

doi: 10.11857/j.issn.1674-5124.2020080080



基于微流血型检测卡的血型判读试验

刘怀宾^{1,2}, 朱继伟¹, 石鑫³, 杨晋¹, 李洪博³

(1. 中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 吉林国科医工科技发展有限公司, 吉林 长春 130000; 4. 长春中科科仪技术有限公司, 吉林 长春 130000)

摘要: 为验证微流血型检测卡可实现血型检验工作, 搭建自动化血型检测硬件平台, 将微流血型检测卡作为反应容器, 充分反应后把原始图像分割为单通道图像, 直接取用 R 通道像素值进行灰度化, 再使用 Sobel 算子提取边缘信息, 最后用图像信息熵的方法得到图像信源的平均信息量, 即可获得血型判读结果。实验结果表明: 数字图像处理能够快速有效地判读血型信息, 并通过重复性测试得知适于大样本检测, 所以使用微流血型检测卡能够完全满足全自动血型分析仪的血型判读要求。

关键词: 微流血型检测卡; 溯源; 血型判读; Sobel 算子; 图像信息熵; 数字图像处理

中图分类号: TP391

文献标志码: A

文章编号: 1674-5124(2021)04-0044-05

Blood type interpretation test based on microfluidic blood group detection card

LIU Huaibin^{1,2}, ZHU Jiwei¹, SHI Xin³, YANG Jin¹, LI Hongbo³

(1. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Jilin Guoke Medical Technology Development Co., Ltd., Changchun 130000, China; 4. Changchun Zhongke Science and Technology Co., Ltd., Changchun 130000, China)

Abstract: In order to verify that the micro-bleed blood type detection card can achieve blood type testing, an automated blood type detection hardware platform is built, the microfluidic blood group detection card is used as a reaction container, the original image is divided into single-channel images after full reaction. The R channel pixel value is directly used for grayscale, and then the Sobel operator is used to extract edge information. Finally, the method of image information entropy is used to obtain the average information amount of the image source, and the result of blood group interpretation is obtained. The experimental results show that the blood type information can be quickly and effectively interpreted through digital image processing, and it is known that it is suitable for large sample detection through repetitive testing. Therefore, the use of the microfluidic blood group detection card can fully meet the blood type interpretation requirements of the automatic blood type analyzer.

Keywords: microfluidic blood group detection card; traceability; blood type interpretation; Sobel operator; image information entropy; digital image processing

收稿日期: 2020-08-21; 收到修改稿日期: 2020-10-17

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20200403009SF)

作者简介: 刘怀宾 (1995-), 男, 甘肃武威市人, 硕士研究生, 专业方向为医学检验技术。

0 引言

随着医疗技术的发展及国民生活水平的不断提高,人们越来越关注自身的身体健康,到医院就医体检的人数逐年增加,待检血液样本也随之增加,血型分析的需求越来越广泛^[1]。微柱凝胶法具有检测效率高、结果稳定等优点,是目前使用最广泛的方法之一,但在血型结果判读时,人为因素影响较大,并且其自动化判读研究仍处在起步阶段^[2]。采用微柱凝胶法的国产全自动化血型分析仪器尚不成熟^[3],医疗机构和科研院所使用微柱凝胶卡的半自动化设备进行了血型结果判读:罗刚银等^[4]采用模板匹配、阈值分割等算法得到红细胞分布情况;许天力^[5]采用纵向投影进行大数据智能对比的方法判读血型,需要大样本数据库作为支持。但是,使用微柱凝胶卡实现血型自动化检测仍然无法满足大样本血型检测的需求。许雪等^[6]研制了一款基于 3D 打印的微流控芯片实现血型判定,通过质心标记的方法实现了血型判读。姚娜等^[7]首次使用微流血型检测卡对反应腔的血型图像边缘检测算法进行研究,虽未成功判读血型,但为之后的图像识别工作提供了技术基础。针对以上问题,本文使用微流血型检测卡实现自动化血型判读,满足大样本检测需求,使用信息熵的方式更加直观地得到血型判读结果,实现可溯源性,对全自动血型分析仪的开发具有一定的参考意义。

1 系统设计

使用微流血型检测卡进行血型判读试验,是全自动化血型分析系统中最后的验证环节,在此之前需对加样系统、离心控制系统和血型判读系统进行整体仪器环境的搭建。

1.1 微流血型检测卡

微流血型检测卡是基于微流体技术制造的血型检测装置,血液样本在各微腔中进行红细胞抗原与抗体的特异性反应,如图 1 所示。它相较于微柱凝胶卡实现了 4 人份血型检测,单个腔体加样量为 180 μL ,具有微量高通的特点,更易实现自动化、批量化和精度化。

1.2 加样离心判读系统

整个系统结构主要有 ARM 主控制器、微流血型检测卡、自动加样机械臂控制系统、离心振动控制系统和基于 CCD 的图像采集处理系统,其原理框图如图 2 所示。

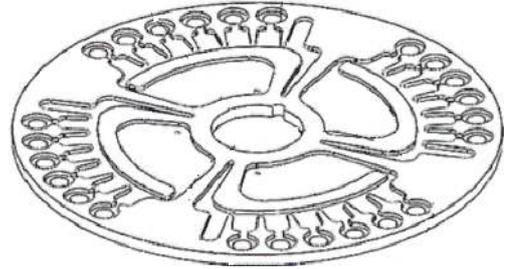


图 1 微流血型检测卡示意图

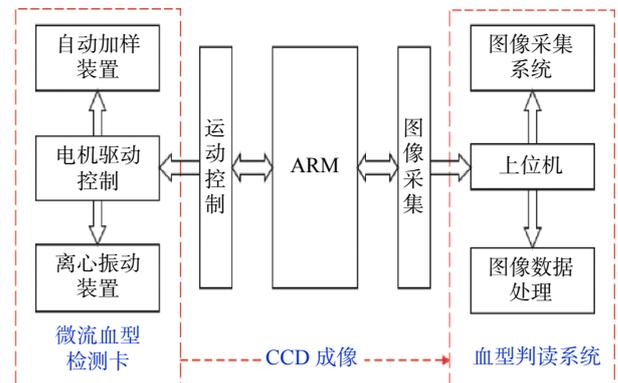


图 2 硬件系统原理框图

其工作原理为:通过自动加样机械臂安装 TIP 针头取装对应位置的血液样本,向微流血型检测卡注射样本,去针头 4 次循环操作,完成一片微流血型检测卡的加样;将加样后的血型检测卡移至离心振动装置中,进行定时定速离心振动,离心使样品能够快速进入反应腔内与试剂发生反应,振动可使反应更加充分;再将血型检测卡匀速通过图像采集区域,微距镜头对其拍照储存并传至上位机进行图像处理,得到血型判读结果。图 3 为完成一次血型检测试验流程。

2 图形处理试验

2.1 试验预处理

实验使用标本种类为新抽取的抗凝血,其要求抗凝剂为浓度为 15 g/L 的乙二胺四乙酸 (EDTA) 或者浓度为 32 g/L 的枸橼酸钠。选用 EDTA 作为血液抗凝剂,根据 EDTA 的特性,每 0.4 mL 干燥后可抗凝 5 mL 血液,故在加入血液样本时要求至少不低于 5 mL 的静脉血。由于 EDTA 的溶解度受 NaCl 影响不大,故在试验中加入生理盐水配制以防止出现溶血现象。血液抽取完成加入试管后应注意与抗凝剂混合均匀以待使用。

2.2 数字图像处理

将试验预处理后的血液样本通过自动加样系统、离心振动系统后,相机拍照微流血型检测卡传至上

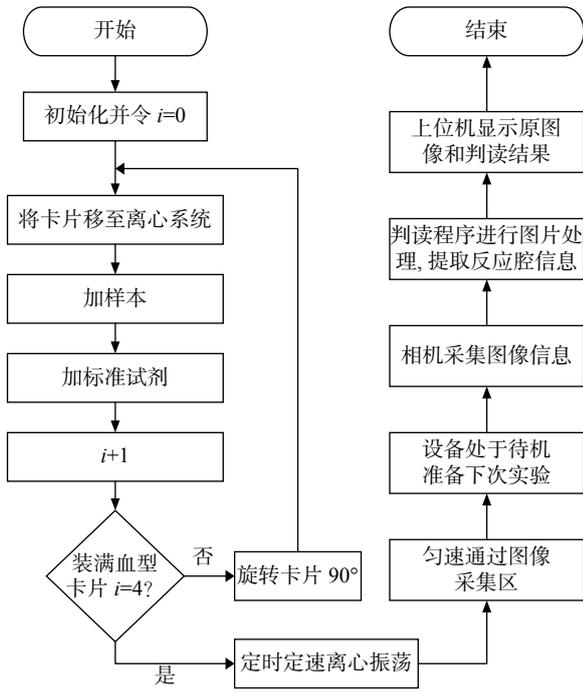


图3 血型检测试验流程图

位机进行图像处理。血型检测原理是微流体技术结合血凝实验法, 简化了试验操作, 极大地优化了数字化判读效率, 其血型图像处理过程如下:

1) 图像分割

为了保证全面提取图像特征, 提高分辨率, 在拍照时预留了一定的偏差空间, 保证在最小重复定位误差下采集微流血型检测卡的全部像素点。所以在得到原始图像之后需要对图形进行裁剪, 去除微流血型检测卡的边缘, 得到统一大小的微流血型检测卡图像。根据血型检测卡结构特点对各个腔体进行分割, 得到4组6个单通道图像。

2) 灰度变换

在图像处理算法中, 需要把得到的彩色图像转换成灰度图像。彩色图像的每个像素由R、G、B 3个通道的亮度值表示, 在灰度化时只需要将3个通道转换成一个通道。实验中直接取用了R通道的像素值将其转换为灰度图像。

3) 边缘处理

Sobel算子是在图像处理和计算机视觉广泛应用的一种图像边缘检测算法^[8-9]。Sobel算子使用横向及纵向的 3×3 二维矩阵与原图像做平面卷积, 分别得到横向及纵向的亮度差分近似值, 通过算术平方根的方法得到边缘检测图像的灰度值。此时只需要设定一阈值, 若大于此阈值则判定该点为边界值。

4) 灰度聚集特征

图像信息熵反映了图像中平均信息量的多少。图像的一维熵表示图像中灰度分布的聚集特征所包含的信息量, 令 p_i 表示图像中灰度值为 i 的像素所占的比例, 则定义灰度图像的一元灰度熵为^[10]:

$$H = E[l(x_i)] = E\left[\log_2 \frac{1}{p_i}\right] = -\sum_0^{255} p_i \log_2 p_i \quad (1)$$

试验中血液样本与试剂是否发生凝集反应, 在图像中则表现出灰度值的差异, 所以对边缘处理后的图像采用信息熵的方法统计灰度值的总期望值, 与设定的阈值比较, 若大于设定阈值则发生凝集反应, 反之则无, 最终通过熵值大小判定血型。

2.3 实验图像处理分析

每张试剂卡可检测4个样本, 每个样本共包含6个反应腔, 反应腔中包含的抗体分别为A抗体、B抗体、D抗体、A抗体、B抗体、空白对照。当使用A型血的血样本加入微流血型检测卡中时, 反应腔1、3、4发生特异反应, 会出现凝集现象, 2、5、6反应腔则无; 对应的使用B型血样本时, 2、3、5反应腔发生凝集现象; 使用O型血样本时, 只有第3反应腔出现凝集现象。

试验中将A型样本和O型样本分别与0.9%的生理盐水按照1:10的比例进行稀释, 上机进行ABD抗体试验。仪器运行到拍摄位, 驱动摄像头获取实验结果图像, 通过上位机软件对图像进行处理, 判读血型, 观察判读结果是否符合人眼判读结果。图4为微流血型检测卡反应后的图像, 图5为分割后的每个腔体图像以及信息熵值。微流血型检测卡图像信息熵如表1所示。



图4 反应后的血型检测卡图像

由上述的结果可知, 第1组、第2组和第4组只有第3反应腔发生凝集反应, 反应结果为阳性



图 5 熵值实验结果

表 1 微流血型检测卡图像信息熵

组别	1	2	3	4	5	6
第1组	294	279	541	263	264	224
第2组	320	400	426	278	276	265
第3组	1647	309	952	1762	306	260
第4组	259	280	1048	254	360	244

(+), 其余为阴性 (-), 可见第 1 组、第 2 组和第 4 组加入血液样本为 O 型血。第 3 组中第 1、第 3 和第 4 反应腔中发生凝集反应, 反应结果为阳性 (+), 其余为阴性 (-), 可知第 3 组加入血液样本为 A 型血。该方法实现了血型结果的自动化判读, 判读结果符合人眼判读结果, 也进一步表明微流血型检测卡可用作全自动血型分析仪的反应容器。

2.4 重复性测试

控制周围的环境温度在允许范围内, 将加入抗凝剂的 O 型静脉血与生理盐水以 1:10 进行稀释制作血液样本, 进行抗 A、抗 B 和抗 D 试验, 重复测定 10 次, 计算与 O 型血的红细胞发生凝集反应的抗 D 反应腔的测量值以及不发生凝集反应的抗 A、抗 B 反应腔的测量值, 其结果如表 2 所示。再根据下式计算其变异系数 CV:

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad (2)$$

其中 s 为样本测试值的标准差, \bar{x} 为测试值的平均值。

由表可知, 其变异系数均小于 0.4%, 表明所得观察值变异程度很小, 满足了大样本检测条件, 同时再次验证了血型判读的可靠性。

除了判断重复测量结果的可靠性外, 还需测试在大量样本检测过程中, 时间推移是否会对血型判

表 2 重复测量 10 次后各反应腔的图像信息熵

次数	抗D	抗A	抗B
1	541	259	234
2	543	258	232
3	542	259	233
4	543	258	232
5	541	260	233
6	543	259	234
7	542	258	233
8	540	259	232
9	543	258	232
10	542	258	233
平均值	542	258.6	232.8
CV值/%	0.19	0.27	0.34

读结果产生影响。在相同的环境温度下, 将加入凝凝剂的 A 型血与生理盐水以 1:10 进行稀释制作血液样本, 进行抗 A、抗 B 和抗 D 的血型试验, 重复 5 次, 得到结果如图 6 所示。连续开机工作 8 h 后, 在相同的环境温度和实验条件下, 取相同的血液样本再进行 5 次试验, 试验结果如图 7 所示。根据试验结果可知, 连续开机 8 h 再次进行血型检测, 前后对于同一血液样本的血型判读检测结果相同。

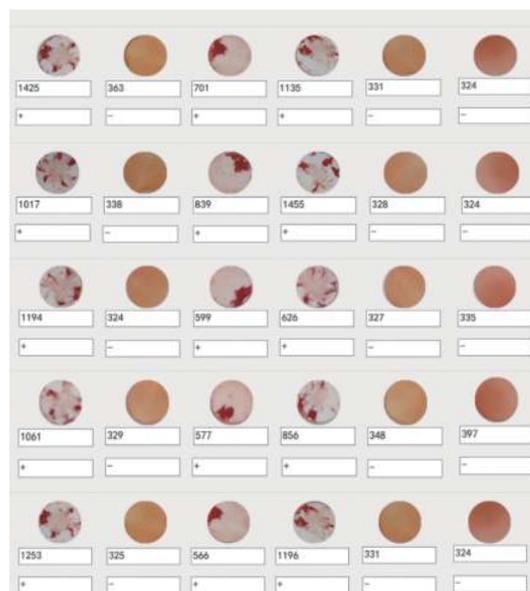


图 6 五组血型实验结果

通过对 O 型血液样本的连续 10 次血型试验和对 A 型血液样本的间隔 8 h 的血型试验, 表明利用微流血型检测卡进行血型判读结果稳定可靠, 准确率高。



图7 8 h后的血型实验结果

2.5 实验结果存储

自动化检测的意义除了降低实验人员工作量,减少人为操作失误之外,最大的优势就是实现溯源性,为了保留完整的原始图像记录和处理判读结果,建立了图像数据库。它由两个层次的数据集合构成:第一层次为图像数据词典,其数据内容包括对图像总体特征的描述,如样本编号、成像日期、人员信息等;第二层次为图像基础数据,根据第一层次数据内容所提供的有关信息,可直接进入基础数据集合,进行检索、处理、打印等操作。在完成所有的实验后,可输入样品信息查询判读结果,同时生成报告并选择打印。图8为图像数据词典和打印报告单。

图8 实验结果存储方式

3 结束语

本文对采用微流血型检测卡进行血型判读的可行性进行了试验分析,在对血型图像处理时,采用Sobel算子结合图像信息熵的方法得到灰度值分布差异,从而判断是否发生血液凝集现象,减少了对图像的处理过程并且避免了大量的图像复原过程,实现了对目标信息的最大化提取。得到判读结果后,保存原始图像并建立数据词典,实现溯源性,进行重复性测试极大地保证了判读结果的可靠性。经大量实验表明,使用微流血型检测卡能够完成血型判读流程,并且使用盘式结构易于自动化,这也将是全自动血型分析仪血型判读系统的发展趋势。

参考文献

- [1] 于海忠. 微柱凝胶法在血型鉴定和交叉配血中的应用[J]. *临床和实验医学杂志*, 2010, 9(6): 453-454.
- [2] SONG P, HU R, TNG D, et al. Moving towards individualized medicine with microfluidics technology[J]. *Rsc Advances*, 2014, 4(22): 11499-11511.
- [3] 李露. 基于支持向量机的微柱血型卡图像识别研究与应用[D]. 天津: 河北工业大学, 2016.
- [4] 罗刚银, 王弼陡, 孙海旋, 等. 基于DSP的血型图像判读系统[J]. *液晶与显示*, 2015, 30(2): 283-289.
- [5] 许天力. 微柱凝胶检测一体机控制系统设计与研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2015.
- [6] 许雪, 陈曦, 赵佳敏, 等. 基于3D打印的血型检测微流控芯片研究[J]. *中国测试*, 2018, 44(7): 1674-5124.
- [7] 姚娜, 杨波, 李桐, 等. 血型判读系统中的边缘检测算法研究[J]. *长春理工大学学报(自然科学版)*, 2019, 42(5): 76-81.
- [8] 梁辰, 张文博, 高鑫. 基于混合滤波器的改进Canny算子图像边缘检测[J]. *物联网技术*, 2020, 10(7): 28-30.
- [9] 韩伟聪, 鲍光海. 基于机器视觉的竹材尺寸测量系统设计[J]. *中国测试*, 2016, 42(7): 42-45.
- [10] 谷阳阳. 基于信息熵的遥测数据质量维度量化方法[J]. *兵工自动化*, 2019, 38(12): 42-45.

(编辑:商丹丹)