

УДК 004.932

## КОМБИНИРОВАННЫЙ МЕТОД ПОДСЧЕТА ЭРИТРОЦИТОВ НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ МАЗКОВ КРОВИ

А.В. Дырняев, А.С. Потапов

Рассмотрена задача подсчета эритроцитов на изображениях препаратов крови, полученных с помощью микроскопа. Предложен метод сегментации таких изображений, основанный на детектировании границ методом Канни с последующим выявлением окружностей на изображении с помощью преобразования Хафа. В методе используется уточнение результатов сегментации на основе бинарной маски объектов и фона. Метод устойчив к изменениям структуры, текстуры и цвета клеток, а также позволяет проводить подсчет клеток, в том числе перекрывающихся друг друга, в условиях помех на изображении.

**Ключевые слова:** подсчет числа клеток, цифровая микроскопия, сегментация изображений.

### Введение

В задачах анализа изображений, полученных с помощью микроскопа, в рамках цитологических исследований часто возникает необходимость подсчета числа клеток определенного типа. При исследовании препаратов крови важной задачей является подсчет числа эритроцитов, исходя из показателей которого можно диагностировать нарушения в кровообразовании или повреждения эритроцитов вследствие различных факторов.

Среди методов подсчета эритроцитов в крови можно выделить методы, использующие уже смоделированную базу изображений клеток крови и их характеристик [1–4], методы, основанные на пороговом разложении [5] или методы, использующие сегментацию методом управляемого водораздела [6]. Существуют также подходы, в которых для сегментации используются цветовые характеристики изображения [7, 8] или текстурные характеристики [8]. В [9] предложено использовать алгоритм активной контурной модели для выделения контуров клеток.

В работе [10] было предложено на изображении контуров клеток, полученных детектором границ Канни, определять центры кривизны контуров, которые, в свою очередь, являлись предполагаемыми центрами клеток.

В настоящей работе предлагается улучшение разработанного ранее метода путем использования преобразования Хафа [11] совместно с сегментированием изображения мазка крови на фон и объекты вместо определения кривизны контуров. Для выделения контуров применяется алгоритм Канни [12], для более успешной работы которого используется масштабирование изображения.

### Метод выделения и подсчета эритроцитов

В предлагаемом методе на первом этапе выполняется масштабирование изображения. Коэффициент масштабирования определяется как отношение размера клетки, оптимального для проведения сегментации, в пикселях к реальному ее размеру. При масштабировании используется бикубическая интерполяция. Этот шаг необходим в связи с тем, что изображения могут быть получены при разных увеличениях, а реализация последующих шагов метода для произвольных размеров эритроцитов является затруднительной. В частности, используемый в предлагаемом методе детектор границ Канни содержит в себе этап фильтрации изображения гауссовым фильтром определенного размера, т.е. настроен на выделение контуров на фиксированном масштабном уровне.

После масштабирования выполняется алгоритм Канни [12] для выделения контуров на изображении. В нем сначала производится сглаживание изображения фильтром Гаусса [13] для удаления шума. Следующим шагом метода Канни является вычисление градиента каждой точки изображения. Ядра фильтров для расчета градиента изображения с помощью оператора Собеля представляют собой массивы  $3 \times 3$ :

$$MG_y = \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 \\ 2 & 0 & -2 \\ 1 & 0 & -1 \end{pmatrix}; \quad MG_x = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{pmatrix}.$$

Границы выделяются там, где градиент изображения приобретает максимальное значение, при этом только локальные максимумы отмечаются как границы. Следующий этап алгоритма выделения границ Канни заключается в определении потенциальных границ двойной пороговой фильтрации. Итоговые границы определяются путем подавления всех краев, не связанных с определенными границами.

Так как эритроциты в большинстве имеют округлую форму, их сегментация может быть проведена с помощью методов выделения окружностей на изображении. Одним из таких методов является преобразование Хафа, которое позволяет найти на изображении объекты, принадлежащие определенному классу фигур [11]. Окружность может быть задана параметрическими уравнениями:

$$x = a + R \cos(\theta);$$

$$y = b + R \sin(\theta),$$

где  $x, y$  – координаты точек окружности;  $a, b$  – координаты центра окружности;  $R$  – радиус окружности.

Как известно, координаты центра окружности  $a$ ,  $b$  и ее радиус  $R$  являются параметрами, с помощью которых можно описать любую окружность на плоскости. Преобразование Хафа использует специальный массив, называемый аккумулятором, размерность которого равна количеству неизвестных параметров объекта. Аккумулятор рассчитывается таким образом, что если достаточное количество контурных точек изображения удовлетворило параметрическим уравнениям, то содержимое соответствующей ячейки аккумулятора увеличивается на единицу. Таким образом, максимумы аккумулятора будут соответствовать параметрам объекта в данной точке.

Большая размерность аккумулятора (массива) сильно увеличивает сложность алгоритма, и поэтому для окружности лучше брать заранее известный радиус, сокращая, таким образом, размерность до двух. Не на всех участках изображения присутствуют клетки, поэтому целесообразно выделить отдельные участки контуров и для них рассчитывать центры окружностей с помощью преобразования Хафа.

Радиус клеток может варьироваться в пределах некоторых значений. Для расчета этих значений на изображении контуров выбираются наиболее удачно выделившиеся контуры, представляющие собой объекты, замкнутая поверхность которых обладает наименьшим эксцентриситетом и достаточно большим диаметром. Диапазон значений радиусов клеток используется в качестве параметра  $R$  в преобразовании Хафа.

Координаты предполагаемых центров окружностей образуют облака точек на изображении, имеющие наибольшую плотность в районе центров искомых клеток.

Некоторые плотные образования точек ошибочно располагаются не в районе центров клеток, а на фоне. Это происходит из-за несовершенного выделения границ и образования ложных контуров, имеющих форму окружности. Для устранения точек, лежащих на фоне, используется следующий метод. Учитывая тот факт, что фон на изображениях мазков крови по своей интенсивности всегда выше интенсивности объектов, можно построить маску фона. Она строится путем сильного контрастирования исходного полутонового изображения с последующей бинаризацией и морфологической обработкой. Морфологическая обработка используется для устранения пропусков в маске в центрах клеток, имеющих схожую с фоном интенсивность. После построения маски удаляются те точки из облака центров окружностей, которые принадлежат фону.

Для объединения плотных образований точек используется морфологическая операция закрытия, в результате чего в центрах клеток на бинарном изображении образуются сплошные участки. Слишком малые по площади участки удаляются, а количество оставшихся участков представляет собой количество клеток на изображении.

### Результаты эксперимента

В ходе экспериментального исследования предложенного метода были взяты изображения образцов крови, полученные с помощью микроскопа. Пример такого изображения приведен на рис. 1.

В первую очередь изображения были преобразованы из цветных в полутоновые. Для масштабирования изображений был рассчитан коэффициент, предполагающий, что диаметр клеток после масштабирования станет равен 100 пикселям.

Для улучшения изображений после масштабирования также повышался их контраст. Затем был применен детектор границ Канни. Экспериментальным путем были выбраны пороги для двойной пороговой фильтрации – 0,12 и 0,3, а также значение среднеквадратического отклонения для фильтра Гаусса, равное 6.

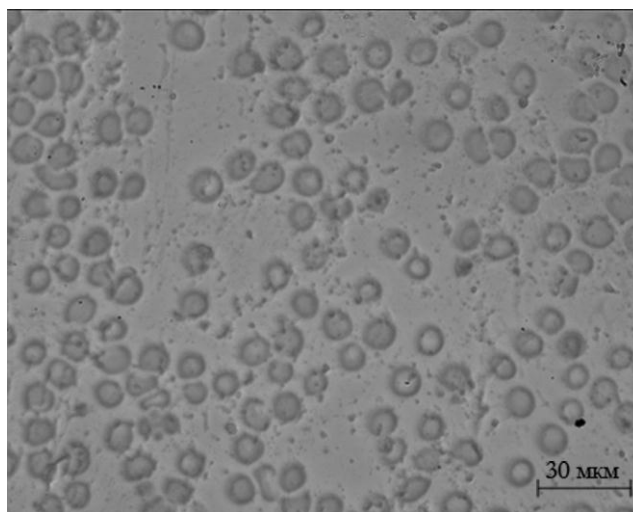


Рис. 1. Пример тестового изображения

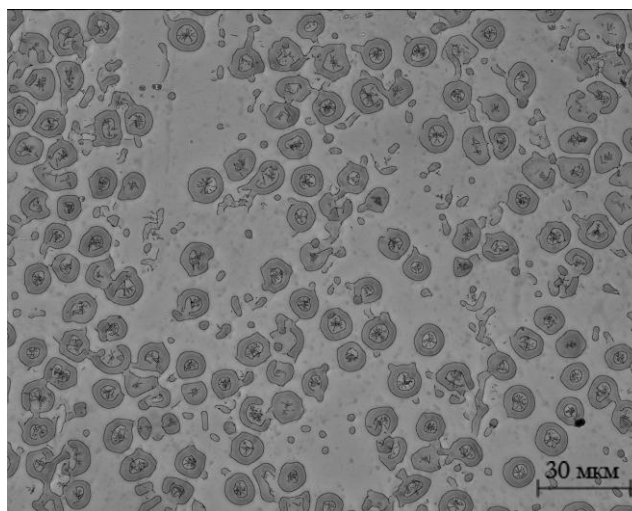


Рис. 2. Контуры и облако точек, наложенные на тестовое изображение

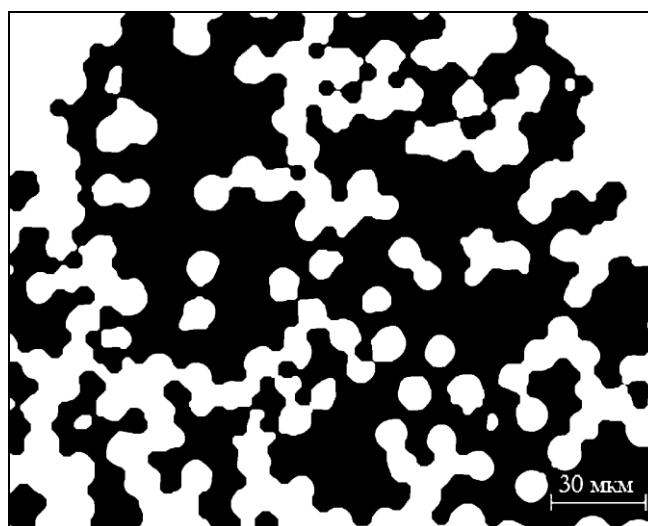


Рис. 3. Маска с фоном и объектами; объекты имеют белый цвет

Затем на изображениях были отмечены хорошо выделившиеся клетки с эксцентриситетом меньше 0,5 и размером больше некоторого порога, определенного с помощью метода Отсу [14]. Диапазон значений диаметров этих клеток использовался для преобразования Хафа. Тестовое изображение с нанесенными на него границами и облаком точек представлено на рис. 2. Маска, отделяющая объекты и фон, представлена на рис. 3.

Окончательная морфологическая обработка облака точек представляет собой закрытие изображений облаков точек элементом размером  $10 \times 10$ , а также удаление отдельных элементов с площадью менее 100 пикселей. Результат окончательной морфологической обработки представлен на рис. 4.

Метод показал лучшие или сопоставимые с другими методами [1–9] результаты. Вероятность правильного определения количества клеток составила 96–98%.

Все тестовые изображения содержали в себе помехи, появившиеся в результате плохих условий съемки. Кроме этого, границы клеток были достаточно сильно размыты, что говорит о том, что метод может показать и лучшие результаты при условии, что изображения мазков крови будут более высокого качества.

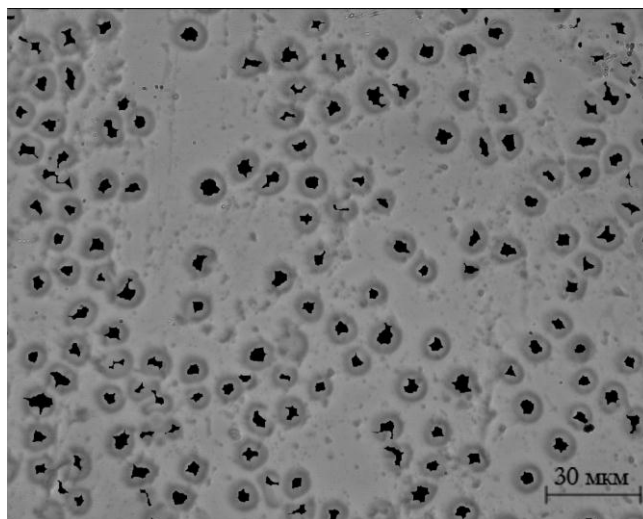


Рис. 4. Изображение центров клеток, наложенное на исходное

### Заключение

Вероятность правильного подсчета количества эритроцитов разработанным методом составила 96–98%, что является хорошим результатом сегментации клеток в условиях невысокого качества изображений. Таким образом, метод пригоден для использования в задачах анализа образцов крови при различных лабораторных условиях.

Количество входных параметров метода может варьироваться. Параметр может быть один в случае, когда в алгоритме задан лишь средний размер клетки в пикселях или масштаб изображения. Для более тонкой подстройки метода под данное изображение в качестве входных параметров алгоритма могут выступать пороги для двойной пороговой фильтрации, значение среднеквадратического отклонения для фильтра Гаусса и минимальная площадь объектов на последнем этапе морфологической обработки изображения центров клеток. Автоматическое определение оптимальных параметров является целью дальнейших исследований.

Метод может быть использован не только для подсчета эритроцитов, но и для подсчета клеток другого размера либо любых объектов, имеющих округлую форму.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации.

### Литература

1. Dahmen J., Hektor J., Perrey R., Ney H. Automatic Classification of Red Blood Cells Using Gaussian Mixture Densities // Proc. Bildverarbeitung für die Medizin. – 2000. – P. 331–335.
2. Costrarido L. Medical Image Analysis Methods: Evaluation Strategies for Medical-image Analysis. – Taylor & Francis. – United States of America, 2005. – P. 433–471.
3. Kumar B.R., Joseph D.K., Teager T.V.S. Energy Based Blood Cell Segmentation // 14th International Conference on Digital Signal Processing. – DSP. 2002. – 1–3 July. – Santorini, Greece. – V. 2. – P. 619–622.
4. Bamford P. Empirical Comparison of Cell Segmentation Algorithms Using an Annotated Dataset // Proc. IEEE International Conference on Image Processing. – 2003. – V. 2. – P. 1073–1077.
5. Mukherjee D.P., Ray N., Acton S.T. Level Set Analysis for Leukocyte Detection and Tracking // IEEE Trans. Image Process. – 2004. – V. 13. – № 4. – P. 562–572.
6. Park J., Keller J.M. Snakes on the Watershed // IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. – PAMI, 2001. – V. 23. – № 10. – P. 1201–1205.

7. Sinha N., Ramakrishnan A.G. Blood Cell Segmentation Using EM Algorithm // Proc. Third Indian Conference on Computer Vision. Graphics Image Processing. – ICVGIP, 2002. – December 16–18. –Ahmadabad, India, 2002. – P. 376–382.
8. Kumar R.S., Verma A., Singh J. Color Image Segmentation and Multi-Level Thresholding by Maximization of Conditional Entrophy // International Journal of Signal Processing. – 2006. – V. 3. – № 1. – P. 121–125.
9. Mcinerney T., Terzopoulos D. Deformable models in medical image analysis: A survey // Med Image Anal. – 1996. – P. 91–108.
10. Дырнаев А.В. Метод подсчета эритроцитов на изображениях мазков крови // Научно-технический вестник СПбГУ ИТМО. – 2011. – № 6 (76). – С. 17–22.
11. Hough P.V.C. Method and means for recognizing complex patterns. – US Patent 3069654, December 18, 1962. – 8 с.
12. Canny J.F. A computational approach to edge detection // IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 1986. – V. 8 – № 6. – P. 679–698.
13. Shapiro L.G., Stockman G.C. Computer Vision. – Prentence Hall, 2001. – 580 p.
14. Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms // IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics. – 1979. – V. 9. – № 1. – P. 62–66.

- Дырнаев Алексей Васильевич* – Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, студент, dirnalex@yandex.ru
- Потапов Алексей Сергеевич* – Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, доктор технических наук, профессор, pas.aicv@gmail.com