Analyse von Mikrostrukturen

Manfred Fochem, Alexander Pütz

MIT - Management Intelligenter Technologien GmbH
Promenade 9, 52076 Aachen
Tel: 02408/94580, Fax: 02408/94582
mf@mitgmbh.de, ap@mitgmbh.de

Die Analyse von Mikrostrukturen ist bereits in vielen Betrieben, sowohl im medizinischen als auch im industriellen Bereich, ein unabdingbarer Schritt zur qualitativen Bewertung eines Produktes oder einer Probe. Dabei liefert die Analyse notwendige Aussagen und Kennwerte über die Güte oder den Zustand der untersuchten Objekte. In zunehmendem Maße werden für diese Analysen Bildverarbeitungssysteme eingesetzt, die mikroskopische Vermessungen oder Partikelanalysen durchführen und so eine schnelle, qualitative und quantitative Beurteilung der Strukturen ermöglichen. Im vorliegenden Beitrag wird gezeigt, wie die Detektierung überlappender Zellstrukturen mittels eines Bildverarbeitungssystems automatisiert werden kann.

Keywords: **Partikelanalyse, Zellstrukturen, Objektüberlappung, Bildverarbeitungslibrary**

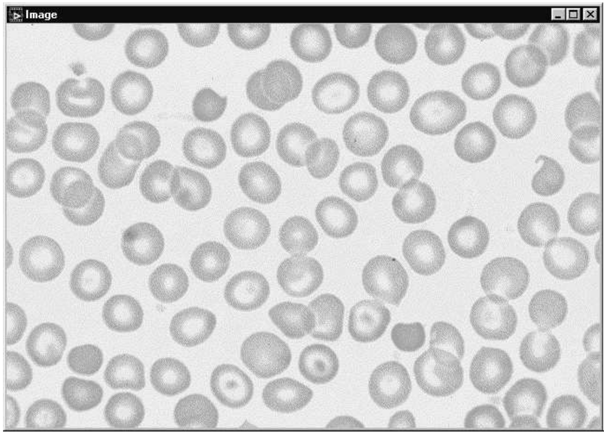
1 Einleitung

Bei der Partikelanalyse müssen Objekte sicher detektiert, gezählt und vermessen werden. Hierbei geben statistische Verteilungen der Kennwerte wie Größe, Umfang, Orientierung, Schwerpunktlage, Länglichkeit, Kompaktheit oder Kreisähnlichkeit der einzelnen Objekte wichtige Hinweise auf die Qualität der Probe [1], [2]. Eine Schwierigkeit bei der Auswertung besteht häufig darin, daß sich einzelne Objekte berühren oder sogar überlappen und eine exakte Detektion der Objekte unmöglich erscheint. Neben solchen Agglomeratbildungen erschweren verschwimmende oder nur ansatzweise vorhandene Konturen die Detektion der Partikel. Beispiele hierfür sind Auswertungen von Emulsionen, Zellkulturanalysen (Wachstumsveränderungen) oder Blutanalysen sowie allgemein Untersuchungen hinsichtlich Häufigkeit, Förmigkeit und Verteilung von Materialeinschlüssen in diversen Stoffen [3].

2 Partikeldetektion

Im folgenden wird ein Verfahren vorgestellt, welches in der Lage ist, Objekte trotz Berührung oder leichter Überlappung mit anderen Objekten zu detektieren, falls diese annähernd kreisförmig sind. Dieses Verfahren wird anhand der Auswertung von Blutzellen demonstriert.

In Bild 1 ist ein Ausschnitt aus einem Bild, wie es von der Kamera über ein Mikroskop aufgenommen wurde, dargestellt. Deutlich zu erkennen sind die einzelnen Zellen, die sich teilweise berühren oder sogar überlappen. Zudem wird deutlich, daß das Innere der Zellen häufig durchsichtig ist und somit vorwiegend die Zellgrenzen sichtbar sind. Zuerst wird der Kontrast und die Kanten verstärkt, um definiertere Grenzverläufe zu erhalten



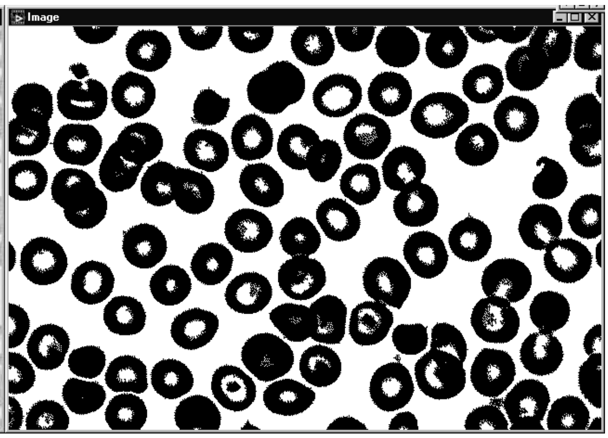
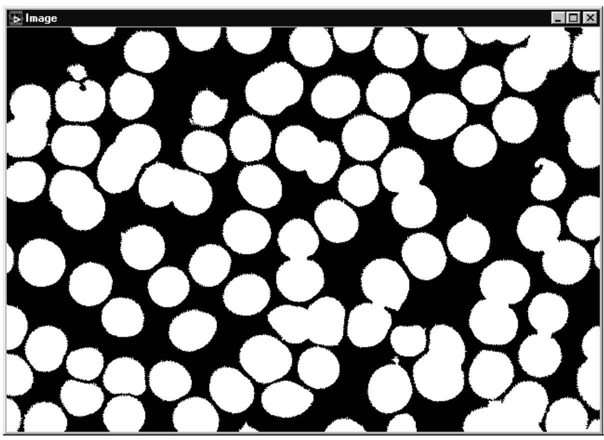


Bild 1: Digitalisiertes Bild

Bild 2: Binarisiertes und verbessertes Bild

Anschließend wird das Bild binarisiert. Bei Verwendung eines globalen Schwellwertverfahrens ergeben sich oftmals nur ungenügende Resultate. Dies trifft besonders dann zu, wenn die Beleuchtung ungleichmäßig ist. Da viele der analysierten Bilder über derartige Helligkeitsschwankungen verfügten, wird das Bild in mehrere Quadranten aufgeteilt [4] und für jeden Quadranten ein lokaler Schwellwert durch ein statistisches Gütekriterium ermittelt [5].

Trotz Bildverbesserung und lokalem Schwellwertverfahren enthält das Bild nach der Binarisierung einzelne Bildpunkte oder kleine Teilbereiche, die als Störungen zu interpretieren sind. Diese können mittels einer Dilatation entfernt werden. Das resultierende Ergebnis ist in Bild 2 dargestellt. Eine Invertierung des Bildes und weitere Dilatationen führen dazu, daß die einzelnen Zellen aufgefüllt werden (vgl. Bild 3) [1]. Dies ist eine zwingende Voraussetzung für den folgenden Verarbeitungsschritt, bei dem angenommen wird, daß es sich bei den Objekten um eine Menge von überlappenden Kreisflächen handelt, die in einzelne Kreisflächen aufgespaltet werden.



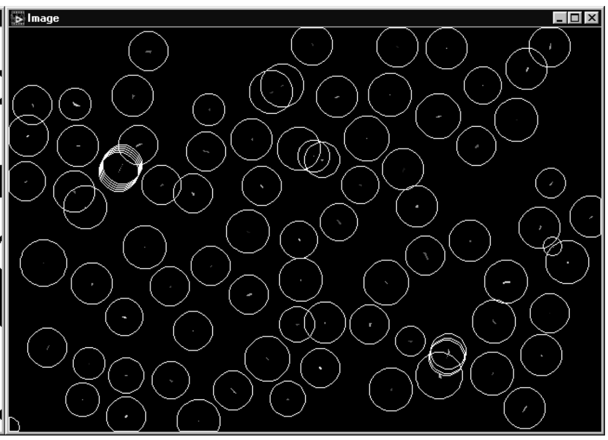


Bild 3:Invertiertes und dilatiertes Bild.

Bild 4: Potentielle kreisförmige Zellen

Mittels einer Distanzberechnung, basierend auf dem Algorithmus von Danielsson, wird jedem Bildpunkt ein Grauwert zugeordnet, der seiner Entfernung von der Objektkante entspricht. Unter der Annahme, daß es sich um annähernd kreisförmige Objekte handelt, und unter Verwendung der berechneten Distanzkarte können die Zellen somit wiederhergestellt werden [6]. In Bild 4 ist das Ergebnis dieser Vorgehensweise dargestellt. Es ist zu erkennen, daß in den Fällen, wo eine Berührung bzw. Überlappung der Objekte zu einer Verformung und somit zu einer Abweichung vom optimalen kreisförmigen Grenzverlaufs führt, die Detektion nicht eindeutig ist. Es werden teilweise mehrere Objekte an nahezu der gleichen Stelle vermutet. Ein anschließender Konsistenzcheck kann solche Fehlinterpretationen vermeiden.

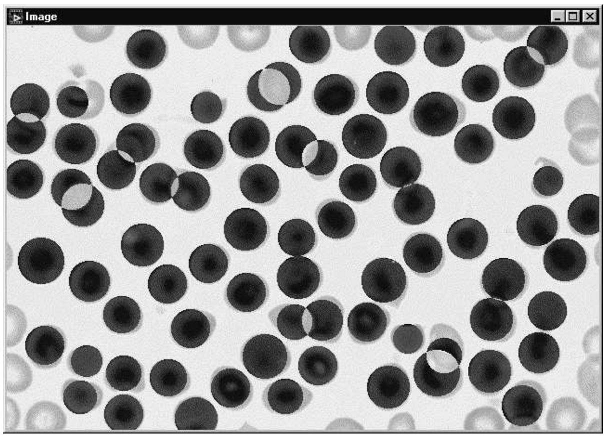


Bild 5: Orginalbild mit detektierten kreisförmigen Zellen, die sich teilweise überlappen

Neben der Information der Kreismittelpunkte und Radien der vermuteten Objekte, liefert das Verfahren für jedes Objekt auch die Fläche in Pixel, die nach der Danielsson Berechnung für den Kreismittelpunkt in Frage kommt. Dies gibt z.B. Aufschluß darüber, wie exakt ein Objekt die kreisflächige Form erfüllt.

Bild 5 zeigt das resultierende Ergebnis. Dabei sind die detektierten kreisförmigen Zellen invers im Orginalbild eingezeichnet. Überlappende Bereiche sind wiederum mit ihren ursprünglichen Grauwerten dargestellt. Zellen die am Bildrand liegen, können mit dieser Methode nicht ausgewertet werden. Für eine qualitative Aussage kann die Näherung der Objekte durch Kreise bereits ausreichen. Eine exakte Vermessung der Zellen kann im Fall von vereinzelten Zellen standardmäßig erfolgen. Bei überlappenden Zellen muß mit einer Näherung gearbeitet werden.

3 Die Bildverarbeitungsumgebung

Die Analysen wurden mit der Software Concept V.i durchgeführt, einer Bildverarbeitungslibrary, die über 400 Funktionen aus den Bereichen Partikelanalyse, Texturerkennung, Morphologische Analyse, Orts- und Frequenzfilter, Multiresolution, Bildverbesserung usw. enthält und auf der grafischen Programmierumgebung LabVIEW aufsetzt [7].

Einen typischen Programmcode für eine einfache Bildverarbeitungsaufgabe zur Partikelanalyse zeigt Bild 6. Statt in C zu programmieren, werden hier Icons und Bedienelemente mit der Maus auf einem Arbeitsblatt positioniert und miteinander verbunden. Diese Icons nennen sich „virtuelle Instrumente“ und enthalten die entsprechenden Bildverarbeitungsfunktionen. Da Bildverarbeitungslösungen in der Regel applikationsspezifische Routinen und Anpassungen erfordern, ist das Systemdesign offen gehalten, so daß sowohl eigene Algorithmen in Form von DLL's oder direkt als C-Code über eine Programmierschnittstelle eingebunden werden können.

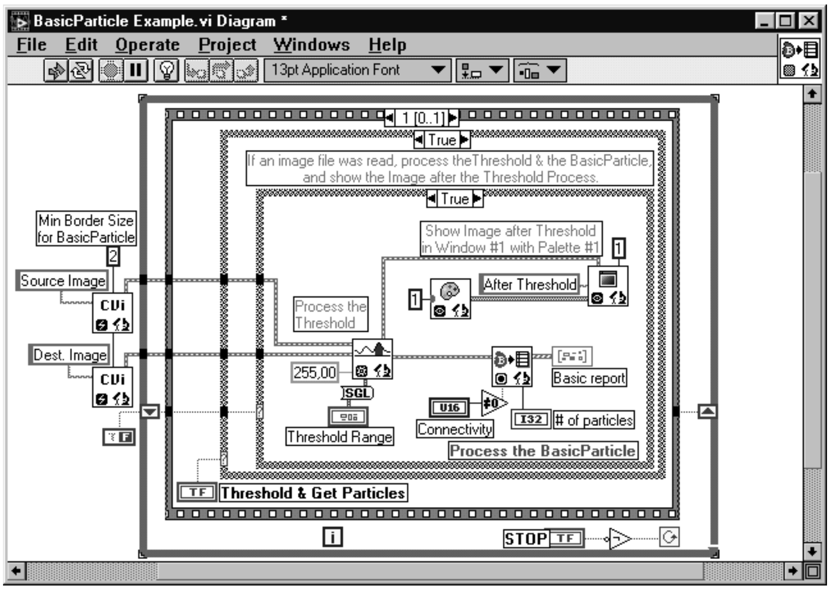


Bild 6: Diagramm (Programmcode) eines Bildverarbeitungsprogramms

In der graphischen Programmierumgebung sind beispielsweise Möglichkeiten zum Debbuggen von Programmen, ein Profiler zum Testen des Zeitverbrauchs von Routinen, ein Installationsprogramm für die Installation eigener Programme oder ein Application Builder zur Erzeugung eigener Applikationen integriert. Darüber hinaus existieren eine Vielzahl von Zusatzbibliotheken für die unterschiedlichsten Einsatzgebiete, wie die Library DataEngine V.i, die Methoden der intelligenten Datenanalyse wie Fuzzy-Logik und Neuronale Netze für Klassifikationsaufgaben bereitstellt.

Dieses Konzept verbindet somit die Geschwindigkeit klassischer Programmiermethoden mit der Flexibilität objektorientierter Sprachen. Es ist besonders geeignet für Bildverarbeitungsapplikationen im Bereich Labor, Forschung und Industrie und ist im Bereich der Analyse von Mikrostrukturen bereits vielfach im Einsatz.

4 Literatur

[1] Zamperoni,P:Methoden der digitalen Bildsignalverarbeitung, Vieweg, Braunschweig 1991

[2] Gonzalez, R.C., Woods, R.E: Digital Image Processing, Addison-Wesley Publishing 1993

[3] Abmayr, W: Einführung in die digitale Bildverarbeitung, Teubner Verlag, Stuttgart 1994

[4] Rosenfeld A., Kak,A.C: Digital Picture Processing, Band 1/2, Academic Press, N-Y 1982

[5] Otsu, N.: A Threshold Selection Method from Gray-Level Histogramm, In: IEEE Transaction on Systems, Man and Cybernetics, Vol. SMC-9, No.1, 1979

[6] Graftek (varius): Image Analysis Handbook, Graftek France, 1992

[7] Graftek (varius): CONCEPT V.i User Manual, Graftek France, 1992