激光写光电子学进展

基于显微图像的乳腺癌细胞识别系统设计

刘国华^{1,2*},闫克丁^{2**},邢静¹,马国军²,刘静²,陈艳丽² ¹西安培华学院智能科学与信息工程学院,陕西西安 710025; ²西安工业大学电子信息工程学院,陕西 西安 710021

摘要 目前,病理专家通过肉眼识别显微镜视场下乳腺癌病理切片图像中的乳腺癌细胞具有很强的主观性。因此,设计了一 款基于显微图像的乳腺癌细胞识别系统,该系统包括显微图像采集模块和乳腺癌细胞识别算法实现模块。通过USAF 1951 分辨率测试板验证设计的乳腺癌细胞识别系统显微图像采集模块,最终的成像分辨率可以达到2.19 µm。通过多组乳腺癌病 理图像验证所提乳腺癌细胞识别算法,结果表明设计的乳腺癌细胞识别系统识别乳腺癌细胞的平均准确率达到93.4%。

关键词 乳腺癌;图像采集;显微图像;细胞识别 中图分类号 TH742.9; TP29

DOI: 10.3788/LOP230873

Breast Cancer Cell Recognition System Based on Microscopic Image

Liu Guohua^{1,2*}, Yan Keding^{2**}, Xing Jing¹, Ma Guojun², Liu Jing², Chen Yanli² ¹School of Intelligent Science and Information Engineering, Xi'an Peihua University,

Xi'an 710025, Shaanxi, China;

²School of Electronic Information Engineering, Xi'an Technological University, Xi'an 710021, Shaanxi, China

Abstract At present, it is highly subjective for pathologists to identify breast cancer cells in pathological cut images of breast cancer under microscope field of view by naked eyes. Therefore, we design a microscopic image based breast cancer cell recognition system, which includes microscopic image acquisition module and breast cancer cell recognition algorithm implementation module. Through USAF 1951 resolution test board, the microscopic image acquisition module of designed breast cancer recognition system is verified, and the final imaging resolution can reach 2.19 µm. In addition, the designed breast cancer cell recognition algorithm is verified by multiple sets of breast cancer pathological images, and the results show that the average accuracy of the designed breast cancer cell recognition system reaches 93.4%.

Key words breast cancer; image acquisition; microscopic images; cell identification

文献标志码 A

弓[言 1

乳腺癌是全球癌症发病率较高的疾病之一,其中 女性患者占比居高不下,据文献[1]统计,2022年全球 癌症患者约为1930万例,其中死亡1000万例,在癌症 发病者中女性乳腺癌患者占据11.7%,乳腺癌死亡人 数占癌症总死亡人数的6.9%,因此针对乳腺癌的研 究是有意义的。对乳腺癌的研究主要体现于观察分析 乳腺癌患者组织病理切片图像中癌变细胞的形态变 化,得出该癌症患者的病症等级,从而帮助病人针对性 地提出治疗方案,预防病情恶化。

医生对于乳腺癌患者的诊断是通过提取患者的病 理组织从而制作病理切片,通过肉眼观察显微镜视场

下的病理切片图像并完成病理图像的分析。随着显微 镜的快速发展,显微成像系统百花齐放。例如,文献 [2]介绍了光声成像的基本原理,针对近些年光声成像 技术的研究热点、应用背景、发展现状展开描述,并指 出光声成像技术未来的发展趋势。该文献指出光声成 像技术的低成本开发策略如低成本光源、探测器等将 会促进光声成像系统的普及,其与人工智能相结合将 会是未来发展的主流趋势。文献[3]设计了一款基于 液体变焦透镜和振镜的三维光片显微成像系统。该系 统将 Dhyana 400D 相机中的互补金属氧化物半导体 (CMOS)作为图像采集模块,实验结果表明该成像系 统横向视场达到1970 µm × 1300 µm、横向分辨率为 1.32 μm、轴向分辨率可达12.75 μm。该系统优点在

先进成像

收稿日期: 2023-03-15; 修回日期: 2023-05-07; 录用日期: 2023-05-15; 网络首发日期: 2023-05-25 通信作者: *lgh527949321@163.com; **yankeding168@163.com

于成像分辨率精度高,但缺点是该成像系统较为昂贵。 虽然现有成像系统成像分辨率高,但是病理专家高强 度的工作会导致其精神状态下滑从而引起乳腺癌细胞 检测识别准确率稳定性不足。由于以上原因,基于计 算机辅助诊断的方法应运而生,该方法可以提高医生 对病理切片图像的分析诊断效率。例如,文献[4]针对 病理图像辅助诊断方法展开研究,总结了近些年来基 于机器学习的病理图像计算机辅助诊断方法和基于深 度学习端到端的病理图像辅助诊断方法的优缺点,并 指出计算机辅助诊断方法未来的改进方向有很多,但 是方法研究是一个长期且艰难的过程。文献[5]对现 有的乳腺癌细胞识别方法展开研究,详细描述了不同 类型的乳腺癌细胞检测识别方法(如传统的图像处理 方法、监督学习、无监督学习、深度学习等)的原理以及 这些方法在乳腺癌诊断方面的研究方向。文献[6]提 出一种基于深度学习的人类表皮生长因子受体 (HER2)乳腺癌阳性细胞识别分类模型。该模型主要 分为下采样(特征编码)和上采样(特征重构)两部分, 特征编码采用卷积池化结构实现 HER2 乳腺癌阳性细 胞特征的提取,特征重构部分采用全连接层和 Softmax函数实现HER2乳腺癌阳性细胞的识别分类, 实验结果表明模型的分类准确率达到98.3%。这种 方法虽然识别准确率高,但是需要大量的标签数据集 进行模型训练。文献[7]提出了一种基于深度学习的 方法用来检测经过免疫组织化学法染色的乳腺癌病理 图像中的乳腺癌细胞。该方法利用34层的残差网络 (ResNet34)实现病理细胞分类,选用40×视野下采集 到的病理图像作为数据集,将其代入网络进行训练后 实现病理细胞分类,随后将分类结果与人工标定结果 进行对比,结果表明该方法的平均识别准确率达到 81.5%。文献[8]提出了一种基于深度学习的方法,利 用伽马混合模型检测识别乳腺癌Ki-67指数。通过实 验验证该算法的可行性,实验结果表明该方法检测识 别乳腺癌免疫组织化学图像中Ki-67的准确率达到 93%。文献[9]提出一种自适应阈值方法检测识别Ki-67 阳性乳腺癌细胞,实验结果证明该算法检测识别阳 性细胞准确率达到了82%。

本文主要设计一款基于显微图像的乳腺癌细胞识 别系统,该系统主要包括乳腺癌细胞图像采集模块和 乳腺癌细胞识别算法两部分。其优点主要在于:1)成 本方面,所提识别系统成像模块的整体成本仅300元左 右,远远小于现有的病理诊断仪器;2)实用性方面,所提 识别系统体积大小不超过20 cm×20 cm×20 cm,较现 有的大型病理检测仪器体积结构而言,有体积小便于 携带的特点,且所提系统后续可扩展性极强。

2 乳腺癌细胞识别系统设计

2.1 乳腺癌组织病理切片的制作流程

乳腺癌组织病理切片的制作是研究乳腺癌病理图

第 61 卷第 8 期/2024 年 4 月/激光与光电子学进展

像的重要前提,其流程如图1所示。





如图1所示,乳腺癌组织病理切片的制作到使用 步骤包括乳腺癌组织样本获取与处理、包装、切片、染 色以及后续的病理切片可视化和病理切片图像诊断。 整体流程如下:首先医生将乳腺肿瘤切成一个平整的 组织面,对组织面进行洗涤、脱水、透明化等预处理; 其次将透明化的组织平面进行浸蜡、包埋后存入冰箱 备用;然后将包埋后的组织平片修块、切割,选取薄厚 均匀的一段将其平整地放入载玻片进行烘干,之后染 色;再经过一些处理后制作病理切片;最后通过扫描 切片或者显微镜可视化操作供病理专家进行病情 诊断。

2.2 乳腺癌细胞识别系统整体框架

设计的乳腺癌细胞识别系统整体结构如图2所示,从图2中可以看出设计的乳腺癌细胞识别系统分为硬件和软件设计。硬件设计包括光路设计、机械设计、电源模块设计;软件设计包括图像采集模块、数据操作模块以及数据存储模块。



图2 乳腺癌细胞识别系统整体结构



2.3 乳腺癌细胞识别系统硬件设计

乳腺癌细胞识别系统硬件设计整体结构如图 3 所示。

2.3.1 乳腺癌细胞识别系统光路设计

乳腺癌细胞识别系统的光路结构如图 3(a)所示, 光路结构分为以下几个模块:

1)光源模块

光源模块如图 3(b)的子图 5 所示,其中包含了正 白光 LED等,采用滤光片以及匀光片将光源的波长固 定到指定范围内便于显微图像的采集工作。

2)物镜模块

物镜模块采用的是195型平场消色差,有4×、

第 61 卷第 8 期/2024 年 4 月/激光与光电子学进展

10×、20×、40×等倍数,以20×物镜为例,其实物图 如图 3(b)的子图7右边图所示。

3) CMOS 成像模块

将 500 万 pixel 海康威视相机 CMOS 成像模块作 为乳腺癌细胞识别系统的图像采集器件,如图 3(b)的 子图 7 左边图所示,该模块成像焦距为 5 mm、成像靶 面尺寸为 3590 mm × 2648 mm。该模块成像视野的 大小表示为

$$F = (W \times H)/f, \tag{1}$$

式中:F为成像系统可观察到的视场;W为工作距离; H为靶面;f为焦距。通过计算,该模块成像视野为 10.6 mm。



图 3 乳腺癌细胞识别系统硬件设计结构。(a)光路结构;(b)组装模型示意图;(c)电源分布图

Fig. 3 Structure of the hardware design of the breast cancer cell recognition system. (a) Optical path structure; (b) assembly model; (c) power supply distribution

2.3.2 乳腺癌细胞识别系统机械结构设计

乳腺癌细胞识别系统机械结构如图3(b)中1~6 子图所示。使用Unigraphics NX设计各部分模型结构 随后采用3D打印技术打印后进行组装,主要包括电源 底座与平移台支架、CMOS固定框架、中心支柱、光源 支架、载物台、电机滑杆6个部分。

2.3.3 乳腺癌细胞识别系统电路设计

乳腺癌细胞识别系统整体由多个模块组成,因此需要不同等级的电压进行供电,系统电源分布图如图3(c) 所示。整体设计思路在于采用12V锂电池进行供电,

第 61 卷第 8 期/2024 年 4 月/激光与光电子学进展

通 过 不 同 的 稳 压 芯 片 (LM317KCS、LM7805T、 LD1117)将12 V电压转换为系统中所需要的各种电压, 有5 V、3.3 V以及可调电压模块(ESP8266、STM32)。 2.4 乳腺癌细胞图像识别系统图像采集软件设计 乳腺癌细胞识别系统软件整体设计图以及软件流 程图如图4所示。



图 4 乳腺癌细胞识别系统图像采集软件整体设计及软件流程图。(a)软件整体框图;(b)软件流程图;(c)软件示意图 Fig. 4 Overall design and the flowchart of the breast cancer cell recognition system image acquisition software. (a) Block diagram of the overall software; (b) flow chart of the software; (c) schematic diagram of the software

2.4.1 乳腺癌病理细胞图像预览单元

乳腺癌病理细胞图像预览单元主要完成乳腺癌病 理切片图像的预先观察,通过观察预览图像选择清晰 的病理细胞图像进行采集。

2.4.2 乳腺癌病理细胞图像数据获取单元

通过图像预览单元观察到清晰的病理细胞图像 后,数据获取单元主要完成病理细胞图像的数据提取, 为乳腺癌病理图像中乳腺癌细胞的特征分析与提取提 供数据支撑。

2.4.3 乳腺癌病理细胞图像数据存储与读取单元

通过软件"Capture"按钮实现乳腺癌病理切片图像的采集,随后将采集到的乳腺癌病理细胞图像保存 到指定文件夹,保存格式为".png"或者".jpg"。

3 乳腺癌细胞识别系统算法设计

为实现乳腺癌细胞识别,对现有的乳腺癌细胞检测算法展开研究^[10-13],依据乳腺癌细胞图像的特征表现,选取一种较为传统的算法识别乳腺癌细胞。所提乳腺癌细胞识别算法是基于色度特征构建色度特征 方程 *T*1^[14]检测识别乳腺癌病理图像中的乳腺癌细 胞,识别流程如图5所示,其中:Otsu为最大类间方差 法;T1为文献[12]提出的色度特征方程;I(*i*, *j*)为原 始乳腺癌图像,*i和j*分别为像素点所对应的坐标值。 该算法将原始图像各个像素点代入特征方程T1,得 到一个自适应阈值,随后将原有像素与计算出的阈值 进行比较,将大于阈值的像素点变为背景,反之保留 原来像素值。通过不断遍历像素值,最终识别出乳腺 癌细胞。

4 乳腺癌细胞识别系统测试实验

4.1 实验环境

实验环境与实验条件如表1所示。

4.2 实验设计

4.2.1 乳腺癌细胞识别系统性能测试实验

为验证所提乳腺癌细胞识别系统的成像性能,采用USAF 1951分辨率测试板^[15]进行系统性能测试,最终得出系统的成像性能,系统实物图以及成像测试结果如图6所示。

从图 6(c)中可以清晰看到第7组第6行即组号 G 为7、行号 E 为 6 的图像。最小成像线宽即成像分辨率



图 5 乳腺癌细胞识别算法实现流程 Fig. 5 Breast cancer cell identification algorithm implementation process

表1 实验环境与条件

Table 1 Experimental environments and conditions					
Environmental name	Version				
System environment	Windows 10				
CPU	5 10210U				

CIU	13-102100
GPU	GTX-1080
Qt Creator	7.0.0
Matlab	2018a

L_w的计算公式为

$$R = 2^{G + \left[(E - 1)/6 \right]}, \tag{2}$$

$$L_{\rm w} = \mathrm{e}^{-3} / [(2 \times R) \times \mathrm{e}^{6}], \qquad (3)$$

将对应的G和E代入式(2)及式(3)可以计算出成像分 辨率为2.19μm。

由文献[16-17]可知,不同阶段的乳腺癌细胞形态 虽然不同,但是癌变的细胞核整体形态可定量表达为: 面积大小为53~136 μm²、周长为24.54~40.00 μm、直 径为7.89~12.30 μm。然而所提系统成像分辨率可 达到2.19 μm,远小于乳腺癌细胞核形态大小,证明所 设计的成像平台满足采集乳腺癌细胞图像的要求。 4.2.2 乳腺癌细胞识别系统算法测试实验

通过基于色度特征构建色度特征方程的方法检测 识别乳腺癌细胞,随后使用20张乳腺癌病理图像测试 所提乳腺癌细胞识别算法,乳腺癌细胞识别准确率表 示为 第 61 卷第 8 期/2024 年 4 月/激光与光电子学进展



- 图 6 乳腺癌细胞识别系统图像采集模块示意图以及分辨率测 试板示意图。(a)系统实物图;(b) USAF 1951分辨率测 试板;(c)系统采集的分辨率测试板图像
- Fig. 6 Image acquisition module of the breast cancer cell recognition system and the resolution test board. (a) Physical picture of the system; (b) USAF 1951 resolution test board; (c) resolution test board image acquired by the system

$$A_i = \frac{p_i}{V_i},\tag{4}$$

式中:V_i为样本图像中真实的乳腺癌细胞个数;P_i为算 法检测识别的乳腺癌细胞个数。

乳腺癌检测识别结果如图7所示。图7(a)为原始



图 7 乳腺癌细胞检测识别计数结果。(a)原始乳腺癌细胞图 像;(b)检测识别出的乳腺癌细胞结果

Fig. 7 Breast cancer cell detection and identification results.(a) Original breast cancer cells image; (b) results of the detected and identified breast cancer cells

乳腺癌细胞图像,其中深色部分为乳腺癌细胞,浅色部 分为正常乳腺细胞;图7(b)中子图1为色度特征方程 检测识别出的乳腺癌细胞结果,图7(b)中子图2为采 用基于连通域的方法实现的乳腺癌细胞计数结果。

采用20组乳腺癌病理图像进一步验证所提乳腺 癌细胞识别系统检测识别准确率,检测识别统计结果 如表2所示。表2中不仅列出了所提系统识别出的癌 细胞个数P_i,而且给出了对应病理图像中真实乳腺癌 细胞个数V_i,并计算出了每组实验的检测识别准确率 A_i以及整体的检测识别准确率。从表2中可以看出, 所提乳腺癌细胞识别系统识别乳腺癌细胞平均准确率 为93.4%。

表2 设计的系统识别乳腺癌细胞结果

Table 2 Results of breast cancer cells identification of the designed system

Sample	V_i /	P_i /	A_i /	Sample	V_i /	P_i /	A_i /
	counts	counts	%		counts	counts	%
1	78	76	96.4	11	166	155	93.1
2	45	45	100.0	12	126	117	92.3
3	94	99	93.8	13	67	61	91.0
4	264	286	92.3	14	173	158	91.3
5	67	69	96.2	15	80	75	93.2
6	111	117	93.5	16	139	127	91.3
7	117	126	92.3	17	98	95	94.1
8	252	271	92.8	18	120	106	88.3
9	85	91	93.1	19	35	35	100.0
10	128	137	92.1	20	73	67	91.7
Average detection accuracy							93.4

4.3 实验结果分析

设计的乳腺癌识别系统中图像采集模块的成像焦 距为5mm、成像靶面为3590mm×2648mm、成像视 野为10.6 mm。采用USAF 1951分辨率测试板验证 系统的成像分辨率,验证结果表明,设计的乳腺癌细胞 识别系统成像分辨率可达到2.19 µm。所提系统与文 献[3]设计的成像系统相比,两者成像分辨率较为接 近,但是所提系统成本远低于后者。将设计的系统图 像采集模块分辨率与癌细胞形态大小相比可知系统分 辨率远小于癌细胞形态大小,证明设计的系统可以完 成乳腺癌细胞图像采集。采用设计的乳腺癌细胞识别 系统图像采集模块获取乳腺癌病理细胞图像,为设计 系统中癌细胞识别算法的验证提供数据支撑。最后通 过多组实验验证系统性能,验证结果表明,设计的乳腺 癌细胞识别系统识别乳腺癌细胞准确率达到93.4%, 较文献[7]提出的方案,检测识别准确率提升了11.9个 百分点;较文献[8]采用的深度学习方法,检测识别准 确率提高了0.4个百分点;较文献[9]提出的方案,检 测识别准确率提高了11.7个百分点,由此证明所提乳 腺瘤细胞识别系统的优越性。

5 结 论

针对乳腺癌病理图像诊断方法的研究现状展开研 究与分析,随后依据研究结果展开工作,主要工作内容 如下:首先,设计了一款乳腺癌细胞识别系统,其中成 像系统的体积不超过20 cm×20 cm×20 cm,成本仅 需 300元左右;其次,通过USAF 1951分辨率测试板 验证所提乳腺癌细胞识别系统的成像性能,最终得出 系统成像分辨率可以达到2.19 μm,满足乳腺癌病理 细胞图像的采集;最后,通过20组病理图像验证系统 的检测识别准确率,实验结果表明系统检测识别乳腺 癌细胞平均准确率达到了93.4%。以上实验结果表 明所提系统可以实现乳腺癌细胞图像的采集功能以及 乳腺癌细胞的识别功能,为病理学的研究提供了一个 可行的方向。

参考文献

- Chhikara B S, Parang K. Global cancer statistics 2022: the trends projection analysis[J]. Chemical Biology Letters, 2023, 10(1): 451-451.
- [2] 穆根,张振辉,石玉娇.生物医学影像中的光声成像技术[J].中国激光,2022,49(20):2007208.
 Mu G, Zhang Z H, Shi Y J. Photoacoustic imaging technology in biomedical imaging[J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(20):2007208.
- [3] 李红帝,张红霞,宋晓敏,等.基于液体变焦透镜和振镜的三维光片显微成像系统[J].光学学报,2023,43(2):0211001.

Li H D, Zhang H X, Song X M, et al. Threedimensional light-sheet microscopy imaging system with liquid zoom lens and galvanometer mirror[J]. Acta Optica Sinica, 2023, 43(2): 0211001.

[4] 蒋芙蓉,赵静文,刘翔,等.基于病理图像的计算机辅助诊断进展[J].中国医学物理学杂志,2022,39(3):384-389.

Jiang F R, Zhao J W, Liu X, et al. Advances in computer-aided diagnosis based on pathological images [J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2022, 39(3): 384-389.

- [5] Zhang Y N, Xia K R, Li C Y, et al. Review of breast cancer pathologigcal image processing[J]. BioMed Research International, 2021, 2021: 1994764.
- [6] Saha M, Chakraborty C. Her2Net: a deep framework for semantic segmentation and classification of cell membranes and nuclei in breast cancer evaluation[J]. IEEE Transactions on Image Processing, 2018, 27(5): 2189-2200.
- [7] 熊学春,吴焕文,任菲,等.融合空间和多尺度特征的 乳腺癌免疫组化Ki-67指数定量分析[J].协和医学杂志,2022,13(4):581-589.
 Xiong X C, Wu H W, Ren F, et al. An automatic

quantitative analysis method of Ki-67 index for breast cancer immunohistochemistry based on fusion of spatial and multi-scale features[J]. Medical Journal of Peking

第 61 卷第 8 期/2024 年 4 月/激光与光电子学进展

研究论文

Union Medical College Hospital, 2022, 13(4): 581-589.

- [8] Saha M, Chakraborty C, Arun I, et al. An advanced deep learning approach for Ki-67 stained hotspot detection and proliferation rate scoring for prognostic evaluation of breast cancer[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 3213.
- [9] Pilutti D, Mea V D, Pegolo E, et al. An adaptive positivity thresholding method for automated Ki-67 hotspot detection (AKHoD) in breast cancer biopsies[J]. Computerized Medical Imaging and Graphics, 2017, 61: 28-34.
- [10] 张亮, 李嘉欣, 卢虹冰. 基于色度学特征的病理性核分裂像识别[J]. 航天医学与医学工程, 2015, 28(4): 270-274.

Zhang L, Li J X, Lu H B. Identification of pathological mitosis figure based on colorimetric characteristics[J]. Space Medicine & Medical Engineering, 2015, 28(4): 270-274.

[11] 张国和, 徐快, 段国栋, 等. 一种适于硬件实现的快速 连通域标记算法[J]. 西安交通大学学报, 2018, 52(8): 95-101.

Zhang G H, Xu K, Duan G D, et al. A fast labeling algorithm of connected components applicable for hardware implementation[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University, 2018, 52(8): 95-101.

[12] 罗钧,杨永松,侍宝玉.基于改进的自适应差分演化算 法的二维Otsu多阈值图像分割[J].电子与信息学报, 2019,41(8):2017-2024.

Luo J, Yang Y S, Shi B Y. Multi-threshold image segmentation of 2D Otsu based on improved adaptive differential evolution algorithm[J]. Journal of Electronics &

Information Technology, 2019, 41(8): 2017-2024.

- [13] 李云红,姚兰,任劼,等.自适应区域拟合的非均匀 图像分割[J]. 激光与光电子学进展,2022,59(18): 1810008.
 Li Y H, Yao L, Ren J, et al. Non-uniform image segmentation based on adaptive region fitting[J]. Laser &. Optoelectronics Progress, 2022, 59(18): 1810008.
- [14] 刘国华,张亮,邢静,等.基于HSV的乳腺癌细胞识别 方法[J].光电子·激光,2023,34(1):107-112.
 Liu G H, Zhang L, Xing J, et al. Identification method of breast cancer cells based on HSV[J]. Journal of Optoelectronics·Laser, 2023, 34(1):107-112.
- [15] 周仲贤. USAF 1951分辨率靶[J]. 兵工标准化, 1995
 (6): 7-10.
 Zhou Z X. USAF 1951 resolution target[J]. Technology Foundation of National Defence, 1995(6): 7-10.
- [16] 徐妙生,管增伟,王丽霞.乳腺癌细胞核的形态定量分析[J].中国医学影像技术,2001,17(6):544-545.
 Xu M S, Guan Z W, Wang L X. Nuclear morphometrical analysis of breast cancer[J]. Chinese Journal of Medical Imaging Technology, 2001, 17(6): 544-545.
- [17] 王健, 孟刚, 周晓蝶. 乳腺癌细胞核形态定量分析与临床病理特征的关系[J]. 临床与实验病理学杂志, 2014, 30(9): 954-957, 962.
 Wang J, Meng G, Zhou X D. Relationship between nuclear morphometrical quantitative analysis and clinicopathological features of breast cancer[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2014, 30 (9): 954-957, 962.