

SCHWELLWERTVERFAHREN UND NICHTLINEARE BINÄRBILDVERARBEITUNGSOPERATIONEN  
ZUR SEGMENTIERUNG VON MONOCHROMATISCHEN ZELLBILDERN

W. Abmayr, K. Rodenacker, P. Gais und G. Burger  
Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH München  
- Institut für Strahlenschutz -  
D-8042 Neuherberg bei München

Einleitung

Die automatische Klassifizierung von Zellen hängt von einer leistungsfähigen Segmentierung ab. Segmentierungsfehler pflanzen sich in der Merkmalsextraktion und Klassifikation fort /5, 8/.

Die Anfärbung der Zellen und der bei der Messung verwendete Spektralbereich spielen eine wesentliche Rolle. So genügt für die Analyse von Feulgen-gefärbten Zellen ein monochromatisches Bild ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ ) und eine fest eingestellte Schwelle, um Zellen auf dem gesamten Präparat segmentieren zu können. Die für Routineuntersuchungen zur Früherkennung des Gebärmutterhalskrebses /2/ verwendete PAP-Färbung bereitet hingegen erhebliche Schwierigkeiten bezüglich der Segmentierung. Diese Färbung wurde gezielt als multispektrale Färbung für eine optimale visuelle Beurteilung der Zellen entwickelt. Für eine automatische Segmentierung werden deshalb häufig ebenfalls 2 oder 3 Farben verwendet.

Bei der Verarbeitung von Zellbildern ist zu unterscheiden zwischen der Segmentierung von Einzelzellbildern die manuell ausgewählt werden, z.B. bei der Erstellung einer Lern-Datenbank, und der Segmentierung von willkürlichen Zellszenen mit mehreren Einzelzellen, wie sie bei der Durchführung einer Präparateanalyse vorkommen.

Für die Segmentierung von manuell ausgewählten Einzelzellen gibt es eine Reihe von Vorschlägen, wie Thresholding, Tracing oder Texturanalyse /1, 6, 8, 10, 12, 13/, die in der Regel dem Kontrastumfang des Einzelobjektes angepaßt sind. Die Segmentierung von Zellbildszenen bereitet größere Schwierigkeiten, da die einzelnen Objekte in einer Szene sehr unterschiedlichen Kontrastumfang haben können und außerdem Objektüberlagerungen und Anlagerungen vorkommen können.

Ziel dieser Untersuchungen ist es, Einzelzellen zur Segmentierung und Verarbeitung aus Zellszenen zu isolieren. Für die dann anwendbaren Methoden der Einzelzellsegmentierung wurden Qualitätskriterien erarbeitet /9, 11/ und ein Vergleich zwischen verschiedenen Methoden durchgeführt /4/. Die verwendete Strategie greift auf Thresholdingverfahren /13/ und nichtlineare Binärbildverarbeitungsoperationen /3/ zurück, die mittels Arrayprozessoren schnell durchgeführt werden können.

## Methode

Die Segmentierung einer Zellszene (Abb. 1) führt über die Isolierung der einzelnen Objekte zur Segmentierung und Verarbeitung der Einzelobjekte. Dies wird in einem zweistufigen Verfahren realisiert: Grobsegmentierung zur Lokalisierung der Objekte und Feinsegmentierung zur Trennung von Kern, Zytoplasma und Untergrund für eine jede Zelle (Objekt) in der Szene. Die Grobsegmentierung gliedert sich in folgende Schritte:

1. Median-Filterung des Bildes: Dadurch wird hochfrequentes Rauschen sowie Texturinformation eliminiert, ohne die Zellkanten abzuflachen /7/. Unter Berücksichtigung des Aufwandes wird ein Filter mit  $5 \times 5$  Pixels verwendet.
2. Thresholding: Aus dem Histogramm des geglätteten Szenenbildes wird eine Schwelle für die Trennung von Zytoplasma und Untergrund abgeleitet. Zur Bestimmung dieser Schwelle wird zum Mittelwert des Untergrundes die Streuung des Untergrundes addiert. Das dieser Schwelle entsprechende binäre Schwellwertbild markiert Bereiche interessierender Objekte (grobe Zellmasken).
3. Binärbildreinigung: Die groben Zellmasken werden nichtlinearen Verarbeitungsprozeduren, wie BLOW, SHRINK etc., unterzogen, mit dem Ziel, Störstellen in den Masken aufzufüllen und kleine Flächen (Leukozyten, Schmutz) zu löschen. Die verbleibenden Masken werden mittels Grassfire-Prozeduren aus der Szene nacheinander isoliert. Nun wird die einzelne isolierte Maske mittels BLOW so weit vergrößert, daß unter dieser neuen Maskenfläche auch Punkte des die Zelle umlagernden Untergrundes liegen. Damit ist das Szenenbild in Einzelbereiche um die interessierenden Objekte zerlegt.
4. Jeder Bereich stellt ein Graubild dar, dessen Histogramm trimodal ist, wenn es sich beim umschlossenen Objekt um eine echte Zelle handelt.

Diese so gewonnenen Einzelzellen werden nun mittels Thresholdingmethode unter Verwendung von drei Histogrammen (Dichtehistogramm, Gradientenhistogramm und Umfangshistogramm) nach Erstellung eines Kombinationshistogrammes fein segmentiert /6/.

## Ergebnisse

In Abb. 1a ist eine typische Szene aus einem Vereinzelnungspräparat von einem Vaginalabstrich dargestellt. Sie enthält 4 Metaplasiezellen, eine degenerierte kleine Zelle, einen Artefakt sowie Leukozyten. Die Szene wurde mikrophotometrisch in  $256 \times 256$  Bildpunkten mit einem Bildpunkt Abstand von  $0.5 \mu$  bei einer Wellenlänge von  $546 \text{ nm}$  abgetastet. Segmentiert man die Gesamtszene nach der für Einzelzellsegmentierung entwickelten Thresholdingmethode, ergibt sich Abb. 1b. Die Kernsegmentierung ist offensichtlich nicht für alle Zellen optimal.

Wendet man das beschriebene Verfahren zur Szenenreinigung und Einzelobjektseparierung an, verbleiben die Objekte der Abb. 2. Die Verbesserung der Kernsegmentierung bei Anwendung des Thresholding-Algorithmus auf Einzelzellen ist am Beispiel des Objektes 1 gezeigt. Der dem Zytoplasma überlagerte Leukozyt kann eliminiert werden. Die Leistungsfähigkeit der Einzelzellsegmentierung wurde in /4/ untersucht und mit einem Tracingalgorithmus /1/ sowie der visuellen Segmentierung verglichen. Für den zur Verfügung

stehenden Datensatz konnten dabei etwa 85 % der Zytoplasmaflächen und 90 % der Kernflächen mit Erfolg segmentiert werden. Eine höhere Genauigkeit ist nur durch den Übergang auf multispektrale Bilder zu erreichen.

In den Objekten 1, 2, 4 und 5 werden akzeptable Kerne segmentiert und damit die Objekte als Zellen identifiziert. Die entsprechenden Grauerthistogramme der Abb. 3 zeigen schöne trimodale Verteilungen. Dies ist nicht der Fall für das Objekt 3. Hieraus kann gegebenenfalls ein Kriterium zur Zurückweisung des Objekts abgeleitet werden. Der Vergleich der Einzelhistogramme bestätigt die unterschiedlichen Kontrastumfänge der Objekte. Deshalb kommt es beim Gesamthistogramm auch nicht zur Ausbildung eines deutlichen Kernmaximums.

Die dargestellte Methode der Isolierung einzelner Zellen aus Zellszenen stellt einen wesentlichen Schritt für die Durchführung der Präparateanalysen dar und ermöglicht den Übergang von der Szenenanalyse zur Einzelzellanalyse.

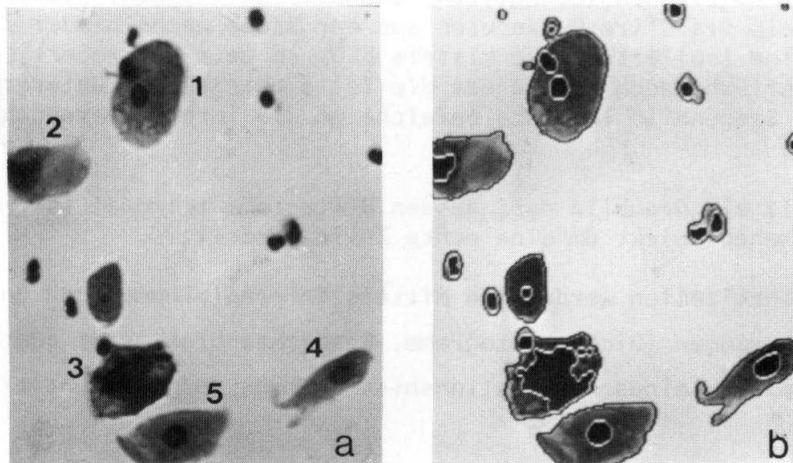


Abb. 1: Szene aus Metaplasiezellen, Leukozyten und Artefakt eines PAP-gefärbten Zervixpräparates, dargestellt am TV-Monitor (256 Zeilen und 256 Spalten mit 0.5  $\mu$  Pixelabstand).

- a) Szene unsegmentiert
- b) Szene segmentiert

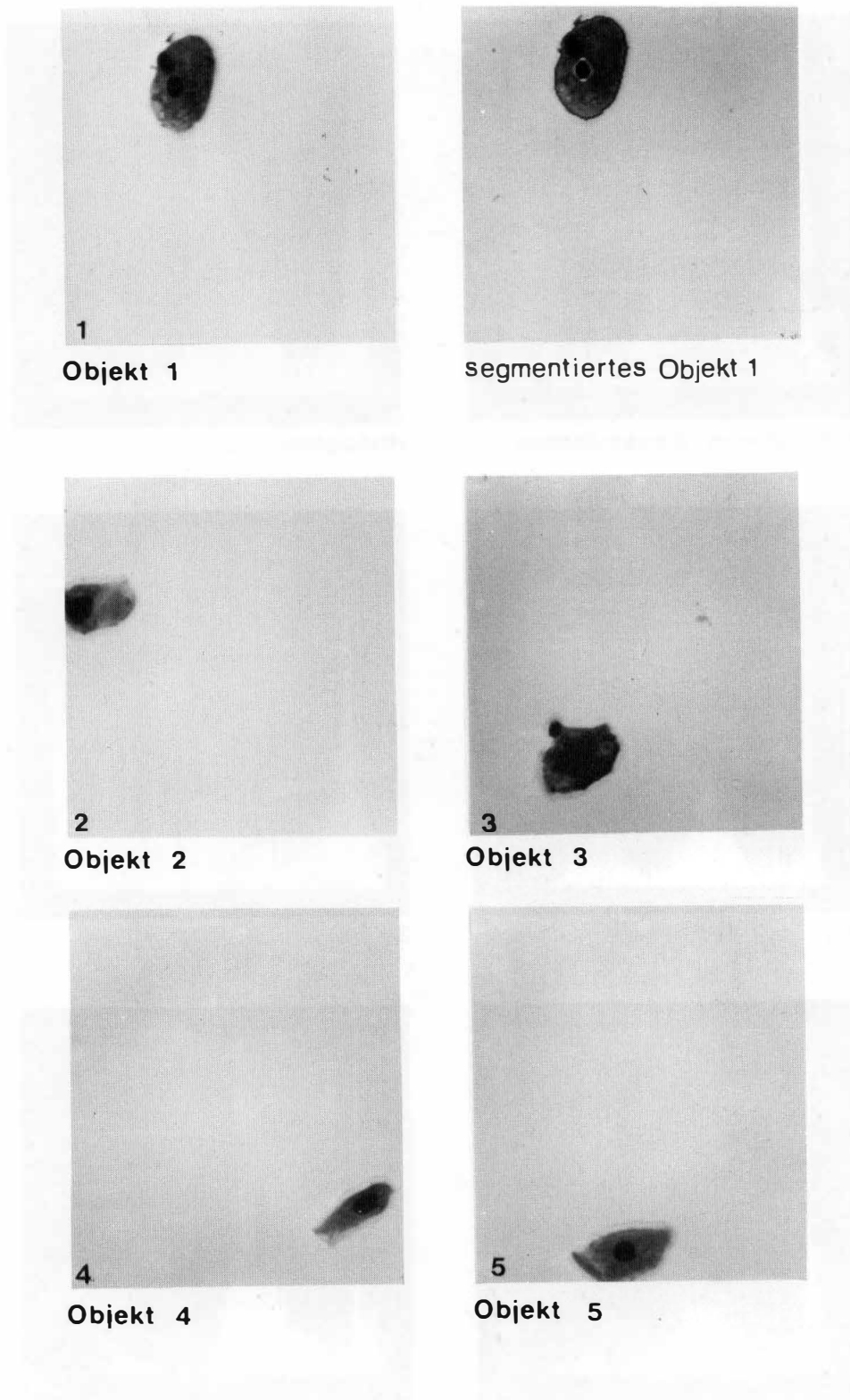
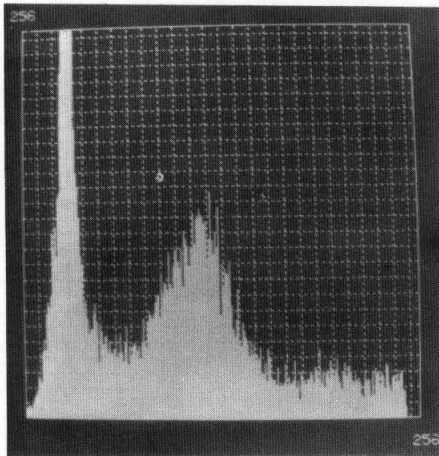
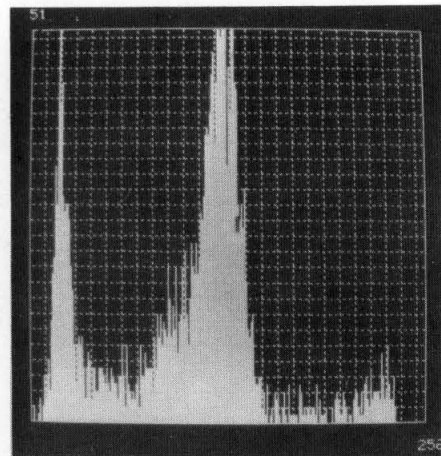


Abb. 2:

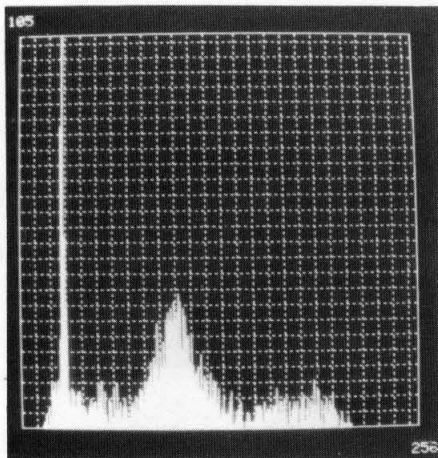
Aus der Szene ausgewählte Einzelobjekte 1 - 5  
und segmentiertes Objekt 1.



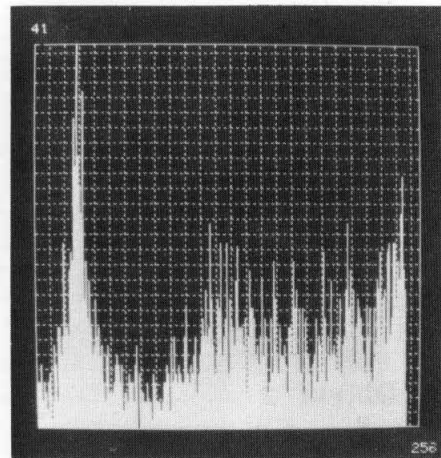
Histogramm Gesamtszene



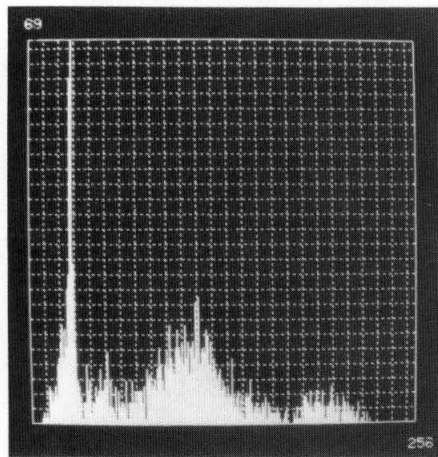
Histogramm 1



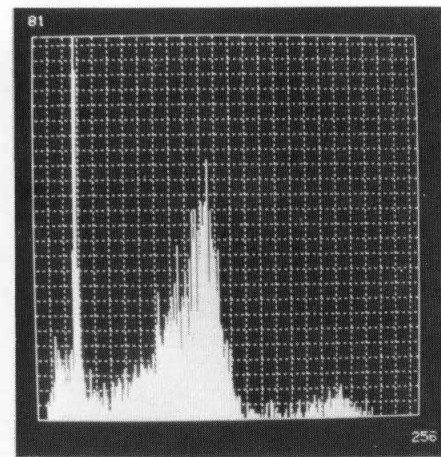
2



3



4



5

Abb. 3: Histogramme der Gesamtszene aus Abb. 1 und der isolierten Einzelobjekte 1 - 5.

LITERATUR

- /1/ L. Abele, C. Lange: Konturfindungsalgorithmen und ihre Anwendung auf dem Gebiete der Medizinischen Bilddatenverarbeitung. Informatik Fachberichte Vol. 17, Springer Berlin, 1978, p. 327
- /2/ W. Abmayr, G. Burger, H.J. Soost: Progress report of the TUDAB project for automated cancer cell detection. J. Histochem Cytochem 27, No. 1, 1979, p. 604
- /3/ W. Abmayr: Die quantitative Auswertung optischer Information aus dem physikalischen und biomedizinischen Forschungsbereich. Dissertation, TU München, 1974
- /4/ W. Abmayr, L. Abele, J. Kugler, H. Borst: Capabilities of a nonlinear gradient and a thresholding algorithm for the segmentation of PAP-stained cervical cells. International Conference on Pattern Recognition of Cell Images, Chicago 1979
- /5/ P.H. Bartels, G.L. Wied: Computer analysis and biomedical interpretation of microscopic images. IEEE Trans Biomed Eng. 65, 1977, p. 252
- /6/ H. Borst, W. Abmayr, P. Gais: A thresholding method for automatic cell image segmentation. J. Histochem Cytochem 27, No. 1, 1979, p. 180
- /7/ B.R. Frieden: A new restoring algorithm for the preferential enhancement of edge gradients. J. Opt. Soc. Am., Vol. 66, No. 3, p. 280
- /8/ K.S. Fu, J.K. Mui: A survey on image segmentation. International Conference on Pattern Recognition of Cell Images, Chicago 1979
- /9/ W.A. Yasnoff, J.K. Mui, J.W. Bacus: Error measures for scene segmentation. Pattern Recognition 9, 1977, p. 217
- /10/ V. Klement: Über die semantisch gestützte maschinelle Analyse bildhafter Informationen am Beispiel mikroskopischer Zellbilder. Dissertation, TU Hannover, 1979
- /11/ L.H. Oliver, R.S. Poulsen, G.T. Toussaint: Estimating false positive and false negative error rates in cervical cell classification. J. Histochem Cytochem 27, No. 7, 1977, p 696
- /12/ J.M.S. Prewitt, M.L. Mendelsohn: The analysis of cell images. Ann. NY Acad. Sci. 128, 1966, p. 1035
- /13/ J.S. Weszka: A survey of threshold selection techniques. Computer graphics and image processing 7, 1978, p 259

# Informatik-Fachberichte

Herausgegeben von W. Brauer  
im Auftrag der Gesellschaft für Informatik (GI)

20

---

## Angewandte Szenenanalyse

DAGM Symposium, Karlsruhe  
10. – 12. Oktober 1979



Herausgegeben von J. P. Foith



Springer-Verlag  
Berlin Heidelberg New York 1979