

การพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อการตัดแยกและนับเซลล์โซมาติกในน้ำนมโค
โดยใช้การประมวลผลภาพ

Development of Somatic Cells Segmentation and Counting in Cow's milk
Algorithms using Image Processing

ประสิทธิ์ นางทิน^{1,*} สุวิทย์ เมาะราณี² จัตรชัย สุกพิทักษ์สกุล³ และ อรุณ จันทรลุน⁴

¹สาขาวิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน

²สำนักพัฒนาสมรรถนะครูและบุคลากรอาชีวศึกษา สำนักงานคณะกรรมการการอาชีวศึกษา

³ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

⁴ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Email: prasit@pit.ac.th, suwit@bpcd.vec.go.th, chatchai.s@en.rmutt.ac.th, Aran_jan@kku.ac.th

Prasit Nangtin^{1,*}, Suwit Morasee², Chatchai Suppitaksakul³ and Arun Janlun⁴

¹Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, Pathumwan Institute of Technology

²Bureau of Personel Competency Development, Office of Vocational Education Commission

³Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering,

Rajamangala University of Technology Thanyaburi

⁴Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Email: prasit@pit.ac.th, suwit@bpcd.vec.go.th, chatchai.s@en.rmutt.ac.th, Aran_jan@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การประเมินจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการประเมินคุณภาพน้ำนม และการวินิจฉัยปัญหาโรคเต้านมอักเสบ ในการประเมินจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคด้วยวิธีการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยตรง ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญทำการวิเคราะห์และนับจำนวนเซลล์ และต้องวิเคราะห์และนับไม่ต่ำกว่า 20 บริเวณที่ต้องส่องกล้องจึงส่งผลกระทบต่อสายตาของผู้นับอย่างมาก และต้องใช้เวลาาน ขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้วิเคราะห์ บทความนี้ เป็นการพัฒนาขั้นตอนวิธีตัดแยกและนับจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคจากภาพถ่ายเซลล์โซมาติกที่เชื่อมด้วยสีเมทิลีนบลูโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพ เพื่อสกัดและแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง และนับจำนวนเซลล์ในแต่ละภาพ ขั้นตอนวิธีที่นำเสนอได้พัฒนาวิธีการเตรียมภาพ การคัดแยกเซลล์ การจำแนกกลุ่มเซลล์เดี่ยวและเซลล์ติดกัน และการตัดแยกเซลล์ติดกัน โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียม จากผลการทดลอง

พบว่า วิธีที่นำเสนอสามารถตัดแยกและนับจำนวนเซลล์โซมาติกได้ใกล้เคียงกับผู้เชี่ยวชาญ โดยมีประสิทธิภาพของอัลกอริทึม Recall = 0.95 และ Precision = 0.92

คำสำคัญ: การประมวลผลภาพดิจิทัล, การนับเซลล์โซมาติก, การแบ่งส่วนภาพ

Abstract

The somatic cells count in milk: SCC. There is a critical need to evaluate milk quality and mastitis diagnosis. The somatic cell count in milk by direct microscopy relies on expert analysis and cell counting and need to perform at least 20 vision images, which take longer depending on the capacity of analysis and cause eye strain and are time consuming. This paper presents a method to classify and count somatic cells in cow's milk from microscopic image which contained cells staining with methylene blue, using image processing techniques. The proposed algorithm for segment cells from background. The type of somatic cells classification and touching cells segmentation using Neural Network. From the experimental results, it is found that the proposed algorithm can classify and count somatic cells correctly with average performance evaluations of Recall, Precision at 0.95 and 0.92 respectively.

Keywords: Digital image processing, Somatic cells count, Image segmentation

1. บทนำ

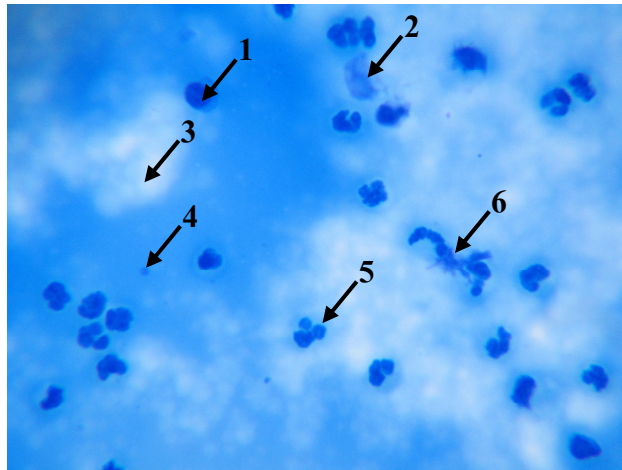
ปัญหาโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) เป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อเต้านม ทำให้เต้านมและน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงผิดปกติ แม่โคนมจะให้ผลผลิตและคุณภาพน้ำนมลดลง เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมไม่สามารถนำน้ำนมที่มีคุณภาพมาจำหน่ายได้ ทำให้สูญเสียรายได้ และก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ [1, 2] การวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบสามารถตรวจได้โดยการตรวจหาปริมาณเซลล์โซมาติก (Somatic cells) ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบในน้ำนมดิบ วิธีการประเมินจำนวนเซลล์โซมาติกที่นิยมในปัจจุบัน ได้แก่ 1. การตรวจนับด้วยเครื่องอัตโนมัติ (Fossomatic Somatic Cell Count: FSCC) 2. การใช้น้ำยาทดสอบ CMT (California Mastitis Test) และ 3. การตรวจนับโดยตรงด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Direct Microscopic Somatic Cell Count: DMSCC)

การตรวจด้วยน้ำยา CMT เป็นเพียงการตรวจในเชิงคุณภาพเบื้องต้น สามารถปฏิบัติได้ง่าย ราคาถูก เหมาะสำหรับผู้เลี้ยงโคนมรายย่อย การตรวจด้วยเครื่องอัตโนมัติ จะมีความแม่นยำและรวดเร็ว แต่เป็นเพียงการตรวจเชิงปริมาณเท่านั้นไม่สามารถนับจำนวนแบคทีเรียในน้ำนมได้ มีการนำไปใช้งานในห้องปฏิบัติการน้อย เพราะมีราคาแพงและค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์แต่ละครั้งค่อนข้างสูง ส่วนการตรวจวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์นั้น จะมีประสิทธิภาพสูงในการปฏิบัติงาน เพราะสามารถศึกษาปริมาณเซลล์โซมาติกและ

แบบที่เรียได้พร้อมกัน มีค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างต่ำกว่าการตรวจนับด้วยเครื่องอัตโนมัติ และต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์และนับไม่ต่ำกว่า 20 บริเวณที่ต้องส่องกล้อง (20, 40, 60 ฯลฯ vision) ซึ่งจะส่งผลต่อสายตาของผู้วิเคราะห์เป็นอย่างมาก ทำให้เกิดการเมื่อยล้า และเป็นงานที่น่าเบื่อหน่ายเมื่อมีตัวอย่างที่ต้องตรวจจำนวนมาก ส่งผลให้การปฏิบัติงานต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้นตามไปด้วย [1, 2, 3]

การประเมินจำนวนเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยตรงนี้ ได้มีการศึกษาวิจัยโดยประยุกต์ใช้กล้องดิจิทัล CCD/BW เชื่อมต่อเข้ากับคอมพิวเตอร์เพื่อให้คอมพิวเตอร์มองเห็นแล้วทำการประมวลผลข้อมูลและวิเคราะห์ภาพเซลล์แทนคน โดยใช้วิธีการประมวลผลภาพดิจิทัล [4] เพื่อตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังด้วยวิธีการ Threshold และปรับปรุงภาพด้วย Morphological ระบบที่นำเสนอยังมีความผิดพลาดเมื่อจำนวนเซลล์มีปริมาณที่หนาแน่น (มากกว่า 1,000 thousand-cells/ml.) ใช้เวลานานในการประมวลผล แต่ผู้วิจัยไม่ได้สนใจผลของความถูกต้อง แม่นยำ และทำงานให้ได้ประสิทธิภาพมากนัก เมื่อต้องตรวจวิเคราะห์น้ำนมที่มีการติดเชื้อรุนแรง [4] ต่อมาได้มีการศึกษาการตัดแยกภาพเซลล์โดยใช้ SOM Neural Network วิเคราะห์องค์ประกอบภาพของโมเดลสี RGB, YIQ, XYZ และ Ycbr ได้แก่ ค่า Contrast และ Eigene value of Covariance ของแต่ละโมเดลสี ด้วยวิธีการ 3PCA, 2PCA และ 1PCA เพื่อตัดแยกภาพเซลล์โซมาติก พบว่า ประสิทธิภาพของการตัดแยกภาพโมเดลสี RGB ด้วยวิธีการ 1PCA เหมาะสมที่สุด [5] และต่อมาได้มีการพัฒนาขั้นตอนวิธีการประมวลผลภาพสี โดยใช้ SOM Neural Network ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภาพของโมเดลสีต่างๆ ได้แก่ RGB, YIQ, XYZ, และ HSI โดยการคำนวณค่า Contrast และ Variance พบว่า องค์ประกอบสี RG สามารถตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังได้เหมาะสมที่สุด มีประสิทธิภาพของขั้นตอนวิธี ค่าความถูกต้อง Accuracy = 94.23% ส่วนการแยกเซลล์ที่ติดกันใช้วิธีการ Watershed Segmentation ในการตัดแยก ส่วนผลการนับจำนวน [6] เป็นการนับการแบ่งส่วนของนิวเคลียส (Nuclei)

บทความนี้ นำเสนอขั้นตอนวิธีเพื่อการนับจำนวนเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคโดยใช้เทคนิคการประมวลผลภาพ จากการถ่ายภาพบนพื้นที่แผ่นสไลด์ที่ย้อมด้วยสีเมทิลีนบลูโดยพิจารณาเลือกพื้นที่และบริเวณที่เหมาะสมจากผู้เชี่ยวชาญแล้ว มีขั้นตอนวิธีดังนี้ (1) การตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง (Cells image segmentation) (2) การคัดแยกเซลล์ (Cells separation) (3) การจำแนกกลุ่มเซลล์ (Cells Classification) (4) การแยกเซลล์ที่ติดกัน (Touching cells Segmentation) และ (5) การนับจำนวนเซลล์โซมาติกเปรียบเทียบกับการนับและวิเคราะห์โดยผู้เชี่ยวชาญ/แพทย์ โดยทำการออกแบบ/พัฒนาอัลกอริทึมด้วยโปรแกรม MATLAB ขั้นตอนวิธีที่ได้นำไปพัฒนาเป็นโปรแกรมเพื่อช่วยในการวิเคราะห์ และนับจำนวนเซลล์โซมาติก หรือประเมินจำนวนเซลล์โซมาติกแทนผู้เชี่ยวชาญ แพทย์ หรือผู้วิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 1 เซลล์โซมาติกที่ย้อมด้วยสีเมทิลีนบลู ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ดิจิทัล ชุมเลนส์ขนาด 100X

2. ขั้นตอนวิธีการวิจัย

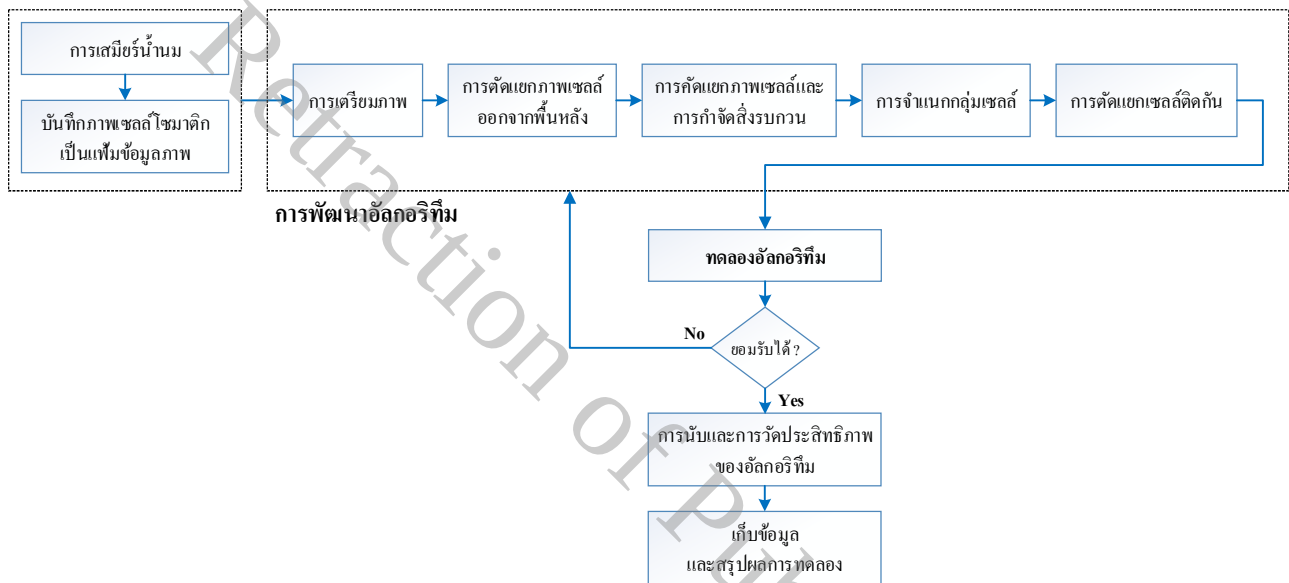
ขั้นตอนวิธีหรืออัลกอริทึมที่นำเสนอเริ่มด้วยการนำภาพดิจิทัลที่บันทึกไว้ เป็นภาพสี RGB ได้จากการถ่ายภาพบนพื้นที่แผ่นสไลด์ที่ย้อมด้วยสีเมทิลีนบลู (ภาพเซลล์โซมาติกแสดงดังรูปที่ 1) โดยพิจารณาพื้นที่และบริเวณที่เหมาะสมจากผู้เชี่ยวชาญแล้ว นำภาพที่ได้ผ่านขั้นตอนการเตรียมภาพ (Image Pre-processing) ให้มีความเหมาะสมเพื่อขั้นตอนสำคัญ คือ การสกัดหรือตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังจะสามารถทำได้ถูกต้อง ต่อจากนั้นจะนำภาพ Pre-processing ผ่านขั้นตอนการตัดแยกภาพหรือสกัดภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังด้วยวิธีการ Thresholding และปรับปรุงภาพขาวดำให้มีความเหมาะสมด้วยเทคนิค Morphological ต่อจากนั้น ผ่านขั้นตอนการตัดแยกเซลล์ การจำแนกกลุ่มเซลล์ การตัดแยกเซลล์ติดกัน โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมในการจำแนก (Classification) และการนับ แล้วนำผลลัพธ์การตัดแยกเซลล์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์และการนับโดยผู้เชี่ยวชาญ ซึ่งจะเป็นการวัดประสิทธิภาพของอัลกอริทึมการตัดแยกภาพเซลล์โซมาติก (แสดงผังงานดังรูปที่ 2)

2.1 ลักษณะของเซลล์โซมาติกและภาพ

เซลล์โซมาติก เป็นเซลล์ที่มีอยู่ประมาณ 98-99% ของปริมาณทั้งหมดในน้ำนม ส่วนที่เหลือเป็นเซลล์เยื่อบุ (Epithelial cells) ของต่อมสร้างน้ำนมที่หลุดลอกหลังจากมีการเสียหายของเต้านม เซลล์โซมาติกจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ หลังมีการติดเชื้อในเต้านม [2] ภาพเซลล์โซมาติก ดังรูปที่ (1) ประกอบด้วยเซลล์โซมาติก (ลูกศร 1) เซลล์เยื่อบุต่างๆ (ลูกศร 2) น้ำ-ไขมัน (ลูกศร 3) และสิ่งปลอมปนอื่นๆ (ลูกศร 4) ดังภาพจะประกอบด้วยเซลล์ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มเซลล์เดี่ยว (Single cell) (ลูกศร 5) และกลุ่มเซลล์ติดกัน (Touching cell) (ลูกศร 6) ลักษณะของภาพนั้น จะมีระดับความเข้มสีของพิกเซลของภาพเซลล์และพื้นหลังหลายระดับ ระหว่างภาพเซลล์กับพื้นหลังบางพื้นที่มีระดับพิกเซลที่แตกต่างกันน้อยมาก ขอบภาพไม่คมชัด คลุมเครือ โดยเฉพาะส่วนของพื้นที่ที่เป็นเซลล์โซมาติก มีสีที่ไม่สม่ำเสมอ มีความดื่นลึกแตกต่างกัน ต้องมีการเตรียมภาพให้เหมาะสมก่อนนำไปสกัดภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง ซึ่งจะทำให้การตัดแยกแยกภาพเซลล์มีความถูกต้อง ประสิทธิภาพที่ดี และจะส่งผลให้ขั้นตอนการนับสามารถนับได้ถูกต้องตามไปด้วย

2.2 ขั้นตอนวิธีการประมวลผลภาพเซลล์โซมาติก

การสร้างและออกแบบขั้นตอนวิธีสำหรับการประมวลผลภาพเซลล์โซมาติกนั้น เพื่อให้ได้ขั้นตอนวิธีที่เหมาะสมกับภาพ จะต้องศึกษาลักษณะต่างๆ ของภาพ ได้แก่ ภาพเซลล์ สิ่งที่ไม่ใช่เซลล์ หรือสิ่งปลอมปนอื่นๆ ภาพพื้นหลัง เพื่อจะได้นำไปตั้งสมมุติฐานแล้วออกแบบขั้นตอนวิธีให้สามารถตัดแยกภาพเซลล์โซมาติกออกจากพื้นหลังได้ตามเป้าหมายที่กำหนดไว้ แสดงผังงานดังรูปที่ 2 การพัฒนาขั้นตอนวิธี มี 6 ขั้นตอนใหญ่ๆ ได้แก่ (1) การเตรียมภาพ (2) การตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง (3) การคัดแยกภาพเซลล์และการกำจัดสิ่งรบกวน (4) การจำแนกกลุ่มเซลล์โซมาติก (5) การตัดแยกภาพเซลล์โซมาติกที่ติดกัน และ (6) การนับและการวัดประสิทธิภาพของอัลกอริทึม ดังที่ได้นำเสนอขั้นตอนวิธีภาพรวมในหัวข้อที่ 2. ขั้นตอนวิธีการวิจัย แล้วข้างต้น



รูปที่ 2 ผังงานการพัฒนาอัลกอริทึมสำหรับการตัดแยกภาพเซลล์โซมาติก

2.2.1 การเตรียมภาพ (Image Pre-processing)

(1) การเลือกองค์ประกอบภาพปริภูมิสี RGB เนื่องจากภาพต้นฉบับเป็นภาพปริภูมิสี RGB (RGB Color Space) ลักษณะของภาพได้อธิบายแล้วในหัวข้อที่ 2.1 ลักษณะของภาพเซลล์โซมาติก โดยสรุป คือ ภาพเซลล์กับพื้นหลังบางพื้นที่มีระดับพิกเซลที่แตกต่างกันน้อยมาก ขอบภาพไม่คมชัด คลุมเครือ โดยเฉพาะส่วนของพื้นที่ที่เป็นเซลล์โซมาติก มีสีที่ไม่สม่ำเสมอ มีความถี่ลักษณะแตกต่างกัน เป็นต้น ดังนั้น ขั้นตอนนี้ จึงเป็นการแยกองค์ประกอบภาพของปริภูมิสี RGB เพื่อหาภาพที่มีความเหมาะสมที่สุด โดยทำการคำนวณหาความเปรียบต่าง (Contrast Measurement) ระหว่างภาพเซลล์โซมาติกกับพื้นหลังของแต่ละองค์ประกอบภาพ จำนวน 6 องค์ประกอบ ได้แก่ องค์ประกอบภาพสี R, G, B, RB, RG, และ GB ซึ่งการคำนวณหาความเปรียบต่าง คือ ค่าระดับความแตกต่างระหว่างพิกเซลของพื้นหลังกับพิกเซลของภาพเซลล์โซมาติก ถ้าภาพองค์ประกอบใดมีความเปรียบต่างมากที่สุดจะเป็นภาพที่มีความคมชัดดีที่สุด

การคำนวณค่าความเปรียบต่าง เป็นการคำนวณหาความแตกต่างของค่าแสงบริเวณต่างๆ ภายในภาพ ภาพที่มีความเปรียบต่างสูง จะเป็นภาพที่แสงมีความแตกต่างกันมาก ส่วนภาพที่มีความเปรียบต่างต่ำ จะเป็นภาพที่มีแสงค่อนข้างสม่ำเสมอทั้งภาพ โดยใช้สมการที่ (1) [7] ซึ่งเป็นการวัดส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) ของความเข้มแสง/ระดับพิกเซลของภาพระดับเทา

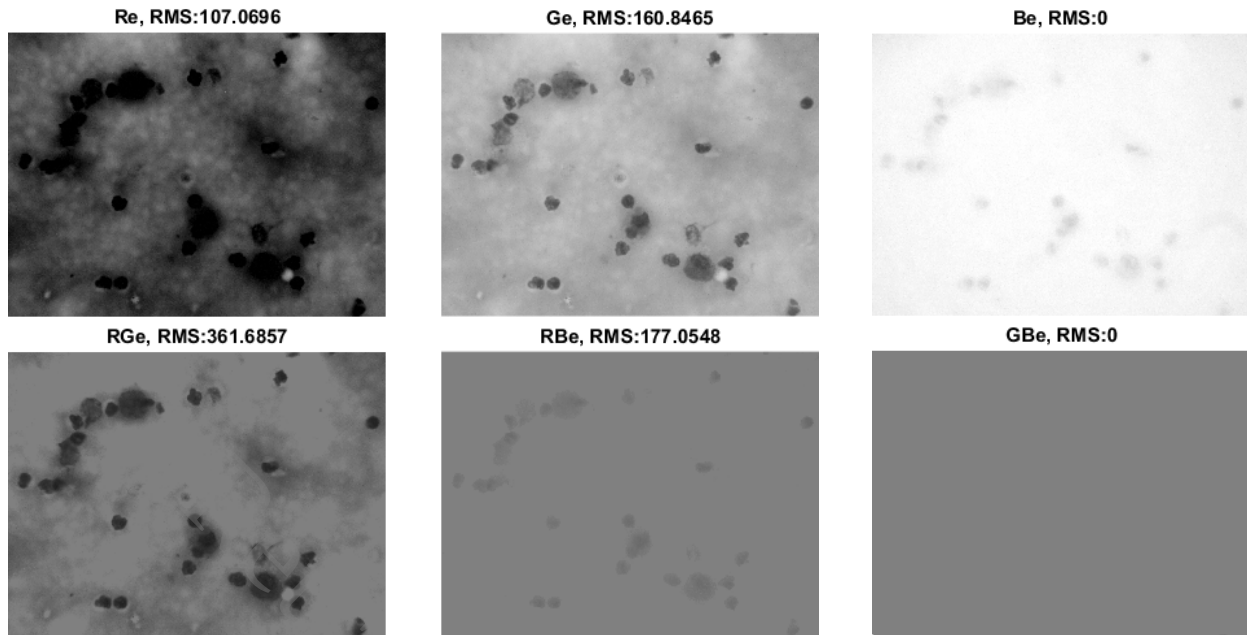
$$\sqrt{\frac{1}{MN} \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=1}^{M-1} (I_{ij} - \bar{I})^2} \quad (1)$$

โดยที่ I_{ij} คือ ค่าระดับพิกเซลของภาพลำดับที่ ij , $\bar{I}$ คือ ระดับพิกเซลเฉลี่ยทั้งภาพ และ MN คือ ขนาดของภาพ บทความนี้ได้ทำการทดลองคำนวณค่าความเปรียบต่างกับภาพเซลล์โซมาติก หมายเลข 1 - 3 ซึ่งมีความสมบูรณ์แบบที่สุด ทั้งชนิดของเซลล์ต่างๆ ภาพพื้นหลังที่เต็มไปด้วยน้ำ ไขมัน สิ่งปลอมปนอื่นๆ เป็นต้น ที่ย้อมติดสีเมทิลีนบลู ผลลัพธ์การแยกองค์ประกอบสีต่างๆ แสดงดังรูปที่ 3 (ภาพเซลล์โซมาติกหมายเลข 3) และเปรียบเทียบผลลัพธ์ค่าเปรียบต่างที่คำนวณได้แสดงดังตารางที่ 1 พบว่า องค์ประกอบ Be และ GBe มีความเปรียบต่างต่ำที่สุด คือ ค่า RMS = 0 และองค์ประกอบภาพ RGe มีความเปรียบต่างสูงที่สุด คือ ค่า RMS = 361.6857 แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบภาพ RGe นั้น มีพิกเซลที่เป็นพื้นหลังกับพิกเซลที่เป็นภาพเซลล์โซมาติกแตกต่างกันมากที่สุดกว่า องค์ประกอบภาพอื่นๆ

ถ้านำองค์ประกอบภาพสี RGe นี้ ไปใช้สำหรับการตัดแยกภาพเซลล์โซมาติกออกจากพื้นหลังแล้ว จะได้ภาพวัตถุ (ภาพขาวดำ) ที่มีความสมบูรณ์มากที่สุด ดังจะนำเสนอและแสดงในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 1 ผลการวัดค่าความเปรียบต่างแต่ละองค์ประกอบภาพ

ภาพที่	R element	G element	B element	RG element	RB element	GB element
1	333.4778	114.1432	0	356.1264	126.1042	17.6018
2	324.5620	156.3646	0	352.0102	163.0528	15.3590
3	107.0696	160.8465	0	361.6857	177.0548	0



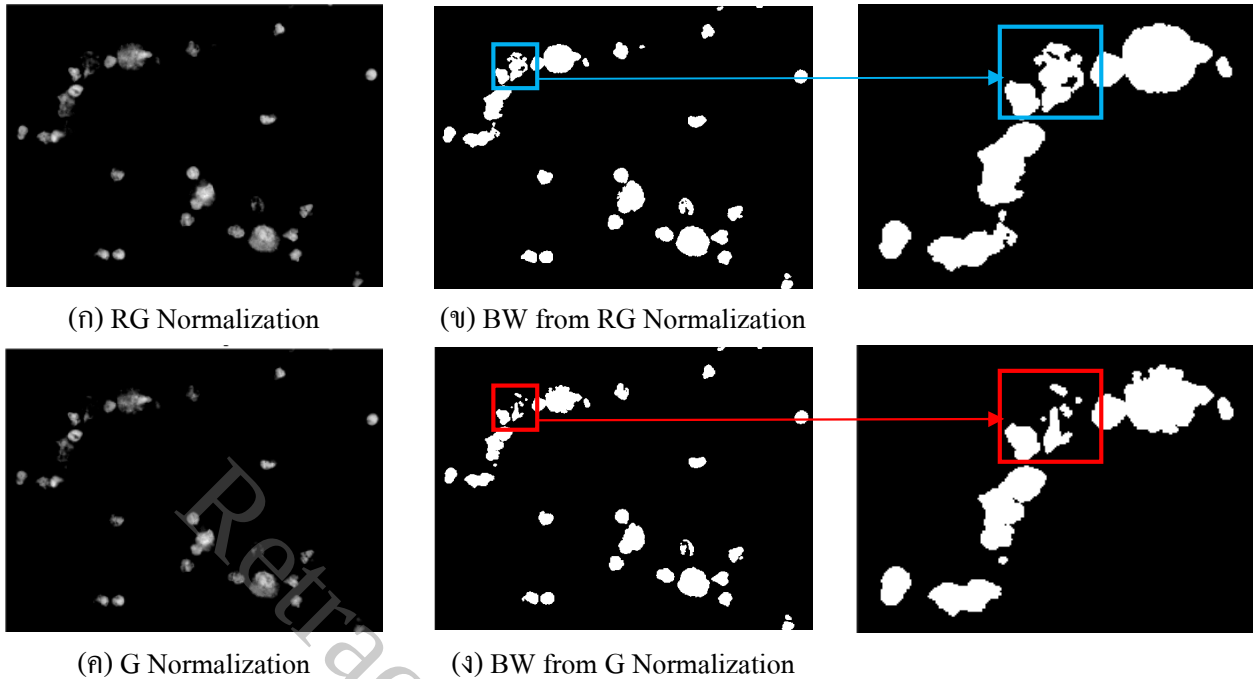
รูปที่ 3 ลักษณะภาพและผลการวัดค่าความเปรียบต่างของแต่ละองค์ประกอบภาพสี RGB
ภาพเซลล์โซมาติก หมายเลข 3

(2) Gray scale Image Normalization [7, 8] เป็นการเตรียมและปรับปรุงคุณภาพของภาพระดับเทา (องค์ประกอบสี RG) จุดประสงค์เพื่อให้ภาพเซลล์โซมาติกและภาพพื้นหลังที่มีความเหมาะสมมากขึ้น คือ ทำการปรับระดับพิกเซลพื้นหลังให้มีค่าเข้าใกล้ “0” และปรับระดับพิกเซลของภาพเซลล์โซมาติกให้มีระดับพิกเซลที่สูงขึ้น โดยการปรับเปลี่ยนช่วงระยะห่าง (Range) ของระดับพิกเซลต่ำสุด (พื้นหลัง) และระดับพิกเซลสูงสุด (ภาพเซลล์โซมาติก) ให้มีความแตกต่างกันมากขึ้น โดยใช้สมการที่ 2 [8]

$$I_N = (I_{ij} - I_{Min}) \left\{ \frac{I_{newMax} - I_{newMin}}{I_{Max} - I_{Min}} \right\} + I_{newMin} \quad (2)$$

โดยที่ I_N คือ ภาพผลลัพธ์, I_{ij} คือ ค่าระดับพิกเซลของภาพลำดับที่ ij , I_{Min} คือ ระดับพิกเซลต่ำที่สุด, I_{Max} คือ ระดับพิกเซลสูงที่สุด, I_{newMin} คือ ระดับพิกเซลต่ำที่สุดที่ต้องการ, I_{newMax} คือ ระดับพิกเซลสูงที่สุดที่ต้องการ

ผลลัพธ์ที่ได้จากขั้นตอนการทำ Gray scale Normalization ภาพเซลล์โซมาติกหมายเลข 3 ขององค์ประกอบภาพต่างๆ ได้แก่ องค์ประกอบสี G และ RG ซึ่งเป็นภาพที่ให้ค่าความเปรียบต่างสูง โดยกำหนดให้ $I_{newMin} = -I_{Min}$ และ $I_{newMax} = I_{Min}$ จะได้ค่าพิกเซลพื้นหลังที่มีค่าต่ำกว่าหรือเท่ากับ “0” แล้วจึงทำการแปลงเป็นภาพขาว (Thresholding Image) จากการทดลองพบว่า องค์ประกอบภาพสี RG ให้ผลลัพธ์การตัดแยกภาพเซลล์ที่สมบูรณ์ที่สุด (รูปที่ 4 (ข)) เมื่อเทียบกับองค์ประกอบภาพสีอื่นๆ (รูปที่ 4 (ง)) แสดงผลลัพธ์ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 ผลลัพธ์การทำ Normalization และการแปลงเป็นภาพขาวดำ

2.2.2 การตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง (Cells Image Segmentation)

การตัดแยกภาพเซลล์ไซมาติกออกจากพื้นหลัง ใช้วิธีการแปลงข้อมูลภาพระดับเทาที่ได้ผ่านการ Normalization แล้ว ซึ่งระดับค่าพิกเซลของภาพพื้นหลังจะมีค่าต่ำกว่าหรือเท่ากับ “0” แล้ว ถ้าระดับพิกเซลใดๆ มีค่ามากกว่า “0” ให้กำหนดค่าใหม่เป็น “1” นิยามได้ดังสมการที่ (3) เมื่อทำการแปลงภาพจะได้ภาพผลลัพธ์ดังรูปที่ 4 (ข) และ (จ)

$$I_{bw}(i, j) = \begin{cases} 1, I(i, j) > 0 \\ 0, I(i, j) \leq 0 \end{cases} \quad (3)$$

โดยที่ I_{bw} คือ ภาพขาวดำ

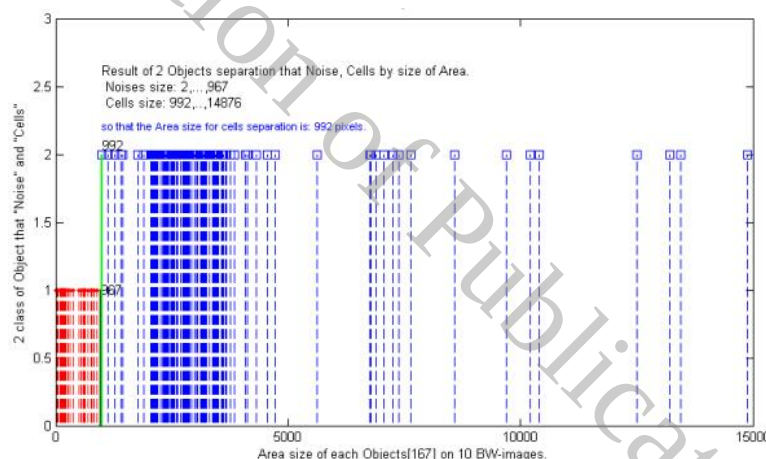
I_{ij} คือ ค่าระดับพิกเซลของภาพ Normalization ลำดับที่ ij

ภาพที่ได้จากการแปลงองค์ประกอบภาพสี RG เป็นภาพขาวดำนั้น (ดังรูปที่ 4 (ข)) ไม่มีความสมบูรณ์ ยังไม่สามารถนำไปใช้ประมวลผลภาพในลำดับต่อไปได้ ต้องผ่านกระบวนการปรับปรุงภาพให้มีความสมบูรณ์ก่อนด้วยวิธีการ Morphological ด้วยการเติมเต็มกลุ่มพิกเซลของภาพวัตถุเซลล์ (Fill hole) [8] โดยนำภาพขาวดำมาผ่านกระบวนการปิด (Closing) ด้วย Mask (Disk Structuring element) ขนาด 12×12 พิกเซล จะมีผลทำให้พิกเซลสีดำที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดของ Mask ซึ่งอยู่ในพื้นที่กลุ่มพิกเซลสีขาวถูกกำจัดออกไป

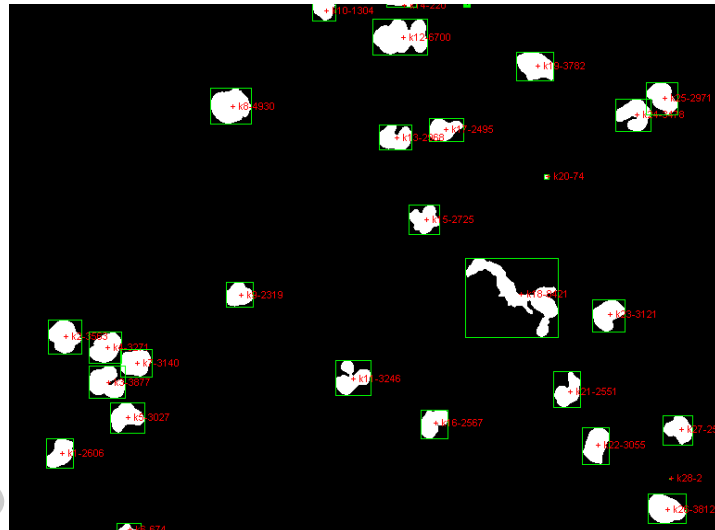
2.2.3 การคัดแยกภาพเซลล์และการกำจัดสิ่งรบกวน (Cells Separation and Noises Removal)

ภาพที่ผ่านขั้นตอนการคัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลัง จะมีภาพวัตถุที่ไม่ใช่ภาพเซลล์โซมาติกหรือสิ่งรบกวนในภาพ ต้องทำการคัดแยกเอาเฉพาะภาพเซลล์โซมาติก และกำจัดภาพที่ไม่ใช่เซลล์หรือสิ่งรบกวนออกไป โดยการนำภาพผลลัพธ์มาทำการสกัดคุณลักษณะเด่น (Feature extraction) และทำการจัดกลุ่มภาพวัตถุออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) กลุ่มภาพเซลล์โซมาติก และ (2) กลุ่มภาพที่ไม่ใช่เซลล์หรือสิ่งรบกวน โดยใช้ภาพวัตถุเพื่อการทดลองจำนวน 334 ภาพ ผลการจัดกลุ่มภาพวัตถุ แสดงดังภาพที่ 5

จากรูปที่ 4 สรุปได้ว่า คุณลักษณะเด่นของภาพที่ไม่ใช่เซลล์ มีขนาดตั้งแต่ 8 – 967 พิกเซล (ระบุด้วยเส้นสีแดง) ส่วนคุณลักษณะเด่นของภาพเซลล์โซมาติก มีขนาดตั้งแต่ 992 – 14,876 พิกเซล (ระบุด้วยเส้นสีน้ำเงิน) ดังนั้น ในการจัดกลุ่มเซลล์สามารถใช้วิธีการคัดแยกภาพเซลล์ออกจากกลุ่มภาพที่ไม่ใช่เซลล์โดยขนาดของวัตถุได้ (Cells separation by size) [9] ทดลองได้กำหนดคุณลักษณะเด่นของภาพวัตถุที่เป็นเซลล์เพื่อใช้ในการคัดแยกภาพเซลล์โดยขนาด ซึ่งขนาดของเซลล์นั้น มีขนาดตั้งแต่ 992 พิกเซลขึ้นไป ส่วนขนาดภาพสิ่งรบกวนมีขนาดที่เล็กกว่า จึงสามารถกำจัดสิ่งรบกวนได้ โดยการลบภาพที่มีขนาดต่ำกว่า 992 พิกเซล ผลลัพธ์การสกัดคุณลักษณะเด่นของภาพวัตถุเพื่อใช้ในการจัดกลุ่มภาพเซลล์ แสดงดังภาพที่ 6



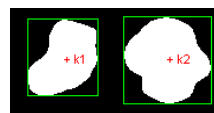
รูปที่ 5 ค่าคุณลักษณะเด่นของกลุ่มภาพเซลล์โซมาติกและกลุ่มภาพที่ไม่ใช่เซลล์หรือสิ่งรบกวน



รูปที่ 6 ค่าคุณลักษณะเด่นของกลุ่มภาพเซลล์โซมาติกและกลุ่มภาพที่ไม่ใช่เซลล์หรือสิ่งรบกวน

2.2.4 การจำแนกกลุ่มเซลล์โซมาติก (Cells Classification)

การจำแนกกลุ่มเซลล์โซมาติก จุดประสงค์เพื่อต้องการดึงภาพกลุ่มเซลล์ที่ติดกันหรือภาพเซลล์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันเป็นกลุ่มก้อน แล้วนำมาประมวลผลเพื่อแยกเซลล์ออกจากกัน จากนั้น จึงจะทำการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด การจำแนกกลุ่มเซลล์นี้จะจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเซลล์เดี่ยว และกลุ่มเซลล์ที่ติดกัน ลักษณะภาพขาวดำทั้ง 2 กลุ่ม แสดงดังภาพที่ 7



(ก) ภาพเซลล์เดี่ยว



(ข) ภาพเซลล์ลักษณะติดกันหรือใกล้เคียงกัน

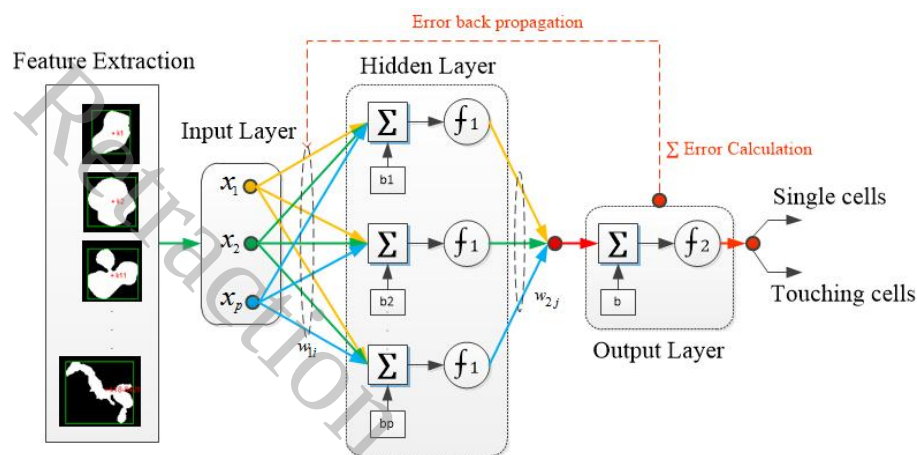
รูปที่ 7 ภาพเซลล์โซมาติกที่จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม

เนื่องจากภาพเซลล์โซมาติกมีรูปร่างที่หลากหลาย และมีขนาดที่ไม่แน่นอน วิธีการจำแนกกลุ่มเซลล์โซมาติกจึงได้นำโครงข่ายประสาทเทียมแบบป้อนไปข้างหน้าโดยใช้การเรียนรู้แบบแพร่ค่าย้อนกลับ (Feed-Forward Back-Propagation Neural Network: ANNBP) [10] ในการจำแนกกลุ่มเซลล์ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยนำค่าคุณลักษณะเด่นของภาพเซลล์ (Feature Vector: FV) มาใช้ในการฝึกสอนโครงข่ายประสาทเทียมให้มีการเรียนรู้เพื่อจดจำรูปแบบเซลล์ (Cells Recognition) และทำการจำแนกกลุ่มเซลล์ (Cells Classification) ต่อจากนั้นทำการดึงเอาเฉพาะกลุ่มภาพเซลล์ติดกันไปตัดแยกเซลล์ออกจากกันต่อไป (Touching cell Image Segmentation)

(1) การเรียนรู้แบบแพร่ค่าย้อนกลับ เป็นคุณสมบัติสำคัญของโครงข่ายประสาทเทียม ทำการเรียนรู้จากตัวอย่างโดยพยายามคำนวณหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลเข้า (Input) และผลลัพธ์ (Output) การเรียนรู้นี้จะเริ่มจากการสุ่มค่าน้ำหนัก (Weight) และค่าเบี่ยงเบนเริ่มต้น (Bias) ค่าผลลัพธ์ที่ได้จากค่าเริ่มต้น จะถูกนำมา

เปรียบเทียบกับผลลัพธ์จริง ค่าที่แตกต่างจะถูกนำมาปรับค่าน้ำหนัก และค่าเบี่ยงเบนโดยวิธี Trial and Error จนได้ผลลัพธ์ที่ใกล้เคียงหรือตรงกับผลลัพธ์จริง ค่าน้ำหนักและค่าเบี่ยงเบนสุดท้ายจะถูกนำมาใช้ในการประมวลผล คือ จำแนกกลุ่มเซลล์ [10, 11]

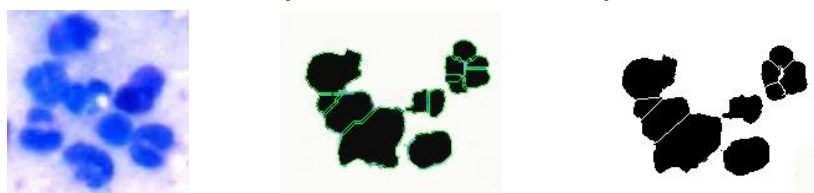
(2) การสร้างตัวเรียนรู้แบบแพร่ค่าย้อนกลับ ชุดข้อมูลที่ใช้ในการฝึกสอนจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ 1) ค่าคุณลักษณะเด่นของภาพเซลล์ทั้ง 2 กลุ่ม จำนวน 334 ภาพ ซึ่งได้จากการวัดและคำนวณคุณลักษณะเด่นของภาพเซลล์ และ 2) ผลลัพธ์กลุ่มเซลล์ 2 กลุ่ม ซึ่งโปรแกรมระบบหลัก ได้ออกแบบและพัฒนาด้วยโปรแกรม MATLAB r2015b ทั้งในส่วนของการติดต่อกับผู้ใช้งาน (GUI) และระบบการเรียนรู้และจำจากกลุ่มเซลล์ แสดงผังงานดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 ผังงานระบบการเรียนรู้และจำ (ANNBP) คุณลักษณะเด่นของกลุ่มเซลล์ 2 กลุ่ม

2.2.5 การตัดแยกภาพเซลล์โซมาติกที่ติดกัน (Touching cells Image Segmentation)

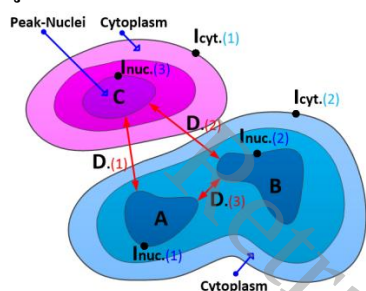
เซลล์โซมาติกที่ติดกันหรือใกล้ชิดกัน (Touching cells) อาจเกิดจากสาเหตุที่ไม่สามารถควบคุมหรือทำการจัดเรียงเซลล์น้ำนมที่ผ่านการสเมียร์น้ำนมแล้ว (Cell smear) ให้มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอบนพื้นที่ของแผ่นสไลด์ขนาด 1 cm^2 จึงทำให้เกิดกลุ่มเซลล์ที่ติดกัน แสดงดังรูปที่ 9(ก) มีผู้พัฒนาอัลกอริทึมเพื่อตัดแยกเซลล์ที่ติดกันด้วย Watershed algorithm [12] ซึ่งผลที่ได้จะทำให้เกิดการแบ่งส่วนภาพของกลุ่มนิวเคลียสมากไป (แสดงดังรูปที่ 9(ข)) จากความเป็นจริง (Over-segmentation) จึงได้แก้ปัญหาด้วยการใช้วิธีการ Improved Watershed Algorithm ให้สามารถแบ่งส่วนภาพที่ถูกต้องมากขึ้น โดยใช้ขั้นตอนวิธี Merger of seed points ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะเป็นการแบ่งส่วนของนิวเคลียสออกจากกันได้ถูกต้องมากขึ้น [13] แสดงดังรูปที่ 9(ค)



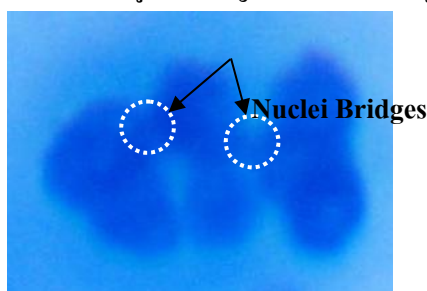
(ก) Touching cells (ข) Over-segmentation (ค) Merger of seed points

รูปที่ 9 เปรียบเทียบผลการตัดแยกเซลล์ติดกันด้วย Watershed algorithm [13]

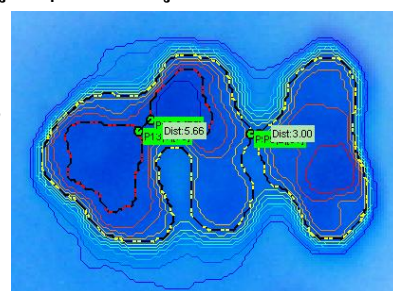
ขั้นตอนนี้ ได้นำโครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่ค่าย้อนกลับ (ANNBP) มาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยในการตัดสินใจการรวมหรือแยกเซลล์ให้มีความถูกต้องแม่นยำตรงกับความเห็นของผู้เชี่ยวชาญ ชุดข้อมูลที่ใช้ในการฝึกสอนจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ 1) ค่าคุณลักษณะเด่นของภาพเซลล์ที่ติดกัน (ดังรูปที่ 10(ก)) ได้แก่ ระดับพิกเซลของนิวเคลียส ระดับพิกเซลของไซโตพลาสซึม และระยะทางระหว่างไซโตพลาสซึมและหรือนิวเคลียส ค่าคุณลักษณะเด่นเหล่านี้ คำนวณได้จากวิธีการโตของบริเวณโดยการรวมกลุ่มพิกเซล (Region growing) [14] แสดงดังรูปที่ 10(ค) และ 2) ผลลัพธ์การรวม-แยกเซลล์ที่ผู้เชี่ยวชาญหรือแพทย์เป็นผู้ระบุ แสดงดังรูปที่ 10(ข)



(ก) การวัดและคำนวณ FV



(ข) การรวม-แยกเซลล์โดยแพทย์



(ค) ผลการวัดและคำนวณ FV

รูปที่ 10 การคำนวณและวัดค่าคุณลักษณะเด่นเซลล์ที่ติดกันเพื่อการตัดแยกเซลล์โดยใช้ ANNBP

(1) การออกแบบโครงข่ายประสาทเทียมแบบค่าแพร่ย้อนกลับ (ANNBP) เพื่อช่วยในการตัดสินใจการรวมหรือแยกเซลล์ที่ติดกัน โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบหลายชั้น (Multi-Layer Perceptrons: MPL) ประกอบด้วย Input Layer, Hidden Layer และ Output Layer ซึ่งชั้นของโครงข่ายเพียงเท่านี้สามารถฝึกสอนให้เรียนรู้การรวมแยกเซลล์ที่ติดกันได้ โดยแบ่งข้อมูลออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ 1) Training set จำนวน 334 ระเบียบ และ 2) Test set จำนวน 280 ระเบียบ โดยกำหนดพารามิเตอร์ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์ของโครงข่ายประสาทเทียม (ANNBP) เพื่อเรียนรู้การรวมแยกเซลล์ติดกัน

Parameter	ค่าที่กำหนด
Transfer Functions	LogSig, TranSig
Training Algorithm	Back-Propagation
Training Function	Levenberg-Marquardt, Scale conjugate gradient
Epochs	1,000
Learning rate	0.0001
Hidden nodes	5 – 80 nodes

2.2.6 การนับและการวัดประสิทธิภาพของอัลกอริทึม

การนับจำนวนเซลล์โซมาติกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ การนับกลุ่มเซลล์เดียวโดยจะนับจำนวนกลุ่มพิกเซลที่ Label แล้ว ซึ่งได้จากหัวข้อที่ 2.2.4 และการนับเซลล์ในกลุ่มเซลล์ติดกันได้จากการพิจารณารวม-แยกเซลล์แล้วในหัวข้อที่ 2.2.5 ส่วนการวัดประสิทธิภาพของอัลกอริทึมนี้ ใช้วิธีการวัดค่าความแม่นยำ (Precision) และค่าความระลึก (Recall) [15] ถ้าอัลกอริทึมมีประสิทธิภาพดีจะมีค่าเข้าใกล้ หรือเท่ากับ 1 ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ (4), (5) ตามลำดับ ดังนี้

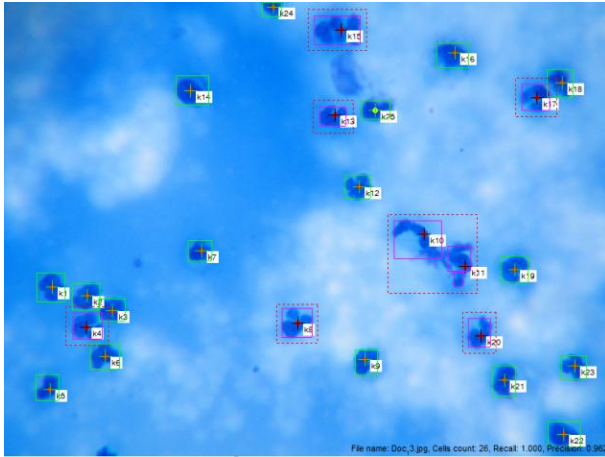
$$Precision(Prec.) = \frac{Tp}{Tp+Fp} \quad (4)$$

$$Recall(Re.) = \frac{Tp}{Tp+Fn} \quad (5)$$

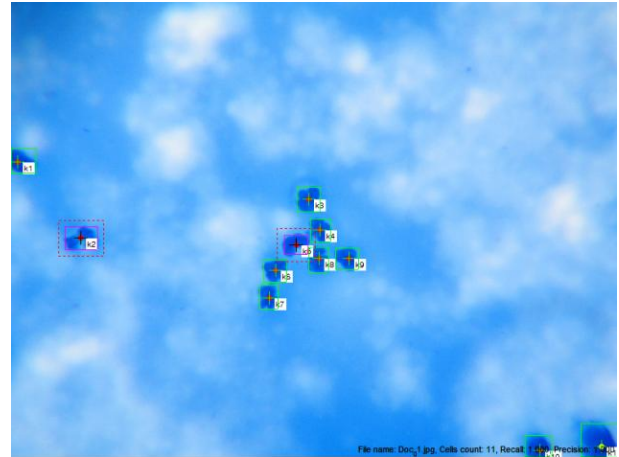
โดยที่ Precision (Prec.) คือ ค่าความแม่นยำ หมายถึงประสิทธิภาพในการตัดแยกและนับเซลล์โซมาติกระบุได้ถูกต้องตามความเป็นจริง, Recall (Re.) คือ ค่าความระลึก หมายถึง ประสิทธิภาพในการตัดแยกและนับเซลล์โซมาติกได้ตรงกับผู้เชี่ยวชาญว่าเป็นเซลล์โซมาติก, Tp. (True Positive) คือ จำนวนเซลล์โซมาติกที่อัลกอริทึมตัดแยกและนับได้และผู้เชี่ยวชาญระบุว่าเป็นเซลล์โซมาติก, Fn. (False Negative) คือ จำนวนเซลล์โซมาติกที่อัลกอริทึมไม่สามารถตัดแยกและนับได้แต่ผู้เชี่ยวชาญระบุว่าเป็นเซลล์โซมาติก, Fp. (False Positive) คือ จำนวนเซลล์โซมาติกที่อัลกอริทึมตัดแยกและนับได้ แต่ผู้เชี่ยวชาญไม่ระบุว่าเป็นเซลล์โซมาติก

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้ เป็นการออกแบบ/พัฒนา/ปรับปรุงขั้นตอนวิธีเพื่อการประมวลผลภาพเซลล์โซมาติกที่ย้อมด้วยเทคนิคสีเมทิลีนบลู ทำการทดลองกับภาพตัวอย่างจำนวน 20 ภาพ สามารถตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังตัดแยกภาพเซลล์ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม ต่อจากนั้นทำการจำแนกกลุ่มเซลล์ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่ค่าย้อนกลับ ได้แก่ กลุ่มเซลล์เดี่ยวระบุด้วย Bounding Box “สีเขียว” และกลุ่มเซลล์ติดกันระบุการตัดแยกแล้วด้วย Bounding Box “สีแดง” ส่วนของการตัดแยกเซลล์ติดกัน ทำได้โดยนำภาพกลุ่มเซลล์ติดกันไปทำการแยก-รวมเซลล์โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่ค่าย้อนกลับเป็นเครื่องมือในการพิจารณาตัดแยก แล้วจึงทำการนับจำนวนเซลล์ทั้งหมดนำมาเทียบกับการวิเคราะห์และนับจำนวนเซลล์ โดยผู้เชี่ยวชาญเป็นผู้ระบุด้วย “จุดสีแดง” (Exp.) แสดงตัวอย่างผลลัพธ์ดังภาพที่ 10 ส่วนการวัดประสิทธิภาพของอัลกอริทึมด้วยค่า Recall และ Precision แสดงดังตารางที่ 3



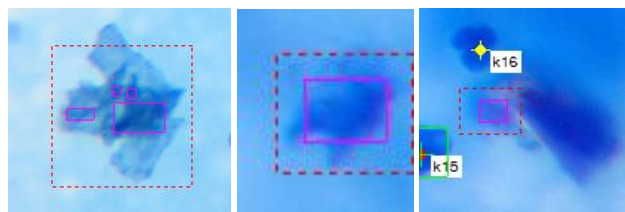
(ก) ผลการตัดแยกและนับภาพหมายเลข 1



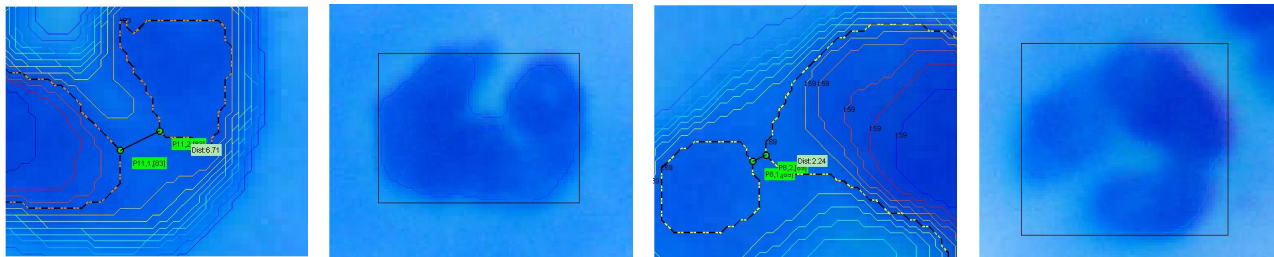
(ข) ผลการตัดแยกและนับภาพหมายเลข 13

รูปที่ 11 ผลลัพธ์การตัดแยกและนับเซลล์โซมาติกเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ

จากตารางที่ 3 พิจารณาข้อมูลพบว่า วิธีการประมวลผลภาพเซลล์โซมาติกด้วยขั้นตอนวิธีที่นำเสนอ เริ่มต้นด้วยขั้นตอนที่ (1) การเตรียมภาพ และ (2) การสกัดภาพเซลล์โซมาติกออกจากพื้นหลัง สามารถสกัดภาพวัตถุออกจากพื้นหลังได้ถูกต้องและเหมาะสม พิจารณาได้จากค่า False Negative: Fn. ภาพเซลล์โซมาติกที่อัลกอริทึมไม่สามารถตัดแยกได้ ซึ่งผู้เชี่ยวชาญระบุว่าเป็นเซลล์โซมาติก และ False Positive: Fp. ภาพเซลล์โซมาติกที่อัลกอริทึมตัดแยกได้ ซึ่งผู้เชี่ยวชาญไม่ระบุว่าเป็นเซลล์โซมาติก มีค่าผิดพลาดต่ำโดยเฉลี่ย 0.75 และ 1 ตามลำดับ ในขั้นตอนที่ (3) การจัดกลุ่มเซลล์ ได้ใช้โครงข่ายประสาทเทียมทำการจำแนกกลุ่มเซลล์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเซลล์เดี่ยว และกลุ่มเซลล์ติดกัน แล้วดึงภาพ Bounding Box กลุ่มเซลล์ติดกันเพื่อทำการตัดแยกได้ถูกต้องต่อไปในขั้นตอนที่ (4) การตัดแยกเซลล์ติดกัน ใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่ค่าย้อนกลับเป็นเครื่องมือในการพิจารณาว่าให้แยก-รวมเซลล์ พบว่า อัลกอริทึมมีความสามารถในการตัดแยกภาพและนับเซลล์โซมาติกได้ใกล้เคียงกันกับผู้เชี่ยวชาญ พิจารณาได้จากค่า Recall และ Precision โดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.955 และ 0.924 ตามลำดับ บางภาพมีค่า Recall และ Precision ต่ำลงมากที่สุดเท่ากับ 0.33 (ภาพทดสอบหมายเลข 12) คือ มีค่า False Positive เท่ากับ 6 สาเหตุเกิดจากการนำภาพที่ไม่ใช่เซลล์ไปประมวลผลในขั้นตอนการที่ (4) การตัดแยกเซลล์ติดกัน (แสดงภาพวัตถุดังรูปที่ 12) ผลการรวม-แยกเซลล์โดยใช้อัลกอริทึม แสดงดังรูปที่ 13



รูปที่ 12 วัตถุที่ไม่ใช่เซลล์ซึ่งมีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกับเซลล์โซมาติก



รูปที่ 13 ผลการรวม-แยกเซลล์ติดกันโดยใช้อัลกอริทึมโครงข่ายประสาทเทียม (ANNBP)

ในส่วนของการฝึกสอนโครงข่ายประสาทเทียมนั้น ได้ทดลองกำหนดค่าพารามิเตอร์ตามตารางที่ 2 ส่วนการเลือกฟังก์ชันการถ่ายโอน (Transfer Function) ในชั้น Input Layer และ Hidden Layer ได้กำหนดเป็น Logarithmic Sigmoid Function: LSF (LogSig) และ Tangent Sigmoid Function: TSF (TanSig) จากการทดลองพบว่า การเลือก Transfer Function แบบ TanSig ให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าแบบ LogSig ส่วนฟังก์ชันสำหรับการฝึกสอน (Training Function) พบว่า Levenberg-Marquardt: LM สามารถฝึกสอนระบบได้ดีกว่าแบบ Scale Conjugate Gradient: SCG เนื่องจาก LM Algorithm ใช้เวลาในการปรับค่าน้ำหนักกับข้อมูล Training set ได้รวดเร็วและดีกว่า SCG Algorithm

4. ឥរុប

บทความนี้ได้นำเสนอขั้นตอนวิธีการในการตัดแยกและนับเซลล์โชมาคิกในน้ำนมโค ด้วยขั้นตอนวิธีการประมวลผลภาพดิจิทัล ซึ่งขั้นตอนวิธีที่นำเสนอสามารถสกัดภาพวัตถุออกจากพื้นหลังโดยเตรียมภาพด้วยการเลือกองค์ประกอบภาพของปริภูมิสี RGB ที่เหมาะสมด้วยการคำนวณค่าความเปรียบต่าง (Contrast Measurement) พบว่า องค์ประกอบ RG มีค่าความเปรียบต่างสูงที่สุด แล้วนำภาพที่ได้ไปประมวลผลด้วย Gray scale Image Normalization เพื่อให้การตัดแยกภาพเซลล์ออกจากพื้นหลังด้วยการ Thresholding ได้ภาพเซลล์ที่ถูกต้องที่สุด และทำการปรับปรุงภาพด้วย Morphological ต่อจากนั้นจำแนกภาพเซลล์ออกเป็นกลุ่มเซลล์เดี่ยวและเซลล์ติดกัน แล้วดึงภาพกลุ่มเซลล์ติดกันไปประมวลผลเพื่อสกัดคุณลักษณะเด่นของเซลล์เพื่อพิจารณาการรวม-แยกเซลล์ในกลุ่มเซลล์ติดกัน โดยใช้โครงข่ายประสาทเทียมแบบแพร่ค่าย้อนกลับ ซึ่งการจัดกลุ่มเซลล์ และการรวม-แยกเซลล์ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องและแม่นยำ แล้วนำการนับจำนวนเซลล์ในภาพและเปรียบเทียบกับผลการนับโดยใช้อัลกอริทึมกับผู้เชี่ยวชาญ ประสิทธิภาพของอัลกอริทึม มีค่า Recall=0.95, Precision=0.92 ซึ่งสามารถคัดแยกและนับจำนวนได้ใกล้เคียงกับผู้เชี่ยวชาญ ใช้เวลาในการประมวลผลเฉลี่ย 2.3 วินาทีต่อภาพ ระยะเวลาที่ใช้ในการประมวลผลขึ้นอยู่กับจำนวนของกลุ่มเซลล์ติดกันมีจำนวนมากน้อยเพียงใดในแต่ละภาพ

ตารางที่ 3 ผลลัพธ์การวัดค่าประสิทธิภาพของอัลกอริทึม

ภาพที่	Tp (Exp.)	Fn.	Fp.	Recall	Precision	Time (sec.)
01	25(25)	0	1	1	0.961	2.043
02	26(27)	1	1	0.962	0.962	2.576
03	12(13)	1	1	0.923	0.923	2.064
04	14(16)	2	0	0.875	1	2.582
05	21(22)	1	3	0.954	0.875	2.439
06	5(5)	0	0	1	1	2.106
07	2(2)	0	0	1	1	2.35
08	14(14)	0	0	1	1	2.302
09	10(10)	0	2	1	0.833	2.113
10	15(16)	1	3	0.937	0.833	2.004
11	15(15)	0	0	1	1	2.418
12	3(3)	0	6	1	0.333	2.669
13	11(11)	0	0	1	1	2.043
14	18(21)	3	0	0.857	1	2.410
15	10(12)	2	2	0.833	0.833	2.765
16	16(18)	2	0	0.888	1	2.259
17	7(7)	0	0	1	1	2.104
18	8(8)	0	0	1	1	2.086
19	15(17)	2	1	0.882	0.937	2.290
20	18(18)	0	0	1	1	2.512
รวม	265(280)	15	20	19.111	18.49	46.135
Average				0.955	0.924	2.306

อีกอย่างหนึ่ง ประสิทธิภาพของอัลกอริทึมมีค่าต่ำในบางภาพ เนื่องจากมีวัตถุที่ไม่ภาพเซลล์ ซึ่งมีรูปร่าง สี ลวดลาย และขนาดที่ใกล้เคียงกับภาพเซลล์ สำหรับการพัฒนาอัลกอริทึมเพื่อให้มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น ควรเลือกหาวิธีการที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการคัดแยกและจำแนกเซลล์โซมาติก ก่อนนำไปประมวลผล ในขั้นตอนต่อไป เช่น Deep Learning, Neural Networks, SVM เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] นฤมล อินทระสังขา, มงคล ประทุมมณี, สุชาติ สุขสถิตย์ และไชยวรรณ วัฒนจันทร์, “การเปรียบเทียบวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคเต้านมอักเสบของโคนม,” วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ, ปีที่ 12, ฉบับที่ 1, 2552, หน้า 14–25.
- [2] โ ช ม า ติ ก เซ ล ลี (Somatic cells) [Online], Available: http://vet.kku.ac.th/aran/data/clinic4_2554/02-SCC%202552.pdf [22 ธันวาคม 2560].
- [3] การนับเซลล์โซมาติกในน้ำนมโคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ [Online], Available: http://vet.kku.ac.th/aran/data/clinic4_2554/03_DMsc2554.pdf [22 ธันวาคม 2560].
- [4] G.J. Grillo, J.C. Anton, F. Ferrero and M.A. Perez, “Low-cost video-microscopy system for evaluation of fresh cow milk somatic cell concentration,” Proceedings of the 18th IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference, Budapest, Hungary, 2001, pp. 906-909.
- [5] Heru Xue, Hai Li, Yuedong Wang and Ting Zhao, “The Segmentation of the Color Milk Somatic Cells Images,” Proceedings of the 2009 2nd International Congress on Image and Signal Processing, Tianjin, China, 2009, pp.1–4.
- [6] Yuedong Wang and Heru Xue, “The color image processing technology of the milk somatic cells,” Proceedings of the 2010 2nd International Conference on Computer Engineering and Technology, Chengdu, China, Vol.4, 2010, pp.280–283.
- [7] Rafael C. Gonzalez and Richard E. Woods, Digital Image Processing, 3rd edition, Pearson Prentice Hall, United States of America, 2008, pp. 75-76.
- [8] S. Jayaraman, S. Esakkirajan and T. Veerakumar, Digital Image Processing, New Delhi: Tata, McGraw Hill, 2009.
- [9] Geoff Dougherty, Pattern Recognition and Classification, London: Springer, 2013.
- [10] Holger R. Maiera and Graeme C. Dandya, “Understanding the behavior and optimizing the performance of back-propagation neural network: an empirical study,” Environmental Modeling & Software, Vol.13, Issue 2, 1998, pp. 179 – 191.
- [11] S. N. Sivanandam, S. Sumathi and S. N. Deepa, Introduction to Neural Networks Using Matlab 6.0, Tata McGraw-Hill Education, 2006.
- [12] Direct Microscopic Somatic Cell Count Guideline, Department of Food Science [Online], Available: <https://www.wifss.ucdavis.edu/wp-content/uploads/2016/09/RulesforIdentifyingCellCount.pdf> [December 5, 2015].

- [13] Su Na and Xue Heru, "The Segmentation of Overlapping Milk Somatic Cells Based on Improved Watershed Algorithm," 2009 International Conference on Artificial Intelligence and Computational Intelligence, Shanghai, China, 2009, pp. 563–566.
- [14] สุวิทย์ เมาะราณี และนัตรชัย ศุภพิทักษ์สกุล, "การตัดแยกและนับเซลล์ไขมันในนมโคด้วยวิธีการโทของบริเวณ โดยการรวมกลุ่มพิกเซล," การประชุมวิชาการทางวิศวกรรมไฟฟ้า ครั้งที่ 38 (EECON38), พระนครศรีอยุธยา, 2558, หน้า 741–744.
- [15] Practical Image and Video Processing Using MATLAB [Online], <https://pdfs.semanticscholar.org/presentation/772b/b4a1673c3908cccd70e477c8254669bb8a34.pdf> [December 15, 2015].

Retraction of Publication