

一种高通量 dPCR 荧光图像自适应增强算法

唐艳, 孙刘杰, 王文举
(上海理工大学, 上海 200093)

摘要: **目的** 为了改善荧光图像背景光照不均匀和对比度低的问题, 提出一种荧光图像自适应亮度校正和低对比度增强算法。**方法** 根据光照成像原理, 利用引导滤波提取出荧光图像的光照分量, 通过改进的二维 Gamma 函数动态校正背景光照, 利用 Top-hat 变换分离出校正后的前景和背景, 对前景进行自适应直方图均衡化, 以实现荧光图像自适应增强的目的。**结果** 对比传统算法, 文中算法处理后的图像背景光照均匀, 对比度增强效果明显, 其中标准差平均提高了 9.4 倍, 平均梯度平均提高了 1.2 倍, 信息熵平均提高了 0.2 倍。**结论** 文中算法可以改善高通量 dPCR 荧光图像背景光照不均匀性, 提高图像对比度, 突出图像中隐藏的细节, 对其他荧光图像处理也具有参考价值。

关键词: dPCR; 荧光图像; 亮度校正; 对比度增强

中图分类号: TS751 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2019)11-0218-07

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.11.033

An Adaptive Enhancement Algorithm for High-throughput dPCR Fluorescence Image

TANG Yan, SUN Liu-jie, WANG Wen-ju

(University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

ABSTRACT: The paper aims to propose an adaptive brightness correction and low contrast enhancement algorithm for fluorescence images to improve the background illumination unevenness and low contrast of fluorescent images. According to the principle of illumination imaging, the illumination component of the fluorescence image was extracted by guided filtering. The background illumination was dynamically corrected by the improved two-dimensional Gamma function. The corrected foreground and background were separated by Top-hat transformation. And the adaptive histogram equalization was performed on the foreground, to have adaptive enhancement of fluorescent images. Compared with the traditional algorithm, the background illumination of the image processed by the algorithm was uniform and the contrast enhancement effect was obvious. The standard deviation was improved by 9.4 times; the average gradient was increased by 1.2 times; and the information entropy was increased by 0.2 times. The algorithm can improve the background illumination unevenness of high-throughput dPCR fluorescence image, improve the image contrast, highlight hidden details in the image, and has reference value for processing of other fluorescence images.

KEY WORDS: digital PCR; fluorescent image; brightness correction; contrast enhancement

数字 PCR (digital PCR)^[1] 是 1999 年提出的一种 核酸绝对定量检测技术, 是继实时 PCR 后的新型基

收稿日期: 2019-01-12

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划 (18060502500)

作者简介: 唐艳 (1997—), 女, 上海理工大学硕士生, 主攻数字图文信息处理。

通信作者: 王文举 (1979—), 男, 博士, 上海理工大学讲师, 主要研究方向为多媒体与虚拟仿真技术、计算机图形图像处理分析技术。

因芯片。dPCR 基因芯片以高效率、高精度、高准确度及自动化等优点，成为产前诊断^[2]与肿瘤早期诊断^[3]的重要手段之一，广泛应用于生物医学研究与转基因食品检测中^[4]。高通量数字 PCR 基因芯片分析是目前的研究热点，但是荧光图像分析系统目前还有很多问题未得到解决。

数字 PCR 技术的关键在于对基因芯片上荧光图像进行采集与分析，为了对荧光图像进行准确医学判断，随着数字 PCR 技术的发展，荧光图像分析方法也在日益更新。目前荧光图像分析方法过程主要包括：荧光图像预处理、荧光图像倾斜校正、荧光图像定位、荧光图像分割、荧光图像亮点计数及后续的数据分析与存储等^[5]。其中荧光图像网格定位算法^[6]、分割算法^[7]是关键，图像预处理主要集中在图像去噪，比如基于字典学习的方法来滤除荧光显微镜图像中的噪声^[8]。

高通量 dPCR 基因芯片通过无限远荧光显微成像光路，LED 作为激发光源，可以一次性获得较大面积基因芯片，通过逐步多次拍摄荧光图像，最后通过图像拼接获得完整荧光图像。在成像过程中，荧光图像会受到噪声和光源的影响，目前光学系统设计的激发光源无法完全均匀照射在基因芯片上，导致获得的荧光图片背景亮度明显不均匀，这对后续图像拼接和定位分割都会产生影响。目前荧光图像对比度增强方法有：通过一种新的多尺度顶帽变换增强红外图像的对比度^[9]；结合数学形态学方法，滤除荧光图像的噪声，校正荧光图像的背景变化^[10]；基于四阶矩算法对基因点进行自适应对比度增强^[11]；通过灰度变换、直方图均衡化方法，实现荧光图像对比度增强^[12]等。现有的图像增强技术，在没有对荧光图像背景亮度均匀化的基础上，直接进行对比度增强，容易丢失图像中隐藏的细节，导致增强效果不自然；受背景亮度不均匀的影响，在处理荧光阳性点和阴性点的时候容易导致误判。

针对上述问题，文中提出一种高通量 dPCR 荧光图像自适应增强算法，并与现有图像增强方法进行比较，以解决荧光图像亮度不均和低对比度问题。

1 相关理论与关键算法

1.1 光照分量的提取

1.1.1 荧光图像成像原理

在荧光图像光学成像系统中，采用窄带 LED 作为激发光源，不同荧光的激发光对应于不同波段的荧光物质。激发光进入荧光显微镜物镜后，照射在基因芯片上，微反应腔室的荧光染料经激发光照射后产生荧光，最后通过 CCD 相机拍摄，得到最后的荧光图像。荧光图像用二维函数 $F(x,y)$ 来表示，照射到基因芯片上的光照分量为 $I(x,y)$ ，经基因芯片反射后的反射分量为 $R(x,y)$ ，图像由它们的乘积来表示。反射分量取

决于成像物体表面固有特性，比如荧光染料等，表现高频分量部分；照射分量表现低频分量部分，决定了图像动态压缩范围。荧光图像成像表达式为：

$$F(x,y) = I(x,y) \cdot R(x,y) \quad (1)$$

理论上，如果激发光源均匀照射到基因芯片上，获得的荧光图像光照分量肯定也均匀分布。在实际光学成像系统中，还不能实现光源完全均匀照射到基因芯片上，导致获得的荧光图像质量不高，中心点光源曝光过度，边缘部分曝光不足，图像对比度也受到影响，图像出现一定程度的细节丢失和失真现象。并且，由于采集的荧光通道多达 2 万多个，光学系统无法做到一次性成像，需要经过多次拍摄以后拼接成完整的荧光图像。从后期荧光图像拼接和荧光图像分割计数考虑，必须改善荧光图像背景光照不均匀和对比度低的问题，才可以提高数据分析精度。荧光图像显微成像光路见图 1。

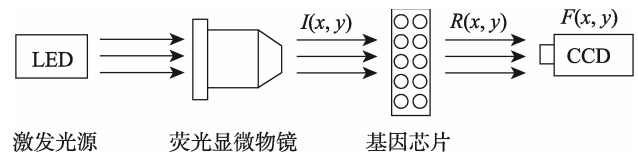


图 1 荧光显微成像光路

Fig.1 Light path of fluorescence microscopy imaging

1.1.2 引导滤波

为有效减小荧光图像背景光照不均匀程度，准确提取出图像光照分量非常关键。目前，一般用高斯滤波、双边滤波、Retinex 和引导滤波等提取图像光照分量。高斯滤波算法提取出的光照分量边缘容易出现模糊，一些重要细节可能被隐藏，边缘保持效果不好，对于低照度荧光图像不适用。双边滤波器在高斯滤波器基础上进行了改进，相比高斯滤波算法，双边滤波边缘保持特性好，迭代次数也少，但是算法运算复杂度高，实际应用不广泛。Retinex 理论来源于颜色恒常性理论，可以准确提取变化缓慢的光照分量，对于含有光照突变图像的光照分量，提取效果并不理想，Retinex 对于彩色图像处理效果明显，但对荧光图像这类灰度图像的处理效果并不理想。

引导滤波^[13]是一种图像滤波技术，通过引导图像和输入图像之间的线性关系，重新计算滤波窗口内的像素值，滤波输出图像是引导图像的一个局部线性变换。当利用原图像做引导图像时，引导滤波可以保持原图像的显著边缘，与双边滤波相比运算复杂度小、效果更好，因此采用引导滤波算法提取图像光照分量。

引导滤波公式为：

$$q_i = a_k I_i + b_k, \forall i \in \omega_k \quad (2)$$

式中： I 为输入图像值； q 为输出图像值； i 和 k 为像素索引； ω_k 为滤波窗口； k 为窗口中心像素，滤

波输入图像与输出图像存在一种线性变换关系； a 和 b 为取 k 时线性变换因子， ω_k 为常数。由式(2)可知，对于任意窗口内存在 $\Delta q = a_k \Delta I$ 的梯度关系，也就是说输出图像 q 和输入图像 I 的梯度保持一致，即引导滤波的边缘保持特性。

1.2 二维 Gamma 函数

在提取出图像光照分量以后，还需要对光照分量进行校正，目前较常用二维 Gamma 函数^[14]对亮度进行校正，其表达式为：

$$L_{\text{adj}}(x, y) = 255 \times \left(\frac{I(x, y)}{255} \right)^{\gamma}, \gamma = \alpha^{\frac{128 - L(x, y)}{128}} \quad (3)$$

式中： $I(x, y)$ 为输入图像亮度； $L_{\text{adj}}(x, y)$ 为输出图像； $L(x, y)$ 为提取出的光照分量值； γ 为伽马校正参数； α 为参数，取值范围为 0~1，一般人为设定提取出的图像光照分量平均亮度值为 128， α 的值为 0.5，从而调整图像的亮度校正幅度，但是对于一些整体偏亮或偏暗的图像调整效果不理想。

1.3 自适应直方图均衡化

直方图均衡化^[15] (Histogram Equalization, HE) 是一种经典图像增强算法，通过累积概率分布函数对图像进行处理，重新计算图像灰度值，使图像灰度直方图整体分布更均匀。当图像灰度直方图分布均匀时，信息熵较大，图像清晰度提高，对比度得到增强，图像轮廓会更加明显。直方图均衡化处理让灰度集中的像素均匀分布到整个灰度范围内，从而实现图像对比度增强。这种集中处理方法对于部分图像处理效果良好，但是对于细节丰富、质量要求高的图像不适用，在增强处理过程中对所有像素点都作同样处理，忽略了图像局部特征，放大了原图像噪声，局部区域细节丢失或下降，有明显块状效应，背景和目标轮廓模糊等。直方图均衡化公式为：

$$s_k = T(r_k) = \sum_{j=1}^k p_r(r_j) = \sum_{j=1}^k \frac{n_j}{n} \quad (4)$$

式中：输入图像的灰度值 r_k 为归一化到[0, 1]内离散变量； T 表示变换函数； $p_r(r_j)$ ， $j=1, 2, \dots, K$ ，表示直方图中各灰度值的概率； s_k 为输出图像灰度值。

自适应直方图均衡化^[16] (Adaptive Histogram Equalization, AHE) 是在直方图均衡化算法上的一种改进。自适应直方图均衡化算法针对图像的局部灰度特征进行不同方法处理，局部子图像直方图得到均衡化变换函数，从而计算出新的灰度值。自适应直方图均衡化算法不仅可以提高图像对比度，而且可以增强图像细节表现能力，增强效果符合人眼视觉特性，基本满足了荧光图像质量要求。自适应直方图均衡化公式为：

$$x'_{i,j} = T(x_{i,j} + k(x_{i,j} - m_{i,j})) \quad (5)$$

式中： $x_{i,j}$ ， $x'_{i,j}$ 分别为增强前后的灰度值；

$$m_{i,j} = \frac{1}{m \times n} \sum_{(i,j) \in w} x_{i,j} \text{ 为以 } x_{i,j} \text{ 为中心的窗邻域均值。}$$

T 为对 $x_{i,j}$ 的变换函数； k 为自适应参数。

2 算法实现过程

算法首先利用中值滤波器对图像去噪，中值滤波是大部分文献中常用的一种荧光图像去噪手段，然后通过引导滤波提取出图像光照分量，使用改进的二维 Gamma 函数对亮度分量进行自适应校正。校正以后的整体图像背景光照均匀，但是也不可以避免地影响了前景图像亮度值，导致对比度降低。如果对整体图像进行对比度增强，会导致整体图像变亮，图像出现一定程度失真，因此把前景与背景分开处理，光照已经均匀的背景不作处理，只对前景进行对比度增强处理。最后通过 Top-hat 变换分离前景和背景，对前景进行自适应直方图均衡化，实现降低荧光图像背景光照不均匀性和低对比度增强的目的。算法流程见图 2。

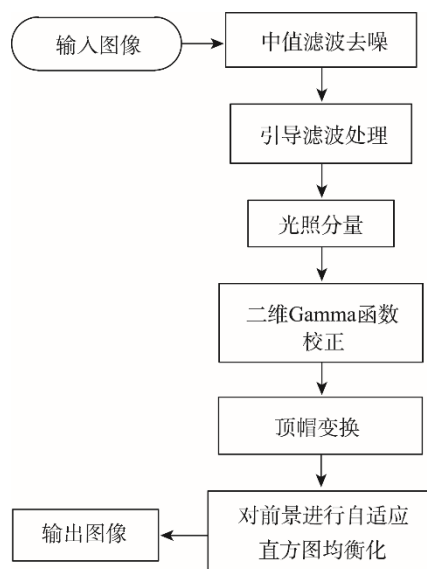


图 2 荧光图像自适应亮度校正与低对比度增强算法流程
Fig.2 Algorithm flow for adaptive brightness correction and low contrast enhancement of fluorescence images

2.1 中值滤波去噪

中值滤波算法是一种常用的非线性平滑滤波技术，基本原理是把数字图像中某一像素点灰度值用该点一个邻域窗口中所有点的中值来代替，以此消除典型噪声，得到较好视觉效果^[17]。二维中值滤波输出：

$$g(x, y) = \text{med}\{f(x-k, y-l), (k, l \in W)\} \quad (6)$$

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 3×3，5×5 区域。通过中值滤波去除了荧光图像中大部分噪声点，避免后续对

比度增强处理扩大噪声的可能性。

2.2 引导滤波提取光照分量

引导滤波关键是在窗口 ω_k 内寻找线性变换因子 (a_k, b_k) 的最优值, 也就是使输出图像 q 和期望拟合的输入图像 p 的差值越小越好。通过线性回归^[18]方法可以求解出系数 a_k 和 b_k 的最优值:

$$a_k = \frac{\frac{1}{|\omega|} \sum_{i \in \omega_k} I_i p_i - \mu_k \bar{p}_k}{\sigma_k^2 + \varepsilon} \quad (7)$$

$$b_k = \bar{p}_k - a_k \mu_k \quad (8)$$

式中: $|\omega|$ 为窗口 ω_k 内像素数目; μ_k 为窗口 ω_k 中引导图像 I 的平均值; σ_k 为引导图像 I 的方差; $\bar{p}_k$ 是窗口中待滤波图像 p 的均值。

在窗口 ω_k 中使用的代价函数表达式为:

$$E(a_k, b_k) = \sum_{i \in \omega_k} [(a_k I_i + b_k - p_i)^2 + \varepsilon a_k^2] \quad (9)$$

式中: ε 为控制 a 值范围的规则化因子。

由于不同窗口内像素可能会有重复, 因此求出其函数平均值:

$$q_i = \frac{1}{|\omega|} \sum_{i \in \omega_k} (a_k I_i + b_k) = \bar{a}_i I_i + \bar{b}_i \quad (10)$$

式中: $\bar{a}_i = \frac{1}{|\omega|} \sum_{k \in \omega_i} a_k$; $\bar{b}_i = \frac{1}{|\omega|} \sum_{k \in \omega_i} b_k$ 。引导滤波

算法可以使输入图像与输出图像边缘特征保持一致, 引导滤波运算比双边滤波算法复杂度低, 可以快速、准确地提取出图像中的光照分量, 有效获取引导图像的细节信息。通过引导滤波提取出的背景光照分量符合图像实际光照分量, 只有光照分量提取准确, 才能保证后续校正处理的准确性。

2.3 优化二维 Gamma 函数

因为传统二维 Gamma 函数无法自适应校正图像亮度值, 因此在此基础上对二维 Gamma 函数进行改进。当提取出的光照分量 $L(x,y)$ 比较小时, 图像灰度值需要提高, 当 $L(x,y)$ 比较大时, 图像灰度值偏大, 需要减弱。每副图像光照均值不一定相同, 以图像整体光照分量均值代替固定值 128, 光照系数 ε 为 0.5, 这样伽马校正参数 γ 就会随着不同荧光图像的光照分量进行调整, 从而自适应校正图像背景亮度值。优化后的光照校正函数表达式为:

$$L_{\text{adj}}(x, y) = 255 \times \left(\frac{L(x, y)}{255} \right)^\gamma \quad (11)$$

$$\gamma = \varepsilon^{\left(\frac{m - L(x, y)}{m} \right)} \quad (12)$$

理论上, 光照分量的取值范围为 0~255, 但是不同通道下拍摄的荧光图像灰度值不一样, 受激发光源和荧光染料影响, 荧光图像不同于普通彩色图像, 光照分量大部分情况下都偏暗。由式(12)可知, 当提取

的光照分量值偏小时, 光照系数偏小, 因此对灰度值的增强幅度较大; 当提取的光照分量偏大时, 光照系数偏大, 对灰度值的增强幅度少, 基本抑制了光照较亮区域的灰度值, 因此文中算法能够自适应调整光照不均匀荧光图像的背景亮度。

2.4 使用 Top-hat 变换进行前景和背景分离

灰度级图像 f 的 Top-hat 变换定义为原图像 f 减去其开操作, 表达式为:

$$T_{\text{hat}}(f) = f - (f \circ b) \quad (13)$$

形态学图像处理中的开操作定义为结构元 b 对图像 f 先进行腐蚀后进行膨胀, 表达式为:

$$f \circ b = (f \ominus b) \oplus b \quad (14)$$

其中, 结构元 b 根据不同图像设定大小, 在本实验中, 由于荧光图像主要处理对象是圆形荧光点, 且正常荧光点大约是 20×20 大小的像素, 因此设定结构元 b 为 20×20 大小的圆盘型。Top-hat 变换的结果是得到删除掉背景的前景图像, 从而达到前景与背景分离目的。

2.5 对前景进行自适应直方图均衡化

具体的实现过程如下: 计算前景图像所有灰度级, 统计图像各灰度级像素数; 计算图像直方图与累积分布直方图; 计算局部图像灰度值; 计算图像局部对比度, 实现灰度均衡化; 重新计算图像灰度分布直方图。

3 仿真实验及结果分析

为了验证本算法有效性, 基于实验室 CCD 相机拍摄 dPCR 基因芯片获取的荧光图像, 分别采用直方图均衡化、自适应直方图均衡化方法和本方法进行对比。对比实验在 MATLABr2016b 平台上实现。因为不同通道下拍摄的荧光图像效果不一样, 只选取实验中有代表性的 2 幅荧光图像进行验证, 分别为 ROX 通道拍摄的荧光图像和 HEX 通道拍摄的荧光图像, 图像尺寸为 1608×1608 。通过主观评价与客观评价相结合的方式, 对不同算法处理效果进行对比, 从图像对比度、清晰度和信息熵方面进行客观评价。

标准差 (SD) 可以反映图像对比度特征。标准差计算公式为:

$$SD = \left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{1/2} \quad (15)$$

式中: x_i 为图像 i 的灰度值; $\bar{x}$ 为图像灰度平均值。

平均梯度 (AG) 是图像的梯度图上所有点的均值。它反映了图像微小细节反差和纹理变化特征, 同时也能反映出图像清晰度。一般来说平均梯度越大, 图像层次也就越丰富, 变化就越多, 图像也越清晰。平均梯度计算公式为:

$$AG = \frac{1}{M \times N} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \sqrt{\frac{1}{2} \left[\left(\frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right)^2 \right]} \quad (16)$$

式中: $\frac{\partial f}{\partial x}$, $\frac{\partial f}{\partial y}$ 分别为图像水平方向和垂直方向的梯度。

信息熵 (Entropy) 指图像所表现的平均信息

量, 熵越大代表图像包含信息越多。信息熵计算公式为:

$$e = - \sum_{i=1}^n p(i) \times \log_2 p(i) \quad (17)$$

式中: $p(i)$ 为图像每一灰度级出现的概率。

实验结果见图 3。

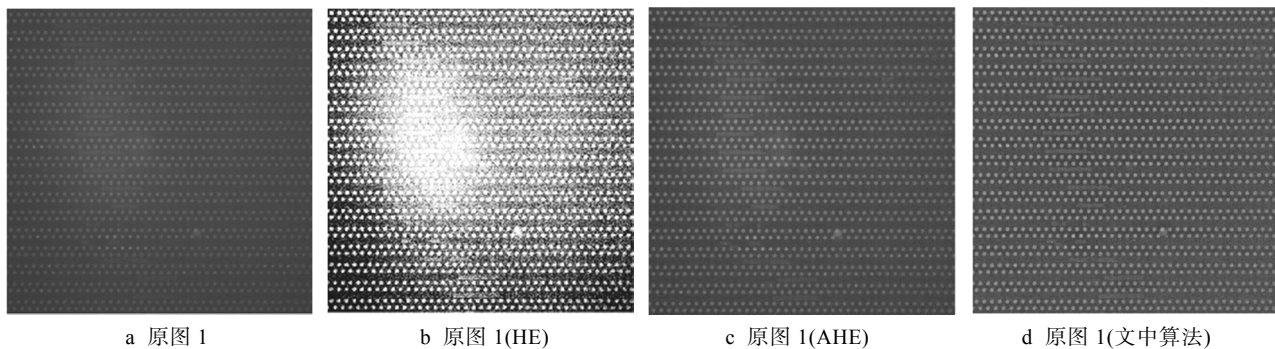


图 3 ROX 通道荧光图像不同算法处理结果

Fig.3 Processing results of ROX channel fluorescence images by different algorithms

由图 3 可以看出, 对于 ROX 通道下拍摄的荧光图像, 基因芯片在该通道下全部存在荧光信号, 由于光源曝光不足且不均匀, 导致原图中阳性亮点不明显, 经过直方图均衡化后, 图像出现严重失真, 不仅没有改善背景亮度, 反而出现过曝光的效果; 自适应直方图均衡化方法较直方图均衡化效果好, 能在一定程度上提高图像对比度, 但是图像背景光照还是不均匀, 依然会影响后续图像分析; 文中提出的算法对荧光图像处理效果最好, 不仅使图像整体背景亮度均匀性得到改善, 而且图像原本曝光不足处的细节得到体现, 图像中荧光点亮度明显提高, 整体图像没有出现过度增强的痕迹, 图像视觉效果更好。ROX 通道荧光图像客观质量评价结果见表 1。

由表 1 中可知, 直方图均衡化和自适应直方图均衡化都提高了标准差、平均梯度和信息熵, 但是增加的幅度没有文中算法明显。经文中算法处理后, 标准差值提高了 9.4 倍, 说明荧光图像对比度提高了; 平均梯度提高了 0.77 倍, 荧光图像变得更加清晰; 信息熵增加了 0.38 倍, 荧光图像中一些隐藏的细节表现出来了。

表 1 ROX 通道荧光图像的不同算法客观质量评价
Tab.1 Objective quality evaluation of different algorithms for ROX channel fluorescence images

算法	标准差	平均梯度	信息熵
原始图像	8.7478	2.8627	4.9227
HE	83.3172	3.376	6.4579
AHE	88.6533	4.7183	5.661
文中算法	90.9771	5.0653	6.8149

由图 4 可以看出, 对于 HEX 通道下的荧光图像, 直方图均衡化处理后整体图像亮度提高, 但是荧光阳性点和阴性点对比度降低, 图像出现失真现象; 自适应直方图均衡化后提高了荧光点和背景对比度, 但是图像增强效果不自然, 在提高荧光阳性点亮度同时也提高了荧光阴性点亮度, 整体对比度反而下降; 经文中算法处理后, 背景光照不均匀得到明显改善, 且荧光阳性点和阴性点的亮度对比差异变大, 更有利于后续数据分析。HEX 通道荧光图像的客观质量评价结果见表 2。

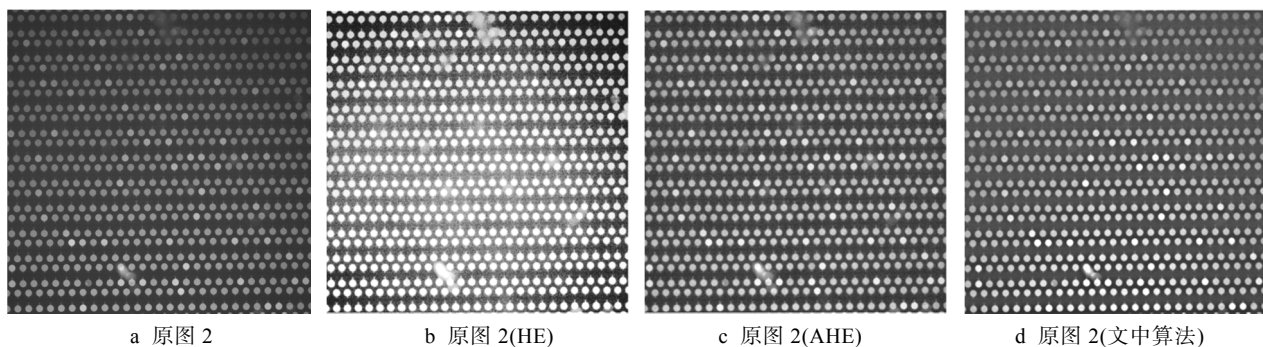


图 4 HEX 通道荧光图像不同算法处理结果

Fig.4 Processing results of HEX channel fluorescence images by different algorithms

表 2 HEX 通道荧光图像的不同算法客观质量评价
Tab.2 Objective quality evaluation of different algorithms for HEX channel fluorescence images

算法	标准差	平均梯度	信息熵
原始图像	31.1369	4.8512	6.1648
HE	52.5079	8.4914	7.5656
AHE	49.0913	7.7814	7.0392
文中算法	72.7604	9.781	7.8127

由表 2 可以看出，直方图均衡化和自适应直方图均衡化都能在一定程度上提高图像对比度和清晰度，但是文中算法的处理效果更好。文中算法标准差提高了 1.34 倍，图像对比度得到了提高；平均梯度提高了 1 倍，图像更加清晰；信息熵提高了 0.27 倍，说明经过文中算法处理后图像信息含量更多了。

为了进一步验证算法有效性，选取了 ROX 通道下的 10 副荧光图像进行对比实验，经过不同算法处理后进行客观质量评价，其中标准差数据见图 5，平均梯度数据见图 6，信息熵数据见图 7。

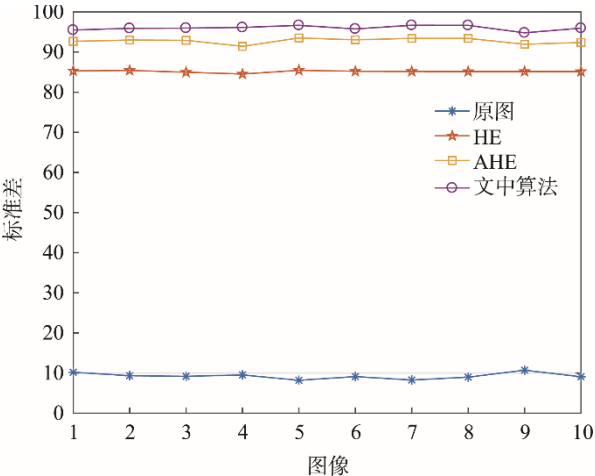


图 5 不同算法处理结果标准差值
Fig.5 Standard deviations on processing results by different algorithms

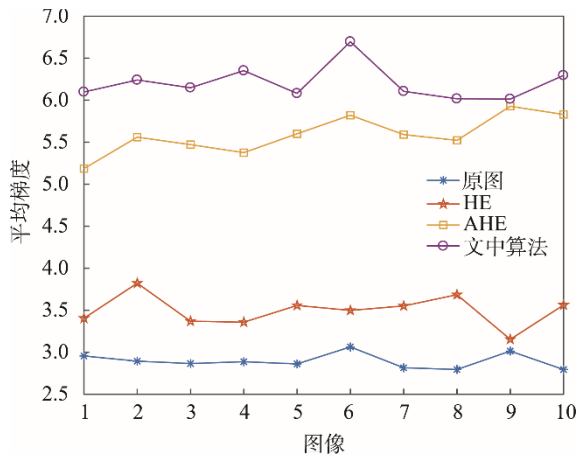


图 6 不同算法处理结果平均梯度值
Fig.6 Average gradient values of processing results by different algorithms

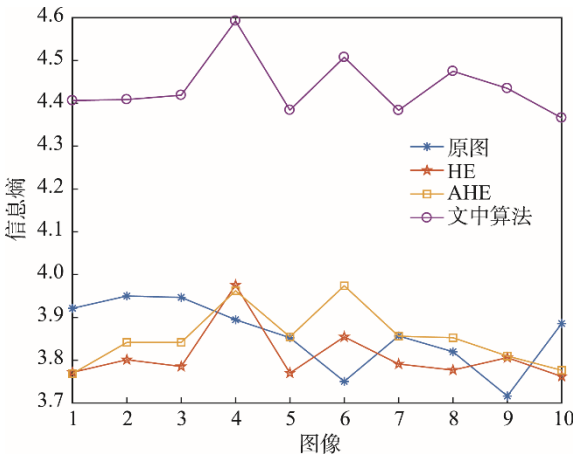


图 7 不同算法处理结果信息熵值
Fig.7 Information entropy values of processing results by different algorithms

通过图 5—7 的实验数据对比可以看出，文中提出的高通量 dPCR 荧光图像自适应增强方法相对于传统增强算法，具有明显的优越性。

4 结语

为了解决高通量 dPCR 荧光图像的低对比度和不均匀背景亮度问题，进行了针对性的图像增强方法研究，在直方图均衡化和自适应直方图均衡化的基础上，提出了一种新的自适应图像增强算法，该算法通过引导滤波提取出图像的光照分量，改进的二维 Gamma 函数对图像亮度进行自适应校正，利用 Top-hat 变换分离前景和背景，最后利用自适应直方图均衡化对前景进行对比度增强。研究和实验结果表明，该算法在标准差、平均梯度和信息熵等指标上都有提高。该方法不仅适用于处理 dPCR 荧光图像，对背景光照不均匀和（或）低对比度图像的增强也有重要的参考意义。

参考文献：

[1] VOGELSTEIN B, KNINZLER K W. Digital PCR[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96(16): 9236—9241.

[2] BISSELL M G. Digital PCR Analysis of Maternal Plasma for Noninvasive Detection of Sickle Cell Anemia[J]. Yearbook of Pathology and Laboratory Medicine, 2013: 413—414.

[3] BEAVER J A, JELOVAC D, BALUKRISHNA S, et al. Detection of Cancer DNA in Plasma of Patients with Early-stage Breast Cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2014, 20(10): 2643—2650.

[4] 胡佳莹, 姜羽, 杨立桃. 利用 QuantStudio~(TM) 3D 数字 PCR 分析转基因玉米 MON863 含量[J]. 农业生

- 物技术学报, 2016, 24(8): 1216—1224.
- HU Jia-ying, JIANG Yu, YANG Li-tao. Analyzing MON863 Content in Transgenic Maize with QuantStudio™ 3 Digital PCR[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2016, 24(8): 1216—1224.
- [5] 周淑芳, 苟彤, 方伟波, 等. 基于微流控芯片的数字 PCR 荧光图像分析方法[J]. 生命科学仪器, 2018, 16(1): 27—31.
- ZHOU Shu-fang, GOU Tong, FANG Wei-bo, et al. Digital PCR Fluorescence Image Analysis Method Based on Microfluidic Chip[J]. Life Science, 2018, 16(1): 27—31.
- [6] MUKHTAR M, JAMBEK A B, MASHOR M Y B. Image Gridding Algorithm for DNA Microarray Analyser[C]. International Conference on Electronic Design. IEEE, 2016: 452—457.
- [7] ELTOUKHY M M. Segmentation of Complementary DNA Microarray Images using Markov-Controlled Watershed Technique[J]. International Journal of Computer Applications, 2015, 110(12): 30—34.
- [8] NASSER L, CORONADO P, DAVID E, et al. A Dictionary-Based Approach to Reduce Noise in Fluorescent Microscopy Images[J]. IEEE International Conference on Signal and Image Processing (ICSIP), Singapore, 2017: 144—148.
- [9] BAI X, ZHOU F, XUE B. Infrared Image Enhancement Through Contrast Enhancement by Using Multiscale New Top-Hat Transform[J]. Infrared Physics & Technology, 2011, 54(2): 61—69.
- [10] 丁红军, 龚莹岚, 邢克礼. 基于 MATLAB 的低密度基因芯片图像处理[J]. 生物医学工程与临床, 2006(S1): 39.
- DING Hong-jun, GONG Ying-lan, XING Ke-li. Image Processing of Low Density Gene Chip Based on MATLAB[J]. Biomedical Engineering and Clinical Medicine, 2006(S1): 39.
- [11] 李铁军, 孙跃, 邵桂芳. 一种基因芯片图像的对比度增强方法[J]. 厦门理工学院学报, 2015(5): 29—34.
- LI Tie-jun, SUN Yue, SHAO Gui-fang. A Contrast Enhancement Method for Gene Chip Images[J]. Journal of Xiamen University of Technology, 2015(5): 29—34.
- [12] 常敏, 刘天成. 基于荧光显微镜的显微视觉图像增强处理[J]. 电子科技, 2017, 30(9): 108—111.
- CHANG Min, LIU Tian-cheng. Microscopic Visual Image Enhancement Processing Based on Fluorescence Microscopy[J]. Electronic Science & Technology, 2017, 30(9): 108—111.
- [13] HE K, SUN J, TANG X. Guided Image Filtering[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis & Machine Intelligence, 2013, 35(6): 1397—1409.
- [14] LEE S. An Efficient Content-Based Image Enhancement in the Compressed Domain Using Retinex Theory[J]. IEEE Transactions on Circuits and Systems for Video Technology, 2007, 17(2): 199—213.
- [15] 章毓晋. 图像处理[M]. 北京: 清华大学出版社, 2012.
- ZHANG Yu-jin. Picture Processing[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2012.
- [16] STARK J A. Adaptive Image Contrast Enhancement Using Generalizations of Histogram Equalization[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2000, 9(5): 889—896.
- [17] PERREAULT S, HEBERT P. Median Filtering in Constant Time[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2007, 16(9): 2389—2394.
- [18] ELLIS D M, DRAPER N P, SMITH H S. Applied Regression Analysis[J]. Technometrics, 1999, 9(1): 182—183.