

白细胞五分类的光学信号检测与处理系统设计

万里霞 龙伟 张星原 卢斌

南昌大学信息工程学院, 江西 南昌 330031

摘要 在五分类血液分析仪研发领域中,虽然白细胞的分类方式多样,仪器的功能也相对比较完善,但大多数仪器的结构设计复杂,外部干扰因素多,稳定性和精密度难以得到保障。为此,提出了一种应用于白细胞五分类的信号检测与处理系统,该系统采用全光学技术对细胞进行参数检测,将得到的前侧光散射量(FSC)与轴向光吸收量(ALL)作为细胞的特征量,并设计出光电转换电路、滤波及放大电路和模拟/数字(A/D)转换电路,最终完成了对白细胞的五分类工作,采用该技术的血液分析仪样机具有结构简单,可靠性高的特点。测试结果表明,样机对白细胞分类的相关性 r 较好,且仪器的精密度与国外高档五分类血液分析仪 Mythic 22 接近,仪器的功能和性能比较完善。

关键词 医用光学; 血液分析仪; 五分类; 全光学检测; 特征量; 相关性

中图分类号 TP212 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP52.031701

Optical Signal Detection and Processing System for WBC Five Classification

Wan Lixia Long Wei Zhang Xingyuan Lu Bin

School of Information Engineering, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330031, China

Abstract There are many white blood cell (WBC) classification methods in the research and development field of five classification blood analyzer and their functions are relatively perfect, but the majority of instrument structure is complex, and has more interference factors, and thus their stability and precision can not be guaranteed as a result. Therefore, an optical signal detection and processing system that is applied to the WBC five classification and uses the full-optical detection technology is proposed, taking the front side light scattering (FSC) and axial light absorption (ALL) as characteristics of cells, the photoelectric conversion circuit, filter and amplification circuit and analog/digital (A/D) conversion circuit are designed, and the five classification of WBC is completed. The blood analyzer using this system has the advantages of simple structure and high reliability. The test results show that the correlation r of the system for WBC classification is good, and the precision of the instrument is closed to Mythic 22, which is a high-grade five classification blood cell analyzer, and the function and performance of the instrument is perfect.

Key words medical optics; blood analyzer; five classification; full-optical detection; characteristics; correlation

OCIS codes 170.1530; 170.3890; 120.3890; 120.4570

1 引言

目前国内大部分血液分析仪的研制还停留在三分类的基础上,随着临床检验与诊断对医疗器械的要求越来越高,三分类血液分析仪在临床实践中的局限性及缺点日益明显,与此同时,各种新的白细胞(WBC)分类技术被发现与应用,对白细胞进行五分类或更多参数分析的仪器已经普及于国内各级医院的实验室中,极大地提高了临床诊断和治疗服务质量^[1-3]。

在临床检验领域,白细胞通常分为中性粒细胞(NEU)、淋巴细胞(LYM)、单核细胞(MON)、嗜酸性粒细胞(EOS)和嗜碱性粒细胞(BAS)5种类型。在设计原理上,大多数五分类血液分析仪主要采用体积、电导、激光

收稿日期: 2014-08-27; 收到修改稿日期: 2014-10-17; 网络出版日期: 2015-02-10

基金项目: 国家自然科学基金(61261011)

作者简介: 万里霞(1990—),男,硕士研究生,主要从事计算机控制与嵌入式智能仪表技术等方面的研究。

E-mail: 1240147131@qq.com

导师简介: 龙伟(1952—),男,教授,主要从事自动化控制技术、光机电一体化技术和医学检验技术等方面的研究。

E-mail: 13803535927@163.com

散射血细胞分析(VCS)探针法、多角度偏振光散射白细胞分类技术(MAPSS)法和图像分析法等^[4-5],且均能完成对细胞体积、细胞内容物(细胞核、细胞颗粒)的分析,对白细胞群的五分类也比较准确。但此类仪器对某些精密部件的依赖程度较大,制造成本高,同时仪器的测试、分析过程比较复杂,对检验人员的操作水平、分析能力要求较高,此外,仪器对异常细胞的识别能力也存在缺陷。

本文设计了一种白细胞五分类的光学信号检测与处理系统,该系统采用全光学技术完成对细胞特征的检测,得到前侧光散射量(FSC)和轴向光吸收量(ALL)两路光学信号,再经过光电转换、信号滤波及放大和模拟/数字(A/D)转换,通过分析这两路光学信号,实现了白细胞群五分类功能,解决了目前某些五分类血液分析仪存在的硬件系统结构复杂、制造成本高等问题。样机的测试结果表明,该光学信号检测与处理系统具有较高的识别准确度,且仪器的性能稳定可靠,抗干扰能力强,对国内低价格高性能血液分析仪的研制具有一定的参考价值。

2 五分类血液分析仪的结构及相关工作流程

五分类血液分析仪的结构如图1所示,仪器主要由采血机构、红细胞(RBC)通道、WBC通道和光学信号检测与处理系统等组成。采血机构主要完成对血液样本的采集、稀释和混匀处理;RBC通道采用电阻抗法完成样本中RBC与血小板(PLT)的计数;WBC通道完成样本中血红蛋白(HGB)与WBC的检测,其中HGB浓度的测量采用比色法;光学信号检测与处理系统主要利用激光散射技术完成样本中白细胞群的五分类工作。

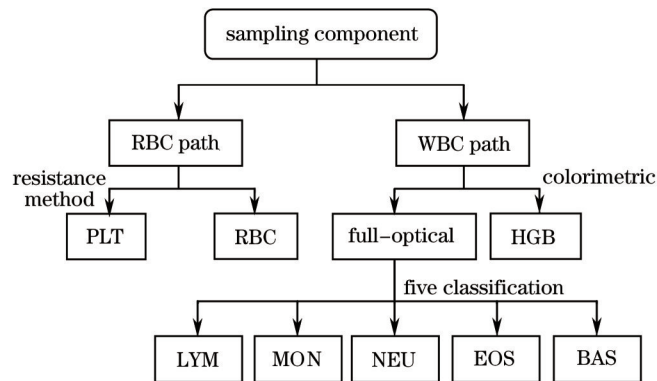


图1 五分类血液分析仪的结构

Fig.1 Structure of five classification blood analyzer

光学信号检测与处理系统是五分类系统的核心部分,其工作流程为:仪器进行开机初始化,采血机构吸取定量的血液样本,经过稀释、混匀、溶血等一系列处理之后,样本进入血样处理系统,让每个白细胞依次通过激光检测区,在激光的照射下得到FSC与ALL,这两路光学数据经过光学检测电路的处理后发送至

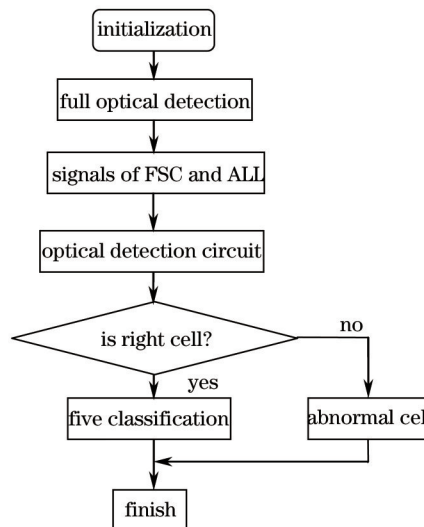


图2 光学信号检测与处理系统的测试流程

Fig.2 Test procedure of optical signal detection and processing system

上位机,并由上位机对接收到的相关数据进行统计和分析,最终完成白细胞五分类的测试工作。

3 全光学技术应用介绍与信号处理过程

全光学技术,又称为激光鞘流技术,根据流体力学的基本原理,将白细胞在流动鞘液的作用下排成一列,然后每个白细胞依次通过激光束中心以完成细胞的检测^[6-8]。设计的光学信号检测与处理系统采用了该技术,整个系统主要由血样处理系统和光学检测机构两部分组成。

血样处理系统采用瑞士奥菲公司研发设计的样品细分器,内部结构如图3所示,主要由高压注射器、激光束、光学窗和被动鞘流组成。系统具体检测过程为:待测血液样本完成稀释、混匀和溶血处理之后,导入流动池,再进入高压注射器中。由于高压注射器的喷嘴为一毛细管,使经过高压注射器喷射出来的样本流变为由白细胞组成的单细胞列,每个白细胞依次进入激光束中心完成细胞成分检测。图3中被动鞘流的作用是防止已检细胞重新返回检测区,并将待检细胞维持在正常形态。

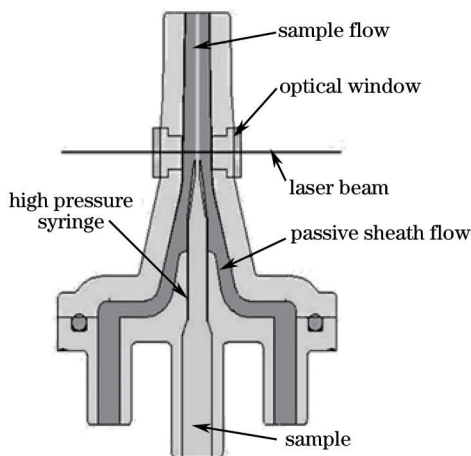


图3 血样处理系统的结构图

Fig.3 Structure diagram of sample processing system

在血样处理系统的光学窗中内置一个激光源,系统工作时该激光源可发射出波长为460 nm的蓝光,激光光斑直径大小为 $(30\pm 3)\ \mu\text{m}$,发射方向与样本流的喷射方向成 90° 夹角,激光束照射样本流后分为轴向光(反射光线)和前侧光(透射光线),二者分别由光电二极管接收并通过信号处理电路进行数据转换与传输,整个系统光程为7.45 mm。当白细胞通过光学检测区时,光学系统对其进行两项测试,轴向消光检测和前侧光散射检测。光学信号接收过程由光电转换电路完成,测试完成之后可得到ALL和FSC两种信号。由激光散射原理可知,FSC与细胞的体积大小成正比,ALL与核质比成分有关^[9-11]。参考文献[9]对物质表面的激光散射特性进行了研究,并提出一种三维测量方法用于确定目标物的几何参数;参考文献[10]对激光散射的光学参数进行了优化求解,并建立高适应性的识别模型,为微小物质的识别提供了一种新的思路;参考文献[11]通过临床实验的方式比较了激光散射法与传统的电阻抗法对PLT计数的准确度差异,并列出了激光散射法在血细胞计数方面的优势。因此,可将上述得到的FSC与ALL信号作为测量坐标轴,测量的结果将产生一个高分辨点阵,如图4所示,其中横坐标为ALL,纵坐标为FSC。由于细胞间的FSC与ALL信号量不尽相同,对该

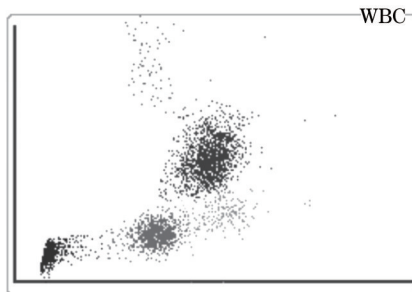


图4 FSC与ALL信号产生的高分辨点阵

Fig.4 High resolution lattice generated by FSC and ALL

点阵进行适当的区域划分即可实现白细胞群五分类,具体操作方法为:对大量已人工分类的血液样本进行测试并得到高分辨点阵图,根据 NEU、LYM、MON、EOS、BAS 的体积与核质比的不同,采用期望最大化(EM)聚类算法对 5 种白细胞的分布区域进行划分,然后在待测血液样本的点阵图中统计各分布区域中的数据个数,即可完成白细胞的五分类工作。

4 光学信号转换与处理电路的设计

在激光检测过程中得到的 FSC 与 ALL 信号均为光信号,实际应用中需要将其转换成电信号才能进行数据的传输和处理^[12-15]。实验中设计了光电转换电路、滤波及放大电路和 A/D 转换电路来完成两路光学信号的处理工作。

4.1 光电转换电路

光电转换电路的结构如图 5 所示,电路主要由光电二极管 D1 和放大器芯片 AD795 构成。D1 接收来自光学窗发射的激光信号(FSC 或 ALL),将光信号转换为电流信号,经过 R1、R2、R3 的作用可输出一个电压 V_OUT,其值为 0.2 ~ 3 mV,频率为 500 ~ 70000 Hz。

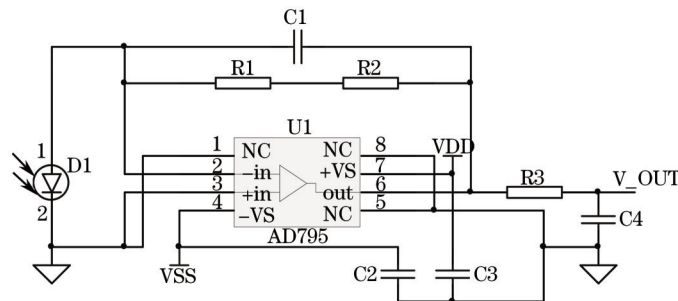


图 5 光电转换电路

Fig.5 Photoelectric signal conversion circuit

4.2 滤波及放大电路

由光电转换电路得到的电压信号 V_OUT 很小,为满足 A/D 芯片模数转换的条件,需进行滤波和放大处理,该部分电路的原理图如图 6 所示。

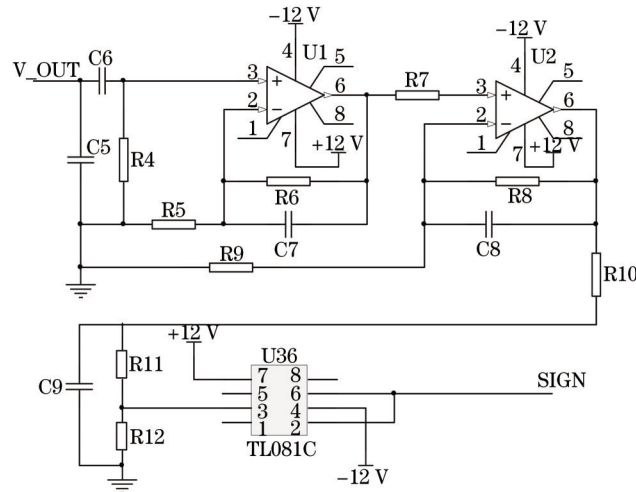


图 6 电压滤波及放大电路

Fig.6 Voltage filter and amplification circuit

在图 6 中, R4 与 C6 构成高通滤波器,其下限截止频率为

$$f_h = \frac{1}{2\pi R_4 C_6} \approx 160 \text{ Hz} . \quad (1)$$

因此该滤波器可有效滤除 V_OUT 的工频信号。U1、U2 构成两级放大器,其放大倍数为

$$A = A_1 A_2 \cdot \frac{R_{10} + R_{11}}{R_{10} + R_{11} + R_{12}} = \frac{R_6 \cdot R_8}{R_5 \cdot R_9} \cdot \frac{R_{10} + R_{11}}{R_{10} + R_{11} + R_{12}} \approx 1650 . \quad (2)$$

经过放大后,输出的电压信号大小为 0.9~4.95 V,满足了 A/D 芯片的输入要求。

4.3 A/D 转换电路

经过放大、滤波得到的电压信号,还需经过 A/D 转换方能使用计算机进行分析处理。A/D 转换电路如图 7 所示。

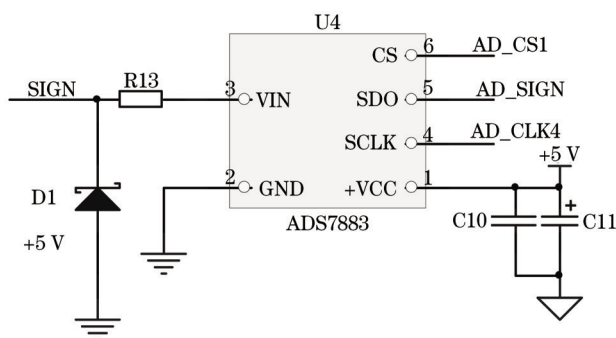


图 7 A/D 转换电路

Fig.7 A/D conversion circuit

在图 7 中, D1 为 5 V 稳压二极管, U4 为 12 位逐次比较型(SAR)串行 A/D 转换器,其工作时序如图 8 所示。

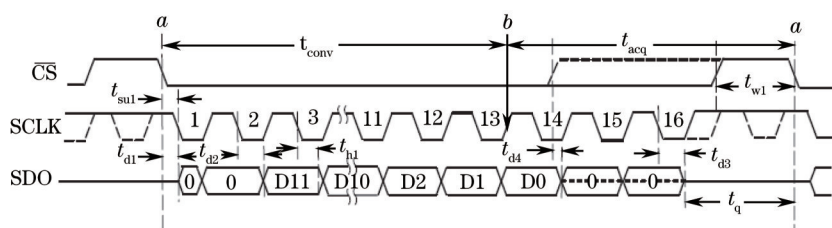


图 8 ADS7883 的时序图

Fig.8 Timing diagram of ADS7883

具体的工作过程为:A/D 芯片接收到来自控制器的串行时钟信号 SCLK 并开始工作,当片选信号 CS 引脚变为低电平,A/D 采样和模数转换开始,当 CS 为高电平时,A/D 采样和模数转换结束。在模数转换的同时,A/D 通过 SDO 数据线向控制器发送数据,每帧数据由两个前置的 0、12 位数据和两个后置的 0 组成。A/D 采样的示波器检测信号如图 9 所示,其中第一路信号代表时钟信号 SCLK,第二路信号代表片选信号 CS,第三路信号代表串行数据 SDO。

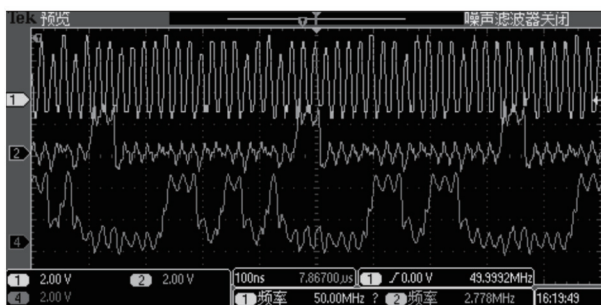


图 9 A/D 采样的示波器检测信号

Fig.9 Oscilloscope detection signal of A/D

5 测试结果与分析

在临床检验领域,WBC 五分类的相关性 r 与精密度(CV)是评价五分类血液分析仪的重要指标^[16-17]。为验证设计的光学信号检测与处理系统的性能,按照《中华人民共和国医药行业标准——血液分析仪》的检验方法,检验人员在某二甲医院检验科采集 20 位患者的血液样本,每位患者取两份样本分别用于手工法和仪器法的测试,仪器测试得到的相关性数据如表 1 所示。对该仪器的精密度进行测试,并与国外高档五分类血液分析仪 Mythic 22 进行对比分析,二者的 WBC 分类精密度测试结果如表 2、表 3 所示。

表1 系统相关性检测结果

Table 1 Correlation result of the system

Item	Mean /%		Slope a	Intercept b	r
	Instrument	Manual			
NEU	64.87	64.90	0.917	1.973	0.9335
LYM	23.63	23.72	0.902	4.683	0.9531
MON	9.31	9.19	0.499	4.976	0.6873
EOS	1.72	1.75	0.047	0.935	0.9277
BAS	0.47	0.44	0.261	0.467	0.4573

表2 系统精密度检测结果

Table 2 Precision result of the system

Item	Times	x /%	SD	CV /%
NEU	20	65.97	0.54	0.81
LYM	20	26.62	0.56	2.10
MON	20	5.35	0.29	5.42
EOS	20	1.39	0.07	5.03
BAS	20	0.67	0.04	5.97

表3 Mythic 22精密度检测结果

Table 3 Precision result of Mythic 22

Item	Times	x /%	SD	CV /%
NEU	20	66.57	0.52	0.78
LYM	20	25.69	0.51	1.98
MON	20	5.48	0.27	4.92
EOS	20	1.55	0.06	3.87
BAS	20	0.71	0.04	5.63

由表1可知,本文提出的检测系统对项目NEU、LYM、BAS的相关性 $r > 0.9$,其余两项相关性偏低,原因是MON与BAS在血液中数目较少,且仪器法与手工法存在一定的测试偏差,这些偏差在允许的范围之内,故仪器整体的相关性较好。由表2、表3可知,装有该检测系统的样机与国外高档五分类血液分析仪Mythic 22的测试精密度接近,系统的性能稳定可靠,测试数据可信度高。

6 结 论

提出了一种用于白细胞五分类的光学信号检测与处理系统,并详细介绍了该系统的检测原理和信号检测电路的设计过程。该系统创新地将传统五分类的三维模型转换为由FSC与ALL两路光学信号构成的二维模型,降低了系统结构的复杂程度,简化了白细胞群的五分类过程。该系统目前已成功应用在某五分类血液分析仪的样机中,样机顺利通过江苏省医疗器械检验所的注册检验,且仪器性能稳定可靠,功能也逐渐得到完善。

参 考 文 献

- 1 Gao Feng. Development and application of modern full-automatic blood analyzer examination technology[J]. Chinese Journal of Medical Instrumentation, 2010, 34(6): 436-441.
高 枫. 现代全自动血液分析仪检测技术的发展和应[J]. 中国医疗器械杂志, 2010, 34(6): 436-441.
- 2 L Giuseppe, C Clarissa, B Anna, *et al.*. Evaluation of the fully automated hematological analyzer Sysmex XE-5000 for flow cytometric analysis of peritoneal fluid[J]. Journal of Laboratory Automation, 2013, 18(3): 240-244.
- 3 B Lauren. Factors affecting hemoglobin measurement[J]. Journal of Clinical Monitoring and Computing, 2013, 27(5): 499-508.
- 4 Zhu Gendi, Xu Xin. Development of five-classification technology in hematology analysis[J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2009, 30(6): 105-111.

- 朱根娣, 许 忻. 血细胞五分类技术及其应用进展[J]. 医疗卫生装备, 2009, 30(6): 105-111.
- 5 Wang Kun, Shi Huoquan. Implementation of photoelectric detection circuit for five classification of WBC[J]. Electronic Design Engineering, 2012, 20(15): 170-175.
王 坤, 施火泉. 实现白细胞五分类的光电检测电路设计[J]. 电子设计工程, 2012, 20(15): 170-175.
- 6 Sun Han, Grazia Lamanna, Bernhard Weigand. Measurement technique and verification of accuracy for particle sizing by low angle elastic light scattering[J]. Chinese J Lasers, 2013, 40(3): 0308004.
孙 晗, Grazia Lamanna, Bernhard Weigand. 小角弹性光散射粒径测量技术与准确性验证[J]. 中国激光, 2013, 40(3): 0308004.
- 7 Bu Min, Wang Yawei, Jin Weifeng, *et al.*. Effect of scattering intensity modulation on the study of cell morphology[J]. Chinese J Lasers, 2011, 38(11): 1104001.
卜 敏, 王亚伟, 金卫凤, 等. 单核细胞散射光强调制在细胞形态研究中的作用[J]. 中国激光, 2011, 38(11): 1104001.
- 8 Ge Baozhen, Pan Linchao, Zhang Fugen, *et al.*. Abnormal moving of scattered energy distribution and its effect on particle size analysis[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(6): 0629001.
葛宝臻, 潘林超, 张福根, 等. 颗粒散射光能分布的反常移动及其对粒度分析的影响[J]. 光学学报, 2013, 33(6): 0629001.
- 9 Huang Chengong, Wu Junhui, Zhao Linfeng, *et al.*. A 3D measuring technique of laser scattering characteristic data for surface[J]. Chinese J Lasers, 2012, 39(7): 0708004.
黄成功, 吴军辉, 赵琳锋, 等. 一种表面激光散射特性数据三维测量方法[J]. 中国激光, 2012, 39(7): 0708004.
- 10 Chen Yudan, Zhang Weian, Chen Yucheng, *et al.*. Laser scattering characteristic of several object samples[J]. Journal of Applied Optics, 2011, 32(6): 1251-1256.
陈玉丹, 张维安, 陈玉成, 等. 多类目标样片激光散射特性研究[J]. 应用光学, 2011, 32(6): 1251-1256.
- 11 Jiao Ruibao, Li Na, Liu Na, *et al.*. Comparison of laser scattering method and resistance method in whole blood platelet count[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2013, 17(11): 1887-1889.
焦瑞宝, 李 娜, 刘 娜, 等. 激光散射法和电阻抗法在全血血小板计数中的比较[J]. 安徽医药, 2013, 17(11): 1887-1889.
- 12 Xu Lei, Shi Weiduo, Wang Jun, *et al.*. Design of photoelectric energy conversion system for ecological environment microsensing node[J]. Transducer and Microsystem Technologies, 2014, 33(7): 86-88.
徐 磊, 时维铎, 王 军, 等. 用于生态环境微传感节点的光电能量转换系统设计[J]. 传感器与微系统, 2014, 33(7): 86-88.
- 13 Zhou Zhuya, Jiang Yang, Bai Guangfu, *et al.*. Optoelectronic hybrid optical clock frequency divider/multiplier[J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(3): 0306002.
周竹雅, 江 阳, 白光富, 等. 光电混合的光时钟分频/倍频器[J]. 光学学报, 2013, 33(3): 0306002.
- 14 Xu Zhengping. Application of digital micromirror device in photoelectric equipment[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2014, 51(5): 051103.
徐正平. 数字微镜器件在光电设备中的应用[J]. 激光与光电子学进展, 2014, 51(5): 051103.
- 15 Han Shunli, Hu Weiliang, Zhang Peng. Principle and progress of all-optical analog-to-digital conversion[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2013, 50(8): 080025.
韩顺利, 胡为良, 张 鹏. 全光模数转换的原理及进展[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(8): 080025.
- 16 Xue Bingrong, Xu Peng, Zhou Yulian, *et al.*. Application performance evaluation of PENTRA MS60 hematology analyzer [J]. Laboratory Medicine, 2014, 29(5): 521-527.
薛冰蓉, 徐 鹏, 周玉莲, 等. PENTRA MS60血液分析仪应用性能评价[J]. 检验医学, 2014, 29(5): 521-527.
- 17 Xiao Xiulin, Peng Changhua. Performance evaluation of Sysmex XS800i hematology analyzer[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(4): 477-479.
肖秀林, 彭长华. Sysmex XS-800i血液分析仪性能评估[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(4): 477-479.

栏目编辑: 吴秀娟