

1839978

中图分类号:

UDC:

学校代码: 10055

密级: 公开

南开大学  
硕士学位论文

基于微动平台的数字切片扫描拼接系统研究  
The Research on Virtual Microscopy Slide System  
Based Automated Microscope Stage

论文作者 程小燕

指导教师 赵新 教授

申请学位 工学硕士

培养单位 信息技术科学学院

学科专业 计算机应用技术

研究方向 数字切片扫描拼接

答辩委员会主席 方勇纯

评阅人 方勇纯 操晓春

南开大学研究生院

二〇一〇年五月

## 南开大学学位论文使用授权书



根据《南开大学关于研究生学位论文收藏和利用管理办法》，我校的博士、硕士学位获得者均须向南开大学提交本人的学位论文纸质本及相应电子版。

本人完全了解南开大学有关研究生学位论文收藏和利用的管理规定。南开大学拥有在《著作权法》规定范围内的学位论文使用权，即：(1)学位获得者必须按规定提交学位论文(包括纸质印刷本及电子版)，学校可以采用影印、缩印或其他复制手段保存研究生学位论文，并编入《南开大学博硕士学位论文全文数据库》；(2)为教学和科研目的，学校可以将公开的学位论文作为资料在图书馆等场所提供校内师生阅读，在校园网上提供论文目录检索、文摘以及论文全文浏览、下载等免费信息服务；(3)根据教育部有关规定，南开大学向教育部指定单位提交公开的学位论文；(4)学位论文作者授权学校向中国科技信息研究所和中国学术期刊(光盘)电子出版社提交规定范围的学位论文及其电子版并收入相应学位论文数据库，通过其相关网站对外进行信息服务。同时本人保留在其他媒体发表论文的权利。

非公开学位论文，保密期限内不向外提交和提供服务，解密后提交和服务同公开论文。

论文电子版提交至校图书馆网站：<http://202.113.20.161:8001/index.htm>。

本人承诺：本人的学位论文是在南开大学学习期间创作完成的作品，并已通过论文答辩；提交的学位论文电子版与纸质本论文的内容一致，如因不同造成不良后果由本人自负。

本人同意遵守上述规定。本授权书签署一式两份，由研究生院和图书馆留存。

作者暨授权人签字：程小燕

2010年5月31日

### 南开大学研究生学位论文作者信息

论文题目	基于微动平台的数字切片扫描拼接系统研究				
姓名	程小燕	学号	2120070313	答辩日期	2010年5月27日
论文类别	博士 <input type="checkbox"/> 学历硕士 <input checked="" type="checkbox"/> 硕士专业学位 <input type="checkbox"/> 高校教师 <input type="checkbox"/> 同等学力硕士 <input type="checkbox"/>				
院/系/所	信息技术科学学院	专业	计算机应用技术		
联系电话	13752012923	Email	pplife1983@163.com		
通信地址(邮编): 300071					
备注:				是否批准为非公开论文	否

注：本授权书适用我校授予的所有博士、硕士的学位论文。由作者填写(一式两份)签字后交校图书馆，非公开学位论文须附《南开大学研究生申请非公开学位论文审批表》。

## 南开大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师指导下进行研究工作所取得的研究成果。除文中已经注明引用的内容外，本学位论文的研究成果不包含任何他人创作的、已公开发表或者没有公开发表的作品的内容。对本论文所涉及的研究工作做出贡献的其他个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本学位论文原创性声明的法律责任由本人承担。

学位论文作者签名：程小燕

2010年5月31日

## 非公开学位论文标注说明

根据南开大学有关规定，非公开学位论文须经指导教师同意、作者本人申请和相关部门批准方能标注。未经批准的均为公开学位论文，公开学位论文本说明为空白。

论文题目								
申请密级	<input type="checkbox"/> 限制(≤2年)	<input type="checkbox"/> 秘密(≤10年)	<input type="checkbox"/> 机密(≤20年)					
保密期限	20	年	月	日至	20	年	月	日
审批表编号		批准日期	20	年	月	日		

限制★2年（最长2年，可少于2年）

秘密★10年（最长5年，可少于5年）

机密★20年（最长10年，可少于10年）

## 摘要

近 20 年来, 由于在远程病理诊断、远程教学中的便利性, 数字切片受到越来越多病理学专家的欢迎, 与此同时, 数字切片系统也成为研究的热点。本文对数字切片扫描拼接系统的两项关键技术: 数字切片扫描技术和数字全切片图像拼接技术进行了深入的研究, 在此基础上, 设计并实现了数字切片扫描拼接系统。

数字切片扫描方法主要由数字切片扫描路径规划方法和自动调焦方法组成。在数字切片扫描路径规划中, 本文采用系统测量的方法来获得扫描中需要的误差补偿方案, 消除了切片扫描中的累积误差。在自动调焦中, 本文采用预检测自动调焦条件后进行自动调焦的方法, 避免了扫描过程中在空白区域处进行自动调焦确保自动调焦成功。

面向数字全切片的优先权图像拼接方法通过优先权拼接生成树来减小图像拼接累积误差, 从而降低空白图像对全切片图像拼接带来的拼接误差影响, 最后, 全切片图像存储采用大图切块成图像阵列的方法来解决拼接内存消耗大、全切片浏览慢的问题。

最后, 综合数字切片扫描方法和全切片图像拼接技术, 本文设计并实现了全切片图像拼接系统。通过多组病理切片的数字化实验, 验证了本文研究的两项关键技术的有效性, 同时, 也验证了数字切片扫描拼接系统的可行性。

关键词: 数字切片 大规模图像拼接 自动调焦 显微图像

## Abstract

In the last 20 years, virtual microscopy has become increasingly popular as a modality for remote primary diagnosis, remote teaching referral to an expert pathologist. The Virtual microscopy system become the focus in the research field. This paper focuses on the key technology of virtual microscopy system: the technology of digital image scanning and large scale image stitching method. Finally, we designs software system for virtual microscopy slide making and browsing.

The slide scanning technology is composed of the method for trajectory planning of slide scanning and the automatic focus method during the slide scanning. With the measurement of automated robotic microscope, the error compensation can be gotten, and then it can be compensated during the image scanning. In this way, during the large scale scanning the system accumulative error is reduced. The automatic focus method for scanning images do focusing after checking the focusing condition to make sure the condition suitable for focusing. With this method, during images scanning, the successful probability of auto-focusing is advanced greatly.

In this paper, We present an image stitching method based on a weighted squares for creating virtual slide. This method can avoid the influence of blanked images caused errors to the image stitching. And then, to solve the huge Virtual slide may exhaust most computer's memory, we cut the Virtual slide into small images and design a viewing system to browse virtual slide.

Finally, with the technology of slide scanning and image stitching, we design the virtual microscopy slide making system. With the virtual microscopy slide making system, we do some virtual microscopy slide making experiments to verify the system feasibility and validity.

**Key Words:** Virtual microscopy slide; large scale image stitching; auto-focusing; Microscope image

## 目录

<b>第一章 引言</b> .....	<b>1</b>
第一节 数字切片扫描拼接系统的研究背景 .....	1
第二节 数字切片系统的发展现状 .....	3
第三节 论文主要研究内容 .....	5
1.3.1 论文的主要研究内容 .....	5
1.3.2 论文的章节安排 .....	5
1.3.3 论文内容结构 .....	6
<b>第二章 数字切片扫描拼接系统概述</b> .....	<b>7</b>
第一节 数字切片扫描拼接系统的体系结构 .....	7
2.1.1 数字切片扫描拼接系统的机械结构 .....	8
2.1.2 数字切片扫描拼接系统软件结构 .....	9
2.1.3 数字切片扫描拼接系统的微动控制硬件结构 .....	11
2.1.4 数字切片扫描拼接系统的视觉系统 .....	14
第二节 数字切片扫描拼接系统的关键技术 .....	14
第三节 小结 .....	15
<b>第三章 面向全切片的图像扫描方法</b> .....	<b>16</b>
第一节 概述 .....	16
第二节 面向全切片图像扫描方法 .....	17
3.2.1 切片扫描规划 .....	17
3.2.2 微动平台测量 .....	18
3.2.3 切片扫描运动规划策略 .....	21
第三节 面向全切片图像扫描的自动调焦设计 .....	22
3.3.1 全切片扫描中自动调焦的设计分析 .....	22

## 目录

---

3.3.2	显微图像的成像原理 .....	23
3.3.3	空白图像检测方法 .....	24
3.3.4	面向切片扫描自动调焦方法 .....	26
	第四节 小结 .....	31
<b>第四章</b>	<b>面向数字全切片的优先权图像拼接方法 .....</b>	<b>32</b>
第一节	数字全切片拼接任务简介 .....	32
4.1.1	数字全切片简介 .....	32
4.1.2	图像拼接方法简介 .....	32
4.1.3	全切片拼接方法概述 .....	33
第二节	全切片图像拼接方法 .....	36
4.2.1	图像对配准 .....	36
4.2.2	全切片生成 .....	42
第三节	算法评估 .....	50
第四节	小结 .....	51
<b>第五章</b>	<b>数字切片系统实现 .....</b>	<b>52</b>
第一节	数字切片扫描拼接系统的实现 .....	52
5.1.1	系统软件设计 .....	52
5.1.2	数字扫描拼接系统的界面设计 .....	53
5.1.3	数字切片制作实现 .....	57
5.1.4	系统配置管理 .....	58
5.1.5	运动控制模块 .....	59
第二节	数字切片浏览系统实现 .....	59
5.2.1	浏览系统原理 .....	60
5.2.2	数字切片浏览系统实现 .....	61
第三节	数字切片扫描拼接系统评估 .....	62
第四节	小结 .....	64
<b>第六章</b>	<b>结论与展望 .....</b>	<b>65</b>

目录

---

第一节 结论 .....	65
第二节 展望 .....	66
参考文献 .....	67
致 谢 .....	69
个人简历、在学期间发表的学术论文及研究成果 .....	70

## 第一章 引言

### 第一节 数字切片扫描拼接系统的研究背景

生命科学是当今世界上最为活跃的研究领域和领头科学，显微切片观察作为这个领域进行分析诊断、科研教学的基础手段，长期受到人们的重视，广泛应用于医院、科研机构及相关院校。

目前，对于组织胚胎学、病理学和细胞生物学等形态学学科的显微切片观察，大部分采用传统的玻璃切片观察方式。传统切片观察大多是以细胞或组织标本的玻璃切片作为被观察对象，在使用中存在较大的局限性。第一，玻璃切片存在时间和空间的使用局限性。例如，使用者对切片的观察必须局限在实验室，借助于光学显微镜才能观察，那么观察者在时间和空间上就会受到一定程度的限制。第二，在形态学教学过程中，需要大量的切片，不仅制作成本高，而且很难保证每张玻璃切片的质量满足要求，不利于典型结构的观察和示教。第三，玻璃切片在制作、使用、保存和搬运过程中容易破损，而且玻璃切片标本随着时间的推移容易褪色，不易永久保存。如在肿瘤诊治过程中，病理切片是病理诊断的主要手段，如果出现医疗纠纷，病理切片则是不可缺少的法律依据。同时，病理切片的积累还为疾病的流行病调查、病因分析、转归评估以及了解患者不同时期的疾病的发展与转归等提供了可靠的依据，实际应用要求病理切片长期保存。传统切片在使用过程长期保存中存在褪色破损等情况，这些变化影响了病理分析的可靠度。第四，病理切片的增多使病理切片信息的检索变得困难。由此可见，传统切片已经跟不上当代医学生物科学的发展步伐，而随着计算机图像技术的发展，近些年提出的虚拟病理切片概念和相关技术为显微切片观察提供了新思路。

随着信息技术的发展，信息化技术越来越多地用于医学和生命科学研究领域，如远程诊断、远程病理分析以及远程医学教学等，这使得世界不同地点的人即使相距遥远，也能在一起研究讨论同一个难题，与在同一间屋子内做研究没有区别。同时，越来越多的研究者正在研究信息技术在医疗等领域的应用<sup>[1]~[5]</sup>。

数字切片又称为虚拟切片，它通过数字图像扫描拼接技术来生成全切片。

数字切片系统利用计算机让用户在计算机显示屏上观察，用户可以观察到在光学显微镜各种物镜倍数下的切片显微场景。使用者不仅可以在本地计算机上观察全切片内容，而且可以通过网络远程观察和研究切片。越来越畅通的网络环境，保障了用户可以通过网络畅通浏览数字切片。数字切片一直受到细胞病理、临床病理等领域的热切期盼。

与传统玻璃切片相比较，数字切片的优势非常明显。数字切片突破了显微视野范围的限制，使用户可以大范围的观察切片而不丢失细节；玻璃切片的浏览需要使用光学显微镜，玻璃切片内容的浏览很不方便而且很耗时，数字切片则采用先进的计算机存储和检索技术，能快速地检索和浏览，并可以精确定位到目标感兴趣的区域通过图像标记或标注，提高了医务工作者的工作效率；数字切片便于存储和通过网络进行信息交流，比较适合医学的远程诊断和会诊，以及实验教学；切片数字化还可以整合资源、节省资金，对于一些难以取得的切片，如心脏、脑以及系统性疾病的病理切片等，通过数字化实现切片的共享。同时，个人医学电子档案的发展趋势也促进了数字切片的应用需求。综合分析数字切片具有如下优点：

- 数字切片可用来远程初级诊断。
- 数字切片用于专家会诊时，通过网络传递切片内容方便快捷。
- 数字切片可以方便地复制与保存。
- 数字切片一旦生成，不管传输多远内容不会发生变化。
- 数字切片可方便的用于远程教育教学，通过网络学生可很方便地参加病理考试。
- 数字切片可方便地与计算机检索技术结合，使得信息切片检索更加方便快捷。
- 数字切片可用来做细节性的图像分析，批注内容可附加在数字切片上，通过数字切片管理软件管理批注、阅读批注。
- 数字切片可用来实现虚拟显微镜，在没有光学显微镜的情况下，通过数字切片浏览软件浏览不同倍数下的切片内容。

综上所述，随着生命科学领域的迅速发展，数字切片的应用范围不断扩大，需求量也逐年递增，用于切片数字化的数字切片扫描系统具有良好的市场成长性和广阔的市场前景，研究和开发具有自主知识产权的切片扫描设备并实现其

产业化, 对于提高企业的核心竞争力、发展我国现代高科技产业具有重要意义。

### 第二节 数字切片系统的发展现状

在计算机技术和信息技术向各个领域渗透的过程中, 传统的光学显微镜观察模式在不断地发生改变。近年来, 越来越多的医务工作者和科研工作者意识到数字切片的优越性和便利性, 增加了数字切片制作设备的需求量, 促进了相关产业迅速发展, 形成了前景可观的产业。

目前, 数字切片系统主要有两种扫描方式: 一、传统方式, 在显微镜上装配一个高分辨率的 CCD 相机进行拍照, 这样将高倍放大的玻璃切片图像进行局部的多次的拍照, 并将最后生成的 N 多张图片利用计算机软件功能组合成一个整张的切片图像; 二、采用 TDI-CCD 线性扫描技术(移动积分扫描), 移动积分扫描技术不是采用拍照拼接方式, 而是类似于办公用的扫描仪, TDI-CCD 图像传感器在物体上移动扫描的同时, 图像即传输到计算机上。典型的扫描时间是在使用 20×物镜下 1 分钟完成 15mm×15mm 区域内的扫描。使用数字切片的自动转换技术, 一次可对 210 张切片进行扫描。当然, TDI-CCD 传感器的造价成本也是很高的, 在宇航拍摄哈雷彗星运动轨迹时采用过这种技术。

国外的厂商在这个方面投入较早, 研发的产品大多性能优良, 价格昂贵。国外有些厂商采用第二种数字切片扫描方式, 如图 1.1 所示, 日本 Hamamatsu Photonics 公司的 NanoZoomer 系列产品<sup>[6]</sup>、美国光谷中心亚利桑那州图森市 DMetrix 研究开发的快速数字切片显微扫描仪<sup>[7]</sup>和美国的 Aperio 公司的 ScanScope 系列数字切片扫描系统<sup>[8]</sup>均采用时间延迟积分技术 TDI-CCD 制作数字切片; 有些厂商采用传统的数字切片扫描方式的产品, 主要有日本奥林巴斯公司的 DoSlide 数字虚拟切片工作站<sup>[9]</sup>。

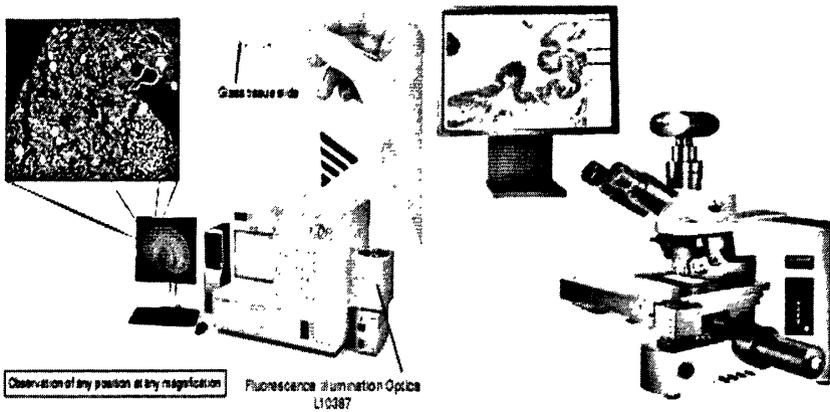


图 1.1 NanoZoomer 数字切片扫描系统<sup>[6]</sup>和 DoSlide 数字虚拟切片工作站<sup>[9]</sup>

国内的厂商起步比较晚，如厦门麦克奥迪（Motic）实业集团有限公司的 BA600Mot 虚拟自动显微镜系统、北京普利生仪器有限公司的 AMP2000-P 自动全景病理图文显微平台系统、北京优纳科技有限公司的 PRECICE 系列全自动数字切片扫描系统等等，这些产品的结构类似，主要采用传统的数字切片扫描方式，通过计算机软件将扫描拍照获得的图像拼接成一整张的数字切片图像。这些产品相比于国外厂商产品价格便宜，但是由于这些产品的部分关键技术是购买国外的核心技术，价格还是很高。

数字切片的优越性得到了大家的认可，数字切片越来越多地应用到各个医学和生物领域。但是由于价格昂贵的原因，虽然感兴趣的用户很多，此类产品只有国内的某些大型医院、科研机构及重点实验室，如北京协和医科大学病理科、浙江大学医学院、中国医科大学基础医学院使用，国内只有少数的医院已经建立了数字切片库。只有数字切片扫描系统的成本降低，数字切片才会得到广泛的推广和应用。

南开大学机器人与信息自动化研究所自 1993 年开始进行微操作机器人的研究，于 1996 年开发出我国第一台微操作机器人样机。随着逐年的研究改进，微操作机器人系统的高精度位移控制技术日渐成熟，该技术是研究开发数字切片扫描系统的微动扫描平台的重要技术基础。本文研究的数字切片扫描拼接系统是采用传统的数字切片扫描方式来制作数字切片，该系统是本课题组与南开太阳高科技发展有限公司合作，基于南开大学自主研发的微操作机器人系统研发，拥有开发数字切片扫描系统的核心技术，所以能降低数字切片扫描拼接系统的生产成本。同时，研究开发数字切片扫描拼接系统是微操作机器人研究成果产

业化的一项重要发展方向。

### 第三节 论文主要研究内容

#### 1.3.1 论文的主要研究内容

本文主要研究了数字切片扫描拼接系统的关键技术：数字切片扫描技术和全切片数字图像拼接技术。数字切片扫描研究主要是保障待拼接图像质量，研究了全切片图像扫描中的自动调焦方法和数字切片图像扫描路径规划方法。全切片图像拼接方法是生成全切片的关键技术，用于克服大规模图像拼接带来的拼接误差大、切片浏览难、拼接复杂等问题。

综上所述，本文主要研究了数字切片扫描系统的关键技术，研究内容主要以数字切片扫描技术和全切片图像拼接技术为重点。

#### 1.3.2 论文的章节安排

本文主要围绕数字切片扫描拼接系统的设计与实现，进行了相关关键技术的研究，论文的主要章节如下：

第一章研究分析了数字切片扫描系统的研究背景和发展现状，从而引出了本文的主要的研究内容。

第二章介绍了数字切片扫描拼接系统的系统结构，根据研究环境指出了本文的工作重点。

第三章对数字切片扫描技术进行研究，包括消除误差累积的扫描方法和扫描过程中的自动调焦方法。

第四章对数字全切片图像拼接难点进行研究，提出了面向数字全切片的优先权图像拼接方法。

第五章完成了数字切片扫描拼接系统与切片浏览系统的设计与实现，通过多组病理切片的数字化实验，验证数字切片扫描拼接系统的可行性和有效性。

第六章对本文进行总结，并对数字切片系统提出了进一步的研究设想。

### 1.3.3 论文内容结构

本文主要围绕数字切片扫描系统研究，工作的结构图如图 1.2 所示，描述了本文的各项工作的结构关系。

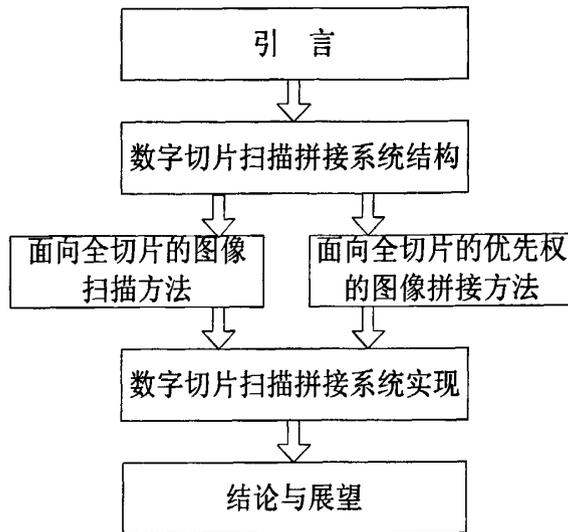


图 1.2 本文结构图

## 第二章 数字切片扫描拼接系统概述

### 第一节 数字切片扫描拼接系统的体系结构

图 2.1 所示为数字切片扫描系统结构，它是由上位机系统、微动控制器、机械结构和显微视觉系统四部分组成。数字切片扫描拼接任务是包括切片扫描与切片拼接，这些任务是靠数字切片扫描系统各个功能部分相互协作完成。

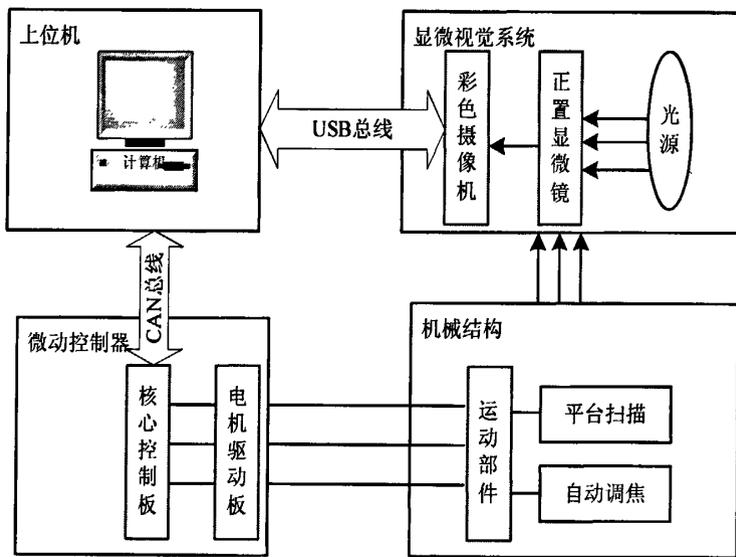


图 2.1 数字切片扫描系统整体结构

数字切片扫描为数字切片图像拼接提供待拼接图像，这些待拼接图像是数字切片图像拼接的前提条件。数字切片的扫描方法主要任务是对微动平台的扫描运动进行运动规划和自动调焦，上位机系统软件以  $10ms$  为控制周期，将各个轴的控制信号通过 CAN 总线发送给微动控制器。微动控制器解析控制命令，并以  $1ms$  作为控制周期驱动步进电机，进行微动平台的二维平面扫描运动和自动调焦操作。同时，显微视觉系统将显微镜下的切片内容通过摄像机以显微图像的形式传递给上位机系统软件，上位机系统软件通过控制切片扫描获得显微图像序列。当获得数字切片的待拼接图像后，上位机软件将待拼接显微图像拼接成数字全切片。

本章主要通过对数字切片扫描系统体系结构的介绍分析,引出了本文的研究环境和研究背景,本章第二节分析总结了数字切片的关键技术,引出了本文的主要研究内容:面向全切片扫描方法和全切片图像拼接方法。

### 2.1.1 数字切片扫描拼接系统的机械结构

数字切片扫描系统主要负责数字切片的扫描与拼接,数字切片的扫描是数字切片扫描系统的难点。切片扫描是在光学显微镜  $20\times$  或  $40\times$  物镜下进行的图像扫描,图像扫描时相邻图像间具有一定的重叠,数字切片扫描平台必须保持高精度高稳定性的运动才能保证相邻图像间有稳定的重叠区域,这样才能满足图像拼接的图像重叠度要求。

数字切片扫描系统在进行大范围切片扫描时,由于扫描的空间的跨度大,切片不同区域的焦平面不一致,图像会发生不同程度的离焦,图像扫描过程中的自动调焦不可缺少。在扫描过程中自动调焦,可以确保数字切片内容的清晰。在 Bacus 实验室研制的虚拟显微镜系统<sup>[11]</sup>,在切片扫描过程中需要人为参与自动调焦,在  $40$  倍物镜下,扫描一幅宫颈检查涂片的全切片需要  $5$  个小时的时间,缺少了自动调焦就不能实现切片的自动化扫描。

数字切片扫描系统通过规划微动平台的二维的扫描运动与驱动微动平台的调焦机构,实现切片的全自动扫描方法。其微动平台的平面扫描和自动调焦的机械部分是图像扫描环节的重要组成部分,下面对微动平台的机械结构进行介绍。

数字切片扫描的机械结构主要包括微动平台和自动调焦装置两部分,如图 2.2 所示。微动平台由两个正交的运动轴组成,具有 X、Y 两个平动自由度,每个运动轴都通过高精度步进电机驱动精密丝杠,电机旋转带动丝杠上的滑块在导轨上作直线运动,从而带动玻璃切片沿 X、Y 方向运动。显微镜的自动调焦装置由另一个运动轴控制,该装置通过控制步进电机带动固定于显微镜准焦螺旋上的轴套旋转,提供高精度的转动来带动平台上下运动实现调焦操作。

数字切片系统的机械结构直接影响了微动平台的运动精度,机械结构中的高精密丝杠的加工精度越高,微动平台的运动误差越小,数字切片扫描越稳定。

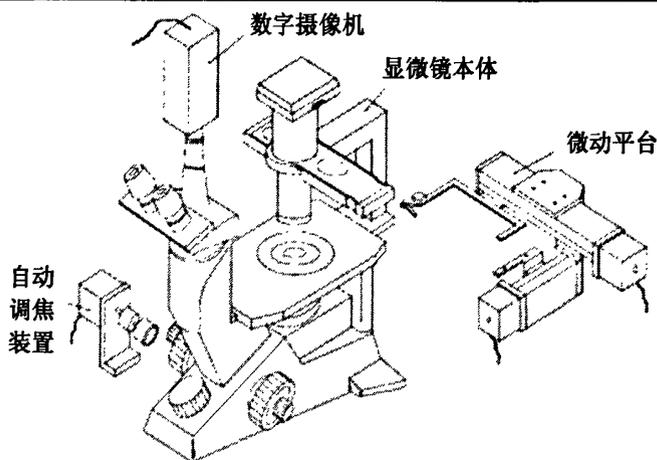


图 2.2 数字切片自动扫描平台的机械结构

### 2.1.2 数字切片扫描拼接系统软件结构

数字切片扫描系统的上位机软件是整个切片扫描系统的管理者，它协调微动平台的 X 轴、Y 轴平面运动、调焦转动与显微视觉系统获得数字切片拼接的原始待拼接的序列图像。同时启动数字切片图像拼接方法，实现“边扫描边拼接”的在线数字切片拼接功能，系统软件结构如图 2.3 所示。

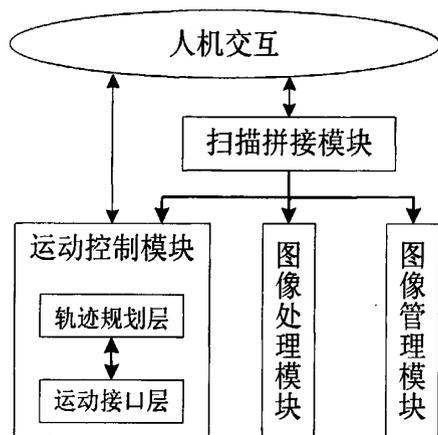


图 2.3 数字切片扫描系统软件结构

数字切片扫描系统软件采用模块化软件设计方法，将系统结构划分为运动控制模块、图像管理模块、图像处理模块和图像拼接模块。运动控制模块、图像管理模块、图像处理模块相互独立，图像拼接模块管理协调图像扫描与图像

拼接完成图像拼接的复杂任务。

数字切片扫描拼接分为切片的扫描与数字切片拼接两个部分。图像扫描设计扫描路径,调用运动模块的轨迹规划层接口控制平台做扫描运动和自动调焦运动,再调用图像管理模块获取显微图像保存到磁盘,完成图像扫描的任务。图像拼接以扫描模块扫描保存的图像作为待拼接图像,通过调用图像处理模块进行图像计算实现图像的无缝拼接。下面简要介绍一下各个模块的功能:

### ● 运动控制模块

运动控制模块主要实现平台 X 轴、Y 轴、调焦轴的点动或连动控制。运动控制模块划分为轨迹规划层和运动接口层。

轨迹规划层根据所期待的运动轨迹,规划出运动轴的速度曲线。轨迹规划控制周期为 10ms,计算出 10ms 内各个轴的运动速度,同时轨迹规划层对运动速度进行二次规划,计算出下位机控制周期(1ms)的速度值,然后通过运动接口层接口下发给微动控制器。

运动接口层是上位机系统与微动控制器的衔接部分,其主要功能主要为:一方面,提供宏观速度( $\mu m/s$ )与速度系数(用于微动控制器中的变频脉冲发生器)的转换的接口;另一方面,与下位机的电机控制板通过 CAN 总线进行数据通信,从而实现轨迹规划层规划速度的下发控制和微动控制器的位置、状态等信息的反馈信息的读取与解析。

### ● 图像管理模块

图像管理模块主要实现对彩色摄像机的管理工作,包括彩色摄像机的初始化、摄像头参数的设置、显微图像的获取和显微视野显示等工作。该在图像扫描时,通过图像管理模块获取显微图像并保存为待拼接图像。

### ● 图像处理模块

图像处理模块主要负责图像处理的各个任务,通过图像处理的模块从显微视觉系统获得显微图像的各种有用信息,如图像的 SIFT 特征提取、空白图像的检测以、调焦过程中图像清晰测度的求取、图像预处理等功能。

### ● 扫描拼接模块

图像扫描拼接模块是整个系统最关键的模块,主要负责图像扫描和图像拼接的任务。图像扫描部分主要负责扫描路径的规划、扫描保存序列图像以及扫描过程中的自动调焦。图像扫描与图像拼接是并行执行的,通过同步方法确保图像拼接所需的待拼接图像已经扫描且保存。图像拼接则以图像扫描完成的图

像作为待拼接图像，采用 SIFT 特征匹配的方法进行相邻图像的配准、采用图的深度优先遍历的方法确定图像的全局位置，并且将数字全切片图像分成图像矩阵来保存。

### 2.1.3 数字切片扫描拼接系统的微动控制硬件结构

数字切片系统一方面需要一个好的图像拼接方法来完成海量的显微图像序列的图像拼接，另一方面，图像拼接所需要的覆盖全切片范围的海量的显微图像序列的获取也是研究的难点。通常，数字切片扫描是通过微动载物平台的高精度的二维扫描运动来实现的。

本文中，微动载物平台的微动控制器采用 CAN 总线方式进行上位机与下位机控制数据的通信，上位机定时读写 CAN 卡，给电机控制板发送速度数据控制电机转动。CAN 总线结构的微动控制通信方案具有较强的系统扩展性<sup>[10]</sup>，图 2.4 为数字切片扫描拼接系统的微动控制器硬件结构，当系统添加或者减少电机时，只需要在 CAN 总线上添加或减少电机控制板就能实现微动控制器的扩展。这种控制方案之所以能够取代微操作机器人的基于 USB 总线微动控制方案，是因为基于 USB 总线的微动控制方案具有扩展性不强的缺点，当扩展控制器控制规模时，该方案需要重新编写多轴控制板程序才能实现控制器的扩展。下面将详细介绍 CAN 总线方式微动控制器控制方案。

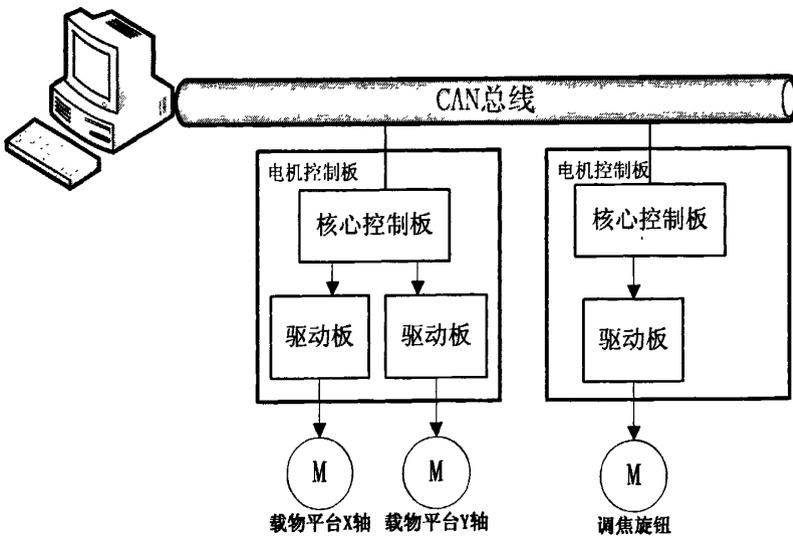


图 2.4 数字切片扫描系统控制器硬件结构

## 2.1.3.1 微动控制器 CAN 总线结构

CAN (Controller Area Network) 总线协议，是 ISO 国际标准化的串行通信协议，被广泛地应用于工业自动化、船舶、医疗设备、工业设备等方面。

CAN 控制器根据两根线上的电位差来判断总线电平。总线电平分为显性电平和隐性电平，二者必居其一。发送方通过使总线电平发生变化，将消息发送给接收方。微动控制器的 CAN 总线连接如图 2.5 所示。

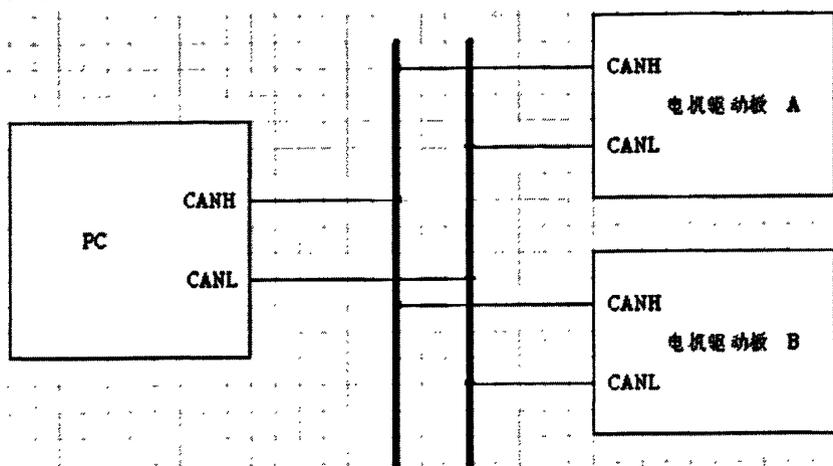


图 2.5 微动控制器的 CAN 总线连接图

## 2.1.3.2 电机控制板结构

电机控制板包括两部分：核心板和电机驱动板，电机控制板的两部分结构如图 2.6 所示。

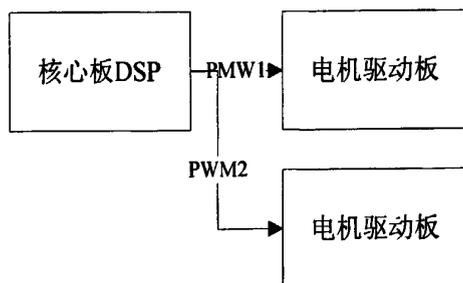


图 2.6 电机控制板结构图

其中，核心板主要由 DSP TMS320LF2407A、存储器芯片、CAN 总线模块和相关的逻辑芯片组成，其主要功能包括两个方面：一方面，通过 CAN 总线完成上位机运动命令数据包的接收和下位机状态数据包的上传；另一方面，用于

产生控制电机的 PWM。其核心是变频脉冲发生器，它负责将上位机发送过来的速度系数转换为电机控制的控制信号  $step$ ，该信号的频率与电机的实际运动速度成正比。

在进行运动控制时，变频脉冲发生器使用了一个向下计数的计数器对速度寄存器中的数值进行计数。速度系数数值越大，STEP 脉冲输出的频率越小，电机转动的速度越慢。且当向速度寄存器中写入 0 时，变频脉冲发生器不输出脉冲。

STEP 脉冲的频率与速度寄存器中的速度值的关系为

$$f_{STEP} = \frac{f_{base}}{2(K+1)} \quad (2.1)$$

其中  $f_{base}$  为计数器时钟频率，K 为写入计数器中的速度值， $f_{STEP}$  为 STEP 脉冲频率。微动控制器实际使用中，目前设定的  $f_{base}$  为 10MHz。当  $K=0$  时， $f_{STEP}=0$ 。

电机驱动板主要完成步进电机的细分控制和功率放大功能。电机驱动扩展板收到来自核心板的 PWM，通过 PWM 控制步进电机的定子绕组中电流的变化控制步进电机运动。电机控制采用了基于脉冲信号的细分控制，要控制步进电机旋转一圈，需要发送 50800 个 STEP 脉冲来驱动电机。

数字切片系统的微动平台包含两种运动方式：方式一，微动平台的 X 轴、Y 轴是通过步进电机带动丝杠的直线运动；方式二，微动平台的调焦方式是步进电机带动正置显微镜的细准焦旋钮的转动来带动平台在 Z 方向的运动。

微动平台的 X 轴和 Y 轴选用的螺距为 1mm，那么，电机旋转一周，微动平台的滑块直线运动 1mm，显微镜的细准焦旋钮旋转一周平台在 Z 方向上只运动 0.2mm。那么当选用螺距为  $S_{screw} \mu m$  的丝杆时，滑块的宏观运动速度为

$$v = \frac{S_{screw} \times f_{STEP}}{50800} (\mu m / s) \quad (2.2)$$

将 (2.1) 代入到 (2.2)，则

$$v = \begin{cases} \frac{S_{screw} \times f_{base}}{101600(K+1)} & K \neq 0 \\ 0 & K = 0 \end{cases} \quad (2.3)$$

式 (2.3) 为上位机运动接口层进行宏观速度和速度系数转换的关系。

当选用不同螺距的丝杠来驱动滑块时，宏观速度与速度系数的关系将会改变。从以上的微动控制器的设计可以看出，该结构的微动控制器具有较强的扩展性，所以，数字切片扫描系统的软件应该随着微动控制器的扩展性进行相应设计，系统软件设计时采用灵活的系统配置接口，如微动平台的各个轴的丝杆的螺距和微动平台当前的电机数作为配置参数进行灵活设置，这样可以根据微动平台实际配置灵活配置数字切片扫描拼接系统，从而增强系统的扩展性。

### 2.1.4 数字切片扫描拼接系统的视觉系统

数字切片扫描系统的成像系统由 OLYMPUS BX41 正置显微镜、微动平台、真彩色高级 CCD 摄像机和上位计算机组成。

图 2.7 所示为数字切片扫描拼接系统的显微成像系统结构，玻璃切片放置于微动平台载物区内，玻璃切片经过显微镜成像系统成像在摄像机 CCD 的感光面上，接着高级摄像机将图像离散化转化成数字图像，以标准视频的方式不断地通过 USB 总线传递给上位机软件。上位机软件一方面将获得的图像用于图像处理，另一方面将获得的图像用于显示在上位机软件的视野显示区域内。

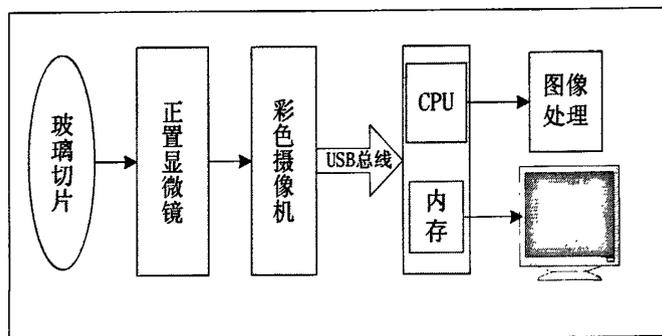


图 2.7 显微成像系统结构

## 第二节 数字切片扫描拼接系统的关键技术

数字全切片的制作方法如下：首先将玻璃切片固定于微动平台载物区，然后规划微动平台的运动路径，并按照此轨迹控制图像采集系统采集覆盖被扫描区域的图像序列，最后，系统通过图像拼接方法将图像序列拼接成整张的数字切片图像。

数字切片扫描拼接系统的关键技术主要涉及微动载物平台、电动调焦机构、全切片图像拼接方法以及系统软件的设计。

全切片的图像扫描是涉及大范围的图像扫描，而微动平台的运动误差随着扫描范围的增大而增大，进而影响到切片扫描质量，不利于下一步的图像拼接。为了减小图像扫描给图像拼接带来的不良影响，本文针对切片扫描任务，深入研究了全切片扫描方法。同时，由于在图像扫描成像过程中玻璃切片会发生不同程度的离焦，因此需要在扫描过程中不断地进行自动调焦，来保证待拼接图像符合全切片拼接的图像质量要求。

面向全切片的图像拼接任务中，待拼接图像达到上百张或上千张。全切片图像拼接中，解决误差累计，提高拼接速度，优化内存使用，处理扫描过程中的空白图像将是本文研究的主要问题。

面向全切片的图像扫描与图像拼接方法是本文的主要研究内容，图像扫描方法与图像拼接相互联系，两者一起形成数字切片扫描拼接系统的关键技术。图像扫描方法是全切片图像拼接方法的基础，在第三章和第四章中将详细介绍图像扫描方法和图像拼接方法。

### 第三节 小结

本章简要介绍了数字切片扫描系统的系统结构，主要包括系统的机械结构、微动控制器、上位机软件系统等组成部分。并且指明了本文的主要研究内容：面向全切片的扫描方法和数字全切片拼接方法。

## 第三章 面向全切片的图像扫描方法

### 第一节 概述

数字切片扫描是数字切片扫描系统的核心技术之一，也是数字切片拼接的前提。数字切片扫描不仅要扫描覆盖切片区域，而且还要保障扫描获得的待拼接显微图像清晰、相邻图像重叠度稳定以满足图像拼接的要求。

数字切片的扫描要求微动平台的运动精度达到微米级精度，本文中使用的微动平台的微动精度能达到微米级精度，但是微动平台的误差累积随着扫描范围的增大而增大，从而影响到数字切片的扫描的稳定性。

为了解决扫描过程中的误差累积的问题，本文采用测量统计微动平台运动精度规律的手段，来获得数字切片扫描中的误差补偿方案，从而减小全切片图像扫描中微动平台的累积误差带来的负面影响。同时，微动平台测量获得的微动平台运动精度数据也是图像拼接方法中的硬件平台信息，是图像拼接算法中的约束条件之一。

面向全切片的图像扫描中，随着扫描范围的增大，显微图像不可避免地发生离焦的现象。当显微图像离焦的情况时，数字切片图像扫描需要自动调焦措施用来保障扫描的获得的显微图像清晰。由于系统对于扫描拼接的时间消耗要求尽可能少，所以尽量降低数字切片扫描中自动调焦的时间花费是设计调焦方法考虑的要点。

本文的图像扫描技术采用间隔性调焦的策略，且在每处自动调焦前先预检测自动调焦条件再进行自动调焦以保障自动调焦的成功率。采用这种自动调焦方法既能保障扫描获得的待拼接图像清晰，又能将自动调焦耗时降低到最小的限度，以满足全切片扫描的调焦耗时少、获得待拼接图像清晰的目标要求。

## 第二节 面向全切片图像扫描方法

## 3.2.1 切片扫描规划

数字切片扫描范围根据用户的设定而确定，扫描范围为覆盖用户设定的区域的最小矩形，一般的正常尺寸的玻璃切片，需要进行扫描的区域约为  $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 。将选择的矩形区域分割成大小等同于当前屏幕视野的一组单元格，扫描路径保证每个单元格都被拍摄过，同时还要考虑相邻图像间存在一定程度的重叠，以便进行图像拼接<sup>[12]</sup>。

数字切片扫描的路径规划方法如图 3.1 所示，选取位于左上角的单元格作为扫描的起始点和终点，每次扫描运动都把相邻单元格移入显微视野，图像扫描通过微动平台折线运动获取每个区域的局部显微图像。另外，由于显微图像的扫描精度为微米级，在由丝杠驱动的微动平台进行 X 轴方向运动扫描时，载物台的运动轨迹并非理想的直线，而是在 Y 方向上存在  $2\mu\text{m}$  以内的随机波动，如图 3.1 所示。

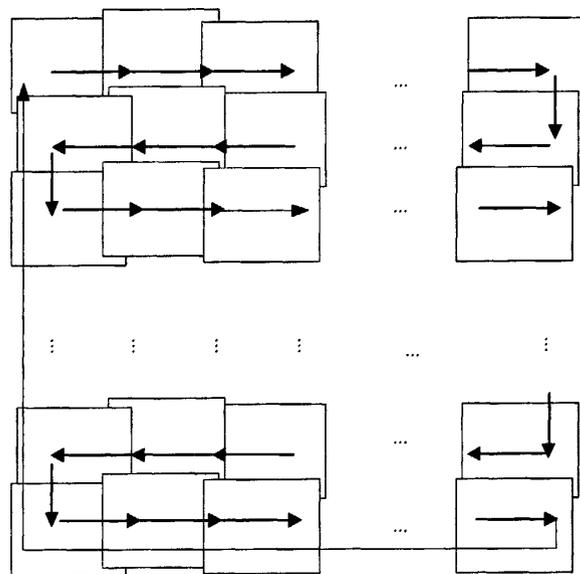


图 3.1 数字切片图像扫描路径规划

数字全切片扫描时图像量很大，扫描的图像保存于计算机磁盘中，且图像的存储名字为图像阵列中的坐标位置，如第 3 行第 5 列的图像名保存为 3\_5.jpg。

这种方式保存待拼接图像具有以下优点：一，通过图像命名获得该图像处于全切片图像中位置。二，通过图像命名获得图像的邻接图像信息和扫描的切片规模等信息。

### 3.2.2 微动平台测量

#### 3.2.2.1 基于图像的精度测量方法

微动平台由三个自由度，分别由三个滑动关节组成，三个滑动关节两两相互正交，水平面的两个关节分别命名为 X 轴、Y 轴，Z 轴与 X-Y 平面垂直，其中，Z 轴主要负责系统的自动调焦工作。

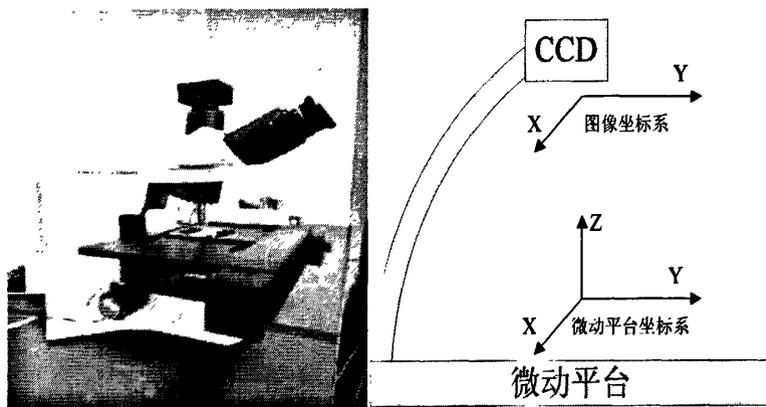


图 3.2 切片扫描系统与坐标系结构图

图 3.2 为数字切片扫描系统的实物图与系统坐标系示意图，系统可分为两个局部坐标系：微动平台三维坐标系和 CCD 图像二维坐标系。微动平台坐标系的 X 轴为滑动关节的轴向方向，同理微动平台坐标系的 Y 轴为微动平台的 Y 轴滑动关节的轴向方向。从系统结构可知，微动平台的 X-Y 坐标平面与 CCD 图像二维坐标系平行。

微动平台运动产生位移，CCD 摄像机采集的图像内容也随之变化。由此，通过测量图像内物体的位移，即可获得微动平台的位移情况，如图 3.3 所示，微动平台 X 轴左移  $500 \mu m$ ，显微图像内容相应产生向右的平移。通过检测图像内容的平移距离即可测量出微动平台的运动距离。

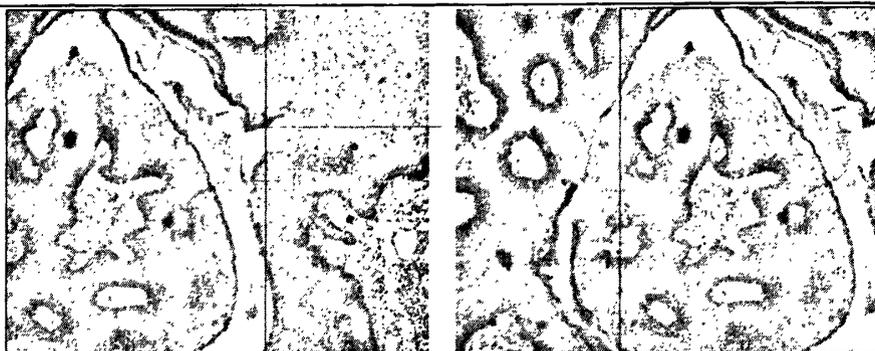


图 3.3 微动平台微动导致图像内容平移

本文微动平台的运动精度测量通过测量图像内物体的位移来实现，其中，测量图像内物体位移采用 SIFT 特征匹配的方法。图 3.4 为图 3.3 中的显微图像通过 SIFT 特征匹配的情况，从图 3.4 可以看出，通过 SIFT 特征匹配结果可以获得图像内容的位移。



图 3.4 基于 SIFT 特征匹配的图像测距法

基于图像的微动平台精度测量方法可以通过程序自动化测量，获得准确的测量微动平台的运动精度数据。本文通过测量数据统计分析获得微动平台的测量结果，依据测量结果提出优化的切片扫描路径规划，实现数字切片扫描方法的研究与评估。

### 3.2.2.2 微动平台测量实验

微动平台的机械结构与控制器都是自主研发系统中的重要部件，其运动精度需要通过测量与评估的方法来获取。微动平台的运动精度也是数字切片系统

的重要的性能指标，直接影响数字切片的扫描质量。

通过基于 SIFT 特征匹配的方法可测量微动平台的实际运动精度数据，另一方面，微动控制器可以通过反馈获得微动系统的控制精度数据。

设测量样本中有  $n$  个数据，测量步长  $step = \eta$ ，测量精度数据样本为  $\{S_1, S_2, S_3, \dots, S_n\}$ ，那么，运动精度均值计算如式(3.1)所示

$$\bar{S} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_i \quad (3.1)$$

定义误差均值  $\varepsilon_{avg} = \bar{S} - \eta$ ，方差计算如式(3.2)所示

$$S^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n (S_i - \eta)^2 \quad (3.2)$$

本文选取  $50 \mu m$ 、 $100 \mu m$ 、 $150 \mu m$ 、 $200 \mu m$ 、 $300 \mu m$ 、 $500 \mu m$ 、 $800 \mu m$  为测量步长，进行微动平台测量实验。在测量中，实测精度数据为通过图像的方法获得实际运动精度值，控制精度数据为系统在测量过程中控制器反馈的控制精度数据。表 3.1 中实测误差均值、实测方差为对实测精度数据的处理值，控制误差均值、控制方差为对控制精度数据的处理值。

表 3.1 微动平台评估测量表

测量步长 ( $\mu m$ )	样本量	实测误差 均值 ( $\mu m$ )	实测方差	控制误差 均值 ( $\mu m$ )	控制方差
50	80	-0.129	2.833	-0.1149	0.014
100	78	-0.045	0.7233	-0.0516	0.005
150	36	-0.546	4.460	-0.4642	0.222
200	43	-0.593	1.878	-0.662	0.450
300	25	-1.143	4.046	-1.058	1.180
500	20	-2.584	10.808	-2.351	4.837
800	18	-4.536	39.615	-4.119	18.772

表 3.1 可以看出，实测的误差均值与控制误差均值非常接近，通过 3 组同样条件下的测量发现，这种现象并非偶然。那么，可以推论出控制产生的误差导致实际微动平台的误差的平均值，当步长为  $800 \mu m$  时，误差均值达到  $-4.5 \mu m$ ，在这种情况下，当面向全切片扫描时，运动的累积误差将会随着扫描范围的增大而增大。

由表 3.1 数据分析可知,虽然系统的误差是由机械结构安装、控制误差等原因造成的。但是影响微动平台运动累积误差主要是系统的控制误差,减小微动控制器的控制误差,可以消除或者减小微动平台的运动的累积误差。本文添加误差补偿的方法来减小微动平台的累积误差。

在 20×物镜倍数,使用睿智 RZ-D140M 摄像机条件下,数字切片扫描系统的视野大小为  $633.8 \mu m \times 477.2 \mu m$ ,若设置图像重叠度为 20%,那么微动平台在平台 X 轴方向上的运动规划距离约为  $500 \mu m$ ,由控制器反馈的控制精度数据可得,微动控制器反馈的距离约  $497.2 \mu m$ 。采用误差补偿的方法,  $2.8 \mu m$  的误差补偿到上位机运动控制命令中,当设置上位机发出  $502.8 \mu m$  的运动控制命令时,微动控制器的控制距离为  $500 \mu m$ 。

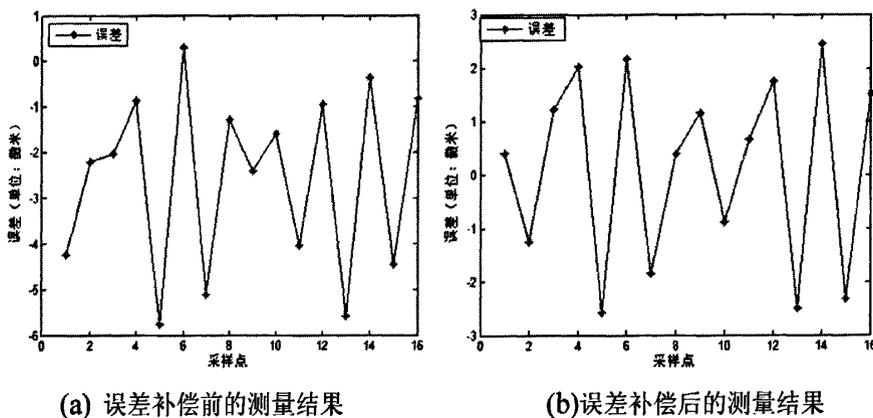


图 3.5 误差补偿前后的测量结果

补偿前后的微动平台的运动误差分布如图 3.5 所示,由误差补偿实验得出,通过这种误差补偿,单步运动精度误差在  $3 \mu m$  以内,累积误差均值减小到  $0.15 \mu m$ ,通过这种误差补偿的方法,能解决大规模图像扫描中的误差累积问题。

### 3.2.3 切片扫描运动规划策略

由 3.2.2 小节中微动平台的性能分析可知,通过微动控制器的反馈可以获得误差补偿值,数字切片的扫描规划中添加控制误差补偿值来减小大规模数字切片扫描中存在的累积误差。

设上位机发出的运动命令控制距离为  $S$ ,控制器反馈的距离值  $S'$ ,那么扫描中的误差补偿值为  $e=S-S'$ 。在数字切片扫描方法中,上位机发出补偿后的运动

命令值  $S+e$  代替  $S$ , 这种方法能减小大规模数字切片扫描中的误差累积, 且不增加微动平台的单步误差, 这样数字切片扫描方法能获得稳定重叠的待拼接图像。

在图像扫描过程中, 相邻两行的图像扫描方向相反, 为了减小微动平台回程误差在图像扫描过程中的影响, 在图像扫描中换行扫描时的第一次运动规划中添加回程误差补偿, 减小回程误差给图像扫描带来的影响。

## 第三节 面向全切片图像扫描的自动调焦设计

### 3.3.1 全切片扫描中自动调焦的设计分析

本课题组在微操作机器人的研究工作中, 曾经对微针和显微切片的图像的自动调焦方法做过研究。其中, 针对微针的自动调焦方法采用分析图像上一条扫描线上的最小灰度值作为调焦测度来实现自动调焦。其中, 针对显微切片的自动调焦方法是在显微图像模糊的情况下, 采用改进的归一化方差测度作为调焦函数来进行自动调焦操作。

前期研究的两种自动调焦方法用在图像扫描过程中存在一些缺点: 第一, 适用条件简单, 没有考虑到图像内容对自动调焦的影响。针对微针的自动调焦方法仅仅适用于微针的聚焦, 不能适用于切片图像的自动聚焦。针对显微切片的自动调焦方法是局限于显微切片调焦区域不能是空白的区域条件。在图像扫描过程中, 存在对空白图像区域进行自动调焦的情况, 后一种调焦方法将会调焦失败。第二, 这两种自动调焦方法都是采用在线自动调焦的方法, 每个运动控制周期内都计算图像清晰度评价函数来评判调焦方向。这种调焦实现方法系统资源消耗大, 不适合应用在数字切片扫描拼接过程中, 因为数字切片扫描拼接系统在进行数字切片制作时, 系统不光要进行图像扫描还要进行图像拼接的复杂计算, 自动调焦方法不能占据太多系统资源, 且不必要在每个控制周期内计算图像清晰度评价函数来进行自动调焦。

数字切片扫描过程中图像发生轻微的高离焦就需要进行调焦。由于数字切片系统设计要求图像扫描耗时少, 且相邻图像间的离焦程度少, 所以切片扫描中的自动调焦方法不需要对每一幅图像进行自动聚焦。为了实现数字切片扫描时的自动调焦, 又不大幅度地增加自动调焦给切片扫描带来的时间消耗, 本文采用间隔性地对扫描的部分区域进行自动调焦, 来保障数字切片扫描获得的图像

清晰。其中，切片扫描中自动调焦的间隔通过预先测量微动平台的方法来确定。

根据数字切片扫描环境的复杂性分析可知，在进行数字扫描中，部分扫描的区域为空白区域，当在空白区域进行自动调焦时，自动调焦将会失败且严重影响整体图像扫描结果。为防止这种情况的发生，本文中提出的自动调焦方法在自动调焦前通过空白图像检测方法进行预检测，预检测结果合格的情况下才能进行自动调焦操作。通过这种措施，提高了切片扫描中自动调焦算法的健壮性。

图像扫描过程中的自动调焦是在轻微离焦的特殊情况下进行的自动调焦，只需要少量的调焦步骤就能完成自动调焦，自动调焦时间花费少是必需考虑的要点。调焦策略应该选择在焦平面附近具有较强的灵敏度、计算不复杂、调焦响应速度较快的调焦函数作为调焦测度。本文选择图像灰度梯度平方和作为调焦评价函数，当调焦评价函数取得最大值时，认为切片被调至光学显微镜的焦平面上，在 CCD 感光面上成清晰的图像。

### 3.3.2 显微图像的成像原理

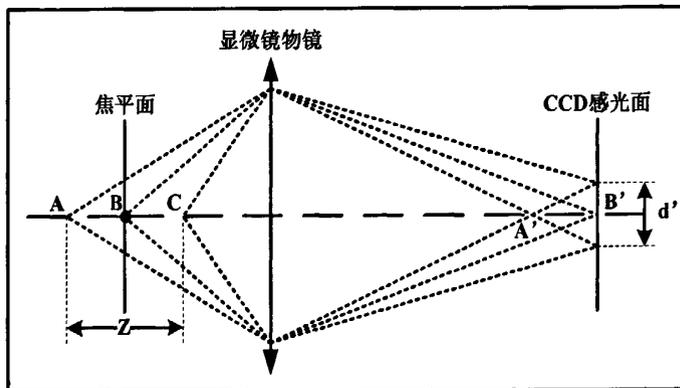


图 3.6 显微图像成像示意图<sup>[13]</sup>

如图 3.6 所示为显微图像成像示意图，当处于焦平面上的点 B 通过物镜成像于 CCD 感光面上的 B' 处时，远离焦点 A 和近离焦点 C 将分别成像于 A' 和 C' 点 (C' 点位于感光面后，由于没有成像在感光面上，图中未标识)，点 A 和点 B 在感光面上的像呈现为一个圆形的光斑。设光斑的直径为  $d'$ ，如果  $d'$  小于等于成像所用光波的衍射盘的直径，那么 A、C 两点的离焦量小于镜头的分辨率，可以认为

这两点也是聚焦的。而能够聚焦且离焦量最大的 A 点和 C 点之间的距离 Z 就是景深。

物体在显微镜下成像时，物体上位于物镜的景深范围内的点在 CCD 感光面上的成像是完全聚焦的，成清晰的图像点。而位于景深以外的点则会以不同大小的光斑叠加在完全聚焦的图像上，使得图像变得模糊。物体上所有的点在 CCD 感光面上的像叠加而形成最终的物体的显微图像<sup>[7]</sup>。物体离焦量越大，所成的显微图像就越模糊。

模糊成像过程是一个低通滤波过程，物体向着焦平面方向移动时，图像中的高频成分增多。关于图像的聚焦程度的度量可以通过高频滤波器分析和提取图像中的高频成分。从人类视觉的直观感觉的角度来讲，处于聚焦平面附近，聚焦良好的显微图像，图像的细节清楚、清晰，相邻的像素点的灰度变化明显。相比较模糊的图像，高频成分增多。离焦的图像，从直观的角度观察，图像模糊，图像中相邻像素点灰度值变化缓慢，高频成分相对较少。

#### 3.3.3 空白图像检测方法

调焦评价函数是通过提取和分析图像中的高频成分来评价图像清晰度的。而在扫描过程中，存在一部分区域获得的图像为空白的或者图像中存在极少的高频信息，我们把这种图像定义为空白图像，该切片区域为空白区域。如果在空白区域进行自动调焦，自动调焦方法将不能正确地将切片调至焦平面位置，这样导致调焦点附近扫描的图像是模糊的，从而导致图像扫描失败。所以图像扫描过程中的自动调焦方法在自动调焦前需要进行空白图像检测预处理。

在图像扫描中，需要调焦位置的显微图像只是发生轻微的离焦现象。非空白的显微图像存在不少的纹理信息，空白图像缺少纹理信息且高灰度值像素占整体像素比率高。

尽管目前对纹理没有正式的定义，但是纹理的描述子可以通过平滑度、粗糙度和规律性等特性来度量，在图像处理中用于描述区域纹理的三种主要方法有统计方法、结构化方法和频谱方法<sup>[14]</sup>。统计的方法主要是通过平滑、粗糙、粒状等的特征描述。

对图像的空白性质的检测是扫描过程中的自动调焦前必要步骤，本文针对空白图像的纹理少的特点采用统计方法检测图像是否属于空白图像。

虽然通过直方图的方法也能辨别出空白图像与非空白图像，但是直方图不具备像素之间的相对位置的信息而在使用时受到限制。空白图像检测方法不仅要考虑到像素的分布，而且还要用到图像像素的位置信息。图像的梯度计算不仅能反应相邻区域内像素间的灰度值变化情况，而且图像梯度的计算加入了图像位置的信息。

本文检测空白图像的方法采用图像梯度统计值作为测度来判断图像是否是为空白图像。为了使得图像梯度更能反映图像的纹理情况，像素梯度的求取选择间隔的像素的灰度值差作为度量值来进行统计。

像素梯度的计算表达式为式 (3.3)：

$$T(i, j) = |I(i, j) - I(i, j + inv)| + |I(i, j) - I(i + inv, j)| \quad (3.3)$$

式 (3.3) 中  $I(i, j)$  为显微图像中  $(i, j)$  像素点的灰度值， $inv$  为梯度计算的间隔， $inv$  取值为 3。

图像系统噪声也会表现出较大的梯度值，往往容易产生错误的纹理信息，影响纹理信息的梯度统计。所以纹理梯度统计前必需进行平滑滤波来去除噪声。

中值滤波是基于排序统计理论的一种能有效抑制噪声的非线性信号处理技术，中值滤波的基本原理是把数字图像或数字序列中一点的值用该点的一个邻域中各点值的中值代替，使得该点周围的像素值接近的真实值，从而消除孤立的噪声点。该方法是选取二维滑动模板，将模板内像素按照像素值的大小进行排序，生成单调上升（或下降）的为二维数据序列，将每个像素点的灰度值设置为该点某邻域窗口内的所有像素点灰度值的中值。

二维中值滤波输出为

$$g(x, y) = \text{med}\{f(x-k, y-l), (k, l \in W)\} \quad (3.4)$$

其中， $f(x, y)$ ， $g(x, y)$  分别为原始图像和处理后图像。 $W$  为二维模板，通常为奇数点的模板（常用的是  $3 \times 3$  和  $5 \times 5$  的模版）。

本文选用中值滤波的方法来去除图像噪声，空白图像检测流程如图 3.7，在自动调焦过程中，当  $\sigma$  阈值取值为 6 时，该算法能取得检测空白图像好的结果。

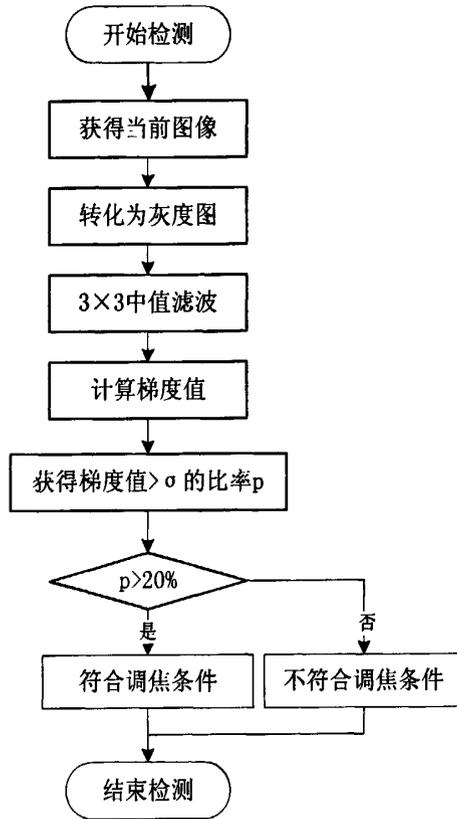


图 3.7 空白图像检测流程

### 3.3.4 面向切片扫描自动调焦方法

#### 3.3.4.1 自动调焦结构介绍

调焦系统的结构图如图 3.8 所示，数字切片扫描拼接系统的自动调焦子系统按照功能可分为三个模块：

##### 1) 图像采集模块

图像采集模块主要由光学显微镜和彩色专业 CCD 摄像机组成，主要负责对数字切片进行实时的图像信息采集，并且传送给计算机进行图像计算。

##### 2) 图像处理模块

图像处理模块主要由 PC 机和数字图像计算与处理软件组成，主要负责对采集到的图像进行预处理、计算当前图像的清晰度评价值，按照调焦

搜索算法发出调焦指令，控制调焦旋钮的转动。

### 3) 调焦控制模块

调焦控制模块主要由微动控制电机驱动电路、调焦步进电机和连轴器等部件组成，主要负责接收 PC 机发送的调焦命令，通过电机驱动板驱动步进电机转动，步进电机通过连轴器与显微镜的调焦旋钮相连，带动微动平台在 Z 方向上向上或向下运动，将切片调入显微镜的景深范围内，使切片成清晰地显微图像，实现自动调焦。

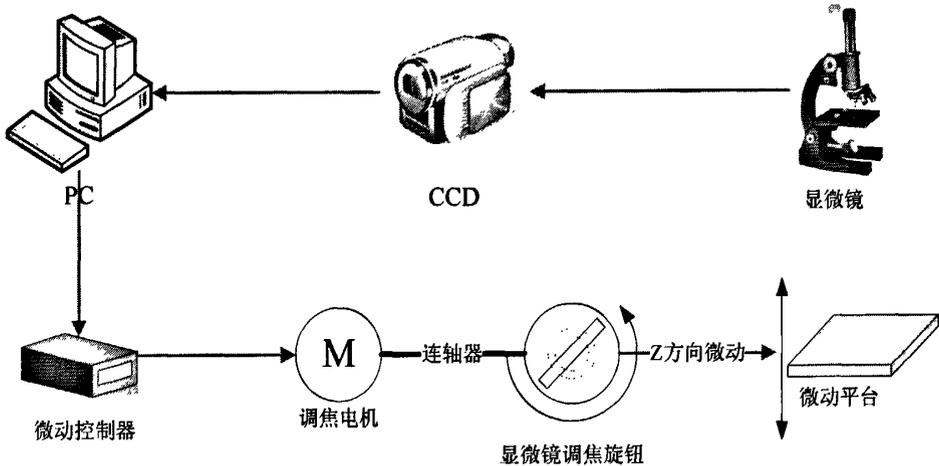


图 3.8 调焦系统结构图

#### 3.3.4.2 调焦评价函数的选择

在切片扫描过程中，图像只发生了轻微的离焦，属于焦平面附近的精细调焦。调焦评价函数选取在聚焦平面附近区域内灵敏度高的评价函数，即切片沿着光轴方向移动很小的一段距离，评价函数值就相应产生明显的变化。

文献[15]-[18]中介绍了几种常用的聚焦测度，并且对各个聚焦测度函数作了对比和评价，在众多的聚焦测度函数中，梯度平方和函数曲线平滑、调焦灵敏度高，适用于小范围内的精细调焦。该方法利用相邻图像点来估计图像的梯度，把梯度的平方和作为调焦评价函数，其表达式如下：

$$F = \frac{1}{MN} \sum_i \sum_j [(I(i+1, j) - I(i, j))^2 + (I(i, j+1) - I(i, j))^2] \quad (3.5)$$

式 (3.5) 中:  $I(i, j)$  为图像区域中点  $(i, j)$  的灰度值;  $M$ 、 $N$  为图像的尺寸。

聚焦图像比离焦的模糊图像包含有更多的细节信息, 当切片向焦平面方向运动时, 图像变得清晰, 图像中相邻的像素对比度增强。梯度平方和评价函数放大了这种变化率, 使得只需要被观察物体移动微小的距离, 聚焦评价函数值就会发生很大的变化。图像越模糊, 图像相邻的像素越是接近, 梯度越小。图像序列中使得梯度平方和测度取得最大值的图像为聚焦的清晰图像。

### 3.3.4.3 聚焦测度计算流程

在对玻璃切片进行聚焦过程中, 利用显微镜、彩色 CCD 摄像机等组成的成像系统生成的图像信息, 在采集图像的瞬间, 由于受到光强度的变化以及光电转换等的非线性等因素的影响, 不可避免地产生各种噪声, 如加性噪声、脉冲噪声等。本文选择的聚焦函数为梯度平方和, 对噪声很敏感, 所以在计算图像聚焦测度前, 先要进行去除噪声预处理。

根据显微图像的特点, 要有效地去除噪声, 同时还要保持边缘, 可选择中值滤波。中值滤波的方法在 3.3.3 空白图像检测方法中介绍, 是一种常用的用于显微图像的去噪声的方法。本文中选用  $3 \times 3$  的二维滤波器, 不仅能有效地去除扫描中的图像的噪声, 而且能有效地保护图像的边缘信息。聚焦测度计算流程如图 3.9 所示:

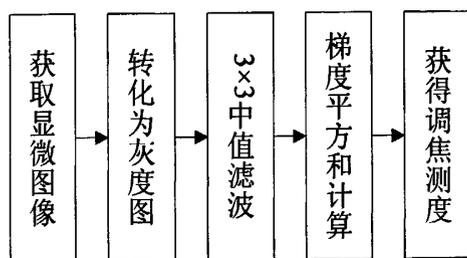


图 3.9 聚焦测度计算流程

### 3.3.4.4 聚焦策略

聚焦策略是根据聚焦测度的变化情况来控制微动平台的运动的过程, 它决定最终的调焦位置。调焦策略设计不光要考虑调焦硬件机构的运动精度对调焦的影响, 还要考虑调焦策略准确性。

在数字切片扫描时, 图像处于轻微离焦的状态, 在这个状态下, 聚焦测度很灵敏, 很快就能确定调焦方向。这样, 经过少量的几次的调焦操作就能将切

片调到显微镜景深范围内，完成调焦操作。

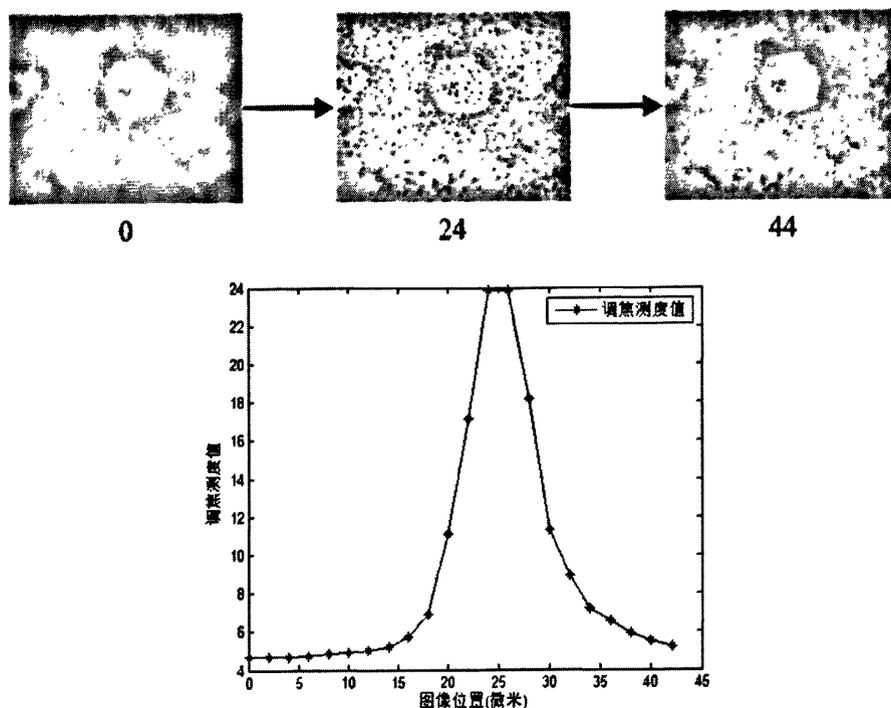


图 3.10 调焦评价函数曲线

图 3.10 为 20×物镜下，一组在 Z 方向上间隔为  $2\mu m$  的离焦-聚焦-离焦变化的序列图，以及相应的聚焦测度对序列图的响应情况。从调焦评价函数曲线可以看出，调焦测度曲线是一条单峰的曲线，在接近聚焦的区域具有很强的单调特性且反应很灵敏。

由 3.2.2 中显微图像成像原理可知，只要切片处于景深内就能成清晰的图像。不同物镜下自动调焦时采用不同的调焦步长，在各个物镜倍数下，显微镜的景深可以在显微镜产品说明书中查到。本文调焦算法选择相应物镜下景深的四分之三作为调焦步长 step，这样在聚焦面搜索时，这种调焦步长选择能实现快速地准确地将切片调至景深范围。

数字切片扫描的调焦策略流程如图 3.11 所示，目的是控制微动平台运动到使得平台载物区内的切片在显微镜中的成像清晰的位置，即聚焦评价价值取得最大值时的位置。

从本文的硬件精度条件看，微动平台调焦旋钮旋转一周，平台在 Z 方向上

运动  $200\ \mu m$ ，调焦轴的运动精度达到  $0.5\ \mu m$ ，本文的微动平台的调焦结构运动精度足以满足自动调焦的精度要求。

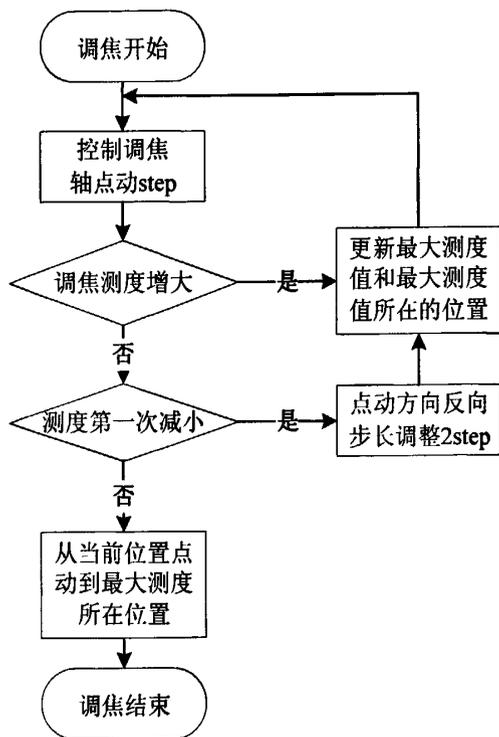


图 3.11 调焦策略流程图

### 3.3.4.5 切片扫描的自动调焦实现

切片扫描的自动调焦方法中，定义扫描同一行或者同一列图像序列时，需要进行自动调焦的间隔距离为调焦间隔。调焦间隔由微动平台的水平度决定，且微动平台的水平度受到微动平台的 X 轴和 Y 轴的安装影响。调焦间隔是通过预先测量的方法获得，调焦间隔的测量通过测量微动平台在 X 轴方向和 Y 轴方向上运动多少距离才会造成切片的离焦来确定。不同的微动平台调焦间隔有区别，由具体的测量来确定，在数字切片扫描前，调焦间隔作为调焦参数在系统软件中进行设置。

综合分析，面向切片扫描的自动调焦方法流程如图 3.12 所示：

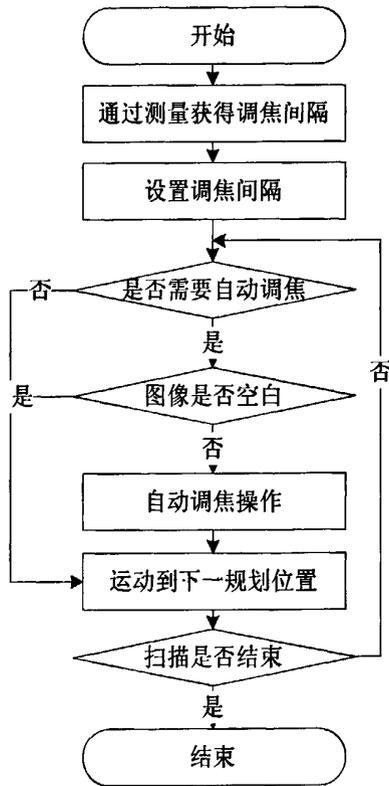


图 3.12 切片扫描的调焦方法

在数字图像扫描过程中，有选择性地自动调焦，以确保扫描所得的各部分的待拼接原图清晰。而清晰的待拼接原图是完成高质量的数字切片拼接的前提。

#### 第四节 小结

本章主要介绍数字切片扫描方法，首先分析微动平台运动特性，进行微动平台运动规划，消除累积误差和回程误差对切片扫描的影响。

然后，详细介绍了数字切片图像扫描过程中的自动调焦方法，自动调焦方法中采用空白区域检测的方法，先检测位置是否适合自动调焦，调焦条件满足时进行自动调焦，保障了切片扫描过程中自动调焦的准确性。

通过对数字切片扫描技术方法研究，保障了数字切片的待拼接图像质量。

## 第四章 面向数字全切片的优先权图像拼接方法

全切片扫描拼接方法是数字切片扫描系统的关键技术之一。全切片图像拼接为海量的显微图像拼接,需要拼接的显微图像数量达到 1000~4000。本文针对全切片显微图像拼接的技术难点,提出了一种面向全切片的优先权图像拼接方法,该方法针对海量的显微图像拼接时间消耗多、内存消耗多等缺陷做了优化,解决了海量拼接的误差累积问题,减少了海量拼接的误差,满足了数字全切片拼接的需要。

### 第一节 数字全切片拼接任务简介

#### 4.1.1 数字全切片简介

一张标准的切片在显微镜下的区域相比较 CCD 摄像机能拍摄的视野来讲要大得多,常用的生成数字全切片的方法为将扫描得到的序列图像通过图像拼接方法拼接融合成一幅巨大的全图<sup>[19]~[22]</sup>。

数字切片扫描系统需要驱动微动载物平台微动来准确地采集到切片的各个区域的显微图像,数字切片的扫描是通过计算机控制相互正交的微动平台的 X 轴与 Y 轴的精确微动实现的。尽管微动平台的运动精度很高,但是通过步进电机驱动的微动平台还是存在一些定位误差,所以要完成数字切片的制作需要通过图像拼接的方法将扫描平台扫描获得的显微图像拼接成全切片,从而完成切片的数字化工作与目标。

#### 4.1.2 图像拼接方法简介

图像拼接的第一步是获得相邻两幅图像间的图像对配准,第二步是根据图像对之间的配准关系获得每一幅图像在全局图像的位置,最后将所有图像通过融合算法融合成无缝的全景图像。

目前主要的图像对间配准方法分为基于区域和基于特征的方法,这两种方

法主要是通过相邻图像的重叠区域相似度评估来获得精确配准位置的。

基于区域的配准方法即对区域内的每个像素点进行比较,找出两幅图像的最佳变换矩阵,配准准确度高。由于要对区域内的图像每一个像素进行操作,计算量非常大。并且基于区域的图像配准方法对图像的采集条件有严格的限制要求,图像的光照差异、图像的旋转等因素对这种方法的准确性带来很大的影响。

基于特征的方法通过提取图像中特征,而后依据特征的匹配来获取相邻图像的配准关系,计算量小。但是图像配准的误差比较大,需要去除误匹配的特征匹配以提高拼接的准确度。目前比较常用的特征提取方法有:SUSAN角点算法、SIFT特征提取方法、Harris角点算法等。

SIFT算法对图像的旋转、光照变化、噪声影响等具有较强的鲁棒性,并且能检测出很多的特征点,SIFT特征算子与其他的代表性的算子进行实验与性能比较,实验结果表明SIFT特征提取算法在图像旋转、比例缩放、几何变形、光照变化等情况下匹配效果最佳<sup>[23]</sup>。在图像拼接中很多选择基于SIFT特征进行图像拼接。在应用中发现,虽然SIFT特征方法可以从图像中提取出大量的特征点,但是还是存在一些不足:如匹配的特征点对的位置并不严格对应,导致在图像拼接时变换矩阵的生成存在误差,导致拼接后的图像存在较为明显的“鬼影”现象,再加上SIFT特征对于相似区域较多的图像,错误匹配的概率增大,需要识别出错误匹配情况且采取措施获得正确的图像配准。

图像拼接中两两对准只是图像拼接的第一步,图像拼接过程中,即使在图像配准时只产生微小的误差,但是随着图像数量的增大,图像的累积误差越来越大,最终导致图像拼接的失败。特别地,在全切片图像拼接过程中,当图像与邻接图像的重叠区域为空白区域时,不管采取基于特征的方法还是采用基于区域的方法都很难获得相邻图像的配准关系,获得的配准关系的误差大或者获得错误的配准关系。全切片扫描时,不可避免地遇到以上情况,这给全切片图像拼接带来了难度,其引起的累积误差以及错拼接成为本文研究的难点。

#### 4.1.3 全切片拼接方法概述

首先,本文的面向全切片图像拼接算法采用拼接优先权的方法来减小空白图像匹配带来的误差的累积。如果相邻两幅图像的重叠区域为空白图像或者图

像纹理少,那么此相邻图像在拼接图中的拼接权值很小甚至为0。这样将减小其在图像拼接带来的误差。

此算法通过空白图像检测方法将待拼接图像划分成两类:空白图像类和非空白图像类。非空白图像类内图像赋予高的拼接优先权,非空白图像类的图像拼接方法采用基于图的方法,在通过SIFT特征进行图像配准的基础上,选择一幅图像作为参考帧,然后以此为根,通过构造生成树的方法来确定非空白图像类中每一幅图像的全局位置。图像为空白或者内容稀少的图像属于空白图像类,此类图像在全局图像上位置由其相邻的已经确定位置的邻接图的位置和理论相对位移来确定。通过这种方法来减小的全切片图像拼接中空白图像导致的累积误差问题。

其次,全切片图像拼接中图像数量巨大,一般多达几百张到上千张,如普通组织切片在20倍物镜下,单个视野的图像大小为 $1360\text{pixel}\times 1024\text{pixel}$ 的图像多达1200幅左右,如果将全切片图像生成一张巨大的图像将会耗尽计算机内存资源。由于全切片图像的巨大,使用普通的图像浏览软件进行大图浏览时,全切片的载入浏览的速度缓慢。为了解决这个问题,本文采取全切片分小块存储的方式,并通过数字切片浏览软件辅助浏览全切片。

面向全切片图像拼接任务,本章重点研究了全切片图像拼接方法,用来克服上述拼接问题,从而完成任意尺寸大小的数字切片的制作。数字全切片拼接方法工作流程图如图4.1所示:

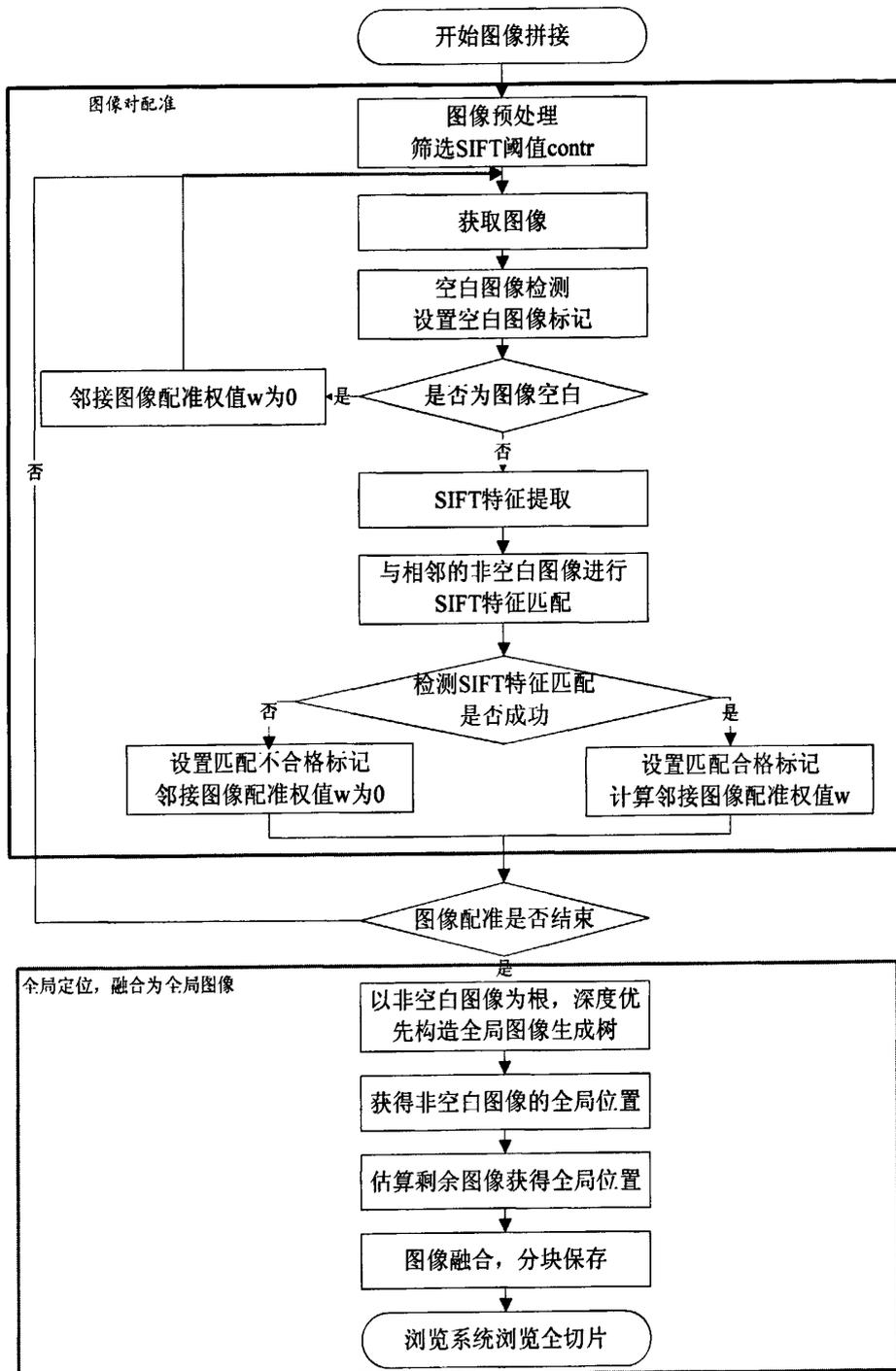


图 4.1 面向数字全切片的图像拼接流程图

## 第二节 全切片图像拼接方法

### 4.2.1 图像对配准

#### 4.2.1.1 SIFT 特征提取

图像对配准是图像拼接的第一步。本文选用SIFT特征匹配的方法来进行图像对配准。一幅图像SIFT特征向量的生成算法总共包括4步<sup>[24]-[25]</sup>：

(1) 在二维平面空间和 DOG (Difference-of-Gaussian) 尺度空间内进行极值检测，以初步确定关键点位置和所在尺度。

二维高斯函数定义如下：

$$G(x, y, \sigma) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma^2} \quad (4.1)$$

式(4.1)中 $\sigma$ 代表高斯正态分布的方差。

图像的尺度空间表达式为：

$$L(x, y, \sigma) = G(x, y, \sigma) * I(x, y) \quad (4.2)$$

式(4.2)中， $\sigma$ 称为尺度空间因子，其值越小表征该图像被平滑得越少，相应的尺度也就越小。小尺度对应于图像的细节特征，大尺度对应于图像的概貌特征； $(x, y)$ 代表像素在图像中的位置； $L$ 代表了图像的尺度空间。

DOG 算子定义为两个不同尺度的高斯的差分，DOG 算子计算方法如式(4.3)所示：

$$\begin{aligned} D(x, y, \sigma) &= (G(x, y, k\sigma) - G(x, y, \sigma)) * I(x, y) \\ &= L(x, y, k\sigma) - L(x, y, \sigma) \end{aligned} \quad (4.3)$$

通过计算图像上每个点在每个尺度下 DOG 算子的响应值，再将这些值连起来得到特征尺度轨迹曲线。特征尺度曲线的局部极值点即为该特征的尺度。

(2) 通过拟合三维二次函数以精确确定关键点的位置和尺度，去除不稳定的边缘响应点和低对比度的关键点，增强稳定性、提高抗噪声能力。

(3) 关键点的方向参数是利用关键点邻域像素的梯度方向分布特性确定的，从而使得特征算子具备旋转不变性。

(4) 将坐标轴旋转成关键点的方向，确保旋转不变性。使用关键点邻域梯度信息生成 SIFT 特征向量，该向量通过 128 维的向量表达，将特征向量归一化

从而去除光照变化的影响。

#### 4.2.1.2 SIFT 阈值筛选

SIFT 特征提取计算量很大,对图像拼接的时间花费影响很大。SIFT 特征提取方法具有多量性,信息量丰富等特点。图像对配准的时间消耗与图像提取的特征数成正比,故我们只取能满足图像对准的要求的一定数目的 SIFT 特征匹配对进行图像对的配准即可。

提取 SIFT 特征的算法中,控制检测特征数量的参数主要包括:尺度空间层数、特征对比度阈值、边缘响应点阈值以及控制在计算图像金字塔之前增倍图像的参数等等。本文采用筛选特征对比度阈值,而其他参数不变的方法来减少特征数量,同时又尽可能保持特征的各异性。特征对比度阈值  $contr$  可以用来去除不稳定的特征,以控制 SIFT 算法提取的特征的数目和提取特征所花费的时间,另外通过控制  $contr$  来获得稳定的特征有利于图像对的配准的准确度。通过选择合适的  $contr$  值,不仅可以使 SIFT 算法提取的特征足够用来进行图像对配准,还能够尽量地减少提取的 SIFT 的数目来减少特征提取和特征匹配的时间,通过这种方法减少图像拼接的时间消耗到最少。

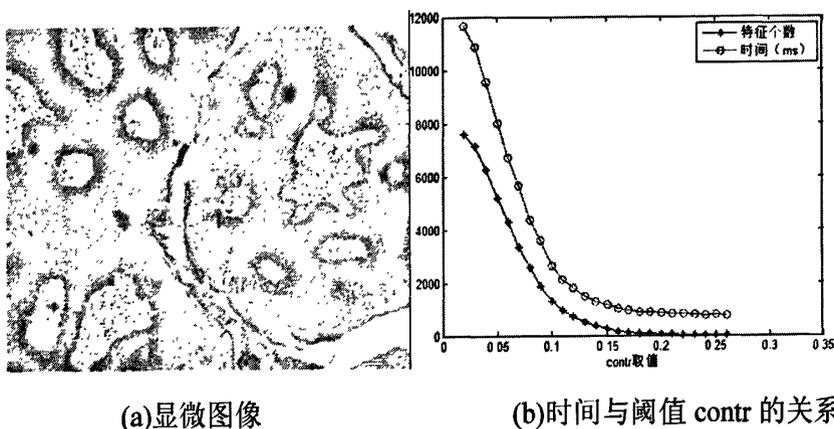


图 4.2 提取 SIFT 特征时间与阈值  $contr$  的关系

通过反复实验,在  $1360 \times 1024$  大小的显微图像拼接时,特征数目的大小控制在 1000~2000 时(不同图像大小的图像,所需要的 SIFT 特征数目不同,需要具体的实验环境来确定),提取的 SIFT 特征既能满足图像对配准的需要又能使得 SIFT 特征提取和匹配花费的时间尽可能地少。

从图 4.2(b)可以看出, SIFT 特征提取参数  $contr$  对特征提取数目和时间的花

费的影响很明显。当  $contr$  取值越小，提取的特征个数越多，特征越不稳定，耗时间越多，选择满足图像拼接要求的  $contr$  对图像拼接的时间消耗影响很大。所以，本算法在图像拼接前，设计了  $contr$  值筛选步骤，图 4.3 为筛选 SIFT 阈值  $contr$  的流程图，通过 SIFT 的参数  $contr$  预筛选的方法，一方面确保 SIFT 特征足够用于图像对匹配；另一方面减少图像匹配花费的时间，从而使得图像拼接花费的时间减小到最少。

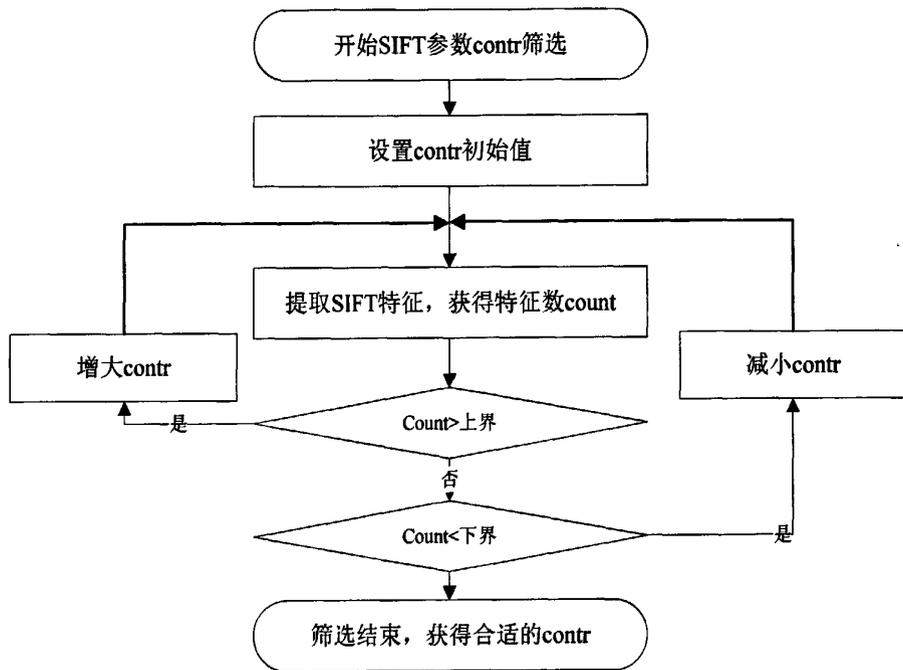


图 4.3 筛选 SIFT 阈值  $contr$  流程图

#### 4.2.1.3 基于 SIFT 特征匹配的图像对配准

特征匹配容易造成误匹配的情况。对于这一点，SIFT 特征向量匹配方法第一步，便采用最近邻和次近邻特征点距离比来减少误匹配。

当获取图像 1 和图像 2 的 SIFT 特征向量数组后，图像 1 的特征为  $feat1$ ，到图像 2 的特征数组中查找与  $feat1$  特征匹配的特征。从图像 2 中搜索查找最近邻的特征  $feat2$  与次近邻的特征  $feat3$ ，如果最近距离除以次近距离小于预先设定的阈值  $T_d$ ，则接受图像 1 中的特征  $feat1$  与图像 2 中的特征  $feat2$  为匹配成功的特征对。降低阈值  $T_d$ ，SIFT 匹配的点数目会减少，但是特征匹配将会更加稳定。

在特征匹配中,寻找最近邻和次近邻是匹配的关键,当特征点的数目特别大时,特征匹配的计算量会以指数级增长。在大批量的 SIFT 特征匹配中,通常使用 BBF(Best Bin First)来寻找最近邻和次近邻,该方法是 k-d 树检索算法的改进。但是本文在图像拼接算法中,预先进行 SIFT 阈值筛选来将 SIFT 特征的个数限制在适量的范围内,在这种情况下,本文采取的穷举法作为 SIFT 特征匹配的方法。

尽管采用最近邻和次近邻特征点距离比的方法可减少误匹配,但是,还是存在误匹配的特征对。消除误匹配是必要的步骤,我们通过几何限制和其他的附加约束来消除错误匹配,提高鲁棒性。

聚类分析方法是模式识别中的常见方法,聚类分析方法根据待处理模式集合中元素的相似度将其分为若干个集合(聚类),每个聚类所包含的模式代表了在被选特征及相似准则意义下比较相近的物体。不相似的物体分别属于不同的类别<sup>[22]</sup>。

$$\begin{aligned} Shift\_x &= feat1.x - feat2.x \\ Shift\_y &= feat1.y - feat2.y \end{aligned} \quad (4.4)$$

如式(4.4)所示, SIFT 特征匹配对 feat1 与 feat2 的位置差是(Shift\_x, Shift\_y)。正确匹配的 SIFT 特征对的位置差相同或相近,等于对应的图像对的位置差,在聚类时被划分在同一个类 class 内;匹配错误的 SIFT 特征对的位置差在聚类分析中划分到其他的 class 内。正确匹配的 SIFT 的特征对所在的类中的特征对个数多,而错误的匹配对无规律地分散分布,其所在的 class 内的特征对数很少或者为 1。假定有 10 对匹配上的 SIFT 特征对,它们的位置差(Shift\_x, Shift\_y)的分布情况可分如图 4.4 的 4 种情况:

- 1) 图 4.4(a) 所示:所有的点都集中在某个区域,这表明所有的匹配的特征对配准完全成功;
- 2) 图 4.4(b) 所示:部分点集中在某个区域,其他的点分散,这表明大部分匹配的特征对配准成功,少部分的特征对匹配失败,这种情况认为配准成功,但是可信度不如情况 1);
- 3) 图 4.4(c) 所示:所有的点都分散,这表明配准失败;
- 4) 图 4.4(d) 所示:点在两个以上的区域集中分布,这表明配准失败。

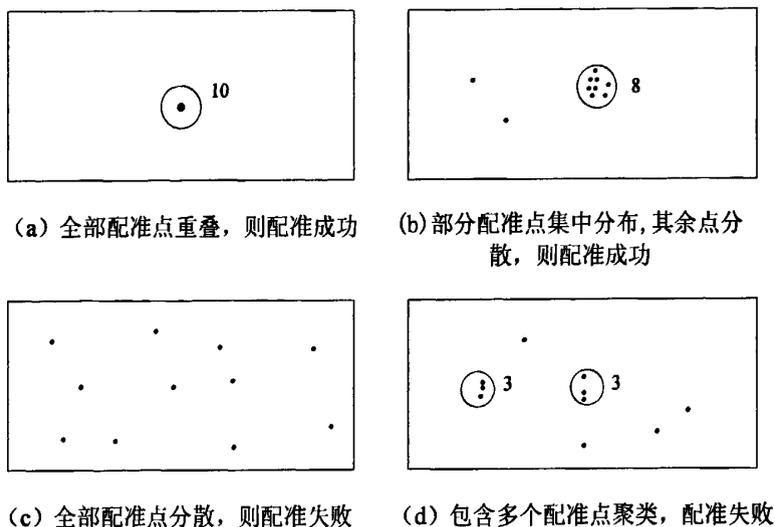


图 4.4 聚类配准点的四种情况

设参加聚类的位置差为  $L(S_i)$ , 设定最大类间距离为  $\eta$ , 聚类的操作步骤如下所示:

- 1) 将  $L(S_i)$  集合中的每个元素作为一个类, 那么生成一个聚类集合, 每个聚类中只有一个元素;
- 2) 获取两个中心点直线最短距离  $d_{\min}$  的类和距离  $d_{\min}$  值;
- 3) 如果  $d_{\min} \leq \eta$ , 合并这两个类, 重复步骤 2); 否则, 聚类结束;

图 4.4 所示的聚类的四种情况下, (a)和(b)这两种情况下, 包含配准点最多的聚类  $C_{\max}$  的中心位置为配准位置, 而(c)和(d)两种情况下, 聚类的方法判断出 SIFT 配准失败。

总之, 算法使用空间聚类的方法来去除错误的匹配对, 提高了 SIFT 特征匹配的鲁棒性。

#### 4.2.1.4 图像拼接中的空白图像检测

在第三章 3.2.3 节的自动调焦方法中, 在自动调焦前检测图像是否为空白图像, 同样图像拼接要考虑空白区域带来的影响。图像拼接中的空白图像检测算法与自动调焦中的空白图像检测算法相同, 但是两者有微小的差异, 在自动调焦算法中, 需要对整张图进行空白检测, 而在图像拼接时, 只需检测重叠区域的图像是否为空白图像。

如图 4.5 所示, 该图像红色框和蓝色框中的图像区域为该图与相邻图像的重叠区域, 该区域内图像为空白图像, 这种情况下, 采用 SIFT 特征提取与匹配的方法是不能获得相邻间配准关系的。针对这种情况, 本文通过空白图像检测算法检测出该区域为空白图像, 设置该图与左邻居图像与上邻居图像的连接图的权值设置为 0, 在拼接图中代表该图像与相邻图像不连通。

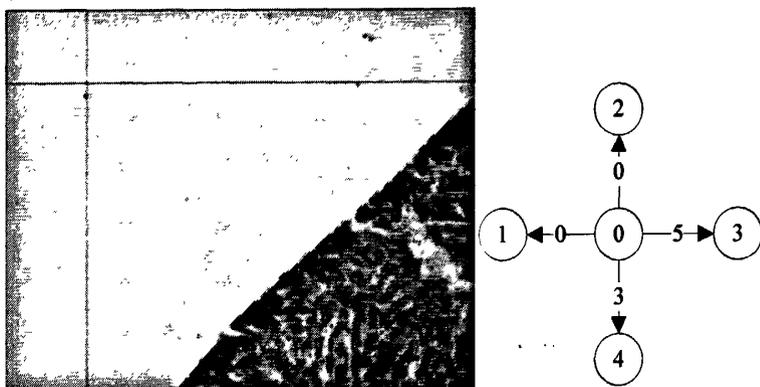


图 4.5 重叠区域为空白区域时拼接图的影响

#### 4.2.1.5 图像对配准结果评价

图像对配准结果的获得有两个步骤, 先是通过 SIFT 特征匹配获得初步配准, 然后用空间聚类的方法去除 SIFT 特征误匹配。为了进一步检测图像配准的准确性, 减少错匹配的发生, 本文进一步添加平台精度条件来约束匹配的结果。

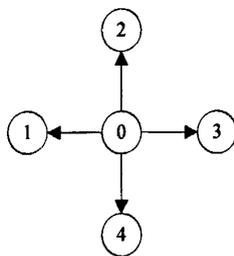


图 4.6 图像 0 的邻接关系

设微动平台的运动精度为  $\pm a \mu m$ , 图像视野大小为  $(U_x, U_y)$ , 图像大小为  $(P_x, P_y)$ , 扫描重叠度为  $L\%$ , 如图 4.6 所示, 图像 0 的邻接图像编号为 1、2、3、4, 那么:

图像 1 相对于图像 0 的位置差约束为式 (4.5):

$$\begin{aligned}
 -P_x(1-L\%) - \frac{aP_x}{U_x} &\leq Shift\_x \leq -P_x(1-L\%) + \frac{aP_x}{U_x} \\
 -\frac{aP_y}{U_y} &\leq Shift\_y \leq \frac{aP_y}{U_y}
 \end{aligned} \tag{4.5}$$

图像 2 相对于图像 0 的位置差约束为式 (4.6):

$$\begin{aligned}
 -\frac{aP_x}{U_x} &\leq Shift\_x \leq \frac{aP_x}{U_x} \\
 -P_y(1-L\%) - \frac{aP_y}{U_y} &\leq Shift\_y \leq -P_y(1-L\%) + \frac{aP_y}{U_y}
 \end{aligned} \tag{4.6}$$

图像 3 相对于图像 0 的位置差约束为式 (4.7):

$$\begin{aligned}
 P_x(1-L\%) - \frac{aP_x}{U_x} &\leq Shift\_x \leq P_x(1-L\%) + \frac{aP_x}{U_x} \\
 -\frac{aP_y}{U_y} &\leq Shift\_y \leq \frac{aP_y}{U_y}
 \end{aligned} \tag{4.7}$$

图像 4 相对于图像 0 的位置差约束为式 (4.8):

$$\begin{aligned}
 -\frac{aP_x}{U_x} &\leq Shift\_x \leq \frac{aP_x}{U_x} \\
 P_y(1-L\%) - \frac{aP_y}{U_y} &\leq Shift\_y \leq P_y(1-L\%) + \frac{aP_y}{U_y}
 \end{aligned} \tag{4.8}$$

通过平台精度的进一步约束, 可以去除错误的图像配准, 从而增强图像拼接的准确度。

## 4.2.2 全切片生成

为了减少局部拼接误差或错误造成全局拼接误差和累积误差, 很多文献中采用了全局模型, 通过图像间的拓扑关系<sup>[26]</sup>、图像序列的裂缝闭合<sup>[27]</sup>、最小二乘法<sup>[28]-[29]</sup>或者采用多种方式相结合<sup>[30]</sup>来矫正局部误差。对于  $M \times N$  大小的待拼接图像阵列, 当  $M \times N$  规模增大时, 其生成树的个数成指数级增长, 难以采用穷尽法来进行搜索。全切片图像拼接属于拼接规模大的情况, 兼顾到系统对图像拼接耗时少的要求, 本文采用基于深度优先的方法来生成拼接图生成树。

### 4.2.2.1 拼接图中边权值计算方法

目前, 基于全局拼接的方法大多采用了基于图的方法, 利用图中的环进行

图像拼接的局部校正,采用生成树的方法进行优化解的选择,从而利用图的特性来获得最优的拼接解。本文的图像拼接采取基于图的方法来生成图像拼接生成树。

由于显微图像序列扫描排列规则,所以显微图像拼接中拼接图(MG)为无向带权图,记为  $G(V, E, w)$ , 其中  $V$  为图像集,  $E$  为图像间配准关系集,  $w$  为边权值。图像扫描获得的图像集为形如  $M$  行  $N$  列的图像矩阵, 顶点集  $V$  中的顶点  $u$  可表示为  $(i, j)$ , 其中  $i$  为顶点的行号  $(0 < i \leq M)$ , 顶点  $u$  的行号可表示为  $\text{row}(u)$ ,  $j$  为顶点列号  $(0 < j \leq N)$ , 顶点  $u$  的列号可表示为  $\text{col}(u)$ 。同行或者同列的相邻的顶点之间有边相连, 即

$$E(G) = \{(u, v) \mid |\text{col}(u) - \text{col}(v)| + |\text{row}(u) - \text{row}(v)| = 1, u, v \in V(G)\} \quad (4.9)$$

图 4.7 展示了 3 行 3 列的显微镜图像拼接图, 各个顶点代表一幅图像, 每条边代表了相邻的两幅图像的拼接关系, 每条边都有一个非负的边权值, 并且只有同行或者同列的相邻的图像之间才有边连接, 如边  $(1, 2)$ 、 $(2, 3)$  为等行相邻列,  $(2, 5)$ 、 $(5, 8)$  为等列相邻行。

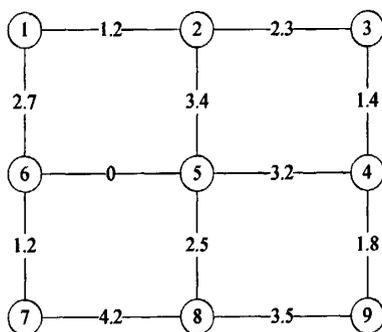


图 4.7 拼接图

拼接图中的边权重的选择与确定是拼接图的重要组成部分, 作为边权值的指标量数据由粗到细可分为命名量(可区分)、次序量(可比较)、间隔量(支持减运算)和比率量(可支持加减乘除等运算)等<sup>[27]</sup>。在构造拼接图生成树时, 需要对不同像对配准结果进行比较, 则其边权值可以使用次序量、间隔量或比率量。采用深度优先的方法来生成拼接树, 是对不同像对的配准质量进行比较。所以本文选择图像间配准的相似度作为边权值来进行配准质量的比较。

在进行全切片图像生成之前, 需要选择合适的度量值来作为拼接图中的边权值, 一般选择配准点最多的聚类  $C_{\max}$  中各个配准点到像对配准位置差  $l(\bar{x}, \bar{y})$  的

平均误差  $\bar{E}$  作为边权值比较合理。设聚类  $C_{\max}$  中位置差配准点坐标为  $(x_i, y_i)(i=1, 2, \dots, n)$ , 则平均误差计算方法如式(4.9)所示:

$$\bar{E} = \frac{\sum_{i=1}^n \sqrt{(x_i - \bar{x})^2 + (y_i - \bar{y})^2}}{n} \quad (4.9)$$

下面考虑两种情况, 即可信度高而平均误差大(如图 4.8(a)所示)和可信度低而平均误差小(如图 4.8(b)所示), 在这两种情况中, 我们通过对比分析认为前者的配准结果比后者稳定, 可信度更高。

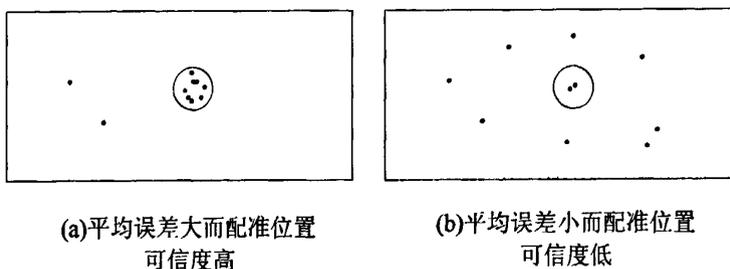


图 4.8 高可信度大误差与低可信度小误差效果对比

在深度优先法生成树时, 选择边权值高的路径。本文采用可信度与平均误差的比值作为拼接图中的边权值, 当该图像与相邻图像的重叠区域为空白区域时, 边权值为 0, 在图中表现为该点与相邻顶点不连通即

$$w = \begin{cases} \frac{P}{\bar{E}} & , \text{SIFT配准成功} \\ 0 & , \text{重叠区域为空白区域或SIFT配准失败} \end{cases} \quad (4.10)$$

式(4.10)中, 设最大聚类  $C_{\max}$  所包含的配准点为  $m$ , 配准点总数为  $n$ , 那么聚类的配准可信度  $P$  为:

$$P = \frac{m}{n} \quad (4.11)$$

由式(4.10)可知, 边权值越大, 匹配的准确率越高, 基于无向图的深度优先生成树算法可以找出拼接生成树的解。

#### 4.2.2.2 拼接图生成树的生成

全切片图像拼接中拼接图为  $G(V, E, w)$ , 拼接图采用邻接表  $L[v]$ 表示, 其

中,  $v \in V$ ; 邻接表中的节点根据节点权值  $w$  进行降序排列, 图 4.7 所示的拼接图的邻接表如图 4.9 所示:

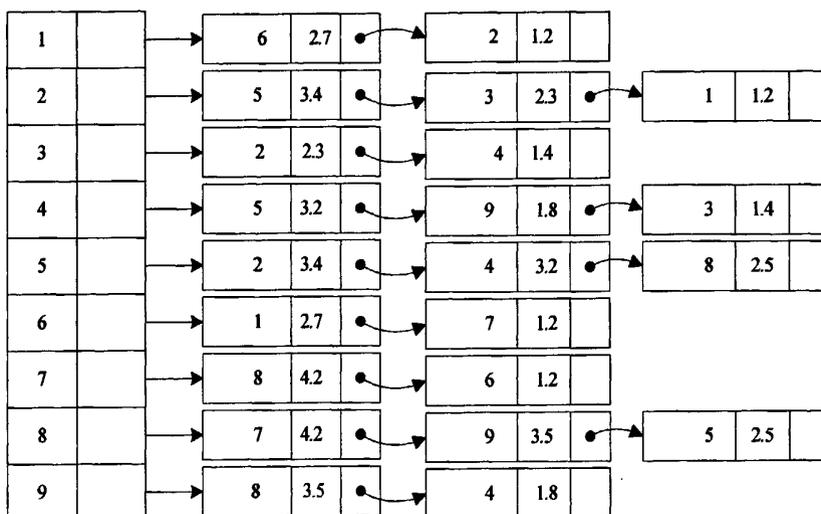


图 4.9 拼接图的邻接表

拼接生成树的生成方法采用深度优先的方法遍历拼接图中连通的所有顶点来生成图像拼接树。其中, 图像与相邻的图像的重叠区域都是空白时, 该节点为孤立的点与生成树不连通。

深度优先的生成树的方法采用递归的方法完成, 以图 4.7 为例, 拼接生成树的求解过程如下: 选取邻接表的第一个节点 1 作为访问的第一个顶点, 标记顶点 1 已经访问过; 接着, 访问 1 顶点邻接的节点 6, 发现节点 6 未访问过, 将边 (1,6) 添加到生成树 T 中, 且标记顶点 6 为已经访问过; 以此类推, 接着查看顶点 6 的第一个邻接点 1, 发现 1 已经被访问过, 所以访问第二个邻接点 7, 发现 7 尚未被访问, 所以将边 (6,7) 添加到生成树 T 中, 并且标记 7 为已访问过; 依此类推, 直到所有的顶点都被访问过, 那么图 4.7 的拼接生成树 T 为图 4.10 所示:

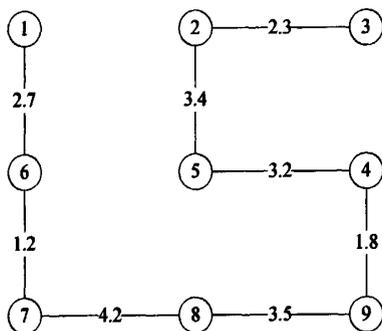


图 4.10 拼接生成树

### 4.2.2.3 图像在全局图中位置的确定

拼接图有两种情况：连通的无向图和非连通的无向图。

当拼接图为连通的无向图时，图中所有的节点都在生成树中，每幅图像在全局图像中的位置根据拼接生成树和相邻图像的位置差来确定，以图 4.7 的拼接图为例，4.10 为生成树。设图像 1 的在全局中位置为(0, 0)，图像 6 在全局中的位置就是由图像 1 位置和图像 6 相对于图像 1 的位置差来决定，以此类推直到所有的图像在全局中的位置确定。

当全切片图像拼接中存在完全空白图像或者与周围所有邻接图像 SIFT 特征配准失败的情况时，拼接图为非连通无向图，如图 4.11(a)所示，顶点 1 与邻接的图像不连通，其生成树如图 4.11(b)所示。

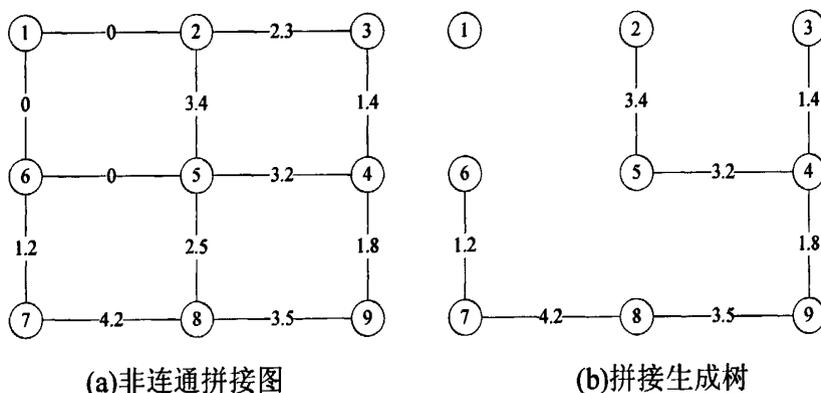


图 4.11 非连通拼接图的情况

拼接图为非连通时，先确定生成树中节点的位置，孤立的点的位置的确定由相邻的图像的位置来估算。如顶点 1 在全局图像中的位置可通过顶点 2 的位

置来估算。设顶点 2 在全局图像中的位置为 $(x_2, y_2)$ ，顶点相对于顶点 2 的理论的偏移位置为 $(d_x, d_y)$ ，那么顶点 1 在全局中的位置 $(x_1, y_1)$ 如式(4.12)所示：

$$\begin{aligned} x_1 &= x_2 + d_x; \\ y_1 &= y_2 + d_y; \end{aligned} \quad (4.12)$$

理论的偏移位置 $(d_x, d_y)$ 由当前节点与参考节点的相位、扫描重叠度、图像大小以及微动平台的运动精度相关。设重叠度为  $\rho$ ，图像大小为 $(W, H)$ ，微动平台的运动累积误差可忽略不记(图像扫描时采取策略消除图像扫描过程中的累积误差)。图 4.6 为邻接图像相对于参考图的相位关系图，邻接图相对于参考图的理论偏移位置 $(d_x, d_y)$ 的取值的表达式如下式所示：

图像 1 相对于图像 0 的偏移位置 $(d_x, d_y)$ 计算如式(4.13)所示：

$$\begin{aligned} d_x &= -(1-\rho)*W \\ d_y &= 0 \end{aligned} \quad (4.13)$$

图像 2 相对于图像 0 的偏移位置 $(d_x, d_y)$ 计算如式(4.14)所示：

$$\begin{aligned} d_x &= 0 \\ d_y &= -(1-\rho)*H \end{aligned} \quad (4.14)$$

图像 3 相对于图像 0 的偏移位置 $(d_x, d_y)$ 计算如式(4.15)所示：

$$\begin{aligned} d_x &= (1-\rho)*W \\ d_y &= 0 \end{aligned} \quad (4.15)$$

图像 4 相对于图像 0 的偏移位置 $(d_x, d_y)$ 计算如式(4.16)所示：

$$\begin{aligned} d_x &= 0 \\ d_y &= (1-\rho)*H \end{aligned} \quad (4.16)$$

#### 4.2.2.4 图像融合

在显微图像采集时，往往由于光线的明暗不均匀，导致相邻图像的光强有轻微的变化。这种情况下，图像拼接的全局图会出现拼接的痕迹。为了改善全局图像的质量，本文在多幅图像的重叠区域进行过渡处理，使得重叠区域过渡得更加平滑，改善了全切片图像的图像质量。

由于当图像上的点距离图像中心点的距离越近，像素点的畸变概率越小，所以图像的过渡处理采用以下的策略：使用渐变的过渡方法，从一幅图像向另

一幅图像过渡时, 前一幅图像的像素在全局图像中所占的比例逐渐减小, 而后一幅图像像素占的比率增大。

图像融合中, 重叠区域的像素权值的取值为该点距离中心点的直线距离加上常数的倒数, 图像中  $i$  行  $j$  列的像素的权值计算如式(4.17)所示:

$$w = \frac{1}{0.5 + \sqrt{(j - x_c)^2 + (i - y_c)^2}} \quad (4.17)$$

其中,  $(x_c, y_c)$  为图像中心点的坐标。

设全局图中的一像素点的像素的颜色值为  $C(r, g, b)$ , 有  $n$  幅图像在该点重叠, 第  $i$  幅图像在该点的像素的颜色值为  $C_i(r, g, b)$ , 且该像素的权值为  $\omega_i$ , 那么该点的颜色取值为:

$$C(r, g, b) = \frac{\sum_{i=1}^n C_i(r, g, b) \times \omega_i}{\sum_{i=1}^n \omega_i} \quad (4.18)$$

本文通过这种过渡的处理方法, 可以消除图像拼接中的马赛克现象, 使得全切片图像自然流畅。

#### 4.2.2.5 全切片存储方法

在  $20\times$ 物镜下的  $1\text{cm}\times 1\text{cm}$  的标准切片大约需要扫描 1200 幅显微图像(单个图像大小为  $1360\times 1024$ ), 然后拼接成数字全切片。通过图像拼接的方法生成的全局图像约 1200MB 左右, 并且全局图像的大小随着切片内容面积的增大而增大。巨大的全局图像一方面会耗尽计算机的内存, 从而使得系统崩溃, 另一方面, 全局图像的浏览成为另一个难题, 用户浏览全局图像进行打开、拖动浏览操作时存在着图像载入速度慢的情况。

本文采用将全切片划分成小块图像阵列的方法来保存全切片图像的方法来解决上述问题。一方面, 该方法不必要在内存中申请巨大的内存块来存放全切片图像, 只需要小块的内存来进行局部区域的图像融合, 解决了全局图像生成造成计算机内存耗尽的问题。另一方面, 全切片的保存采用小图保存的方法, 使得用户通过数字切片浏览软件浏览时全切片的载入速度变快, 通过这种方法浏览全切片, 能带给用户快速流畅的虚拟全切片的体验。

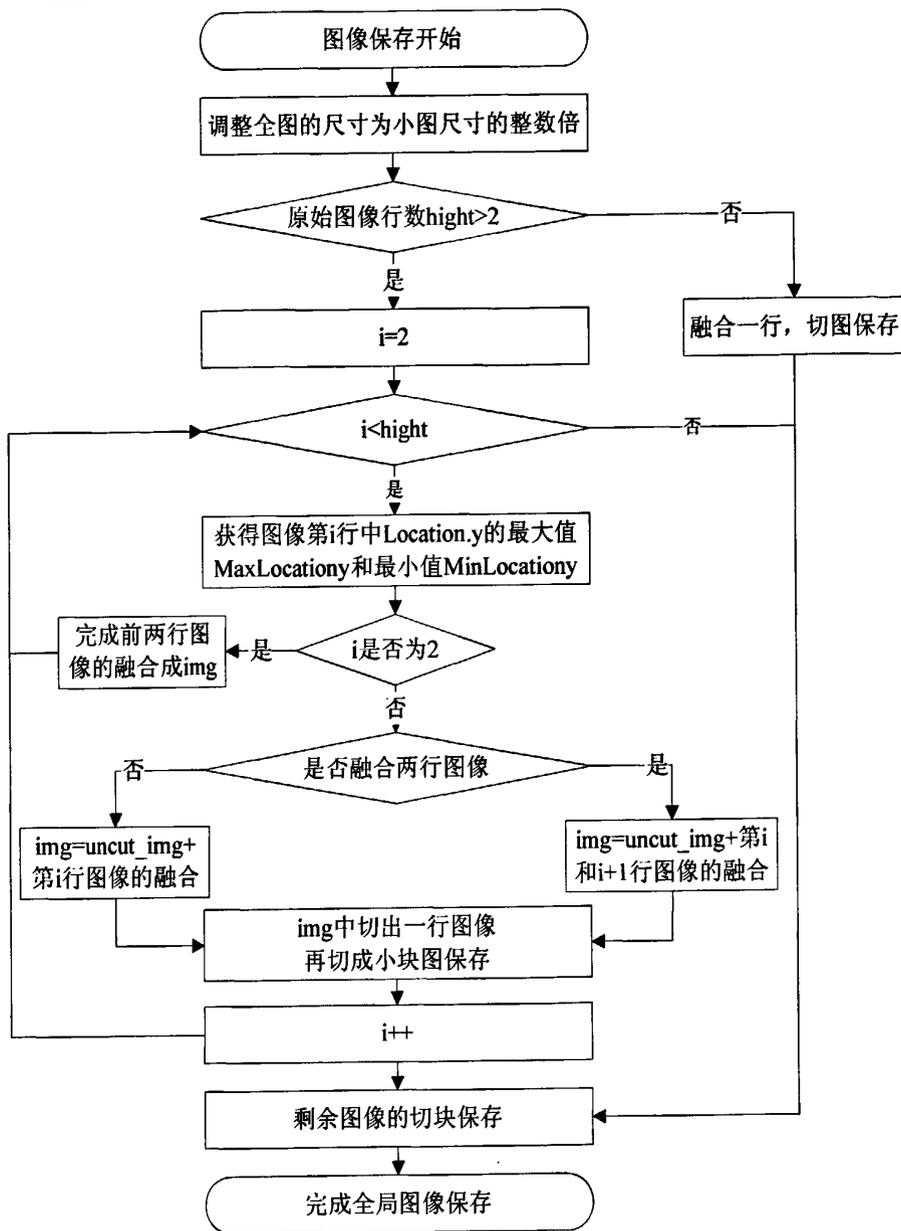


图 4.12 全局图像切块保存流程图

全切片图像切分成小块的图像生成与保存流程如图 4.12 所示，该方法采用边融合边保存的方法，将全切片保存成图像阵列。本文中选取小块图像尺寸为  $512 \times 512$ ，图像保存名字为该图像在图像阵列中的行列序号的组合(编号从 1 开始记)，全切片图像保存成  $m$  行  $n$  列的图像阵列示意图如图 4.13 所示。

1_1.jpg	1_2.jpg	1_3.jpg	1_4.jpg	...	1_n.jpg
2_1.jpg	2_2.jpg	2_3.jpg	2_4.jpg	...	2_n.jpg
3_1.jpg	3_2.jpg	3_3.jpg	3_4.jpg	...	3_n.jpg
.	.	.	.	...	.
.	.	.	.	...	.
.	.	.	.	...	.
m_1.jpg	m_2.jpg	m_3.jpg	m_4.jpg	...	m_n.jpg

图 4.13 全切片图像阵列

### 第三节 算法评估

本文提出的面向全切片图像拼接的方法利用拼接图的特性，引入拼接优先权，生成拼接树。该方法通过检测空白图像的方法，将空白图像的拼接特别处理，通过这种措施减小了全切片图像拼接中的累积误差以及减少了图像拼接错误的概率。

图 4.14 为标准的约  $1\text{cm} \times 1\text{cm}$  的医学病理切片在标准的光学显微镜下的数字全切片图像，全切片图像在图像压缩前约 1.5GB。从图像拼接局部效果看来，面向全切片的图像拼接方法能满足数字切片扫描系统的数字全切片图像拼接的目标任务。

全切片图像拼接实验表明，本文通过数字全切片分块存储的方法和内存动态管理分配的方法，解决了全切片图像拼接可能导致的内存耗尽的问题。换句话说，通过这种全切片扫描拼接方法，图像扫描拼接的规模不再受到限制，算法能实现上千上万幅规模的图像拼接。但是待拼接图像阵列本身存储占据的存储空间巨大，全切片图像拼接需要大量的硬盘空间来存储原始待拼接图像。

SIFT 阈值与筛选的方法避免了因为 SIFT 特征提取时特征对比度阈值选择不当导致特征数目太少而使得图像配准失败，或者特征数目过多而使得图像拼接时间消耗太长的的问题。经过算法改进，图像拼接的时间花费由 8s/幅减少到 3s/幅左右，提高了图像拼接的时间效率。

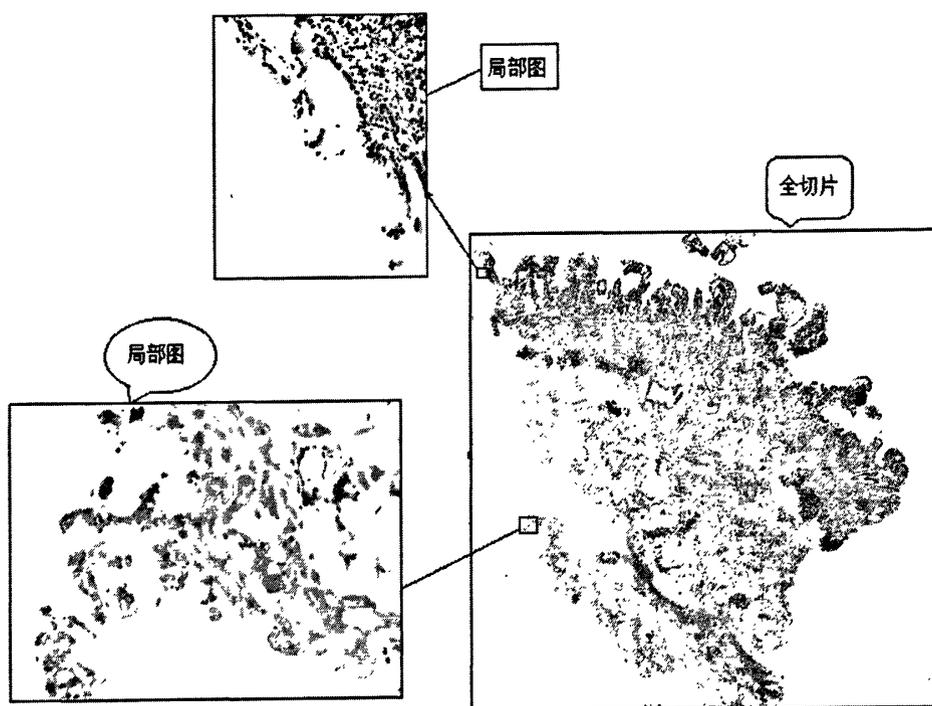


图 4.14 全切片图像拼接结果

#### 第四节 小结

本章主要介绍了数字切片扫描拼接系统的核心的技术—面向数字全切片的优先权图像拼接方法，本章在拼接全切片的时间、空间、误差累积等的难点上进行针对性的研究，提出了具体的解决方法，完成了全切片图像拼接任务。

首先，本章分析了全切片图像拼接的难点、常用的数字图像拼接方法。随后，提出了面向全切片的图像拼接方法。

然后，具体详细介绍了面向全切片的图像拼接方法，其中包括图像的对准、图像的拼接融合以及数字全切片的存储方法。

最后，通过拼接实验，验证了本章提出的面向数字全切片的图像拼接方法的可行性，以及该算法在全切片图像拼接任务中获得了良好的数字全切片图像拼接效果。

## 第五章 数字切片系统实现

### 第一节 数字切片扫描拼接系统的实现

#### 5.1.1 系统软件设计

系统软件设计质量的高低将会直接影响整个系统的性能和可能获得的经济效益。为了尽可能满足用户需求，使得系统的设计有较高的质量和较强的环境适应性，数字切片扫描系统的设计应考虑可靠性、可扩展性和良好的可交互性和可操作性等需要。

1. **可交互性和可操作性：**主要是指系统需要有友好的人机界面，采用图形界面，屏幕显示清晰美观，操作提示清楚，操作简单。
2. **可扩展性：**系统的设计不仅要考虑企业的近期目标，也要为进一步扩展与研发留有余地，使系统在规模和性能方面满足未来企业生产的需求。
3. **可靠性：**要求系统的软、硬件具有较长的平均无故障时间。

数字切片系统设计采用友好美观的图形化人机操作界面进行人机交互，实现系统的可交互性和可操作性；数字切片系统采用系统配置文件的方式来管理可能经常需要修改的参数，并将系统的运动控制模块采用COM组件技术进行封装，系统设计采用这些措施来增强系统的可扩展性。数字切片系统使用定时器不断地读取微动控制器的状态信息（速度、限位、故障信息），当获得运动异常信息时，系统立即采取应对措施，避免异常的系统崩溃或硬件损伤，增强了系统的可靠性。下面将详细介绍数字扫描拼接系统在系统界面设计、可扩展性设计等方面的具体设计与实现。

## 5.1.2 数字扫描拼接系统的界面设计

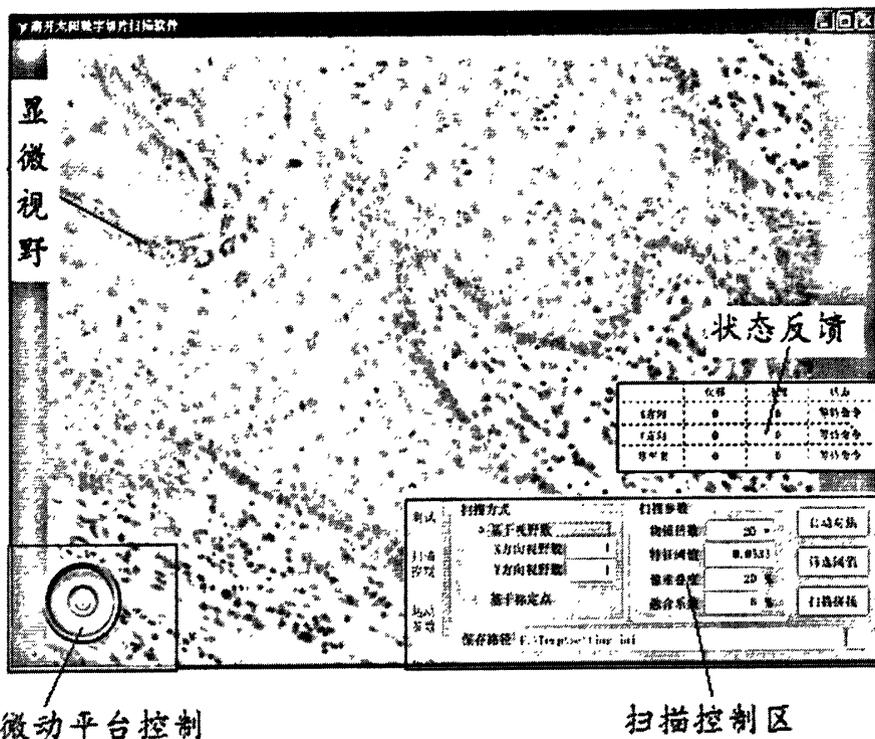


图 5.1 数字切片扫描拼接系统界面说明

数字切片扫描系统通过图形化界面进行人机交互，按照系统的应用需求，如图 5.1 所示，数字切片扫描拼接系统划分为四个区域：显微视野区、微动平台控制区、状态反馈区和扫描拼接控制区。

## 5.1.2.1 显微视野区

显微视野区为系统的视觉反馈，通过显微镜成像系统成像于彩色摄像机 CCD 上，摄像机以 13 帧/s 的速度不断地采集视野中的显微图像，通过 USB 总线传递给 PC 机，接着数字切片系统软件通过回调函数不断地将摄像机传过来的彩色显微图像显示到显微视野区，通过这种方法可以获得显微视野下的视觉反馈。

## 5.1.2.2 微动平台控制区

微动平台控制区主要用于微动平台的运动控制。通过此控制区可以用来设

置数字切片扫描的起始位置、设定扫描范围以及浏览、查找感兴趣的切片内容。

### 5.1.2.3 状态反馈区

状态反馈区给用户直观的微动平台的运动信息，如当前位置、是否限位、当前运动速度等信息。

### 5.1.2.4 扫描拼接控制区

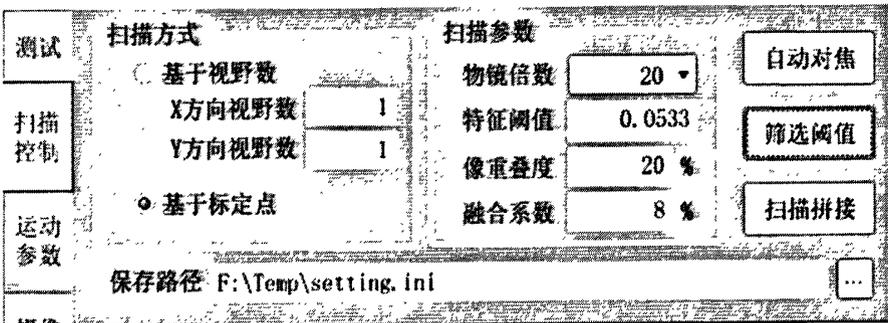
扫描拼接控制区是系统的核心控制区，主要包括扫描控制面板、运动参数控制面板以及摄像机控制面板三大控制板块。

#### 1. 扫描控制面板

扫描控制面板如图 5.2 所示，主要功能包括扫描方式、扫描参数、扫描图像保存路径设置以及自动对焦、自动筛选特征阈值、扫描拼接功能按钮。

##### ● 扫描方式

数字切片的扫描方式分为基于视野数和基于标定点的两种方法扫描方式。



5.2 扫描控制面板

其中，基于视野数的方式首先通过控制微动平台运动，运动到感兴趣的目标区域的起始点，然后，设定扫描的范围大小，包括平台 X 方向和 Y 方向上的视野数。

基于标定点的方式是通过指定感兴趣的区域或者指定切片内容的边缘点来确定扫描范围的。如图 5.3 所示，使用基于标定点的方式首先需要指定四个标定点，再计算出包含选定的四个标定点的最小矩形区域作为扫描的目标区域。然后，就可以通过路径规划从当前点运动到目标区域的左上

角，开始进行目标区域的扫描。

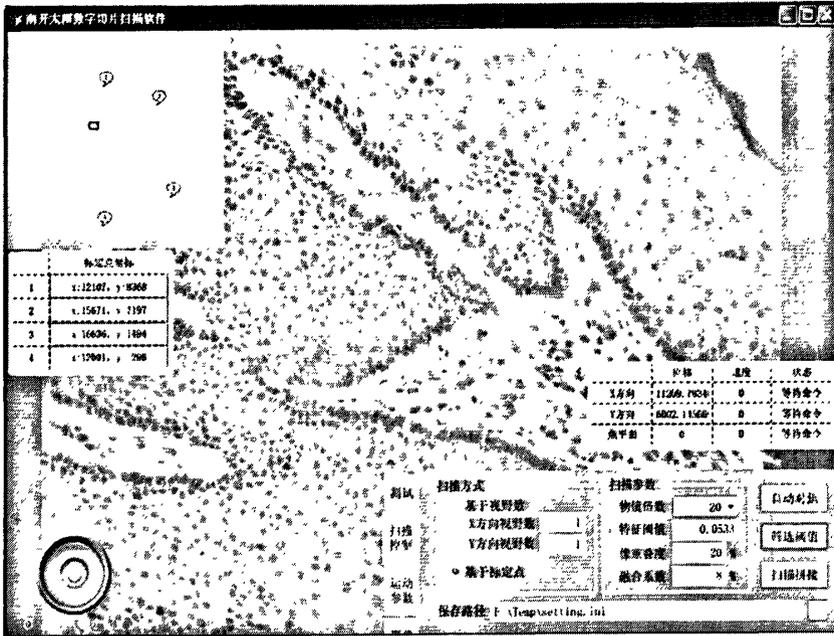


图 5.3 基于标定点的扫描区域选择方式

### ● 扫描参数

物镜倍数选项选择当前切片扫描所采用的物镜倍数，物镜倍数参数的选择影响视野大小。不同物镜倍数下的视野大小是通过标定块事先标定，然后通过配置文件传递给系统的重要参数。由于不同物镜倍数视野大小差异很大，图像扫描时扫描步长是通过当前视野大小与重叠度的计算获得的，所以设置物镜倍数与实际物镜倍数不一致将会使得图像扫描得到得图像没有重叠区域，最终导致图像拼接失败。

### ● 筛选阈值

在 4.2.1.2 小节中介绍了 SIFT 阈值对图像拼接时间的影响，在图像拼接前筛选 SIFT 阈值是图像拼接前的准备工作。筛选 SIFT 阈值前，调整当前视野，使得当前视野为切片内容比较丰富的区域，而不是切片边缘的空白区域，否则 SIFT 阈值筛选将会失败。

### ● 保存路径

保存路径栏主要是用于设置数字切片保存的路径，方便数字切片的文件管理。

- 自动调焦

在手动浏览切片内容过程中,也会出现图像离焦的情况,通过自动调焦功能按钮可实现显微视野内的自动调焦操作。

- 扫描拼接

扫描拼接功能在前期目标区域选择、物镜倍数设置、SIFT 阈值筛选、数字切片保存路径设置、调焦间隔、扫描运动参数设置、摄像机参数设置调整等准备工作完成的情况下,启动扫描拼接任务。

## 2. 运动参数控制面板

运动参数控制面板如图 5.4 所示,主要设置运动参数和调焦间隔。

运动参数主要包括最大速度和点动距离。这两个参数直接影响到数字切片系统运动控制区的微动平台运动速度的控制。

调焦间隔是通过前期的测量获得的经验值,该值与平台的安装、加工等相关,需要反复测量才能得出。扫描过程中的自动调焦方法在第三章第二节中有详细的介绍,其策略不是对每一幅图像进行自动调焦操作,而是间隔一段距离再进行自动调焦。该值的设置对图像扫描质量的影响比较大,设置过于小,会导致自动调焦过于频繁导致扫描的时间消耗增大,扫描速度缓慢;设置过于大会导致扫描出的图像序列中某些图像离焦严重,不能作为合格的待拼接图像。

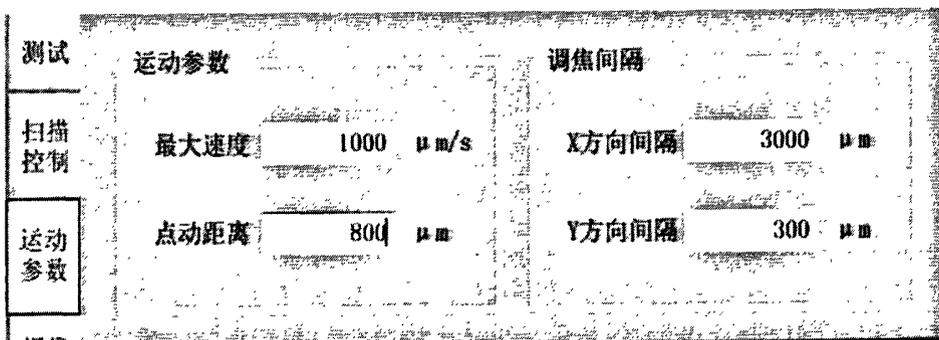


图 5.4 运动参数控制面板

## 3. 摄像机控制面板

摄像机的设置影响彩色显微图像的色彩、鲜艳度、图像的明暗度等。具体摄像机参数设置如图 5.5 所示,摄像机参数对图像扫描的质量影响很大,在图像扫描前调整好摄像机参数,对系统扫描出高质量的彩色显微图

像来说很重要。

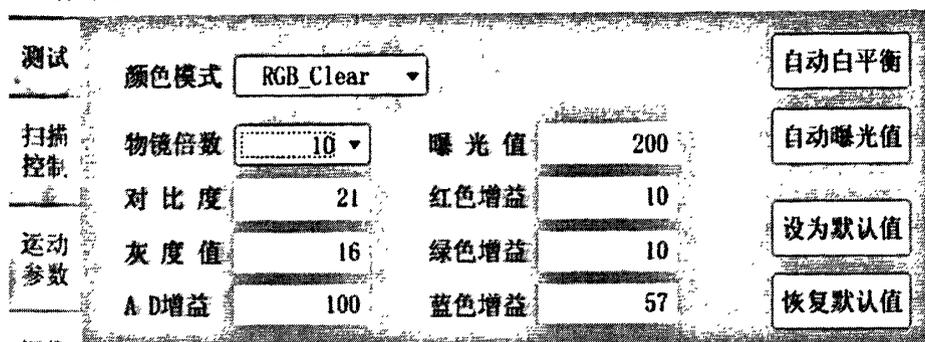


图 5.5 摄像机设置控制面板

### 5.1.3 数字切片制作实现

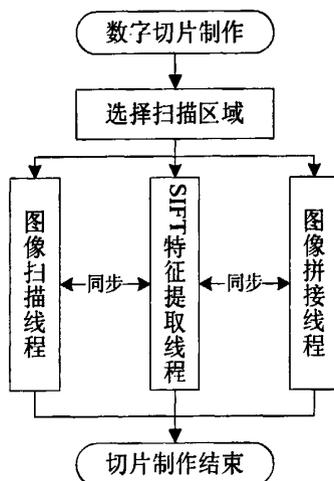
由于数字全切片扫描拼接扫描范围广、处理的图像数量大，所以系统扫描拼接所需的时间是设计系统必须考虑的问题。一方面，在保证图像扫描和拼接质量的基础上，通过算法的改进，减小算法的时间消耗；另一方面，算法实现将整个任务拆分成多线程，这样使得图像扫描拼接耗时最少。

数字切片图像扫描是全切片图像拼接的前提条件，通过数字切片扫描方法来获得有稳定重叠的待拼接图像。数字切片扫描采用自动调焦方法来确保扫描获得的待拼接图像清晰，具体的实现算法在本文的第三章中作了详细的算法论述与介绍。数字切片图像拼接是采用面向全切片的图像拼接方法，将图像扫描功能模块获得的显微图像拼接成数字切片，然后切块保存，图像拼接方法在本文的第四章中进行了详细的论述与介绍。

数字切片图像拼接方法中，图像对准采用基于 SIFT 的特征匹配对准方法，其中，SIFT 特征提取计算量很大，占用的计算机资源多，时间消耗多，所以将算法中 SIFT 特征提取计算单独划分在一个线程。那么，图像拼接算法实现被划分为两个线程：其一是 SIFT 特征提取线程，另一个是为图像拼接线程。图像拼接线程利用特征提取线程提取的特征数组，进行特征匹配，获得图像配准，进而进行图像定位、融合以及图像切块保存。

综合分析系统任务需求与解决方案，数字切片任务实现时主要划分为图像扫描线程、SIFT 特征提取线程和图像拼接线程。图像扫描线程获得的图像是 SIFT 特征提取线程的输入，SIFT 特征提取线程提取获得的 SIFT 特征数组是图像拼接

线程进行图像对配准的输入。这三个线程通过线程同步方法进行线程同步，相互通信来完成数字切片制作任务。数字切片制作实现流程如图 5.6 所示。



5.6 切片制作实现流程

#### 5.1.4 系统配置管理

为了提高系统的灵活性和可扩展性，系统将很多的参数信息设计成可配置的，通常是将参数信息在程序外配置(简称条件外置)，本文中采用配置文件实现条件外置。该方法将需要配置参数放置于\*.ini 文件(配置文件)中，当应用程序启动初始化时，读取配置文件中的相应的属性的值，根据这些值来初始化硬件平台或者设置系统的属性。

采用配置文件的方法的优点是配置信息存储在用户的计算机中，系统初始化时读取系统本地的文件，读取速度快配置系统方便简单。采用配置文件的方法增强了系统的灵活性，数字切片扫描系统中需要灵活配置的系统参数主要有：微动平台的自由度、微动平台各个轴的螺距、微动平台在不同的物镜倍数下的视野标定大小、微动控制器的初始化参数、微动控制的先验参数如最大加速度、最大速度、最大速度系数 K 等信息。

配置文件中的各项信息包括了系统中可能经常需要修改的参数，这样通过配置文件对系统进行灵活配置，增强了系统的灵活性，使系统更加能适应变化的系统应用环境。这样的系统设计与实现满足了系统软件设计的灵活性、可扩展性要求。

### 5.1.5 运动控制模块

在数字切片扫描系统中，运动控制模块主要是负责控制微动平台的扫描和调焦的操作，该模块分为轨迹规划和运动接口部分。运动接口主要与硬件进行通信，实现对微动控制器的初始化、数据发送和读取操作。从其功能上，可以视其为一个相对独立的功能模块，为了使得系统灵活，本系统采用 COM 组件技术，将运动控制模块进行组件化封装。

COM 是组件对象模型(Component Object Model)的英文缩写，其为组件架构设置的一套标准<sup>[31]</sup>。COM 组件是遵守 COM 规范编写的组件，其表现形式为可执行文件(EXE)和 Win32 动态链接库(DLL)。

将运动控制模块封装成 COM 组件，数字切片系统通过调用 COM 组件接口来实现微动平台的运动控制。在切片扫描实现中，调用运动组件的点动微动控制接口来控制微动平台点动，通过各轴位置接口来定位当前视野所在的位置信息。随着系统的进一步开发，系统的性能将进一步提升，系统通过修改组件来不断地添加新的功能、升级、改进数字切片系统，使得数字切片系统性能更加稳定、功能更加强大。用户通过更新组件可以灵活轻松地对系统升级和改进，最大限度地减少对用户的不良影响。

## 第二节 数字切片浏览系统实现

为了解决全切片图像可能带来内存耗尽的问题，本文采用全切片大图切块保存的方法。该方法一方面，解决了内存耗尽问题，另一方面，小块的图像便于通过网络进行快速地传递，提高数字切片的浏览速度。图 5.7 所示为数字切片的浏览的服务流程，数字切片的浏览技术与 WebGIS<sup>[32]</sup>的技术类似。随着系统的进一步开发，数字切片浏览软件不仅可以进行图像的浏览，还应该具有图像分析、图像备注、网络共享等方面的功能，这样才能真正充分展现数字切片的应用优势，也是数字切片的发展的目标。

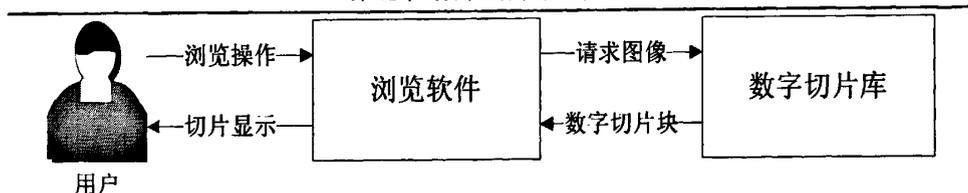


图 5.7 数字切片浏览服务流程

数字切片浏览软件目前实现了数字全切片浏览的功能。尽管全切片保存成小块的图像阵列，但是通过数字切片浏览软件，可以让用户获得虚拟的全切片感觉。

### 5.2.1 浏览系统原理

在实际的数字切片浏览操作中，用户对数字切片图像进行放大、缩小或者平移，通常会查看当前视野中显示的区域是否是自己感兴趣的部位，或者此时的分辨率是否满足自己的要求，然后再决定下一步浏览操作。我们可以根据当前视野区域显示的图片内容，预测客户可能操作的切片区域。用户在每步操作之间存在时间间隔，在相邻的操作的间隔里，客户端浏览软件向数字切片库请求可能操作的切片块数据，将这些图像存储于数据缓冲区内，这样当客户进行下一步操作时，数字切片的显示就会很流畅。这种策略称为地图切片预取方法，这种方法可以减小系统浏览切片图片的响应时间，可改善用户体验。

基于图像预取的数字切片浏览系统工作流程如图 5.8 所示，在数字切片浏览软件中增加了一个缓冲区用来存储预取的切片数据，数字切片浏览的视野区域的数字切片图像的显示都是来自于缓冲区。缓冲区不光存储用于显示的数据，还要根据当前区域的显示数据向数字切片库请求预测的切片块数据。

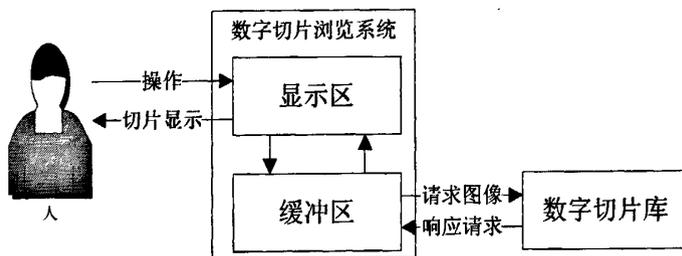


图 5.8 基于图像预取的数字切片浏览系统工作流程

### 5.2.2 数字切片浏览系统实现

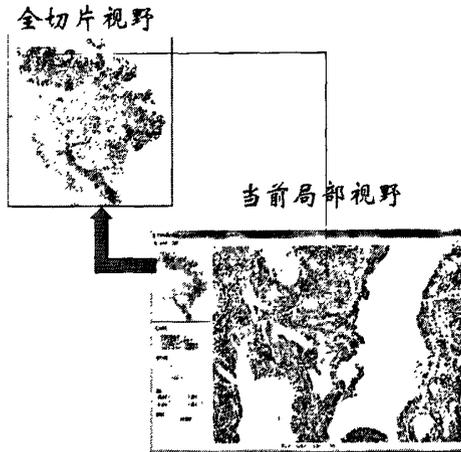


图 5.9 数字切片浏览系统界面

数字切片浏览系统初步实现为对全数字切片进行放大、缩小、拖动平移浏览等操作。数字切片浏览系统如图 5.9 所示，系统左上角为数字切片的全局视野缩略图，浏览系统的视野区为全切片的局部的视野图像。数字切片浏览系统提供全切片缩放比率为 3.13%、6.25%、12.5%、25%、50%、100% 的数字切片浏览方式。

图 5.10 为全切片图像缩放过程，(a)~(f) 图的缩放比例分别为 3.13%、6.25%、12.5%、25%、50%、100%。数字切片扫描的图像的缩放采用预处理数字切片的方式生成不同放大倍率的全切片图像存储于数字切片库，这样，就能减少用户浏览数字切片的响应时间，改善用户体验。

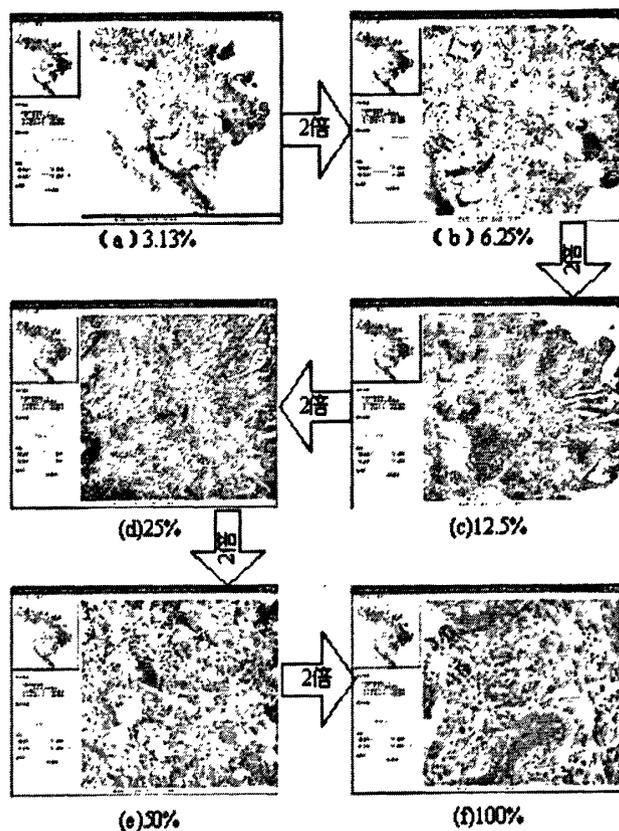


图 5.10 全切片缩放浏览

### 第三节 数字切片扫描拼接系统评估

为了验证数字切片扫描系统的性能，本文在 20 倍物镜下，采用多组医学病理切片进行全切片数字图像拼接实验。实验统计结果如表 5.1 所示：

表 5.1 全切片图像拼接实验结果统计表

切片编号	宏观尺寸(cm×cm)	全切片尺寸(byte)	花费时间(分)
S01	1.10×1.20	575M	30
S02	1.86×1.75	1423.5M	82.30
S03	1.24×0.84	455M	24.42
S04	1.55×1.84	1251.25M	70.19
S05	1.48×1.65	1069.5M	58.29

### 第五章 数字切片系统实现

切片编号	宏观尺寸(cm×cm)	全切片尺寸(byte)	花费时间(分)
S06	1.75×1.38	1058.5M	61.40

从表 5.1 统计结果可以看出, 数字切片扫描系统扫描拼接全切片的时间代价随着扫描规模的增大而增大, 系统扫描拼接平均时间花费约为 3.5s/幅。与微操作机器人全局视野的实现(算法实现未采用多线程, 扫描拼接平均时间花费约 8s/幅) 时间消耗相比, 数字切片扫描系统扫描拼接消耗的时间大幅度减小。

图 5.11 为对应于表 5.1 的数字全切片的图像拼接效果, 可以看出, 不论切片大小、内容、光强, 数字切片系统能完成全切片数字切片的制作。数字化切片操作不受切片内容、大小的影响, 验证了系统的可行性和适用性。数字切片扫描系统满足了数字化切片的基本要求。

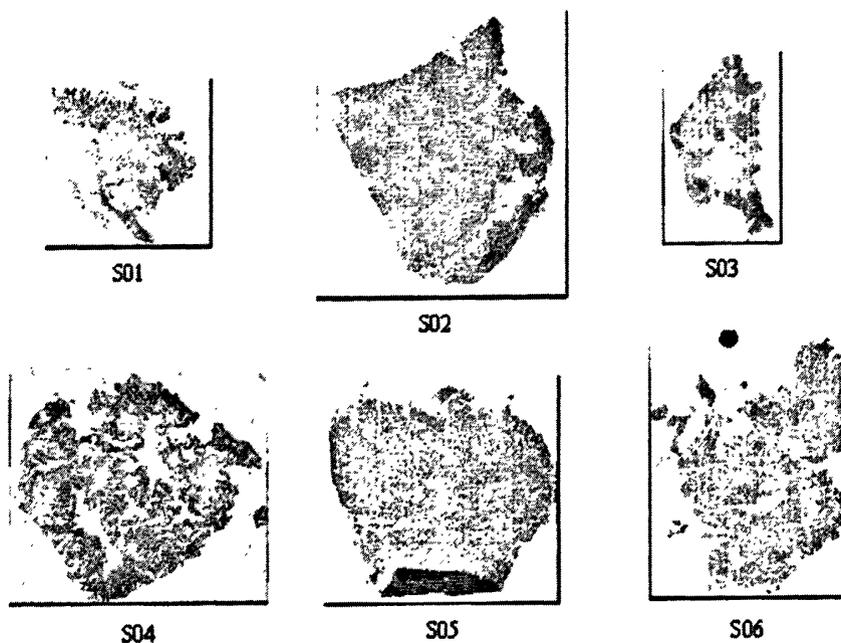


图 5.11 全切片图像拼接效果

在连续七、八个小时内进行数字化多组切片实验, 数字切片扫描系统的软、硬件系统都能保持着良好的工作状态且完成数字化切片的任务。从这一点也验证了数字切片扫描拼接系统的可行性和稳定性。

#### 第四节 小结

本章主要描述了数字切片扫描拼接系统和数字切片浏览系统实现。简略介绍了数字切片浏览方法，展现数字全切片图像拼接效果。通过多组病理切片的数字化实验，验证了数字切片扫描系统的设计与实现满足制作数字全切片的可行性和稳定性。

## 第六章 结论与展望

### 第一节 结论

本文以设计和实现数字切片扫描拼接系统为目的，在原有微操作机器人技术的基础之上，研究了数字切片扫描拼接系统的两项关键技术——数字全切片扫描方法和数字全切片图像拼接方法，从而实现了数字切片扫描拼接系统，且该系统能完成对任意大小、任意种类的切片进行数字化的目标。该系统的设计与实现，为今后进一步研究和完善数字切片系统奠定了基础。

由于数字切片扫描是数字切片制作的关键步骤，数字切片扫描方法必须确保切片扫描定位准确，且扫描获得的待拼接图像清晰、重叠度稳定等来满足图像拼接要求。为防止大范围切片扫描产生扫描累积误差，本文提出了一种基于误差补偿的扫描方法来减小切片扫描中的累积误差。针对确保待拼接图像清晰的目标，本文设计实现了数字切片扫描中的自动调焦方法。该方法采用先检测自动调焦环境，后决定是否进行自动调焦的方法来确保扫描中的自动调焦成功，以保证扫描获得的待拼接图像清晰。通过这两步措施，保障了扫描获得的待拼接图像清晰、重叠度稳定、覆盖目标扫描区域等切片扫描需要，以满足数字切片扫描的目标要求。

本文第四章提出的数字全切片图像拼接方法克服了大规模图像拼接的误差累积、时间消耗大、内存耗尽、存在空白区域待拼接图像等难题，通过这种图像拼接方法能成功完成任意尺寸、切片内容的全切片图像拼接任务。

最后，本文将数字全切片扫描技术和图像拼接技术相结合，综合实现扩展性强、性能稳定的数字切片扫描拼接系统。通过多组切片内容各异的医学病理切片数字化实验来验证数字切片扫描拼接系统的可行性和稳定性，同时，通过数字切片扫描系统进行长时间地切片数字化实验来验证系统性能的稳定性的。

## 第二节 展望

数字切片系统包括数字切片扫描系统和数字切片浏览系统，由于本阶段开发处于第一版系统开发，解决了基本的数字全切片图像拼接和浏览的问题，但是，距离产品化需要进一步的开发和研究工作。

1. 数字切片扫描拼接系统中，微动平台的位置反馈为控制柜理论控制反馈，不是真实的位置反馈。通过进一步的开发，在考虑制造成本的基础上能够实现更加精确的位置反馈。上位机系统可进一步利用反馈信息进行更加精密的微动控制，来提高微动平台的单步运动精度，从而提高数字切片扫描的稳定性。

2. 数字切片浏览系统的研究开发需要充分地发挥数字切片共享、方便快捷、易保存等的优势。数字切片浏览系统才是初级阶段的开发，要完善数字切片系统，需要更多地研究数字切片用户需求，从而开发出有市场、客户满意的数字切片系统。

切片数字化是未来的发展趋势，随着技术的不断发展与进步，数字切片系统也将会慢慢成熟，成本降低。由于数字切片的优越性，生命科学、医学等的应用领域将会广泛地使用数字切片技术。数字切片技术将会作为新兴的技术推动相关学科的发展。

## 参考文献

- [1] Mullick FG, Fontelo P, Pemble C. Telemedicine and telepathology at the Armed Forces Institute of Pathology: history and current mission. *J Telemed* 1996;2:187-193.
- [2] Wells CA, Sowter C. Telepathology: a diagnostic tool for the millennium. *J Pathol* 2000;191:1-7.
- [3] Winokur TS, McClellan S, Siegal GP, et al. A prospective trial of telepathology for intraoperative consultation (frozen sections). *Hum Pathol* 2000;31:781-785.
- [4] Weinstein MH, Epstein JI. Telepathology diagnosis of prostate needle Biopsies. *Hum Pathol* 1997;28:22-29.
- [5] Weinstein LJ, Epstein JI, Edlow D, et al. Static image analysis of skin specimens: the application of telepathology to frozen section evaluation. *Hum Pathol* 1997;28:30-35.
- [6] [http://sales.hamamatsu.com/en/products/system-division/virtual-microscopy/products/nanozoomer\\_2.0-rs.php](http://sales.hamamatsu.com/en/products/system-division/virtual-microscopy/products/nanozoomer_2.0-rs.php)
- [7] <http://www.vertinfo.com/vertnew/showpro.asp?cpid=8644>
- [8] <http://www.aperio.com/pathology-services/scanscope-digital-scanners.asp>
- [9] [http://www.microscopy.olympus.eu/microscopes/Life\\_Science\\_Microscopes\\_dotSlide\\_-\\_Virtual\\_Slide\\_System.htm#](http://www.microscopy.olympus.eu/microscopes/Life_Science_Microscopes_dotSlide_-_Virtual_Slide_System.htm#)
- [10] Xu Ma, Gang An, Bin Li. Design and Implementation of an Automated Microscope Stage. 2009 International Forum on Information Technology and Applications DOI 10.1109/IFITA.2009.268
- [11] D.M. Steinberg, S.Z.Ali. Application of virtual Microscopy in clinical cytopathology, *Diagnostic Cytopathology*, vol.25, no.6, pp.389-396, 2001.
- [12] 孙明竹. 面向复杂作业的微操作机器人系统视觉反馈与定位研究: [博士学位论文]. 天津: 南开大学, 2009
- [13] 李毅堂. 面向批量目标微操作的全自动微操作平台研制: [硕士学位论文]. 天津南开大学, 2009
- [14] Milan Sonka, Vaclav Hlavac, Roger Boyle, 译者: 艾海舟, 武勃. 图像处理、分析与机器视觉. 人民邮电出版社, 2003年9月
- [15] 王乃葭, 陈佳品, 李振波. 视觉反馈的微装配自动调焦系统. *自动化仪表*. Vol.30 No.6 2009年6月
- [16] 姜志国, 韩冬兵, 袁天云, 赵宇, 谢凤英. 基于全自动控制显微镜的自动聚焦算法研究. *中国图像图形学报*, 2004年4月, Vol.9 No.4 396-401
- [17] 萧泽新, 孙安青, 郝卫东. 自动显微镜伺服控制系统的研制. *光学技术*, 2005年11月, Vol.31 No.6 803-808
- [18] 陈国金, 朱妙芬, 张克松. 图像调焦过程的清晰度评价函数研究. *数据采集与处理*. Vol.24 No.2 2009年第2期
- [19] B.Appleton, A.Bradley, M.Wilderthoth, Towards optimal image stitching for virtual

## 参考文献

- microscopy, Digital image Computing: Techniques and Applications DICA'05, Bradley, 2005, pp.299-306.
- [20] U.Catalyurek, M.Beynon, C.Chang, et al. The virtual microscope, IEEE Trans. Inform. Technol.Biomed, vol.7, No.4, pp.230-248, 2003.
- [21] D.M. Steinberg, S.Z.Ali. Application of virtual Microscopy in clinical cytopathology, Diagnostic Cytopathology, vol.25, no,6, pp.389-396, 2001.
- [22] C. Sun, R. Beare, V. Hilsenstein, et al. Mosaicing of microscope images, in Proc. Digital Image Computing: Techniques and Applications DICTA '05, R. Beare, Ed., 2005, pp.343-348.
- [23] Mjkolajczyk K, K, Schmid C. A performance evaluation of local descriptors .Proceedings of the conference on conference on computer Vision And pattern Recognition. Washington DC:IEEE Computer society, 2003:257-264
- [24] 赵辉. SIFT 特征匹配技术讲义
- [25] David G. Lowe. Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints. International Journal of Computer Vision, 2004 .
- [26] Hsu S, Sawhney H S, Kumar R. Automated mosaics via topology inference. IEEE Computer Graphics and Applications, 2002:44-54
- [27] Szeliski R, Shum H Y. Creating full view panoramic image mosaics and environment maps. Proceedings of the 24th Annual Conference on Computer Graphics and Interactive Techniques. Atlanta, Georgia, USA, 1997:251-257
- [28] Park J S, Chang D H, Park S G. Automatic generation of photorealistic mosaic image. Proceedings of 1st IEEE International Workshop on Biologically Motivated Computer Vision. Seoul, Korea, 2000: 243-252
- [29] Davis J. Mosaics of scenes with moving objects. IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition, Santa Barbara, California, USA, 1998: 354-360
- [30] Shum H Y, Szeliski R. Systems and experiment paper: Construction of panoramic image mosaics with global and local alignment. International Journal of Computer Vision. 2000:101-130
- [31] 潘爱民. COM 原理与应用.北京:清华大学出版社.2001.3
- [32] 李学俊,王尊亮,李晓欢等. 基于地图切片预取的 WebGIS 系统.计算机应用研究.2009 年 10 月, Vol.26 No.10 3849-3851

## 致 谢

首先，衷心地感谢我的导师赵新教授三年来对我的培养。在这三年的研究生学习生涯中，赵老师不仅耐心地指导我的研究工作，而且从生活上教导我为人处世的道理和方法，用浅显的小故事引导出大的道理，让我受益匪浅。赵老师的教导让我印象深刻，并且这些教导将会让我受益终身。

感谢机器人与信息自动化研究所为我提供了良好的科研氛围和舒适的工作环境。刘景泰所长、方勇纯教授、张建勋教授、孙雷副教授、王晓娜老师和张蕾老师，无论是在科研还是生活中，都给了我悉心指导和热心的帮助，在此向他们表示诚挚的谢意！

感谢温玉华博士师兄在科研中和毕业培养中给予了我极大的帮助，感谢太阳公司的赵哲师兄、王德森师兄、郝铭师兄，与他们一起做系统研究，让我学到了很多的东西，且和他们讨论过程中开拓了研究视野，让我受益良多且在科研中帮助我很多。

感谢孙明竹老师在学术和生活上给予了我极大的帮助，感谢尹昕师姐、张玮光师姐、赵旭师姐、郭春燕师妹、何思明师妹、张国茂师弟、赵启立师弟和秦晓丽师妹，与他们的热情讨论和愉快相处令我受益良多。

感谢谭宜勇师兄、孙广毅师兄、王磊师兄、袁振坤师兄、李毅堂师兄、郝伟师弟、郭宇鹏师弟、李欣师弟和郭艺娜师妹，与他们在一起的工作学习生活非常愉快。特别感谢倪绍辉师兄兼老乡在工作和生活给予我的照顾。

感谢孙程、张鹏鹏、李斌、黄凯、廖干州、王春雷、李岩师弟、王挺师弟和林坚师弟在硕士期间给予我的帮助。特别地感谢赵志晖师弟给予我的帮助和鼓励，让我在科研期间不懈怠。

在这三年里，发生了很多事情，感谢我的爸爸、妈妈、妹妹在我情绪低落的时候一直鼓励我努力加油。

再次对硕士期间帮助过我的师长和朋友们表示衷心的感谢！

程小燕

2010年5月于南开园

## 个人简历、在学期间发表的学术论文及研究成果

### 个人简历

程小燕，女，1983年12月23日出生，江苏省泰兴市人

2007.09~2010.07 南开大学，计算机应用技术，研究生，工学硕士

2003.09~2007.07 南开大学，计算机科学与技术专业，本科，工学学士

### 在学期间参与的科研项目

1. 天津市科技支撑计划重点项目“基于微操作机器人的数字切片扫描系统”
2. 国家自然科学基金资助项目“基于全局视野的微操作复杂作业研究”
3. 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目“基于全局视野的微操作方法研究”

### 在学期间发表的学术论文

1. 赵新，孙明竹，程小燕，孙程，卢桂章，基于全局视野的微操作复杂作业研究，中南大学学报，已录用
2. 孙明竹，赵新，程小燕，卢桂章，基于尺度不变特征变换特征的显微图像在线拼接方法，高技术通讯，2009年第19卷第10期