter (10) hindurch über den Spiegel (7) durch die Linse (8) hindurch in die externe Faser (9) geführt wird,

15

- die Raman- Signalstrahlung von der Faser (9) in das Raman-Spektrometer (17) geführt wird und

20

- aus dem im Raman- Spektrometer (17) detektierten Raman-Spektrum des gezielt ausgewählt untersuchten Ausschnitts aus der Oberfläche der biologischen Gewebeprobe Strukturparameter des Gewebes ermittelt werden, die Rückschlüsse auf die Eigenschaften des zu charakterisierenden Gewebeausschnitts liefern.

25

11. Verfahren gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass mittels der Filterschicht (4) und des Adsorbers (5) im Kubus (3) eine bereinigte Raman- Anregungsstrahlung unter 800 nm erzeugt wird und dass mittels des Filters (10) im Kubus (3) ein bereinigte Raman- Signal über 800 nm erzeugt wird.

30

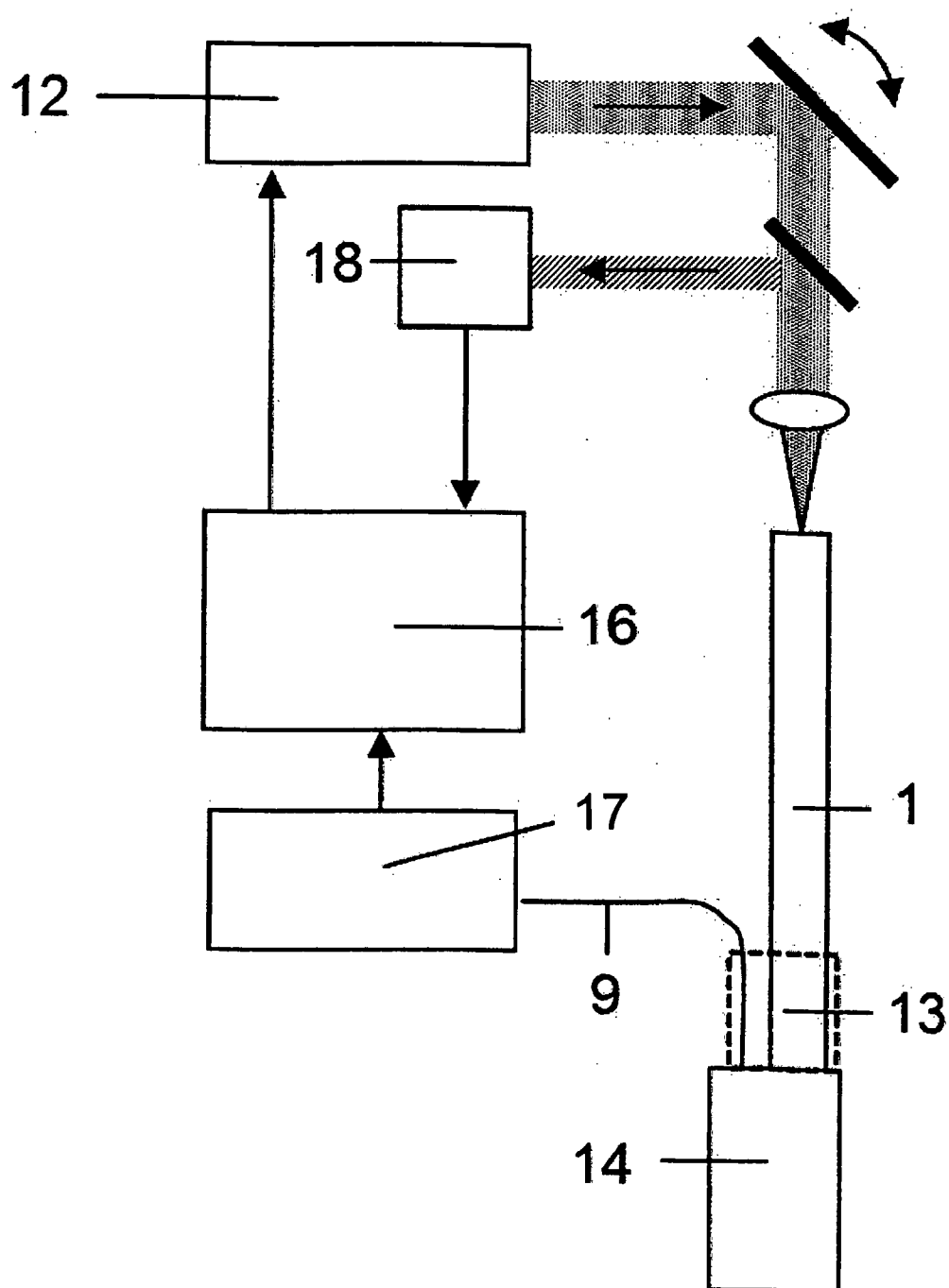


Fig. 1

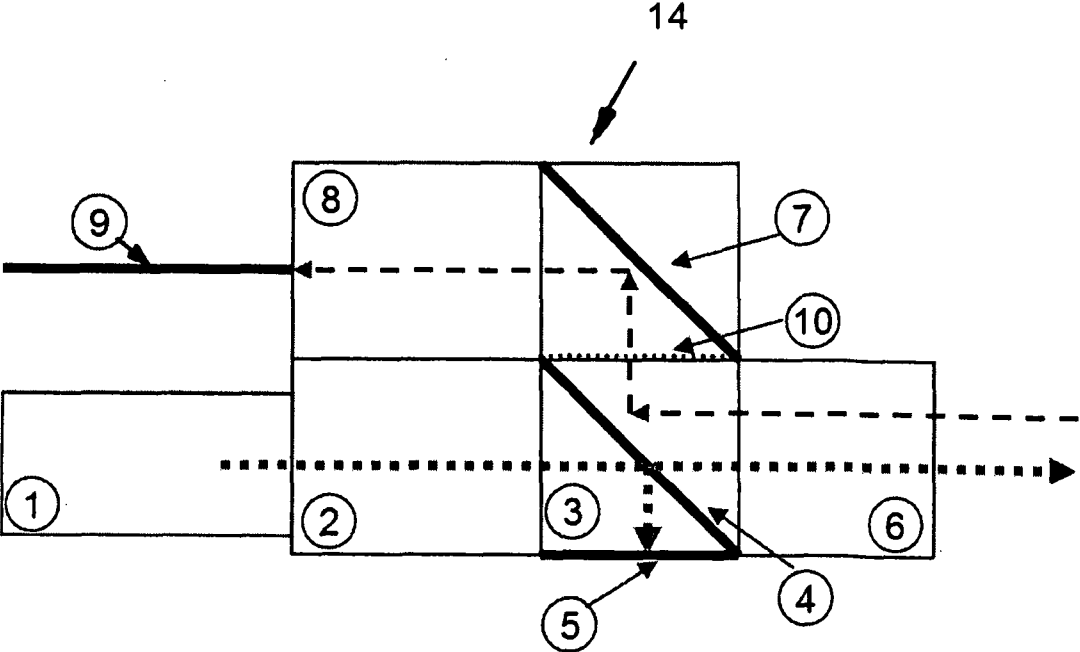


Fig. 2

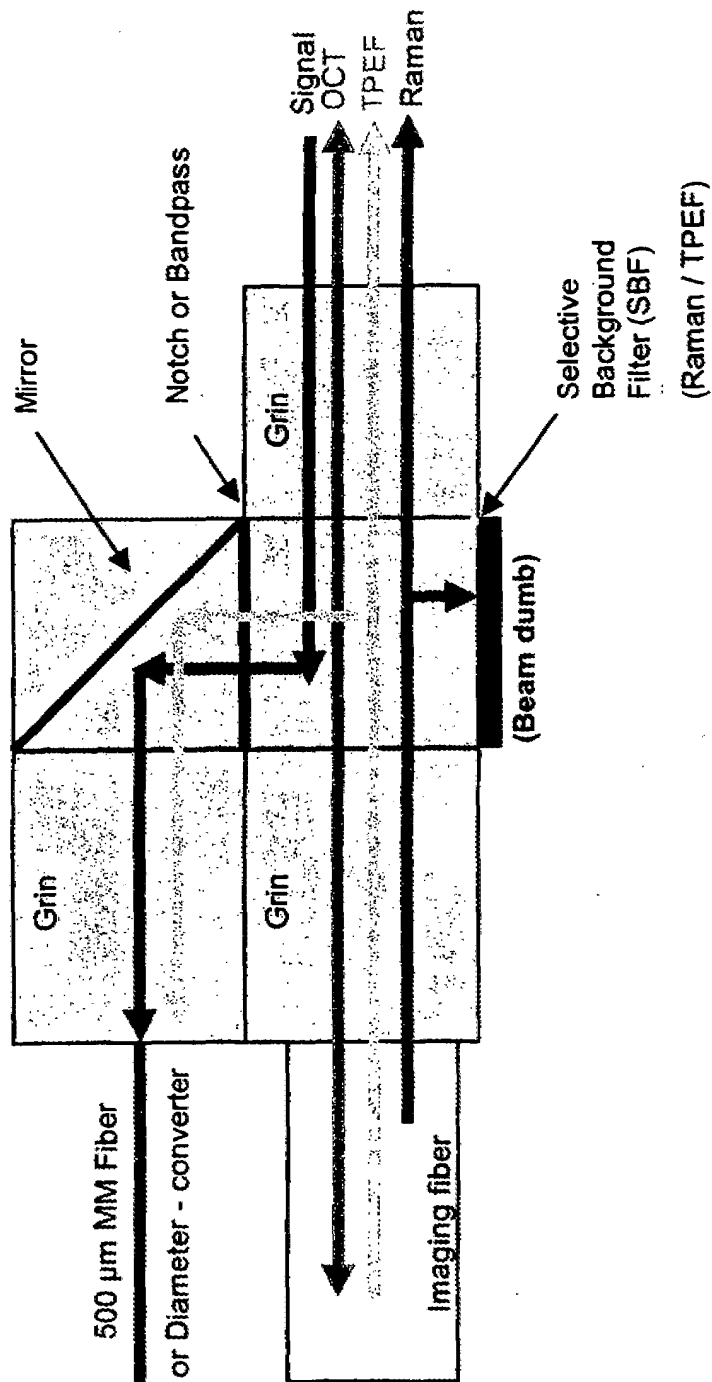


Fig. 3

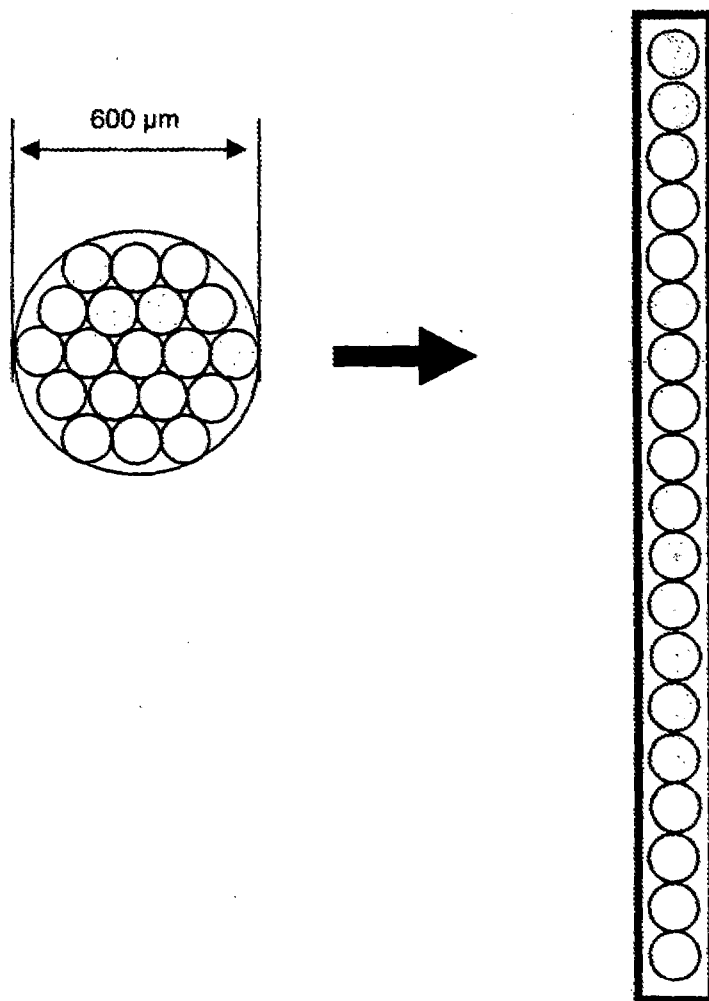


Fig. 4

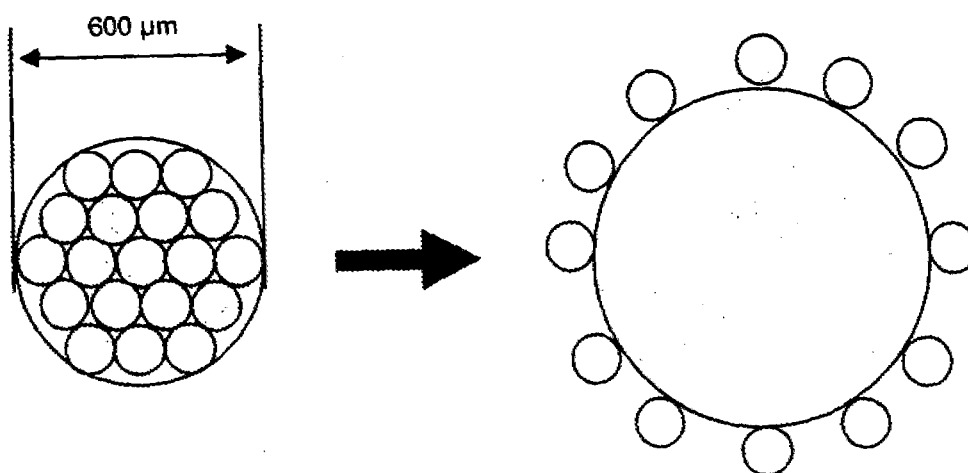


Fig. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2014/000597

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. A61B5/00 A61B1/04
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 A61B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2009/021724 A1 (MAHADEVAN-JANSEN ANITA [US] ET AL) 22 January 2009 (2009-01-22) paragraphs [0002], [0083], [0085], [0095], [0086], [0090], [0091], [0100] - [0105]; figures 2A,2B,3,4	1-11
A	US 2009/231578 A1 (LING JIAN [US] ET AL) 17 September 2009 (2009-09-17) paragraphs [0046] - [0052]; figure 1	1-11
A	US 2008/119832 A1 (CRONIN PAUL J [US]) 22 May 2008 (2008-05-22) paragraph [0031]; figure 1	1-11
	----- -/-	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 March 2015

Date of mailing of the international search report

07/04/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mecking, Nikolai

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DE2014/000597

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	INES LATKA ET AL: "Fiber optic probes for linear and nonlinear Raman applications - Current trends and future development", LASER & PHOTONICS REVIEWS, vol. 7, no. 5, 15 January 2013 (2013-01-15), pages 698-731, XP55176249, ISSN: 1863-8880, DOI: 10.1002/lpor.201200049 figures 5,17 -----	1-11
A	CHETAN A. PATIL ET AL: "A clinical instrument for combined raman spectroscopy-optical coherence tomography of skin cancers", LASERS IN SURGERY AND MEDICINE, vol. 43, no. 2, 7 February 2011 (2011-02-07), pages 143-151, XP55178021, ISSN: 0196-8092, DOI: 10.1002/lsm.21041 page 144, column 2, line 27 - page 146, column 2, line 50; figures 1,2 -----	1-11
A	WO 2013/067996 A1 (INST PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E V INST PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E V [D]) 16 May 2013 (2013-05-16) the whole document -----	1-11
A	LATKA INES ET AL: "Development of a fiber-based Raman probe for clinical diagnostics", CLINICAL AND BIOMEDICAL SPECTROSCOPY AND IMAGING II, SPIE, 1000 20TH ST. BELLINGHAM WA 98225-6705 USA, vol. 8087, no. 1, 9 June 2011 (2011-06-09), pages 1-8, XP060015296, DOI: 10.1117/12.889924 [retrieved on 1901-01-01] page 2, line 44 - page 4, line 22; figures 1-3 -----	1-11
A	MANU JAIN ET AL: "Multiphoton Microscopy in the Evaluation of Human Bladder Biopsies", ARCHIVES OF PATHOLOGY & LABORATORY MEDICINE, vol. 136, no. 5, 1 May 2012 (2012-05-01), pages 517-526, XP55178022, ISSN: 0003-9985, DOI: 10.5858/arpa.2011-0147-0A page 525, column 1, line 45 - column 2, line 30 ----- -/--	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/DE2014/000597

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 006 001 A (ALFANO ROBERT R [US] ET AL) 21 December 1999 (1999-12-21) column 7, line 25 - column 8, line 35; figures 4-6 -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DE2014/000597

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2009021724 A1	22-01-2009	NONE	
US 2009231578 A1	17-09-2009	US 2009231578 A1	17-09-2009
		WO 2008144600 A1	27-11-2008
US 2008119832 A1	22-05-2008	NONE	
WO 2013067996 A1	16-05-2013	DE 112012004726 A5	31-07-2014
		WO 2013067996 A1	16-05-2013
US 6006001 A	21-12-1999	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. A61B5/00 A61B1/04
 ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 A61B

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 2009/021724 A1 (MAHADEVAN-JANSEN ANITA [US] ET AL) 22. Januar 2009 (2009-01-22) Absätze [0002], [0083], [0085], [0095], [0086], [0090], [0091], [0100] - [0105]; Abbildungen 2A, 2B, 3, 4 -----	1-11
A	US 2009/231578 A1 (LING JIAN [US] ET AL) 17. September 2009 (2009-09-17) Absätze [0046] - [0052]; Abbildung 1 -----	1-11
A	US 2008/119832 A1 (CRONIN PAUL J [US]) 22. Mai 2008 (2008-05-22) Absatz [0031]; Abbildung 1 -----	1-11
	-/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

27. März 2015

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

07/04/2015

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mecking, Nikolai

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	INES LATKA ET AL: "Fiber optic probes for linear and nonlinear Raman applications - Current trends and future development", LASER & PHOTONICS REVIEWS, Bd. 7, Nr. 5, 15. Januar 2013 (2013-01-15), Seiten 698-731, XP55176249, ISSN: 1863-8880, DOI: 10.1002/lpor.201200049 Abbildungen 5,17 -----	1-11
A	CHETAN A. PATIL ET AL: "A clinical instrument for combined raman spectroscopy-optical coherence tomography of skin cancers", LASERS IN SURGERY AND MEDICINE, Bd. 43, Nr. 2, 7. Februar 2011 (2011-02-07), Seiten 143-151, XP55178021, ISSN: 0196-8092, DOI: 10.1002/lsm.21041 Seite 144, Spalte 2, Zeile 27 - Seite 146, Spalte 2, Zeile 50; Abbildungen 1,2 -----	1-11
A	WO 2013/067996 A1 (INST PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E V INST PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E V [D]) 16. Mai 2013 (2013-05-16) das ganze Dokument -----	1-11
A	LATKA INES ET AL: "Development of a fiber-based Raman probe for clinical diagnostics", CLINICAL AND BIOMEDICAL SPECTROSCOPY AND IMAGING II, SPIE, 1000 20TH ST. BELLINGHAM WA 98225-6705 USA, Bd. 8087, Nr. 1, 9. Juni 2011 (2011-06-09), Seiten 1-8, XP060015296, DOI: 10.1117/12.889924 [gefunden am 1901-01-01] Seite 2, Zeile 44 - Seite 4, Zeile 22; Abbildungen 1-3 -----	1-11
A	MANU JAIN ET AL: "Multiphoton Microscopy in the Evaluation of Human Bladder Biopsies", ARCHIVES OF PATHOLOGY & LABORATORY MEDICINE, Bd. 136, Nr. 5, 1. Mai 2012 (2012-05-01), Seiten 517-526, XP55178022, ISSN: 0003-9985, DOI: 10.5858/arpa.2011-0147-0A Seite 525, Spalte 1, Zeile 45 - Spalte 2, Zeile 30 ----- -/--	1-11

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 6 006 001 A (ALFANO ROBERT R [US] ET AL) 21. Dezember 1999 (1999-12-21) Spalte 7, Zeile 25 - Spalte 8, Zeile 35; Abbildungen 4-6 -----	1-11

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE2014/000597

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2009021724 A1	22-01-2009	KEINE	
US 2009231578 A1	17-09-2009	US 2009231578 A1	17-09-2009
		WO 2008144600 A1	27-11-2008
US 2008119832 A1	22-05-2008	KEINE	
WO 2013067996 A1	16-05-2013	DE 112012004726 A5	31-07-2014
		WO 2013067996 A1	16-05-2013
US 6006001 A	21-12-1999	KEINE	

专利名称(译)	具有拉曼探针的装置和使用所述装置的方法		
公开(公告)号	EP3079563A1	公开(公告)日	2016-10-19
申请号	EP2014825091	申请日	2014-11-20
申请(专利权)人(译)	弗里德里希 - 席勒安大学JENA 莱布尼茨研究所献给PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E.V.		
当前申请(专利权)人(译)	弗里德里希 - 席勒安大学JENA 莱布尼茨研究所献给PHOTONISCHE TECHNOLOGIEN E.V.		
[标]发明人	DOCHOW SEBASTIAN POPP JURGEN		
发明人	DOCHOW, SEBASTIAN POPP, JÜRGEN		
IPC分类号	A61B5/00 A61B1/04		
CPC分类号	A61B1/00167 A61B1/00188 A61B1/043 A61B5/0037 A61B5/0071 A61B5/0075 A61B5/0084 A61B2562/0233		
优先权	102013020703 2013-12-09 DE 102014005617 2014-04-14 DE		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种具有拉曼探针的装置。发明内容本发明的目的是提供一种装置，其包括拉曼探针并且允许对生物组织进行体内内窥镜检查。这是通过以下方式实现的：该装置包括激光光源（12），检测器（18），检测和控制单元（16），拉曼光谱仪（17），外部光纤（9）和测量探针（14）包含具有至少一根光纤（1）的光导束（13）。在测量探针（14）的头部上布置有两个透明光学透镜形式的聚焦元件，其中透明光学立方体位于透镜之间，并且引入滤光器层，吸收器，镜子和滤光器。立方体。激发光可以从激光光源（12）通过光纤（1）通过立方体引导到生物组织样本上，来自组织样本的拉曼信号光束可以通过外部光纤引导通过立方体（9）并进入拉曼光谱仪（17）。