

# **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ОБРАБОТКИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ДЛЯ АВТОМАТИЧЕСКОЙ ФОКУСИРОВКИ ОПТИЧЕСКОГО МИКРОСКОПА.**

Деркач А.А., гр. ИУС-06м

e-mail: [aleksey.derkach@gmail.com](mailto:aleksey.derkach@gmail.com)

Руководитель доц. Привалов М.В.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Медицинская микроскопия биоматериалов более 100 лет является незаменимым источником диагностической информации и вместе с тем остается единственной областью лабораторной диагностики, где все еще доминирует субъективный качественный анализ. Особенно это касается исследований, связанных с клетками тканей человека (крови, лимфы, слизистых оболочек и т.д.) Развитие современных средств ввода изображения с микроскопа (недорогих фото- и видеокамер) в компьютер позволило обрабатывать изображения с использованием различных методов морфологической обработки.

Как и всякий оптический прибор, микроскоп требует точной настройки фокуса. В большинстве случаев эту настройку выполняет сам оператор исследовательского комплекса. Ему приходится вручную, вращая регулировочные винты, устанавливать фокус таким образом, чтобы можно было получить максимально четкое изображение. Процесс ручной фокусировки имеет следующие недостатки:

- Затраты времени (зачастую больше времени тратится на саму настройку микроскопа, чем на получение снимка объекта и анализ полученного изображения)
- Высокая вероятность неточной настройки (особенно у операторов со сниженным зрением или которые пользуются очками)

- Применение ручного труда там, где возможно применение автоматизированной системы
- Повышенная нагрузка на зрительный аппарат оператора.

## ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Объектом исследования являются изображения клеток крови человека *in vitro* – в пробирке. Изображения в нормальных условиях. Они применяются для анализа и прогнозирования процессов, происходящих с клетками крови с целью повышения эффективности диагностики и лечения.

Резкость – один из самых главных фотографических критериев качества изображения. Этот фактор лучше других указывает на наличие мелких деталей на изображении. Контрастные детали позволяют нашему глазу проще находить границы объектов, что и воспринимается мозгом как усиление "резкости". Именно поэтому все методы усиления резкости, по-сути, меняют только наше визуальное восприятие снимка, но не меняют его истинной резкостной характеристики – количества хорошо различимых деталей на единицу площади кадра.

Резкость определяется границами между зонами различных тонов или цветов. Это иллюстрирует образец шкалы увеличения пространственной частоты.



Рисунок 1 – Шкала увеличения пространственной частоты

В оптической системе пространственная частота является эквивалентом частотной характеристики, показывающая как много узоров или циклов

определенной синусовой плотности присутствуют на одном миллиметре ширины [1].

Функция резкости представляет собой некое числовое значение, зависящее от параметров входного изображения – таких как яркость, цветовые уровни. В общем виде ее можно записать как:

$$\text{Sharpness} = F(I) \quad (1)$$

где  $I$  – пространственная функция яркости:

$$I(x, y) \quad (2)$$

Все значения этой функции можно представить в виде матрицы яркостей пикселей изображения размерностью  $\omega_x$  на  $\omega_y$ :

$$I = \begin{bmatrix} i_{00} & i_{01} & \dots & \dots & i_{0\omega_x-1} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ i_{\omega_y-10} & i_{\omega_y-11} & \dots & \dots & i_{\omega_y-1\omega_x-1} \end{bmatrix} \quad (3)$$

где  $i_{xy}$  – яркость пикселя с координатами  $x$  и  $y$ .

В качестве функции  $F(I)$  выступает функция, описанная в том или ином методе расчета меры резкости. В результате вычислений мы получим набор значений функции Sharpness.

Процесс нахождения оптимального фокуса записать в общем виде как задачу поиска экстремума функции резкости:

$$\text{Sharpness} = f(N) \quad (4)$$

В зависимости от метода вычисления меры резкости возможен вариант нахождения не максимума, а минимума данной функции.

Каждому значению функции Sharpness можно поставить в соответствие положение фокуса микроскопа  $N$ . Тогда, найдя экстремум функции

Sharpness, мы однозначно определим оптимальное положение фокуса микроскопа  $n_{opt}$ .

## ОПИСАНИЕ МЕТОДОВ РАСЧЕТА ФУНКЦИИ РЕЗКОСТИ

### 1. Метод амплитуды градаций «серого»

Хорошими показателями в вычислении функции резкости характеризуется метод амплитуды градаций «серого». В этом случае формула для нахождения меры резкости будет иметь вид [2]:

$$M = \frac{1}{\omega_x \omega_y} \sum_{i,j} |g_{ij} - \bar{I}| \quad (5)$$

где  $\bar{I}$  - среднее значение уровня яркости, вычисляемое по формуле:

$$\bar{I} = \frac{1}{\omega_x \omega_y} \sum_{i,j} g_{ij} \quad (6)$$

и  $\omega_x, \omega_y$  - размер изображения.

### 2. Метод второй производной (Laplacian)

Использование вторых производных – еще одна техника для прохождения высоких пространственных частот, которые ассоциируются с четкими краями. В качестве второй производной мы используем оператор Лапласа, который аппроксимируется по маске [2]:

$$L = \frac{1}{6} \begin{pmatrix} 1 & 4 & 1 \\ 4 & -20 & 4 \\ 1 & 4 & 1 \end{pmatrix} \quad (7)$$

После этого мы получаем новое изображение  $L'$ , по которому производим расчет функции резкости по формуле:

$$LAP = \sum_i^{\omega_x} \sum_j^{\omega_y} L', \text{ для } |L'| > T \quad (8)$$

### 3. Метод «сумма-модуль-разность» (SMD)

Метод «сумма-модуль-разность» («sum-modulus-difference», SMD) просто вычисляет сумму разностей между яркостями соседних пикселей [3]:

$$SMD = \sum_i^{\omega_x} \sum_j^{\omega_y} |I(i,j) - I(i,j-1)| + \sum_i^{\omega_x} \sum_j^{\omega_y} |I(i,j) - I(i+1,j)| \quad (2.10)$$

Проанализируем приведенные выше методы на основании экспериментальных данных. Для проведения эксперимента была использована серия из 10 тестовых изображений размером 640x480 пикселей с различной сфокусированностью. После этого были рассчитаны значения функции резкости вышеописанными методами. Результаты расчетов и нормированные значения приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты экспериментальных расчетов

Амплитуда градаций «серого»	Нормированные значения амплитуды	Laplacian	Нормированные значения Laplacian	SMD	Нормированные значения SMD
41,27891037	100	0,0359480 0	100	1,8680078 1	100
40,16878446	97,31067052	0,0005782 8	1,608652217	1,5565527 3	83,32719934
40,74964442	98,71782966	0,0006109 5	1,699536523	1,4465299 5	77,437331
41,08986639	99,54203254	0,0006044 2	1,681359662	1,3466503 9	72,09046186
39,24042645	95,06168186	0,0005488 7	1,526856341	1,2864811 2	68,86941017
39,74174419	96,27614642	0,0005913 5	1,645005939	1,2682584 6	67,89389365
40,70970919	98,62108476	0,0006272 8	1,744978676	1,2821386 7	68,63694517
40,07834266	97,09157123	0,0005946 1	1,65409437	1,2687239 6	67,91881306
38,97982268	94,43035761	0,0005554 1	1,545033203	1,2693326 8	67,95139998
39,21674136	95,00430368	0,0005717	1,590475356	1,2758886	68,30236287

Для более наглядного представления данных экспериментальных исследований строятся кривые фокуса, по которым можно однозначно определить положение точки фокуса, полученное в результате расчетов тем или иным методом. Чтобы свести результаты просчетов по 3 методам в одно целое, было выполнено нормирование значений. График кривой фокуса приведен на рисунке 2.

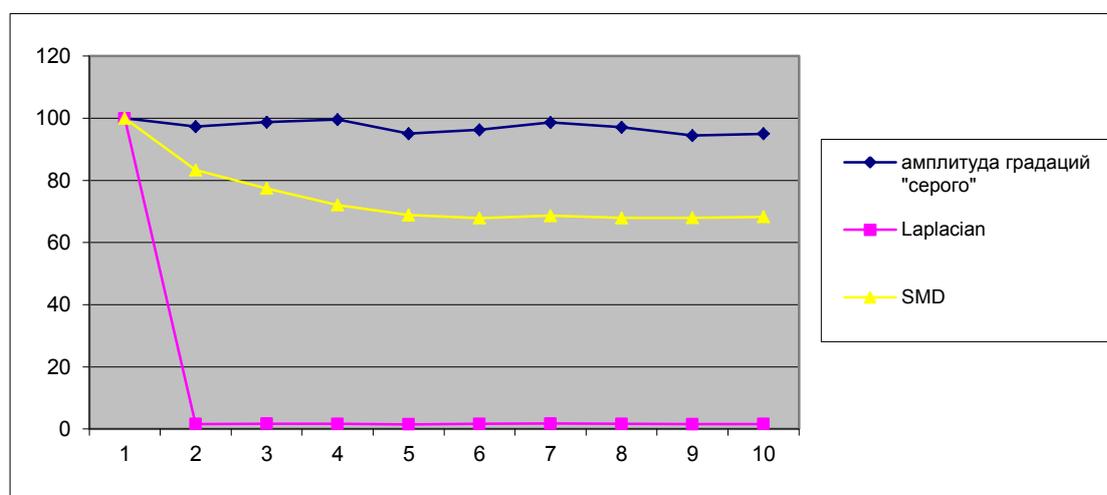


Рисунок 2 – Графики кривых фокуса

Как видно из графика, наиболее все 3 метода указали на одну и ту же точку фокуса – первое изображение. Но следует отметить, что метод второй производной (Laplacian) наиболее четко показывает различия между сфокусированным и не сфокусированным изображением – на графике резкий перепад функции от экстремума.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для использования в задаче фокусировки оптического микроскопа предлагается использовать вышеописанные методы. Выбор метода расчета функции резкости для использования при автоматической фокусировке оптического микроскопа необходимо делать, исходя из специфики

объектов, исследуемых под микроскопом.

#### Список источников

1. Базелкин Олег «Что такое свет для фотографии. Часть 3»/ Электронный документ. Способ доступа URL: [http://www.cctvcamera.ru/?action=publication&p\\_id=6](http://www.cctvcamera.ru/?action=publication&p_id=6)
2. Pech-Pacheco J.L., Cristobal G. "Diatom autofocusing in brightfield microscopy: a comparative study" Instituto de Optica (CSIC), Madrid. Spain, 2001
3. Jarvis, R. A., "Focus Optimisation Criteria for Computer Image Processing," Microscope 24(2), 1976, pp. 163-180.