

DOI:10.19651/j.cnki.emt.2105659

基于视觉跟踪的多焦面识别在镜检中的应用研究*

刘聪 侯剑平 赵万里 王驰
(安图实验仪器(郑州)有限公司 郑州 450016)

摘要:为了解决白带镜检下的玻片样本中白细胞,滴虫,上皮细胞等不同有形成分具有流动性且处于多个焦面以至难以获取到感兴趣焦面的问题,提出了一种基于视觉跟踪的自动对焦清晰度判定算法。算法分为粗粒度和细粒度两个对焦过程,粗粒度对焦主要用于将焦面固定于真正需要的焦面附近,细粒度对焦从粗粒度对焦结束位置附近开始,逐渐往回移动镜头,并同时依据病理判断依据物体包括白细胞,念珠菌等的提取并对其进行清晰度识别判定,最终得出病理判断依据物体所在的最清晰的焦面,通过实验室1556份自动对焦过程的实际测试,算法可以有效提升自动对焦成功率,实现了自动化对焦,节省了实验室人力成本。

关键词:数字图像处理;自动对焦;清晰度判定;多焦面;视觉跟踪

中图分类号: TP751.1 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 520.1040

Application research of auto focus based on visual tracking in microscope

Liu Cong Hou Jianping Zhao Wanli Wang Chi
(Autobio Labtec Instruments Co., Ltd., Zhengzhou 450016, China)

Abstract: Because the white blood cells, trichomonas and epithelial cells in the samples under the leucorrhoea microscopic examination have the characteristics of fluidity, and they are on the two or more focal planes. In order to solve the problem that it is difficult to obtain the focal plane of interest, an automatic focusing definition judgment algorithm based on visual tracking is designed. The algorithm is divided into two focusing processes, coarse granularity and fine granularity. Coarse-grained focusing is mainly used to fix the focal plane near the true focal plane. Fine-grained focusing starts near the end position of the coarse-grained focusing. Fine-grained focusing is realized by moving the camera gradually, extracting the pathological basis object such as white blood cells and candida albicans, performing definition recognition judgment. Finally the clearest focal plane where the objects of the pathological basis are located is obtained. Through 1556 actual tests of the automatic focusing process, the algorithm can effectively improve the success rate of automatic focusing. By achieving automatic focusing, the cost of laboratory manpower is saved.

Keywords: digital image processing; auto focus; sharpness determination; multi-focal surface; visual tracking

0 引言

电子显微系统作为医学检测领域常用的设备,但由于其景深和视野有限,病理科医生在观察病理图像时往往需要不断调整镜头来达到聚焦,同时还要移动玻片观察病理图像的各个位置来完成诊断。这种传统的方式会导致医生工作量大、效率低、诊断准确率低,已很难满足当前的需求。随着数字图像处理技术的日渐成熟与计算机的快速发展,对图像的采集存储等技术也更加的成熟,运用图像处理来解决自动对焦的方式也被越来越广泛的应用在织物缺陷检测、医学等。国外的发展时间较早,Groen等^[1]对前人在显

微镜和其他光学系统在自动对焦技术中的11种评价函数算子利用典型目标图像的实验进行了比较,通过分析实验结果发现拉普拉斯梯度算子、梯度方差算子和归一化绝对方差算子具有较好的对焦效果;Luo等^[2]提出能量最大值法和直方图方差最大值(Variance直方图)法,实验结果表明,所提出的两种算子能够在调焦过程中进行大范围的快速搜索,从而减少计算量,在一定程度上提高了自动对焦的精度和速度;Redondo等^[3]针对医学显微镜系统研究了自动对焦算法,对拍摄得到的图像利用16种评价函数进行测试,比较各种评价函数调焦精度误差和运算量的同时,分析了照度和噪声变化对评价函数的影响。近些年,国内的发

收稿日期:2021-01-05

*基金项目:河南省重大科技专项(201111310700)资助

展趋势也逐渐加快,林兆华等^[4]设计了一种自适应步长的方法进行调焦;文献^[5-8]将自动对焦面对的多焦面问题应用图像融合的方法去解决并应用在了纺织品数字化检测中;马海波等^[9]将 HOG 特征应用于显微镜自动对焦算法;这种基于数字图像处理的自动对焦方式可以分为以下两种:聚焦深度法^[10](depth from focus, DFF)和离焦深度法^[10](depth from defocus, DFD)。

本文根据白带镜检玻片样本在显微镜下有形成分处于多个焦面,且传统对焦算法往往无法得到正确的焦面位置的特点,设计了一种粗细粒度相结合的数字图像自动对焦算法,该算法可以有效抵抗白细胞等大的有形成分的干扰,帮助实验人员自动获取正确的焦面位置,较大地节省了实验室人力成本。

1 材料和方法

通过对白带镜检玻片下细胞与致病微生物群落所在的最清晰焦面分布进行分析,得出如下结论:

1) 上皮细胞等体积与质量较大的物体一般分布在最深焦面,记为一类物体;

2) 白细胞,滴虫,念珠菌等病理判断依据细胞与致病物的体积较小,一般分布较浅的浅层焦面,记为二类物体;

3) 一类物体与二类物体等最清晰的焦面位置相距不超过 10 帧。

由于疾病的判断依据主要为白细胞,念珠菌,滴虫等体积较小的二类物体,因此将二类物体清楚的呈现给识别软件就显得至关重要,然而基于图片整体清晰度判定的自动对焦算法,使得最终的焦面总是偏向于上皮细胞等较大物体所在位置的焦面位置,对识别软件造成了较大的影响,同时也不利于人工进行复查,因此本文在粗粒度对焦的基础上设计了一种细粒度算法去根据病理判断依据物体的特点进行矫正的细粒度微调。

通过实验室具有丰富经验的实验员对测试的 1 826 份有效临床样本的实验,有效对焦成功率从仅有粗粒度对焦时的 70.65% 上升到了 98.03%,极大地提升了对焦成功率。本文创新性的将自动对焦算法整体设计框架分为了粗粒度与细粒度两个过程,下面将对两个过程分别进行详细介绍。

1.1 粗粒度自动对焦算法设计

传统自动对焦算法认为对焦过程整体上对于人眼是一个由模糊到清晰到模糊再到模糊的过程,其整体清晰度呈现一种抛物线的变化趋势,所以据此作为一种优化的策略,进行粗粒度清晰度的算法设计如式(1)所示, $f(x)$ 为当前帧图片清晰度变化函数,将这一阶段称为粗粒度对焦过程。

$$\max\{f(x), x \in \text{电机移动行程各个位置}\} \quad (1)$$

粗粒度算法设计如下:

1) 将电机移动过程中电子显微镜拍摄的每一帧图片都划分为九宫格;

2) 并行计算出每一个九宫格中图片的清晰度,分别记录当前帧中各个九宫格的清晰度得分情况;

3) 控制电机发送固定数量的脉冲,移动镜头的位置,改变镜头到玻片的距离,拍照保存同时按照步骤 2) 的方法记录电机移动过程中当前帧九宫格中的各个位置的清晰度得分;

4) 重复步骤 3) 获取到九宫格中各个位置的清晰度变化趋势,根据式(1)获取各个位置清晰度得分最大值所对应的脉冲数量;

5) 将得到的各个位置的清晰度得分进行归一化,并以此为权重乘以各自最清晰焦面对应的脉冲数量位置,加权求出最终焦面对应的脉冲数量如式(2)所示,其中 S 为九宫格中各个位置的清晰度得分, C 为对应的脉冲数量。

$$P = \sum_{j=0}^8 \frac{S_j}{\sum_{i=0}^8 S_i} * C_j \quad (2)$$

粗粒度对焦过程中将图片划分为九宫格的方式分别对九宫格各个位置进行清晰度的计算,一方面可以利用多核并行带来的速度优势,另一方面,使用清晰度得分归一化并作为权重的计算方法可以使得焦面位置在粗粒度对焦时进一步接近真正的焦面。需要强调的是在粗粒度过程中,步骤 3) 中保存的图片需要保存编号并在内存中保存相应编号与脉冲数量的映射关系,以便于细粒度对焦时所使用。

1.2 细粒度自动对焦算法设计

聚焦窗口的选取直接影响着后续聚焦算法的计算量、复杂度和准确度^[11]。传统的聚焦窗口选择方法有中央选择法^[12]、倒 T 型选择法^[13]和黄金多点选择法^[13]等,但这些都假设对焦目标是固定的或者符合某种规律,镜检下的目标对象都具有很强的不确定性,因此传统方法都具有一定的局限性。

由于细胞与微生物群落分布的复杂性,粗粒度对焦最终所得的焦面往往无法获得正确的焦面位置,因此本文创新性设计了细粒度的自动对焦算法来对粗粒度对焦最终结果进行二次矫正,细粒度算法设计如下:

1) 设粗粒度自动对焦最终焦面相应脉冲数量对应的图片索引编号为 a ,则矫正开始的位置为向上取整;

2) 自步骤 1) 中获取的矫正位置开始,依次往回对粗粒度对焦时保存的连续的 10 帧图片进行矫正;

3) 分别提取每张图片上的白细胞,念珠菌等二类物体,计算每个二类物体的最大内接矩形的清晰度平均值,累加得到最终的当前图片的整体清晰度;

4) 重复步骤 3) 直到 10 帧图像的清晰度计算完成;

5) 分别对相邻两帧图片的得分进行对比,判断得分变化趋势,依照评分规则得出最终焦面位置。

1.3 二类物体的提取算法

在二类物体进行提取之前,需要先对图像进行一些预处理,包括灰度化、边缘检测、提取轮廓、提取特征值等。

每一帧图像中提取的特征值结构体如下:

```
Struct feature_region
{
cv::Point centor;//提取二类物体的中心点
float region_area;//提取二类物体的面积
int region_height;//提取二类物体的高度
int region_width;//提取二类物体的宽度
float goal;//提取二类物体的得分
bool has_match=false;//是否和下一帧中提取的二类物体匹配
};
```

算法首先提取对应的白细胞等二类物体,接着分别计算每个二类物体内部的清晰度平均值,并提取特征值,保存在类型为 feature_region 的结构体中。

1.4 提取特征值

二类物体的筛选主要依靠圆度如式(3)所示,其中 p 为区域中心点, p_i 为轮廓上全部像素点, F 为轮廓面积;轮廓面积,轮廓长宽比如式(4)所示,区域像素灰度平均值等特征,进行提取,同时保存对应应在图片中的索引位置。

$$D = \frac{1}{F} \sum \| p - p_i \|$$

$$\text{Sigma}^2 = \frac{1}{F} \sum (\| p - p_i \| - D)^2 \quad (3)$$

$$\text{Roundness} = 1 - \frac{\text{Sigma}}{D}$$

$$\text{Sides} = 1.4111 \left(\frac{\text{Roundness}}{\text{Sigma}} \right)^{0.4724}$$

$$\text{Obj}_{\text{HWRatio}} = \text{Obj}_{\text{boundingboxH}} / \text{Obj}_{\text{boundingboxW}} \quad (4)$$

1.5 跟踪算法的应用

在相邻两帧图像中,分别筛选出二类物体之后,选取二类物体的中心点运用欧氏距离式(5)匹配与之最近相邻帧中的距离最近的二类物体,再根据面积比例等特征值进行二次校验,针对匹配成功的物体将纳入两帧之间的清晰度差值的计算,匹配不成功的物体将舍去不进行清晰度计算。

$$D = \sqrt{(p1.x - p2.x)^2 + (p1.y - p2.y)^2} \quad (5)$$

1.6 清晰度计算

传统的清晰度对比函数主要有 Variance 函数^[14]、Robert 函数^[15]、EOG 函数^[16]、Tenengrad 函数^[16]以及文献[17]的 SV 函数(Sobel 函数和方差函数结合),通过验证发现,在粗粒度对焦过程中,这些清晰度函数的选择影响不大,因此选择了当前像素点四邻接像素点的梯度差作为清晰度计算方法如式(6)所示,其中 $g(x, y)$ 为图像在 (x, y) 处的像素值。在粗粒度对焦过程中,算法会针对整张图像的九宫格中分别应用式(6)进行清晰度评分。但是由于在细粒度对焦的过程中,二类物体的边缘会逐渐清晰后逐渐模糊,且边缘在模糊的过程中会产生光影,而光影的梯度较大,因此算法提取了检测到的二类物体中的最大内接矩形,

并在矩形内部进行清晰度计算,其中 k 为矩形内部像素个数,来避免光影造成的影响。

$$d(x, y) = |g(x+1, y) - g(x, y)| + |g(x-1, y) - g(x, y)| + |g(x, y+1) - g(x, y)| + |g(x, y-1) - g(x, y)|$$

$$S = \sum \sum d(x, y) / k \quad (6)$$

1.7 评分规则的制定

由于细胞与微生物群落的流动性与复杂性,为了提升算法稳定性,设计了一整套的评分规则。

清晰度对比过程中,每次只比对相邻两帧图像,在两帧图像中只针对跟踪到的物体进行清晰度的叠加对比。对比 10 帧连续相邻图片之间的清晰度差值,当差值正值,记为正向波动;当差值为负值,计为负向波动;但是由于噪声等因素,清晰度会出现假波动即在连续的正向波动中出现一次负向波动或者在连续的负向波动中出现一次正向波动,因此需要对评分规则进行更加细致的划分。

本文创新性制定的评分规则如下:

- 1) 如果只出现一次正向波动转为负向波动,那么就当前正向波动位置跳过相邻的负向波动继续向后查询,如果波动依然为正向波动,重复向后查询直到波动变为负向波动或查询到矫正最大值 10 张图片,即为最终焦面;
- 2) 如果出现两次以上正向波动转为负向波动,就以两次波动绝对值和最大值作为起始位置,重复步骤 1) 获取最终焦面;
- 3) 如果全部为正向波动,说明直到矫正到最大值 10 张图片二类物体才变为最清晰,焦面位置即为矫正起始位置减 10;
- 4) 如果全部为负向波动,说明矫正起始位置即为最清晰的图片,焦面位置即为起始位置;
- 5) 如果所有波动全部为 0,即玻片当前位置没有二类物体存在,则以粗粒度最终焦面所在位置为最终焦面。

2 实验结果

2.1 系统主要功能

针对镜检下微生物特性,在 PC 机上研发了一套软件系统,CPU 型号为 i5-9400,16 G 内存,500 G 硬盘,用于验证在新算法下的自动对焦成功率。软件系统主要包含如下功能:

- 1) 与下位机电控板互连;
- 2) 发送指令通知电控板移动电机进行拍照;
- 3) 进行粗粒度对焦确定粗粒度对焦最终焦面位置;
- 4) 进行细粒度对焦确定细粒度定位最终焦面;
- 5) 定位最终焦面对应脉冲数量,拍照传输给识别软件。

2.2 软件系统设计

如图 1 所示,软件主要包括 3 大模块:

- 1) 下位机电控板通信模块
- 2) 粗粒度自动对焦模块
- 3) 细粒度自动对焦模块

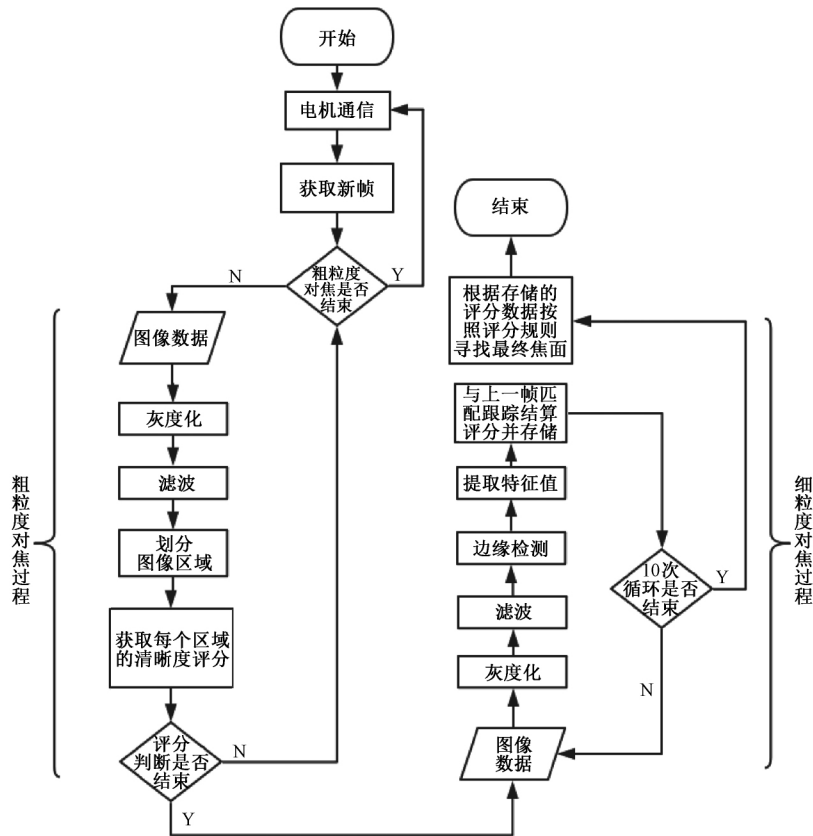


图 1 软件系统流程

粗粒度对焦过程中,软件与电控板互连,电控板与电机互连并控制电机进行移动,每运动固定脉冲数量,进行一次拍照,粗粒度对焦过程根据图像进行整体的九宫格中各个位置进行清晰度判定并最终确定粗粒度对焦最终焦面。粗粒度对焦结束之后,转入细粒度对焦流程,细粒度开始会根据粗粒度最终焦面位置所对应的脉冲数量对应的图片编号向上加 1 取整为起点,循环向图片编号减小的方向,进行连续的 10 帧图片的二类物体清晰度对比评分,并在循环检测结束后,根据评分规则进行最终焦面位置的判定。

2.3 实验结果

为了验证本文设计的自动对焦算法的有效性,选取了 4 个批次 1 826 份有效的玻片样本进行验证,成功率如表 1 所示,相对传统粗粒度对焦算法,成功率如表 2 所示,由数据可以看出,传统粗粒度对焦算法成功率仅有 70.65%,而新算法对焦成功率达到了 98.03%,实验结果表明本文算法对于整体对焦成功率有着较大地提升。

传统粗粒度对焦清晰度变化趋势如图 2 所示,由清晰度变化曲线可知,在第 38 张图片对应的对焦位清晰度达到了最大值,这是因为大量的上皮细胞使得整体焦面位置偏向上皮细胞所在的焦面位置,为了解决传统粗粒度对焦过程无法排除上皮细胞等大物体的干扰,提出了细粒度的对焦算法,算法完整过程如图 3 所示,按照规则,取粗粒度对焦时清晰度最大的第 39 张作为起始矫正位置,其中,图

表 1 本文算法样本对焦成功率

批次	样本总数	成功样本	成功率/%	总成功率/%
1	526	516	98.10	98.03
2	492	482	97.97	
3	538	528	98.14	
4	270	265	98.15	

表 2 传统粗粒度算法样本对焦成功率

批次	样本总数	成功样本	成功率/%	总成功率/%
1	526	357	67.87	70.65
2	492	344	69.92	
3	538	403	74.91	
4	270	186	68.89	

片上的矩形框即为检测出来的二类物体的最大内接矩形,即细粒度算法进行清晰度判断的区域,其中图 3(a)为细粒度对焦第 39 张照片的清晰度得分 200.541779 与第 38 张的清晰度 231.566437 对比的结果,最上边的 score 为两者的对比度差异,为正值表示清晰度在逐渐增加,为负值表示清晰度在下降,由对焦过程可知,图 3(a)~(f)清晰度在逐渐增加,直到图 3(g)清晰度开始下降,表明已经达到最佳清晰度,给出索引 33,即为最终的焦面所在位置,在对应出第

33 张图片所对应的电机走过的脉冲数量,通知电机移动到对应脉冲数量的位置拍照,即完成了整个对焦过程。

由于光影与大量上皮细胞的影响,使得粗粒度最终焦面所在位置会偏向上皮细胞所在位置,如图 4(a)、(c)为最终的传统粗粒度对焦结束时焦面所在的图像帧,经过细粒度对焦阶段如图 4(b)、(d)所示,可以将二类物体清晰的呈现出来,实验结果较好的证明了算法的有效性。

本文设计的算法在对焦准确性方面相对传统粗粒度对焦方案存在较大的优势,但是在时间复杂度方面稍有不足,未来考虑将两个阶段整合为一个阶段,以减少整体对焦时间。

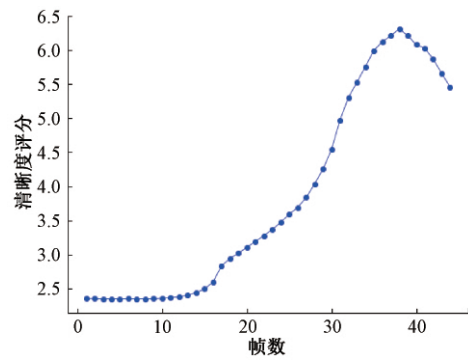


图 2 粗粒度对焦清晰度变化趋势

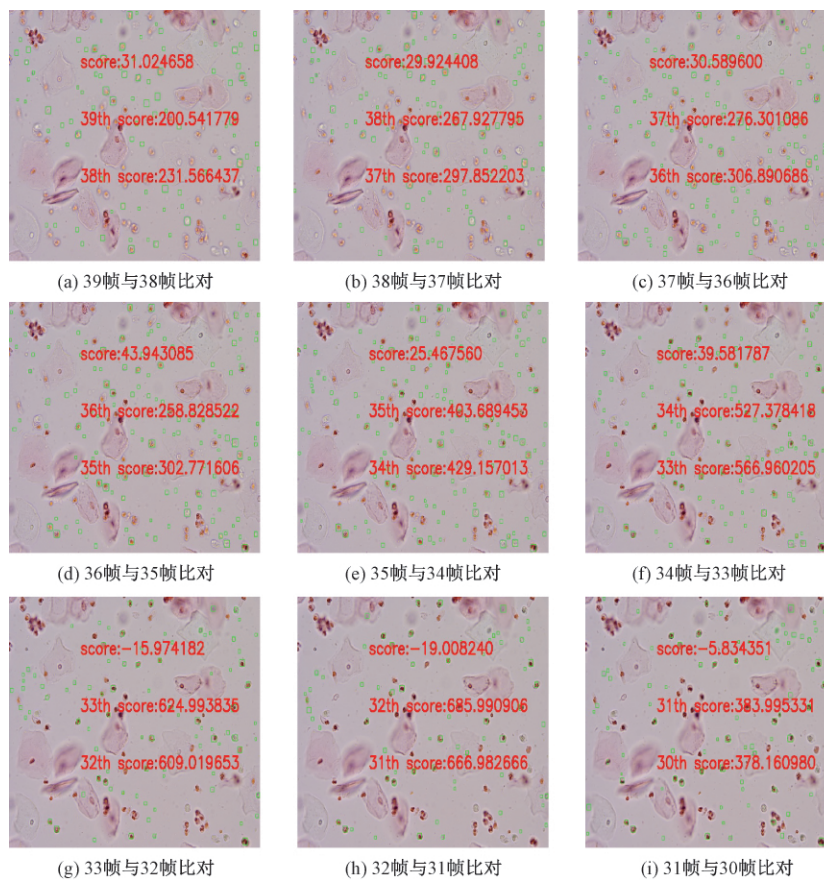


图 3 完整的细粒度对焦矫正过程

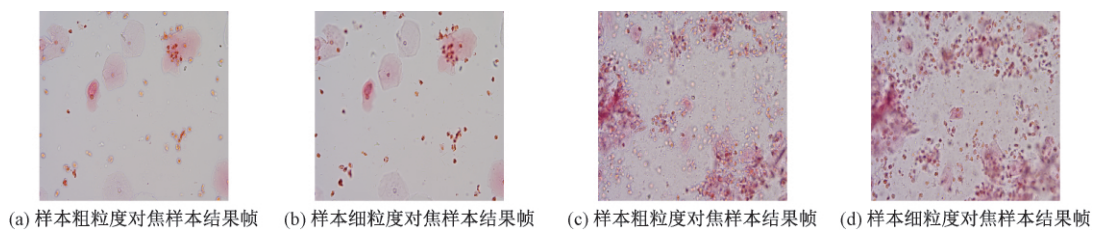


图 4 传统粗粒度与细粒度最终焦面所在图像帧

3 结 论

本文通过对光学显微镜下细胞与微生物群落特点的分析,得出细胞与微生物群落分布规律,并根据规律创新性的设计了相应的粗细粒度相结合的自动对焦的算法,将视觉跟踪应用于创新设计的细粒度对焦算法中。通过大量样本验证,本文设计的自动对焦算法对焦成功率满足使用需求,可以代替人眼进行判断,为自动化产线的流畅运作提供了重要的一环,具有较强的创新与实用意义,但是该算法在时效性方面相对于传统粗粒度对焦算法存在不足,未来将针对算法的时间复杂度进行改进优化。综上,本文提出的算法较为适用于目前阶段电子显微镜下白带镜检的自动对焦方案,也为同行从业者提供了一个较为有效的参考依据。

参考文献

- [1] GROEN F C, YOUNG I T, LIGHTART G. A comparison of different focus functions for use in auto focus algorithms[J]. Cytometry, 1985, 6(2): 81-91.
- [2] LUO R C, LIN M H. Issues and approaches of automatic focusing algorithms for intelligent robot eye-in-hand system[J]. Journal of Robot Systems, 1987, 4(4): 459-476.
- [3] REDONDO R, BUENO G, VALDIVIEZO J C, et al. Auto focus evaluation for bright field microscopy pythology[J]. Journal of Biomedical Optics, 2012, 17(3): 036008.
- [4] 林兆华, 米阳, 葛兵. 一种粗细结合的快速图像自动对焦算法[J]. 国外电子测量技术, 2015, 34(10): 28-31.
- [5] 李彩兰. 基于图像融合技术的非织造材料纤维取向分析[D]. 上海: 东华大学, 2013.
- [6] 余信, 唐莉萍, 曾培峰. 基于区域清晰度的纺织纤维图像融合[J]. 计算机应用与软件, 2011, 28(10): 245-249.
- [7] 陈阳, 辛斌杰, 邓娜. 基于 GHM 多小波变换的非织造布多焦面图像融合[J]. 纺织学报, 2019, 40(6): 126-133.
- [8] 王璐, 王小春. W 变换和 NSCT 相结合的多聚焦图像融合方法[J]. 电子测量与仪器学报, 2017, 31(5): 756-765.
- [9] 马海波, 张鹏程, 张权, 等. 基于 HOG 特征的显微镜自动对焦算法研究[J]. 测试技术学报, 2018, 32(6): 481-486.
- [10] 吕美妮, 玉振明. 光学显微镜自动聚焦算法研究[J]. 中国测试, 2018, 44(6): 11-16.
- [11] 李惠光, 李敏, 邵暖, 等. 显微视觉系统中自动聚焦算法的研究[J]. 计算机工程与应用, 2016, 52(14): 197-201.
- [12] HE J, ZHOU R, HONG Z. Modified fast climbing search auto-focus algorithm with adaptive step size searching technique for digital camera[J]. Consumer Electronics IEEE Transactions on, 2003, 49(2): 257-262.
- [13] 李惠光, 王帅, 沙晓鹏, 等. 显微视觉系统中自动聚焦技术的研究[J]. 光电工程, 2014, 41(8): 1-9.
- [14] CHEN G J, ZHU M F, WANG Y K, et al. Study on definition evaluation function based on image contrast variation [C]. Proceedings of the 2007 Annual Conference on International Conference on Computer Engineering and Applications, 2007: 254-258.
- [15] 陈亚欣, 武文波. 基于 Roberts 梯度与 HIS 色彩空间的 SAR 图像伪彩色编码[J]. 测绘与空间地理信息, 2017, 40(4): 85-88.
- [16] 翟永平, 周东翔, 刘云辉, 等. 聚焦函数性能评价指标设计及最优函数选取[J]. 光学学报, 2011, 31(4): 242-252.
- [17] MO C H, LIU B. Research and realization of an anti-noise auto-focusing algorithm[C]. Proceedings of the 2012 Second International Conference on Electric Information and Control Engineering, 2012: 1064-1067.

作者简介

刘聪, 本科, 主要研究方向为医疗仪器、自动化。

E-mail: 1435547487@qq.com

侯剑平, 硕士研究生, 主要研究方向为人工智能及其在医疗健康领域的应用。

赵万里, 本科, 主要研究方向为图像识别、人工智能。

王驰, 硕士研究生, 主要研究方向为机器视觉、人工智能。