



# UNIVERSITY OF TWENTE.

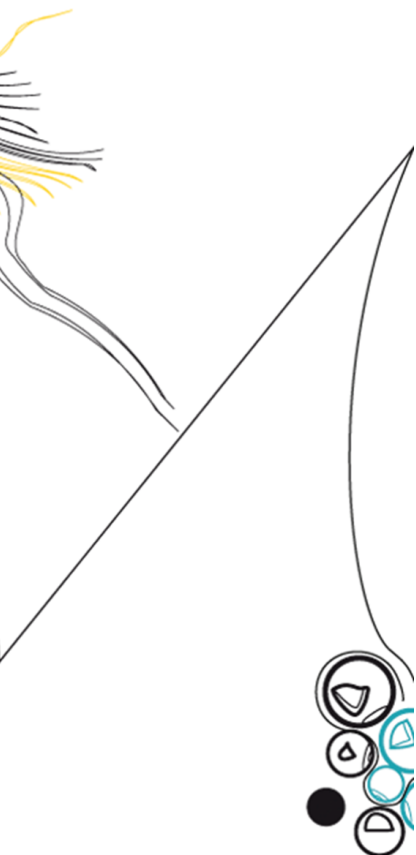
Biomedische Technologie

## Ontwikkeling en validatie van een handzaam/mobiel ICG fluorescentie camerasysteem

Esmee Bulter

Bachelor (BSc)

Juli, 2024



---

### Begeleiders

prof.dr.ir. R.M. Verdaasdonk

H.G.M. Vaassen, MSc

A. Chizari, PhD

Faculteit TNW

University of Twente

---

## Inhoudsopgave

1	Samenvatting	3
2	Introductie	4
3	Theoretische achtergrond	6
4	Programma van eisen	9
5	Design	10
6	Ontwerp ICG imaging systeem	16
7	Validatie	19
8	Discussie	22
9	Conclusie	25
A	Handleiding Camera systeem.	28
B	Intensiteiten laserdiodes	29
C	Spectrum gloeilamp	31
D	MATLAB-script	31
E	Fantom	34

# 1 Samenvatting

Dit onderzoek richt zich op de ontwikkeling en validatie van een handzaam en mobiel ICG fluorescentie camera-systeem genaamd FluoView. ICG (Indocyanine Green) fluorescentie is een medische beeldvormingstechniek die gebruik maakt van de stof indocyanine green. Bij blootstelling aan Nabij-Infrarood licht absorbeert ICG dit licht en zendt het vervolgens fluorescent licht uit. Deze fluorescentie kan worden gedetecteerd en vastgelegd door nabij-infrarode camera's, waardoor artsen in staat zijn om bloedvaten, lymfeklieren en andere weefselstructuren duidelijk te visualiseren.

Dze studie is gericht op vinden van de drie beste componenten: de excitatiebron, het filter en de camera, met als doel een optimale combinatie te vinden voor verbeterde beeldvorming. De theoretische achtergrond van ICG fluorescentie werd eerst onderzocht, gevolgd door het opstellen van een programma van eisen voor het ontwerpproces. Verschillende experimenten werden uitgevoerd om de specificaties van elk component te onderzoeken. Na de ontwerpfase werd een validatie uitgevoerd met de Quest Spectrum als gouden standaard.

Tijdens de ontwerpfase zijn intensiteit experimenten uitgevoerd met verschillende laserdiodes en drivers om de beste combinatie te vinden die resulteert in de hoogste intensiteit. Met behulp van een gloeilamp en een spectrometer zijn de spectra' gemeten van verschillende filters.

Het ontworpen FluoView systeem vertoont vergelijkbare beeldkwaliteit als de Quest Spectrum. Het maakt gebruik van 200 mW laserdiodes in combinatie met een 850 nm filter om overlap tussen excitatie- en emissie-spectra te minimaliseren. Dit filter is gekozen vanwege zijn smalle bandbreedte, wat zorgt voor ruisvermindering in de verkregen beelden. De camera, een aangepaste 38MP FHD camera V6, waarbij het IR-UV cut filter is verwijderd, is verbonden met een HDMI-scherm voor real-time weergave.

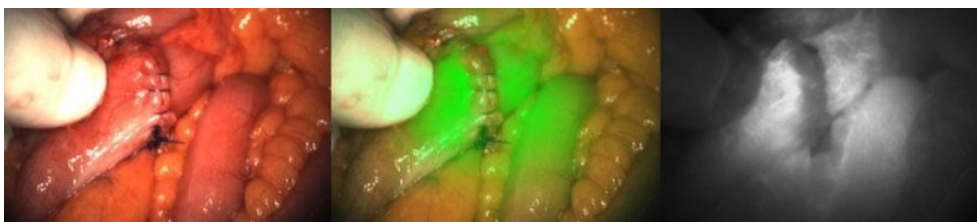
De lichtbron omringt de camera en samen met een diffuser zorgt het voor een gelijkmatige verlichting. Daarnaast is met behulp van HDMI-aansluiting weergave op externe schermen zoals laptops mogelijk maakt.

Validatie-experimenten vergeleken de FluoView met de Quest Spectrum en bevestigen vergelijkbare beelden. De discussie omvat ontwerpkeuzes en overwegingen die zijn gemaakt gedurende het ontwerpproces. Aanbevelingen voor toekomstige ontwikkelingen omvatten het toevoegen van extra laserdiodes voor intensiteitsverbetering en het gebruik van meerdere camera's voor overlapping van van fluorescentie beelden en zichtbare lichtbeelden voor betere detectie van fluorescentie in het lichaam.

Dit onderzoek bevestigt FluoView als een veelbelovend instrument voor ICG fluorescentiebeeldvorming in medische toepassingen, met potentieel voor verdere verbetering en uitbreiding van toepassingen in de toekomst.

## 2 Introductie

In de geneeskunde is het verkrijgen van gedetailleerde en nauwkeurige beelden van anatomische structuren en de doorbloeding van weefsel cruciaal voor de diagnose en behandeling van aandoeningen zoals tumoren. Verschillende beeldvormingstechnieken maken dit mogelijk, waaronder ICG-fluorescentie en laser speckle contrast beeldvorming [1]. ICG-fluorescentie wordt bijvoorbeeld gebruikt bij het opereren van tumoren omdat het real-time visualisatie van de doorbloeding van de tumor mogelijk maakt. Door middel van een Nabij-Infrarood (NIR) camera en ICG (Indocyanine Green) kleuring licht de tumor op, aangezien er sprake is van veel perfusie bij een tumor. Daarnaast worden er ook beelden opgenomen met een witlichtcamera. Wanneer deze beelden over elkaar worden gelegd, wordt de locatie van de tumor in het weefsel duidelijk zichtbaar [2]. Zie bijvoorbeeld figuur 1, hier is een operatie van de dikke darm te zien. Op de linker afbeelding is een witlichtbeeld van de dikke darm te zien. Op het rechterbeeld is de ICG-fluorescentie zichtbaar met de NIR-camera. Hier is te zien dat de ICG oplicht. Op de middelste afbeelding zijn de twee beelden over elkaar geplaatst. Op deze manier wordt de doorbloeding goed zichtbaar, wat een precieze en veilige operatieve ingreep mogelijk maakt.



Figuur 1: Operatie van de dikke darm met behulp van ICG-fluorescentie. De linker afbeelding toont beelden verkregen met witlicht, de rechter afbeelding toont Nabij-Infrarood (NIR) beelden, en de middelste afbeelding toont een overlay van de linker en rechter afbeeldingen [3].

In de medische praktijk worden verschillende ICG-fluorescentiesystemen toegepast. De literatuur beschrijft diverse bestaande systemen die variëren in de combinatie van lichtbron, filter en camera [4]. Figuur 2 biedt een overzicht van een tabel met enkele van deze systemen en de specifieke componenten die ze gebruiken. Uit de figuur blijkt dat er een breed scala aan combinaties mogelijk is, waarbij geen enkel systeem als superieur kan worden beschouwd. Elk systeem hanteert verschillende technieken en biedt specifieke voordelen.

Device	Excitation Source	Fluorescence Collection	Detector	Working Distance	Field of View	Depth of Penetration	Integration Time or Frames Per Sec (FPS)
Photodynamic Eye (PDE) Hamamatsu	Laser emitting diodes (LEDs) centered at 760 nm, incident power not specified	Bandpass filter >820 nm	CCD	20 cm	Not given, but limited	2 cm	Not specified
SPY (Novadaq)	Laser emitting at 806 nm, 2.0 – 2.7 W, incident power not specified	835 nm "camera," not specified	CCD	30 cm	56 cm <sup>2</sup>	1 mm DOP	30 fps
FDPM imager (Texas)	Laser Diode, 785 ± 10 nm, <1.9 mW/cm <sup>2</sup>	Notch filters at 785 nm, and at 830 nm	Gen III intensifier coupled to CCD, gain modulatable for tomography	Variable, but reported <76.2 cm	Max reported FOV 900 cm <sup>2</sup>	Estimated to be 4 cm	50 – 800 msec
IC-View (Pulsion Medical)	Laser Diode 780 nm (0.16W), incident power not specified	Not specified	CCD	Not specified	Not specified	Not specified	Not specified
FLARE (Israel Beth Deaconess Hospital)	LEDs emitting 745-779 nm, 14 mW/cm <sup>2</sup>	Bandpass filter 800-848 nm	CCD	45 cm	3.7 cm <sup>2</sup> – 169.5 cm <sup>2</sup>	Not specified	200 msec
Custom system (Kochi Medical School)	LEDs emitting light centered at 760 nm, incident power not specified	840 nm cut-on filter	Color CCD	~50 cm	78.5 cm <sup>2</sup>	Not specified	Not specified

Figuur 2: Een overzicht van bestaande fluorescentie camerasystemen [4].

In ziekenhuizen bestaat een grote vraag naar de toepassing van deze beeldvormende techniek. Echter, vanwege de hoge kosten en het gebrek aan mobiliteit van bestaande beeldvormingssystemen, ontbreekt het veel ziekenhuizen aan deze technologie op poliklinische afdelingen. Om de toepassing van deze beeldvormende techniek op poliklinieken mogelijk te maken, wordt in dit onderzoek gezocht naar een compacte en kosteneffectieve versie van een fluorescentie camerasysteem dat gebruikmaakt van ICG. Het onderzoek richt zich op het bepalen van de optimale combinatie van lichtbron, filter en camera, en hoe deze op een efficiënte en handzame wijze geïntegreerd kunnen worden. Daarnaast zal een testmethode worden ontwikkeld om de functionaliteit van het systeem te valideren.

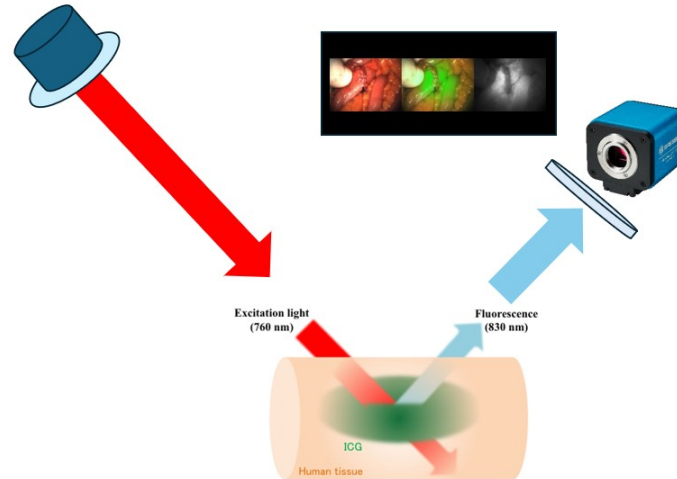
In dit onderzoek dient het fluorescentie camerasysteem dat momenteel wordt gebruikt in het Medisch Spectrum Twente (MST) als referentiekader. Het betreft het fluorescentie camerasysteem van Quest Medical Imaging, bekend als de Quest Spectrum, dat specifiek is ontwikkeld voor real-time visualisatie van fluorescentie in operatiekamers, om chirurgen te ondersteunen bij cruciale besluitvorming. In het MST wordt de Quest Spectrum hoofdzakelijk ingezet bij operaties gericht op lymfeklieren. Dit systeem omvat diverse componenten, waaronder een open camera, laparoscoop en een laser engine [3]. Voor dit onderzoek ligt de focus op de camera en de laser engine van de Quest Spectrum. De camera maakt gebruik van een unieke prisma-technologie die tegelijkertijd informatie van zichtbare en nabij-infrarode lichtbronnen in high definition vastlegt. De light engine is ontwikkeld om wit en nabij-infrarood licht te genereren, om de ICG te exciteren. De opbouw van de Quest Spectrum is weergegeven in figuur 3.



Figuur 3: De Quest Spectrum [3].

### 3 Theoretische achtergrond

Dit hoofdstuk zal een systematisch overzicht bieden van de literatuur met betrekking tot ICG-fluorescentie. Figuur 4 geeft een schematische weergave van ICG-fluorescentie. Allereerst wordt een lichtbron met een diffuser gebruikt om ICG te exciteren. Vervolgens wordt met behulp van een camera het fluorescentielicht van ICG vastgelegd, waarbij een filter het excitatielicht blokkeert. Dit hoofdstuk zal verder ingaan op de theoretische achtergrond van deze componenten.



Figuur 4: Een schematisch overzicht van een ICG fluorescentie camera-systeem.

#### 3.1 ICG fluorescentie

Voor fluorescentie-imaging wordt Indocyanine Green (ICG) gebruikt, dat intraveneus wordt toegediend aan patiënten. ICG is een fluorofor die bindt aan plasma-eiwitten en lipoproteïnen in de bloedvaten, wat leidt tot de vorming van geaggregeerde kleurstofmoleculen in het menselijk lichaam. De binding van ICG aan plasma-eiwitten verandert de eiwitstructuur niet, waardoor het veilig is voor menselijk gebruik bij lage doseringen [5].

ICG biedt verschillende voordelen: het is veilig omdat het geen straling afgeeft, het is goedgekeurd door de Food and Drug Administration als zowel contrastvloeistof als fluorescerende stof [6], en het vereist relatief goedkope instrumenten voor real-time beeldvorming [7].

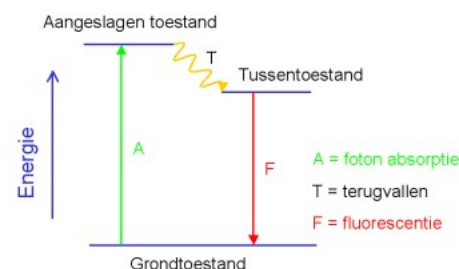
ICG opgelost in water is onstabiel, wat kan leiden tot fluorescentie verlies. Sterke fluorescentie kan worden waargenomen bij een verse ICG oplossing. Wanneer de ICG al wat ouder is, kan de fluorescentie afnemen. Volgens een experiment van M. Miwa, neemt de fluorescentie intensiteit met de helft af wanneer de ICG een dag oud is [8].

ICG wordt geëxciteerd bij golflengtes tussen 750-800 nm en fluoresceert bij golflengtes tussen 800-830 nm. Fluorescentie is een vorm van luminescentie waarbij licht wordt uitgestraald als gevolg van elektronische excitatie. Bij fluorescentie absorbeert een elektron lichtenergie en springt van de grondtoestand naar een hogere energietoestand.

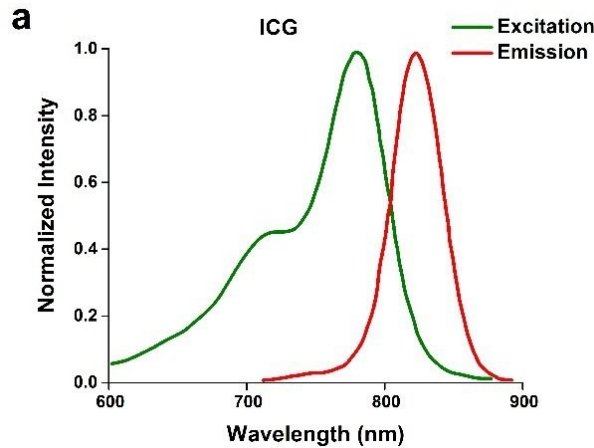
Na botsingen met andere moleculen keert het elektron terug naar een lagere energietoestand, waarbij een foton wordt uitgezonden met een lagere energie, wat resulteert in een emissiespectrum met een langere golflengte dan het excitatiespectrum [10], zoals weergegeven in figuur 5.

Voor het vastleggen van het emissiespectrum wordt gebruik gemaakt van een Nabij-Infrarood (NIR) camera-systeem, dat het signaal omzet naar een digitaal beeld [8].

In menselijk weefsel zijn hemoglobine en water belangrijke optische absorbers. Zichtbaar licht (onder 650 nm) wordt sterk geabsorbeerd door hemoglobine, terwijl infrarood licht (boven 900 nm) sterk wordt geabsorbeerd door water. Het gebied tussen 650 nm en 900 nm is relatief doorlatend, waardoor ICG in staat is tot centimeters in het weefsel door te dringen [11]. Figuur 6 toont het excitatie- en emissiespectrum van ICG. Voor optimale zichtbaarheid van ICG-fluorescentie is het van belang dat het excitatie- en emissiespectrum van ICG zo veel mogelijk gescheiden zijn.



Figuur 5: Fluorescentie proces [9].



Figuur 6: Het excitatie en emissie spectrum van ICG [12].

## 3.2 Camera systeem

Er zijn momenteel diverse fluorescentiecamera's ontwikkeld, elk samengesteld uit verschillende componenten. Ondanks deze variatie zijn alle systemen opgebouwd rondom drie kerncomponenten: een lichtbron, een camera en een filter.

De lichtbron wordt gebruikt om de ICG-moleculen te exciteren, waarbij specifiek licht wordt uitgezonden om de fluorescentie van ICG te induceren. Het filter speelt een cruciale rol door het excitatielicht met hoge intensiteit te blokkeren, waardoor de camera alleen het fluorescentielicht detecteert. Dit zorgt ervoor dat het beeld scherp en vrij is van achtergrondruis.

In het vervolg van deze sectie zullen de functies en eigenschappen van deze componenten verder worden toegelicht.

### 3.2.1 Lichtbron

Het eerste component van het beeldvormende systeem is de lichtbron. Uit de literatuur blijkt dat er hoofdzakelijk gebruik wordt gemaakt van drie soorten lichtbronnen: LED's, laserdiodes en lasers [13].

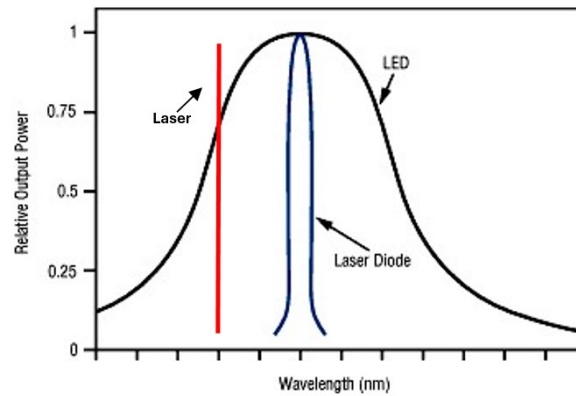
Een laser produceert coherent licht met een specifieke golflengte, wat betekent dat het lichtgolven uitzendt met een constante faseverhouding. Door deze coherente eigenschap heeft een laser een kleine divergentiebundel, typisch kleiner dan 0.5 graden. Het licht wordt gegenereerd via gestimuleerde emissie en kan aanzienlijke energie leveren, wat resulteert in een hoge intensiteit [14].

Een laserdiode is ook een lichtbron die coherent licht genereert door gestimuleerde emissie, vergelijkbaar met een laser. Het belangrijkste verschil is echter dat laserdiodes een bredere spectrale bandbreedte hebben, ongeveer 10 nm, in vergelijking met de specifieke golflengte van lasers. Lasers hebben over het algemeen een hoger vermogen dan laserdiodes, maar laserdiodes zijn kostenefficiënter [14].

De divergentiebundel van laserdiodes is groter dan die van lasers, typisch tussen de 10 en 20 graden. De smalle spectrale bandbreedte van laserdiodes biedt voordelen voor de filtering van excitatielicht in fluorescentiecamera's. Het hoge vermogen van laserdiodes maakt zelfs de detectie van lage concentraties ICG mogelijk, maar vereist aandacht voor de veiligheidslimieten bij blootstelling aan hoge intensiteiten. Laserdiodes vereisen ook nauwkeurige temperatuur- en stroomregeling [14].

LED's zijn een goedkoper alternatief als lichtbron. Om homogeen excitatielicht te produceren, moeten LED's gepositioneerd worden in een array of ringconfiguratie. LED's hebben echter een grotere divergentiebundel, typisch meer dan 30 graden [15].

Figuur 7 toont de spectra van LED- en laserdiode-lichtbronnen, waaruit duidelijk blijkt dat LED's een veel bredere spectrale bandbreedte hebben dan laserdiodes.

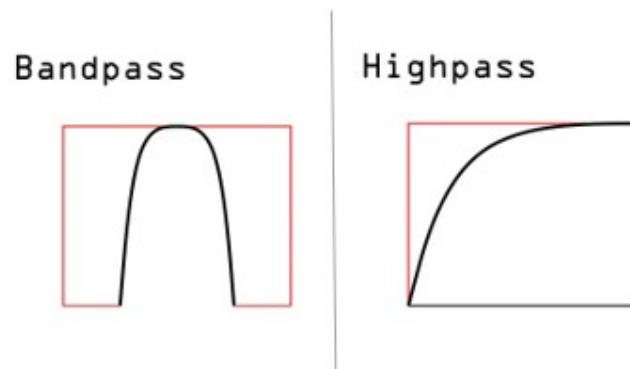


Figuur 7: Spectrum LED, laserdiode en laser.

### 3.2.2 Filter

Na excitatie van ICG door de juiste lichtbron moet de camera het resulterende fluorescentielicht detecteren, dat een langere golflengte heeft in het bereik van 800-850 nm, zoals eerder besproken. Om ervoor te zorgen dat alleen deze specifieke golflengtes worden geregistreerd door de camera, wordt een filter gebruikt.

Voor het filteren van de juiste golflengtes kunnen verschillende typen filters worden gebruikt, zoals een bandpassfilter of een highpass filter, weergegeven in figuur 8. Een bandpassfilter laat licht door binnen een specifiek golflengtebereik, terwijl het licht buiten dit bereik wordt verzwakt [16]. Een highpass filter kan licht onder een bepaalde golflengte blokkeren [17]. Om ervoor te zorgen dat het excitatie- en emissiespectrum van ICG zo veel mogelijk gescheiden blijven, is niet alleen de spectrale karakteristiek van belang, maar ook de overgangsbreedte van het filter. Deze breedte refereert aan het spectrale gebied waarbinnen het filter van 0 naar 100 procent transmissie overgaat. Een scherpe overgang is wenselijk, maar in de praktijk kan dit variëren.



Figuur 8: Schematische weergave van een bandpass en highpass filter [18]

### 3.2.3 Camera

Als laatste component is er de camera, die de fluorescentie detecteert. Verder zorgen de lichtbron en het filter voor de fluorescentie en heeft de camera hier weinig invloed op. Echter is de gevoeligheid van de sensor, die zich in de camera bevindt, wel van belang voor de detectie van de fluorescentie. In de camera kan een CMOS sensor of een CCD sensor zitten. Een CCD sensor heeft een hogere gevoeligheid en een betere signaal-ruisverhouding. De CMOS is echter wel lager in kosten. Daarnaast is de spectrale gevoeligheid van de camera ook van belang. Camera's hebben een filter wat bepaalt welk licht er wordt doorgelaten. De meeste camera's maken gebruik van een hot filter. Dit filter blokkeert infrarood licht. Voor ICG fluorescentie is het echter van belang dat de camera gevoelig is voor NIR licht [19].



## 4 Programma van eisen

Om een afweging te maken voor het ontwerp van het camerasysteem, moeten de vereisten voor de verschillende componenten zorgvuldig worden overwogen. De volgende specificaties kunnen worden opgesteld:

### 4.1 Lichtbron

- De laserdiode moet een minimale intensiteit behalen in het focuspunt van 5 mW/cm<sup>2</sup>, wat in dezelfde orde is als de intensiteit van de Quest 3, op een hoogte van 20 cm. Dit vereist een laserdiode-output van 0,6 W.
- Het is gewenst dat het belichte oppervlak gelijk is aan de grootte van het belichte oppervlak van de Quest Spectrum, namelijk 11,2 cm bij 11,2 cm op een hoogte van 20 cm.
- De lichtbron moet licht uitstralen in het golflengtebereik van 750-800 nm om ICG te exciteren.
- De lichtbron mag niet overmatig warmte produceren en moet in staat zijn om de geproduceerde warmte efficiënt af te voeren.

De Quest 3 wordt gebruikt voor operaties in het ziekenhuis, waar een groot belicht oppervlak noodzakelijk is. Het te ontwerpen mobiele camerasysteem is bedoeld voor gebruik in de polikliniek en zal voornamelijk worden ingezet voor het visualiseren van kleinere lichaamsgebieden. Hoewel het niet strikt noodzakelijk is dat het belichte oppervlak gelijk is aan dat van de Quest 3, is het wenselijk om deze specificaties zo dicht mogelijk te benaderen. Hierdoor kan het systeem eventueel ook in de operatiekamer worden gebruikt.

### 4.2 Filter

- Het filter moet infrarood licht boven de 830 nm doorlaten.
- Het excitatiespectrum van de lichtbron en het spectrum van het gefilterde licht mogen niet, of slechts minimaal, overlappen.
- Het spectrum van het filter mag niet breder zijn dan 60 nm met een maximum verzwakking van intensiteit van 50%.

### 4.3 Camera

- De camera moet bij voorkeur in staat zijn om lage intensiteiten van ICG te detecteren, het moet een lichtgevoeligheid hebben van 0.001 lux of lager.
- De camera moet Nabij Infrarood gevoelig zijn.
- De camera moet een resolutie groter of gelijk aan 10MP hebben.

### 4.4 Overige eisen

- Het camerasysteem mag niet meer dan 5 kilogram wegen
- Het camerasysteem mag niet groter zijn dan  $1 \times 0.5 \times 0.5 \text{ m}^3$ .
- Het camerasysteem moet veilig zijn voor de gebruiker.
- Het camerasysteem moet bediend kunnen worden met een enkele stekker.
- De stroomtoevoer naar het camerasysteem moet regelbaar zijn.
- Het camerasysteem moet een flexibele arm hebben, zodat de camera gemakkelijk gepositioneerd kan worden.
- Het camerasysteem moet voorzien zijn van een beeldscherm waarop de camerabeelden zichtbaar zijn.

## 5 Design

In dit hoofdstuk wordt het ontwerpproces stapsgewijs besproken. Eerst zijn er voor elk component experimenten uitgevoerd met de Quest Spectrum en de beschikbare componenten om de specificaties van elk component te onderzoeken. Voor elk component worden de experimenten en de bijbehorende resultaten besproken.

### 5.1 Excitatiebron

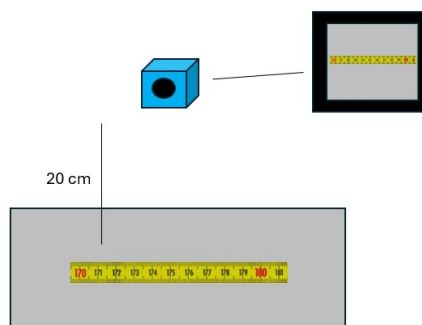
Er wordt veelal gebruik gemaakt van een Laserdiode, LED of laser als lichtbron om de ICG te exciteren. Voor dit onderzoek zijn er twee verschillende laserdiodes beschikbaar gesteld:

- Laserdiode 90 mW, met een golflengte tussen de 790 nm en 800 nm.
- Laserdiode 200 mW, met een golflengte tussen de 790 nm en 800 nm.

Om de lichtbron te ontwerpen, moeten twee eigenschappen worden onderzocht. Ten eerste zal de intensiteit worden geëvalueerd en ten tweede het belichte oppervlak, dat wordt bepaald door de divergentiehoek. Als referentiewaarde is de Quest Spectrum gebruikt.

#### 5.1.1 FOV

Met de Quest Spectrum is het gezichtsveld (FOV) gemeten vanaf verschillende afstanden, namelijk 14, 20, 26, 32, 38 en 44 cm. Deze metingen zijn uitgevoerd met instellingen die aannemen dat het FOV gelijk is aan het belichte oppervlak. Zie figuur 9 voor een schematische weergave van de opstelling. Bij een hoogte van 20 cm is een FOV van 11,2 bij 11,2 cm gemeten.

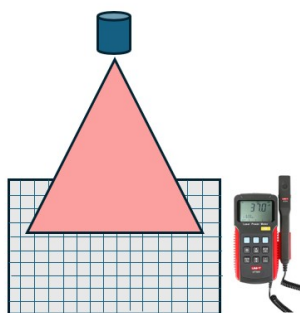


Figuur 9: Schematische weergave experiment FOV.

#### 5.1.2 Intensiteit

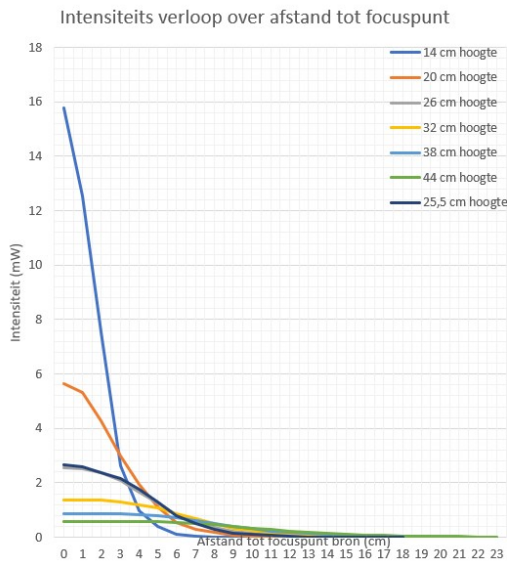
In de literatuur is weinig bekend over de waarden van de intensiteit, en bovendien variëren deze waarden. Om een referentiewaarde te verkrijgen, is een intensiteitsmeting uitgevoerd op verschillende afstanden met de Quest Spectrum. De Quest Spectrum gebruikt een laser met een golflengte van 780 nm als excitatiebron. Voor dit experiment is gebruikgemaakt van een intensiteitsmeter met een meetoppervlak van  $1 \text{ cm}^2$ .

De intensiteit is gemeten vanaf verschillende hoogtes. Dit is gedaan met behulp van een rooster. Eerst is de intensiteit in het middelpunt gemeten, waarna telkens 1 cm van het middelpunt werd opgeschoven. Op deze manier kon een intensiteitscurve worden gemaakt. Zie figuur 10 voor een schematische weergave.

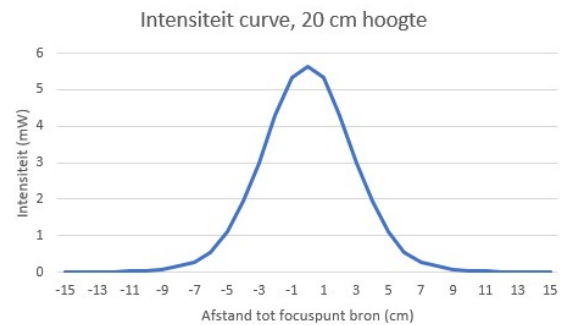


Figuur 10: Schematische weergave intensiteit meting.

Hieronder zijn de resultaten weergegeven. Deze curve geeft niet alleen de intensiteit weer, maar toont ook de grootte van het belichte oppervlak van de laserdiode.



(a) Intensiteit meting Quest 3 op verschillende hoogtes



(b) Intensiteit meting Quest 3 op 20 cm hoogte

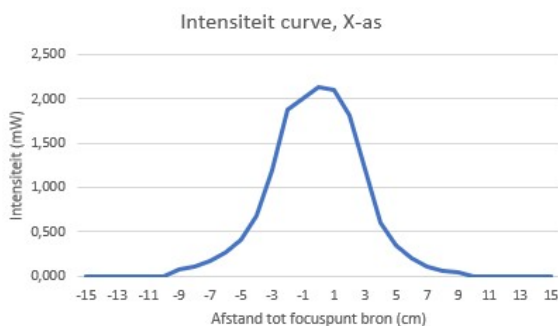
Figuur 11: Intensiteit meting Quest 3.

In figuur 11 worden de intensiteitscurven weergegeven van de Quest Spectrum. Aan de linkerzijde zijn de curven te zien van verschillende hoogtes, terwijl aan de rechterzijde de curve van 20 cm hoogte is afgebeeld. De experimenten met de laserdiodes zijn allemaal uitgevoerd op een hoogte van 20 cm. Uit figuur 11b kan het belichte oppervlak worden afgelezen. De laser spot van de Quest Spectrum was in beide richtingen, zowel langs de x-as als de y-as,

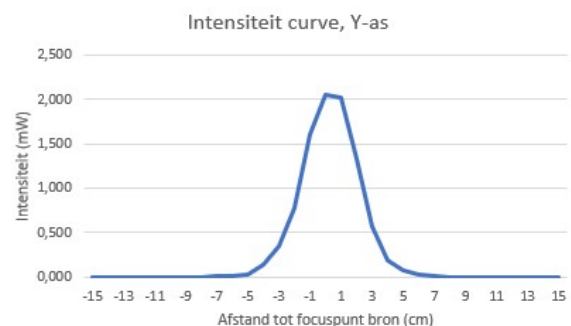
Om een keuze te kunnen maken tussen de twee laserdiodes moeten dezelfde gegevens bekend zijn. Naast de twee verschillende laserdiodes zijn er twee verschillende drivers beschikbaar om de laserdiode op aan te sluiten:

- LED driver van Egbo met verstelbare weerstand om de stroom te reguleren.
- Laserdiode driver met verstelbare weerstand om de stroom te reguleren.

Het experiment, zoals weergegeven in figuur 10, is uitgevoerd met beide drivers: een LED driver en een laserdiode driver. De combinatie van driver met laserdiode waarbij de hoogste intensiteit werd behaald, is geselecteerd voor het ontwerp. De hoogste intensiteit werd bereikt met de 200 mW laserdiode in combinatie met de LED driver. De resultaten van deze combinatie worden hieronder weergegeven. Zie bijlage B voor meer resultaten.



(a) Intensiteitsverloop over de x-as

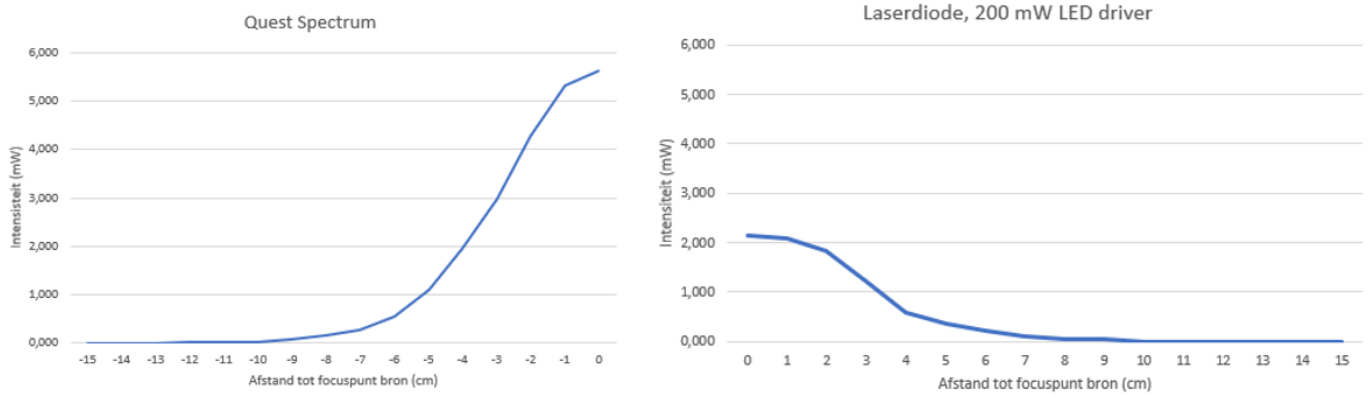


(b) Intensiteitsverloop over de y-as

Figuur 12: Intensiteitsverloop laserdiode 200 mW LED driver, zonder diffuser.

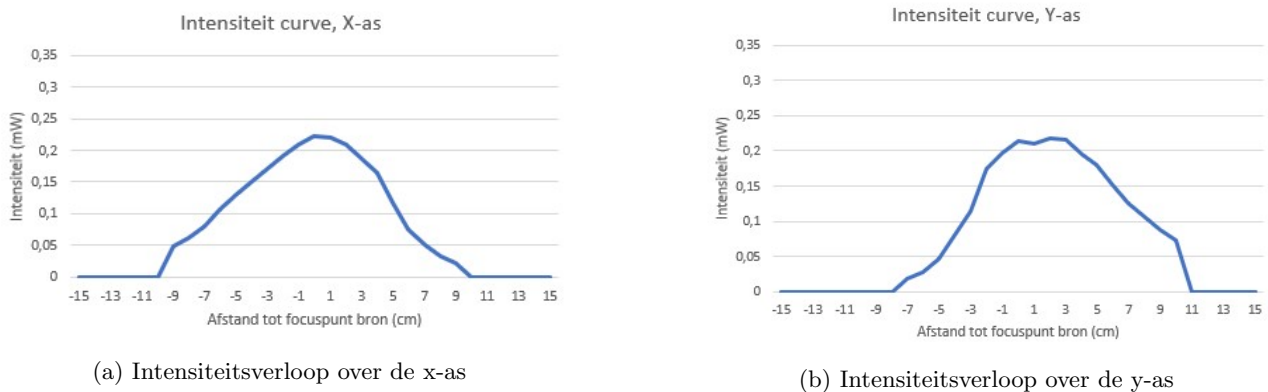
In figuur 12 wordt de intensiteitscurve weergegeven van de 200 mW laserdiode met LED driver. De piekintensiteit bevindt zich rond 2 mW. Daarnaast is te zien dat de curve langs de x-as een bredere piek heeft dan langs de y-as, wat aangeeft dat de laser spot een ovale vorm heeft. Dit aspect moet worden meegenomen in het ontwerp.

Wanneer de Quest Spectrum en de laserdiode met de hoogste intensiteit naast elkaar worden vergeleken, blijft er een aanzienlijk verschil in intensiteit zichtbaar, zoals te zien is in figuur 13. Bij het ontwerpen moet worden overwogen hoe de laserdiodes gepositioneerd kunnen worden om de hoogst mogelijke intensiteit te bereiken.



Figuur 13: Intensiteit Quest Spectrum (links) tegen de intensiteit van de laserdiode (rechts).

In figuur 12 wordt de ovale vorm van de laserdiodespot weergegeven. Om de spot zo homogeen mogelijk te maken, kan een diffuser worden gebruikt, zie sectie 5.4 voor de specificaties van de diffuser. Echter, door de verstrooiing van het licht als gevolg van de diffuser gaat er veel intensiteit verloren. Hetzelfde experiment is uitgevoerd met de laserdiode waarbij een diffuser is gebruikt. De resultaten hiervan zijn hieronder weergegeven in figuur 14.



(a) Intensiteitsverloop over de x-as

(b) Intensiteitsverloop over de y-as

Figuur 14: Intensiteitsverloop laserdiode 200 mW LED driver, met diffuser.

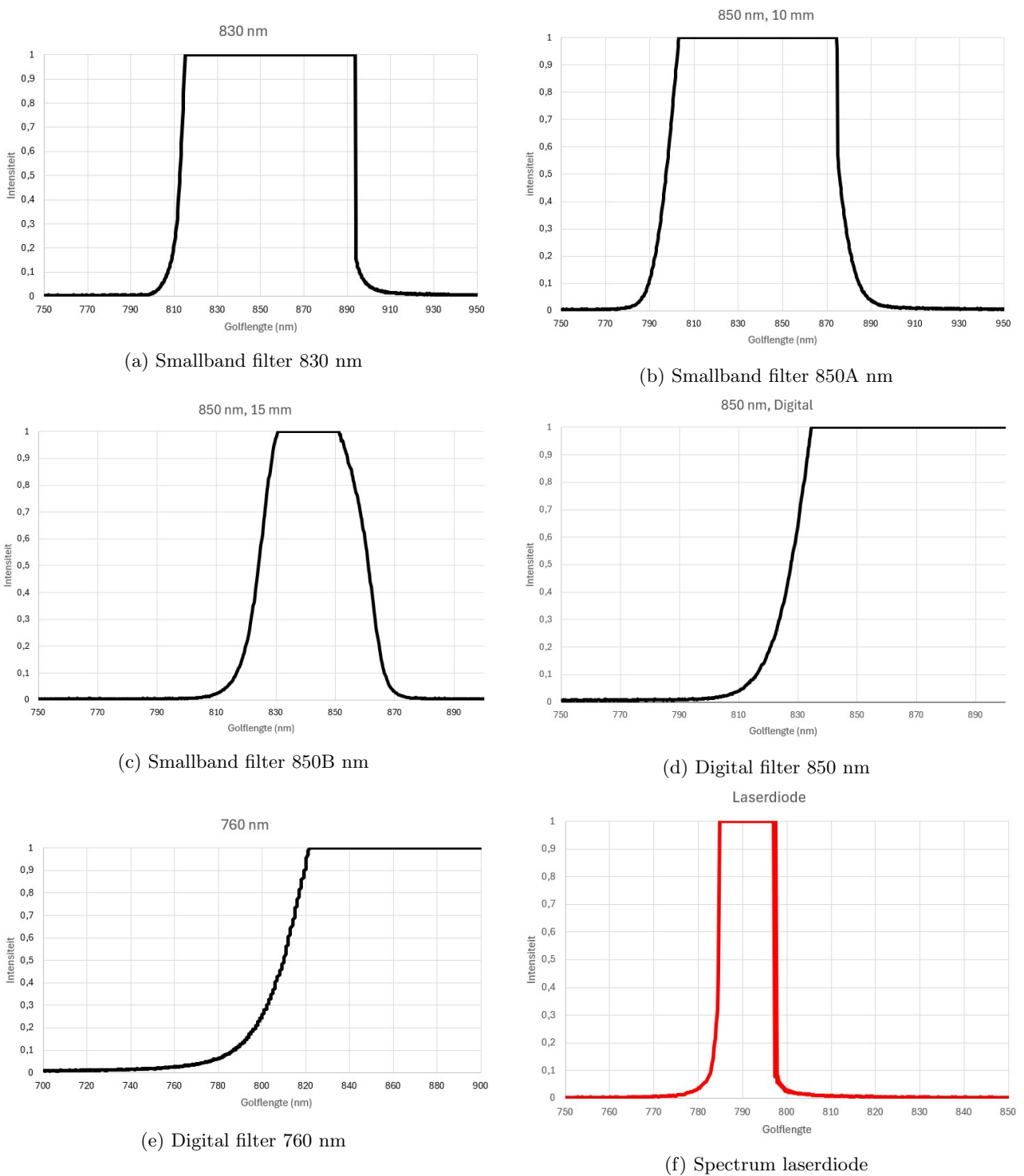
In figuur 14 wordt de intensiteitscurve weergegeven van de laserdiode met een diffuser. Hieruit blijkt dat er aanzienlijk intensiteitsverlies optreedt. Bovendien vertonen de pieken nog steeds onregelmatigheden. Voor het ontwerp is het noodzakelijk om meerdere laserdiodes te positioneren en te combineren, zodat zowel de intensiteit als de homogeniteit van de belichting verbeterd kunnen worden.

## 5.2 Filters

Het onderzoek naar het meest geschikte filter voor het nauwste en beste emissiespectrum zal worden uitgevoerd met behulp van een spectrometer, een breedbandige lichtbron en verschillende filters. De beschikbare filters zijn: een smallband 830 nm filter (15 mm diameter), een smallband 850 nm filter (10 mm diameter, aangeduid als 850A), en 15 mm diameter, aangeduid als 850B), een cut 850 nm filter en een cut 760 nm filter.

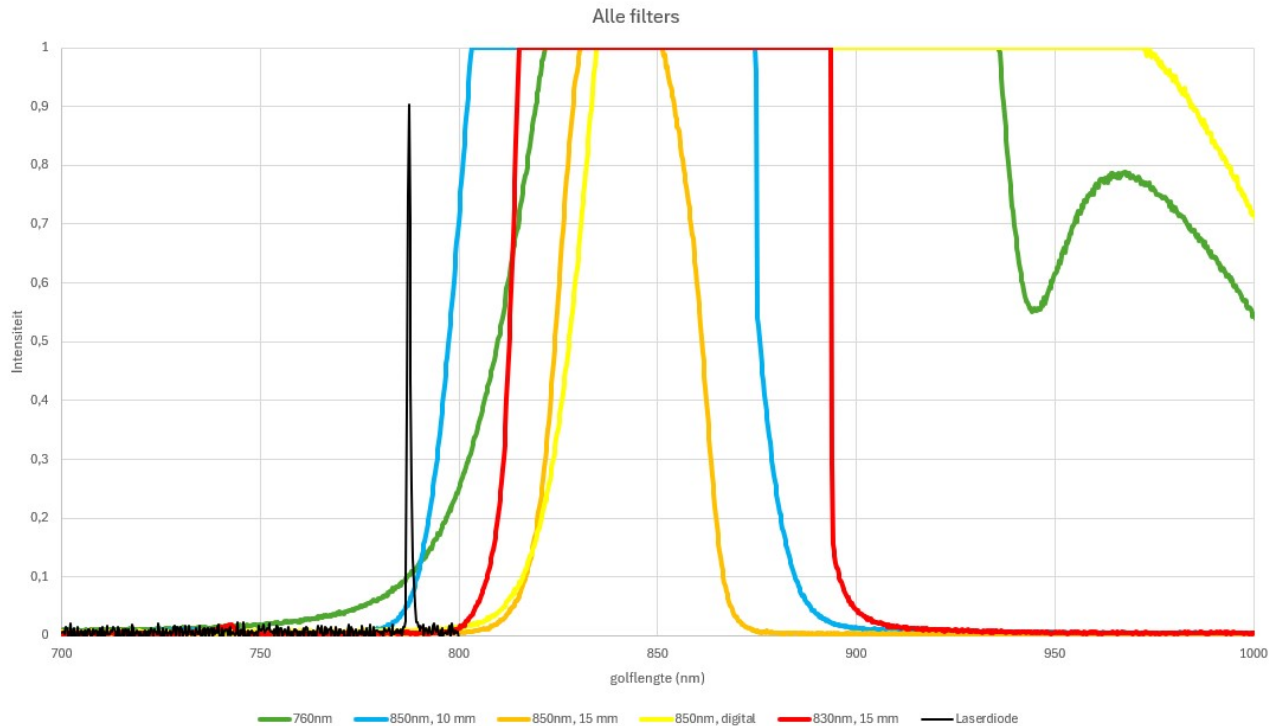
De spectrometer zal worden gebruikt om het spectrum te meten van het gefilterde licht dat door deze filters passeert. Als breedbandige lichtbron wordt een gloeilamp gebruikt, waarvan het spectrum te vinden is in bijlage

C. De experimentele resultaten zullen worden geanalyseerd om het filter te identificeren dat het gewenste nauwe en optimale emissiespectrum oplevert.



Figuur 15: Spectrum verschillende filters en laserdiode.

In figuur 15 worden de spectra van verschillende filters weergegeven, samen met het spectrum van een van de laserdiodes. De spectra van de laserdiodes kunnen variëren met een maximale afwijking van 10 nm.



Figuur 16: De verschillende spectra's gecombineerd.

In figuur 16 worden de spectra van alle filters en de laserdiode weergegeven. Hierbij valt op dat het 850B filter het spectrum van de laserdiode het meest ver van zich heeft liggen. Het 850A filter overlapt deels met het spectrum van de laserdiode. Op basis hiervan lijkt het 850B nm filter het meest geschikt voor de toepassing.

### 5.3 Camera

Voor de detectie wordt gebruik gemaakt van een 38 MP FHD CMOS-camera, specifiek model V6 van het merk Yizhan. De camera is aangepast door het IR-filter te verwijderen, waardoor deze gevoelig is voor infraroodlicht. De camera heeft een resolutie van 38 MP (4632x3488) met een output display resolutie HDMI (1920x1080). De gebruikte lens is een IR MeGa-lens met een variabele brandpuntsafstand van 5 mm tot 50 mm en een diafragma van 30 mm diameter. Het diafragma wordt bij voorkeur volledig open gehouden om de lichtgevoeligheid te maximaliseren.

### 5.4 Diffuser

Gezien de laserdiode een smalle bundel met lage divergentie produceert, zal deze een klein oppervlak belichten. Een diffuser kan worden gebruikt om de lichtbundel te spreiden, maar dit resulteert in een verlies aan intensiteit omdat het licht minder geconcentreerd wordt. Dit effect moet worden overwogen bij het ontwerp. Het experiment met de lichtbron zal tweemaal worden uitgevoerd: eenmaal met de diffuser en eenmaal zonder. De gekozen diffuser is een circulaire PET-film diffuser, model EDF-C1 van RPC Photonics met een FWHM van 56 graden.

### 5.5 Driver

Een driver is een elektronisch apparaat dat is ontworpen om de stroom naar de laserdiode te reguleren. Dit is cruciaal om overbelasting te voorkomen en een gecontroleerde intensiteit te waarborgen. Drivers kunnen handmatig worden ingesteld of worden geregeld via feedback-circuits. Er wordt gebruik gemaakt van twee typen drivers: een LED-driver en een laserdiode-driver. Het experiment met de lichtbron is uitgevoerd met beide drivers om de meest geschikte te bepalen.

### 5.6 Voeding

Om zowel de camera als de laserdiodes van stroom te voorzien, is een geschikte voeding vereist. De laserdiodes worden gevoed met een voeding van 5 V, waarbij de stroom nauwkeurig geregeld kan worden met behulp van een stroomregelaar. De camera kan ook worden gevoed met een 5 V voeding. Voor het scherm waarop de camerabeelden worden weergegeven, is een voeding van 12 V vereist.

## 5.7 Beeldscherm

Uiteindelijk worden de opgenomen beelden van de camera weergegeven op een beeldscherm van Eyoyo. Dit scherm is klein van formaat en wordt verbonden met de camera via een HDMI-kabel. Het scherm biedt diverse instellingen die kunnen worden aangepast, zoals helderheid, contrast en belichting (exposure). Voor optimale beeldweergave zijn deze instellingen ingesteld op respectievelijk +40, +80 en +70. Overige instellingen hebben minimale invloed op de beeldkwaliteit.

## 5.8 ICG

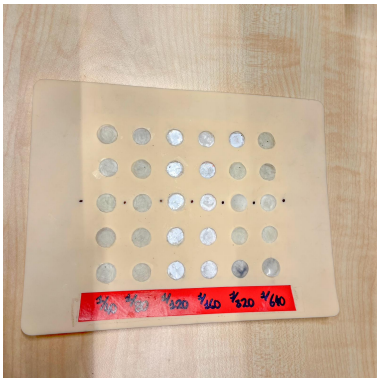
Om de detectie van ICG met het camerasysteem te optimaliseren, wordt onderzocht welke concentraties ICG effectief zichtbaar zijn. Hiervoor worden verschillende concentraties ICG gebruikt die representatief zijn voor klinische situaties. Deze concentraties worden geïntegreerd in een fantoom, zoals te zien is in figuur 17a. De specifieke concentraties zijn vermeld in tabel 1. De middelste twee kolommen zijn leeg.

Kolom	ICG concentraties (mg/ml)
1	0.025
2	0.0125
3	0.003125
4	0.001639

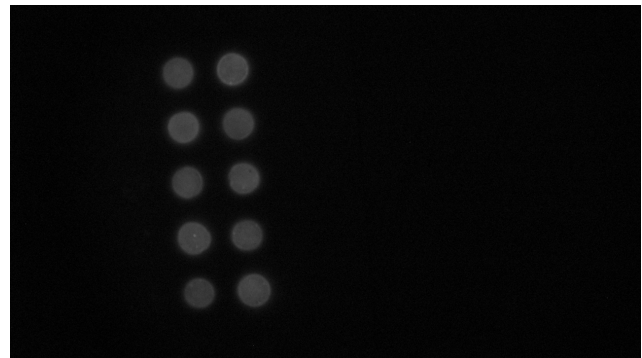
Tabel 1: Verschillende ICG concentraties.

Van alle beschikbare concentraties wordt een afbeelding gemaakt met behulp van de Quest Spectrum. De concentratie met de hoogste intensiteit, en dus de concentratie die het best detecteerbaar is, zal worden geselecteerd voor gebruik in het eigen camerasysteem.

Een voorbeeld van het fantoom is afgebeeld in figuur 17. Zoals te zien is in de figuur zijn er maar 2 kolommen zichtbaar, namelijk kolom 1 en 2 van links naar rechts (0.025 mg/ml en 0.0125 mg/ml, respectievelijk). Deze concentraties vertonen de hoogste intensiteit en zijn daardoor het beste waarneembaar.



(a) Fantoom met verschillende concentraties ICG



(b) Fantoom onder de Quest SPectrum

Figuur 17: Het fantoom.

## 5.9 Validatie

Na de bouw van het camerasysteem moet dit systeem worden gevalideerd. Het validatie-experiment zal worden uitgevoerd met behulp van de Quest Spectrum als de vergelijkende gouden standaard. Beide systemen zullen een afbeelding maken van het ICG-fantoom met de best vergelijkbare instellingen, om de beeldkwaliteit en intensiteit van verschillende concentraties te evalueren. De concentratie ICG die wordt gebruikt, is bepaald door het experiment in sectie 5.8. De intensiteiten van de ICG op beide afbeeldingen zullen worden vergeleken. De resultaten van deze vergelijking zullen worden gepresenteerd in het Hoofdstuk Validatie, sectie 7.

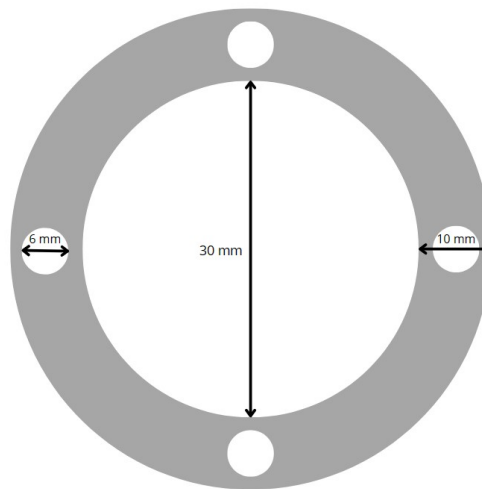
## 6 Ontwerp ICG imaging systeem

In dit hoofdstuk wordt het conceptidee uitgewerkt op basis van de resultaten verkregen in hoofdstuk 5.

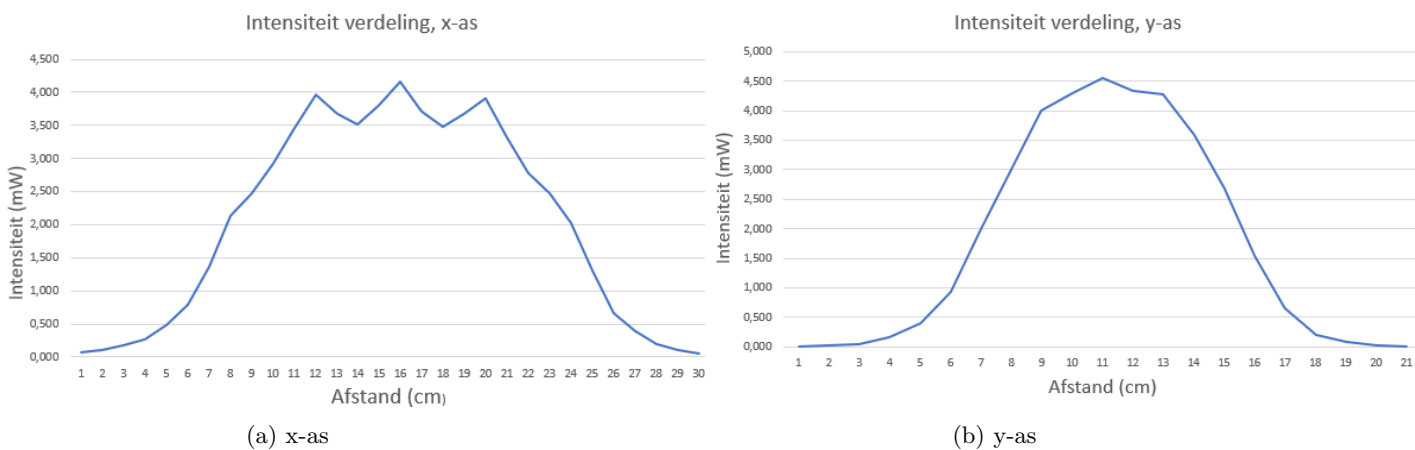
### 6.1 Lichtbron

Uit de resultaten blijkt dat de combinatie van de 200 mW laserdiode met de LED driver resulteert in de hoogste intensiteit, wat deze combinatie geschikt maakt als lichtbron. Verder is vastgesteld dat het gebruik van een diffuser leidt tot een lagere lichtintensiteit. Desalniettemin is een diffuser noodzakelijk om een homogene verlichting van het beoogde gebied te bereiken. Uit de analyse van de camerabeelden blijkt dat het gebruik van een diffuser geen significant effect heeft op de intensiteit van het ICG.

Voor de positionering van de laserdiodes rondom de camera is een ring ontworpen, zoals afgebeeld in figuur 18. Om een zo homogeen mogelijke verdeling van het licht te waarborgen, zijn de optimale afstanden tussen de laserdiodes in de x-richting en y-richting onderzocht, zoals weergegeven in figuur 19. Uit dit onderzoek is gebleken dat de laserdiodes in de x-richting 4 cm van elkaar moeten worden geplaatst en in de y-richting 2 cm.



Figuur 18: Ontwerp ring

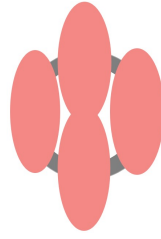


Figuur 19: Intensiteit verdeling 4 laserdiodes

De laserdiodes hebben een ovale vorm, zoals afgebeeld in figuur 20. Het is cruciaal om nauwkeurig te letten op de positionering van de laserdiodes in de ring, zodat de ovale vorm correct georiënteerd is volgens figuur 20. De laserdiodes zijn bevestigd met een warmtegeleidende pasta.

De ring zal gemaakt worden van aluminium, een materiaal met goede warmtegeleidende eigenschappen. Dit zorgt ervoor dat de geproduceerde warmte door de laserdiodes en de LED-driver effectief afgevoerd kan worden. Op deze manier heeft de warmte geen negatieve invloed op de geproduceerde lichtintensiteit.

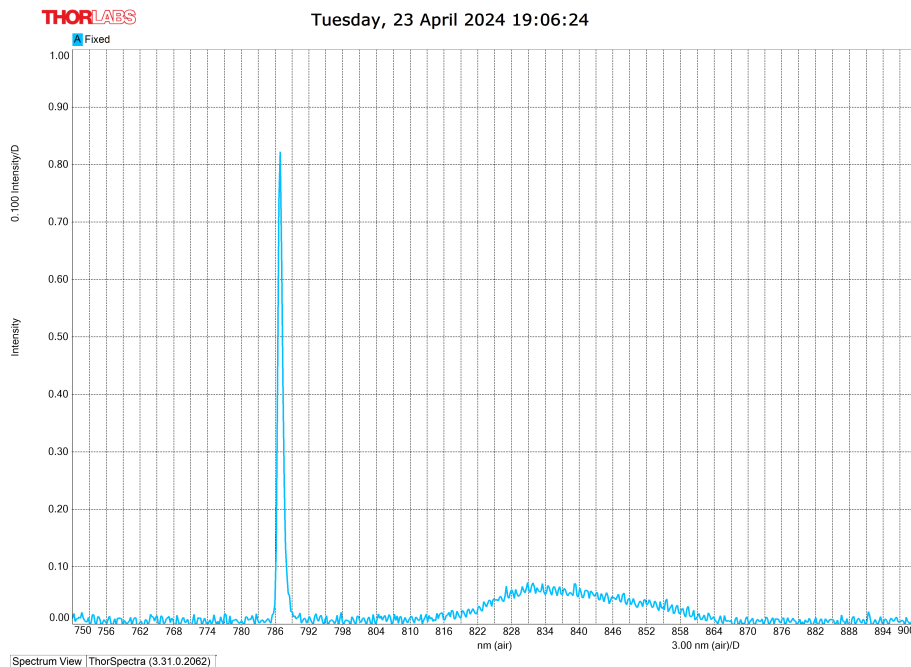




Figuur 20: Vorm laserdiode

## 6.2 Filters

Vervolgens moet een keuze worden gemaakt tussen de filters, waarbij de voorkeur uitgaat naar een filter dat het excitatiespectrum en emissiespectrum zo min mogelijk overlapt. De laserdiodes hebben allemaal een golflengte van 790 nm met een spreiding van 5 nm. Om deze reden wordt een filter van 850 nm verkozen om ervoor te zorgen dat de spectra zo min mogelijk overlappen. Uit de resultaten blijkt dat het 850B filter de beste scheiding biedt met het excitatielicht. Dit filter zal worden toegepast in het ontwerp van het camerasysteem. In figuur 21 is het resultaat te zien van het filter wanneer de ICG wordt gemeten. Naast de ICG-piek (rechts) is ook de excitatiebron (links) zichtbaar.



Figuur 21: Resultaat 850nm, 15mm diameter, filter met ICG (rechts) en excitatiebron (links) zichtbaar

## 6.3 Camera

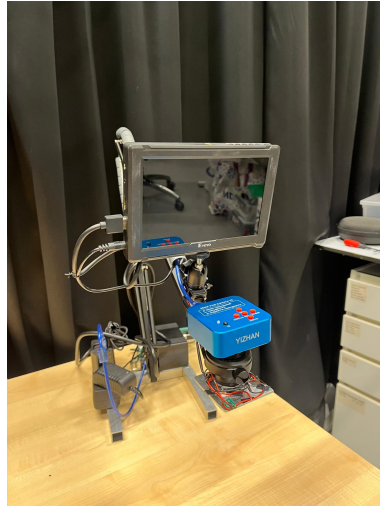
De gebruikte camera is de 38MP FHD camera V6, waaruit het IR-UV cut filter is verwijderd zoals eerder vermeld. De camera wordt ingesteld met de standaardinstellingen. De camera heeft een resolutie van 38 MP (4632x3488) met een output display resolutie HDMI (1920x1080). De beelden worden overgebracht naar een scherm voor weergave. Daarnaast kan de camera ook worden aangesloten op een laptop, waar meerdere beeldinstellingen kunnen worden aangepast.

## 6.4 Eindconcept

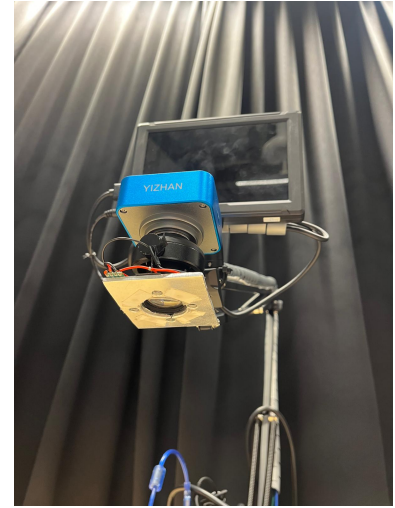
Hieronder is een afbeelding te zien van het uiteindelijke ontwerp van het camerasysteem, genaamd de FluoView. De lichtbron is rondom de camera lens gemonteerd, en de camera zelf is bevestigd aan het uiteinde van een flexibele arm. Op deze arm is ook een beeldscherm geplaatst dat via een HDMI-aansluiting is verbonden met de camera. De bedrading is netjes weggewerkt door de flexibele arm. Bovendien zijn de laserdiodes aangesloten op een stroomregelaar, die ervoor zorgt dat er niet meer stroom doorheen kan lopen dan de driver of de laserdiodes kunnen verdragen. Zie bijlage A voor een schematische weergave van de componenten en een handleiding.



(a) Zijaanzicht: stroomregelaar en flexibele arm zichtbaar.



(b) Vooraanzicht: scherm en de camera zichtbaar.



(c) Onderaanzicht: camera met licht ring zichtbaar.

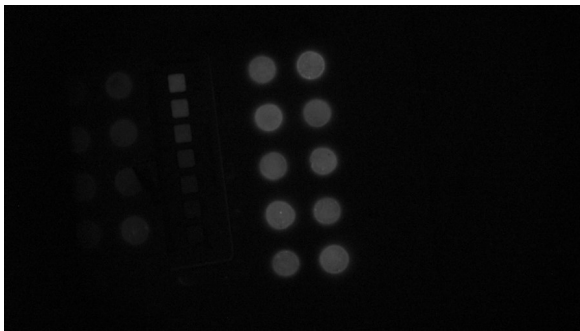
Figuur 22: Ontwerp FluoView

## 7 Validatie

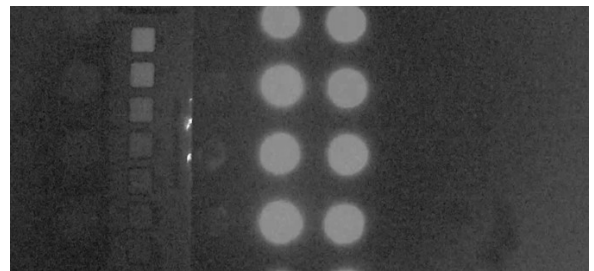
In dit hoofdstuk wordt de prestatie van de FluoView vergeleken met die van het Quest systeem, dat dient als referentiesysteem. Afbeeldingen van het ICG fantoom zijn vastgelegd met zowel de Quest Spectrum als de FluoView. De resultaten zullen worden geanalyseerd en vergeleken in dit hoofdstuk. Daarnaast zullen de behaalde eisen worden geëvalueerd.

### 7.1 Afbeeldingen

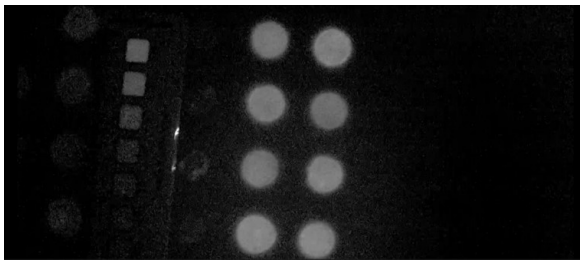
Tijdens de validatie zijn verschillende afbeeldingen van beide systemen met elkaar vergeleken, zoals te zien is in figuur 23. In eerste instantie is onderzocht hoe beide systemen afbeeldingen genereren met behulp van een ICG fantoom waarin oplossingen van 0.025 mg/ml en 0.0125 mg/ml ICG aanwezig zijn. Daarnaast zijn enkele afbeeldingen geoptimaliseerd door toepassing van een filter, waarbij verschillende instellingen zijn aangepast. Deze afbeeldingen zijn geoptimaliseerd in het programma OBS. In de afbeeldingen is, naast het fantoom uit sectie 4.8, ook een ander fantoom gebruikt, zie bijlage E. Dit fantoom is gebruikt ter kalibratie van een afbeelding.



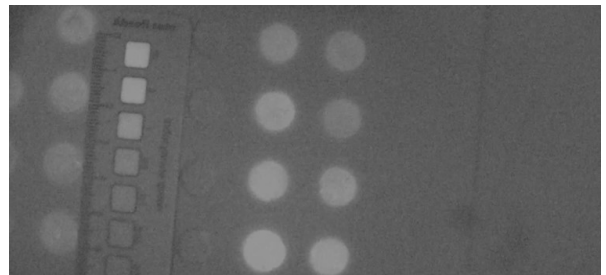
(a) Quest camera gebruikmakend van de excitatiebron FluoView.



(b) FluoView camera gebruikmakend van de excitatiebron Quest spectrum.



(c) FluoView camera systeem en excitatie bron met geoptimaliseerd beeld.



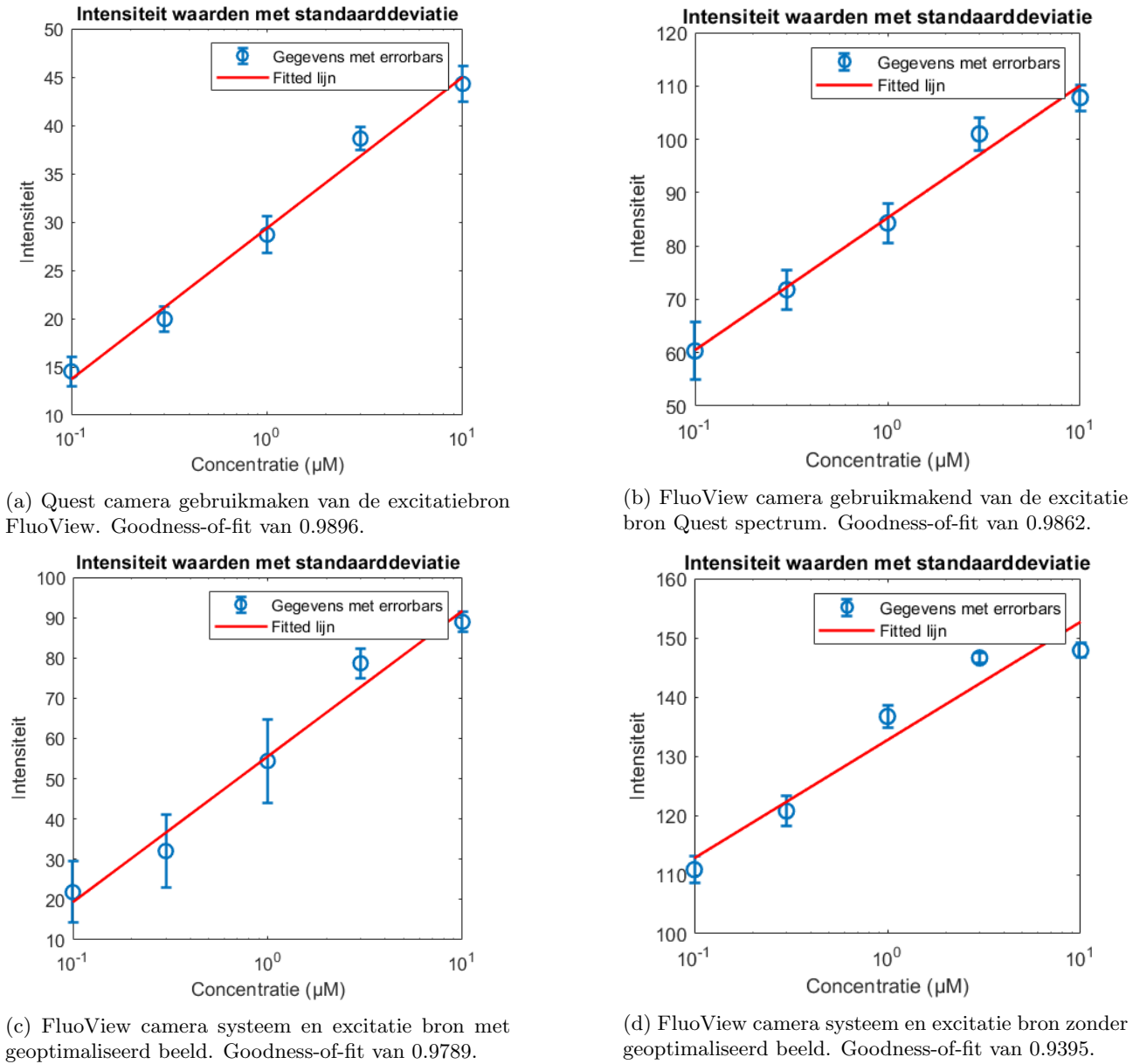
(d) FluoView camera systeem en excitatie bron zonder geoptimaliseerd beeld.

Figuur 23: Afbeeldingen Quest tegen FluoView.

In figuur 23a wordt de afbeelding getoond die is vastgelegd met behulp van de Quest Spectrum, waarbij de laserdiodes van het eigen camerasysteem als excitatie bron zijn gebruikt. In figuur 23b is daarentegen een afbeelding te zien die is vastgelegd met de FluoView, waarbij de laser van de Quest Spectrum is gebruikt als excitatie bron. Figuur 23c toont een afbeelding die is vastgelegd met de FluoView, waarbij de afbeelding op een laptop, met behulp van OBS, is geoptimaliseerd om overeen te komen met de afbeelding gemaakt met de Quest Spectrum. In figuur 23d is dezelfde afbeelding te zien zonder optimalisatie.

Het is opmerkelijk dat de afbeelding vastgelegd met de Quest Spectrum en de bewerkte afbeelding met de FluoView sterk op elkaar lijken, met redelijk vergelijkbare intensiteiten. De afbeelding van de FluoView lijkt zelfs iets intenser te zijn, mogelijk door aanpassingen in de instellingen. Echter, de ruis in de afbeelding van de FluoView is aanzienlijk hoger, waardoor het beeld erg korrelig oogt.

Een kwantitatieve analyse tussen de verschillende afbeeldingen is niet haalbaar vanwege de verschillende apparatuur en opnamecondities waarmee de foto's zijn gemaakt. Echter kan er met behulp van het tweede fantoom wel een kalibratie per afbeelding worden gemaakt. Met behulp van een Matlab-script, zie bijlage D, kan er een kalibratie worden gedaan tussen de intensiteit en de concentratie ICG. Met behulp van het script kunnen er 5 regio's geselecteerd worden, waarvan de gemiddelde intensiteit samen met de standaarddeviatie wordt berekend. De resultaten zijn weergegeven in de figuur hieronder.



Figuur 24: Kalibratie per afbeelding, met de intensiteit uitgezet tegen de concentratie.

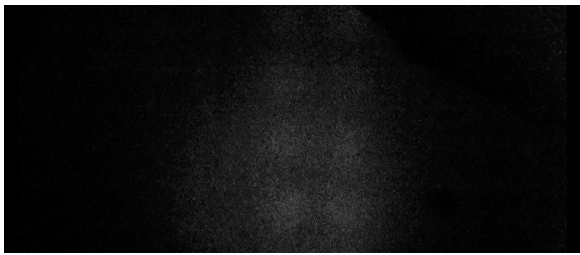
In de grafieken is de intensiteit van de 5 geselecteerde regio's uitgezet tegen de concentraties ICG in  $\mu\text{M}$ . In de tabel is te zien dat de concentraties ICG exponentieel toenemen. Wanneer de Lambert-Beer wet in acht wordt gehouden zal er een lineair verband verwacht worden. Zie hieronder de wet van Lambert-Beer. Deze wet stelt dat de absorptie van licht recht evenredig is met de concentratie van de absorberende stof, de padlengte en de molar absorptiviteit. Wanneer licht door een absorberend medium gaat, wordt de intensiteit daarvan exponentieel verzwakt. Wanneer de absorptie logaritmisches wordt gedefinieerd, zorgt dit voor een lineair verband.

$$\text{Absorptie} = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (1)$$

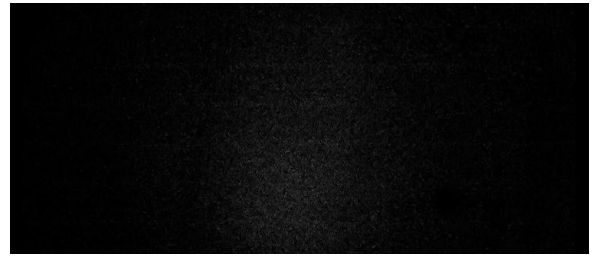
$$\text{Absorptie} = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right) \quad (2)$$

In alle vier de grafieken is een lineair verband te zien met een hoge goodness-of-fit rate, wat betekent dat de ICG in alle vier de afbeeldingen, wat betreft fluorescentie, goed weergegeven wordt. Wat wel opvalt is dat figuur 24d een lagere goodness-of-fit rate heeft dan de andere grafieken. Een oorzaak hiervan kan zijn dat het contrast van deze afbeelding erg laag is vergeleken met de andere afbeeldingen. Daarnaast heeft de kalibratie van figuur 24c, de geoptimaliseerde afbeelding, een grote standaarddeviatie. Dit komt doordat het beeld, vanwege de optimalisatie, korrelig is geworden, wat dus leidt tot een hogere SNR.

Als laatste is ook onderzocht hoe beide lichtbronnen van invloed zijn op de penetratiediepte. Zoals hierboven te zien is, blijft het beeld van het ICG fantoom ook bij lagere laserintensiteiten goed zichtbaar. Echter, de Quest Spectrum heeft aanzienlijk hogere laserintensiteiten. De Quest Spectrum levert meer dan het dubbele aan intensiteit. Dit is experimenteel getest door verschillende lagen papier over het ICG fantoom te plaatsen. De resulterende afbeeldingen zijn hieronder weergegeven.



(a) FluoView met Quest laser, 5 lagen tissue (0.5 mm).



(b) FluoView met eigen laser diodes, 5 lagen tissue (0.5 mm).

Figuur 25: Verschil in penetratie diepte Quest en FluoView.

Hetzelfde ICG fantoom als in figuur 24 is gebruikt voor de vergelijking. Beide afbeeldingen hebben dezelfde verhoogde contrast instellingen gekregen om een betere zichtbaarheid te garanderen. Op figuur 25a is het ICG fantoom redelijk duidelijk zichtbaar, in tegenstelling tot figuur 25b waar slechts een vage vlek te zien is. Dit verschil illustreert dat er aanzienlijk meer intensiteit nodig is om dieper in het lichaam te kunnen kijken.

## 7.2 *Vergelijking resultaten met programma van eisen*

Aan het begin van dit onderzoek zijn specifieke eisen opgesteld waaraan het ontwerp moest voldoen. Bij de evaluatie van deze eisen blijkt dat het ontwerp grotendeels voldoet aan de gestelde criteria, met enkele nuances.

De lichtbron voldoet aan de meeste eisen, behalve aan de minimale intensiteitseis. De lagere intensiteit wordt grotendeels veroorzaakt door het gebruik van een diffuser. Ondanks deze lagere intensiteit is er geen sprake van slecht zichtbare ICG fluorescentie.

De eis voor het belichte oppervlak was dat deze zo dicht mogelijk bij de waarden van de Quest Spectrum moest liggen. De FluoView bereikt een belicht oppervlak van 13 bij 23 cm op een hoogte van 20 cm, wat aan deze eis voldoet.

Bijna alle eisen voor het filter zijn gehaald. Het gekozen filter scheidt licht boven de 850 nm en heeft het beste scheidingsspectrum ten opzichte van het excitatiespectrum. Het spectrum van het filter is echter breder dan 60 nm, wat een kleine afwijking is van de eis.

Alle eisen met betrekking tot de camera en andere vereisten zijn ook behaald. Deze evaluatie toont aan dat het ontwerp grotendeels succesvol is geweest in het behalen van de gestelde ontwerpeisen, met enkele kleine afwijkingen die niet significant zijn gebleken voor de kwaliteit van de verkregen afbeeldingen.

## 8 Discussie

In dit hoofdstuk wordt dieper ingegaan op het ontwerp en het ontwerpproces van de FluoView. Er zal worden geëvalueerd welke keuzes er zijn gemaakt tijdens het ontwerpproces en er zullen eventuele aanbevelingen worden besproken.

### 8.1 Componenten

Het ontworpen camerasysteem omvat verschillende componenten, namelijk een lichtbron, camera en filter. Tijdens het ontwerpproces zijn er experimenten uitgevoerd met deze componenten om de beste combinatie te bepalen. De ontwikkelingen en overwegingen met betrekking tot elk van deze componenten zullen hieronder worden besproken.

### 8.2 Excitatiebron

Voor de excitatiebron was er een keuze tussen 2 verschillende soorten laserdiodes. Het verschil tussen deze 2 laserdiodes is het vermogen. De laserdiodes hebben een vermogen van 90 mW en van 200 mW. Om een keuze te maken tussen deze 2 laserdiodes is onderzocht met welke laserdiode de intensiteit van de Quest Spectrum nagebootst kon worden. Er is geprobeerd een soortgelijke intensiteit te behalen, echter is uit de resultaten gebleken dat er geen  $5 \text{ mW/cm}^2$ , wat de Quest Spectrum wel uitstraalt, aan intensiteit nodig is om ICG goed te zien. Hier is de keuze gemaakt om de nadruk te leggen op het behalen van de intensiteit van de referentiewaarde. Echter is naderhand een betere overweging om de focus te leggen op de minimale intensiteit die nodig is om ICG zichtbaar te maken. Op deze manier kunnen eventuele kosten en extra onderdelen bespaard worden. Dit is ook zichtbaar bij de resultaten na gebruik van een diffuser, waarbij veel lichtverlies plaatsvindt. ICG is ook hierna duidelijk zichtbaar. Er is dan ook niet zo veel lichtintensiteit nodig om ICG zichtbaar te maken.

Tijdens het proces is er, ondanks het lichtverlies, gekozen voor een diffuser. Zoals hierboven al benoemd, is ICG ook bij lagere intensiteiten zichtbaar en daarnaast is homogeniteit van het licht van groot belang. Wanneer er geen sprake is van homogeniteit bij het verlichten van weefsel, zal ICG oplichten vanwege meer licht intensiteit en niet vanwege een betere doorbloeding. Er is dan geen sprake van een valide meting. Een diffuser is gewenst, ook al leidt dit tot een intensiteit van maximaal  $1 \text{ mW/cm}^2$  in het focuspunt. Voor een later ontwerp is het optioneel meer laserdiodes toe te voegen om toch de gewenste intensiteit van  $5 \text{ mW/cm}^2$  in het focuspunt te behalen.

Bovendien is het opvallend dat de Quest Spectrum een grote laser engine heeft die zorgt voor meer dan  $15 \text{ mW/cm}^2$  intensiteit op een afstand van 20 cm. Dit zorgt ervoor dat de Quest Spectrum groot en zwaar is, wat het niet erg mobiel maakt. Bij ons onderzoek is gebleken dat de intensiteit die de laser engine kan produceren, niet nodig is om ICG fluorescentie aan het oppervlak zichtbaar te maken. Echter een factor die niet onderzocht is, is de indring diepte in de huid. Een mogelijke reden kan zijn dat er meer intensiteit nodig is om dieper in de huid te dringen. Bovendien is indring diepte in de huid een belangrijke factor aangezien het fluorescentie signaal vaak dieper in het weefsel zit. NIR-licht kan dieper in het weefsel dringen aangezien het minder verstrooiing en absorptie ondervindt, met als gevolg dat het ICG fluorescentie signaal ook van dieper gelegen komt [20].

Aangezien het effect van intensiteit op de detectie diepte niet experimenteel is vastgesteld, blijft het moeilijk om definitief te stellen dat de hoge intensiteit van de Quest Spectrum niet noodzakelijk is. Voor het ontwerp van het camerasysteem is echter besloten om 4 laserdiodes van 200 mW te gebruiken. Deze keuze was gebaseerd op het streven naar de referentiewaarde. Bovendien suggereert de literatuur dat de intensiteit van het excitatie licht de intensiteit van ICG fluorescentie beïnvloedt [21]. Door te kiezen voor laserdiodes met een vermogen van 200 mW, wordt het gemakkelijker om zelfs lagere concentraties ICG waar te nemen met de camera.

Tijdens de validatie in hoofdstuk 7 werd specifiek onderzocht wat het effect is van penetratiediepte door verschillende lagen papier. Hieruit bleek dat een hogere intensiteit resulteerde in een betere doordringing door de lagen. De FluoView bereikte ongeveer  $1 \text{ mW/cm}^2$  op 20 cm afstand, terwijl de Quest Spectrum een intensiteit van ongeveer  $5 \text{ mW/cm}^2$  behaalde op een afstand van 20 cm. Dit verschil was aanzienlijk, hoewel de daadwerkelijke zichtbaarheid van ICG niet evenredig toenam met dit verschil in intensiteit. De uiteindelijke toepassing bepaalt echter of het noodzakelijk is om meer penetratiediepte te bereiken. Zoals eerder besproken, kan in toekomstige ontwerpen overwogen worden om meer laserdiodes toe te voegen om zo een hogere intensiteit te verkrijgen.

### 8.3 Filter

Bij het onderzoek naar de filterspectrum viel op dat niet alle filters aan de specificaties voldeden. Het filter met een golflengte van 830 nm bleek een hogere transmissie te hebben dan het 850A filter. Daarnaast was het 850B filter aanzienlijk nauwbandiger dan het 850A filter. Uiteindelijk is het 850B filter geselecteerd voor de FluoView op basis van twee criteria: ten eerste moest het spectrum goed gescheiden zijn van het excitatiespectrum om

overlapping te minimaliseren en toch voldoende ICG-sigitaal door te laten. Ten tweede is gekozen voor het filter met het meest nauwbandige spectrum, omdat dit de ruisniveaus verlaagt.

## 8.4 Camera

Zoals eerder vermeld in dit onderzoek, zijn de standaardinstellingen van de camera gebruikt. De mogelijkheid om de instellingen van de camera aan te passen was er helaas niet aangezien deze defect zijn. Deze instellingen hebben dan ook geen invloed gehad op de beelden. Om het beeld te optimaliseren, zijn de instellingen op de laptop aangepast. Bovendien zijn de instellingen van het beeldscherm gebruikt om de weergave op het scherm te optimaliseren. Echter, wanneer de camera op een laptop wordt aangesloten en het beeld ook daar wordt geoptimaliseerd, kunnen er verschillen ontstaan tussen de weergave op het scherm en op de laptop. Deze verschillen kunnen leiden tot variaties in de intensiteit van de weergave op beide schermen. Voor een later ontwerp is het interessant te onderzoeken, hoe het beeld op het beeldscherm van de FluoView geoptimaliseerd kan worden, zodat er geen laptop meer nodig is.

## 8.5 Bestaande ontwerpen

Bij het analyseren van bestaande ontwerpen zijn meerdere verschillen zichtbaar in de gebruikte componenten.

In het artikel van S.L. Troyan, V. Kianzad etc. is het FLARE imaging systeem ontworpen, waarbij een intensiteit van  $14 \text{ mW/cm}^2$  gemeten is op een afstand van 18 cm. Deze intensiteit komt redelijk overeen met de resultaten van de Quest Spectrum. Beide systemen worden hoofdzakelijk gebruikt voor de visualisatie van lymfeklieren, dieper gelegen in het weefsel. Uit het onderzoek van S.L. Troyan, V. Kianzad etc. is gebleken dat lymfeklieren goed zichtbaar waren op de camera. Deze observatie kan mogelijk de reden zijn voor de hoge intensiteit die nodig is voor dergelijke toepassingen.

In dit onderzoek wordt gebruikgemaakt van laserdiodes als excitatiebron. In de literatuur is echter bekend dat ook vaak LED-lichtbronnen worden gebruikt. In een artikel van N.Y. Hong, H.R. Kim etc. wordt onderzocht wat het verschil is in ICG fluorescentie bij gebruik van een LED en een laser. Uit dit onderzoek blijkt dat er geen significant verschil is tussen het gebruik van een LED-lichtbron en een laser-lichtbron. De kwaliteit van de afbeeldingen, die worden gemaakt met een CCD-camera, hangt sterk af van het gebruikte filter, de bandbreedte van de golflengte, de intensiteit van het licht, en de gevoeligheid van de camera.

Een laser-lichtbron heeft een smallere bandbreedte, waardoor het eenvoudiger is om het excitatie- en emissiespectrum te scheiden, omdat er geen overlapping is. Een potentieel nadeel van een laser-lichtbron is echter dat er een piekverschuiving in golflengte kan optreden als gevolg van warmteontwikkeling [13]. In het ontwerp van de FluoView is een aluminium plaat toegevoegd waarin de laserdiodes zijn gemonteerd. Deze plaat dient om de warmte die door de laserdiodes wordt geproduceerd af te voeren. Voor volgend onderzoek is het interessant om te onderzoeken hoe de temperatuur van de laserdiodes en de ring gemonitord kan worden.

In een ander onderzoek door T. Handa, R.G. Katara etc. zijn twee systemen vergeleken met verschillende lichtbronnen. Het SPY-systeem maakte gebruik van een laser-lichtbron voor de excitatie van ICG, terwijl het HyperEye-systeem een LED-lichtbron gebruikte. Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat LED-lichtbronnen het voordeel hebben dat ze langdurig gebruikt kunnen worden zonder overmatige warmteproductie, wat ze veiliger en betrouwbaarder maken in gebruik. Daarnaast is geconcludeerd dat LED-lichtbronnen in staat zijn om een groter oppervlak te belichten [22]. Zoals eerder vermeld, maakt het ontwerp van de FluoView gebruik van diffusers om het licht van de laserdiodes te verspreiden, waardoor een groter oppervlak kan worden belicht.

## 8.6 Validatie

Bij de validatie van beide systemen blijkt dat ze uiteindelijk vergelijkbare afbeeldingen produceren. De FluoView maakte echter gebruik van beeldversterking. Daar op aanvullend is er natuurlijk ook een significant verschil in prijs en materiaal.

Op dit moment werkt men bij MST aan de ontwikkeling van een ICG-fluorescentiesysteem door een vasculuminator om te bouwen. De resultaten van dit onderzoek dragen bij aan verdere ontwikkelingen van het ICG-fluorescentiesysteem binnen MST.

Wat wel opvalt is dat de camera van de Quest spectrum een lagere gevoeligheid heeft dan de camera van de FluoView. Wanneer de laserdiodes als excitatie bron worden gebruikt is er te zien dan de beelden van de Quest Spectrum een lagere intensiteit geven. Echter, wat een mogelijke oorzaak hier van kan zijn, is dat op hetzelfde moment, met beide camera's op dezelfde positie een foto werd gemaakt. Hierdoor kan het zijn dat de Quest spectrum wat nadeliger stond ten opzicht van het eigen camera systeem.

Vanwege beperkingen in het opslaan van de afbeeldingen en de verschillende opnamecondities is het niet mogelijk een kwantitatieve analyse uit te voeren tussen de verschillende afbeeldingen. Echter is er wel een

kalibratie uitgevoerd per afbeelding. Hier zijn verschillende concentraties ICG uitgezet tegen de gemeten intensiteit. De resultaten zijn redelijk naar verwachting. Er is een lage standaarddeviatie zichtbaar bij de afbeelding van de Quest Spectrum en een hoge standaarddeviatie bij de bewerkte afbeelding. Echter tonen alle vier de afbeeldingen een lineair verband, wat betekent dat de metingen valide zijn.

Om dit conceptontwerp verder te verbeteren, zou het gebruik van meerdere camera's overwogen kunnen worden. Op die manier kunnen fluorescentiebeelden in het weefsel en beelden in zichtbaar licht apart worden vastgelegd. Het overlappen van deze beelden zou duidelijk maken waar de fluorescentie zich in het lichaam bevindt. Daarnaast zal er moeten worden onderzocht hoe de ruwe data van de afbeeldingen getransporteerd kan worden, zodat er in het vervolg ook een kwantitatieve analyse gedaan kan worden.

Indien de FluoView in de kliniek gebruikt wil worden, moet het systeem voldoen aan de wetgeving zoals vastgelegd in de Medical Device Regulation (MDR) (EU) 2017/745 [23].



## 9 Conclusie

In dit rapport is onderzoek uitgevoerd naar de ontwikkeling van een mobiel en handzaam ICG fluorescentie camerasysteem. De volgende sectie biedt een samenvatting van de belangrijkste bevindingen en evalueert de opgestelde eisen.

De belangrijkste bevinding van het onderzoek is de succesvolle ontwikkeling van een handzaam en mobiel ICG fluorescentie camerasysteem, dat vergelijkbare afbeeldingen kan produceren als de Quest Spectrum. Om soortgelijk afbeeldingen te maken is er wel versterking en optimalisering van het beeld voor nodig. Voor toekomstige ontwikkelingen is het raadzaam om te overwegen meer laserdiodes toe te passen, zodat een hogere intensiteit kan worden bereikt en er dieper in het weefsel kan worden gekeken. Daarnaast zou het gebruik van meerdere camera's kunnen worden overwogen. Op deze manier kunnen fluorescentiebeelden van het weefsel en beelden in zichtbaar licht met elkaar overlappen, wat duidelijkheid kan geven over de locatie van de fluorescentie in het lichaam.

Wat betreft de lichtbron zijn alle gestelde eisen behaald, met uitzondering van de minimale intensiteitseis die niet volledig is gehaald. Voor het filter zijn nagenoeg alle eisen behaald, behalve dat het spectrum iets breder is dan de vastgestelde 60 nm. Alle gestelde eisen voor de camera zijn volledig gehaald en als laatste zijn alle overige opgestelde eisen eveneens succesvol vervuld in het ontwerp van het systeem.

## Referenties

- [1] Chizari A, Schaap MJ, Knop T, Boink YE, Seyger MMB, Steenbergen W. Handheld versus mounted laser speckle contrast perfusion imaging demonstrated in psoriasis lesions. *Scientific reports*. 2021 12;11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34404886/>.
- [2] Tao H, Zeng X, Lin W, Wang Z, Lin J, Li J, et al. Indocyanine green fluorescence imaging to localize insulinoma and provide three-dimensional demarcation for laparoscopic enucleation: a retrospective single-arm cohort study. *International journal of surgery (London, England)*. 2023 4;109(4):821-8. Available from: [https://journals.lww.com/international-journal-of-surgery/fulltext/2023/04000/indocyanine\\_green\\_fluorescence\\_imaging\\_to\\_localize.19.aspx](https://journals.lww.com/international-journal-of-surgery/fulltext/2023/04000/indocyanine_green_fluorescence_imaging_to_localize.19.aspx).
- [3] Quest Medical Imaging — Fluorescentie beeldgeleide chirurgie;. Available from: <https://www.quest-mi.com/nl/>.
- [4] Marshall MV, Rasmussen JC, Tan IC, Aldrich MB, Adams KE, Wang X, et al. Near-Infrared Fluorescence Imaging in Humans with Indocyanine Green: A Review and Update. *The Open Surgical Oncology Journal*. 2010;2:12-25.
- [5] Reinhart MB, Huntington CR, Blair LJ, Heniford BT, Augenstein VA. Indocyanine Green. <http://dxdoiorg/101177/1553350615604053>. 2015 9;23(2):166-75. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1553350615604053>.
- [6] Morales-Conde S, Licardie E, Alarcón I, Balla A. Indocyanine green (ICG) fluorescence guide for the use and indications in general surgery: recommendations based on the descriptive review of the literature and the analysis of experience. *Cirugía Española (English Edition)*. 2022 9;100(9):534-54.
- [7] Egloff-Juras C, Bezdetnaya L, Dolivet G, Lassalle HP. NIR fluorescence-guided tumor surgery: new strategies for the use of indocyanine green. *International journal of nanomedicine*. 2019;14:7823-38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31576126/>.
- [8] Miwa M. The Principle of ICG Fluorescence Method. *The Open Surgical Oncology Journal*. 2010;2:26-8. Available from: <http://jp.hamama>.
- [9] Utrecht U. Lesbrief: Fluorescentie en pH.
- [10] Lakowicz JR. Introduction to Fluorescence. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 1999:1-23. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-3061-6\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-3061-6_1).
- [11] WILLIAMS RT, BRIDGES JW. Fluorescence of solutions: A review. *Journal of Clinical Pathology*. 1964;17(4):371. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC480776/>.
- [12] The excitation and emission spectra of the fluorescent dyes (a) ICG and... — Download Scientific Diagram;. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/The-excitation-and-emission-spectra-of-the-fluorescent-dyes-a-ICG-and-b-IRDye-R-800CW\\_fig1\\_334381266](https://www.researchgate.net/figure/The-excitation-and-emission-spectra-of-the-fluorescent-dyes-a-ICG-and-b-IRDye-R-800CW_fig1_334381266).
- [13] Young Hong N, Rae Kim H, Min Lee H, Kyung Sohn D, Gi Kim K, Stummer W, et al. Fluorescent property of indocyanine green (ICG) rubber ring using LED and laser light sources. *Biomedical Optics Express*, Vol 7, Issue 5, pp 1637-1644. 2016 5;7(5):1637-44. Available from: <https://opg.optica.org/viewmedia.cfm?uri=boe-7-5-1637seq=0html=true> <https://opg.optica.org/abstract.cfm?uri=boe-7-5-1637> <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-7-5-1637>.
- [14] Laser Diode Beam Basics, Manipulations and Characterizations - Haiyin Sun - Google Boeken;. Available from: <https://books.google.nl/books?hl=nllr=id=VgSG7MskgXYCoi=fndpg=PR3dq=laserdiode+difference+laserrots=yv=onepageq=laserdiode>
- [15] DSouza AV, Lin H, Henderson ER, Samkoe KS, Pogue BW. Review of fluorescence guided surgery systems: identification of key performance capabilities beyond indocyanine green imaging. <https://doiorg/101117/1JBO218080901>. 2016 8;21(8):080901. Available from: <https://www.spiedigitallibrary.org/journals/journal-of-biomedical-optics/volume-21/issue-8/080901/Review-of-fluorescence-guided-surgery-systems-identification-of-key/10.1117/1.JBO.21.8.080901.full> <https://www.spiedigitallibrary.org/journals/journal-of-biomedical-optics/volume-21/issue-8/080901/Review-of-fluorescence-guided-surgery-systems-identification-of-key/10.1117/1.JBO.21.8.080901.short>.

- [16] Jeong MY, Mang JY. Continuously tunable optical notch filter and band-pass filter systems that cover the visible to near-infrared spectral ranges. *Applied Optics*, Vol 57, Issue 8, pp 1962-1966. 2018 3;57(8):1962-6. Available from: <https://opg-optica-org.ezproxy2.utwente.nl/viewmedia.cfm?uri=ao-57-8-1962seq=0html=true> <https://opg-optica-org.ezproxy2.utwente.nl/abstract.cfm?uri=ao-57-8-1962> <https://opg-optica-org.ezproxy2.utwente.nl/ao/abstract.cfm?uri=ao-57-8-1962>.
- [17] Kusano M, Tajima Y, Yamazaki K, Kato M, Watanabe M, Miwa M. Sentinel Node Mapping Guided by Indocyanine Green Fluorescence Imaging: A New Method for Sentinel Node Navigation Surgery in Gastrointestinal Cancer. *Digestive Surgery*. 2008 5;25(2):103-8. Available from: <https://dx.doi.org/10.1159/000121905>.
- [18] Getting Started: Filters;. Available from: <https://noiseengineering.us/blogs/loquelic-literitas-the-blog/getting-started-filters>.
- [19] Chen Z, Zhu N, Pacheco S, Wang X, Liang R, Venugopal V, et al. Single camera imaging system for color and near-infrared fluorescence image guided surgery. *Biomedical Optics Express*, Vol 5, Issue 8, pp 2791-2797. 2014 8;5(8):2791-7. Available from: <https://opg.optica.org/viewmedia.cfm?uri=boe-5-8-2791seq=0html=true> <https://opg.optica.org/abstract.cfm?uri=boe-5-8-2791> <https://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-5-8-2791>.
- [20] Frangioni JV. New technologies for human cancer imaging. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(24):4012-21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18711192/>.
- [21] van den Bos J, Wieringa FP, Bouvy ND, Stassen LPS. Optimizing the image of fluorescence cholangiography using ICG: a systematic review and ex vivo experiments. *Surgical Endoscopy*. 2018 12;32(12):4820-32. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00464-018-6233-x>.
- [22] Handa T, Katare RG, Nishimori H, Wariishi S, Fukutomi T, Yamamoto M, et al. New device for intra-operative graft assessment: HyperEye charge-coupled device camera system. *General Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2010 2;58(2):68-77. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11748-009-0536-8>.
- [23] Europese verordeningen MDR en IVDR — Medische technologie — Inspectie Gezondheidszorg en Jeugd;. Available from: <https://www.igj.nl/zorgsectoren/medische-technologie/nieuwe-europese-verordeningen-mdr-en-ivdr>.

## A Handleiding Camera systeem.

### Handleiding

Deze handleiding is bedoeld om begeleiding te bieden bij het gebruik van het camerasysteem. Eerst zullen de onderdelen worden behandeld met de bijbehorende specificaties. Vervolgens zal er stapsgewijs worden uitgelegd hoe je dit camerasysteem moet toepassen.

#### 1.Lichtbron

De lichtbron bestaat uit een ring van 4 laserdiodes met alle vier een voltage van 200 mW. Deze vier laserdiodes zijn aangesloten op een LED driver. Deze LED driver wordt gevoerd door 358 mA en 2.55 V.  $\pm$

#### 2.Stroomregelaar

De stroom is aangesloten op een adapter met een output van 5 V en 3.4 A. Deze stroom wordt geregeld door een stroomregelaar.

#### 3.Camera

De camera is een digitale camera. Deze camera maakt gebruik van een menu waarop verschillende instellingen kunnen worden aangepast. De camera maakt gebruik van de volgende instellingen;

#### 4.Lens

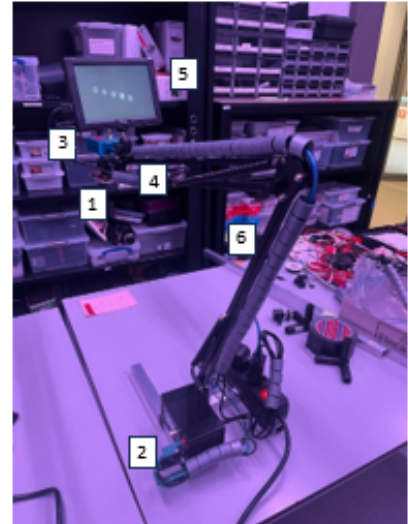
De lens is bevestigd aan de camera. Met de lens kan het diafragma geopend worden, kan er ingezoomd worden en kan de scherpte worden aangepast.

#### 5.Display

Het beeld van de camera wordt weergegeven op het display. Deze is verbonden aan de arm van het camerasysteem en kan worden gedraaid naar wens.

#### 6.De arm

Alle onderdelen zijn bevestigd aan de arm. Deze kan 180 graden gedraaid worden en kan verticaal heen en weer bewegen om zo de camera en de lichtbron naar de juiste plek te brengen.



### Stappenplan

#### 1.Opstarten van het systeem

Stop de stekker in het stopcontact en wacht 5 seconden voordat alles aan gaat. Druk op de aan knop van het stroomregelaar kastje zodat de stroom begint met lopen en de laserdiodes aan staan.

#### 2.Camera instellen

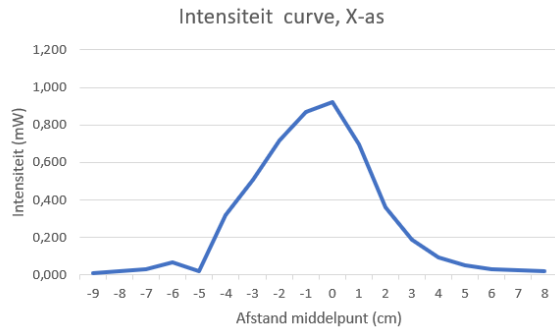
In principe staat de camera al op de juiste standaardinstellingen. Je zou eventueel de exposure, de resolutie of het contrast hoger of lager kunnen zetten, dit kan via het menu knopje op de camera.

#### 3.ICG meten

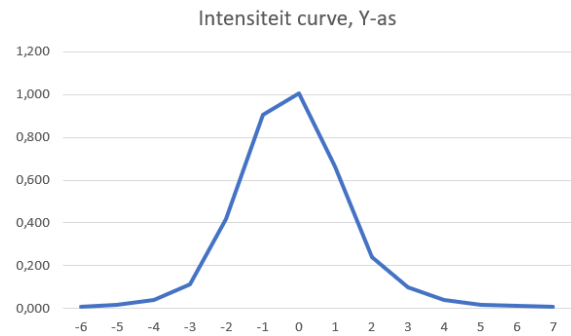
Nu de camera aan staat met de juiste instellingen kan er ICG gemeten worden. Richt de camera op de plek waar je wilt kijken en stel het beeld scherp met behulp van de lens. Op het display kun je de ICG zien oplichten

## B Intensiteiten laserdiodes

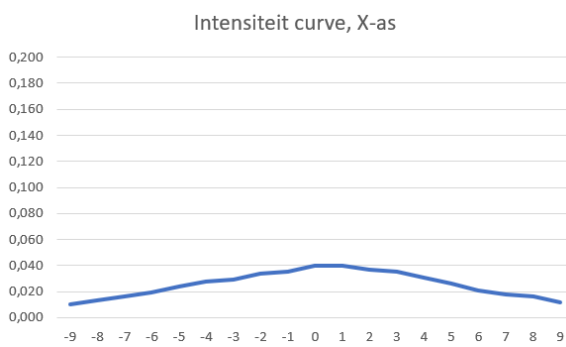
In deze bijlage zijn de gemeten intensiteiten weergegeven van de verschillende combinaties van de laserdiodes samen met de drivers. De details van deze experimenten zijn te vinden in sectie 5.



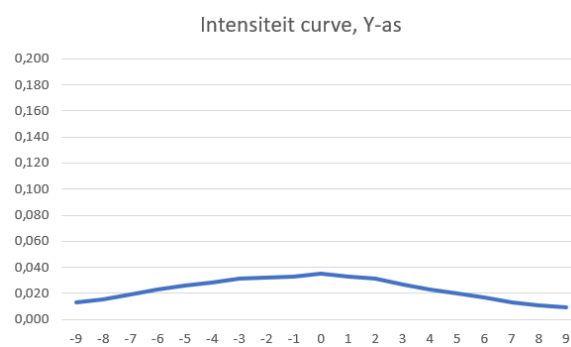
(a) Intensiteit x-as, zonder diffuser.



(b) Intensiteit y-as, zonder diffuser.

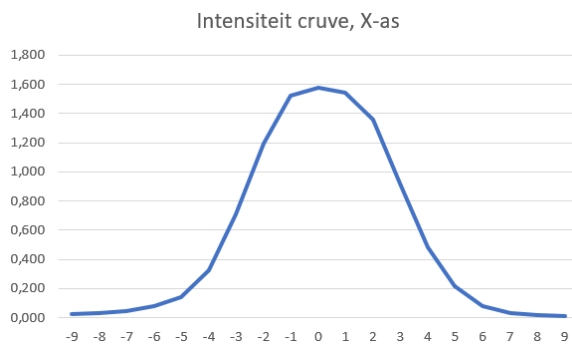


(c) Intensiteit x-as, met diffuser.

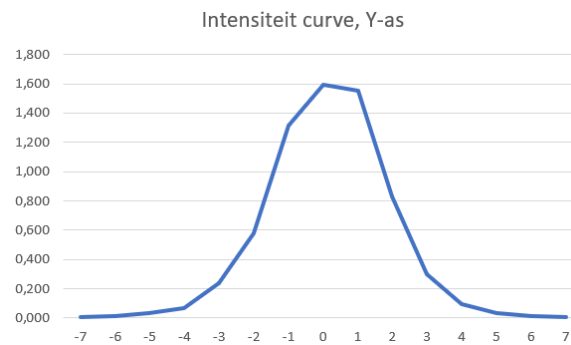


(d) Intensiteit y-as, met diffuser.

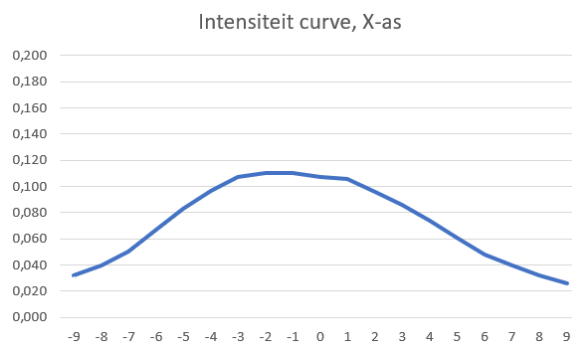
Figuur 26: 90 mW laserdiode met LED driver.



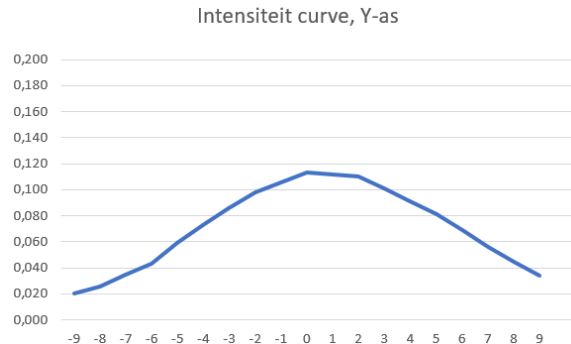
(a) Intensiteit x-as, zonder diffuser.



(b) Intensiteit y-as, zonder diffuser.

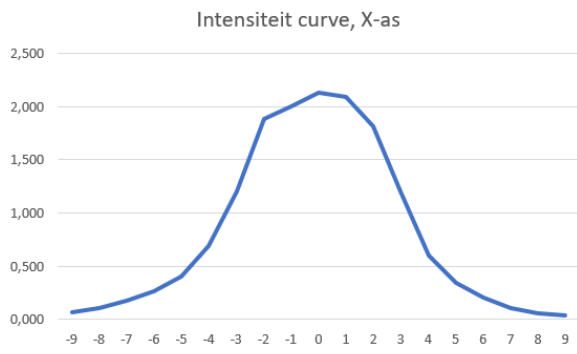


(c) Intensiteit x-as, met diffuser.

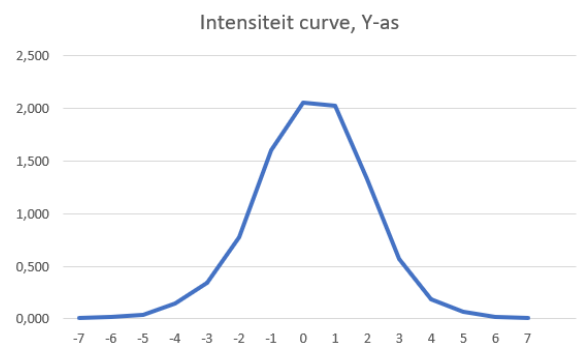


(d) Intensiteit y-as, met diffuser.

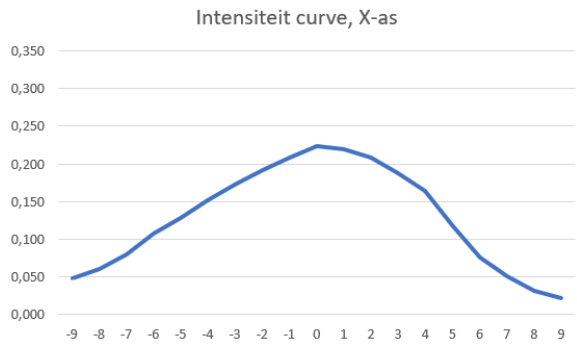
Figuur 27: 90 mW laserdiode met Laserdiode driver.



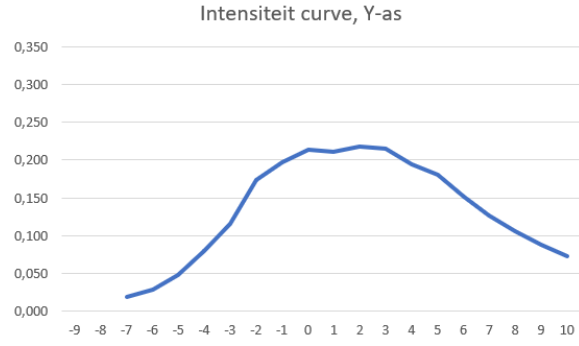
(a) Intensiteit x-as, zonder diffuser.



(b) Intensiteit y-as, zonder diffuser.

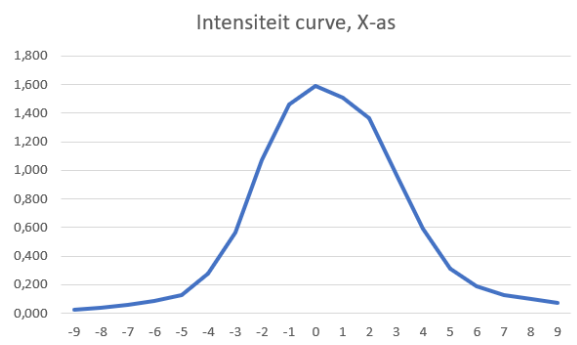


(c) Intensiteit x-as, met diffuser.

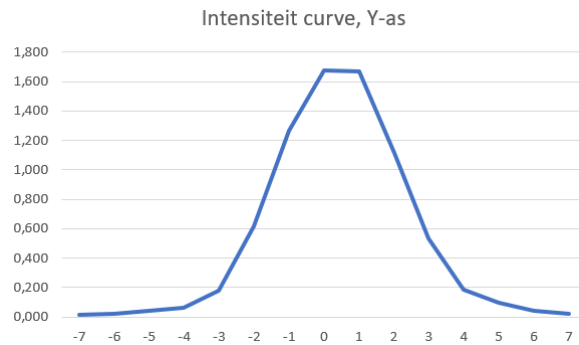


(d) Intensiteit y-as, met diffuser.

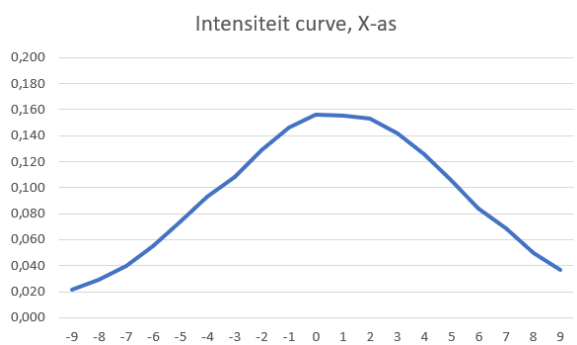
Figuur 28: 200 mW laserdiode met LED driver.



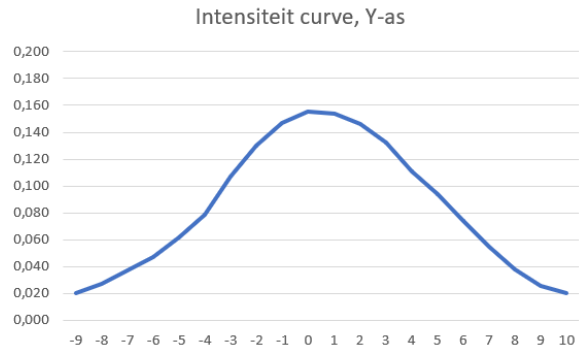
(a) Intensiteit x-as, zonder diffuser.



(b) Intensiteit y-as, zonder diffuser.



(c) Intensiteit x-as, met diffuser.

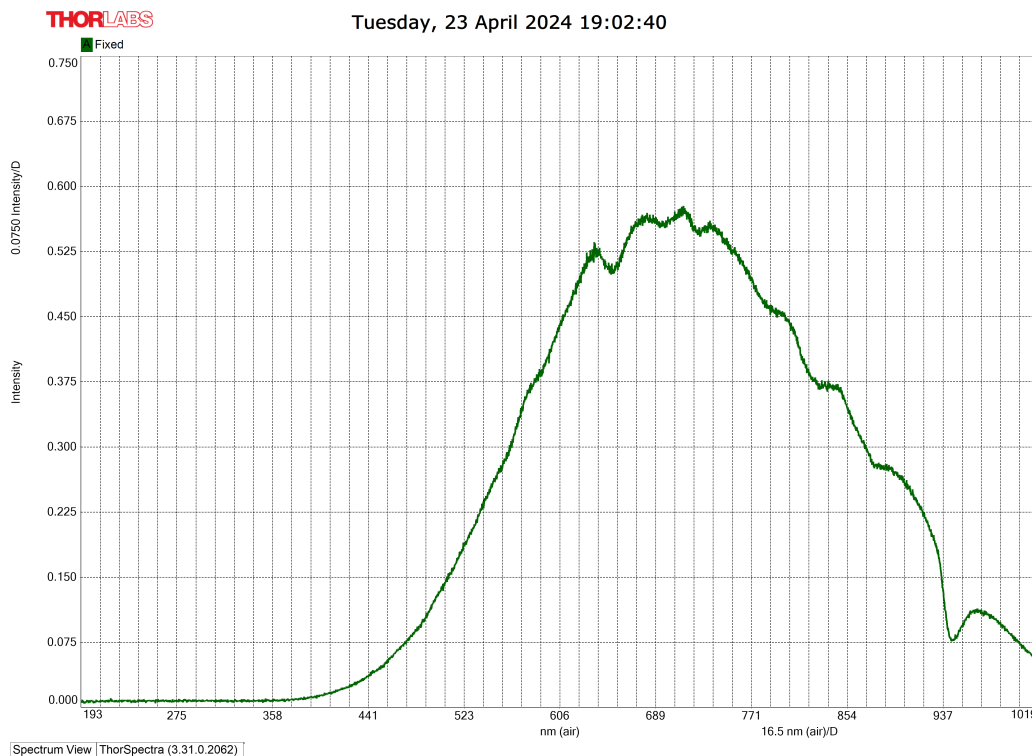


(d) Intensiteit y-as, met diffuser.

Figuur 29: 200 mW laserdiode met Laserdiode driver.

## C Spectrum gloeilamp

In deze bijlage is het spectrum van de gloeilamp weergegeven. Dit spectrum is gebruikt bij het meten van het spectrum van de verschillende filters. De details van dit experiment zijn te vinden in sectie 5.



Figuur 30

## D MATLAB-script

In deze bijlage is het MATLAB-script opgenomen dat is gebruikt voor de validatie van de afbeeldingen die zijn gegenereerd met de FluoView- en Quest Spectrum-systemen. De details van dit validatieproces zijn te vinden in Sectie 7.

```

%afbeelding inladen
afbeelding = imread('Quest_laser.jpg');

%afbeelding weergeven
imshow(afbeelding);

h = drawrectangle;

wait(h);

position = h.Position;

%regio in afbeelding selecteren
selectedRegion_1 = imcrop(afbeelding, position);

%gemiddelde en standaarddeviatie intensiteit berekenen
meanIntensity_1 = mean2(selectedRegion_1)
stdDeviation_1 = std2(selectedRegion_1)

%RONDE 2
%afbeelding weergeven
imshow(afbeelding);

h = drawrectangle;

wait(h);

position = h.Position;

%regio in afbeelding selecteren
selectedRegion_2 = imcrop(afbeelding, position);

%gemiddelde en standaarddeviatie intensiteit berekenen
meanIntensity_2 = mean2(selectedRegion_2)
stdDeviation_2 = std2(selectedRegion_2)

%RONDE 3
%afbeelding weergeven
imshow(afbeelding);

h = drawrectangle;

wait(h);

position = h.Position;

%regio in afbeelding selecteren
selectedRegion_3 = imcrop(afbeelding, position);

%gemiddelde en standaarddeviatie intensiteit berekenen
meanIntensity_3 = mean2(selectedRegion_3)
stdDeviation_3 = std2(selectedRegion_3)

%RONDE 4
%afbeelding weergeven
imshow(afbeelding);

```



```

h = drawrectangle;

wait(h);

position = h.Position;

%regio in afbeelding selecteren
selectedRegion_4 = imcrop(afbeelding, position);

%gemiddelde en standaarddeviatie intensiteit berekenen
meanIntensity_4 = mean2(selectedRegion_4)
stdDeviation_4 = std2(selectedRegion_4)

%RONDE 4
%afbeelding weergeven
imshow(afbeelding);

h = drawrectangle;

wait(h);

position = h.Position;

%regio in afbeelding selecteren
selectedRegion_5 = imcrop(afbeelding, position);

%gemiddelde en standaarddeviatie intensiteit berekenen
meanIntensity_5 = mean2(selectedRegion_5)
stdDeviation_5 = std2(selectedRegion_5)

x = [10,3,1,0.3,0.1]
y = [meanIntensity_1 meanIntensity_2 meanIntensity_3 meanIntensity_4
meanIntensity_5]
std_dev = [stdDeviation_1 stdDeviation_2 stdDeviation_3 stdDeviation_4
stdDeviation_5]

errorbar(x, y, std_dev, '-o', 'LineWidth', 1.5, 'MarkerSize', 8)
xlabel('Regio')
ylabel('Intensiteit')
title('Intensiteit waarden met standaarddeviatie')

set(gca, 'Xscale', 'log')

```

## E Fantoom

In deze bijlage is het tweede fantoom weergegeven die gebruikt is bij de validatie, weergegeven in sectie 7. Dit fantoom is afkomstig van de Quest Spectrum. Op dit fantoom zijn verschillende concentraties ICG weergegeven in  $\mu\text{M}$ . De concentraties lopen op van 0.01  $\mu\text{M}$  naar 10  $\mu\text{M}$ .



Figuur 31