

УДК 004.891.3

А.А.Бубряк, С.В.Васильєв, Г.Ю.Хропін

Закарпатський державний університет, 88015, Ужгород, вул. Заньковецької, 89а

e-mail: hropingeorgiy@mail.ru

## КОМП'ЮТЕРНА СИСТЕМА АВТОМАТИЧНОГО РОЗПІЗНАВАННЯ ТА АНАЛІЗУ КЛІТИН КРОВІ

Для дослідження, підрахунку і аналізу клітин крові використовують як ручні мікроскопічні методи, так і лічильники різного рівня автоматизації. У більшості країн автоматичний аналіз крові майже повністю замінив ручні і напівавтоматичні методи. Запропоновано та реалізовано систему автоматичного розпізнавання та аналізу клітин крові.

**Ключові слова:** автоматичне розпізнавання, аналіз, клітини крові, комп'ютерна система.

### Вступ

Застосування різноманітних методів медичної діагностики потрібне для виявлення пухлинного процесу, визначення його стадії і вибору тактики лікування хворих, що страждають онкологічними захворюваннями. Тому вибір методу діагностики і тактики діагностики є одним з основних компонентів лікування онкологічних пацієнтів, а аналіз результатів, окрім відповіді на питання про наявність пухлини, повинен сприяти отриманню інформації про тип пухлини, стадії пухлинного процесу і залучення до патологічного процесу суміжних з ураженим органом анатомічних структур. Для кваліфікованого і ефективного дослідження з застосуванням методів діагностики, а значить і успішного лікування онкологічних хворих, потрібна тісна взаємодія онкологів, лікарів-рентгенологів, радіологів, лаборантів, гістологів, імунологів, лікарів функціональної діагностики та ін.

Розробка оперативних методів лабораторної діагностики, у тому числі імунологічних - це новий етап розвитку методів діагностики і лікування онкозахворювань. Завдяки вдосконаленню методів діагностики, спрямованих на виявлення пухлини і вивчення змін

метаболічних процесів в організмі під впливом пухлини, скорочується час дослідження і спрощуються діагностичні процедури, які вдається проводити амбулаторно. Тільки аналіз усієї сукупності даних, отриманих з використанням різноманітних методів діагностики, сприяє правильній інтерпретації результатів досліджень і ефективному лікуванню.

Відзначимо, що мікроскопія є єдиною областю лабораторної діагностики, де все ще домінує трудомісткій суб'єктивний якісний аналіз. Прогрес в області математики, відео і комп'ютерної техніки, виробництві автоматизованих мікроскопів створив ситуацію, коли методи автоматизованої мікроскопії (АМ) можуть бути реалізовані на відносно дешевому стандартному устаткуванні. Разом з хронічним браком висококваліфікованих лікарів-лаборантів це створює передумови для швидкого розширення виробництва аналізів методами АМ [1]. Метою даної роботи було створення автоматичної системи для отримання на оптичному мікроскопі знімків і поділу на них різних видів клітин шляхом комп'ютерної обробки мазка крові.

### Апаратура

Апаратна частина системи включає: комп'ютер, оптичний мікроскоп, цифровий

фотоапарат, систему управління рухом столика (рис. 1).

Для коректної роботи системи необхідний комп'ютер з тактовою частотою більшою 1 ГГц, з оперативною пам'яттю не менше 128 Мб, жорсткий диск не менше 10 Гб. Обов'язковою вимогою до комп'ютера є наявність LPT – порта та USB портів.

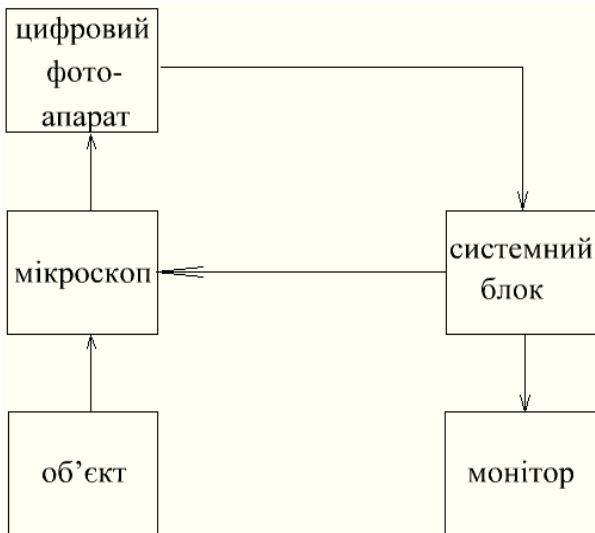


Рис. 1. Блок-схема комп'ютерної автоматизованої системи розпізнавання та аналізу клітин крові.

Як аналізуючий прилад використовувався люмінесцентний мікроскоп – ЕС ЛЮАММ - РПО11, зі вмонтованим моторизованим столиком. Мікроскоп забезпечує збільшення порядку  $\times 100$ . Можна використовувати і інші типи мікроскопів, але головною умовою є наявність моторизованого столика.

Система управління рухом столика мікроскопа базується на роботі трьох крокових двигунів (модель: ПБМГ - 48 - 256 - 200), які управляють столиком в трьох взаємоперпендикулярних напрямках X, Y і Z з великим ступенем точності.

Реєстрація зображення з мікроскопа здійснювалась в автоматичному режимі цифровим фотоапаратом фірми «Canon» Power Shot SX100 IS, що розташований на мікроскопі за допомогою спеціального тубуса.

### Отримання зображень з мікроскопа

Для отримання і збереження зображень

була створена програма на мові програмування C# в середовищі Microsoft Visual Studio 2005. Розроблена програма дозволяє переміщати моторизований столик з метою повного або часткового сканування мазка крові і передавати результати знімків у комп'ютер. Після сканування моторизований столик мікроскопа повертається у вихідне положення. Програма дозволяє задати кількість точок по горизонталі й вертикалі, згідно яких необхідно отримати фотографії, відстань між ними, швидкість обертання крокових двигунів, а також величину зміщення моторизованого столика по осі Z при визначенні сфокусованості зображення. Для того, щоб кроковий двигун почав рухатися, необхідно фази крокового двигуна живити в певній послідовності. Оскільки у даному програмно-апаратному комплексі використовувалися 4-х фазні крокові двигуни, то на кожний двигун треба подавати відразу по 4 сигнали. Щоб двигун обертався за часовою стрілкою, необхідно живити фази у такій послідовності (див. таблицю 1).

Таблиця 1

### Схема підключення фаз у прямому напрямку

ф1	ф2	ф3	ф4
+	+	-	-
-	+	+	-
-	-	+	+
+	-	-	+

Якщо потрібно обернути двигун у протилежному напрямку, то необхідно змінювати фази живлення у зворотному напрямку, як показано в таблиці 2.

Таблиця 2

### Схема підключення фаз у зворотному напрямку

ф1	ф2	ф3	ф4
+	+	-	-
+	-	-	+
-	-	+	+
-	+	+	-

Щоб забезпечити рух столика мікроскопа у всіх трьох площинах, необхідно три крокові двигуни. Для кожного двигуна необхідно чотири паралельні канали зв'язку. Для керування всіма 3 двигунами потрібно 12 паралельних виходів, на які можна встановити різний рівень напруги. Це найкраще забезпечується LPT-портом оскільки він має достатню кількість необхідних виходів. LPT-порт має 8 виходів для читання/запису і 4 - для запису. Для управління роботою крокових двигунів, які рухають моторизований столик, використовуються ніжки 2-9 LPT-порта. Для керування кроковим двигуном, який відповідає за фокусування зображення, використовуються виводи LPT-порта 1, 14, 16, 17.

Розроблена програма управляє двигунами так, щоб столик рухався змійкою. Спочатку зліва направо, потім зверху вниз, а потім справа наліво і т. д. (рис. 2.).

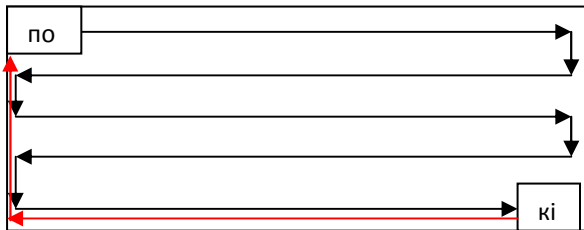


Рис. 2. Схема переміщення столика при скануванні мазка крові.

У кожній точці сканування мазка крові проводиться зйомка зображення, його обробка, порівняння з попереднім зображенням, знаходження сфокусованого зображення і після цього це зображення зберігається в спеціальній папці. Після того як столик досяг кінця руху, він повертається на початкову позицію (Рис.2).

### Метод фокусування зображення мікроскопа

Оскільки автоматична система працює з мікронними розмірами, то навіть найменші дефекти, чи нерівності на поверхні скла можуть призвести до втрати якості зображення, а, отже, і до втрати

точності досліджень. Для вирішення цієї проблеми потрібно на кожній позиції, де цифровий фотоапарат виробляє зйомку зображення, знайти найбільш чіткий знімок. Система вирішує цю проблему виконуючи такі кроки: за допомогою крокових двигунів переходить на потрібну точку мазка крові, робить зйомку об'єкта, зберігає зображення, аналізує наскільки сфокусоване зображення, переходить на клітинку вгору, робить зйомку, знову зберігає зображення і аналізує його. Після цього програма приймає рішення, яке з зображень найбільш сфокусоване, і в залежності від результату приймає наступне рішення:

1. Якщо нове зображення більш сфокусоване, ніж попереднє, то далі рухаємося вгору, поки зображення не буде гіршим і припиняємо рух;

2. Якщо нове зображення гірше ніж попереднє, то рухаємося на дві позиції вниз і аналізуємо отримане зображення. Якщо воно гірше, ніж попереднє, то припиняємо рух, якщо ні - рухаємося вниз до тих пір поки зображення не буде гіршим.

На рис. 3 зображені дві можливі комбінації руху третього двигуна для визначення найбільш сфокусованого зображення.

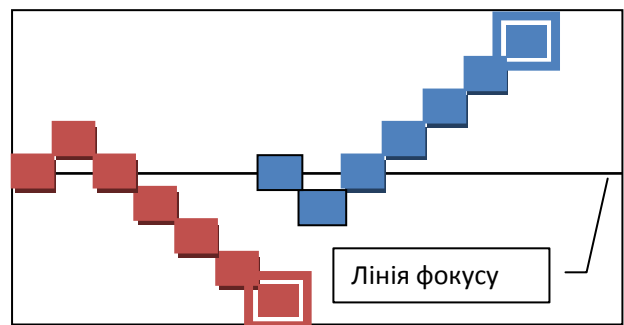


Рис. 3. Схематичне зображення руху двигуна для визначення найбільш сфокусованого зображення.

При аналізі зображення розроблена програма використовує критерій, за допомогою якого комп'ютер визначає наскільки зображення сфокусоване. Було знайдено деякий коефіцієнт, за допомогою якого можна відрізнити сфокусоване зображення від менш сфокусованого навіть при його зміщенні. Це велике число,

яке є сумою великої кількості вимірів. Для того, щоб знайти таке число, програма аналізує значення кольорів у всіх пікселях зображення та динаміку змін кольору у певних точках **всього** зображення і визначається різниця цих значень. Сума цих значень визначає ступінь фокусування зображення.

Після того, як знайдено найбільш сфокусоване зображення, воно зберігається в другу окрему папку. Номер цього зображення (файла) у папці визначається номером точки, в якій це зображення було отримано, а файли з першої папки видаляються.

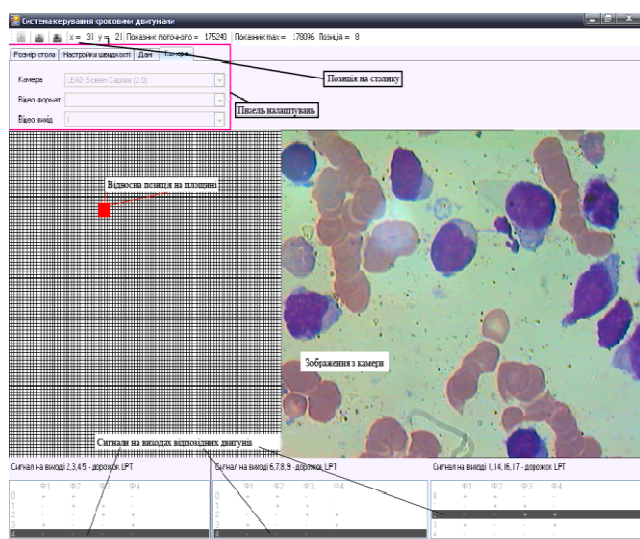


Рис. 4. Видяг програми у процесі роботи.

### Програма розпізнавання клітин «ProjectExt»

Отримані зображення з мікроскопа зберігаються у одному зі стандартних форматів на комп'ютері: bmp, jpg або jpeg. Виникає завдання автоматизованого знаходження та виділення клітин крові на цих зображеннях. З цією метою була розроблена програма автоматизованого розпізнавання клітин на графічних зображеннях.

Будемо вважати, що мікроскоп попередньо сфокусований і на вхід програми потрапляють чіткі сфокусовані зображення. На рис. 5 продемонстровано типове сфокусоване зображення.

Програма «ProjectExt» дозволяє аналізувати отриманий знімок крові, розпізнати та підрахувати статистичні дані

зображених на ньому клітин. Розпізнавання та обрахунки проводяться одним натисканням кнопки. Потім результат можна зберегти.

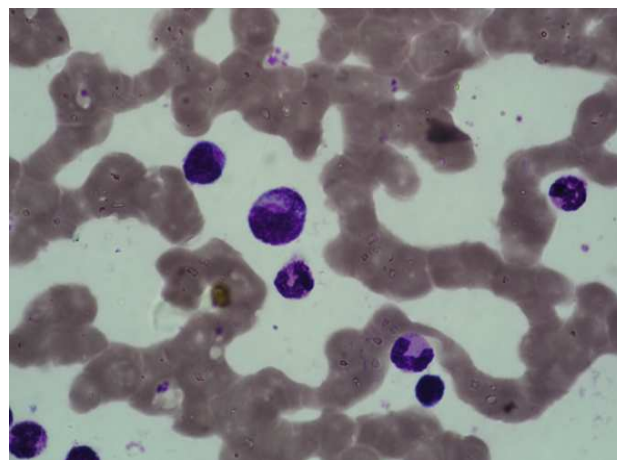


Рис. 5. Фотографія клітин крові.

### Технічні відомості

Програма написана на мові C++, розроблена і скомпільована у середовищі VisualStudio 2010 на платформі NET Framework 3.5. Головне вікно програми показано на рис.6.

*Тип проекту:* Windows Forms Application, стандартна графічна програма Windows.

*Операційна система:* Windows XP/Vista/7. Вимоги до дисплею: кольоровий дисплей (32-бітні кольори), 1024x768.

*Вхідні дані:* графічні зображення крові у форматі bmp, jpg або jpeg.

*Вихідні дані:* графічні зображення клітин крові у форматі bmp та статистична інформація.

### Алгоритм роботи

Для аналізу зображень у програмі використано наступні алгоритми:

- Алгоритм бінаризації зображення.
- Медіанний фільтр.
- Хвильовий алгоритм (або пошук в ширину).
- Алгоритм очистки шумів зображення, що видаляє сторонні клітини (шматки), що потрапили на зображення.

*Алгоритм бінаризації* - це простий алгоритм, який ставить у відповідність кожному пікселю зображення одного із двох кольорів – білого або чорного [2-4].

Іншими словами зображення переводиться з кольорового в чорно-біле. Знаючи, що кольори клітин значно відрізняються від кольору фону, можна задати деякий поріг бінаризації (числовий коефіцієнт), який дозволить відділити клітини від фону.

Як відомо [2], колір кожного пікселя можна задати чотирма складовими  $R, G, B, A$  – червона, зелена, синя складова і глибина кольору відповідно. Кожна складова приймає значення з діапазону 0-255 (8 біт), отже колір задається 24-бітним значенням. Для того, щоб колір пікселя можна було порівняти з деяким пороговим значенням, необхідно перевести 24-бітне значення у 8-бітне, яке називають градаціями сірого кольору.

Для переведення можна скористатись двома різними формулами (1) та (2).

$$I = (R + G + B) / 3 \quad (1)$$

$$I = 0.2989 \times R + 0.5870 \times G + 0.1140 \times B, \quad (2)$$

де:  $I$  – 8-бітне значення кольору,  $R, G, B$  – червона, зелена і синя складові відповідно.

*Медіанний фільтр* - це алгоритм згладжування бінаризованого зображення [5]. Логіка роботи фільтру наступна: для кожного пікселя вибираються кольори (чорний або білий) його сусідніх 8-ми пікселів. Підраховується, скільки серед них чорних і скільки білих. Даному пікселю назначається той колір, який переважає у його оточенні. При підрахунку враховується також і колір даного пікселя – маючи непарну кількість значень (а саме 9) можна однозначно визначити колір пікселя.

*Хвильовий алгоритм* - широко використовується в алгоритмах теорії графів та задачах пошуку виходу з лабіринту і відомий також під назвою пошук в ширину [6]. Використовується для пошуку чорних плям на бінаризованому зображенні. Після бінаризації зображення і обробки його медіанним фільтром на виході отримується зображення, на якому об'єкти, що нас цікавлять (клітини крові)

позначені чорним кольором, а фон – білим. Враховуючи, що чорним кольором позначаються також різні шуми, то на зображенні присутні і чорні плями, які не несуть смислового навантаження і заважають розпізнаванню. Останні мають невеликі розміри і можуть бути усунуті з розгляду введенням деякого мінімального значення розміру клітини крові. Усі об'єкти, які менші за цей розмір, не беруться до уваги.

*Алгоритм усунення сторонніх об'єктів* оббігає бінаризоване зображення з двох циклах – спочатку по горизонталі, а потім по вертикалі. Аналізується кожен піксель зображення і якщо він близько до краю зображення (тобто, шматок іншої клітини) і він чорний, то залежно від напрямку проходження (горизонталь або вертикаль) діаметрально протилежно затираються всі сусідні по лінії пікселі чорного кольору, поки не буде досягнуто краю зображення, або білого пікселя.

## Принцип роботи

Програма запускається при натисненні кнопки **LOAD** і починає працювати в автоматичному режимі. На початку роботи програми зображення бінаризується, потім проходить через медіанний фільтр, далі розпочинається процес розпізнавання зображення, яке зафіксоване фотоапаратом. Після відбувається розпізнавання зображення клітин. Далі вони копіюються у вигляді як бінаризованого, так і кольорового зображень, проходять очистку від шумів та очистку фона відповідно.

На рис. 6-11 показані скріншоти послідовних кроків роботи програми. На початку завантаження програми (рис. 6) з'являється головне вікно програми для вибору подальших дій. Потім проходить процес обробки зображень (рис. 9). Наприкінці на екран дисплея виводиться каталог оброблених зображень клітин з їх параметрами (див. рис. 10):

1. Порядковий номер клітини.
2. Загальна кількість пікселів прямокутника, в якому розміщена клітина.
3. Кількість пікселів клітини.

4. Кольори R, B, G по всій клітині.
5. Ширина і висота клітини в пікселях.
6. Центр маси клітини.
7. Параметр L у розрахунку на один піксель за формулами (1) і (2).
8. Значення параметра K.

У каталозі поруч із зображенням клітини показаний розмір прямокутника в пікселях, в якому знаходиться клітина (характеризує розмір клітини); гистограма

трьох складових кольору клітини Red, Green і Blue, що припадають на один піксель зображення клітини, їх значення; значення  $L_p / r_x$  (розраховане за формулою 1), що припадає на один піксель; значення  $L_{fp} / r_x$  (розраховане за формулою 2), що припадає на один піксель; гистограма розподілу радіусів клітини і коефіцієнт K, що характеризує цей розподіл.

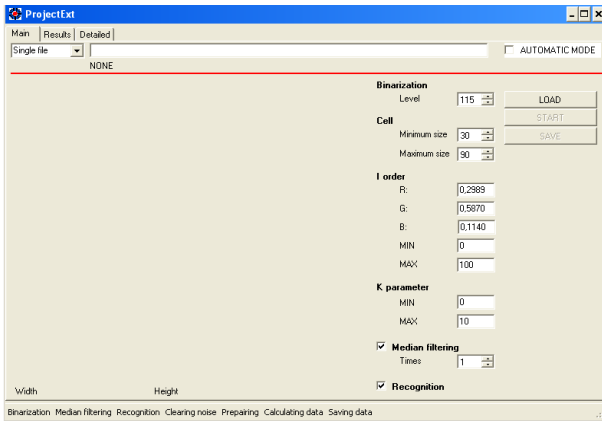


Рис. 6. Головне вікно програми.

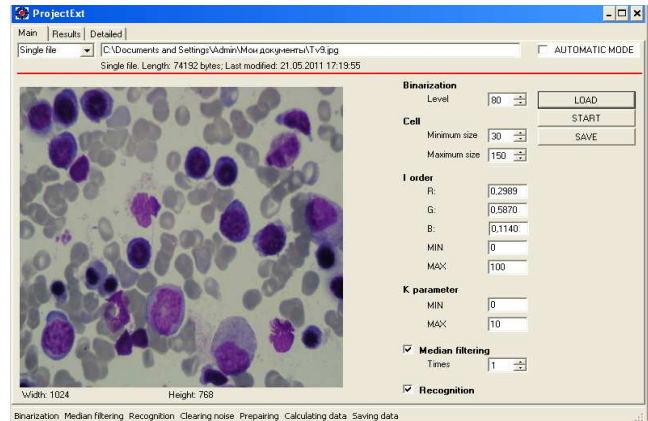


Рис. 7. Завантаження зображення у полі мікроскопу.

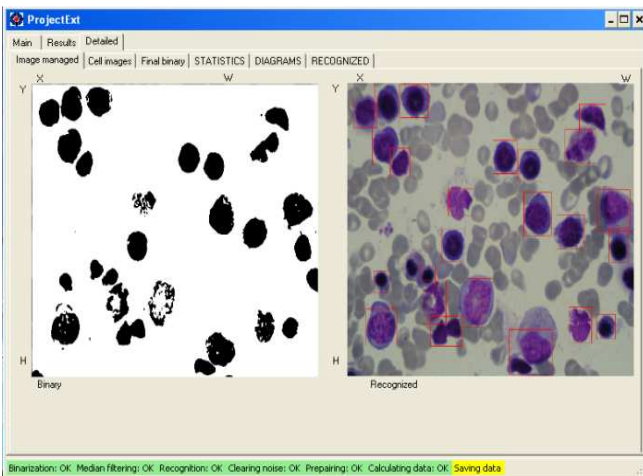


Рис. 8. Бінаризація зображення.

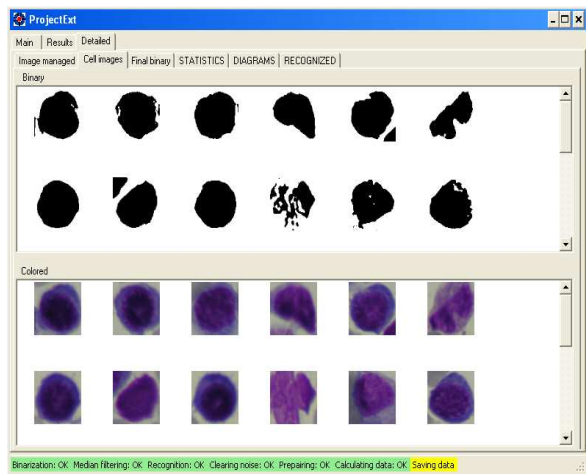


Рис. 9. Комп'ютерна обробка зображення клітин.

Cells	Image Size	Total Pixels	Object Pixels	R	G	B
Cell_1	Xx88, Y=101	8888	5380	262462	155677	458390
Cell_2	Xx89, Y=88	8712	5103	270206	151955	456089
Cell_3	Xx84, Y=82	6888	4205	265908	117493	411669
Cell_4	Xx95, Y=71	6745	3445	231074	90077	344366
Cell_5	Xx95, Y=103	9785	5720	378518	191159	627457
Cell_6	Xx112, Y=88	9656	4180	342721	135083	478623
Cell_7	Xx86, Y=88	7550	4842	242817	130507	440466
Cell_8	Xx70, Y=70	5403	2807	201494	70839	286387
Cell_9	Xx82, Y=82	6806	4111	202472	117019	374724
Cell_10	Xx89, Y=70	6230	2156	222895	85205	284826
Cell_11	Xx117, Y=107	12519	6752	546753	245585	722864
Cell_12	Xx99, Y=114	11286	6677	439445	219323	718052
Cell_13	Xx89, Y=81	9009	5299	291842	133614	478078
Cell_14	Xx70, Y=89	6230	3308	117746	86294	222609
Cell_15	Xx81, Y=87	7047	4479	238969	130425	432574
Cell_16	Xx67, Y=62	3534	1802	79190	54956	138734
Cell_17	Xx69, Y=55	3795	1861	83223	62453	146883
Cell_18	Xx57, Y=57	3249	1657	66235	50676	118150
Cell_19	Xx87, Y=96	8352	2067	217487	92235	276214

Рис. 10. Параметри клітин крові.

Cell	Size XxY	Mass center X, Y	Red	Green	Blue	L p (px)	L f (px)	K parameter
Cell_1	62x70	39, 43	24.148	5.326	34.808	68	49.983	2.5
Cell_2	75x74	43, 42	17.406	10.632	31.475	59	45.034	6.5
Cell_3	94x85	45, 42	37.381	17.477	45.138	59	79.733	2.174
Cell_4	75x79	43, 43	18.689	10.905	33.224	62	47.333	6

Рис. 11. Каталог (бібліотека) клітин з їх параметрами.

Оброблені результати в автоматичному режимі аналізуються і зберігаються у вигляді набору наступних файлів:

- Інформація про дату та час проведення експерименту.
- Бінаризоване зображення.
- Кольорове розпізнавання зображення.
- Каталог з параметричною інформацією на кожну клітину, там же додані діаграмами та оброблені зображенням дослідженої клітини.

## Висновки

Таким чином, запропонована та розроблена нами комп'ютерна система розпізнавання і аналізу клітин крові дозволяє в автоматичному режимі проводити експрес-аналіз стану клітин крові та визначати їх характеристики. У режимі реального часу утворюється база даних зразків крові і створюється каталог даних на кожну клітину.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hatcher Michael. Medicine to boost microscopy market. Opto and Laser Europe magazine. 14 February 2003.
2. Претт У.К. Цифровая обработка изображений. - Т.2. - М.: Мир, 1982. – 790 с.
3. Swolin Cm., Simonsson P. et al. Differential counting of blood leukocytes using automated microscopy and a decision support system based on artificial neural networks - evaluation of DiffMaster Octavia. Clin Lab Haematol. 2003 Jun; 25(3):139-147.
4. Козинец Г.И., Погорелов В.М. и др. Клетки крови – современные технологии их анализа. – М.: Триада – фарм, 2002г. - 200 с.
5. Розенфельд А. Распознавание и обработка изображений. – М.: Мир, 1987. – 230 с.
6. Траер Д., Такст Т.. Оценка эффективности методов бинаризации / URL:[http://citeseer.nj.nec.com/cache/papers/cs/4013/ftp:zszzszftp.ifi.uio.nozszzubzsztrierzszeval\\_tr.pdf/evaluation-of-binarization-methods.pdf](http://citeseer.nj.nec.com/cache/papers/cs/4013/ftp:zszzszftp.ifi.uio.nozszzubzsztrierzszeval_tr.pdf/evaluation-of-binarization-methods.pdf), 1995.

Стаття надійшла до редакції 27.05.2011

A.A. Bubryak, S.V. Vasil'ev, Yu. Hropin

Transcarpathian State University,  
88015, Uzhhorod, Str. Zankovetska, 89a  
e-mail: hropingeorgiy@mail.ru

## THE COMPUTER SYSTEM AUTOMATICALLY RECOGNITION AND ANALYSIS OF BLOOD CELLS

For the study, calculation and analysis of blood cells is used as a manual microscopic methods, as well as counters of various levels of automation. In most countries the automatic analysis of blood almost completely replaced the manual and semiautomatic methods. Proposed and implemented a system of automatic recognition and analysis of blood cells.

**Key words:** automatic recognition, analysis, blood cells, the computer system.

А.А. Бубряк, С.В. Васильев, Г.Ю. Хропин

Закарпатский государственный университет, 88015, Ужгород, ул. Заньковецкой, 89а  
e-mail: hropingeorgiy@mail.ru

## **КОМПЬЮТЕРНАЯ СИСТЕМА АВТОМАТИЧЕСКОГО РАСПОЗНАВАНИЯ И АНАЛИЗА КЛЕТОК КРОВИ**

Для исследования, подсчета и анализа клеток крови используют как ручные микроскопические методы, так и счетчики разного уровня автоматизации. В большинстве стран автоматический анализ крови почти полностью заменил ручные и полуавтоматические методы. Предложена и реализована система автоматического распознавания и анализа клеток крови.

**Ключевые слова:** автоматическое распознавание, анализ, клетки крови, компьютерная система.