

グラム染色画像からの抗酸菌の検出

中城 龍之介^{1,a)} 平田 耕一²

受付日 2024年2月8日, 採録日 2024年2月26日

概要: 感染症の初期診断に利用されるグラム染色は、検体材料に存在する菌を染色液に染め上げ、その染色性と形状から顕微鏡検査により菌種を推定する手法である。本論文では、グラム染色では染色されにくいグラム陽性桿菌であり、肺結核の起炎菌を含む抗酸菌に着目する。この抗酸菌は、グラム染色画像の顕微鏡検査において、ピントの調整により灰色像と白色像の2種類の異なる色の像として観測される。そこで本論文では、灰色像と白色像をラベル付けした後、深層学習の物体検出器である YOLOv5 と YOLOv8 を利用することで、グラム染色画像から抗酸菌を検出する。

キーワード: 医療・福祉支援, 画像認識・理解, 機械学習

Detecting Mycobacteria from Gram Stained Smears Images

RYUNOSUKE NAKAJO^{1,a)} KOUICHI HIRATA²

Received: February 8, 2024, Accepted: February 26, 2024

Abstract: The Gram stain, which is applied to the initial medical care for infectious diseases, is the method to detect bacteria by the stained color and the stained shapes in microscope test. In this paper, we focus on Mycobacteria which are ill-stained Gram positive bacilli and containing Mycobacterium tuberculosis. It is known that Mycobacteria in Gram stained smears images are observed as gray images and white images by the different focus in the microscope test. Then, in this paper, we detect Mycobacteria by labeling the gray images and the white images and by applying YOLOv5 and YOLOv8 as object detectors in deep learning to them.

Keywords: Medical and Welfare Support, Image recognition and understanding, Machine learning

1. はじめに

グラム染色 [10] は、感染症の初期医療に必要な微生物迅速検査の手法として、1884 年にデンマークのクリスチャン・グラムが開発したものである。グラム染色では、患者から採取した、喀痰、尿、大便などといった材料中に存在する細菌をグラム染色液を用いて染め上げ、菌の形状（球状、桿状）や染色性（紫色、赤色）により、菌種を推定する。このことにより、初期抗菌薬の選択や治療方針の決定、材料評価が一度に判読できる検査である。

グラム染色は安価かつ 30 分程で結果が出るため感染症の初期診断で重要である。一方、グラム染色は細菌だけでなく白血球、塵、埃など細菌以外の物質も染色する。

顕微鏡検査では、グラム染色した標本は目視で確認するのみで、自動的な検査は行われていない。理由としては、深層学習以前の画像処理技術による自動検査の技術が確立されていないこと、および、顕微鏡検査の後に培養検査や同定検査を行うことで、正確に細菌を検出することができるからである。特に後者に関して、嫌気性菌は培養検査では死滅してしまうため、同定検査では検出できない。つまり、培養検査や同定検査で検出される菌は標本に含まれる菌の一部ということになる。また、培養検査と同定検査の検査結果が出るまでには一日必要なため、感染症の初期診断に適用することはできない。さらに、グラム染色画像から目視で細菌を検出するには熟練した技術が必要であるが、日本

¹ 九州工業大学大学院情報工学府
Graduate School of Computer Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology

² 九州工業大学情報工学研究室
Department of Artificial Intelligence, Kyushu Institute of Technology

a) nakajo.ryunosuke428@mail.kyutech.jp

では熟練した技術者が少ない。そこで、グラム染色画像から細菌を自動的に推定する技術の確立が求められている。

深層学習によるグラム染色画像からの菌推定の方法には、菌の矩形画像を集めて画像分類器で推定する分類、および、画像に写っている菌を物体検出器で推定する検出の二つに大別できる。グラム染色画像からの菌の分類として、Yoshihara と Hirata [12] は、グラム陰性桿菌であるキャンピロバクターと白血球貪食の分類とその改良を行った。また、Kawano ら [5] は、グラム陽性球菌とグラム陰性桿菌を分類した。一方、グラム染色画像からの菌の検出として、Yoshihara と Hirata [13] は、YOLOv5 [2] を含む物体検出器によりグラム染色画像からキャンピロバクターと白血球貪食を検出した。また、Sugimoto と Hirata [8] は、YOLOv5 を用いてグラム陽性球菌の検出をした。さらに Kashino [4] らは、YOLOv5 と YOLOv7 [11] により、13 種類の感染症起炎菌を検出した。

本論文では、結核菌群、非結核性抗酸菌、らい病菌群などの抗酸菌を検出する手法について議論する。この抗酸菌は、グラム染色では染色されにくい菌として知られている [10]。例えば、結核菌はグラム染色では染色されにくいグラム陽性桿菌であり、グラム染色では数珠状に染色される [10]。一方で、結核は、咳、血痰、咯血や全身の倦怠感などの病状を引き起こし、肺結核を始めとする各種の結核の原因となるため、その同定は非常に重要である。

抗酸菌の出現が疑わしい場合には、グラム染色ではなく、チール・ネンゼン染色によって、結核菌や非結核性抗酸菌の出現を確認する必要がある [10]。そのためにも、まずはグラム染色画像において抗酸菌を検出することは重要な課題である。図 1 は、抗酸菌のグラム染色における染色の結果である。グラム染色画像では、抗酸菌は、灰色の検体像と白色の検体像の 2 種類の検体像として認識することができる。これらの 2 種類の像は、顕微鏡のピントをずらすことで得ることが可能であるが、その操作には熟練した技術も必要となる。

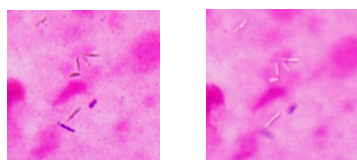


図 1 抗酸菌の灰色像と白色像

杉本と平田 [9] の先行研究では、YOLOv5 [2] を用いて、抗酸菌の灰色像と白色像に加え、青色像を含めた 3 クラスで検出を行っている。この研究の後、青色像が抗酸菌ではないとの疑いが出たため、本論文では、グラム染色画像における抗酸菌の像のうち、青色像を除く灰色像と白色像の 2 種類の像をラベル付けし、深層学習の物体検出器を用いることでこれらを抗酸菌として検出する。物体検出

には、YOLOv5、および、現時点で YOLO の最新版である YOLOv8 [3] を利用する。

2. 物体検出

本節では、物体検出器である YOLOv5 [2]、および、YOLOv8 [3] について説明する。また、検出の評価指標についても説明する。

2.1 YOLO

Redmon ら [7] は、物体検出と分類を 1 つのネットワークで行う 1 ステージ型検出器として YOLO を公開した。抗酸菌の検出には物体検出器として YOLOv5、および、YOLO の最新版である YOLOv8 を用いる。YOLOv5、および、YOLOv8 いずれもモデル深さ乗数とレイヤー幅乗数ごとに n, s, m, l, x の 5 つのモデルが用意されている。YOLOv5 と YOLOv8 のモデルをそれぞれ表 1 と表 2 に示す。

表 1 YOLOv5 のモデル
Table 1 Models for YOLOv5.

モデル	深さ乗数	幅乗数
YOLOv5n	0.33	0.25
YOLOv5s	0.33	0.50
YOLOv5m	0.67	0.75
YOLOv5l	1.00	1.00
YOLOv5x	1.33	1.25

表 2 YOLOv8 のモデル
Table 2 Models for YOLOv8.

モデル	深さ乗数	幅乗数
YOLOv8n	0.33	0.25
YOLOv8s	0.33	0.50
YOLOv8m	0.67	0.75
YOLOv8l	1.00	1.00
YOLOv8x	1.00	1.25

2.2 評価方法

本節では、実験に用いた物体検出の評価方法について説明する。IoU (Intersection over Union) [1] とは物体検出の評価手法の一つで、予測矩形と正解矩形の重複度を表す指標である。IoU は、予測矩形の領域を P 、正解矩形の領域を T とすると次の式で表される。

$$IoU = \frac{P \cap T}{P \cup T}$$

また、IoU の閾値 δ ($0 \leq \delta \leq 1$) に対して、 $IoU \geq \delta$ となる予測矩形の数を TP、 $IoU < \delta$ となる予測矩形の数を FP、 $IoU < \delta$ となる正解矩形の数を FN とするとき、適合率と再現率を以下のように定義する。

$$\text{適合率} = \frac{TP}{TP + FP}, \quad \text{再現率} = \frac{TP}{TP + FN}$$

さらに、適合率と再現率のバランスを考慮する指標として、F 値を適合率と再現率を用いて次のように定義する。

$$F \text{ 値} = \frac{2 \times \text{適合率} \times \text{再現率}}{\text{適合率} + \text{再現率}}$$

そして、一般的な検出性能の評価指標である平均適合率 AP(Average Precision) とは、IoU の閾 δ を設定し、予測矩形のデータを信頼度が高い順に並べ、順番にその時点での適合率・再現率を計算したときの適合率の平均である。AP50, および AP75 は、IoU の閾値 δ がそれぞれ 0.5, および、0.75 のときの AP である。COCO [6] で定められた指標である mAP は、 δ を 0.5 から 0.95 まで 0.05 ずつ変化させたときの AP の平均値である。本研究では、mAP の評価値を最も重視して検出性能を評価する。

3. 抗酸菌の検出

本節では、YOLOv5, および、YOLOv8 を用いてグラム染色画像から抗酸菌を検出し、その検出結果を比較する。

3.1 実験環境と実験データ

表 3 は、YOLOv5 および YOLOv8 を実行した計算機環境である。また、ハイパーパラメータの学習回数を 500 回、バッチサイズを YOLOv5 では 4, YOLOv8 では 8 に設定する。なお、学習時に精度の向上が見込めない場合、学習回数が 500 回未満であっても終了する。

表 3 計算機環境

Table 3 Computing environment.

OS	Windows 11 Home
RAM	16.0GB
CPU	AMD Ryzen 5 4500 6-Core Processor 3.60GHz
GPU	NVIDIA GeForce RTX 3060

本実験では、専門家の監修の下で検体材料が喀痰であるグラム染色画像から、ピントをずらした抗酸菌の撮影で得られる 2 種類の抗酸菌画像に、矩形でラベル付けを行ったデータセットを用いる。図 2 と図 3 は、それぞれ灰色像と白色像のアノテーションデータの例である。

そして、このデータの 6 割を訓練用データ、2 割を検証用データ、2 割をテスト用データとし、訓練用データのみ、反転や回転を適用して約 3 倍に拡張を行う。拡張を行った後のそれぞれのデータの画像枚数を表 4、ラベルごとのそれぞれのデータの矩形数を表 5 に示す。

3.2 実験結果

本節では、YOLOv5, および、YOLOv8 を用いた抗酸菌の検出精度を評価する。表 6 は YOLOv5 の 5 つのモデルを

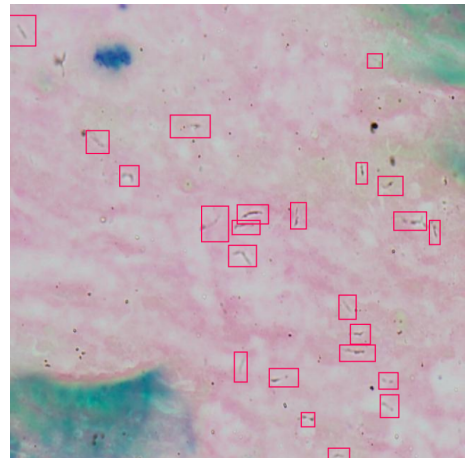


図 2 灰色像のアノテーションデータの例

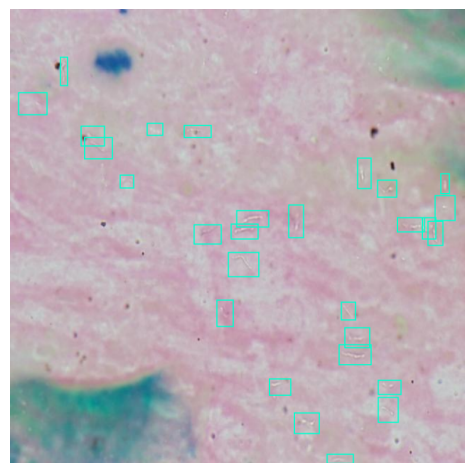


図 3 白色像のアノテーションデータの例

表 4 それぞれのデータの画像枚数

Table 4 Number of images for each dataset.

訓練用	検証用	テスト用
731	85	85

表 5 ラベルごとのそれぞれのデータの矩形数

Table 5 Number of regions for each label.

ラベル	訓練用	検証用	テスト用
灰色像	4272	514	500
白色像	4022	369	531

用いた 2 クラス検出の結果である。また、表 7 は YOLOv5 の各モデルの学習回数と学習回数 1 回あたりにかかった学習時間である。

表 6 より、YOLOv5 の 5 つのモデルの中では、YOLOv5l の mAP が最も高い値となり、検出に適しているモデルであると考えられる。mAP 以外の指標は、適合率と F 値は YOLOv5l が最も高い値であり、再現率と AP50, AP75 は YOLOv5m が最も高い値であった。また、YOLOv5 全体の傾向として灰色像の方が白色像よりも mAP が高くなっていることがわかる。そして、表 7 より、モデルが大きくなるにつれて学

表 6 YOLOv5 による 2 クラス検出の結果

Table 6 Results of 2-class detection using YOLOv5.

モデル	ラベル	適合率	再現率	F 値	AP50	AP75	mAP
YOLOv5n	灰色像	0.581	0.646	0.612	0.600	0.0351	0.185
	白色像	0.614	0.486	0.543	0.482	0.0464	0.153
	平均	0.598	0.566	0.582	0.541	0.0408	0.169
YOLOv5s	灰色像	0.585	0.558	0.571	0.571	0.0365	0.186
	白色像	0.677	0.402	0.504	0.496	0.0771	0.181
	平均	0.631	0.480	0.545	0.533	0.0568	0.183
YOLOv5m	灰色像	0.649	0.650	0.649	0.607	0.0608	0.203
	白色像	0.644	0.544	0.590	0.545	0.0692	0.185
	平均	0.646	0.597	0.621	0.576	0.0650	0.194
YOLOv5l	灰色像	0.682	0.656	0.669	0.634	0.0470	0.206
	白色像	0.653	0.525	0.582	0.510	0.0645	0.185
	平均	0.668	0.591	0.627	0.572	0.0558	0.195
YOLOv5x	灰色像	0.611	0.628	0.619	0.584	0.0397	0.182
	白色像	0.737	0.427	0.541	0.533	0.0667	0.177
	平均	0.674	0.527	0.592	0.558	0.0532	0.180

表 7 YOLOv5 の学習回数と時間

Table 7 Number of learning and learning time of YOLOv5.

モデル	学習回数	学習時間 [s]
YOLOv5n	500	19.95
YOLOv5s	169	28.26
YOLOv5m	314	28.53
YOLOv5l	322	32.97
YOLOv5x	345	52.51

習時間が長くなり、最も学習時間が短い YOLOv5n と最も学習時間が長い YOLOv5x では学習時間に約 2.6 倍の差があることがわかる。

次に、表 8 は YOLOv8 の 5 つのモデルを用いた 2 クラス検出の結果である。また、表 9 は YOLOv8 の各モデルの学習回数と学習回数 1 回あたりにかかった学習時間である。

表 8 YOLOv8 による 2 クラス検出の結果

Table 8 Results of 2-class detection using YOLOv8.

モデル	ラベル	適合率	再現率	F 値	AP50	AP75	mAP
YOLOv8n	灰色像	0.653	0.670	0.661	0.643	0.0595	0.213
	白色像	0.731	0.476	0.577	0.585	0.0835	0.210
	平均	0.692	0.573	0.627	0.614	0.0715	0.212
YOLOv8s	灰色像	0.589	0.658	0.622	0.603	0.0655	0.192
	白色像	0.770	0.382	0.511	0.513	0.0733	0.192
	平均	0.680	0.520	0.589	0.558	0.0694	0.192
YOLOv8m	灰色像	0.567	0.646	0.604	0.628	0.0710	0.208
	白色像	0.765	0.427	0.548	0.554	0.0898	0.213
	平均	0.666	0.537	0.595	0.591	0.0804	0.211
YOLOv8l	灰色像	0.571	0.628	0.598	0.554	0.0483	0.179
	白色像	0.724	0.445	0.551	0.547	0.0569	0.193
	平均	0.648	0.537	0.587	0.550	0.0526	0.186
YOLOv8x	灰色像	0.609	0.629	0.619	0.611	0.0801	0.216
	白色像	0.796	0.431	0.559	0.566	0.0997	0.219
	平均	0.703	0.530	0.604	0.588	0.0899	0.217

表 9 YOLOv8 の学習回数と時間

Table 9 Number of learning and learning time of YOLOv8.

モデル	学習回数	学習時間 [s]
YOLOv8n	441	19.11
YOLOv8s	453	22.54
YOLOv8m	500	34.69
YOLOv8l	486	45.13
YOLOv8x	449	63.50

表 8 より、YOLOv8 の 5 つのモデルの中では、YOLOv8x の mAP が最も高い値となり、検出に適しているモデルであると考えられる。mAP 以外の指標は、適合率と mAP75 は YOLOv8x が最も高い値であり、再現率と F 値、AP50 は YOLOv8n が最も高い値であった。また、YOLOv8 全体の傾向として、灰色像の方が白色像と比較して適合率が低く、再現率が高くなっていることがわかる。そして、表 9 より、モデルが大きくなるにつれて学習時間が長くなり、最も学習時間が短い YOLOv8n と最も学習時間が長い YOLOv8x では学習時間に約 3.3 倍の差があることがわかる。

最後に、表 10 は、YOLOv5 の中で最も mAP が高い YOLOv5l と YOLOv8 の中で最も mAP が高い YOLOv8x と先行研究 [9] との比較である。先行研究 [9] は、抗酸菌の灰色像と白色像に青色像も加えた 3 クラスで検出を行っている。今回は灰色像と白色像の 2 クラスで検出を行っているため、平均のみで比較を行う。

表 10 先行研究 [9] との結果の比較

Table 10 Comparison of the result with the previous result [9].

モデル	再現率	AP50	AP75	mAP
YOLOv5l	0.591	0.572	0.0558	0.195
YOLOv8x	0.530	0.588	0.0899	0.217
先行研究 [9]	0.388	0.454	0.0430	0.147

YOLOv5l, YOLOv8x 共に先行研究 [9] より高い mAP となり、3 つの中では YOLOv8 が最も高い mAP となった。mAP 以外の指標でも YOLOv5l と YOLOv8x 共に先行研究 [9] の指標をすべて上回っていることがわかる。

4. 結論と今後の課題

本論文では、YOLOv5 の 5 つのモデルと YOLOv8 の 5 つのモデルの計 10 種のモデルを用いてグラム染色画像からの抗酸菌を検出した。10 種類のモデルの中では、YOLOv8x を用いることで最も高い mAP で検出することができた。YOLOv5 では、灰色像の方が白色像よりも mAP が高くなる傾向があるのに対して、YOLOv8 では灰色像の方が白色像と比較して適合率が低く、再現率が高くなる傾向があり、検出結果の特徴が異なっていた。また、YOLOv5 の中で最も mAP が高い YOLOv5l も、YOLOv8 の中で最も mAP が高い YOLOv8x も、共に先行研究 [9] よりも高い mAP と

なった。

一方, 先行研究よりも mAP が高くなったとは言え, それでもまだ 0.25 以下と値としては低い. そこで今後は, 学習データに対して別のデータ拡張方法の適用や, YOLO の層や活性化関数の見直しによる改良を行うことで, より高い mAP で検出できるように改良することは今後の重要な課題である.

参考文献

- [1] M. Everingham, L. V. Gool, C. K. I. Williams, J. Winn, A. Zisserman, The PASCAL visual object classes VOC challenge, *Internat. J. Comput. Vision* 88, 303-338, 2010.
- [2] G. Jocher, YOLOv5, <https://github.com/ultralytics/yolov5>
- [3] G. Jocher, YOLOv8, <https://github.com/ultralytics/ultralytics>
- [4] U. Kashino, S. Terada, K. Hirata, Detecting bacteria causing infectious disease from Gram stained smears images, *Proc. ESKM'2023*, 13-18, 2023.
- [5] I. Kawano, E. Kurumida, S. Terada, K. Hirata, Classifying Gram positive cocci and Gram negative bacilli in Gram stained smear images, *Proc. ESKM'22*, 55-60, 2022.
- [6] T.-Y. Lin, M. Maire, S. Belongie, J. Hays, P. Perona, D. Ramanan, P. Doll'ar, C.-L. Zitnick: Microsoft COCO: Common objects in context, *ECC'14*, 740-755, 2014.
- [7] J. Redmon, S. Divvala, R. Girshick, A. Farhadi: You only look once: Unified, real-time object detection, *Proc. CVPR'16*, 778-788, 2016.
- [8] H. Sugimoto, K. Hirata, Object detection as Gram positive cocci in Gram stained smear images, *Proc. ESKM'22*, 134-137, 2022.
- [9] 杉本 脩, 平田 耕一, グラム染色画像からの抗酸菌の検出, 第 123 回人工知能基本問題研究会資料, 7-11, 2023.
- [10] 田里大輔, 藤田次郎, できる! 見える! 活かす! グラム染色からの感染症診断~検体採取・染色・観察の基本とケースで身につく診断力 (レジデントノート別冊), 羊土社, 2013.
- [11] C. Y. Wang, A. Bochkovskiy, H. Y. M. Liao, YOLOv7: Trainable bag-of-freebies sets new state-of-the-art for real-time object detectors, *arXiv.2207.02696(2022)*.
- [12] K. Yoshihara, K. Hirata, Detecting Campylobacter bacteria and phagocytotic activity of leukocytes from Gram stained smears images, *Proc. ESKM'21*, 10-15, 2021.
- [13] K. Yoshihara, K. Hirata, Object detection as Campylobacter bacteria and phagocytotic activity of leukocytes from Gram stained smears images, *Proc. ICPRAM'22*, 534-541, 2022.