

УДК 004.932

МЕТОД ПОДСЧЕТА ЭРИТРОЦИТОВ НА ИЗОБРАЖЕНИЯХ МАЗКОВ КРОВИ

А.В. Дырнаев

В рамках компьютерного анализа препаратов крови часто возникает задача подсчета эритроцитов на изображениях, полученных с помощью микроскопа. Изложен метод сегментации таких изображений, основанный на детектировании границ методом Канни, с последующим выявлением центров кривых, которые, в свою очередь, являются предполагаемыми центрами клеток. Метод устойчив к изменениям структуры, текстуры и цвета клеток, а также позволяет производить подсчет клеток, даже перекрывающихся друг с другом, в условиях помех на изображении.

Ключевые слова: подсчет количества клеток, цифровая микроскопия, сегментация изображений.

Введение

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

Среди клеток крови различают эритроциты, лейкоциты, тромбоциты. Эритроцит – безъядерная клетка розового цвета, имеющая форму несколько уплощенного эллипсоида с вдавлением в центре при среднем размере 8 мкм. Лейкоциты различаются от эритроцитов по их большему размеру, составляющему 9–20 мкм, по наличию ядра и по характеру окраски, которая может быть фиолетовой, розовой или ярко-красной. Тромбоциты – безъядерные образования округлой или овальной формы размером 1–3 мкм, с красно-фиолетовым центром и розовато-голубой периферией.

Существуют различные методы подсчета эритроцитов в крови, некоторые из них используют уже смоделированную базу изображений клеток крови и их характеристик [1–4], некоторые – пороговое разложение [5] или сегментацию методом управляемого водораздела [6]. Существуют 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.

Основная проблема при подсчете клеток заключается в том, что они могут перекрываться друг с другом, а также изменять свою форму в некотором диапазоне. Наличие посторонних шумов, посторонних объектов в поле зрения микроскопа дополнительно усложняет анализ изображения.

В настоящей работе для снижения влияния шумов предлагается использовать медианную фильтрацию изображений [10] с последующим выделением контуров клеток детектором границ Канни [11]. Для улучшения распознавания границ изображение дополнительно контрастируется.

Метод выделения и подсчета эритроцитов

Для устранения влияния шумов предлагается использовать медианную фильтрацию с окном размером $m \times m$, где m зависит от оценки диаметра клетки, задаваемой вручную, либо рассчитываемой, исходя из масштаба изображения и предполагаемого размера искомого клеток.

Одномерный медианный фильтр представляет собой «скользящее окно» протяженностью N отсчетов, в котором центральный элемент заменяется медианой (т.е. средним элементом последовательности, упорядоченной в порядке возрастания значений сигнала в «окне»). Таким образом, операция медианной фильтрации K -мерной последовательности значений сигнала $s(k) = s(x_k)$, $k = 1, \dots, K$, характеризуется соотношением

$$\text{med} \{s_k\}_{1 \leq k \leq N} = \begin{cases} 0,5(s_n + s_{n+1}), & N = 2n, \\ s_n, & N = 2n - 1, \end{cases}$$

где фиксированное значение $n = 1, 2, \dots$ определяет апертуру фильтра.

Следующий этап состоит в выделении границ, после чего методом связанных компонент с критерием связности по восьми соседям выделяются отдельные контуры. Для каждой связанной области вычисляется площадь выпуклого многоугольника, описывающего контур. По заданным порогам отсекаются участки, имеющие слишком большую или слишком малую площадь. Пороги выбираются, исходя из предполагаемой реальной площади клетки.

Затем из каждого отдельного контура с равными интервалами по длине контура выбираются точки. Парно точки соединяются друг с другом, и через середину полученного отрезка проводится перпендикуляр. Его можно описать уравнением

$$y = -\frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1} x + \frac{y_2^2 - y_1^2 + x_2^2 - x_1^2}{2(y_2 - y_1)},$$

где (x_1, y_1) – координаты первой точки; (x_2, y_2) – координаты второй точки.

Расположение точки пересечения соседних перпендикуляров сохраняется. Точка пересечения двух перпендикуляров рассчитывается как

$$x = \frac{b_2 - b_1}{a_1 - a_2},$$

$$y = a_1x + b_1 = a_2x + b_2,$$

где $a = \frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1}$ – коэффициент наклона перпендикуляра; $b = \frac{y_2^2 - y_1^2 + x_2^2 - x_1^2}{2(y_2 - y_1)}$ – коэффициент смещения перпендикуляра.

Операция проделывается для всех пар перпендикуляров для различных шагов взятия точек. В результате образуется облако точек, расположенных более плотно в областях, являющихся центрами радиуса кривых контура.

Клетки, слипшиеся друг с другом или наложенные одна на другую, достаточно сложно поддаются сегментации методами, основанными на анализе размеров или формы областей внутри контуров. Разрывы на контурах усложняют контурную сегментацию клеток. Предложенный метод составляет единое для всех участков контуров изображение их центров, позволяя, таким образом, решить обозначенные выше проблемы.

Картина, составленная из полученных точек пересечения перпендикуляров, подвергается морфологической обработке, в результате которой остаются только плотные и достаточно крупные скопления точек. Эти скопления соответствуют предполагаемым центрам клеток. С помощью метода связанных компонент ведется подсчет скоплений, который должен соответствовать количеству клеток на изображении.

Результаты эксперимента

В ходе экспериментального исследования предложенного метода было взято изображение образца крови, полученное с помощью микроскопа (рис. 1).

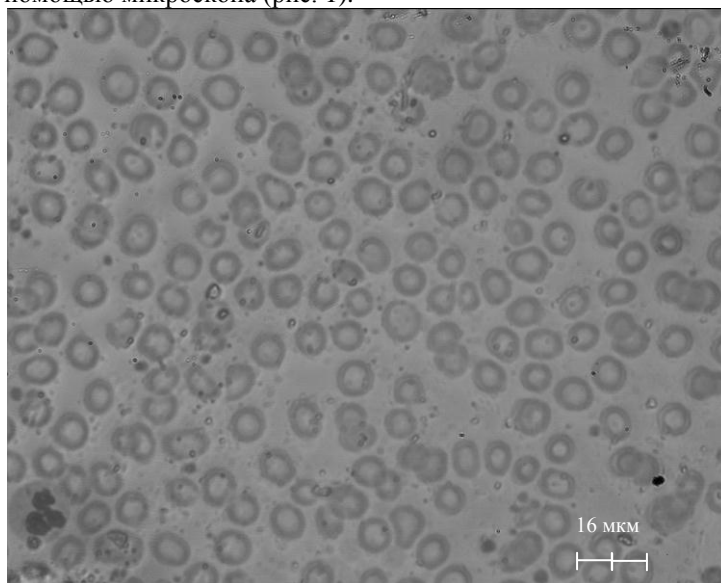


Рис. 1. Тестовое изображение

В первую очередь изображение было преобразовано из цветного в черно-белое. Размер окна при медианной фильтрации был выбран, исходя из среднего размера клеток, и составил 16×16 пикселей, что соответствует 20% от диаметра клетки. Результат медианной фильтрации тестового изображения представлен на рис. 2.

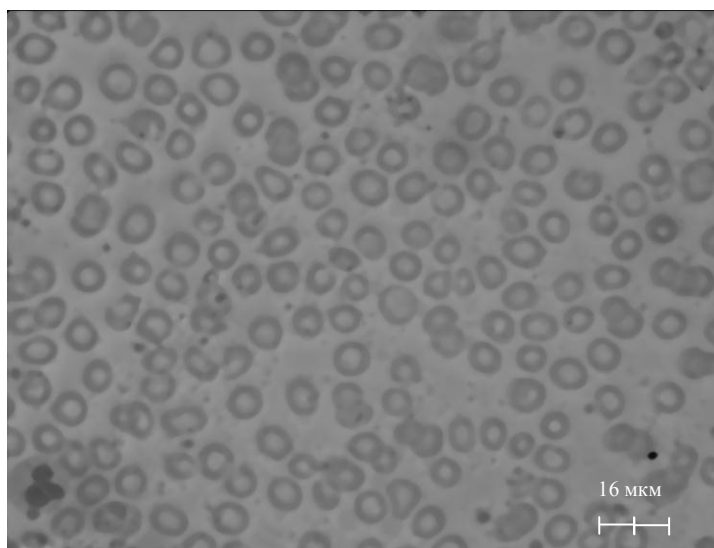


Рис. 2. Результат медианной фильтрации

После линейного контрастирования изображения был применен детектор границ Канни (рис. 3). В алгоритме Канни сначала производится сглаживание изображения для удаления шума. Затем границы выделяются там, где градиент изображения приобретает максимальное значение, при этом только локальные максимумы отмечаются как границы. Следующим этапом следует определение потенциальных границ двойной пороговой фильтрации. Итоговые границы определяются путем подавления всех краев, не связанных с определенными границами.

В качестве порогов для удаления слишком больших или слишком малых контуров на изображении были выбраны два значения: $0,05S$ в качестве нижнего порога и $4S$ в качестве верхнего порога, где S – приблизительная площадь изображения клетки, рассчитанная исходя из ее диаметра.

В результате построения перпендикуляров (рис. 4) для отрезков между точками, взятыми с интервалами 3–40 пикселей, для каждого контура было получено облако точек пересечения (рис. 5).

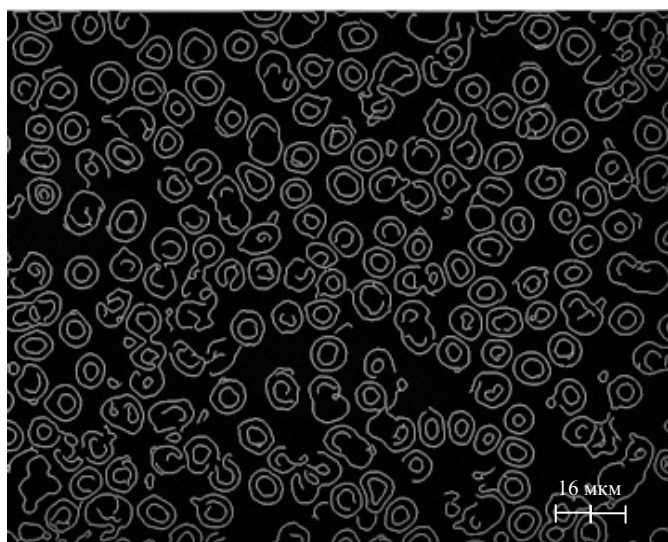


Рис. 3. Изображение краев, на котором удалены большие и малые контуры

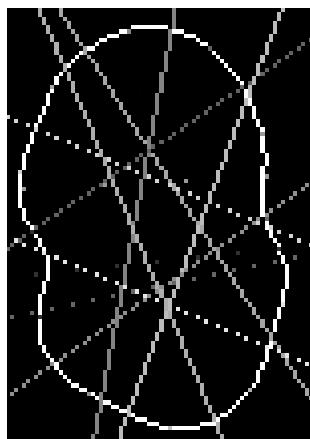


Рис. 4. Перпендикуляры; интервал между точками = 20

Количество связных компонент равнялось 220. Реальное количество клеток на изображении получено равным 209. Число ложных срабатываний составило 23, число нераспознанных клеток – 12. Метод был опробован на четырех различных изображениях, содержащих клетки крови. Средняя вероятность правильного подсчета количества клеток эритроцитов составила 86%. По сравнению с методами, использующими пороговое разложение [5] или сегментацию методом управляемого водораздела [6], предложенный метод дал лучшие результаты. Однако в сравнении с методами, предложенными в [1–4, 9], вероятность правильного подсчета количества клеток оказалась меньше, так как детектор границ некорректно выделил края на тестовых изображениях из-за сильной зашумленности и наличия нечетких границ. Для таких изображений необходимы дополнительные методы предварительной обработки для повышения эффективности выделения краев.

Из изображения облака точек были изъяты участки с площадью менее 5 пикселей, а затем была проведена операция закрытия бинарного изображения с маской 8×8 пикселей. Результат морфологической обработки изображения точек пересечения, наложенный на исходное изображение, представлен на рис. 6.

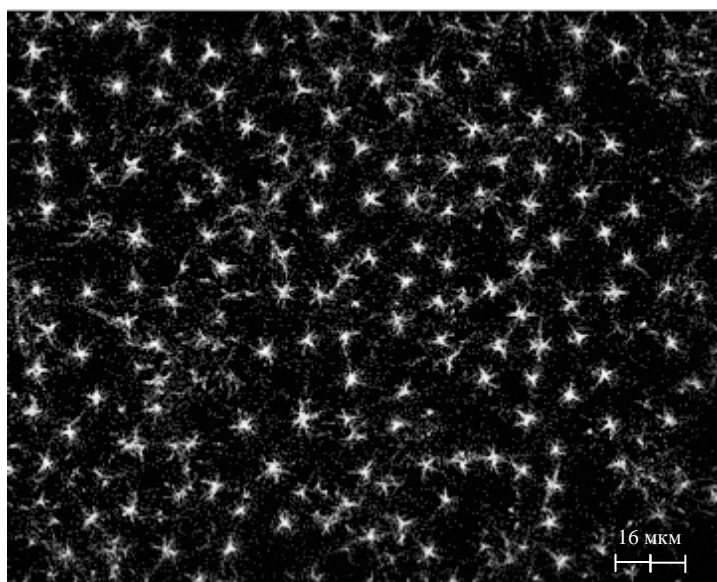


Рис. 5. Облака точек

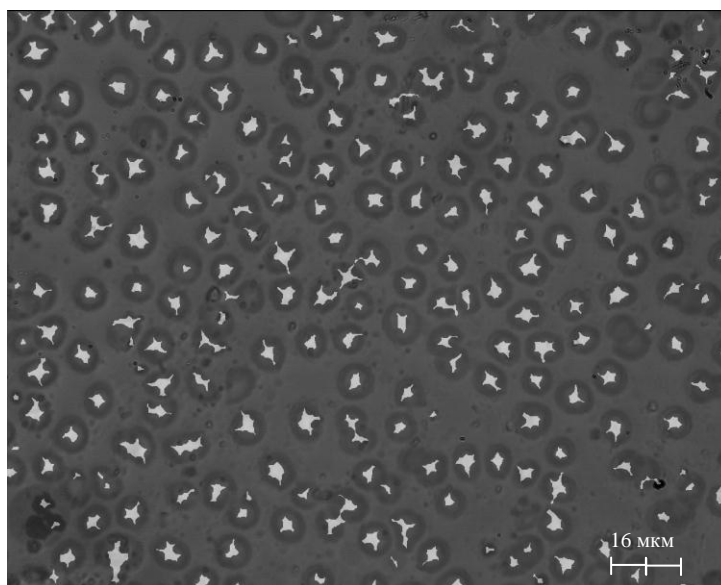


Рис. 6. Морфологически обработанное изображение точек пересечения, наложенное на исходное изображение

Заключение

Из-за того, что для определения клеток используется детектор границ, результаты сегментации не зависят от цвета клеток, их текстуры и внутренней структуры. Метод с достаточно высокой точностью сегментирует клетки, слипшиеся друг с другом или наложенные друг на друга. В условиях зашумленности исходного изображения метод показал хорошие результаты.

Предложенный алгоритм позволил осуществить сегментацию и подсчет клеток крови с точностью 86%. Количество ложных обнаружений клеток в среднем выше, чем у других методов, что можно объяснить наличием на тестовых изображениях большого количества шумов, а также нечеткими границами клеток. Более высокой вероятности правильного подсчета числа клеток можно достичь, если параллельно с предложенным методом использовать другие, уточняя результат сегментации одного метода результатами другого, а также применять другие алгоритмы предварительной обработки исходного изображения. В дальнейшем планируется разработка алгоритма предварительной обработки изображения для повышения эффективности предложенного метода, а также комбинация предложенного метода с другими.

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 // IP. – 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. – Ahmadabad, India, 2002, December 16–18. – P. 376–382.
8. Kumar R.S., Verma A., Singh J. Color Image Segmentation and Multi-Level Thresholding by Maximization of Conditional Entropy // 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. Cormen T.H., Leiserson C.E., Rivest R.L. Introduction to Algorithms. – MIT Press, 1990. – P. 185–191.
11. Canny J.F. A computational approach to edge detection // IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 1986. – P. 679–698.

Дырнаев Алексей Валерьевич

– Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, студент, dirnalex@yandex.ru