



影像處理分析乳牛乳房炎 致病菌之應用

◎文·圖／鄭仁勝¹ 謝清祿²

前言

近年來由於消費者對於牛乳產品的重視，且酪農也希望能夠了解牛乳房炎致病菌的濃度，以適時提供用藥治療，本研究乃利用成功大學醫工所開發的介電泳型晶片，捕抓乳牛乳房炎的可能致病菌-金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、牛棒狀桿菌，並應用影像處理技術中之紋理分析方法，透過顯微鏡拍攝放大400倍的影像，利用MATLAB程式分析擷取影像的紋理特徵，探討特徵值區別背景影像與細菌影像區域的效果，藉以建立估計細菌濃度的方法，希望能透過影像分析，快速檢測出導致乳牛乳房炎之細菌濃度，提供酪農適時用藥，可降低乳房炎發生率，提升乳牛養殖業之競爭力。

檢測儀器與設備

本研究中所使用設備及規格介紹如下(圖1)：

1. 倒立式顯微鏡加裝電控平台

將特製電控平台(坦聯、MR-PI)加裝在倒立式顯微鏡(三市、ZAK-TECH HS-B01)，電控平台操作透過VB程式控制，透過X、Y座標輸入12個定位的觀察點，亦可以透過手動到達任意想觀察的介電泳生物晶片定位點，步進馬達最小位移量為 $0.3125\ \mu\text{m}$ 。

2. 介電泳型生物晶片

介電泳型生物晶片為利用物質與介質的介電差異，產生極化的現象，而將特定粒子分離或收集，此晶片內流道高度為 $20\ \mu\text{m}$ ，流道長度為12mm由成大醫工所開發提供。

3. 微量注射幫浦

由於晶片內流道狹小須使用穩定且微量方式注入，微量注射幫浦型號為kdS 101輸液注射器，注射針筒最小能到 $10\ \mu\text{l}$ 至60mL，尺寸為 $23\times 15\times 14\ \text{mm}$ 最小注射量為 $0.088\ \mu\text{l}/\text{min}$ 、最大注射量為 $8.76\ \mu\text{l}/\text{min}$ ，精確度為 $\pm 1\%$ 。

4. 訊號產生器

訊號產生器廠牌為NF，型號是WF1946B，頻率設置範圍： 0.01 至 $15\ \text{MHz}$ ，最大輸出電壓 $20\ \text{V p-p}$ 。

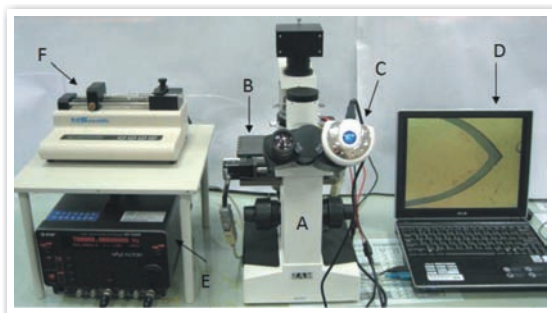
5. 微量注射針筒

微量注射針筒廠牌HAMILTON，型號為80700，針頭材質為不鏽鋼針、管身材質為玻璃研究用，針筒容量為 $250\ \mu\text{l}$ ，規格為 $22\text{s}/2''/2$ 尖頭針頭。

6. 顯微影像電子目鏡

顯微影像電子目鏡是由YOVICA所生產，其型號為MD 130解析度最高可達靜態、動態錄影畫素 1280×1024 (130萬畫素)，並附加專用光學目鏡，

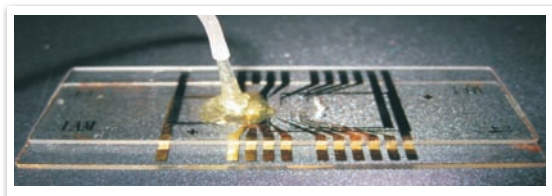
放大倍率為15倍，透過USB 2.0裝置接至電腦上，配合顯微鏡目視鏡孔完全不須改裝顯微鏡就能將玻片內容呈現在電腦螢幕上。



❶ 圖1. 實驗硬體設備
A.倒立式顯微鏡、B.移動平台、C.顯微影像電子目鏡、D.筆記型電腦、E.訊號產生器、F.微量注射幫浦及微量注射針筒。

影像處理檢測方法

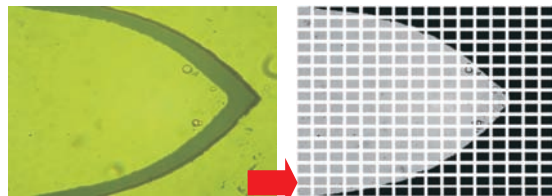
將生物介電泳晶片(圖2)(成功大學醫工所開發)放置倒立式顯微鏡加裝電控平台上，三種不同的目標菌種作為觀察對



❷ 圖2. 生物晶片外觀

象，分別為：(1) 金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus-10451*)、(2) 牛棒狀桿菌 (*Corynebacterium bovis-2363*)及(3)大腸桿菌 (*Escherichia coli-14825O157:H7*)。目標菌經過培養後分別稀釋成三種濃度後，用微量注射幫浦透過250 μ l注射針筒以流量0.8 μ l/min注入至介電泳生物晶片中，並依照菌種分別給予2.5~8的臨界頻率及20V p-p電壓值，實驗時間為10分鐘，將顯微影像電子目

鏡所拍攝原始影像儲存至電腦後，利用MATLAB數值分析軟體作灰階、二值化及影像前端面積的遮罩處理後，將原始灰階圖與遮罩處理的影像相乘所呈現之影像即為數值分析目標影像。數值分析目標影像切割成256塊(64 \times 80畫素)區域圖(圖3)，並運用九種紋理特徵分別為：均勻度、熵、最大機率、對比、k階反向差衝量、相關度、行長機率、同質度、群聚傾向度，分析不同濃度之金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、牛棒狀桿菌利用影像面積與原始目標菌的濃度做對比，由結果得知，應用紋理分析之行長機率紋理特徵值呈現影像面積與濃度的線性迴歸，金黃色葡萄球菌 $R^2=0.91$ 、牛棒狀桿菌 $R^2=0.99$ 及大腸桿菌 $R^2=0.95$ ，表示此影像處理技術應用於細菌濃度推估可達九成以上，可做為後續估計目標細菌濃度的依據。



❸ 圖3. 生物晶片攔截金黃色葡萄球菌後，利用MATLAB數值分析軟體影像切割成256塊。

結語

利用影像處理技術可快速檢測牛隻乳房炎，當乳牛乳房炎發生時能提供酪農適時用藥，以降低乳房炎發生率，並增進乳品的安全，減少酪農的損失。未來希望這套影像處理技術搭配介電泳型生物晶片能應用於農作物病害的防治上，以掌握防治先機，減少植物病害的發生。