

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **219105**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **395120**

(22) Data zgłoszenia: **03.06.2011**

(51) Int.Cl.  
**G06M 11/00 (2006.01)**  
**C12Q 1/06 (2006.01)**  
**C12M 1/34 (2006.01)**

---

(54) **Sposób pomiaru liczebności słabo przezroczystych lub nieprzezroczystych  
optycznie obiektów w optycznym układzie odwzorowującym**

---

(43) Zgłoszenie ogłoszono:  
**27.02.2012 BUP 05/12**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:  
**31.03.2015 WUP 03/15**

(73) Uprawniony z patentu:  
**POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:  
**IGOR BUZALEWICZ, Wrocław, PL**  
**HALINA PODBIELSKA, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:  
**rzec. pat. Regina Kozłowska**

---

**PL 219105 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób pomiaru liczebności słabo przezroczystych lub nieprzezroczystych optycznie obiektów w optycznym układzie odwzorowującym, w szczególności przeznaczony do zliczania cząstek lub obiektów biologicznych, mechanicznych o wyodrębnionych kształtach.

Sposób oznaczania liczby bakterii z wykorzystaniem rozkładu Poissona znany jest z polskiego zgłoszenia patentowego nr P.386318. Do analizy wyników uzyskanych podczas identyfikacji bakterii wykorzystuje się metody przednamnażania. Oznaczanie liczby bakterii wykonuje się dodając wyznaczoną wymaganą objętość badanych osadów do  $n$  szeregów próbek zawierających podłoże przednamnażające, zachowuje się procedurę posiewów i inkubacji odpowiednią dla oznaczanych bakterii, a następnie potwierdza się obecność oznaczanych bakterii różnymi znanymi metodami, takimi jak: posiewami na podłożach różnicujących, w testach biochemicznych, technikami molekularnymi, w zależności od rodzaju poszukiwanego organizmu, po czym określa się prawdopodobieństwo wystąpienia wyniku ujemnego, czyli nieobecności bakterii w objętości próbki wprowadzonej do pożywki i na tej podstawie, korzystając z właściwości rozkładu Poissona, oblicza się średnią liczbę bakterii w próbce.

Sposób oznaczania stężenia drobnoustrojów i naczynie do oznaczania stężenia drobnoustrojów znany jest z polskiego opisu patentowego nr PL 156162. Sposób polega na tym, że w naczyniu sporządza się homogeniczną mieszaninę próbki i pożywki, po czym mieszaninę tę zestala się i inkubuje, a po inkubacji liczy się powstałe kolonie. Naczynie ma dno skośne, zakrzywione, schodkowe lub wyposażone w przegrody o różnej wysokości.

Istota sposobu według wynalazku polega na tym, że optycznym układem obrazującym rejestruje się obrazy analogowe zbioru obiektów o nieznannej liczebności, pojedynczego obiektu oraz próbki o znanej liczbie obiektów, a następnie trzy obrazy analogowe przetwarza się na sygnały cyfrowe za pomocą przetwornika analogowo-cyfrowego. Każdy z tych sygnałów zapisuje się w postaci macierzy o wymiarach  $m \times n$  zawierającej dyskretne wartości intensywności  $I(m,n)$  w skali szarości, po czym w pierwszym bloku analizy sygnału przekształca się badane sygnały i odwraca kontrast sygnałów zgodnie z zależnością  $I_2(m,n) = I_{max}(m,n) - I(m,n)$ , gdzie  $I(m,n)$  oznacza wejściowe dyskretne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności, pojedynczego obiektu oraz próbki o znanej liczbie obiektów,  $I_{max}(m,n)$  dyskretne maksymalne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności, pojedynczego obiektu oraz próbki o znanej liczbie obiektów, a  $I_2(m,n)$  dyskretne sygnały wyjściowe zbiorów obiektów o nieznannej liczebności, pojedynczego obiektu oraz próbki o znanej liczbie obiektów. Każdy dyskretny sygnał wyjściowy przekształca się dwuwymiarową transformatą Fouriera zgodnie z algorytmem szybkiej transformaty Fouriera w drugim bloku analizy sygnału, a dla przekształconych sygnałów wyznacza się widma Fouriera za pomocą bloku analizy sygnału zbioru obiektów o nieznannej liczebności, bloku analizy sygnału pojedynczego obiektu oraz bloku analizy sygnału próbki o znanej liczbie obiektów. Następnie uzyskane widma Fouriera normalizuje się, przy czym w pierwszym bloku normalizacji widm Fouriera normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu będącego sygnałem referencyjnym, a w drugim bloku normalizacji widm Fouriera normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego, przy czym w wyniku normalizacji otrzymuje się sygnały modulujące wejściowe widma Fouriera, na podstawie których w pierwszym bloku wyznaczenia składowej stałej sygnału wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu i jednocześnie w drugim bloku wyznaczenia składowej stałej sygnału wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego. W bloku wyznaczenia krzywej kalibracji na podstawie wyznaczonych parametrów tła modulacji określa się krzywą kalibracyjną w postaci zależności wartości tła modulacji od liczebności analizowanych obiektów i w bloku wyjściowym wyznacza się liczbę obiektów.

Sposób według wynalazku stwarza możliwość wyeliminowania konieczności manualnego zliczania obiektów poprzez rejestrację sygnałów pomiarowych w postaci dwuwymiarowych rozkładów intensywności światła w płaszczyźnie badanej próbki i przetworzeniu sygnałów analogowych na cyfrowe. Wykorzystanie odpowiedniego optycznego układu obrazującego mikroskopowego lub kamery CCD, umożliwia elastyczne analizowanie obiektów zarejestrowanych w postaci różnego rozmiaru zdjęć zależnych od zdolności rozdzielczej użytych układów odwzorowujących. Pomiar liczebności słabo przezroczystych lub nieprzezroczystych, odseparowanych obiektów o tym samym kształcie oraz rozmiarach w układzie odwzorowującym opierającym się na przekształceniu sygnału analogowego

w postaci rozkładu intensywności światła w płaszczyźnie próbki na sygnał cyfrowy zawierający dyskretne wartości intensywności światła. Badane obiekty powinny znajdować się w transparentnym ośrodku.

Przedmiot wynalazku objaśniony jest w przykładzie wykonania i na rysunku, który przedstawia schemat blokowy układu do pomiaru liczebności badanych obiektów.

Sposób pomiaru liczebności słabo przezroczystych lub nieprzezroczystych optycznie obiektów w optycznym układzie odwzorowującym, polega na tym, że optycznym układem obrazującym 4 rejestruje się obrazy analogowe zbioru obiektów o nieznannej liczebności 1, pojedynczego obiektu 2 oraz próbki o znanej liczbie obiektów 3. Zarejestrowane trzy obrazy analogowe przetwarza się na sygnały cyfrowe za pomocą przetwornika analogowo-cyfrowego 5, i każdy z tych sygnałów zapisuje się w postaci macierzy o wymiarach  $m \times n$  zawierającej dyskretne wartości intensywności  $I(m,n)$  w skali szarości. Po czym w pierwszym bloku analizy sygnału 6 przekształca się badane sygnały i odwraca kontrast sygnałów zgodnie z zależnością  $I_2(m,n) = I_{\max}(m,n) - I(m,n)$ , gdzie  $I(m,n)$  oznacza wejściowe dyskretne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności 1, pojedynczego obiektu 2 oraz próbki o znanej liczbie obiektów 3,  $I_{\max}(m,n)$  dyskretne maksymalne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności 1, pojedynczego obiektu 2 oraz próbki o znanej liczbie obiektów 3, a  $I_2(m,n)$  dyskretne sygnały wyjściowe zbiorów obiektów o nieznannej liczebności 1, pojedynczego obiektu 2 oraz próbki o znanej liczbie obiektów 3. Każdy dyskretny sygnał wyjściowy przekształca się dwuwymiarową transformatą Fouriera zgodnie z algorytmem szybkiej transformaty Fouriera w drugim bloku analizy sygnału 7, a dla przekształconych sygnałów wyznacza się widma Fouriera za pomocą bloku analizy sygnału zbioru obiektów o nieznannej liczebności 8, bloku analizy sygnału pojedynczego obiektu 9 oraz bloku analizy sygnału próbki o znanej liczbie obiektów 10. Następnie uzyskane widma Fouriera normalizuje się, przy czym w pierwszym bloku normalizacji widm Fouriera 11 normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu będącego sygnałem referencyjnym, a w drugim bloku normalizacji widm Fouriera normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego, przy czym w wyniku normalizacji otrzymuje się sygnały modulujące wejściowe widma Fouriera, na podstawie których w pierwszym bloku wyznaczania składowej stałej sygnału 12 wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu i jednocześnie w drugim bloku wyznaczania składowej stałej sygnału 14 wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego, a w bloku wyznaczania krzywej kalibracji 15 na podstawie wyznaczonych parametrów tła modulacji określa się krzywą kalibracyjną w postaci zależności wartości tła modulacji od liczebności analizowanych obiektów i w bloku wyjściowym 16 wyznacza się liczbę obiektów.

Dla obiektów o niewielkich rozmiarach (średnica  $< 1$  mm) znajdujących się w zawiesinach wodnych do rejestracji należy użyć układu mikroskopowego w układzie transmisyjnym, dla obiektów o znacznych rozmiarach (średnica  $> 1$  mm) należy użyć układu obrazującego w postaci kamery optycznej. Optyczny układ obrazujący 1 jest wykorzystywany do zarejestrowania dwuwymiarowego rozkładu intensywności światła w płaszczyźnie przedmiotowej rozumianego, jako sygnał pomiarowy. Rejestracja dwuwymiarowego rozkładu intensywności światła w płaszczyźnie przedmiotowej za pomocą kamery cyfrowej, jest równoznaczna z przekształceniem sygnału analogowego na sygnał cyfrowy, który zostaje zapisany w postaci macierzy o wymiarach  $m \times n$  zawierającej dyskretne wartości intensywności  $I(m,n)$  od 0 do 266 (skala szarości). Wielkości  $m$  i  $n$  oznaczają liczbę pikseli definiowalną przez rozdzielczość zarejestrowanego dwuwymiarowego rozkładu intensywności światła w płaszczyźnie przedmiotowej - badanej próbki za pomocą kamery cyfrowej.

W celu wyznaczenia krzywej kalibracyjnej przedstawiającej zależność pomiędzy tłem modulacji a liczbą badanych obiektów  $N$ , wyznacza się tło modulacji minimum trzech próbek referencyjnych 4 o znanej liczebności badanych obiektów. Zwiększenie liczby sygnałów referencyjnych, a tym samym wyznaczonych wartości tła modulacji próbek o znanej liczbie obiektów może wpłynąć na zwiększenie dokładności pomiaru. Na podstawie uzyskanych wyników określa się krzywą kalibracji 15, którą przybliża się wielomianem drugiego stopnia w następującej postaci  $N = \alpha_2(WTM)^2 + \alpha_1(WTM) + \alpha_0$ , gdzie  $\alpha_0$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  są współczynnikami wielomianu. W celu bezpośredniego określenia liczby obiektów znajdujących się w badanej próbce, należy wyznaczyć wartości tła modulacji próbek o nieznannej liczbie obiektów i na podstawie równania krzywej kalibracyjnej wyznaczyć liczebność obiektów  $N$  w badanej próbce.

## Zastrzeżenie patentowe

Sposób pomiaru liczebności słabo przezroczystych lub nieprzezroczystych optycznie obiektów w optycznym układzie odwzorowującym, **znamienny tym**, że optycznym układem obrazującym (4) rejestruje się obrazy analogowe zbioru obiektów o nieznannej liczebności (1), pojedynczego obiektu (2) oraz próbki o znanej liczbie obiektów (3), a następnie trzy obrazy analogowe przetwarza się na sygnały cyfrowe za pomocą przetwornika analogowo-cyfrowego (5), i każdy z tych sygnałów zapisuje się w postaci macierzy o wymiarach  $m \times n$  zawierającej dyskretne wartości intensywności  $I(m,n)$  w skali szarości, po czym w pierwszym bloku analizy sygnału (6) przekształca się badane sygnały i odwraca kontrast sygnałów zgodnie z zależnością  $I_2(m,n) = I_{max}(m,n) - I(m,n)$ , gdzie  $I(m,n)$  oznacza wejściowe dyskretne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności (1), pojedynczego obiektu (2) oraz próbki o znanej liczbie obiektów (3),  $I_{max}(m,n)$  dyskretne maksymalne wartości sygnałów  $I(m,n)$  zbiorów obiektów o nieznannej liczebności (1), pojedynczego obiektu (2) oraz próbki o znanej liczbie obiektów (3), a  $I_2(m,n)$  dyskretne sygnały wyjściowe zbiorów obiektów o nieznannej liczebności (1), pojedynczego obiektu (2) oraz próbki o znanej liczbie obiektów (3), a każdy dyskretny sygnał wyjściowy przekształca się dwuwymiarową transformatą Fouriera zgodnie z algorytmem szybkiej transformaty Fouriera w drugim bloku analizy sygnału (7), a dla przekształconych sygnałów wyznacza się widma Fouriera za pomocą bloku analizy sygnału zbioru obiektów o nieznannej liczebności (8), bloku analizy sygnału pojedynczego obiektu (9) oraz bloku analizy sygnału próbki o znanej liczbie obiektów (10), następnie uzyskane widma Fouriera normalizuje się, przy czym w pierwszym bloku normalizacji widm Fouriera (11) normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu będącego sygnałem referencyjnym, a w drugim bloku normalizacji widm Fouriera normuje się widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego, przy czym w wyniku normalizacji otrzymuje się sygnały modulujące wejściowe widma Fouriera na podstawie których w pierwszym bloku wyznaczania składowej stałej sygnału (12) wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o nieznannej liczebności względem widma Fouriera pojedynczego obiektu i jednocześnie w drugim bloku wyznaczania składowej stałej sygnału (14) wyznacza się tło modulacji dla sygnału modulującego widmo Fouriera zbioru obiektów o znanej liczebności względem sygnału referencyjnego, a w bloku wyznaczania krzywej kalibracji (15) na podstawie wyznaczonych parametrów tła modulacji określa się krzywą kalibracyjną w postaci zależności wartości tła modulacji od liczebności analizowanych obiektów i w bloku wyjściowym (16) wyznacza się liczbę obiektów.

Wykaz oznaczeń na rysunku:

1. zbiór obiektów o nieznannej liczebności,
2. pojedynczy obiekt,
3. próbka o znanej liczbie obiektów,
4. optyczny układ obrazujący,
5. przetwornik analogowo-cyfrowy,
6. pierwszy blok analizy sygnału,
7. drugi blok analizy sygnału,
8. blok analizy sygnału zbioru obiektów o nieznannej liczebności,
9. blok analizy sygnału pojedynczego obiektu,
10. blok analizy sygnału próbki o znanej liczbie obiektów,
11. pierwszy blok normalizacji widm Fouriera,
12. pierwszy blok wyznaczania tła modulacji,
13. drugi blok normalizacji widm Fouriera,
14. drugi blok wyznaczania tła modulacji,
15. blok wyznaczania krzywej kalibracji,
16. blok wyjściowy.

Rysunek



