



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114252385 A

(43) 申请公布日 2022.03.29

(21) 申请号 202111540084.4

(22) 申请日 2021.12.16

(71) 申请人 江苏康尚生物医疗科技有限公司
地址 212300 江苏省镇江市丹阳市开发区
圣昌西路8号

(72) 发明人 李迎春 张雪

(74) 专利代理机构 镇江至睿专利代理事务所
(普通合伙) 32529

代理人 刘静

(51) Int. Cl.

G01N 15/10 (2006.01)

G01N 21/84 (2006.01)

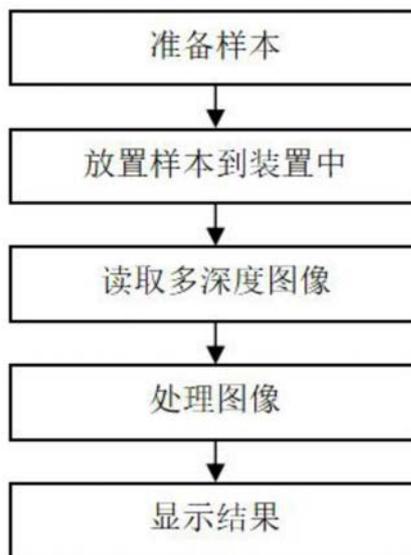
权利要求书3页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

一种便携式白细胞亚类检测装置及方法

(57) 摘要

一种便携式白细胞亚类检测装置及方法,其包括:制备待检测的血液样本;将所述血液样本放置于所述进样单元以将所述进样单元被推入便携式白细胞亚类检测装置内;启动照明单元照射所述测试片;实时采集光学显微镜单元放大的样本数据;对所述图像获取单元获取到粒子图像进行粒子分析计数后对计数结果进行显示。



1. 一种便携式白细胞亚类检测方法,其特征在于,包括:

制备待检测的血液样本;

将所述血液样本放置于所述进样单元以将所述进样单元被推入便携式白细胞亚类检测装置内;

启动照明单元照射所述测试片;

实时采集光学显微镜单元放大的样本数据;

对所述图像获取单元获取到粒子图像进行粒子分析计数后对计数结果进行显示。

2. 根据权利要求1所述的便携式白细胞亚类检测方法,其特征在于,图像获取单元获取到粒子图像后,将图像送至图像处理单元进行粒子分析计数,图像处理单元主要包括:图像处理单元包括图像区域增强、粒子区域聚焦识别、聚焦粒子分割及ROI区域特征提取、粒子无监督聚类识别计数及浓度修正;

图像增强包括:根据仪器图像特点,采用高斯滤波及形态学开运算重构,完成待分析图像干扰物质去除及ROI区域增强;

粒子区域聚焦识别及分割包括:图像经过增强后,首先灰度均值阈值去除没有ROI区域的图像;以图像平面为x-y轴,图像深度为纵轴,结合最大类间方差法,分割出ROI区域,构建ROI区域图像序列;提取各深度ROI图像峰值,以图层深度为变量,峰值大小为因变量,建立深度-灰度值高斯曲线模型;曲线峰值对应的深度,即为此ROI聚焦所在图层,曲线波峰宽度即为此ROI区域纵向高度;获取ROI聚焦处图像及此ROI纵向高度,完成粒子区域聚焦识别及高度特征获取;对识别到的聚焦区域,模糊C均值聚类完成ROI区域边界精确提取;

ROI区域特征提取及亚类计数包括:

根据ROI边界信息,获取ROI区域面积、圆形成度,结合上一步提取到的高度特征,构建3维空间向量点,基于密度的DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) 聚类算法最终完成白细胞3亚类的计数:

对于给定数据集 $D = \{x^{(1)}, x^{(2)}, \dots, x^{(m)}\}$,对于对 $x^{(j)} \in D$,其 ϵ 邻域包含D中与 $x^{(j)}$ 的距离不大于 ϵ 的所有样本:

$$N_{\epsilon}(x^{(j)}) = \{x^{(i)} \in D \mid \text{dist}(x^{(i)}, x^{(j)}) \leq \epsilon\}$$

ϵ 邻域内样本个数最小值MinPts,若 $x^{(j)}$ 的 ϵ 邻域至少包含MinPts个样本, $|N_{\epsilon}(x^{(j)})| \geq \text{MinPts}$,则 $x^{(j)}$ 为一个核心对象;若 $x^{(j)}$ 位于 $x^{(i)}$ 的 ϵ 邻域中,且 $x^{(i)}$ 是核心对象,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度直达;密度直达关系通常不满足对称性,除非 $x^{(j)}$ 也是核心对象;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在样本序列 p_1, p_2, \dots, p_n ,其中 $p_1 = x^{(i)}$, $p_n = x^{(j)}$, p_1, p_2, \dots, p_{n-1} 均为核心对象且 p_{i+1} 从 p_i 密度直达,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度可达;密度可达关系满足直递性,但不满足对称性;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在 $x^{(k)}$ 使得 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 均由 $x^{(k)}$ 密度可达,则称 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 密度相连;密度相连关系满足对称性由密度可达关系导出的最大的密度相连样本集合C,簇C满足以下两个性质:

$$x^{(i)} \in C, x^{(j)} \in C \rightarrow x^{(i)} \text{与} x^{(j)} \text{密度相连};$$

$$x^{(i)} \in C, x^{(j)} \text{由} x^{(i)} \text{密度可达} \rightarrow x^{(j)} \in C;$$

具体实现过程如下:

a ROI区域面积、圆形成度及高度构建三维空点点特征,初始化特征点数据,为所有点赋值0属性,表示这个点尚未被访问;

b 根据白细胞标本数据,获取中性细胞、淋巴细胞、其它细胞点区间中心点坐标,初始化

簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 ;

c 创建与簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 对应的簇 C_1, C_2, C_3 ;

d 对于 C_1 中每一个对象,若有未被标记类别,则标记为 C_1 ;

e 对于 C_1 中每一个对象,其邻域内点未被标记的,密度相连点集密度可达点,均标记为类别 C_1 ;

f 重复d-e,直至 C_1 中所有类别被标记;

g 返回c,开始找下一个簇,直到所有点都被标记。

3. 根据权利要求1所述的便携式白细胞亚类检测方法,其特征在于,获取到粒子数量后,各类粒子浓度L可通过如下公式获取:

$$L = \frac{N_{cell} \omega^2}{AHM^2}$$

其中, N_{cell} 为DBSCAN聚类获取的各类粒子数目, ω 为光学放大倍数,A为图像像素个数,H为微流控芯片高度,M为图像每像素实际长度。

4. 一种便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,包括:

进样单元,用于承载装有血液样本的测试片;

照明单元,被配置为当所述进样单元被推入便携式白细胞亚类检测装置后照射所述测试片;

光学显微镜单元,包括能够上下运动的显微镜,所述显微镜可获取悬浮器皿内第一数量层平面图像;

图像获取单元,用于对所述显微镜放大的样本数据进行实时采集;

图像处理单元,用于对所述图像获取单元获取到粒子图像进行粒子分析计数;

结果显示单元,用于对图像处理单元计数结果进行显示。

5. 根据权利要求4所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,光学显微镜单元内包含一电机,所述电机带动显微镜上下运动,获取悬浮器皿内至少300层平面图像;所述电机固定在直线导轨上,所述电机转动带动齿轮在齿条上运动,实现加样测试模块的直线运动;装有镜片的光学模组竖直固定在所述直线导轨上,光学模组内置一第一偏心轮,第二电机组内配置第二偏心轮,第一偏心轮与第二偏心轮通过线接触,第二电机转动带动光学模组内第一偏心轮动,实现光学模组自上而下、再由下而上往返垂直运动。

6. 根据权利要求4所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,光学显微镜单元的光学放大率为1.5-10倍,透镜原件<5片。

7. 根据权利要求4所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,所述图像获取单元为CCD或CMOS。

8. 根据权利要求7所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,所述图像获取单元的有效像素不低于2M。

9. 根据权利要求4所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,所述图像处理单元被配置为进行图像区域增强、粒子区域聚焦识别、聚焦粒子分割、ROI区域特征序列构建、粒子无监督聚类识别计数及浓度修正。

10. 根据权利要求4所述的便携式白细胞亚类检测装置,其特征在于,所述结果显示单

元为LED显示屏。

一种便携式白细胞亚类检测装置及方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测技术领域,具体而言,涉及一种便携式白细胞亚类检测装置及方法。

背景技术

[0002] 血常规中的白细胞分析是临床区分细菌性感染和病毒感染以及感染严重程度必不可少的手段,临床上常根据白细胞计数结果来指导患者用药。便携式白细胞计数仪可以在最接近病患的地方,以最短的时间获得准确的诊断信息,有利于对疾病的及时诊断、监控和治疗,具有大型仪器不具备的时间和空间优势。

[0003] 对于便携式白细胞计数系统,现有技术主要有以下几种:①专利US5585246、②W097/02482公开了一种采用荧光染料和配位络合物给白血细胞作标记,激光源激发,测量荧光来确定白血细胞的数量的方法;③专利CN105228749A提出一种基于芯片、荧光的图像计数方法。该方法首先对血液样加入荧光染料,激光激发获取白细胞荧光图像数据。最后数据输送回计算机,由计算机对获取的白细胞图像采用阈值转换法和分水岭分割来获取细胞区域并计数;④《Lab on a chip》2013年13期第7卷1257-1266页提出一种基于微流体通道的白细胞计数分类方法。该方法设计了一种微流体通道,样品首先与荧光染料混合均匀,在通过微流体通道时,受激光引发产生红绿荧光。最后通过分析不同白细胞发出的红绿色光特征量来获取细胞数量;⑤US7086778B2、⑥US2014/0024107A1提出一种基于电阻抗法的细胞计数装置,该装置通过分析电压变化形成脉冲信号,获取细胞数量;⑦CN101137904B、⑧CN103471980B提出一种芯片式血细胞分析装置,采用电阻抗、高频电导及激光散射检测技术对白细胞进行计数分类;⑨CA2772376A1、⑩US20140024107A1⑪CN102216954通过改良图像聚焦方式,融合多个焦平面上细胞信息,降低单一焦点平面产生的漏检情况;⑫W02016/050755A2利用溶血剂将红细胞分解,染色剂对白细胞染色,图像阈值分割出白细胞区域,通过计数白细胞区域数目来评估血液样本白细胞浓度。

[0004] 综上所述,①②③④荧光染料法。主要根据白细胞与某些荧光染料相互作用下,特定激光激发产生荧光效应,来获取白细胞数量;⑤⑥电阻抗法。样本细胞穿过一个带电孔隙,通过分析电压变化形成脉冲信号,获取细胞数量;⑦⑧电阻抗+激光散射法。首先利用溶血剂去除红细胞,继而样本细胞穿过一个或多个激光束,及的带电孔隙。最后通过分析光散射信号、阻抗变化来估算白细胞数目及大小;⑨⑩⑪⑫光学显微镜法。通过拍摄低倍白细胞显微镜图像,图像处理分割出细胞区域来计数细胞数目。本发明提出的便携式粒子分析装置也是属于显微镜图像法,但较之⑨⑩⑪⑫所述方法和装置有一定的优化和改进。

[0005] 现有技术中,①②③④为荧光激发法。利用白细胞与某些荧光染料相互作用,特定激光激发产生荧光效应,来获取白细胞数量,但还存在着如下缺点:1)分析血样少于10u l,分析时血样加入稀释剂稀释,样本量太少无法精确代表整体情况;2)荧光染料复杂,激发光对人体有害;3)需要待白细胞处于毛细血管底部时才可以计数,计数等待时间长,速度慢;4)

仪器不够自动化：专利③需要配合计算机一起使用，不能实现白细胞实时检测，其图像分析模块位于计算机软件中。⑤⑥为电阻抗法。样本细胞穿过一个带电孔隙，通过分析电压变化形成脉冲信号，获取细胞数量。这种方法需要先人工分离出白细胞，再进行计数，设备虽然便携且成本低，但非专业人员无法操作，且前期白细胞分离操作繁琐。⑦⑧采用电阻抗+激光散射法，通过分析仪使用荧光信号、光散射信号和阻抗变化(库尔特效应(Coulter effect))的组合来检测和计数白细胞，这种方法下血液样本需要与专属试剂混合，并且需要配置精密的光电倍增管和流动通道来增强仪器检测精度。尽管专利⑦⑧尽可能的精简了装置构成来增强仪器的便携性，但仪器仍然不够便携，且这种方法技术复杂，成本高，不适合家庭使用。⑨⑩虽然采用图像法，但与⑤⑥一样，需要先分离出白细胞，操作繁琐。⑪⑫则先对血液样本加入溶血剂和染色剂，裂解掉红细胞，获取染色后白细胞低倍显微镜图像；不同的是⑪自动聚焦装置获取焦点位置细胞，虽然实现了白细胞亚类识别，但装置构造复杂，设备成本高；⑫则获取4x显微镜下单层图像，再通过固定阈值算法获取白细胞数目。虽然白细胞图像得到了显著的增强，但固定阈值算法无法分割出聚集细胞，白细胞计数误差大。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种便携式白细胞亚类检测装置及方法，以解决以上问题。

[0007] 本发明的实施例是这样实现的：

[0008] 本发明实施例的一方面，提供一种便携式白细胞亚类检测装置，包括：

[0009] 进样单元，用于承载装有血液样本的测试片；

[0010] 照明单元，被配置为当所述进样单元被推入便携式白细胞亚类检测装置后照射所述测试片；

[0011] 光学显微镜单元，包括能够上下运动的显微镜，所述显微镜可获取悬浮器皿内第一数量层平面图像；

[0012] 图像获取单元，用于对所述显微镜放大的样本数据进行实时采集；

[0013] 图像处理单元，用于对所述图像获取单元获取到粒子图像进行粒子分析计数。

[0014] 结果显示单元，用于对图像处理单元计数结果进行显示。

[0015] 可选地，光学显微镜单元内包含一进步电机装置，电机带动显微镜上下运动，获取悬浮器皿内至少300层平面图像；所述电机固定在直线导轨上，所述电机转动带动齿轮在齿条上运动，实现加样测试模块的直线运动；装有镜片的光学模组竖直固定在所述直线导轨上，光学模组内置一第一偏心轮，第二电机组内配置第二偏心轮，第一偏心轮与第二偏心轮通过线接触，第二电机转动带动光学模组内第一偏心轮动，实现光学模组自上而下、再由下而上往返垂直运动。

[0016] 可选地，光学显微镜单元的光学放大率为1.5-10倍，透镜原件<5片。

[0017] 可选地，所述图像获取单元为CCD或CMOS。

[0018] 可选地，所述图像获取单元的有效像素不低于2M。

[0019] 可选地，所述图像处理单元被配置为进行图像区域增强、粒子区域聚焦识别、聚焦

粒子分割、ROI区域特征序列构建、粒子无监督聚类识别计数及浓度修正。

[0020] 可选地,所述结果显示单元为LED显示屏。

[0021] 本发明实施例的另一方面,还提供一种便携式白细胞亚类检测方法,包括:

[0022] 制备待检测的血液样本;

[0023] 将所述血液样本放置于所述进样单元以将所述进样单元被推入便携式白细胞亚类检测装置内;

[0024] 启动照明单元照射所述测试片;

[0025] 实时采集光学显微镜单元放大的样本数据;

[0026] 对所述图像获取单元获取到粒子图像进行粒子分析计数后对计数结果进行显示。

[0027] 可选地,图像获取单元获取到粒子图像后,将图像送至图像处理单元进行粒子分析计数,图像处理单元主要包括:图像处理单元包括图像区域增强、粒子区域聚焦识别、聚焦粒子分割及ROI区域特征提取、粒子无监督聚类识别计数及浓度修正;

[0028] 图像增强包括:根据仪器图像特点,采用高斯滤波及形态学开运算重构,完成待分析图像干扰物质去除及ROI区域增强;

[0029] 粒子区域聚焦识别及分割包括:图像经过增强后,首先灰度均值阈值去除没有ROI区域的图像;以图像平面为x-y轴,图像深度为纵轴,结合最大类间方差法,分割出ROI区域,构建ROI区域图像序列;提取各深度ROI图像峰值,以图层深度为变量,峰值大小为因变量,建立深度-灰度值高斯曲线模型;曲线峰值对应的深度,即为此ROI聚焦所在图层,曲线波峰宽度即为此ROI区域纵向高度;获取ROI聚焦处图像及此ROI纵向高度,完成粒子区域聚焦识别及高度特征获取;对识别到的聚焦区域,模糊C均值聚类完成ROI区域边界精确提取;

[0030] ROI区域特征提取及亚类计数包括:

[0031] 根据ROI边界信息,获取ROI区域面积、圆形成度,结合上一步提取到的高度特征,构建3维空间向量点,基于密度的DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) 聚类算法最终完成白细胞3亚类的计数:

[0032] 对于给定数据集 $D = \{x^{(1)}, x^{(2)}, \dots, x^{(m)}\}$,对于对 $x^{(j)} \in D$,其 ϵ 邻域包含D中与 $x^{(j)}$ 的距离不大于 ϵ 的所有样本:

[0033] $N_{\epsilon}(x^{(j)}) = \{x^{(i)} \in D \mid \text{dist}(x^{(i)}, x^{(j)}) \leq \epsilon\}$

[0034] ϵ 邻域内样本个数最小值MinPts,若 $x^{(j)}$ 的 ϵ 邻域至少包含MinPts个样本, $|N_{\epsilon}(x^{(j)})| \geq \text{MinPts}$,则 $x^{(j)}$ 为一个核心对象;若 $x^{(j)}$ 位于 $x^{(i)}$ 的 ϵ 邻域中,且 $x^{(i)}$ 是核心对象,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度直达;密度直达关系通常不满足对称性,除非 $x^{(j)}$ 也是核心对象;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在样本序列 p_1, p_2, \dots, p_n ,其中 $p_1 = x^{(i)}$, $p_n = x^{(j)}$, p_1, p_2, \dots, p_{n-1} 均为核心对象且 p_{i+1} 从 p_i 密度直达,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度可达;密度可达关系满足直递性,但不满足对称性;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在 $x^{(k)}$ 使得 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 均由 $x^{(k)}$ 密度可达,则称 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 密度相连;密度相连关系满足对称性由密度可达关系导出的最大的密度相连样本集合C,簇C满足以下两个性质:

[0035] $x^{(i)} \in C, x^{(j)} \in C \rightarrow x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 密度相连;

[0036] $x^{(i)} \in C, x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度可达 $\rightarrow x^{(j)} \in C$;

[0037] 具体实现过程如下:

[0038] a ROI区域面积、圆形成度及高度构建三维空点点特征,初始化特征点数据,为所有点赋值0属性,表示这个点尚未被访问;

[0039] b根据白细胞标本数据,获取中性细胞、淋巴细胞、其它细胞点区间中心点坐标,初始化簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 ;

[0040] c创建与簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 对应的簇 C_1, C_2, C_3 ;

[0041] d对于 C_1 中每一个对象,若有未被标记类别,则标记为 C_1 ;

[0042] e对于 C_1 中每一个对象,其邻域内点未被标记的,密度相连点集密度可达点,均标记为类别 C_1 ;

[0043] f重复d-e,直至 C_1 中所有类别被标记;

[0044] g返回c,开始找下一个簇,直到所有点都被标记。

[0045] 可选地,获取到粒子数量后,各类粒子浓度L可通过如下公式获取:

$$[0046] \quad L = \frac{N_{cell} \omega^2}{AHM^2}$$

[0047] 其中, N_{cell} 为DBSCAN聚类获取的各类粒子数目, ω 为光学放大倍数,A为图像像素个数,H为微流控芯片高度,M为图像每像素实际长度。

[0048] 可选地,所述计数结果在显示单元显示于LED显示屏上。

附图说明

[0049] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,应当理解,以下附图仅示出了本发明的某些实施例,因此不应被看作是对范围的限定,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他相关的附图。

[0050] 图1为本发明便携式白细胞亚类检测方法一流程图;

[0051] 图2为便携式白细胞亚类检测装置示意图;

[0052] 图3为峰值高斯拟合结果;

[0053] 图4为三维DBSCAN聚类结果。

具体实施方式

[0054] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。通常在此处附图中描述和示出的本发明实施例的组件可以以各种不同的配置来布置和设计。

[0055] 因此,以下对在附图中提供的本发明的实施例的详细描述并非旨在限制要求保护的本发明的范围,而是仅仅表示本发明的选定实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0056] 请结合参照图1至图4,本发明提出一种便携式白细胞亚类检测方法、系统和装置,用于快速、准确、便捷的统计人体外周血白细胞亚类数量。技术路线如图1所示,具体实施实例如图2所示。其技术方案主要阐述如下:

[0057] 样本准备

[0058] 一次性毛细血管吸取病人指尖血 $10\mu\text{l}$,加入装有试剂的容器中与试剂混合均匀。

试剂由溶血剂,染色剂构成,干燥状态存储在试剂微管内。溶血剂用于裂解血液样本中红细胞,减少红细胞干扰,简化样本中白血细胞的区分和鉴定;染色剂用于对白细胞染色,加强白细胞与杂质背景的差异,提高后续检测精度。待血液样本与试剂充分混匀后,由移液枪加入测试片加样槽,混合液会在毛细作用下均匀布满测试片内腔。

[0059] 图像获取

[0060] 将装有血液样本的测试片放置在进样单元内并推入装置,照明单元打开,照射测试片。图像传感器初始化配置和动态设置,软件发送指令由CCD或CMOS对经过光学显微镜单元放大的样本数据进行实时采集、ISP处理及图像自动曝光,获取自动调整的高质量数字图像作为后面的算法模块的输入数据:

[0061] 电机1固定在直线导轨上,电机1转动带动齿轮在齿条上运动,实现加样测试模块的直线运动,测试片由进样单元推入装置。当加样单元模块运动到一定位置时,位置传感器感知发出指令,电机于指定位置停止;装有测试片的载架配备磁铁装置,当电机在指定位置停止时,磁铁发挥作用,使装有测试片的载架悬空吸附到相应的测试座上,样本完成进样;

[0062] 装有镜片的光学模组竖直固定在直线导轨2上,光学模组内置一偏心轮1,电机2组内配置偏心轮2。偏心轮1与偏心轮2通过线接触,电机2转动带动光学模组内偏心轮1动,实现光学模组自上而下、再由下而上往返垂直运动,cmos等时间间隔拍摄图像,完成对加样测试片高度范围内的不同深度的样本图像获取,所获取图像数量>200张;

[0063] LED模块负责供给测试片光源,保证图像获取所需光照,白细胞于图像上清晰显现。

[0064] 其中,进样单元为半自动进样;照明单元为LED照明,LED上面配有一个均光片,以保证光强的均匀分布;光学显微镜单元的光学放大率为1.5-10倍,优选10倍,透镜原件<5片,以保证被染色的白细胞于图像上清晰可见;图像传感器采集图像过程由图像获取单元内完成,所获取的图像有效像素不低于2M。

[0065] 图像处理及粒子识别

[0066] 图像获取单元获取到粒子图像后,将图像送至图像处理单元进行粒子分析计数。图像处理单元主要包括:图像处理单元包括图像区域增强、粒子区域聚焦识别、聚焦粒子分割及ROI区域特征提取、粒子无监督聚类识别计数及浓度修正。

[0067] ①图像增强

[0068] 根据仪器图像特点,采用高斯滤波及形态学开运算重构,完成待分析图像干扰物质去除及ROI区域增强。

[0069] ②粒子区域聚焦识别及分割

[0070] 图像经过增强后,首先灰度均值阈值去除没有ROI区域的图像;以图像平面为x-y轴,图像深度为纵轴,结合最大类间方差法,分割出ROI区域,构建ROI区域图像序列;提取各深度ROI图像峰值,以图层深度为变量,峰值大小为因变量,建立深度-灰度值高斯曲线模型。曲线峰值对应的深度,即为此ROI聚焦所在图层,曲线波峰宽度即为此ROI区域纵向高度。获取ROI聚焦处图像及此ROI纵向高度,完成粒子区域聚焦识别及高度特征获取。对识别到的聚焦区域,模糊C均值聚类完成ROI区域边界精确提取。

[0071] ③ROI区域特征提取及亚类计数

[0072] 根据ROI边界信息,获取ROI区域面积、圆形度,结合上一步提取到的高度特征,构

建3维空间向量点,基于密度的DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) 聚类算法最终完成白细胞3亚类的计数:

[0073] 对于给定数据集 $D = \{x^{(1)}, x^{(2)}, \dots, x^{(m)}\}$,对于对 $x^{(j)} \in D$,其 ϵ 邻域包含D中与 $x^{(j)}$ 的距离不大于 ϵ 的所有样本:

[0074] $N_{\epsilon}(x^{(j)}) = \{x^{(i)} \in D | \text{dist}(x^{(i)}, x^{(j)}) \leq \epsilon\}$

[0075] ϵ 邻域内样本个数最小值MinPts,若 $x^{(j)}$ 的 ϵ 邻域至少包含MinPts个样本, $|N_{\epsilon}(x^{(j)})| \geq \text{MinPts}$,则 $x^{(j)}$ 为一个核心对象。若 $x^{(j)}$ 位于 $x^{(i)}$ 的 ϵ 邻域中,且 $x^{(i)}$ 是核心对象,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度直达。密度直达关系通常不满足对称性,除非 $x^{(j)}$ 也是核心对象;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在样本序列 p_1, p_2, \dots, p_n ,其中 $p_1 = x^{(i)}, p_n = x^{(j)}$, p_1, p_2, \dots, p_{n-1} 均为核心对象且 p_{i+1} 从 p_i 密度直达,则称 $x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度可达。密度可达关系满足直递性,但不满足对称性;对 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$,若存在 $x^{(k)}$ 使得 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 均由 $x^{(k)}$ 密度可达,则称 $x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 密度相连。密度相连关系满足对称性由密度可达关系导出的最大的密度相连样本集合C,簇C满足以下两个性质:

[0076] $x^{(i)} \in C, x^{(j)} \in C \rightarrow x^{(i)}$ 与 $x^{(j)}$ 密度相连;

[0077] $x^{(i)} \in C, x^{(j)}$ 由 $x^{(i)}$ 密度可达 $\rightarrow x^{(j)} \in C$ 。

[0078] 具体实现过程如下:

[0079] aROI区域面积、圆形成度及高度构建三维空点点特征,初始化特征点数据,为所有点赋值0属性,表示这个点尚未被访问;

[0080] b根据白细胞标本数据,获取中性细胞、淋巴细胞、其它细胞点区间中心点坐标,初始化簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 ;

[0081] c创建与簇核心对象 p_1, p_2 及 p_3 对应的簇 C_1, C_2, C_3 ;

[0082] d对于 C_1 中每一个对象,若有未被标记类别,则标记为 C_1 ;

[0083] e对于 C_1 中每一个对象,其邻域内点未被标记的,密度相连点集密度可达点,均标记为类别 C_1 ;

[0084] f重复d-e,直至 C_1 中所有类别被标记;

[0085] g返回c,开始找下一个簇,直到所有点都被标记。

[0086] 最后统计 C_i 中点数量,完成白细胞亚类计数。

[0087] 1) 白细胞亚类浓度计算

[0088] 获取到粒子数量后,各类粒子浓度L可通过如下公式获取:

$$[0089] \quad L = \frac{N_{cell} \omega^2}{AHM^2}$$

[0090] 其中, N_{cell} 为DBSCAN聚类获取的各类粒子数目, ω 为光学放大倍数,A为图像像素个数,H为微流控芯片高度,M为图像每像素实际长度。

[0091] 2) 结果显示

[0092] 粒子经图像处理单元计数修正后,计数结果在显示单元显示。显示单元由LED显示屏构成。

[0093] 为了验证本发明的可行性和有效性,采用本发明所提出的方法对10 μ l溶血染色白细胞图像采集及聚焦区域识别,所采集图像序列200幅,序列深度150 μ m,各序列图像大小为2130 \times 2120,图像放大倍数10x。

[0094] 采用本发明提出方法,图3为经裂解染色后白细胞部分序列图像,图4为图3稀疏化

后稀疏矩阵图像;其它细胞(红细胞、血小板等悬浮细胞)、悬浮粒子自动聚焦识别:发明提出的基于稀疏矩阵的粒子自动聚焦方法及系统不仅可以用于白细胞聚焦识别,对于一定体积内的红细胞、血小板等悬浮细胞粒子自动聚焦:通过获取多深度细胞/粒子序列图像(图像可以是4x、5x、8x、10x等,本方法对100x显微镜图像均有效),获取红细胞、血小板等悬浮细胞/粒子对应多深度图像后,提取同粒子/细胞(血小板)面积、圆形度及高度特征,三维DBSCAN聚类实现各粒子聚焦及识别。其中由于各细胞/粒子尺寸不同,可对方法中的三维DBSCAN核中心对象,完成对应目标识别计数。

[0095] 与现有上述技术相比,本发明有如下优点:

[0096] 通过偏心轮装置实现特定高度微小粒子多深度扫描,装置构成精简,器件成本低,便携度高;

[0097] 构建指定初始中心的三维DBSCAN聚类识别方法,避免高维识别及多维特征带来的计算时间问题,快速、有效、简洁的完成白细胞亚类识别及计数;

[0098] 本发明方法不需等待细胞自然沉降,避免了细胞下沉引起的相同x-y平面坐标,不同z深度的多细胞聚集从而影响高值样本检测精度问题,可以快速、自动获取自然沉降过程中处于焦点位置细胞图像,为后续细胞高精度分类识别提供基础。

[0099] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

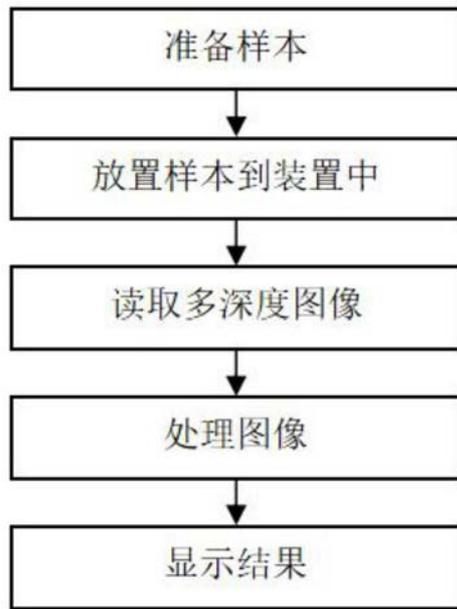


图1

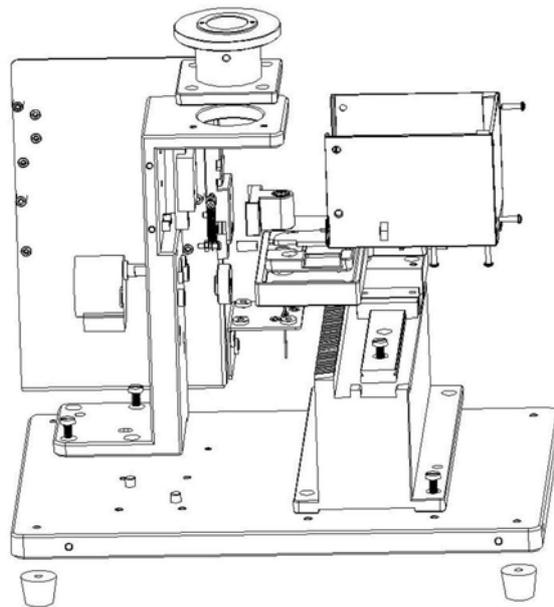


图2

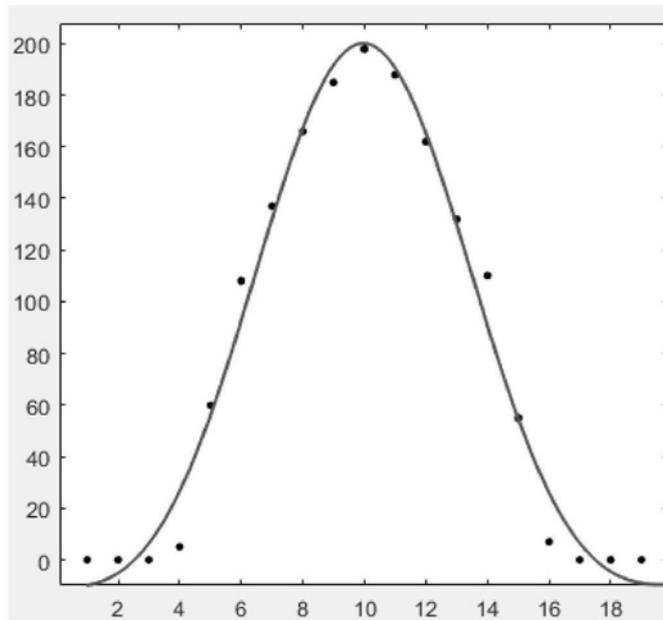


图3

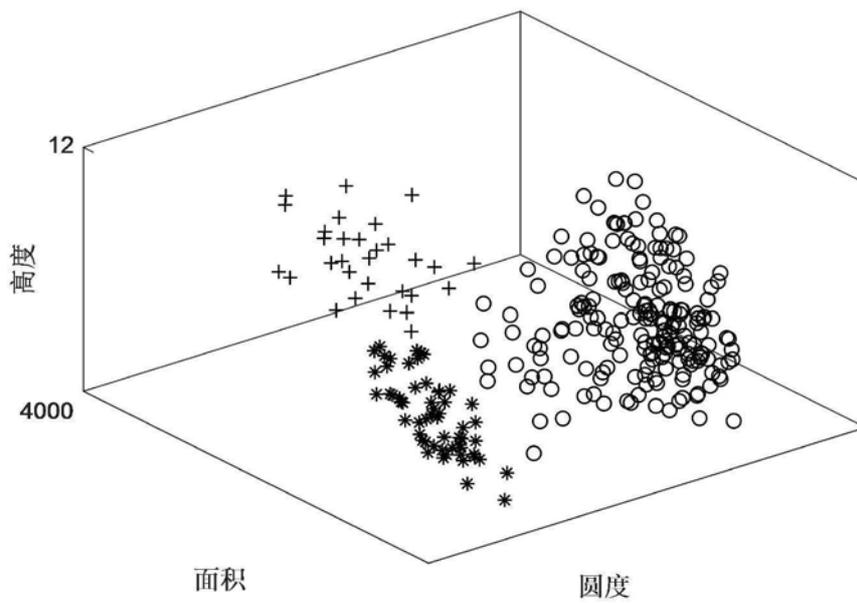


图4