

# Erkennung der Qualität von Blutseren mittels Farbklassifikation

*Ulrich Klauck  
Studiengang Informatik  
Fachhochschule Aalen  
Beethovenstraße 1, 73430 Aalen  
ulrich.klauck@fh-aalen.de*

*Lennart Hechler, Michael Heise  
PVT Probenverteiltechnik GmbH  
Maybachstraße 30, 71332 Waiblingen  
l.hechler@pvt.de, m.heise@pvt.de*

## Abstract

Im Beitrag wird ein Verfahren zur Beurteilung der Probenqualität von Blutseren beschrieben. Sowohl die Qualität als auch eventuell in den Seren vorhandene Verklumpungen werden durch Klassifikation der Farbe der Bildpunkte bestimmt. Damit wird sichergestellt, dass nur solche Proben ausgewertet werden, die aufgrund ihrer Qualität auch sinnvoll auswertbar sind. Weiterhin wird hierdurch der störungsfreie Ablauf der Automation des Probenvorbereitungsprozesses gewährleistet.

## 1 Einleitung

In der medizinischen Labordiagnostik von Blutproben fallen heute große Probenmengen an. Daher ist der Automationsgrad in den Labors mittlerweile hoch. Aus mehreren Gründen ist eine Qualitätssicherung bei den einlaufenden Primärproben in der Phase der Probenvorbereitung notwendig:

(1) Im gesamten Verarbeitungsprozess müssen von jedem Primärröhrchen u.a. der Röhrchentyp, Röhrchenhersteller und Serummenge im Röhrchen bekannt sein. Hierzu wird von dem hier vorgestellten System die Röhrchenkappe erkannt, womit die weiteren wichtigen Daten des Röhrchens wie Hersteller, Durchmesser und Höhe bekannt sind.

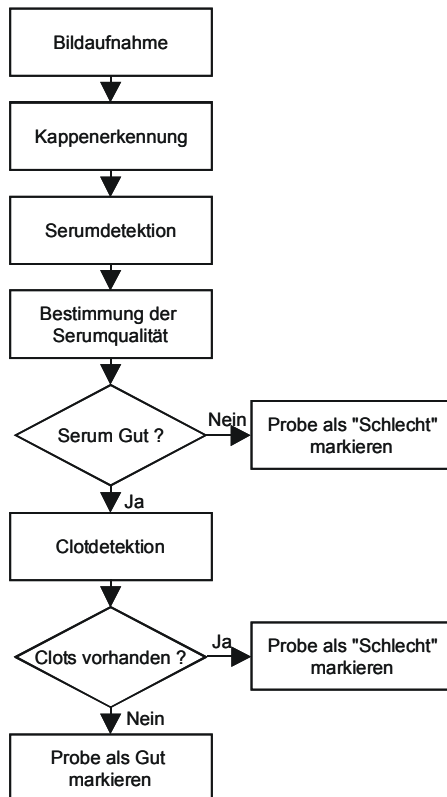
(2) Eine Auswertung der Probe und Interpretation der Analysedaten machen nur Sinn, wenn das durch Zentrifugieren gewonnene Serum von guter Qualität ist. Auswertbare Seren sind dadurch gekennzeichnet, dass keine mit dem bloßen Auge erkennbare Anomalie des Serums vorliegt. Solche Anomalien können durch in-vivo-Einflüsse entstehen, die von der Physiologie des Patienten abhängig sind oder durch in-vitro-Einflüsse, die durch Fehler bei der Blutentnahme, dem Zentrifugieren der Probe oder der Handhabung der Probe entstehen. Neben den Proben mit guter Serumqualität (G) sind hämolytische Seren (H), ikterische Seren (I) und lipämische Seren (L) zu unterscheiden. Seren der Klassen H, I und L sind nicht auswertbar und sollen vom System entsprechend erkannt und markiert werden. Eine Besonderheit stellt die Klasse der hämolytischen Seren (H) dar, da Proben mit leicht hämolytischen Seren durchaus ausgewertet werden können. Hier ist also zusätzlich eine Erkennung des Schweregrades der Hämolyse erforderlich.

(3) Die Seren können Verklumpungen (Clots) enthalten, die beim Pipetieren in die eigentlichen Analyseröhrchen, dem sogenannten Aliquotieren, zur Verstopfung der Pipettenspitzen und damit zum Stillstand des Probenvorbereitungsprozesses führen. Solche Stillstandzeiten sind letzten Endes teuer und damit nicht zu tolerieren.

Stand der Technik sind derzeit manuelle visuelle Kontrollen der zentrifugierten Blutproben durch Labormitarbeiter. Serummengen können damit nur unzureichend abgeschätzt werden, die Beurteilung der Probenqualität ist subjektiv. Das vorgestellte System soll eine objektive, reproduzierbare Beurteilung der Probenqualität und Messung der Serummenge ermöglichen.

## 2 System

Einen groben Überblick über die verschiedenen Bearbeitungsstufen von der Bildregistrierung bis zur Markierung der Probe als „Gut“ oder „Schlecht“ gibt Abb. 1.



**Abb. 1:** Überblick über die einzelnen Verarbeitungsstufen eines Primärrohrcchens

Jedes Röhrcchen wird vom Handhabungssystem gegriffen und in eine definierte Position gebracht. In dieser Position wird ein Bild vom Röhrcchen registriert. Die Kappe wird aufgrund ihrer Farbe und ihrer Abmessungen erkannt.

Danach erfolgt eine Detektion der Serumregion im Bild. Diese Region wird klassifiziert und aufgrund der Klasse die Probe entweder als „Gut“ oder „Schlecht“ markiert. Eine schlechte Probe wird nicht weiter analysiert.

Anschließend werden die „Gut“-Proben auf das Vorhandensein von Clots untersucht. Sind Clots im Serum enthalten, wird die Probe als „Schlecht“ markiert und aus dem weiteren Prozess ausgeschieden. „Gut“-Proben verbleiben im Prozess und werden nach der weiteren Probenvorbereitung schließlich aliquotiert und analysiert.

Im Folgenden werden die Bestimmung der Serumqualität sowie die Detektion von Clots näher beschrieben. Auf die Kappenerkennung soll nicht näher eingegangen werden.

## 3 Farbbildverarbeitung

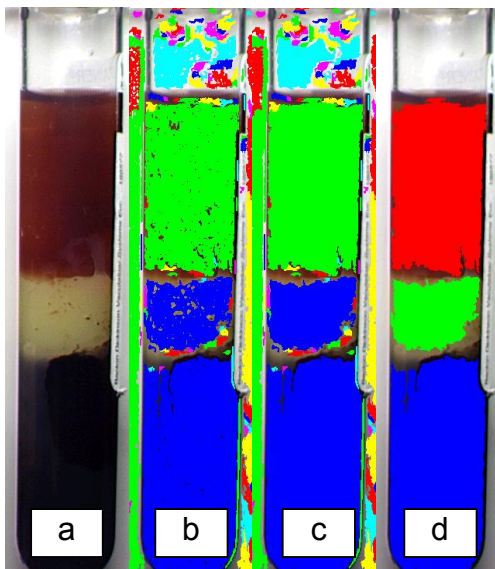
In den folgenden Abschnitten werden die Bildverarbeitungsverfahren beschrieben, die zur Segmentierung des Serums sowie anschließend zur Klassifikation des Serums in die Qualitätsklassen und der Clotdetektion notwendig sind.

### 3.1 Serumdetektion

Da im Bild lediglich der Ausschnitt mit dem Blutserum interessiert, muss dieser zunächst bestimmt werden. Das Proberöhrcchen befindet sich vor einem praktisch weißen Hintergrund. Damit kann der Bildausschnitt, der das Röhrcchen enthält, zunächst

sehr leicht grob segmentiert werden. Dieser Bildausschnitt geht in die eigentliche Segmentierung des Serums ein. Es kommt ein Verfahren zum Einsatz, dessen Kern ein Regionenwachstum (region growing) ist (siehe z.B. [GW87]). Die Segmentierung kann alternativ in verschiedenen Farbräumen erfolgen. Es hat sich jedoch in verschiedenen Versuchen gezeigt, dass die Wahl des Farbraums das Segmentierungsergebnis nicht wesentlich beeinflusst, so dass für die Segmentierung hier der RGB-Farbraum gewählt wird.

Das Verfahren ist iterativ und besteht aus der wiederholten Glättung des Eingangsbildes mit anschließendem region growing. Da die Grenze zwischen Serum und Trennmittel nicht immer deutlich ausgeprägt ist, muss ein kantenerhaltendes Glättungsfilter verwendet werden. Hier kommt ein Medianfilter mit reduced ordering [PV00] zum Einsatz.

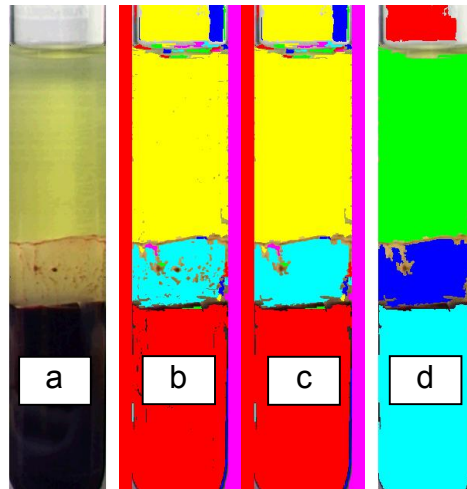


**Abb. 2:** Segmentierung des Serums bei einer hämolytischen Probe. Originalbild (a), Segmentierungsergebnis des region growing (b), Auffüllen von Löchern in den Regionen (c) und Entfernen kleiner Regionen und der Regionen die den linken oder rechten Rand berühren (d).

Segmentierungsvorgänge mit fallendem Wert für das Homogenitätskriterium durchgeführt. Diese iterative Prozedur endet, wenn zwischen 3 und 5 Regionen gefunden wurden. Aus diesen Regionen wird schließlich die Serumregion herausgesucht. Dies geschieht aufgrund einiger Bedingungen hinsichtlich der Lage der Regionen zueinander.

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen an zwei Beispielen den Ablauf des Verfahrens. Zunächst wird das Bild mit einem region growing segmentiert. Als Homogenitätskriterium für eine Region dient die quadrierte euklidische Distanz zwischen den Farbwerten zweier betrachteter Pixel. Wird ein einstellbarer Maximalwert nicht überschritten, so werden die beiden Pixel als zur gleichen Region gehörig markiert. In dieser Anwendung wird die 8-er Nachbarschaft verwendet. Da Regionenwachstumsverfahren häufig zum Übersegmentieren neigen, wird das segmentierte Bild nachbearbeitet. Im ersten Schritt werden Lücken in den größeren Regionen gefüllt. Im zweiten Schritt werden schließlich kleinere Regionen sowie die den linken, rechten oder oberen Bildrand berührenden Regionen entfernt.

Die Abbildungen stellen jeweils die letzte Stufe des iterativen Verfahrens dar. Nach jeder Filterung werden mehrere



**Abb. 3:** Segmentierung bei einer leicht ikterischen Probe. Originalbild (a), Segmentierungsergebnis des region growing (b), Auffüllen von Löchern in den Regionen (c) und Entfernen kleiner Regionen und der Regionen die den linken oder rechten Rand berühren (d).

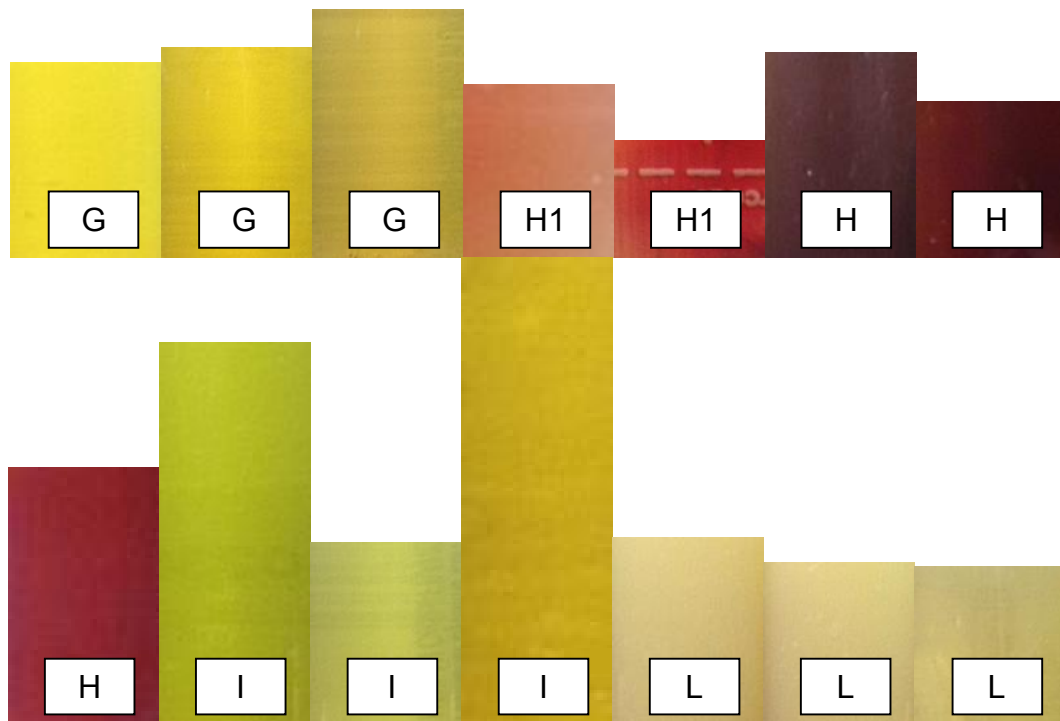
## 3.2 Serumqualität

Die gefundene Serumregion wird im folgenden Schritt auf ihre Qualität untersucht. Es handelt sich hierbei um ein Klassifikationsproblem, bei dem das Serum in eine der Klassen „gut“ (G), „leicht hämolytisch“ (H1), „hämolytisch“ (H), „ikterisch“ (I) oder „lipämisch“ (L) klassifiziert wird. Wie weiter oben erwähnt, können Proben der Klassen G und H1 weiter untersucht werden, während Proben der Klassen H, I und L ausgeschieden werden müssen. Abbildung 4 zeigt in einer Übersicht einige Serumausschnitte. Deutlich zu erkennen sind große Farbunterschiede in den einzelnen Klassen. Ebenso sind die Farbunterschiede zwischen verschiedenen Klassen zum Teil gering. Daraus resultieren nur geringe Interklassenabstände bzw. auch Überlappungen im Farbraum. Teilweise resultieren diese Überlappungen auch daher, dass nicht nur eines der verändernden Merkmale hämolytisch, ikterisch oder lipämisch vorliegt, sondern eine Mischung. Ziel ist dann eine Klassifikation nach dem überwiegenden Anteil der Veränderung.

Als Merkmale zur Klassifikation dienen die Farbwerte der einzelnen Pixel des Serumsegmentes. Die Farbwerte werden hier im CIELab-Farbraum repräsentiert, der im Unterschied zum RGB-Farbraum visuell gleichabständig ist ([DIN6174]). Die Klassifikation erfolgt zunächst pixelweise mit Hilfe eines „Nächster Prototyp“-Klassifikators (Abb. 5, [DHS01]). Als Abstandsmaß für diesen Klassifikator wurde mit zwei Abstandsmaßen experimentiert: In [DIN6174] wird als Farbabstandsmaß der euklidische Abstand zwischen zwei Punkten im Farbraum vereinbart. Die von den einzelnen Klassen im Merkmalsraum eingenommen Bereiche sind aber eher Ellipsoide als Kugeln. Daher wurde auch mit dem Mahalanobisabstand gearbeitet. Auch hier zeigte sich, dass die Wahl der Metrik das Klassifikationsergebnis nur wenig beeinflusst, so dass aus Geschwindigkeitsgründen mit der quadrierten euklidischen Distanz gearbeitet wird.

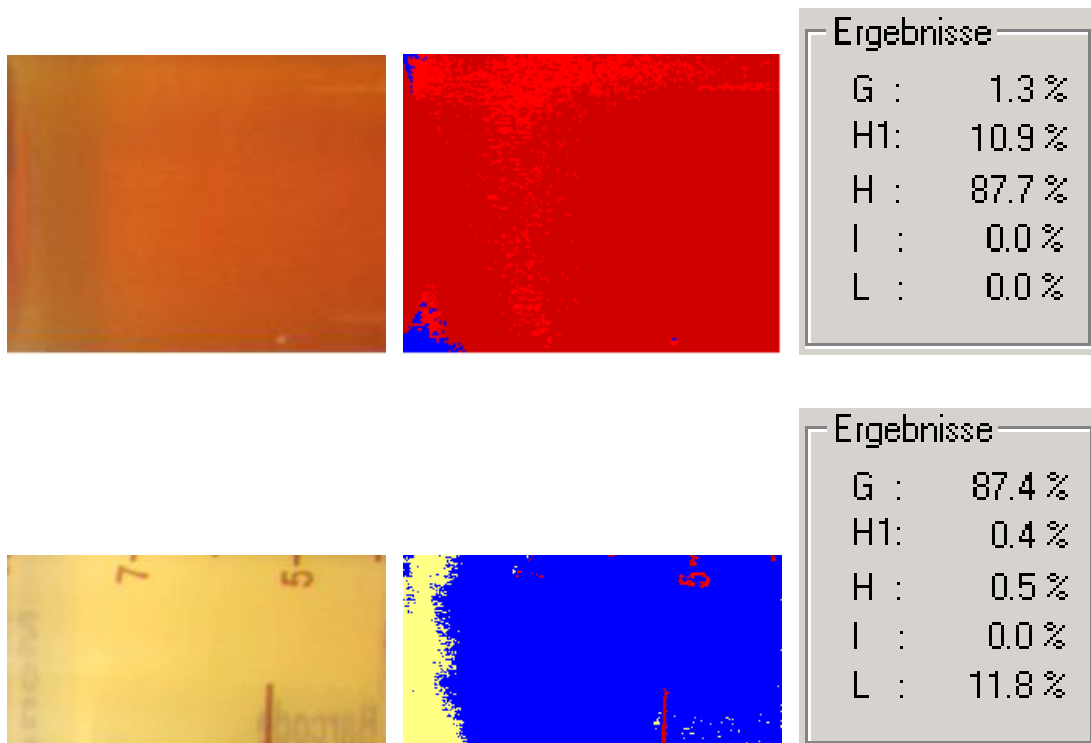
Danach wird aufgrund eines Mehrheitsvotums unter den Pixeln die Klasse bestimmt. Durch einen einstellbaren Schwellenwert kann bei nicht eindeutigem Votum die Entscheidung zurückgewiesen werden.

Als problematisch bei der Klassifikation erweisen sich sowohl vom Hersteller aufgedruckte Aufschriften auf den Proberöhrchen als auch durch Labormitarbeiter aufgebrachte Beschriftungen. Es hat sich aber in allen Tests gezeigt, dass die dadurch bedingten pixelweisen Falschklassifikationen aufgrund ihres nur geringen FI-Ächenanteils kaum ins Gewicht fallen. Somit kann auf ein zeitaufwändigeres Klassifizieren solcher Beschriftungen zunächst verzichtet werden.



**Abb. 4:** Bildbeispiele für Serumsegmente. Die Bilde wurden aus Darstellungsgründen alle auf die gleiche Breite skaliert. Die Qualitätsklasse ist jeweils unter dem Bild dargestellt. Man erkennt deutlich die hohe Farbvariabilität innerhalb der Klassen sowie ähnliche Farbtöne in unterschiedlichen Klassen. Vor allem zwischen den Klassen H1 und H, zwischen G und I sowie zwischen I und L sind die Unterschiede teilweise gering, so dass in den Farbräumen Überlappungen zwischen den Klassen zu erwarten sind.

Wie bereits weiter oben erwähnt, sind die Beurteilungen der Seren vor allem in den Grenzbereichen laborspezifisch. Daher wurde ein Programm zur Einstellung des Klassifikators entwickelt, mit dessen Hilfe der Klassifikator intuitiv trainiert werden kann. Dazu werden alle Serenausschnitte der Lernstichprobe dargestellt und können per „drag and drop“ in die richtige Klasse klassifiziert werden. Das Programm ermöglicht weiterhin die direkte Klassifizierung der Serenausschnitte sowie eine Darstellung des Merkmalsraums, wobei die einzelnen Klassen jeweils durch unterschiedliche Farben dargestellt werden. Somit können die Lernstichprobe und die Funktionsweise des Klassifikators jederzeit beurteilt werden. Dieses Hilfsmittel hat sich in der Erstellungsphase und auch in der Wartungsphase als sehr wertvoll erwiesen.



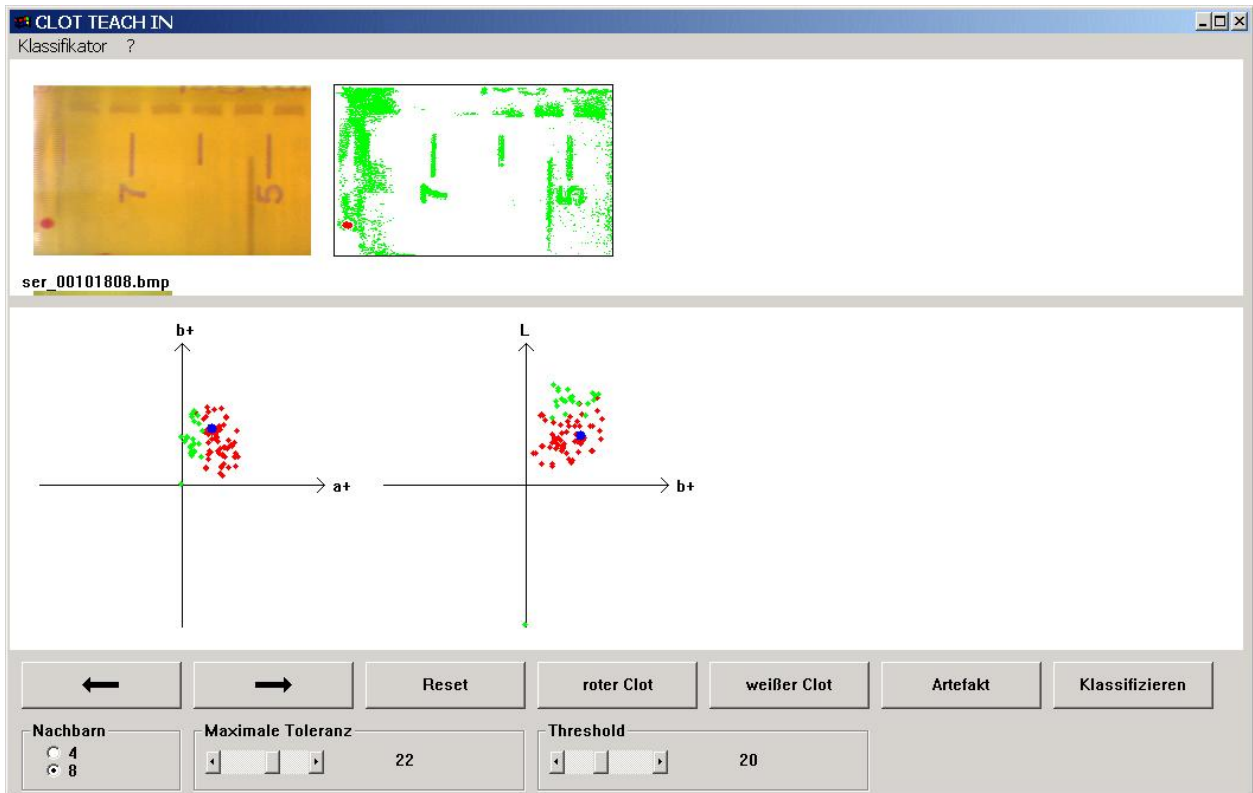
**Abb. 5:** Klassifikation eines hämolytischen Serums (oben) und eines guten Serums (unten). Links ist jeweils der Serumausschnitt dargestellt, in der Mitte das Ergebnis der pixelweisen Klassifikation und rechts die Auswertung. Zur Darstellung der pixelweisen Klassifikation wird blau für Klasse G, rot für H, grün für I und gelb für L verwendet. In den Klassen H, I und L wird jeweils ein heller Farbton für leichte und ein dunkler Farbton für eine starke Ausprägung der Veränderung dargestellt.

### 3.3 Clotdetektion

Ist die Probe als gut klassifiziert, so muss sie noch auf das Vorhandensein von Verklumpungen untersucht werden. Das Problem der Klassifikation solcher Verklumpungen wird hier durch einen eigenen Klassifikator gelöst. Hierzu existiert ein Programm, mit dessen Hilfe in den Serenbildern von guten oder leicht hämolytischen Seren Trainingsbeispiele von sowohl roten als auch weißen Clots erzeugt werden können. In den Bildern wird ein Punkt innerhalb eines Clots markiert und anschließend mit einem region growing alle Pixel des Clots gefunden. Die Farbwerte der gefundenen Clotpixel werden als Trainingsdaten gespeichert. Hier erweisen sich im Unterschied zur Bestimmung der Serumqualität sämtliche Beschriftungen als außerordentlich problematisch, da die Clots typischerweise nur 1 bis wenige  $\text{mm}^2$  groß sind. Daher ist zusätzlich eine Markierung und spätere Klassifizierung solcher Artefakte möglich. Abbildung 6 zeigt einen Bildschirmausschnitt mit einem Serumausschnitt, einer Klassifikation des darin enthaltenen Clots und der Artefakte, sowie eine Darstellung des Merkmalsraums.

Als Klassifikator kommt ein „Nächster Nachbar“-Klassifikator mit der quadrierten euklidischen Distanz als Distanzmaß zum Einsatz. Um unsichere Klassifikationen zu vermeiden kann eine bestimmte maximale Distanz als Schwellenwert eingestellt werden. Wenn ein Pixel aufgrund der minimalen Distanz zu einer der Klassen Artefakt, roter Clot oder weißer Clot klassifiziert wird, dieser Schwellenwert aber überschritten wird, so wird keine der Klassen akzeptiert, insbesondere ist das Pixel dann kein Clotpixel. Als Nachbearbeitung zur Klassifikation werden alle gefundenen Clots noch auf

ihre Größe und einige Formmerkmale untersucht. Zu kleine und zu schmale Regionen werden damit als Clot nicht erkannt.



**Abb. 6:** Programm zum Erzeugen der Lernstichprobe der Clotererkennung. Dargestellt wird ein Serum-ausschnitt (links oben) sowie die Klassifikation des Serum-ausschnitts (rechts oben) aufgrund der bisherigen Lernstichprobe. Der im Originalbild enthaltene Clot wird richtig erkannt und im Ergebnis der Klassifikation rot dargestellt. Die grün dargestellten Pixel sind als Artefakte erkannte Bildpunkte. Im unteren Bereich des Bildschirmausschnitts sind die Klassenbereiche für Clots (rot) und Artefakte (grün) dargestellt. Blau dargestellt ist der Mittelwert der Farbe des aktuellen Clots.

## 4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird ein System zur Bestimmung der Qualität von zentrifugierten Blutproben vorgestellt. Mit Hilfe von zwei Klassifikationsvorgängen wird aus dem Farbbild zunächst die Serenqualität beurteilt und bei guten Seren anschließend nach Verklumpungen gesucht. Mit dem System, das flexibel auf laborspezifische Standards adaptierbar ist, wurden mittlerweile einige zehntausend Proben im Routinebetrieb untersucht. Es hat sich gezeigt, dass dadurch der Probenvorbereitungsprozess erheblich sicherer geworden ist. Auch die Auswertung der Proben ist durch Erkennung nicht auswertbarer Proben bedeutend zuverlässiger geworden. Es ist zu erwarten, dass die Sicherung der Eingangsqualität der Blutproben auf längere Sicht auch Auswirkungen auf die Anlieferung der Proben hat, da die Ärzte auch eine Rückmeldung über die von ihnen eingelieferten Proben erhalten können.

## 5 Literatur

- [DIN6174] Farbmétrische Bestimmung von Farbabständen bei Körperfarben nach der CIELAB-Formel. Deutsches Institut für Normung, Berlin, 1979.
- [DHS01] Duda, R.O., Hart, P.E., Stork, D.G.: Pattern Classification, 2<sup>nd</sup> ed. Wiley Interscience, 2001.
- [GW87] Gonzalez, R.C., Wintz, P.: Digital Image Processing, 2<sup>nd</sup> ed. Addison-Wesley, Reading, MA, 1987.
- [PV00] Plataniotis, K.K., Venetsanopoulos, A.N.: Color Image Processing Handbook and Applications. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2000.