

基于微流控芯片与智能算法的血液质量智能评价系统

杨玉平^{1,2}, 李顺波^{1*}

(1. 重庆大学 光电工程学院, 重庆 400044; 2. 重庆电子工程职业学院, 重庆 401331)

摘要: 为了解决当下血液(红细胞)质量评估需依托昂贵设备、大量人工和智能化程度不高等问题。本文提出了一个低成本、多分类、高精度、智能化的红细胞质量评估片上系统, 采用微流控技术和深度学习技术相结合, 将红细胞在降解过程中的形态划分为6个亚类, 经过对7天、21天和42天存储红细胞的图像采样, 进行了三组实验对比, 证明该系统的可行性和有效性。

关键词: 血液质量评价; 红细胞; 微流控芯片; 深度学习

Intelligent Blood Quality Evaluation System Based on Microfluidic Chip and Deep Learning Algorithm

Yuping Yang^{1,2}, Shunbo Li^{1*}

(1. College of Optoelectronic Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 2. Chongqing College of Electronic Engineering, Chongqing 401331, China.)

Abstract: Currently, there are lots of problems encountered in blood (red blood cell) quality evaluation, specifically relying on expensive equipment, a large amount of manual labor, and a low level of intelligence for evaluating the quality of red blood cells. This article proposes a low-cost, multi classification, high-precision, and intelligent red blood cell quality assessment system based on microfluidic chip. By combining microfluidic technology and deep learning technology, the morphology of red blood cells during the degradation process is divided into 6 subcategories. After sampling images of red blood cells stored for 7, 21, and 42 days, three sets of experiments are compared to prove the feasibility and effectiveness of the system.

Keywords: Blood quality evaluation; Red blood cell; Microfluidic chip; Deep learning

1 引言

在临床医学中, 红细胞是输血治疗过程中主要补充的血细胞, 一般采用的是提前存放在血库的储存红细胞。储存红细胞在储存过程中会有一定程度的降解和损伤。红细胞质量的好

坏对输血治疗病人的康复效果有直接的影响。因此，对红细胞好坏程度的质量评价具有重要意义。

对红细胞检测的传统方法有显微镜、图像流式细胞仪、电子显微镜或基于生化物理分析方法的细胞分析仪等，其中，通过红细胞形态变化来判断红细胞是否异常、异常程度是红细胞检测的重要有效手段之一。红细胞在降解过程中，其形态首先会从规则正常的平滑圆盘状（边缘光滑）可逆地变形为皱纹圆盘状（边缘轻微褶皱）和皱纹盘状（边缘严重褶皱），接着可逆地变形为皱纹球状（针状球体），最后进一步不可逆地降解为皱纹球体（皱纹圆球）和光滑球体（光滑圆球）^[1]，对这些形态变化检测的结果可作为红细胞质量判断的依据。Zheng 等人^[2]采用微流控芯片技术和高速摄影设备的方法在微流场中获取红细胞动态变形图像进行血液质量评估。Zhang 等人^[3]通过微流控芯片、显微镜和超高速同步分幅光电相机构建了一个新的研究平台来评估储存血液中红细胞形态，实现质量评估。Pinto 等人^[4]提出了一个 RBC 形态学图像分割模板（RBC-MIST），利用成像流式细胞术（IFC）采集储存红细胞形态图像，进而评估红细胞质量。Minh Doan 等人^[5]利用无标记成像流式细胞仪进行红细胞图像采集，再利用深度学习 ResNet50 模型对不同的红细胞形态进行识别分类，进而完成红细胞质量评估。以上红细胞质量评估方法要么需依托昂贵的设备，要么需要大量人工操作，智能化程度不高。

本文提出了一个低成本、多分类、高精度、智能化的红细胞质量评估片上系统，采用微流控技术和深度学习相结合，有效可控地解决了红细胞重叠、粘连、聚集对检测效果、计数带来的负面影响，实现了对红细胞动态连续变化形态的多分类计数，在提高整个质量评估智能化水平的同时，也大大降低了质量评估成本。

2 材料和方法

2.1 微流控芯片制作

为避免红细胞的重叠、粘连和聚集，设计了 35 μm 、25 μm 和 15 μm 的不同微通道高度的芯片，最终发现 15 μm 高度的微通道可以使红细胞有较好的离散度。

2.2 样本的来源及准备

红细胞样本来源于重庆大学附属肿瘤医院。从医院获得储存红细胞样本后，第一时间制作红细胞样本溶液，并将多余的储存红细胞储存在和医院一样的储存温度条件下（2-4 摄氏度），取储存红细胞 10 μl 按 1: 500 的体积比加入 PBS 缓冲液（购买获得）制成红细胞溶液。

2.3 红细胞图像数据集

本文将制作好的红细胞溶液通入微流控芯片中，将芯片放置于显微镜载物台上，微通道中段的红细胞图像采样区置于显微镜物镜正下方，显微镜放大倍数为 400 倍，调整好图像采样软件的设置并进行红细胞图像采样。采用通用图像标注软件 LabelImg 对各亚类红细胞进行标注，将红细胞图像及对应的标注文件最后按 8: 1: 1 的比例划分训练集、验证集和测试集。根据文献（5）介绍的 6 种红细胞形态为标准来划分红细胞类别，将红细胞分为 6 个形态亚类：平滑圆盘状（Smooth Disc, SDC）、皱纹圆盘状（Crenated Disc, CDC）、皱纹盘状（Crenated Discoid, CDD）、皱纹球状（Crenated Spheroid, CSD）、皱纹球体（Crenated Sphere, CSE）、光滑球体（Smooth Sphere, SSE），如图 1 所示。

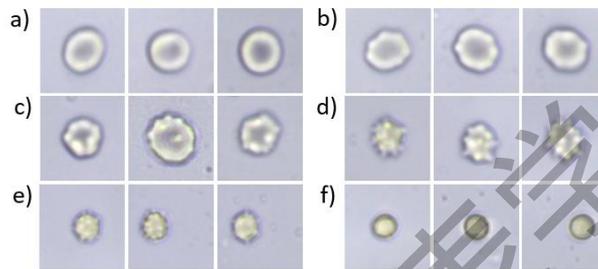


图 1 红细胞 6 个形态亚类：a) 平滑圆盘状（SDC）；b) 皱纹圆盘状（CDC）；c) 皱纹盘状（CDD）；d) 皱纹球状（CSD）；e) 皱纹球体（CSE）；f) 光滑球体（SSE）

2.4 深度学习目标检测模型搭建

本文采用了深度学习目标检测模型 YOLOv4，为了得到更好的红细胞图像特征提取效果，分别采用 CSPdarknet^[6]、Ghostnet^[7]、VGG19^[8]、Mobilenet^[9]作为 YOLOv4 的主干网络进行了训练和验证实验，最终优选 Ghostnet 作为 YOLOv4 的主干特征提取网络，并采用 Mish 激活函数进行了优化。实验使用 Tensorflow-GPU 框架下的 Keras 进行的模型搭建。

2.5 模型训练及验证

用于训练 YOLOv4 模型的电脑配置为：2.60GHz Intel(R) Core(TM) i7-9750H CPU、16GB RAM、16GB 内存的 NVIDIA GeForce GTX1660Ti 图形卡和具有 1.5T 容量的硬盘；Windows10 操作系统，安装有虚拟环境管理器 Anaconda3、代码编辑软件 Pycharm2020.2，采用 Python3.6.5 编写算法代码。训练设置为 60 个 Epoch，批次大小为 2，初始学习率为 10⁻⁴，采用 Adam 优化器，momentum 设为 0.9；为了评估训练的 YOLOv4 性能，在给定数据集大小的情况下，采用了 5 倍交叉验证方案。

2.6 储存红细胞质量评估

本文将采用文献（4）中的形态指数 MI（Morphological index）计算方法来评估红细胞质量，如公式（1）所示。将平滑圆盘状红细胞、皱纹圆盘状红细胞、皱纹盘状红细胞、皱纹球状红细胞、皱纹球体红细胞、光滑球体红细胞的权重分别设置为 1.0、0.8、0.6、0.4、

0.2、0.2。

$$MI(\%) = \frac{[(1.0 \times SDC) + (0.8 \times CDC) + (0.6 \times CDD) + (0.4 \times CSD) + (0.2 \times CSE) + (0.2 \times SEE)]}{SDC + CDC + CDD + CSD + CSE + SEE} \times 100$$

(1)

式中，SDC、CDC、CDD、CSD、CSE 和 SSE 分别表示通过 YOLOv4 识别出来的平滑圆盘状红细胞、皱纹圆盘状红细胞、皱纹盘状红细胞、皱纹球状红细胞、皱纹球体红细胞、光滑球体红细胞的数目。

3 实验结果

3.1 检测识别效果

为了测试 YOLOv4 模型在训练之后检测红细胞的效果，进行了三组实验，第一组实验是在红细胞储存 7 天后进行，第二组实验是在红细胞储存 21 天后进行，第三组实验是在红细胞储存 42 天后进行。将采集到的三组不同时间的红细胞图像通过 YOLOv4 模型进行检测识别，最终检测效果如图 2 所示。

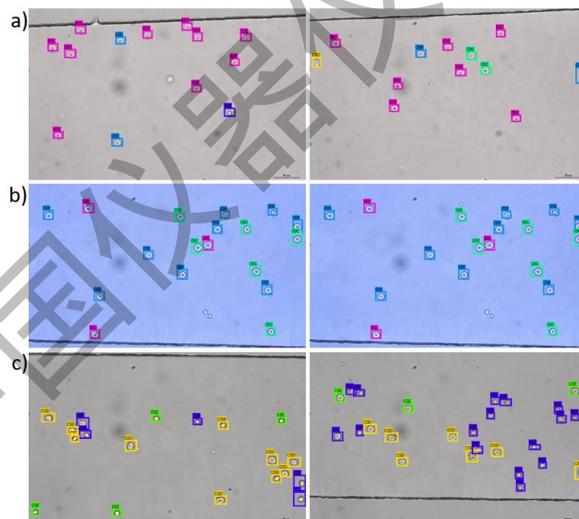


图 2 YOLOv4 检测红细胞各形态亚类的效果：a) 第一组实验红细胞图像检测效果；b) 第二组实验红细胞图像检测效果；c) 第三组实验红细胞图像检测效果

3.2 红细胞质量评价结果

红细胞质量评价是本研究的最终目的，通过对 7 天、21 天和 42 天三组储存红细胞图像的采集，每组挑选出 30 张红细胞图像进行检测并计算红细胞质量指标 MI，经过检测并通过公式 (1) 计算得到第一组为 84.34%，第二组为 73.23%，第三组为 25.31%。结果证明我们提出的方法能很好的表征血液质量的差异，存储时间越长，红细胞降解越严重。

4 结论

我们的工作旨在提出一种低成本、多分类、无标记、高精度、智能化的红细胞质量评估方法。相比于已报道的方法，本文提出的方法能利用最简单和低成本的系统实现血液质量的快速评价。另外，通过实验证明，该方法对血液质量评价是可行、有效的，对临床输血治疗有非常重要的指导意义。

参考文献

- [1] ROUSSEL C, DUSSIOT M, MARIN M, et al. Spherocytic shift of red blood cells during storage provides a quantitative whole cell-based marker of the storage lesion [J]. *Transfusion*, 2017, 57(4): 1007-18.
- [2] ZHENG Y, CHEN J, CUI T, et al. Characterization of red blood cell deformability change during blood storage [J]. *Lab on a chip*, 2014, 14(3): 577-83.
- [3] ZHANG Q, LI Z R, ZHAO S M, et al. Analysis of red blood cells' dynamic status in a simulated blood circulation system using an ultrahigh-speed simultaneous framing optical electronic camera [J]. *Cytom Part A*, 2017, 91A(2): 126-32.
- [4] PINTO R N, SEBASTIAN J A, PARSONS M J, et al. Label-Free Analysis of Red Blood Cell Storage Lesions Using Imaging Flow Cytometry [J]. *Cytom Part A*, 2019, 95(9): 976-84.
- [5] DOAN M, SEBASTIAN J A, CAICEDO J C, et al. Objective assessment of stored blood quality by deep learning [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(35): 21381-90.
- [6] BOCHKOVSKIY A, WANG C Y, LIAO H. YOLOv4: Optimal Speed and Accuracy of Object Detection [J]. *IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, 2020.
- [7] HAN K, WANG Y, TIAN Q, et al. GhostNet: More Features From Cheap Operations [J]. *2020 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, 2020.
- [8] SIMONYAN K, ZISSERMAN A. Very Deep Convolutional Networks for Large-Scale Image Recognition [J]. *International Conference on Learning Representations(ICLR)*, 2014.
- [9] HOWARD A, SANDLER M, CHEN B, et al. Searching for MobileNetV3 [J]. *2020 IEEE/CVF International Conference on Computer Vision (ICCV)*, 2020.