

Das optimale Bild

Generell:

- **Je besser die Bildqualität, desto akkurater ist das Ergebnis der automatischen Bildanalyse.**
- **Je standardisierter die Bildaufnahme, desto besser ist die Automatisierbarkeit der Bildanalyse.**
- Das Bildanalyse-System S.CORE führt die Erkennung von Bildobjekten prinzipiell in der gleichen Art und Weise durch wie der Mensch. Generell gilt daher: **Stellen Sie die Bildqualität so ein, dass die Objekte des Interesses auch für Ihre Augen am Besten sichtbar werden.**

Kontrastierungsverfahren

In der Mikroskopie stehen verschiedene Kontrastierungsverfahren zur Darstellung der Objekte des Interesses zur Verfügung (z. B. Phasenkontrast, Differential Interferenz Kontrast (DIC), Hellfeld, Dunkelfeld, Fluoreszenz). Auch wenn einige dieser Verfahren ähnliche visuelle Eindrücke vermitteln, so ist zur Durchführung der automatischen Bildanalyse unbedingt auf eine **einheitliche Wahl des Kontrastierungsverfahrens** bei der Aufnahme der zu analysierenden Bildserie zu achten.

Vergrößerung

Die Aufnahme von zu vergleichenden Bildern muss mit der **gleichen Vergrößerung** erfolgen. Dieses ist bei der Wahl des verwendeten Objektivs zu beachten. Darüber hinaus besitzen viele Systeme eine zusätzliche Zoom-Funktion. Falls diese vorhanden ist, so ist auch hier auf eine konstante Einstellung zu achten. In der Regel empfiehlt sich, die Zoom-Funktion auszuschalten oder den Zoom-Faktor auf 100% einzustellen.

Schärfe

Nur bei gut justierten Mikroskopen und exaktem Ausgleich von Sehschwächen (z. B. durch Korrektur des Okulars) sind die Motive gleichzeitig im Okular und in der Kamera bzw. auf dem Monitor scharf abgebildet. Stellen Sie daher im Zweifel das Bild immer **anhand des Monitorbildes** scharf. Oftmals ist hierzu eine Vergrößerung (Zoom) des Bildes hilfreich.

Beleuchtungsintensität

Wenn möglich, so ist die Einstellung der Spannung der Lichtquelle in einer Bildserie konstant zu halten, da sich durch Änderung der Lichtquellenspannung die Farbwiedergabe verändert. Viele Mikroskope besitzen eine einfache Möglichkeit (z. B. durch Betätigung eines Druckschalters), die Halogenlampe auf eine definierte Spannung mit einer Farbtemperatur von **3200 K** einzustellen. Alternativ kann die Position des Drehrads zur Intensitätsregulation notiert werden.

Weißabgleich

Mit dem Weißabgleich wird bei Farbkameras die Farbwiedergabe der Digitalkamera an die Beleuchtungsverhältnisse angepasst. Es empfiehlt sich, das Areal, an dem der Weißabgleich durchgeführt werden soll, **manuell** auszuwählen. Hierbei sollte ein Areal gewählt werden, das entweder weiß oder durchsichtig (z. B. freie Stelle eines Objektträgers) ist.

Belichtungszeit

Neben der Beleuchtungsintensität hat die Belichtungszeit der Kamera entscheidenden Einfluss auf die Helligkeit des aufzunehmenden Bildes. Digitale Kameras besitzen in der Regel eine Funktion zur automatischen Belichtung. Die Berechnung der Belichtungszeit erfolgt hierbei auf Grundlage der Helligkeitsverteilung im Bild und ist damit abhängig vom jeweiligen Bildmotiv. Um standardisierte Bedingungen zu schaffen, ist daher die Ausschaltung der automatischen Belichtungsfunktion und die manuelle Einstellung einer **definierten Belichtungszeit** zu bevorzugen. Dieses ist insbesondere für die Quantifizierung von Farbeintensitäten essentiell. Sollte auf Grund des Auftretens von Überbelichtungen eine Reduzierung der Beleuchtungsintensität notwendig sein, so ist statt einer Verminderung der Beleuchtungsquellen-Spannung eine Reduzierung der Lichtintensität durch Einschwenken von **Graufiltern** vorzuziehen.

Farbmodell:

Bei farbigen Motiven hat sich die Speicherung als **RGB-Bild** bewährt. Wenn die Objektinformation im Bild lediglich durch Grauabstufungen gegeben ist (z.B. Phasenkontrastaufnahmen von Zellkulturen), so sollte wegen der deutlich geringeren Dateigröße das Bild als **Graustufenbild (Schwarz/Weiß-Bild)** gespeichert werden.

Bildgröße / Auflösung:

Die Erfahrungen haben gezeigt, dass bei Einzelbildern eine Bildgröße von **1,3 Mio. bis 3 Mio.** Pixel in den meisten Fällen vollkommen ausreichend für eine hochwertige automatische Bildanalyse ist. Größere Pixelzahlen führen zumeist nur zu unnötig großen Dateien, ohne dass die Darstellung der zu erkennenden Objekte besser wird. Wenn möglich, so sollte daher die Bildgröße auf einen Bereich zwischen 1,3 Mio und 3 Mio Pixel eingestellt werden.

Format:

S.CORE nutzt zur Analyse Bildinformationen, die sich z. T. auf Einzel-Pixel-Niveau befinden und für das menschliche Auge kaum wahrnehmbar sind. Bei der Aufnahme des zu analysierenden Bildes sind daher Formate zu vermeiden, die zu einem Verlust oder Veränderung von Information auf Pixel-Ebene führen. Dieses ist potentiell bei komprimierten Bildformaten wie z. B. JPG oder GIF der Fall. Es sind daher immer nicht-komprimierte Bildformate wie z.B. **TIFF oder BMP** zu bevorzugen.

Wichtig: Es ist darauf zu achten, dass die Bilder schon bei der Aufnahme in einem nicht-komprimierenden Bildformat gespeichert werden. Bei nachträglicher Umformatierung eines zuvor komprimierten Bildes in ein nicht-komprimiertes Bildformat bleibt der Informationsverlust durch die Kompression erhalten.

Kontakt:

S.CO LifeScience GmbH
Boltzmannstr.11a
85748 Garching b. München (Germany)
Fon +49 (0) 89 1214023 40
Fax +49 (0) 89 1214023 44
info@sco-lifescience.com
www.sco-lifescience.com