

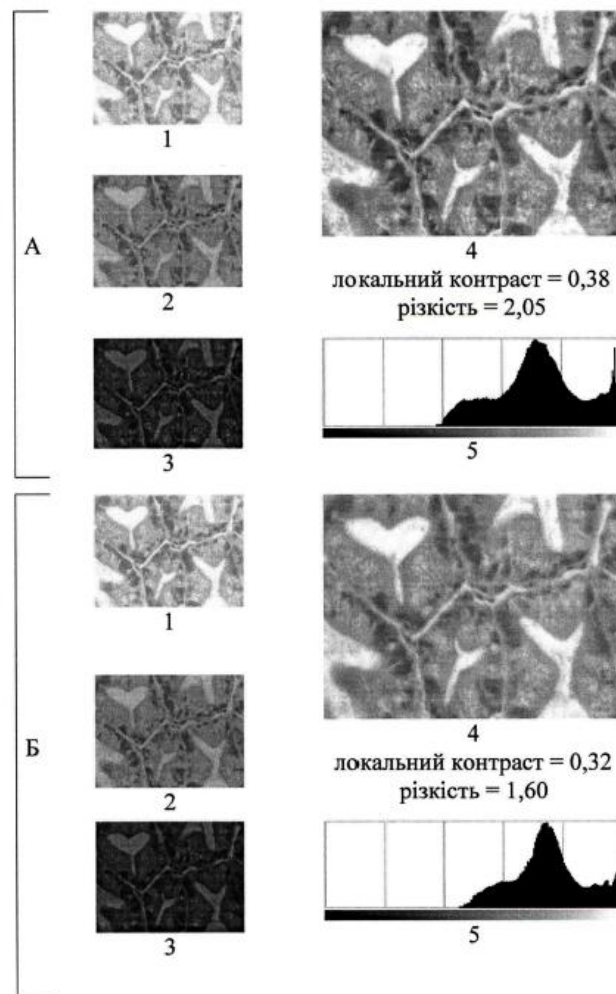
**УКРАЇНА****(19) UA (11) 121673 (13) C2****(51) МПК (2020.01)****G01N 33/48 (2006.01)****G06T 5/00****G06K 9/36 (2006.01)****G03G 17/00**

**МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ**

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**(21) Номер заявки: а 2017 12101****(22) Дата подання заявки: 08.12.2017****(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 10.07.2020****(41) Публікація відомостей
про заявку: 25.04.2018, Бюл.№ 8****(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 10.07.2020, Бюл.№ 13****(72) Винахідник(и):****Гороховський Єгор Юрійович (UA)****(73) Власник(и):****ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,****вул. Жуковського, 66, м. Запоріжжя, 69600
(UA)****(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:****RU 2390842 C1, 27.05.2010****RU 2318201 C1, 27.02.2008****RU 57576 U1, 27.10.2006****RU 2462195 C2, 27.09.2012****UA 12557 U, 15.02.2006****JP 2001056430, 27.02.2001****JP H0344608 A, 26.02.1991****(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ЗОБРАЖЕННЯ МІКРОПРЕПАРАТУ****(57) Реферат:**

Винахід належить до мікроскопії і дозволяє отримувати зображення мікропрепаратів за методом світлого поля, які мають збільшений динамічний діапазон. Спосіб включає налаштування часу експозиції, діафрагмового числа, чутливості матриці фотокамери залежно від об'єкта зйомки та інтенсивності освітлення мікропрепарату. В способі здійснюють виконання за допомогою цифрової фотокамери серії зображень об'єкта; зменшення цифрового шуму на зображеннях; вирівнювання зображень у горизонтальній та вертикальній площинах. Також в способі здійснюють поєднання серії цифрових зображень за допомогою програмного забезпечення у HDR-зображення; перетворення HDR-зображення у LDR-зображення із збільшеним динамічним діапазоном та корегування різкості отриманого зображення. Згідно з винаходом, баланс білого кольору у цифровій фотокамері встановлюють за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату. Причому виконують зображення мікропрепарату при максимально відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа або при його максимальному наближенні до предметного скла, а наступні знімки виконують із зміною діаметра діафрагми конденсора мікроскопа, або зміною його відстані до предметного скла. Зображення, отримані за допомогою запропонованого способу мають кращу якість, ніж при використанні широко вживаного методу еквалізації гістограми, а також характеризуються більш високим ступенем деталізації.

UA 121673 C2



Фіг. 2.

Спосіб належить до мікроскопії і дозволяє отримувати зображення мікропрепаратів із збільшеним динамічним діапазоном, що спрощує їх візуальну експертну оцінку та покращує результати автоматизованого аналізу.

Характерною особливістю фотомікрографій мікропрепаратів, отриманих за методами світлової мікроскопії, є незначна контрастність або, інакше кажучи, незначний динамічний діапазон. Цей факт може негативно впливати на якість візуальної експертної оцінки в умовах, коли неможливо провести безпосередню оцінку мікропрепарату, і доступним є лише його зображення (наприклад у телемедицині). Також це може ускладнювати автоматизований аналіз зображення.

Загальноприйнятими способами збільшення контрасту та динамічного діапазону фотомікрографій препаратів, отриманих за методом світлого поля, є автоматична або ручна нормалізація та еквалізація гістограми. І хоча цей спосіб покращує контрастність та збільшує динамічний діапазон зображення, загальна якість його часто погіршується.

Іншим шляхом збільшення динамічного діапазону зображень є HDR-фотографія, у якій, для того, щоб охопити увесь динамічний діапазон сцени, виконують декілька знімків із різною експозицією та об'єднують їх у одне HDR-зображення. Далі, за допомогою операторів підсумовування або тональної компресії, отримують LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном, який максимально повно охоплює динамічний діапазон сцени. Отже, на зображенні добре відтворюються деталі як у його занадто світлих ділянках, так і занадто темних, чого за умов використання звичайної фотографії досягти важко, або навіть неможливо.

Відомий спосіб отримання зображення [Nightingale D. Practical HDR // D. Nightingale. - Waltham: Focal Press, 2012.-176 p.], у якому за допомогою цифрової фотокамери виконують серію зображень із різними значеннями експозиції, що досягається шляхом зміни часу витримки затвора цифрової фотокамери, поєднують отриману серію цифрових зображень у HDR-зображення, з якого за допомогою операторів підсумовування або тональної компресії отримують LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється, є:

виконання за допомогою цифрової фотокамери серії зображень із різними значеннями експозиції;

поєднання отриманої серії цифрових зображень у HDR-зображення;

перетворення HDR-зображення у LDR-зображення із збільшеним динамічним діапазоном.

Даний спосіб не дозволяє отримувати зображення мікрооб'єктів за допомогою мікроскопа.

Найбільш близьким за суттю та досягнутим результатом є спосіб отримання зображення мікропрепарату [Piper J. Image processing for the optimization of dynamic range and ultra-high contrast amplification in photomicrography / J. Piper // Modern Research and Educational Topics in Microscopy. - 2010. - V. 3. - P. 1436-1444], який включає:

налаштування часу експозиції, діафрагмового числа, чутливості матриці фотокамери залежно від об'єкта зйомки та інтенсивності освітлення мікропрепарату;

виконання за допомогою цифрової фотокамери, приєднаної до біологічного мікроскопа, серії зображень мікропрепарату;

зменшення цифрового шуму на зображеннях;

вирівнювання зображень у горизонтальній та вертикальній площинах для повного збігу всіх їх елементів;

поєднання серії цифрових зображень за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення у HDR-зображення;

перетворення HDR-зображення у LDR-зображення із збільшеним динамічним діапазоном.

корегування різкості отриманого зображення.

Недоліком даного способу є те, що він не дозволяє повною мірою відтворювати деталі у темних та світлих ділянках мікропрепарату тому, що власне динамічний діапазон мікропрепарату є невеликим, що зумовлено рівномірною інтенсивністю його освітлення.

Ознаками, спільними з рішенням, що заявляється, є:

виконання за допомогою цифрової фотокамери, приєднаної до біологічного мікроскопа, серії зображень мікропрепарату;

зменшення цифрового шуму на зображеннях;

вирівнювання зображень у горизонтальній та вертикальній площинах для повного збігу всіх їх елементів;

поєднання серії цифрових зображень у HDR-зображення;

перетворення HDR-зображення у LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном;

корегування різкості отриманого зображення.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб отримання зображення мікропрепарату, який шляхом зміни інтенсивності їх освітлення та виконання серії знімків із наступним їх поєднанням, дозволяє отримувати зображення із збільшеним динамічним діапазоном та доброю відтворюваністю деталей як у темних, так і світлих ділянках мікропрепарату.

Суттєвими ознаками способу є:

встановлення у цифровій фотокамері, поєднаної із мікроскопом, балансу білого кольору за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату;

налаштування часу експозиції, діафрагмового числа, чутливості матриці фотокамери відповідно до об'єкту зйомки та інтенсивності освітлення мікропрепарату;

виконання за допомогою цифрової фотокамери, приєднаної до біологічного мікроскопа, зображення мікропрепарату при максимально відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа або при його максимальному наближенні до предметного скла;

виконання наступних знімків із використанням попередньо обраних налаштувань, із поступовою зміною діаметра ірисової діафрагми конденсора мікроскопа, або зміною його відстані до предметного скла, з візуальним контролем інтенсивності освітлення за розташуванням гістограми зображення на моніторі цифрової фотокамери;

зменшення цифрового шуму на зображеннях;

вирівнювання зображень у горизонтальній та вертикальній площинах для повного збігу всіх їх елементів;

поєднання серії зображень у HDR-зображення;

перетворення HDR-зображення у LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном;

корегування різкості отриманого зображення. Відмінними від прототипу ознаками способу є:

встановлення у цифровій фотокамері, поєднаної із мікроскопом, балансу білого кольору за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату;

виконання за допомогою цифрової фотокамери, приєднаної до біологічного мікроскопа, зображення мікропрепарату при максимально відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа або при його максимальному наближенні до предметного скла;

виконання наступних знімків із поступовою зміною діаметра ірисової діафрагми конденсора мікроскопа, або зміною його відстані до предметного скла, з контролем інтенсивності освітлення зображення.

Спосіб здійснюють так. Розміщують мікропрепарат на предметному столі мікроскопа, вибирають об'єктив відповідно до бажаного ступеня збільшення. Вмикають цифрову фотокамеру і у ручному режимі встановлюють час експозиції, діафрагмове число, чутливість матриці фотокамери, якість фотознімка та інші параметри. Після цього фокусують фотокамеру і встановлюють баланс білого кольору, за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату. Виконують перше зображення при максимально відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа або при його максимальному наближенні до предметного скла. Далі, поступово змінюючи діаметр ірисової діафрагми конденсора, або змінюючи положення конденсора у вертикальній площині відносно предметного скла, отримують наступні знімки без змін попередньо вибраних налаштувань фотокамери; контроль інтенсивності освітлення здійснюють за "живою" гістограмою, що відтворюється на моніторі цифрової фотокамери.

Зменшують цифровий шум на зображеннях та вирівнюють їх у горизонтальній та вертикальній площинах до повної відповідності усіх їх елементів.

Якщо програмне забезпечення не має функції автоматичного розрахунку експозиційного числа, то його визначають у ручному режимі. Для цього на отриманих зображеннях за допомогою растрового графічного редактора визначають середнє значення інтенсивності яскравості зображень мікропрепаратів за їх гістограмою та за цими даними розраховують експозиційне число за формулою:

$$EV = I_1 / I_n \quad (1)$$

EV - експозиційне число, ум. од.;

I_1 - середнє значення інтенсивності першого зображення, ум. од.;

I_n - середнє значення інтенсивності кожного наступного зображення, ум. од.;

n - номер зображення.

За допомогою прикладної програми для створення HDR-зображення, здійснюють об'єднання знімків; якщо програма не має режиму автоматичного визначення значення експозиційного числа, використовують значення, що розраховані за формулою 1. До отриманого HDR-зображення застосовують один або декілька операторів підсумовування або тональної компресії, перетворюючи його у такий спосіб у LDR-зображення із збільшеним динамічним діапазоном, за потреби збільшують різкість зображення та зберігають його для подальшого

аналізу або друку. Збільшення динамічного діапазону з використанням запропонованого способу, на відміну від способів еквалізації або нормалізації гістограми, не погіршує загальної якості зображення, тому може забезпечити результати більш якісного автоматизованого аналізу зображення.

5 Приклад конкретного виконання 1

Порівнювали показники зображень, отриманих способом, що пропонується, та стандартним способом автоматичної еквалізації гістограми. Цифрові фотознімки мікропрепарату тканини двустулкового молюска дрейсени (*Dreissena polymorpha*), 6 мкм завтовшки, забарвленої гематоксилін-еозином, робили за допомогою біологічного мікроскопа Мікромед XS-5520 та цифрової фотокамери (ЦФК) Canon PowerShot A540. Загальне збільшення мікроскопа становило $\times 100$ (об'єктив $\times 10$, окуляр $\times 10$).

Налаштування ЦФК були такими - чутливість 80 одиниць ISO, діафрагмове число (відносний отвір об'єктиву) $f=5,5$, ручне фокусування на нескінченність (∞), баланс білого - встановлений за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату, витримка затвору 1,5 с, якість зображення - найкраща (Superfine).

Не змінюючи налаштувань ЦФК, виконували серію із трьох знімків - при повністю відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа (зображення № 1), при закритій наполовину (зображення № 2), та при повністю закритій діафрагмі (зображення № 3), які наведено на фіг. 1 (A1-A3) відповідно. На зображеннях зменшували шум, та за допомогою растрового графічного редактора вирівнювали їх у горизонтальній та вертикальній площинах до повної відповідності усіх їх елементів.

Виконували копії трьох оригінальних знімків, на яких, з метою збільшення контрасту, здійснювали автоматичну еквалізацію гістограми. Результати наведено фіг. 1 (Б1-Б3). Оригінальні зображення поєднували за допомогою програми FDRTools Basic у HDR-зображення, до якого застосовували оператор тональної компресії, перетворюючи у такий спосіб його у LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном (фіг. 1, В-1).

Порівняння показників контрасту еквалізованих зображень мікропрепарату, та зображення отриманого способом, що пропонується, виконували із використанням кількісного показника EBCM (edge based contrast measure) [Beghdadi A. Contrast enhancement technique based on local detection of edges / A. Beghdadi, A. L. Negrate // Comput. Vis. Graph. Image Process. - 1989. - V. 46, № 2. - P. 162-174].

Оцінку зображень, попередньо конвертованих у формат TIFF із глибиною кольору 8 біт (256 градацій сірого), здійснювали із використанням пакета GNU OCTAVE, версія 4.2.1. Було встановлено, що контраст зображення, отриманого за способом, що пропонується, був більшим за контраст еквалізованого зображення № 1 на 32 %, зображення № 2 - на 57 % і зображення № 3 - у 2,34 рази. При візуальній оцінці отриманого зображення добре деталізовані як світлі ділянки (цитоплазма клітин) так і темні (ядра клітин та секреторні гранули).

Отже, спосіб, що пропонується, дозволяє отримати зображення із збільшеним динамічним діапазоном, якість якого є кращою, ніж при використанні методу еквалізації гістограми.

Далі, порівнювали цифрові зображення отримані способом, що пропонується, та способом, описаним у прототипі. Цифрові фотознімки мікропрепарату тканини двустулкового молюска дрейсени (*Dreissena polymorpha*), 6 мкм завтовшки, забарвленої гематоксилін-еозином робили використовуючи обладнання, вказане вище. Загальне збільшення мікроскопа становило $\times 400$ (об'єктив $\times 40$, окуляр $\times 10$).

Спочатку виконували 3 знімки (серія 1) за способом запропонованим J. Piper [Piper J. Image processing for the optimization of dynamic range and ultra-high contrast amplification in photomicrography / J. Piper // Modern Research and Educational Topics in Microscopy.-2010. - V. 3. - P. 1436-1444]. Настроювали освітлення мікроскопа та виконували три знімки із витримкою 2 с, 1с, та $\frac{1}{2}$; крок експозиції складав 1 одиницю.

Після цього виконували ще 3 знімки (серія 2) при незмінному часі експозиції, який дорівнював 2 с: перший знімок при повністю відкритій діафрагмі конденсора, другий - при відкритій наполовину, і третій знімок - при максимально закритій діафрагмі. Ступінь діафрагмування контролювали за гістограмою на моніторі ЦФК.

На знімках зменшували цифровий шум, вирівнювали їх у горизонтальній та вертикальній площинах до повної відповідності усіх їх елементів, визначали експозиційні числа, поєднували цифрові зображення за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення для HDR-фотографії та за допомогою тональної компресії отримували LDR-зображення зі збільшеним динамічним діапазоном. Після цього збільшували різкість зображень та переводили їх з кольорової моделі RGB у 8 бітовий формат із 256 градаціями сірого для подальшого

оцінювання та порівняння. Усі процедури та параметри обробки для двох серій знімків були повністю ідентичними.

Оцінку локального контрасту отриманих зображень здійснювали із використанням функції `contrast`, а оцінку їх різкості - із використанням функції `estimate_sharpness_test` за допомогою пакету GNU OCTAVE.

Було встановлено, що показник локального контрасту зображення, отриманого способом, що пропонується, є більшим на 19 % (про що свідчать гістограми зображень, наведені на фіг. 2, А-5 та Б-5), а показник різкості зображення - на 25 % більшим, ніж у зображення за способом прототипу. Це може бути пояснено тим, що у оптичному мікроскопі функція конденсора не обмежується лише забезпеченням рівномірного освітлення поля зору, а й також контролює кут, під яким світло потрапляє в об'єктив, що, у свою чергу, впливає на такі показники як різкість, роздільна здатність та глибина різко зображуваного простору [The Impact of the Condenser on Cytogenetic Image Quality in Digital Microscope System / L. Ren, Z. Li, Y. Li [et al.] // Analytical Cellular Pathology. - 2013. - V. 36, № 1-2. P. 45-59]. Зазвичай зображення, отримане при максимальній закритій діафрагмі конденсора, найбільш різке та деталізоване, але є занадто темним; поєднання зображень, отриманих при різних значеннях відносного отвору діафрагми конденсора мікроскопа, дозволяє вирішити цю проблему.

Отже, використання запропонованого способу дозволяє отримувати зображення із збільшеним динамічним діапазоном та більш високим ступенем деталізації, ніж інші відомі способи, що є важливим як для візуальної експертної оцінки, так і автоматизованого аналізу зображення. Більш того, реалізація даного способу не залежить від особливостей суб'єктивного сприйняття контрасту і може бути повністю автоматизованою.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб отримання зображення мікропрепарату, який включає налаштування часу експозиції, діафрагмового числа, чутливості матриці фотокамери залежно від об'єкта зйомки та інтенсивності освітлення мікропрепарату; виконання за допомогою цифрової фотокамери, приєднаної до біологічного мікроскопа, серії його зображень; зменшення цифрового шуму на зображеннях; вирівнювання зображень у горизонтальній та вертикальній площинах для повного збігу всіх їх елементів; поєднання серії цифрових зображень за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення у HDR-зображення; перетворення HDR-зображення у LDR-зображення із збільшеним динамічним діапазоном та корегування різкості отриманого зображення, який **відрізняється** тим, що баланс білого кольору у цифровій фотокамері встановлюють за зразком ділянки предметного скла, вільної від мікропрепарату; виконують зображення мікропрепарату при максимальній відкритій ірисовій діафрагмі конденсора мікроскопа або при його максимальному наближенні до предметного скла, а наступні знімки виконують із зміною діаметра діафрагми конденсора мікроскопа або зміною його відстані до предметного скла.

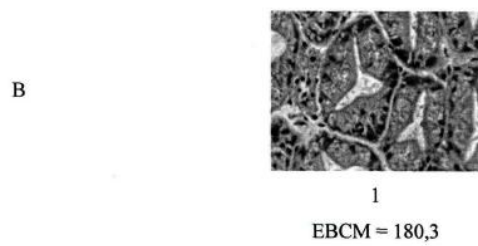
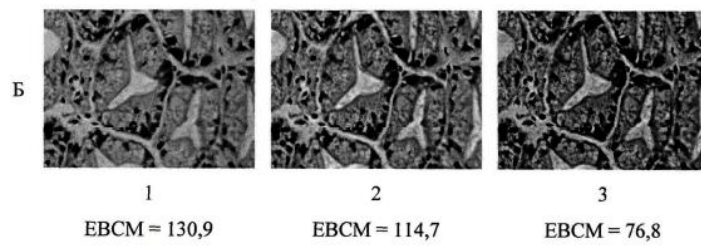
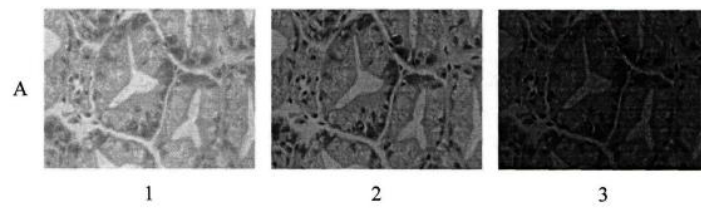
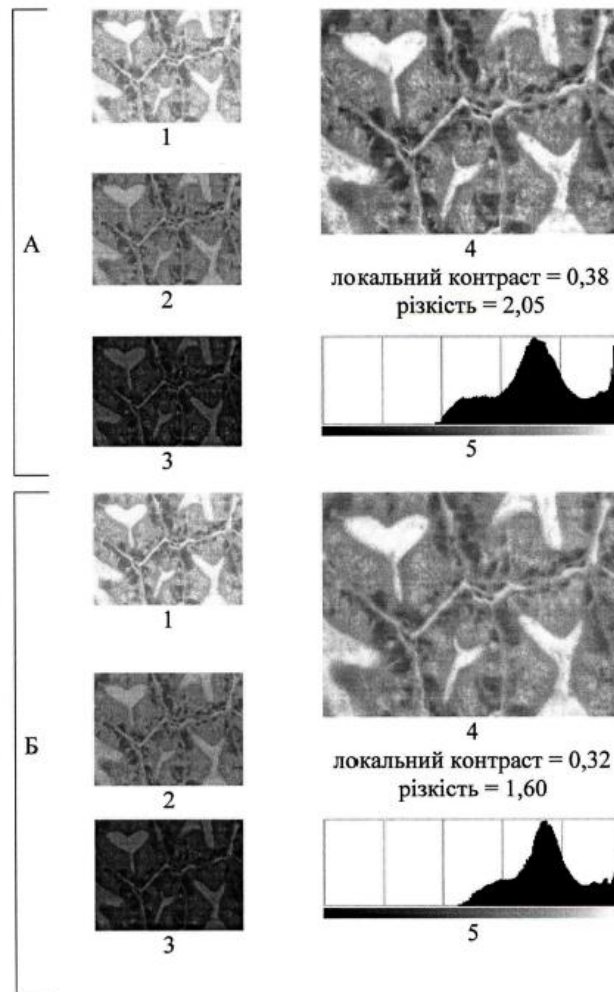


Fig. 1



Фіг. 2.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601