

# SP-1000i 全自动推片染色仪及 CellaVision DM96 自动阅片仪在形态学检验人员镜下比对中的应用\*

刘艳红 (武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060)

**摘要:**目的 将 SP-1000i 全自动推片染色仪及 CellaVision DM96 自动阅片仪应用于形态学镜下人员比对工作以提高客观性和一致性。方法 实验室两名有经验的员工及其他 10 名值班人员分别按照传统镜检方法和新比对方法(使用 SP-1000i 全自动推片染色仪及 CellaVision DM96 自动阅片仪)对 10 例静脉血样本进行白细胞分类形态学比对,并比较两种比对方法所需的时间。结果 采用新比对方法较传统方法能够明显提高人员间对各类细胞分类的一致性( $P < 0.01$ ),大大降低了需重新比对的人数( $P < 0.01$ ),明显缩短了参比人员所花费的时间( $P < 0.01$ )。结论 将 SP-1000i 和 CellaVision DM96 应用于细胞形态学镜下人员比对工作,可以省时、省力、高效地提高实验室质量管理。

**关键词:** SP-1000i; CellaVision DM96; 形态学; 镜下比对

中图分类号: R446.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)03-135-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.038

## Application of Morphology Microscopically Comparison by Using SP-1000i and CellaVision DM96

LIU Yan-hong

(Department of Clinical Laboratory, Remin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

**Abstract:** **Objective** To improve the objectivity and consistency of microscopically comparison in morphology by using SP-1000i and CellaVision DM96. **Methods** Ten cases of venous blood samples were collected. The morphological comparison of white blood cells were performed between the traditional method and the new method (by using SP-1000i and CellaVision DM96), at the same time, between 2 veterans and other 10 common operators. According to the same methods, the time was compared. **Results** By using this new method, the consistency of microscopically comparison was greatly improved ( $P < 0.01$ ), the number of people who need to compare again was decreased obviously ( $P < 0.01$ ), and the time of the procedure was also shortened evidently ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The quality control of clinic laboratory will must be greatly improved with timesaving and labour-saving when SP-1000i and CellaVision DM96 are applied in microscopically comparison in morphology.

**Keywords:** SP-1000i; CellaVision DM96; morphology; microscopically comparison

近年来,尽管各种品牌及型号的高端全自动血细胞分析仪层出不穷,但由于存在对异常细胞分析的固有局限性,外周血细胞涂片仍然是临床诊疗中必不可少的重要诊断工具<sup>[1~3]</sup>。为了提高实验室的质量管理水平,减少可能出现的质量风险,实现检测数据的国际双边和多边的互认,近年来国内许多实验室都陆续参加了实验室认可工作。文件<sup>[4]</sup>明确规定“应定期进行形态学检验人员的结果比对考核并记录”。然而传统方法制片的质量难以达到高度一致,再加上镜检主观性过强,给人员比对工作带来了较大的难度。

SP-1000i 全自动推片染色仪具有涂片质量好、稳定、工作效率高、省时省力、安全(免开盖)而且可与 XE2100 血细胞分析仪组合成一体机并根据复检规则自动推片等优点<sup>[5]</sup>; CellaVision DM96 自动

阅片仪(以下简称 DM96)是一种结合传统显微镜检查和现代神经网络技术的全自动血细胞形态鉴定仪器,可以连续、迅速地扫描已染色涂片,识别可能的细胞与非细胞成分,进行仪器预分类。除白细胞的分类,仪器还可提供红细胞形态信息和血小板数量的粗略估算<sup>[6]</sup>。存储的预分类图像经专业人员审核再分类后,得到最终血细胞形态学分析结果。DM96 常与 SP-1000i 结合使用,近年来被广泛应用于临床血液学检验领域。为了增强形态学检验人员镜下比对的客观性和一致性并提高工作效率,本文首次尝试应用 SP-1000i 及 DM96 进行形态学检验人员镜下比对工作,并进行了效果的评价,报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象 随机选取比对当天武汉大学人民

\* 作者简介:刘艳红(1975—),女,博士,副主任医师,主要从事临床血液学检验研究, Tel: 027-88041919-88156, E-mail: 1376090683@qq.com。

医院经 XE-2100 血细胞分析仪检测触犯实验室规则<sup>[7]</sup>需要复检的 10 例 EDTA-K<sub>2</sub> 外周新鲜抗凝静脉血样本,均为需要进行镜检确认是否有幼稚细胞,或细胞比例异常(血细胞仪异常报警提示)的样本,样本均统一编号,整个样本收集和准备的过程应在 4 h 内完成。

**1.2 仪器和试剂** XE-2100 血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司生产);SP-1000i 全自动推片染色仪(日本 Sysmex 公司生产);DM96(CellaVision AB 公司生产);Olympus CX21 显微镜,所有仪器在使用前均进行严格的保养、校准及性能评价工作,并且使用当日室内质控结果均在控。各仪器均使用原装配套试剂(日本 Sysmex 公司生产)和质控物;瑞氏-吉姆萨染液购自珠海贝索生物技术有限公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 按照传统推片染色方法进行人员比对(简称“传统比对方法”)**

**1.3.1.1 两名资深员工使用传统方法的镜下比对:**由实验室两名细胞形态学识别能力最强的技术人员按照美国临床实验室标准化协会(CLSI)H20-A 规定<sup>[8]</sup>的方法步骤,分别对 10 例样本进行手工推片、染色,取各自的血涂片在油镜下分类 200 个白细胞。计算每类细胞百分率的 99%可信区间,其中标准误差计算公式为:  $SE_p = (p \times q/n)^{1/2}$ , 99%可信区间:  $p \pm 2.57 \times SE_p$ , 其中:  $n=200$  (每人观察的白细胞数);  $P$ =均值(二人的百分率平均值);  $q=100-p$ ; 99%可信限的  $t$  分布因子  $S_t=2.57$ 。将每类细胞经以上计算后的 99%上下限作为“传统比对方法”的判断标准。

**1.3.1.2 其他参比人员的比对:**随机选择实验室另外 10 名血液专业人员进行比对,每人均严格按照要求分别对上述 10 例样本进行推片及染色,参比人员所计数的各类细胞的百分率结果如在 1.3.1.1 中的 99%上下限之间即判为“符合”。各类细胞分类的人员比对“合格”的判定标准为:应有  $\geq 80\%$  的结果符合要求,即每种细胞的分类结果 10 例标本中至少有 8 例“符合”。

**1.3.2 使用 SP-1000i 及 CellaVision DM96 进行人员比对(简称“新比对方法”)**

**1.3.2.1 两名资深员工间使用新比对方法进行比对:**将 10 例样本分别采用 SP-1000i 全自动推片机推片并染色,每份样本制作 A、B 两张涂片。将每份样本的 A 涂片分别由两名资深员工进行显微镜镜检并各自记录结果;将每份样本的 B 涂片置于 CellaVision DM96 分析仪中运行分析,设置完成

分析的白细胞数为 120 个,并保存结果,在二人进行细胞分类前均将仪器收集的所有有核细胞用鼠标拖至“未分类细胞”中,以消除仪器预分析结果所带来的心理干扰。将 B 涂片经扫描后二人分类结果的 99%上下限定为“新比对方法”判断标准。

**1.3.2.2 其他参比人员间使用新比对方法进行比对:**将 1.3.2.1 中由 CellaVision DM96 扫描的 10 例样本 B 涂片的细胞保存图像分别由其他 10 名参比人员进行判别分类。分类结果如在 1.3.2.1 中“新比对方法”判断标准的 99%上下限之间即判为“符合”,人员比对“合格”的判定标准同 1.3.1.2。

**1.3.3 两种比对方法的耗时比较:**对每名参比人员从开始镜检至镜检完毕进行准确计时;记录从将血涂片装载入 DM96 仪器开始至预分析完成为止所耗时间;记录每名参比人员对 DM96 仪器预分析结果进行人工确认所耗时间。

**1.4 统计学分析** 统计分析采用 Excel (Microsoft Office 2010) 和 SPSS 17.0 软件。人员比对结果的相关性采用线性回归分析,计量数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两种方法间的比较采用成组  $t$  检验分析,百分率间的比较采用卡方检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两名资深员工按照传统比对法进行比对** SP-1000i 涂片镜检比对以及新比对方法进行人员比对,每例标本每人均重复 3 次试验,二人对各类细胞分类的结果均具有中度以上的相关性( $0.30 < r < 0.85$ );使用 SP-1000i 统一涂片后进行镜检比对后,各类细胞的相关系数均较传统比对方法高( $P < 0.05$ );采用新比对方法后,相关系数较传统比对方法进一步升高( $P < 0.01$ ),且较 SP-1000i 涂片镜检比对法高( $P < 0.05$ )。各类细胞的相关系数见表 1。

**2.2 另外 10 名参比人员按照传统比对方法进行比对** 见表 1。每类细胞至少有 2 人以上需要重新进行比对,其中浆细胞需要全部员工重新进行比对,人员合格率为 0%;而采用新方法进行比对后,各类细胞比对合格的人数明显增多( $P < 0.01$ ),其中中性粒细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞均无需重新比对,单核细胞和中性中幼粒细胞均仅 1 人需要重新进行比对,早幼粒细胞和异型淋巴细胞仅有 3 人需重新比对,中性晚幼粒细胞、原始细胞和浆细胞仅 2 人需要重新进行比对,共有 3 名员工需要重新参加比对试验,人员合格率为 70%(7/10),远远高于传统方法( $P < 0.01$ )。

表1 各类细胞经两名资深员工分别按传统、SP-1000i 涂片镜检及新比对方法进行比对的相关系数

细胞种类	传统比对法 ( <i>r</i> 值)	SP-1000i 涂片镜检比对法		新比对法	
		<i>r</i> 值	<i>t</i> 值	<i>r</i> 值	<i>t</i> 值
中性粒细胞	0.83±0.11	0.90±0.15*	2.589	0.98±0.11**	4.590
淋巴细胞	0.79±0.10	0.88±0.11*	2.863	0.96±0.13**	4.089
单核细胞	0.65±0.07	0.85±0.11*	3.281	0.91±0.14**	4.332
嗜酸性粒细胞	0.89±0.12	0.91±0.15*	3.547	0.99±0.17**	4.210
嗜碱性粒细胞	0.51±0.06	0.65±0.08*	2.794	0.95±0.15**	4.089
早幼粒细胞	0.31±0.04	0.59±0.06*	2.905	0.90±0.11**	4.577
中性中幼粒细胞	0.57±0.07	0.72±0.10*	3.176	0.92±0.14**	4.336
中性晚幼粒细胞	0.59±0.08	0.75±0.10*	2.996	0.93±0.15**	4.821
原始细胞	0.68±0.08	0.79±0.11*	3.065	0.92±0.13**	4.503
异型淋巴细胞	0.75±0.07	0.83±0.11*	3.111	0.90±0.14**	4.217
浆细胞	0.53±0.05	0.77±0.09*	3.216	0.91±0.13**	4.960

注:分别与传统比对法进行比较\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ 。

2.3 将两种比对方法对白细胞分类识别所需时间进行比较 人工显微镜镜检耗时  $8.05 \pm 0.87$  min/例,而DM96 仪器分析耗时  $2.01 \pm 0.18$  min/例,人工审查确认预分析结果仅耗时  $1.05 \pm 0.18$  min/例,大大节省了参比人员所花费的时间( $P<0.05$ )。

3 讨论 SP-1000i 全自动推片染色仪可与XE2100 血细胞分析仪组合成一体机,在软件控制下根据各个实验室的复检规则自动选择样本进行推片、染色<sup>[9]</sup>。仪器采用专用试剂针,将染液和缓冲液分别加入单个玻片盒内,根据不同的染色要求,可任意设定染色时间,不同操作者应用该仪器进行制片工作,可达到推片和染色的高度一致。CellaVision DM96 自动阅片仪由涂片扫描装置和装有血细胞分析软件的计算机组成。外周血涂片装载到该系统后,仪器开始扫描涂片,先在  $10\times$  物镜下以城垛跟踪方式找到白细胞的单细胞层并锁定,再于  $100\times$  物镜下通过自动对焦进行细胞分割和提取并拍摄数码照片,用基于人工神经网络系统(artificial neural networks, ANN)的软件进行分析,识别各种白细胞,得到白细胞分类计数的预分析结果,操作者可对预分析结果进行修改或重新分类。应用该仪器可定位并抓取白细胞图像,从而实现镜检区域及所识别细胞对象的高度一致<sup>[10]</sup>。SP-1000i 和 DM96 在临床工作中已经得到较为广泛的应用,但将二者结合起来进行形态学检验人员镜检比对工作,国内尚未见类似报道。

本研究显示,两名资深员工使用新方法比对时,各类细胞的相关系数均较传统方法明显升高( $P<0.01$ ),且二人对各类白细胞分类的结果均具有高度相关性( $r$ 均 $>0.9$ ),是由于 SP-1000i 可提

高推片和染色的一致性,而采用 DM96 可以提高镜检区域及所识别细胞对象的一致性。对实验室另外 10 名参加血细胞分析值班人员采用新方法进行比对后,各类细胞比对合格的人数较传统方法明显增多( $P<0.01$ ),人员合格率明显升高( $P<0.01$ )。对需要重新比对的原因进行分析,发现参比人员对外周血中单核细胞、异型淋巴细胞以及幼稚细胞的识别能力尚不够。由于消除了人员制片、染色操作以及镜检区域选择等干扰因素的影响,所分析的细胞群体完全一致,结果间的差异完全来源于对各类细胞的识别能力,能够更加客观地反映人员能力缺陷所在。通过有的放矢地加强形态学图谱培训可以针对性地提高形态学识别能力。经过再次对错判细胞进行图谱培训以后,补考人员只需调取 DM96 中每例样本的储存图片再次进行比对(无须像传统方法一样重新制片、染色和镜检)即可,人员合格率均达到了 100%,考核及培训效果均好,而且节约了大量的时间。

综上所述,将 SP-1000i 和 DM96 应用于细胞形态学镜下人员的比对工作,可以省时、省力、高效提高实验室质量管理,值得大力推广。

#### 参考文献:

- [1] 桑奕雯. 外周血细胞计数与形态学检查对常见白血病诊断的重要性[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(21): 2934-2936, 2938.  
Sang YW. The importance of peripheral blood cell counts and morphology detection in the diagnosis of common leukemia[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(21): 2934-2936, 2938.
- [2] 魏宁康, 杜元元. 注重外周血细胞形态学检查降低血液病漏诊和误诊[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(9): 1166-1167.

(下转 142 页)

- patients[J]. J Trop Med, 2012, 12(2): 187-189.
- [7] 雷鸿斌, 范文, 黄娥, 等. ICU下呼吸道感染的革兰阴性杆菌耐药性调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(4): 806-807.
- Lei HB, Fan W, Huang E, et al. Drug resistance of gram-negative bacilli causing lower respiratory tract infection in ICU[J]. Chin J Nosocomiol, 2011, 21(4): 806-807.
- [8] 陈谷霖, 吴红丽, 何耀琴, 等. 重症监护病房呼吸机相关性肺炎病原菌分布及耐药监测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1244-1246.
- Chen GL, Wu HL, He YQ, et al. Distribution ventilator-associated pneumonia pathogens in intensive care unit and drug resistance surveillance [J]. Chinese Journal of Nosocomiol, 2011, 21(6): 1244-1246.
- [9] 胡静, 熊邦泽, 朱金梅, 等. 下呼吸道感染病原菌分布及药敏分析[J]. 重庆医学, 2009, 38(4): 436-437.
- Hu J, Xiong BZ, Zhu JM, et al. Pathogens distribution and drug resistance in lower respiratory tract infection[J]. Chongqing Medical Journal, 2009, 38(4): 436-437.
- [10] 王良平. 肺结核患者下呼吸道病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(19): 4407-4409.
- Wang LP. Distribution and drug resistance of pathogens causing lower respiratory tract infections in tuberculosis[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2012, 22(19): 4407-4409.
- [11] 陈建飞, 钟志宏. 肺结核合并下呼吸道真菌感染病原菌的分布及药敏分析[J]. 北京医学, 2012, 34(9): 791, 795.
- Chen JF, Zhong ZH. Pulmonary tuberculosis of lower respiratory tract fungal infection pathogenic bacteria distribution and drug susceptibility analysis [J]. Journal of Beijing Medicine, 2012, 34(9): 791, 795.

收稿日期: 2015-12-15

修回日期: 2016-02-07

(上接 137 页)

- Wei NK, Du YY. To reduce misdiagnosis and missed diagnosis of the blood diseases by peripheral blood cell morphological examination[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2013, 10(9): 1166-1167.
- [3] 寿爽, 谭焕腾, 成军, 等. 巨核细胞数量及形态学改变在四种类型 MPN 中的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 79-82.
- Shou S, Tan HT, Cheng J, et al. Diagnostic value of quantity and morphology change of megakaryocytes in four types of MPN[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(1): 79-82.
- [4] CNAS-CL43: 2012. 医学实验室质量和能力认可准则在临床血液学检验领域的应用说明[S]. 中国合格评定国家认可委员会, 2012.
- CNAS-CL43: 2012. Guidance on the Application of Accreditation Criteria for the Medical Laboratory Quality and Competence in the Field of Clinical Hematology[S]. CNAS-CL43: 2012.
- [5] Simson E, Gascon-Lema MG, Brown DL. Performance of automated slidemakers and stainers in a working laboratory environment-routine operation and quality control[J]. International Journal of Laboratory Hematology, 2010, 32(1p1): 64-76.
- [6] Yu H, Ok CY, Hesse A, et al. Evaluation of an automated digital imaging system, Nextslide Digital Review Network, for examination of peripheral blood smears[J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(6): 660-667.
- [7] 丛玉隆. Sysmex XE-2100 自动血细胞分析和白细胞分类的复检规则探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(7): 752-757.
- Cong YL. Review criteria for automated complete blood count and WBC differential analysis by Sysmex XE-2100 hematology analyzer [J]. Chin J Lab Med, 2008, 31(7): 752-757.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute H20-A2. Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods. approved standard-second edition [S]. Wayne: PA Clinical and Laboratory Standards Institute, H20-2A, 2007.
- [9] 王伟鑫, 林佩娜, 李忠信, 等. Sysmex XE-2100 血细胞分析仪自建检测系统的建立及应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(6): 87-89, 92.
- Wang WX, Lin PN, Li ZX, et al. Establishment of the Sysmex XE-2100 hematology analyzer self-built detection system and its application[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(6): 87-89, 92.
- [10] Yamamoto T, Tabe Y, Ishii K, et al. Performance evaluation of the CellaVision DM96 system in WBC differentials[J]. Rinsho Byori the Japanese Journal of Clinical Pathology, 2010, 58(9): 884-890.

收稿日期: 2015-03-05

修回日期: 2016-03-07