

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
4. Februar 2016 (04.02.2016)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2016/015984 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:
G02B 21/36 (2006.01) *G06T 5/50* (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2015/065945
- (22) Internationales Anmeldedatum:
13. Juli 2015 (13.07.2015)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2014 215 095.7 31. Juli 2014 (31.07.2014) DE
- (71) Anmelder: **CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH**
[DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (72) Erfinder: **MILDE, Thomas**; Dorfstr. 5 B, 07616 Nausnitz (DE). **FUNCK, Max**; Döllstädt Str. 9, 99423 Weimar (DE).
- (74) Anwalt: **MÜLLER, Silke**; Carl Zeiss AG, Patentabteilung, Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,

DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)*

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

(54) **Title:** METHOD FOR CORRECTING ILLUMINATION-DEPENDENT ABERRATIONS IN A MODULAR DIGITAL MICROSCOPE, DIGITAL MICROSCOPE AND DATA PROCESSING PROGRAM

(54) **Bezeichnung :** VERFAHREN ZUR KORREKTUR VON BELEUCHTUNGSBEDINGTEN ABBILDUNGSFEHLERN IN EINEM MODULAREN DIGITALMIKROSKOP, DIGITALMIKROSKOP UND DATENVERARBEITUNGSPROGRAMM

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for correcting illumination-dependent aberrations in a modular digital microscope comprising a coaxial bright field illumination apparatus, a motor-driven zoom apparatus, an objective, a digital image acquisition unit and an image processing unit. The method according to the invention is based on the use of calibration data, which are preferably stored in the image processing unit as a calibration data record. The calibration data record is established for each combination of objective and zoom and stored in a data memory. The method is integrated into the image processing unit for live-correction or available as software for image post-processing of microscope images. The invention further relates to a digital microscope.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Korrektur von beleuchtungsbedingten Abbildungsfehlern in einem modularen Digitalmikroskop mit einer koaxialen Hellfeld-Beleuchtungseinrichtung, einer motorisierten Zoomeinrichtung, einem Objektiv, einer digitalen Bilderfassungseinheit und einer Bildverarbeitungseinheit. Das erfindungsgemäße Verfahren beruht auf der Verwendung von Kalibrationsdaten, welche vorzugsweise in der Bildverarbeitungseinheit als Kalibrationsdatensatz hinterlegt sind. Der Kalibrationsdatensatz wird für jede Kombination von Objektiv und Zoom ermittelt und in einem Datenspeicher abgelegt. Das Verfahren ist der Bildverarbeitungseinheit zur Live-Korrektur integriert oder als Software zur Bildnachbearbeitung von Mikroskopbildern verfügbar. Die Erfindung betrifft auch ein Digitalmikroskop.



WO 2016/015984 A1

Verfahren zur Korrektur von beleuchtungsbedingten
Abbildungsfehlern in einem modularen Digitalmikroskop,
Digitalmikroskop und Datenverarbeitungsprogramm.

- 5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Korrektur von
beleuchtungsbedingten Abbildungsfehlern in einem modularen
Digitalmikroskop, welches eine motorisierte Zoomeinrichtung
und ein auswechselbares Objektiv umfasst. Weiterhin betrifft
die Erfindung eine Digitalmikroskop und ein
10 Datenverarbeitungsprogramm zur Ausführung des Verfahrens.

In der Digitalmikroskopie können beleuchtungsbedingte
systematische Abbildungsfehler auftreten, welche insbesondere
bei der Verwendung von Wechselobjektiven und motorisierten
15 Zoomsystemen von Gerät zu Gerät und je nach aktueller
Zoomeinstellung unterschiedlich stark ausgeprägt sind.

Solche beleuchtungsbedingten systematischen Abbildungsfehler
können beispielsweise Reflexe bei einer koaxialen
20 Auflichtbeleuchtung sein, die insbesondere bei Objektiven mit
vergleichsweise großer Brennweite problematisch sind bzw. die
Benutzung von koaxialem Auflicht unmöglich machen.

Da in der Mikroskopie die Beleuchtungsarten häufig miteinander
25 kombiniert werden, können diese Abbildungsfehler durchaus auch
in verschiedenen Ausprägungen kombiniert auftreten.

Verschiedene Verfahren zur Bildkorrektur in optischen Systemen
sind insbesondere aus der Digitalkameratechnik bekannt. Bei
30 Foto Objektiven beispielsweise wird Vignettierung als
Korrektionsmittel für Bildfehler (Koma) eingesetzt.

Es gibt weiterhin Ansätze zur digitalen Korrektur von
Mehrfachreflexen in Fotoobjektiven. Um Artefakte bei der

Bildaufnahme zu korrigieren ist das Verfahren des Dunkelbildabzuges gebräuchlich.

Aus der US 2002/0041383 A1 ist ein Bildaufnahmesystem aus dem Anwendungsbereich der „machine vision“ bekannt. Bei diesem System sollen alle geometrischen Verzeichnungen von Kamera, Objektiv, Beleuchtung und Computersystem gemessen und digital korrigiert werden, um ein verzeichnungsfreies digitales Bild in der korrekten Vergrößerung zu berechnen. Dabei werden die Bilder korrigiert und alle auf dieselbe Vergrößerung skaliert. Es erfolgt eine simultane Korrektur verschiedener Abbildungsfehler. Mit einer speziellen geometrischen und/oder Beleuchtungs-Kalibrationsmaske erfolgt eine Systemkalibration, zu welcher zwei Kameras erforderlich sind. Das beschriebene Verfahren ist äußerst aufwendig.

Bei der Verwendung einer koaxialen Auflichtbeleuchtung beim Mikroskop wird mittels eines Strahlteilers Licht in den Beobachtungsstrahlengang eingekoppelt. Bevor das Licht auf das Objekt trifft, tritt es durch mindestens ein optisch wirksames Element der Beobachtungsoptik. An der Grenzfläche solch eines Elementes, insbesondere in der Nähe der optischen Achse werden gewisse Teile des Lichtes reflektiert und mischen sich mit dem Nutzlicht, welches vom Objekt durch die Beobachtungsoptik propagiert. Dieses reflektierte Licht bildet den so genannten Auflicht-Reflex.

In modularen Zoomsystemen können bei bestimmten Objektiven solche Auflicht-Reflexe auftreten, die sich in ihrer Form, Farbe und Intensität beim zoomen und auch beim Wechsel zu einem anderen Objektiv gleicher Bauart verändern.

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zur Korrektur von beleuchtungsbedingten Abbildungsfehlern,

insbesondere zur Korrektur eines durch koaxiales Auflicht verursachten Auflicht-Reflexes, in einem modular aufgebauten Digitalmikroskop mit motorisiertem Zoomsystem und Wechselobjektiv, sowie ein Digitalmikroskop und ein
5 Datenverarbeitungsprogramm zur Durchführung des Verfahrens bereitzustellen.

Die Lösung der Aufgabenstellung gelingt durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 1, durch ein Digitalmikroskop
10 mit den Merkmalen des Anspruch 9 und durch ein Datenverarbeitungsprogramm mit den Merkmalen des Anspruchs 10.

Ein Digitalmikroskop, in dem das erfindungsgemäße Verfahren angewendet werden kann umfasst ein vorzugsweise wechselbares
15 Objektiv, ein vorzugsweise motorisiertes Zoomsystem, eine koaxiale Auflicht-Beleuchtungsvorrichtung, eine digitale Bilderfassungseinheit, eine Bildverarbeitungseinheit und eine Steuereinheit. In der Bildverarbeitungseinheit läuft das erfindungsgemäße Korrekturverfahren ab, indem es vorzugsweise
20 in einen Controller (FPGA) implementiert ist.

Das erfindungsgemäße Verfahren beruht auf der Verwendung von Kalibrationsdaten, welche vorzugsweise in der Bildverarbeitungseinheit als Kalibrationsdatensatz hinterlegt
25 sind.

Der Kalibrationsdatensatz wird für jede Kombination von Objektiv und Zoom ermittelt und in einem Datenspeicher abgelegt. Da die Objektive eine elektronische Schnittstelle
30 aufweisen, kann die Steuereinheit das jeweils verwendete Objektiv erkennen und den passenden Kalibrationsdatensatz auswählen. Liegt für eine bestimmte Konfiguration noch kein Kalibrationsdatensatz vor, so führt die Steuereinheit einen Kalibrationsvorgang durch, welcher folgendermaßen abläuft:

Es wird das Auflicht auf einen bestimmten Wert der möglichen Bestromung (vorzugsweise 40%) eingestellt. Der digitale Steuer-Wert dazu wird abgespeichert. Es wird das optische
5 Gerät so positioniert, dass keinerlei Objekte im Fokus der Abbildung liegen (maximale Defokussierung). Eine maximale Defokussierung kann auch erreicht werden, indem eine matte möglichst nicht reflektierend beschichtete Kalibrationskappe auf das Objektiv aufgesetzt wird. Auch ein
10 Objektivschutzdeckel könnte bei entsprechend gestalteter Innenfläche als Kalibrationskappe verwendet werden.

Auf dem Sensor entsteht nun ein Bild des Auflicht-Reflexes. Möglicherweise kann es erforderlich sein, den Raum um das
15 optische Gerät herum geeignet abzdunkeln.

Nun werden n spezifizierte Zoompositionen nacheinander angefahren, wobei der minimale und maximale Zoom als Zoompositionen jedenfalls eingeschlossen sein müssen. Das
20 System bestimmt nun vorzugsweise automatisch Blende und Integrationszeit und es wird je Zoomposition ein Bild des jeweiligen Auflichtreflexes aufgenommen und anschließend gemeinsam mit der Integrationszeit und der Zoomstellung abgespeichert.

25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das Bild jeweils in eine geringe Auflösung skaliert, wie später noch anhand eines Ausführungsbeispiels erläutert wird. Dazu wird es vorzugsweise
30 vorher Tiefpass gefiltert. Vorteilhafterweise können nun zum Einen die Kalibrationsbilder mit geringem Speicherbedarf abgespeichert werden, weiterhin ist dadurch das live-Korrekturverfahren schneller ausführbar.

Das erfindungsgemäße Korrekturverfahren kann vorteilhafterweise im Live-Bild-Modus angewendet werden und umfasst nachfolgend beschriebene Schritte.

- 5 Zunächst wird überprüft, ob für die vorliegende Kombination von Modulen (Zoom und Objektiv) ein Kalibrationsdatensatz in einem Speicher der Steuereinheit oder der Bildverarbeitungseinheit vorliegt. Falls nicht, wird die zuvor beschriebene Kalibration durchgeführt.

10

Für ein an der Bilderfassungseinheit eingezogenes Bild wird die aktuelle Zoomposition ermittelt.

- 15 Darüber hinaus werden der aktuelle Bestromungswert der Auflichtbeleuchtung und die aktuelle Integrationszeit der Bilderfassungseinheit ermittelt. Aus diesen Daten wird ein Korrekturfaktor berechnet, der den Kalibrationszustand und den aktuellen Zustand in Beziehung setzt.

- 20 Ein Reflexbild wird in Abhängigkeit des Zoomfaktors mittels aus den der Zoomposition benachbarten Kalibrationsbildern berechnet. Dies kann beispielsweise mit konvexer Linearkombination erfolgen.

- 25 Das Reflexbild wird nun mit dem Korrekturfaktor zur einem angepassten Reflexbild verrechnet, vorzugsweise durch Multiplikation.

- 30 Anschließend wird das angepasste Reflexbild vom aktuell erfassten Bild subtrahiert, und zwar an den Pixeln, die nicht übersteuert sind.

Anschließend erfolgt ein Multiplizieren des Differenzbildes mit einem Faktor, um die ursprüngliche Helligkeit wieder herzustellen bzw. dieser anzunähern.

- 5 Für den Fall, dass die Kalibrationsbilder in reduzierter Auflösung vorliegen, liefert eine bilineare Interpolation das zu benutzende Reflexbild an allen Pixeln in voller Auflösung für den gewichteten Bildabzug.
- 10 Einige vorteilhafte Aspekte und Ausführungsvarianten des erfindungsgemäßen Verfahrens werden nachfolgend anhand einer besonders bevorzugten Ausführungsform näher erläutert.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird in dieser Ausführungsform
15 in einem Digitalmikroskop verwendet, das eine optische Einheit mit einem Objektiv, einem motorischen Zoomsystem, einer Bilderfassungseinheit mit einem Bildsensor und einer Bildverarbeitungseinheit umfasst. Die optische Einheit umfasst eine koaxiale Hellfeld-Beleuchtungseinrichtung und ist in
20 einem Stativ motorisch höhenverstellbar angeordnet. Das Digitalmikroskop umfasst weiterhin einen in einer horizontalen Ebene und vertikal verschiebbaren Objektisch und eine Steuereinheit. Das Digitalmikroskop verfügt weiterhin über eine Benutzerschnittstelle, über die vorzugsweise ein PC
25 verbunden wird.

Zunächst soll eine Variante zur Erzeugung eines Kalibrationsdatensatzes erläutert werden.

- 30 In der Steuereinheit ist eine Kalibrationsroutine hinterlegt, in der die Schritte des Kalibriervorganges implementiert sind. Zunächst wird überprüft, ob das Objektiv neu im Mikroskop ist. Dazu wird ein Speicher ,ROS', in dem die Seriennummern der letzten zehn verwendeten Objektive gespeichert sind auf

Vorhandensein des aktuellen Objektives überprüft. Der Speicher kann beispielsweise eine SD-Card oder ein anderer Wechselspeicher oder auch ein fester Systemspeicher sein. Ist das Objektiv bereits bekannt, kann direkt in den Operationsmodus gewechselt werden, da in diesem Fall Kalibrationsdatensätze bereits vorliegen.

Es wird nun von der Steuereinheit eine Nachricht, wie z.B. „Bitte Warten – Kalibrierung Reflexkorrektur“ an die Benutzerschnittstelle gesendet und vorzugsweise an einem Bildschirm dargestellt.

Der Antrieb der optischen Einheit des Mikroskops wird in die höchste, der Objektstisch in die niedrigste Position verfahren. Der Zoom wird auf einen minimalen Wert, der ggf. zwischen den Objektivtypen variieren kann, z.B. $\beta=0,5$ eingestellt. Eine eventuell vorhandene Dunkelfeldbeleuchtung wird ausgeschaltet. Die koaxiale Hellfeld-Beleuchtungseinrichtung wird mit einem definierten Bestromungswert (z. B. 40%) eingeschaltet.

Nun werden neun Kalibrationsbilder in verschiedenen Zoompositionen mit konstanter Beleuchtung aufgenommen. Die Zoompositionen umfassen in jedem Fall den kleinst- und größtmöglichen Zoomfaktor, wobei der kleinste Zoomfaktor vom Objektivtyp abhängen kann, und sollten mehr Stützstellen in dem Bereich des komplett sichtbaren Reflexes aufweisen. Dies ist meist in den kleineren Vergrößerungsstufen der Fall, während bei großem Zoomfaktor der Reflex eher als „Nebel-Aufhellung“ erscheint. In der beschriebenen Ausführungsform sind als Zoompositionen 0.5, 0.565, 0.8, 1, 1.4, 1.9, 3, 5. Die Kalibrationsbilder werden mit ihrer jeweiligen Belichtungszeit als Metadatum gespeichert. Die Belichtungszeit wird im Kalibrationsmodus vorzugsweise automatisch ermittelt. Um die Belichtungszeit auch zwischen den

Kalibrationsbelichtungszeiten zur Verfügung zu haben, wird der Verlauf der Belichtungszeiten über den Zoompositionen durch eine Belichtungsformel approximiert. Vorzugsweise ist dies ein Polynom vierten Grades. Damit diese Belichtungsformel an den
5 Zoompositionen exakte Werte liefert, wird der Quotient aus angepasster und tatsächlicher Belichtungszeit ermittelt und die Kalibrationsbilder werden mit dem jeweiligen Quotienten multipliziert. Unter dem Paradigma, dass die Belichtungszeit proportional ist zur Helligkeit, was für HDR-Techniken
10 üblicherweise auch vorausgesetzt wird, ergibt sich dadurch eine exakt interpolierende Formel für die Belichtungszeiten der Kalibrationsbilder.

Um einen besonders schnellen Live-Korrekturmodus zu
15 ermöglichen, werden die Kalibrationsbilder in jedem ihrer Farbkanäle wie nachfolgend beschrieben bearbeitet.

- Anwenden eines Tiefpassfilters z. B. durch Anwendung eines gleitenden 2D-Mittelwertes mit 40x40 Pixeln
- Skalieren des Bildes in ein 19x27 Pixel großen Bildes des
20 Reflexes für jeden Farbkanal
Ausgehend vom Bildzentrum wird einschließlich des Bildzentrums in jede Richtung jedes sechzigste Pixel verwendet.
- Die neun skalierten Kalibrationsbilder, die
25 Kalibrationsbeleuchtungsstärke L_{CBF} und fünf Koeffizienten für den Fit der Belichtungszeiten E_R über die neun Vergrößerungsstufen werden durch einem Polynom vierter Ordnung auf dem Speicher als Kalibrationsdatensatz abgelegt.

30

Anschließend erfolgt eine Meldung an die Benutzerschnittstelle "Kalibrierung fertig".

Im Mikroskopbetrieb kann die Option Live-Reflex-Korrektur ausgewählt werden. Bei Auswahl dieser Option werden bei jedem Bildeinzug die Belichtungszeit E_N , der Bestromungswert einer Hellfeld-Beleuchtung L_{BF} und eine aktuelle Zoomposition
5 ermittelt. Diese Werte können direkt am Mikroskop bestimmt werden, da die Komponenten über elektronische Schnittstellen zur Steuereinheit verfügen.

Nun wird aus dem Kalibrationsdatensatz die konstante
10 Kalibrationsbeleuchtungsstärke L_{CBF} ausgelesen und die korrekte Belichtungszeit E_R für die aktuelle Zoomposition ermittelt. Zur Ermittlung von E_R werden die fünf Koeffizienten des Kalibrationsdatensatzes ausgelesen und das Polynom für die aktuelle Vergrößerung β berechnet.

15 Ist die aktuelle Vergrößerung β keine im Kalibrationsprozess verwendete Vergrößerung, werden die zwei benachbarten Zoomstufen ermittelt und das skalierte Reflexbild durch eine lineare Interpolation der zugehörigen Kalibrationsbilder ima ,
20 imb ermittelt. Für den Fall, dass die aktuelle Vergrößerung β genau eine der Kalibrationszoomstufen trifft, wird das betreffende Kalibrationsbild als zu skalierendes Reflexbild verwendet.

25 Durch bilineare Interpolation wird das Kalibrationsbild auf die Originalgröße, z.B. 1200x1600 Pixel zurückgerechnet: Dies muss nicht für das gesamte Bild erfolgen, sondern kann für jedes Original-Bild-Pixel ‚on-the-fly‘ erfolgen, da die bilineare Interpolation lokal (in der
30 Bildverarbeitungseinheit) erfolgt.

Dieser Umstand kommt der Verarbeitung in einem FPGA (field programmable gate array) mit zeilenweiser Bearbeitung des Live-Pixel-Streams entgegen.

Das auflösungserhöhte Bild wird nun mit den aktuellen und Kalibrationsdaten nach folgender Formel, die den Korrekturfaktor darstellt, skaliert:

$$\frac{E_N * L_{BF}}{E_R * L_{CBF}} * 0,97$$

5

Dabei ist der Wert 0,97 ein beispielhafter Sicherheitsfaktor, der entsprechend der Erfordernisse anpassbar, aber nicht zwingend erforderlich ist.

10 Das so modifizierte Reflexbild wird vom Live-Bild an nicht übersteuerten Pixeln subtrahiert. Auch diese Subtraktion kann pixelweise oder zeilenweise erfolgen.

Anschließend wird der Dynamikumfang gestreckt, wofür

15 verschiedene Stretching-Methoden verwendet werden können, die dem Fachmann bekannt sind.

Das zuvor beschriebene Verfahren ist vorteilhafterweise zur Live-Korrektur in die Hardware der Bildverarbeitungseinheit
20 implementiert, eignet sich aber auch zur Anwendung in einer separaten Software zur Bildnachbearbeitung.

Anhand der Figuren wird nachfolgend die Wirkung des erfindungsgemäßen Korrekturverfahrens dargestellt.

25

Es zeigen:

Fig. 1: ein Mikroskopbild unter koaxialer Hellfeld-
Beleuchtung mit Reflex;

30

Fig. 2: das Mikroskopbild gemäß Fig. 1 bei Verwendung des Korrekturverfahrens;

In der Darstellung des Mikroskopbildes in Fig. 1 ist deutlich ein Reflex der Hellfeld-Beleuchtung zu erkennen, der gemäß Fig. 2 bei der Anwendung der Live-Reflex-Korrektur nicht mehr
5 zu sehen ist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Korrektur von beleuchtungsbedingten
Abbildungsfehlern in einem modularen Digitalmikroskop mit
einer koaxialen Hellfeld-Beleuchtungseinrichtung, einer
5 motorisierten Zoomeinrichtung, einem Objektiv, einer
digitalen Bilderfassungseinheit und einer
Bildverarbeitungseinheit, folgende Schritte umfassend:
 - Laden eines Kalibrationsdatensatzes, der für
verschiedene Zoomwerte β_i Kalibrationsbilder des
10 Abbildungsfehlers und Kalibrationsmetadaten zu jedem
Kalibrationsbild umfasst;
 - Erfassen eines Bildes mit zugehörigen Bild-Metadaten,
die mindestens eine Zoomposition β_a des Zoomsystems
umfassen;
 - 15 - Ermitteln eines Korrekturfaktors unter Verwendung von
Kalibrationsdaten des Kalibrationsdatensatzes und der
Bild-Metadaten
 - Ermitteln eines Reflexbildes aus dem
Kalibrationsdatensatz;
 - 20 - Verrechnen des Reflexbildes mit dem Korrekturfaktor
zu einem korrigierten Reflexbild;
 - Verrechnen des erfassten Bildes mit dem korrigierten
Reflexbild.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, das
25 die Bild-Metadaten weiterhin eine Beleuchtungsstärke
(L_{BF}) der Hellfeld-Beleuchtungseinrichtung und eine
Integrationszeit (E_N) der Bilderfassungseinheit
umfassen.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,
dass das Reflexbild aus mindestens zwei
Kalibrationsbildern durch Interpolation berechnet wird,
welche zur aktuellen Zoomposition β_a benachbarte
5 Zoompositionen β_i als Metadatum aufweisen.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch
gekennzeichnet, dass das Reflexbild mit dem
Korrekturfaktor multipliziert wird.

5. Verfahren nach einem Ansprüche 2 bis 4, dadurch
10 gekennzeichnet, dass der Korrekturfaktor nach folgender
Formel berechnet wird:

$$\frac{E_N * L_{BF}}{E_R * L_{CBF}} * K$$

wobei K ein Sicherheitsfaktor, E_R eine modellierte
Integrationszeit und L_{CBF} ein Stromwert der
Beleuchtungsstärke der Kalibrationseinstellung des
15 Mikroskops ist.

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass
die modellierte Integrationszeit (E_R) durch eine Formel
berechnet wird, die mittels Approximation aus den Bild-
Metadaten und Kalibrationsmetadaten ermittelt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Kalibrationsdatensatz durch folgende Schritte erstellt wird:
- a) Einstellen eines vorbestimmten Wertes der Auflicht-
5 Beleuchtungseinrichtung L_{CBF} ;
 - b) Einstellen einer maximalen Defokussierung;
 - c) Einstellen einer bestimmten Zoomposition β_R ;
 - d) Erfassen eines Bildes als Kalibrationsbild;
 - e) Abspeichern des Kalibrationsbildes mit der zugehörigen
10 Zoomposition β_R und Integrationszeit E_R im Kalibrationsdatensatz.
 - f) Wiederholen der Schritte b) bis e) für verschiedene Zoompositionen β_i einschließlich minimaler und maximaler Zoomposition.
- 15 8. Verfahren nach Anspruch 7, weiterhin folgende Schritte umfassend:
- a) Berechnen von modellierten Integrationszeiten durch Approximieren der verwendeten Integrationszeiten zu den
20 Zoompositionen durch ein Modell, vorzugsweise ein Polynom vierten Grades;
 - b) Ermitteln von Quotienten aus modellierten und verwendeten Integrationszeiten;
 - c) Multiplizieren der Kalibrationsbilder mit den ermittelten Quotienten.
- 25 9. Digitalmikroskop, umfassend ein Objektiv, ein Zoomsystem, eine koaxiale Auflicht-Beleuchtungsvorrichtung, eine digitale Bilderfassungseinheit, eine Bildverarbeitungseinheit und eine Steuereinheit, dadurch gekennzeichnet, dass in der Bildverarbeitungseinheit ein Verfahren nach
30 einem der Ansprüche 1 bis 8 implementiert ist.

10. Datenverarbeitungsprogramm mit Programmcodemitteln zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8.

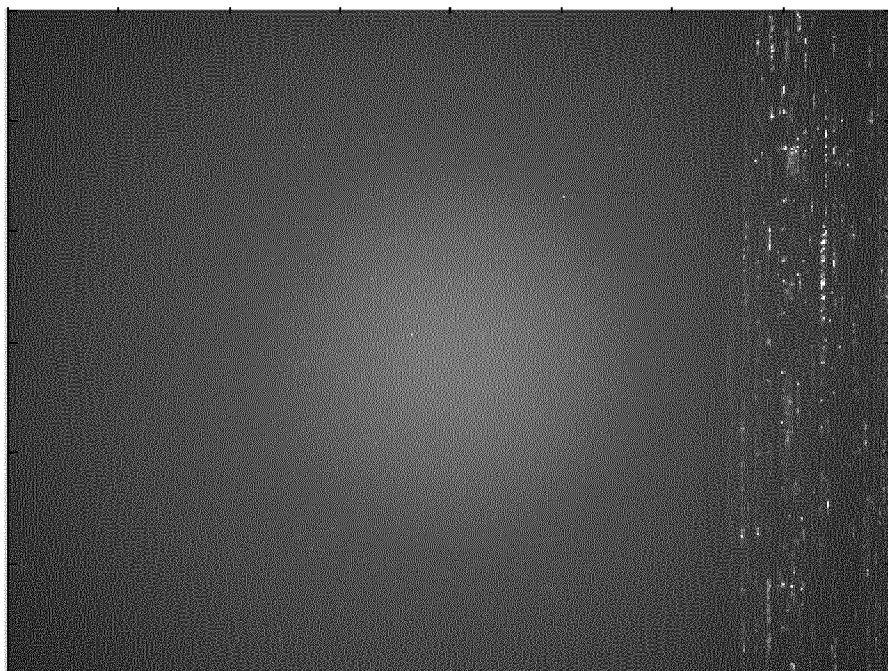


Fig. 1

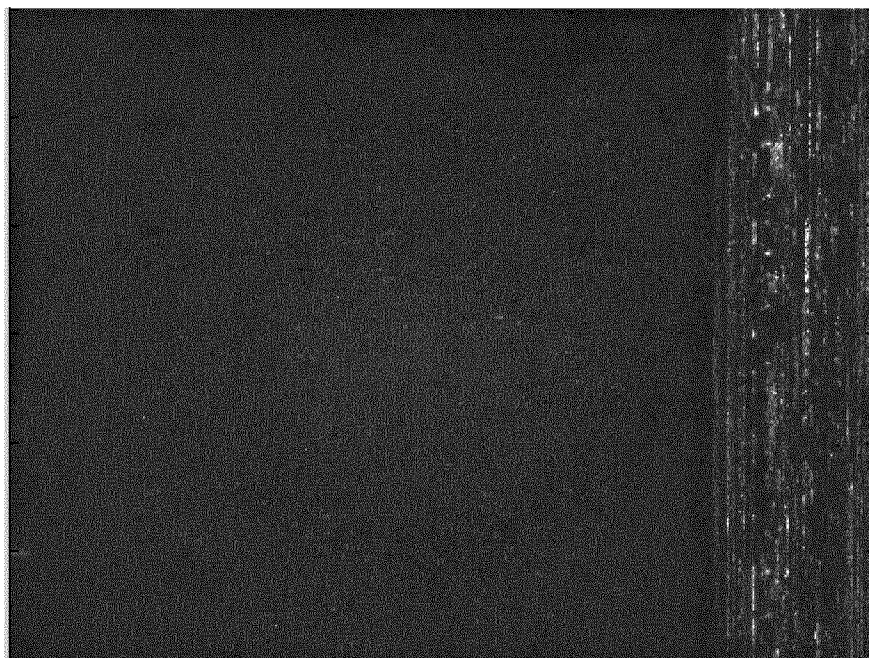


Fig. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/065945

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. G02B21/36 G06T5/50
 ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B G06T

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 101 14 757 A1 (NIPPON KOGAKU KK [JP]) 18 October 2001 (2001-10-18) paragraph [0019] - paragraph [0033]; figures 1-2, 3A-D, 4A-C paragraph [0034] - paragraph [0040]; figures 5A-C paragraph [0041] - paragraph [0043] paragraph [0001] - paragraph [0011] claims 1-5	1-10
A	----- US 2011/142365 A1 (SAKAGAMI JUNICHI [JP] ET AL) 16 June 2011 (2011-06-16) paragraph [0043] - paragraph [0077]; figures 1-8 paragraph [0114] -----	1,2,4,9, 10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 October 2015

Date of mailing of the international search report

09/10/2015

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer

A. Jacobs

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/065945

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 10114757	A1	18-10-2001	DE 10114757 A1	18-10-2001
			JP 2001281554 A	10-10-2001
			US 2001028391 A1	11-10-2001

US 2011142365	A1	16-06-2011	CN 102098410 A	15-06-2011
			JP 2011124948 A	23-06-2011
			US 2011142365 A1	16-06-2011
			US 2013235181 A1	12-09-2013

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/065945

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. G02B21/36 G06T5/50
ADD.

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
G02B G06T

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 101 14 757 A1 (NIPPON KOGAKU KK [JP]) 18. Oktober 2001 (2001-10-18) Absatz [0019] - Absatz [0033]; Abbildungen 1-2, 3A-D, 4A-C Absatz [0034] - Absatz [0040]; Abbildungen 5A-C Absatz [0041] - Absatz [0043] Absatz [0001] - Absatz [0011] Ansprüche 1-5	1-10
A	----- US 2011/142365 A1 (SAKAGAMI JUNICHI [JP] ET AL) 16. Juni 2011 (2011-06-16) Absatz [0043] - Absatz [0077]; Abbildungen 1-8 Absatz [0114] -----	1,2,4,9, 10



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Oktober 2015

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/10/2015

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

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

Bevollmächtigter Bediensteter

A. Jacobs

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/065945

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 10114757 A1	18-10-2001	DE 10114757 A1	18-10-2001
		JP 2001281554 A	10-10-2001
		US 2001028391 A1	11-10-2001

US 2011142365 A1	16-06-2011	CN 102098410 A	15-06-2011
		JP 2011124948 A	23-06-2011
		US 2011142365 A1	16-06-2011
		US 2013235181 A1	12-09-2013
