

Zweistufige Übersichtsmikroskopie für 25-mm-Objektfeld

Horst Riesenberg

Im Rahmen der Entwicklung der neuen Generation von Mikroskopoptik für die JENA-MIKROSKOPE 250-CF wurde der Übersichtsmikroskopie besondere Beachtung gewidmet. Erstmalig steht ein Mikroskopobjektiv mit der Vergrößerung 1× zur Verfügung, das in Verbindung mit einem Großfeld-Okular die Übersichtsbeobachtung eines Objektfeldes von 25 mm Durchmesser gestattet und das mit den übrigen Mikroskopobjektiven abgeglichen ist. Damit ist ein schneller Wechsel zwischen der Übersichtsbeobachtung und der Mikroskopie bei höheren Vergrößerungen möglich.

Bisher bekannte Mikroskopobjektive schwächster Vergrößerung - insbesondere mit der Vergrößerung 1× - sind entweder mit übrigen Mikroskopobjektiven nicht abgeglichen oder haben den Nachteil, daß sie auf Grund von Bildfehlern die Großfeld-Abbildung nicht zulassen. Im ersten Fall wird das Übersichtsobjektiv in eine Spezialaufnahme geschraubt, die bei der Übersichtsbeobachtung gegen den üblichen Objektivrevolver ausgetauscht werden muß, was unbequem ist. Außerdem bleibt das abgebildete Objektfeld weit unter 25 mm Durchmesser. Im zweiten Fall, bei dem das als Kompaktsystem ausgeführte Übersichtsobjektiv mit den übrigen Mikroskopobjektiven abgeglichen ist, führt der mögliche optische Aufbau zwangsläufig zu einer Bildfeld-

krümmung bzw. zu einer die Bildfeldkrümmung charakterisierenden Petzvalschen Summe, die eine scharfe Abbildung nur für eine eingeschränkte Objektfeldgröße zuläßt. Die besondere Schwierigkeit bzw. Unmöglichkeit, für Großfeld-Abbildungen geeignete Objektive der Vergrößerung 1× als Kompaktsystem, d. h. mit einer mechanischoptischen Baulänge, zu entwickeln, die etwa der Abgleichlänge von 45 mm entspricht, liegt darin, daß die Brennweite solcher Objektive das Mehrfache ihrer Baulänge beträgt.

Auf Grund einer neuartigen Lösung ist es gelungen, ein optisches System für Übersichtsmikroskopie zu entwickeln, das die

Zum Beitrag Seite 40

Bild 1: Prinzipskizze des Kontrasttubus. 1 Polarisator mit eingezeichneter Schwingungsrichtung; 2 Kondensorbrennebene; 3 Kondensor; 4 Objektebene; 5 Objektiv; 6 Austrittspupille; 7 Würfel; 8, 11, 12, 16 Umlenk-

elemente; 9 Zwischenabbildungsoptik; 10 Zwischenbild; 13 Bild der Austrittspupille 6; 14 Analysator mit eingezeichneter Schwingungsrichtung; 15 Vergrößerungswechsler (Stufen 0,8×, 1×, 1,25×).

Zum Beitrag Seite 41

Bild 1: Abgeglichenes Übersichtsobjektiv GF-Planachromat 1×/0,03 spez/-A am JENAMED histology.

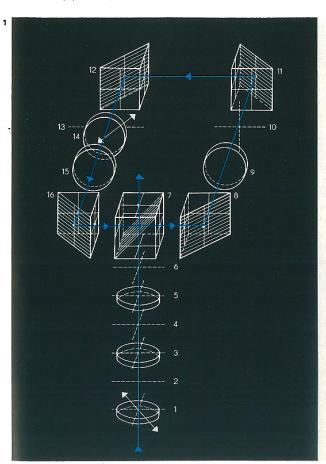




Abbildung des extrem großen Objektfeldes von 25 mm Durchmesser bildfeldgeebnet und farbtreu in hoher Brillanz ermöglicht und das gleichzeitig mit den übrigen Mikroskopobjektiven abgeglichen ist. Das Übersichtsobjektiv hat die Bezeichnung GF-Planachromat 1×/0,03 spez/-A und wird am Objektivrevolver zusammen mit den in [1] beschriebenen CVD-freien GF-Planachromaten höherer Vergrößerung verwendet. Das abgebildete Objektfeld wird von der Feldblende des benutzten Okulars begrenzt. In den Geräteausrüstungen ist das Großfeld-Okular GF-Pw 10× (25) mit der Feldzahl 25 vorgesehen, so daß in der zweistufigen Mikroskopie ein Objektfelddurchmesser von 25 mm mit 10facher Vergrößerung abgebildet wird und augenseitig der Eindruck eines Bildfelddurchmessers von 250 mm entsteht.

Das Übersichtsobjektiv 1× ist in der Grundausrüstung des JENAMED histology (Bild 1) und in verschiedenen Varianten des JENAVAL mit Kontrasttubus enthalten. Während bei der Beobachtung mit den Mikroskopobjektiven ab Vergrößerung 3,2× -- infolge ihrer Korrektion für unendliche Bildweite - eine Tubuslinse in den Strahlengang zu schalten ist, ist bei der Übersichtsbeobachtung mit dem GF-Planachromat 1× anstelle einer Tubuslinse ein zum optischen System des Übersichtsobjektivs gehörendes Teilsystem in den Strahlengang zu schalten. Beim JENAMED histology erlaubt der Vergrößerungswechsler einerseits die Wahl der Tubusfaktoren 0,8×, 1× und 1,25×, andererseits ist bei Einstellung des Vergrößerungswechslers auf eine besonders markierte Stellung das optische Teilsystem für die Übersichtsmikroskopie eingeschaltet. Bei den Varianten des JENAVAL mit Kontrasttubus ist die Umschaltung zwischen Tubuslinse und optischem Teilsystem ebenfalls einfach und übersichtlich gestaltet.

Im Wechsel von schwachen Übersichtsvergrößerungen und stärkeren Vergrößerungen bewirken Fehlsichtigkeit des Beobachters oder eine Abweichung von der entwicklungsseitig zugrundeliegenden "Norm"-Akkommodation eine Störung der Abgleichung, die erheblich sein kann. Die Scharfeinstellung ist dann beim Objektivwechsel nicht mehr gewährleistet. Zur Vermeidung dieses Effekts ist das Übersichtsobjektiv 1 × fokussierbar gestaltet. So ist es möglich, das individuelle Akkommodationsverhalten eines normalsichtigen Beobachters sowie die Kurz- bzw. Übersichtigkeit derart zu kompensieren, daß die scharfe Abbildung des Objektfeldes beim Wechsel zwischen Übersichtsbeobachtung und Beobachtung bei höheren Vergrößerungen exakt erhalten bleibt. Um diesen Abgleich zu erhalten, wird bei einer mittleren Vergrößerung die Scharfeinstellung am Mikroskop vorgenommen und nach Umschalten auf das Übersichtsobjektiv 1× durch Drehung des Rändelringes am Objektiv erneut scharf eingestellt. Der individuelle Abgleich ist einmalig erforderlich und bleibt für einen bestimmten Beobachter beim Mikroskopieren erhalten.



Bild 2: Adenokarzinom des Endomedriums. Dünnschnitt, HE-Färbung, Darstellung eines 25-mm-Objektfeldes; Präparat: Frauenklinik der FSU Jena, Histologisches Labor; Objektiv 1 × /0,03 spez/-A, Abbildungsmaßstab 2,5:1. Im Mikroskop erscheint das Bild in 10facher Vergrößerung mit einem Bildfelddurchmesser von 250 mm.

Die Ausleuchtung des Objektfeldes von 25 mm Durchmesser erfolgt mit einem Übersichtskondensor, der bequem durch Umschaltung mit einem Kondensor höherer Apertur wechselbar ist. Beim JENAMED histology wird durch den Übersichtskondensor eine Beleuchtungsapertur von etwa 0,25 realisiert, die das Vielfache der Beobachtungsapertur von 0,03 beträgt. Die regelbare Aperturblende ist dabei voll zu öffnen. Entsprechend der Grundkonzeption der Beleuchtung beim JENAMED wird auf eine regelbare Leuchtfeldblende verzichtet. Beim JENAVAL wird durch den Übersichtskondensor eine Beleuchtungsapertur von 0,12 erzeugt, die ebenfalls das Mehrfache der Beobachtungsapertur 0,03 beträgt. Das Köhlersche Beleuchtungsprinzip beim JENAVAL erlaubt die Regelung der Leuchtfeld- und Aperturblende. Es empfiehlt sich jedoch, die Aperturblende im allgemeinen ebenfalls voll zu öffnen. Die um ein Mehrfaches größere Beleuchtungsapertur gegenüber der Objektivapertur von 0,03 ist wesentlich, um eine farbrichtige Bildwiedergabe von solchen Objektdetails zu erreichen, die sich in ihrer Brechzahl merklich von der Umgebung unterscheiden. In Abhängigkeit von ihrer geometrischen Struktur treten Brechungseffekte auf, die bei zu geringer Beleuchtungsapertur zu Farbverfälschungen führen.

Die subjektive Übersichtsmikroskopie kann im Bedarfsfall ergänzt werden durch die mikrofotografische Dokumentation mit dem Aufsetzkamerasystem mf-AKS. Bei Verwendung des Projektivs 2:1 wird ein Objektfeld von 22 mm bzw. 23,5 mm erfaßt, je nachdem, ch Kleinhildformat oder Großformat benutzt werden. Im letzteren Fall wird das Objektfeld durch das Projektiv und den wirksamen Kamerafaktor 3,2× im Abbildungsmaßstab 6,3:1 auf der Filmebene abgebildet.

Die Übersichtsmikroskopie für 25-mm-

Objektfeld mit der Möglichkeit des schnellen und bequemen Übergangs zu stärkeren Vergrößerungen bietet wesentliche Vorteile gegenüber der bisherigen Praxis in maßgeblichen Gebieten der Mikroskopie. Die Steigerung des abgebildeten Objektfeldes auf 25 mm, die die volle Breite eines Objektträgers zu überblicken gestattet, ermöglicht die Gesamtübersicht über ausgedehnte Objekte (Bild 2), ohne ein zweites Mikroskop - insbesondere ein Stereomikroskop - verwenden zu müssen. Darüber hinaus bietet die Übersichtsmikroskopie für große Objektfelder mit den Mikroskopen JENAMED histology und JENAVAL Vorteile gegenüber einem Stereomikroskop bei der Mikrofotografie und der Verwendung von Demonstrationsansätzen infolge ihrer unvergleichlich intensiveren Ausleuchtung der Präparate. Die simultane Erfassung von Objektbereichen in einem ausgedehnten Objekt erhöht im Vergleich zur sukzessiven Erfassung, wie sie bisher häufig in der mikroskopischen Praxis üblich ist, nicht nur die Wirksamkeit der Arbeitsweise, sondern erlaubt eine bessere Beurteilung struktureller Zusammenhänge im histologischen Schnitt infolge direkter Vergleichsmöglichkeit. Für morphologische Untersuchungen im Bereich der Pathologie und Biologie ist von besonderer Bedeutung, daß nach dem Erkennen interessierender Objekt-Areale in ausgedehnten Objekten unmittelbar zur mikroskopischen Beobachtung der ausgewählten Objektbereiche mit stärkerer Vergrößerung und höherer Auflösung übergegangen werden kann. Die Diagnostik mittels histologischer Schnitte von Operationsmaterial wird dadurch wesentlich gefördert. Eine weitere wichtige Anwendung ist die histotopografische Analyse biologischer Strukturen. Durch das große Objektfeld wird z. B. eine vergleichende Betrachtung von Schnittserien simultan möglich. Der rasche Übergang zur mikroskopischen Beobachtung mit stärkerer Vergrößerung der histologisch interessierenden Sachverhalte ist auch hierbei von Bedeutung.

Literatur

[1] RIESENBERG, H., und H. BRUCH: (in diesem Heft).

Bild Seite 43: Routinemikroskop JENAMED histology im klinischen Einsatz.

