

運用影像分析技術自動計數石綿纖維

李文立¹、毛義方²、林志銘^{1*}

¹ 銘傳大學·醫療資訊與管理學系，桃園，台灣

² 中山醫學大學·職業安全衛生學系，台中，台灣

NIOSH 7400 為目前國際間普遍用來測量環境石綿纖維濃度的方法，這種方法以相位差顯微鏡檢定，並以人體視覺來鑑定纖維的型態及計數；然而有些因素會對計數的準確度會產生不良的影響，例如檢測員個體差異或生理因素（如眼睛疲勞等）均可能增加檢測的變異性。本研究透過相位差顯微鏡數位影像截取及自動影像技術，來進行石綿纖維辨識與纖維計數，檢定的正確性可與傳統顯微鏡目視計數方法作比較。由於此方法成本低廉，可進一步發展成為顯微鏡目視替代方法，並延伸運用於計數玻璃棉或玻璃纖維等空氣纖維粉塵。

關鍵字：石綿纖維、相位差顯微鏡、影像技術、影像形態處理。

前言

石綿為纖維般的構造，由於其導電性、隔熱材料，及充足地彈性而易於被編織成織品，因此適合使用於煞車皮的內襯、磚瓦、水泥絕緣體、多孔過濾材料等等[1]。也因為廣泛地用途，使其普遍存在於社區中，包含工作場所空氣、飲用水及高樓的辦公建築環境裡。目前已知暴露於石綿纖維的人員中，石綿沉著症（塵肺症）、間皮瘤（mesothelima）及肺癌具有高發生率或死亡率[2-4]。有九成的石綿材質被使用於建築物，部份種類如褐石綿（amosite）與青石綿（crocidolite）雖然由於其致癌性在 1970 年以後已被多數國家所禁用，然而如貴橄欖石綿（chrysolite）於西元 2000 年前仍然被廣泛使用，隨著工業的污染及早期石綿建材年代老舊而逐漸於結構中崩解造成環境的暴露。為評估對人體的危害情形，日本即針對含有這類材質的建築物制定法令進行監測，並發展其在空氣中濃度的相關分析檢驗方法。

觀測和分析纖維粉塵是很困難的工作，因為此為非常異質性的材料。例如在石綿即有多種不同主要成分或結構，在分析方法方面，光學和電子顯微鏡、X 射線衍射及許多其他的分析方法被建議過[5-7]，然而被接受為標準方法者仍然稀有。而美國國家職業安全與衛生協會（National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH）採用相位差顯微鏡（phase contrast optical microscopy）的方法並建立 NIOSH 7400 方法，則為目前少數作為在工作場所採樣及分析石綿纖維的官方方法[8]。

相位差顯微鏡適合用來檢驗粒徑大於 0.4 μm 之纖維，然而對細微粒的可視性（visualization）則不如光學顯微鏡[9]。同時，由於這種方法是以視覺來鑑定石綿纖維的型態，所以有些因素會對計數的精密度（precision）和準確性（accuracy），產生不良地影響，像計數偏差和個別的變異性就可能因生理因素而增

加，例如眼睛疲勞等[7, 10]。國內也有學者嘗試提出改善方案，毛等人即以相同之顯微鏡光線路徑，使用電視螢幕來計數纖維，以降低眼睛疲勞等操作者誤差問題[11]。雖然如此，計數的過程仍需技術員進行目視分析，這也因此增加調查工作的人力成本。

本研究設計目的為藉由數位影像技術，開發一套鑑定石綿纖維並加以計數的理論並加以驗證，希望未來可以作為目前顯微鏡目視之替代方法，並延伸使用於計數其他纖維（如玻璃棉、玻璃纖維）之運用。

材料與方法

樣本製作與傳統計數方法

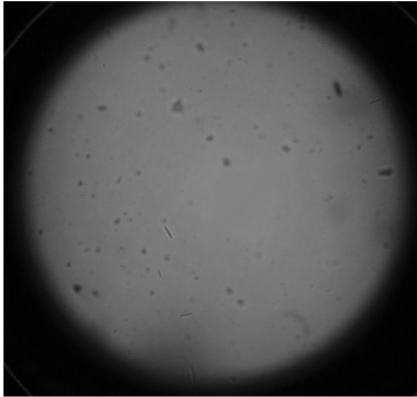
依據美國國家職業安全與衛生協會（NIOSH）建立之 NIOSH 7400 材料與方法，本研究使用配備 G-22 型 Walton-Beckett 計數板之 Nikon Labophot2-Pol 相位差顯微鏡，由受過專業訓練之檢測員從實驗室利用 SKC 混合纖維素酯濾紙（SKC mixed cellulose ester filter）採集製作貴橄欖石綿纖維樣本，並進行目測分析與紀錄，每間隔一段時間均須以衛生安全院國家實驗室（Health and Safety Executive/National Laboratory phase, HSE/NPL）檢查玻片測試顯微鏡之偵測極限。依據石綿纖維的特性，經過製作後的樣品須經過包括加熱丙酮燻蒸、三乙酸丙酯滴濾等前處理步驟，此目的在使樣本處於一個平滑的背景，且固定在折射率 1.46 以下介質中，以便鏡檢時之聚焦與計數。不同於其他纖維，經過前處理後的石綿纖維，在顯微鏡下具有特定的外型與結構，讓人眼得以進行區分判定。計數與鑑別條件設定為長度大於 5 μm 及長寬比大於或等於 3:1 之纖維，以上詳細的測定程序、條件與規則，均依照 NIOSH 7400 準則[8]進行，最後由專業石綿分析人員進行目測鑑定與計數，也同時針對顯微鏡視野進行數位影像照片的拍攝。待數位化影像取得後，對數位影像作下一階段纖維影像數位識別。

數位影像進行纖維識別方法

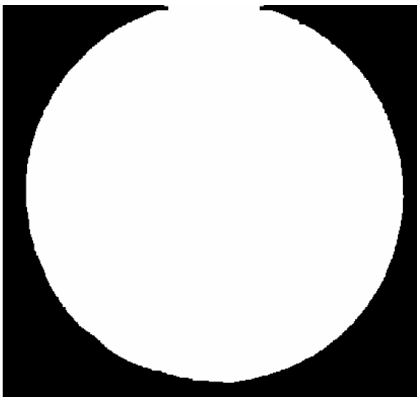
數位化影像取得照片後（如圖一），將對數位影像進行纖維識別。在進行纖維形態識別（pattern recognition）的計算程序前，必須先進行顯微鏡視野定位，

*通訊作者連絡地址：銘傳大學醫療資訊與管理學系
333 台灣桃園縣龜山鄉德明路 5 號，電話：(03)350-7001 ext 3530
傳真：(03)359-3880，e-mail: mclin@mail.mcu.edu.tw

待定位後，根據顯微鏡視野範圍，即可進行疑似石綿纖維位置偵測。當進行顯微鏡視野定位處理，我們先對影像進行 Gamma 灰階值處理[12]，Gamma 灰階值處理是一非線性映射函數可校正影像數位化過程灰階值的失真。接著進行線性對比強化的處理與切割處理 (segmentation) [12]，在切割處理結果中，一般會產生所謂的破洞，因此運用形態處理運算[13]來修正切割後的結果，圖二顯示顯微鏡視野定位的處理結果。



圖一、數位化石綿纖維影像



圖二、顯微鏡視野定位結果

當顯微鏡視野定位完成後，即可以顯微鏡視野範圍來形成後續處理的遮罩，因此在偵測疑似石綿纖維位置前，我們以遮罩為基礎來進行目標物的切割處理，此切割包含影像強化 (image enhancement)、邊緣偵測 (edge detection)、二值化處理 (binarizing) 與影像形態處理 (morphology operations)，其原理說明如下。

1. 影像強化 (image enhancement)

由於經由顯微鏡擷取之影像，其影像本身的灰階度動態範圍較窄，以致對比不夠。因此，在本研究中使用線性延伸 (linear stretching) [12]，來重新調整每一像素之灰階值來增加影像對比度，其計算方式如下。

令變數 r 為欲處理之數位影像中一灰階值， $T(r)$ 為一轉換函數且 S 為一轉換後的灰階值。因此，線性延伸演算法其定義如下：

$$S = T(r) = \frac{r - r_{\min}}{r_{\max} - r_{\min}} \times 255 \quad (1)$$

其中 r_{\min} 與 r_{\max} 為原影像中像素灰階值最小者與最大者。因此，經由轉換函數 $T(r)$ 處理後，原影像的灰階值最小為 0，最大為 255，如此影像的對比將可有所改善。

2. 邊緣偵測 (edge detection)

邊緣偵測用於強化影像中灰度值變化較大的部分，為使疑似石綿纖維邊緣更加明顯，本研究使用邊緣偵測以強化影像中疑似石棉纖維輪廓。由於影像是二維信號，一次微分有兩個分量，此向量稱為梯度 (gradient)。

設 f 為原始影像，則其梯度定義為

$$\nabla f = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{bmatrix} \quad (2)$$

我們取此向量的振幅 M (magnitude) 來表示邊緣， M 的定義如下：

$$M = \sqrt{\frac{\partial f^2}{\partial x} + \frac{\partial f^2}{\partial y}} \quad (3)$$

為實做出梯度計算，本研究使用 Sobel 濾波器來進行邊緣偵測以強化影像中疑似石棉纖維輪廓，同時可降低其他雜訊的干擾。其中 Sobel 使用一對 3×3 的遮罩 (mask) 以水平及垂直方向來偵測灰度值變化，其數學式如下：

$$\frac{\partial f}{\partial x} \approx f(x+1, y-1) + 2 \times f(x+1, y) + f(x+1, y+1) - f(x-1, y-1) - 2 \times f(x-1, y) - f(x-1, y+1) \quad (4)$$

$$\frac{\partial f}{\partial y} \approx f(x-1, y+1) + 2 \times f(x, y+1) + f(x+1, y+1) - f(x-1, y-1) - 2 \times f(x, y-1) - f(x+1, y-1) \quad (5)$$

3. 二值化處理 (binarizing)

在影像強化後，我們將進行影像切割，影像切割的目的是希望標定出纖維。

因此，首先我們運用最佳閾值演算法 (optimal thresholding) [13] 來進行影像二值化處理 (binarization)，如此將可獲得疑似石棉纖維的影像。因此可針對每一物體進行形狀外型表示 (shape representation)。

4. 影像形態處理 (morphology operations)

由於在二值化處理完後，目標邊緣可能產生破洞現象，此種現象可用型態運算子中的閉運算 (closing operator) 來改善，其原理如下。

設集合 B 與 S ，其閉運算為

$$B \cdot S = (B \oplus S) \ominus S \quad (6)$$

其中 \oplus 為膨脹運算 (dilation operator)， \ominus 為侵蝕運

算 (erosion operator)。

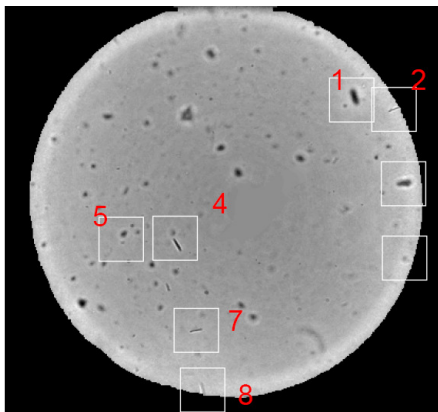
待經由閉運算來改善破洞現象後，我們可經由細化運算子來標定疑似石棉纖維的目標。細化運算子原理如下。

$$B \otimes S = B - (B \odot S) \quad (7)$$

其中 \odot 為 hit-or-miss transform。最後根據所偵測的位置來擷取單一疑似石棉纖維影像來計算其長寬比值是否大於或等於 3。

結果

經過纖維形態識別計算程序所得到的分析影像，其結果如圖三所示，圖中可以觀察到有 8 根疑似石棉纖維。最後根據所偵測的位置來擷取單一疑似石棉纖維影像來計算其長寬比值是否大於或等於 3，其偵測結果如表一所示。依據長寬比值大於等於 3 者標準，8 根疑似石棉纖維中，可觀察到編號 2,4,7 纖維為最後分析所得結果，此 3 根纖維判定結果相同於影像實驗前由專業石棉分析人員以 NIOSH 7400 方法之目測判定結果，顯示本實驗計數結果具有準確性。在本研究中，石棉纖維之數位影像處理與識別之流程，如圖四所示。

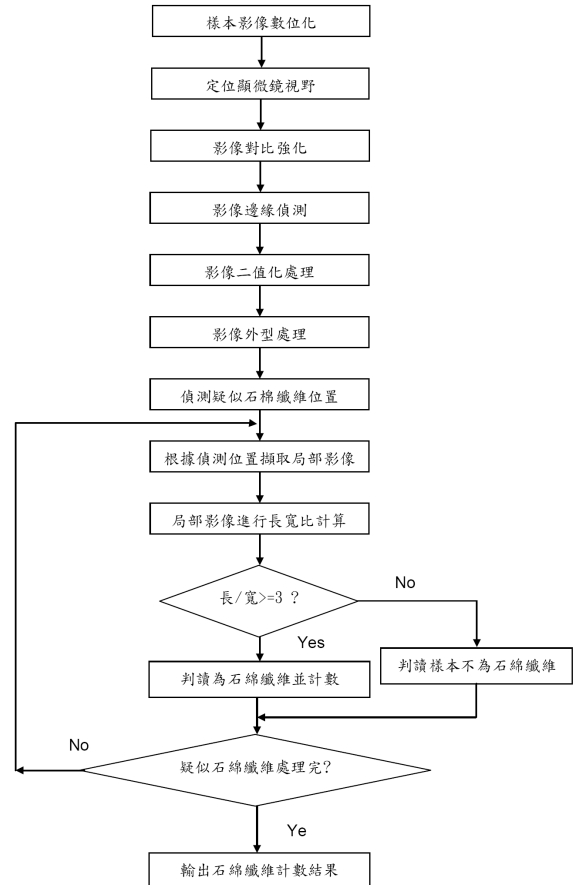


圖三、疑似石棉纖維的目標

討論

本研究藉由低成本設備與數位影像技術，開發一套鑑定石棉纖維並自動計數的方法雛型，經驗證後獲得一定之分析水準。然而，本實驗仍存在一些方法上的限制。例如，由於運用灰度值變化作為纖維之數位判讀基礎，所以灰度對比之校正條件可能會影響實驗結果。本實驗中位於視野下方邊緣之編號 8 疑似纖維，因原始背景光線亮度較低，經背景校正後導致原始灰度對比值下降，可能會因此造成本實驗的誤判。再則，本實驗於開發階段僅作單一標本測試，也存在研究推論上的限制，未來仍須對多樣本之實驗的敏感度 (sensitivity)、精確度 (specificity) 與偵測極限 (detection limit) 進行檢定，以進一步提升鑑定的品質。過去有一些經過修正的測試程序，被運用於評量 and 改善相位差顯微鏡計數石棉纖維的品質[14-16]。然

而，隨著採樣濾紙上之負載密度 (loading density) 的增加以及解析度 (resolution) 降低，這些干擾的形成往往是造成計數效率不高的主要原因[17, 18]；也因此，視覺的誤差同樣可能存在於截取的影像中，仍是計數上難以克服的問題。



圖四、石棉纖維之數位影像處理與識別之流程圖

表一、疑似石棉纖維影像之長寬比

編號	長度 (像素)	寬度 (像素)	長寬比
1	17	7	2.49
2	11	3	3.67
3	14	8	1.75
4	19	5	3.80
5	8	7	1.14
6	42	22	1.91
7	11	3	3.67
8	17	7	2.43

此外，有少數研究提出其他改善之方法，包括可再度定位之視野 (relocatable field) 的運用，藉以提升觀察者或實驗室間 (intercounters) 之信度與效度[19, 20]。早期也曾發展 X 光繞射自動化技術，然而由於繞射光譜無法對不同礦物進行區分，因此在運用上具有

一定限制[21]。Inoue 等人則使用相位差顯微鏡截取石綿纖維影像，開發自動計數系統，這套系統具有價格便宜的特性，然而作者認為計算速度與精確度仍有提升的空間[22]。Ishizu 等人則利用網格上背景與石綿纖維在影像 RGB 顏色上之差異，發展分散式染色法 (dispersion staining method) 自動計數裝置[23]，然而分散染色法必須具備特定的設備，且此法並未列入台灣官方的分析方法。另外，Vickers 公司開發的影像系統具有實驗室間的準確水準，然而對濃度在 0.3 fibers/ml 以下影像卻也存在相當之誤差[24]。

結論

本研究藉由低成本設備與數位影像技術所開發石綿纖維自動計數方法，具有一定之分析水準。然而，未來如果希望作為目前顯微鏡目視之替代方法，除了必須對各種不同纖維進行實驗外，影像技術所採用的參數 (parameter) 選擇與檢定標準 (criteria) 設定也必須有所評估。另外，由於纖維的重疊、彎曲、分岔、交叉，以及顯微鏡光線條件、景深調整、影像解析度，與不同纖維或微粒的干擾等，皆會對影像品質與分析效率產生影響，這些皆需要於實驗設計中加以考量。

致謝

作者感謝台灣檢驗科技有限公司 (SGS) 環境實驗室陳舜岳先生，協助本實驗所需石綿纖維樣本與影像之製作，以及石綿纖維目測判讀與計數。

參考文獻

- Vitra, R.L. 2002. United state geological survey. Open File Report 2.
- Bianchi, C., and Bianchi, T. 2007. Malignant mesothelioma: global incidence and relationship with asbestos. *Ind. Health* 45:379-387.
- Ferrante, D., Bertolotti, M., Todesco, A., Mirabelli, D., Terracini, B., and Magnani, C. 2007. Cancer mortality and incidence of mesothelioma in a cohort of wives of asbestos workers in casale monferrato, Italy. *Environ. Health Perspect.* 115:1401-1405.
- Siemiątycki, J. 2007. Investigating cancer risks related to asbestos and other occupational carcinogens. *Occup. Environ. Med.* 64:500-501.
- U.S. Environmental Protection Agency. 1982. Interim Method for the Determination of Asbestos in Bulk Insulation Sample, Asbestos Properties Applications and Hazards. Washington, D.C:EPA.
- Rooker, S.J., Vaughan, N.P., and Guen, J.M. 1982. On the visibility of fibers by phase contrast microscopy. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 43:505-515.
- Steel, E.B., and Small, J.A. 1985. Accuracy of transmission electron microscopy for analysis of asbestos in ambient environment. *Anal. Chem.* 57:209-213.
- National Institute for Occupational Safety and Health. 1987. Proficiency Analytical Testing (PAT) Program Standard Reference Sample Generation Procedures. Menlo Park, Calif.: SRI International.
- Kohyama, N., and Kurimori, S. 1996. A total sample preparation method for the measurement of airborne asbestos and other fibers by optical and electron microscopy. *Ind. Health.* 34:185-203.
- Paik, N.W., Levine, S.P., and Schork, M.A. 1994. Intra-counter, intralaboratory, and interlaboratory variation of asbestos counting with phase-contrast microscopy. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 9: 510-516.
- Mao, I.F., Yeh, H.R., and Chen, M.L. 2002. Comparison of fiber counting by TV screen and eyepieces of phase contrast microscopy. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 63:756-761.
- Gonzalez, R.C., and Woods, R.E. 2008. *Digital Image Processing*, 3rd Edition, Prentice Hall,
- Sonka, M., Hlavac, V., and Boyle, R. 1999. *Image Processing, Analysis, and Machine Vision*, 2nd edition, PWS Publishing.
- Schlecht, P.C., and Shulman, S.A. 1986. Performance of asbestos fiber counting laboratories in NIOSH Proficiency Analytical Testing (PAT) Program. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 47:259-566.
- National Institute for Occupational Safety and Health. 1991. *Laboratory Reports and Rating Criteria for the Proficiency Analytical Testing (PAT)*, by Groff JH, Schlecht, and Shulman (DHHS/NIOSH pub. No. 91-102). Washington, DC.: Government Printing Office.
- Schlecht, P.C., and Shulman, S.A. 1995. Phase contrast microscopy asbestos fiber counting laboratories in NIOSH Proficiency Analytical Testing (PAT) Program. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 56:480-489.
- Chen, C.C., Yu, T.S., and Shih, T.S. 2001. Computer simulation of particle overlap in fiber count samples. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 62:281-287.
- Brown, P.W., Jones, A.D., and Miller, B.G. 2002. Developments in the RICE asbestos fibre counting scheme, 1992-2000. *Regular Interlaboratory Counting Exchanges. Ann. Occup. Hyg.* 46:329-339.
- Harper, M., and Bartolucci, A. 2003. Preparation and examination of proposed consensus reference standards for fiber-counting. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 64: 283-287.
- Pang, T. 2007. A new parameter to evaluate the quality of fiber count data of slides with relocatable fields. *J. Occup. Environ. Hyg.* 4:129-144.
- Hawthorne, C., and Grundy, H. D.1976. *Canadian Mineralogists*, 14: 334.
- Inoue, Y., Kaga, A., and Yamaguchi, K. 1999. Development of an automatic system for counting asbestos fibers using image processing. *Particul. Sci. Technol.* 16: 263-279.
- Ishizu, K., Takemura, H., Kawabata, K., Asama, H., Mishima, T., and Mizoguchi, H. 2008. Image processing of particle detection for asbestos qualitative analysis support method - particle counting system based on classification of background area. 10th International Conference on Control, Automation, Robotics and Vision Hanoi, Vietnam.
- Kenny, L.C. 1984. Asbestos Fiber counting by image analysis-the performance of the Manchester asbestos program on magiscan. *Ibid.* 28:401-415.