文章编号:1673-0062(2017)02-0051-05

基于数学形态学的红细胞计数算法

潘 佚[1],吴思宇[1,2],邱 蕾[1]

(1.南华大学 电气工程学院,湖南 衡阳 412000;2.佛山市顺德区第一人民医院,广东 佛山 528300)

摘 要:提出一种基于二值数学形态学的显微血红细胞计数方法.对细胞图像依次进行灰度化、二值化、形态学处理,最后进行细胞数量统计.实验结果表明:该计数算法能使图像中的红细胞被有效地识别出来,与人工计数的结果比较,该方法误差在控制2%以内,这有助于提高显微细胞检测的工作效率.

关键词:细胞计数;图像;预处理;数学形态学

中图分类号:TP391 **文献标志码**:B

Red Blood Cells Counting Algorithm Based on Mathematical Morphology

PAN Yi[1], **WU Si-yu**[1,2], **QIU Lei**[1]

(1.School of Electrical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China;
2.First People's Hospital of Shunde, Foshan, Guangdong 528300, China)

Abstract: A method for microscopic red blood cells counting based on binary mathematical morphology was proposed.In the red blood cell image processing, graying, binaryzation and morphology process were conducted in series to prepare for the final cell counting.The experimental results show that the algorithm can recognize the blood cells in microscopic images effectively and the counting error is less than 2% compared with manual counting.The proposed image analysis method is helpful to improve efficiency for microscopic cells detection.

key words: cells counting; image; preprocessing; mathematical morphology

0 引 言

医学检验中常通过用显微镜观察并分析体液中不同种类细胞、结晶等有形成分来判断人体健康状况[1].传统的显微细胞检测大多是人工镜检,操作时间长、工作强度大、易污染环境;且受主观的影响,人为误差大、标准不统一,不利于临床动态观察.而利用计算机图像处理方法对细胞图像分割及计数上更加省时、省力,容易实现自动化[2].

细胞在显微镜下成像,很容易出现边界模糊、

收稿日期:2016-08-14

基金项目:南华大学博士科研启动基金项目(2012XQD29)

作者简介:潘 佚(1979-),女,副教授,博士,主要从事于仪器设计方面的研究.E-mail:kadap@ sina.com

细胞粘连或重叠等问题,对细胞计数带来很大困难[3-4].对于这个问题,有许多研究者提出不同的方法,例如阈值分割、分水岭分割、基于模糊理论的算法、遗传学算法、数学形态学算法等,这些算法均有各自的优点,尤其在某一特定情况下会有特别的优势.有时细胞图像复杂的情况下会综合利用多种算法以提高细胞分割的准确性,但代价是计算复杂度大大提高.

数学形态学是空间结构分析有力工具,已在医学、视觉检测、生物学等多个领域广泛应用[5].本文针对血红细胞图像的特点,提出了一种简便快速、高准确度的基于数学形态学的显微血红细胞计数方法,可以有效识别图像中的血红细胞并进行计数.首先,采用快速有效的图像预处理方法,将彩色图像转换为二值图像;接着采用形态学运算和去噪相结合的方法对图像进行优化,以便于下一步计数;然后对图像进行快速连通区域标记;最后,为减小分割不足造成的计数误差,本文使用了一种进行基于细胞面积统计的计数方法.

1 显微细胞图像预处理

1.1 真彩色图像的灰度化

选取大小为 426×287×24 bit 的红细胞真彩色图像作为研究对象,如图 1 所示.为保留图像信息得到效果较好的灰度图,采取加权平均法对原始图像进行灰度化.灰度化处理时三个分量应赋予不同的权重.因为人眼对不同波长的光敏感度不同,对绿色最敏感,对蓝色最不敏感,所以图像的灰度化处理时对不同颜色分量进行了不同的加权,如式(1)所示[6].式中 R、G、B 分别为像素的红、绿、蓝三个分量,转换得到的灰度图如图 2 所示.

$$\mathrm{Gray} = [\mathrm{R} \quad \mathrm{G} \quad \mathrm{B}] \begin{bmatrix} 0.30 \\ 0.59 \\ 0.11 \end{bmatrix} \tag{1}$$

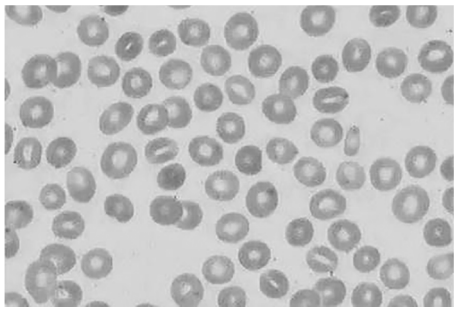


图 1 原始图像

Fig.1 Original image

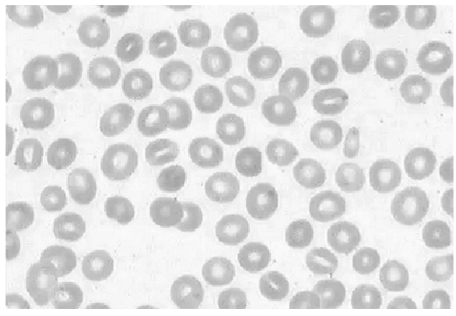


图 2 灰度化图像

Fig.2 Result of image graying

1.2 二值化

灰度图像的灰度范围为 0~255,共有 256 个灰度级不均匀地分布在细胞图像中.这些灰度级反映了图像的细节,但对计数来说,只需保留细胞的形态信息就足够了,灰度信息则可以忽略,因此这里对灰度图像进行二值化处理.

$$\mathrm{Binary} = \begin{cases} 1, \mathrm{Gray} \geqslant T \\ 0, \mathrm{Gray} < T \end{cases} \tag{2}$$

这里 T 为二值化阈值.T 的选取非常重要,会直接影响二值化的结果和之后的计数的准确性.阈值的选取方法多种多样,有直方图双峰法,迭代法,大津法(Ostu),灰度拉伸法等.这里采用大津法提取灰度阈值.大津法是最大类间方差法,自适应计算阈值,简单高效[7].最大化类间方差 σ_{B}^2 计算如下所示:

$$\sigma_{\mathrm{B}}^2 = \omega_0(\mu_0 - \mu_T)^2 + \omega_1(\mu_1 - \mu_T)^2 \tag{3}$$

其中,ω_0 和 ω_1 是前景和背景像素出现的概率,μ_0 、μ_1 和 μ_T 分别是前景平均灰度、背景平均灰度和全图平均灰度.二值化处理后图像如图 3 所示(这里将细胞设为白色,背景设为黑色).

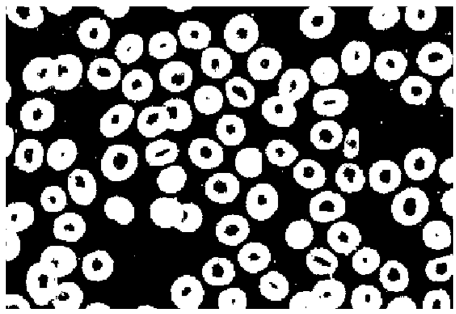


图 3 二值化图像

Fig.3 Result of threshold segmentation

2 形态学处理

2.1 填充

图像二值化以后,可以看到细胞中心存在孔

洞,为方便计数,此时对细胞内部孔洞进行填充.填充可以消除部分由取反引入的噪声,保留更完整的图像信息.将孔洞看成是由前景(细胞体)像素相连接的边界所包围的一个背景区域,使用基于集合膨胀、求补和交集的算法对其进行填充[8],过程可用式(4)来表示:

$$X_k = (X_{k-1} \oplus B) \cap A^C \qquad k = 1,2,3\cdots \quad (4)$$

式中 A 表示像素集合,其元素是 8 连通的边界,每个边界包围一个孔洞;X_0 是与 A 大小相同阵列,阵列中只有孔洞中一个特定位置点设为 1,其它均为 0;B 是一个对称结构元,A^C 是 A 的补集.如果 $X_k = X_{k-1}$,则算法在迭代的第 k 步结束.运算符 $\oplus$ 表示膨胀运算.膨胀可将与目标区域的背景点合并到该目标物中,使目标物边界向外部扩张的处理.膨胀处理可以将断裂开的目标物进行合并,便于对其整体的提取.定义为:

$$A \oplus B = \{z \mid ((\hat{B})_z \cap A) \neq \emptyset\} \quad (5)$$

填充的结果如图 4 所示.可以看到,细胞中间的孔洞被填充了.

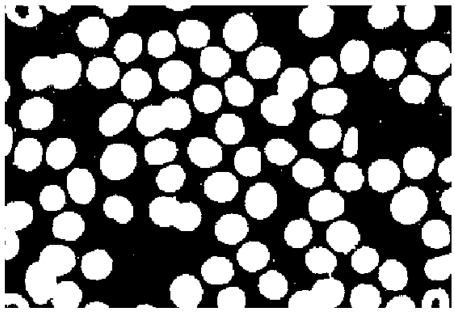


图 4　填充细胞中间的孔洞

Fig.4　Fill the holes among cells

2.2　开运算

从图 3 和图 4 可以看到,图像中存在着许多孤立的白点.这些白点可能是属于细胞中的物质,也可能是脉冲噪声,计数之前必须将其消除,以免计数时引入干扰.另外,细胞边界不平滑,有很多“毛刺”.为消除噪声和平滑边界,这里对图像进行开运算处理[9].开运算就是使用相同的结构元素,对一个研究对象进行先腐蚀再膨胀的处理.结构元素 B 对研究对象 A 的开运算定义为:

$$A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \quad (6)$$

运算符$\ominus$表示腐蚀运算.腐蚀是一种消除连通域的边界点,使边界向内收缩的处理.腐蚀处理可以将粘连在一起的不同目标物分离,并可以将小的颗粒噪声去除.腐蚀运算用式(7)来表示:

$$A \ominus B = \{z \mid (B)_z \subseteq A\} \quad (7)$$

选取圆盘半径为 4 的结构元素,消除不含结构信息的对象区域,断开细胞之间窄小的连接,细胞边缘得到较好的分离,获得连续平滑的边缘,而不会引起形状大小的改变.开运算是先腐蚀后膨胀,腐蚀能够消除小结构元素的亮点,有效去除孤立噪点;膨胀只对大结构元素的细胞像素作用而不会恢复孤立点,可以保持大结构元素不变.开运算处理得到图像如图 5 所示.

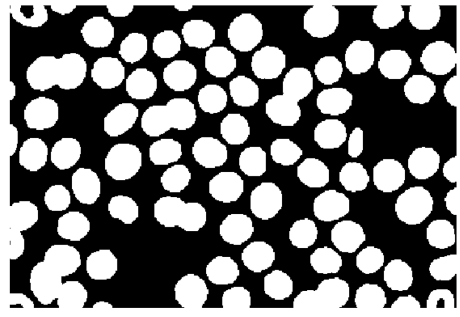


图 5　开运算结果

Fig.5　Result of opening operation

3　细胞计数

图像完成上述处理后,开始对细胞进行计数.从图 5 中可以看出,还存在部分细胞分割不足,增加计数误差.为了减小分割不足造成的计数误差,在计数时采用一种基于细胞面积统计的计数算法,流程如图 6 所示.

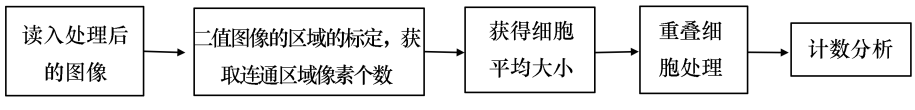


图 6　计数流程图

Fig.6　Flow Chart of counting cells

3.1　细胞无重叠的情况

若不考虑位置有重叠的细胞,计数相对简单.步骤如下:1)对图像进行区域标记,面积与正常细胞接近的连通像素集合(8-连通区域)看成一个细

胞,得到细胞个数的初始值;2)给细胞“贴标签”,依次统计出贴标签后的数组,取得对应标签号的位置,将坐标信息存入一个二维数组中;3)统计连通区域的像素个数,计算出细胞的平均大小.

3.2 细胞重叠的情况

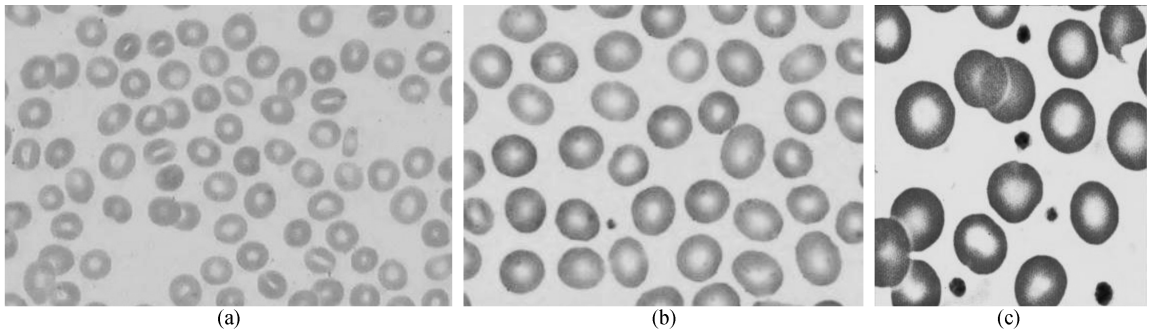
细胞分割的精度对细胞分割有重要作用,它的好坏直接影响细胞分析.细胞分割至今仍没有取得满意效果,其中的一个重要原因就是细胞图像经常重叠,没有明显的边界[10-11].

对于单一的红细胞图像,大多数情况下细胞的重叠区域较小(不超过本身大小的一半)、或仅仅只是粘连,可用一种简单可行的方法,即基于重叠细胞的面积来进行分割.如果标记出来的连通区域小于细胞平均大小的 1.5 倍,则认为是单个细胞.如果连通区域的面积大于 1.5 倍且小于 2.5 倍的细胞平均大小,则认为此区域是两个细胞重叠形成的,以此类推.对于重叠区域较大的连通区域,则用细胞分布密度来估算细胞个数.

3.3 计数结果

基于数学形态学的细胞计数精确度涉及到多方面.用上述算法对图 7 的(a)~(c)三张血红细胞图(分别具有不同细胞密集程度,不同重叠程度)进行计数,结果如表 1 所示.阈值分割是一种被广泛应用的细胞分割方法,可以用封闭而连通的边界定义不交叠区域,且自适应阈值能根据图像特征计算合适的阈值,适合分割处理大多数图像.本文同时给出阈值分割算法的计数结果作为比较.

从表 1 可以看出,该算法的计数结果是准确的,准确度达到了 98%以上.随着图像中细胞数量增多、密集程度增加,计数的误差也随之增大;在细胞发生重叠时,仅仅根据重叠细胞的大小来估计重叠情况还是比较粗略的,如果细胞重叠部分超过一半或重叠细胞数量大,计数误差也会增大.对同一图像的处理,阈值分割法的误差要稍大,这是由于基于细胞面积统计的算法减小了分割不足造成的计数误差.



(a) (b) (c)

图 7 测试图(a)~(c)

Fig.7 Test images (a)~(c)

表 1 自动计数和人工计数结果对比

Table 1 Results comparison between automatic and manual counting

计数对象	图 7(a)	图 7(b)	图 7(c)
人工计数/个	73	33	15
本文计数/个	74	33	15
阈值分割法计数/个	69	33	14
本文误差/%	1.37	0.00	0.00
阈值分割法误差/%	5.48	0.00	6.67

4 结 论

本文针对血红细胞图像提出一种自动计数算法,先对细胞显微图像进行灰度化、二值化等预处理,再利用数学形态学算法进行孔洞填充、边缘处理和去噪,最后使用基于细胞面积统计的算法对重叠细胞进行分割和计数.通过实验分析比较得出该算法对血红细胞的计数误差小于 2%.数学形态学算子的效果以几何方式描述,更适合视觉信息的处理和分析;数学形态学的基本运算还可组合成多种细胞分割的实用算法.和其他算法相比,利用膨胀、腐蚀等运算,能更有效地抑制显微图像中噪声的影响,保证细胞边缘的连续性和完整性.本方法适用于生物医学领域细胞实时,自动化计数,但对重度重叠或粘连细胞的分割还不够精确,尤其对多种细胞图像、细胞个体差异大的情况,精度会受到影响.

参考文献:

[1] 漆鹏杰,刘秀波,仲兆准,等.显微细胞图像有形成分自动识别[J].计算机系统应用,2015,24(5):11-18.

[2] 刘志文,安兴,李衡,等.显微细胞图像分析方法的研究进展[J].北京理工大学学报,2014,34(5):441-453.

[3] 王祥生,王伟.基于清晰度的细胞显微图像分割和计数方法[J].中国医学影像学杂志,2014,22(10):797-800.

[4] KIMBAHUNE V V,UKE N J.Blood cell image segmentation and counting[J].International Journal of Engineering Science and Technology,2011,1(3):2448-2453.

[5] 张燕红,李瑛,张燕宁,等.基于数学形态学的细胞图像分割方法研究及实现[J].计算机与现代化,2013(7):135-137.

[6] 朱慧玲,谢静,肖琳.基于图像处理的单摆法风速测量系统的研究[J].南华大学学报(自然科学版),2014,28(3):64-67.

[7] 吴丹,蔡晓东,谢月飞,等.基于直方图分析和 OTSU 算法的文字图像二值化[J].计算机与现代化,2013(7):117-119;234.

[8] RAFAEL C. GONZALEZ, RICHARD E. Wood. digital image processing[M].3rd ed. One Lake Street Upper Saddle River,NJ 07458:Pearson,2010:407-411.

[9] HAMMOUCHE K,DIAF M,SIARRY P.A multilevel automatic thresholding method based on a genetic algorithm for a fast image segmentation[J].Computer Vision and Image Understanding,2013,109(2):163-175.

[10] 陈爱斌,江霞.细胞分割算法研究方法综述[J].电子世界,2011(12X):76-79.

[11] ZANELLA C,CAMPANA M,RIZZI B,et al.Cellssegmentation from 3-D confocal images of early zebrafish embryogenesis[J].IEEE Transactions on Image Processing,2010,19(3):770-781.

(上接第 50 页)

因此,对孔口裂纹前缘应力一级渐进公式的改进研究,将为进一步的研究提供参考与指导.

参考文献:

[1] 刘淑红,齐月芹,冯得得,等.含椭圆孔单边裂纹板的数值分析[J].机械工程学报,2012,48(20):83-87.

[2] 路见可.平面弹性复变方法[M].武汉:武汉大学出版社,2005.

[3] 曾芸芸.圆弧裂纹问题的复变函数方法研究[D].北京:北京理工大学,2006.

[4] 郭怀民,刘官厅,皮建东.带裂纹的椭圆孔口问题的应力分析[J].固体力学学报,2007,28(3):308-312.

[5] LIU S H,DUAN S J.Analytical solutions of cracks emanating from an elliptical hole under shear[J].Chinese Journal of Aeronautics,2014,27(4):829-834.

[6] 徐芝纶.弹性力学[M].北京:高等教育出版社,2006.

[7] 白茉莉,赵星,李元新,等.椭圆型孔口周围全空间应力场分布的复变函数解法与仿真分析[J].辽宁工业大学学报(自然科学版),2012,32(1):67-70.

[8] 王志良,申林方,姚激,等.浅埋隧道围岩应力场的计算复变函数求解法[J].岩土力学,2010,31(增刊 1):86-90.

[9] WANG H B, LIU R R, YANG J L, et al. Theoretical model for elliptical tube laterally impacted by two parallel rigid plates[J]. Applied Mathematics and Mechanics,2016,37(2):227-236.

[10] 郭怀民,乔文华.椭圆孔边两不对称裂纹问题的复变函数解[J].力学季刊,2011,32(3):444-451.

[11] 任利,谢和平,谢凌志,等.基于断裂力学的裂隙岩体强度分析初探[J].工程力学,2013,30(2):156-162.

[12] 刘官厅.弹性与断裂力学复变方法研究进展—纪念弹性与断裂力学复变函数法提出 100 周年[J].力学与实践,2010,32(3):10-15.

[13] DU Y L,LIU S H,DUAN S J.Electro-elastic fields of piezoelectric materials with an elliptic hole under uniform internal shearing forces[J].Chinese Journal of Mechanical Engineering,2013,26(3):454-461.

[14] LIU S H,SHEN Y M,LIU J X.Exact solutions for piezoelectric materials with an elliptic hole or a crack under uniform internal pressure[J].Chinese journal of mechanical engineering,2012,25(4):845-852.

[15] LIU S H,DUAN S J.Analytical solutions of cracks emanating from an elliptic hole in an Infinite plate under tension[J].Chinese journal of mechanical engineering,2014,27(5):1057-1063.

[16] 周胜,李兆霞.含随机微裂纹的椭圆孔口应力分析[J].上海交通大学学报,2016,50(2):272-277.

[17] 段士杰,刘淑红.剪切荷载作用下圆孔孔边裂纹的解[J].应用数学和力学,2016,37(7):740-747.