

## LD BC- I 全自动血细胞图像分析仪 对外周血有核细胞分类能力的验证评价<sup>\*</sup>

高 飞<sup>1</sup>, 唐 晶<sup>2</sup>, 李景岗<sup>1</sup>, 张 凤<sup>1</sup>, 龙 莉<sup>2</sup>, 曹得华<sup>2</sup>, 汪 键<sup>2</sup>

(1. 福建医科大学附属协和医院血液病研究所, 福州 350001;

2. 武汉兰丁医学高科技有限公司, 武汉 430206)

**摘要:**目的 对 LD BC- I 型全自动血细胞图像分析仪的临床性能进行验证及评价。方法 收集 2016 年 10~12 月福建医科大学附属协和医院门诊 EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝血样本 202 例, 涂片经瑞氏染色后, 分别进行人工镜检和血细胞图像分析仪扫描, 比较人工镜检与自动分析仪检测效率及有核细胞分类结果的差异, 进一步分析两种方法所测结果的相关性与一致性。结果 自动分析仪分析每份标本所用平均时间较人工镜检缩短 3.81±2.11 min, 差异具有统计学意义( $t=25.626$ ,  $P<0.01$ )。分析仪预分析原始细胞、早幼、中幼及晚幼粒细胞、异型淋巴细胞的符合率分别是 71.4%, 64.8%, 28.8%, 21.1% 和 71.6%。经人工复核后, 五种有核细胞诊断符合率提高到 87.7%, 81.5%, 38.1%, 26.3% 和 86.2%。Passing-Bablok 回归法显示, 两种方法检测中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞, 呈显著正相关( $r=0.981, 0.894, 0.725, 0.772$ , 均  $P<0.01$ )。Bland-Altman 分析显示, 两种方法的中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞的符合率分别为 96%, 96%, 91% 和 94%。结论 LD BC- I 型血细胞图像全自动分析仪能显著提高有核细胞的分析效率, 对成熟的粒细胞、单核细胞及淋巴细胞分类结果与人工镜检一致性好, 有一定的临床应用推广价值。

**关键词:**人工镜检; 有核细胞; LD BC- I 型全自动血细胞图像分析仪

中图分类号: R446 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)02-086-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.02.024

## Evaluation of LD BC- I Blood Cell Image Automatic Analyzer in Analysis of the Nucleated Cells in Peripheral Blood Smear

GAO Fei<sup>1</sup>, TANG Jing<sup>2</sup>, LI Jing-gang<sup>1</sup>, ZHANG Feng<sup>1</sup>, LONG Li<sup>2</sup>, CAO De-hua<sup>2</sup>, WANG Jian<sup>2</sup>

(1. Institute of Hematology, Fujian Medical University Union Hospital,

Fuzhou 350001, China; 2. Wuhan Landing Medical High-Tech Co. Ltd, Wuhan 430206, China)

**Abstract:** **Objective** To verify and evaluate the clinical performance of LD BC- I blood cell image automatic analyzer. **Methods** A total of 202 EDTA-Na<sub>2</sub> anticoagulant blood specimens were collected at the hospital clinic randomly between October and December 2016. After wright staining, each specimen was examined by microscopy and automatic analyzer respectively, the detection efficiency and the results of nuclear cells classification were compared between artificial microscopy and automatic analyzer, the correlation and consistency of two methods were further analyzed. **Results** The average time required for each specimen of the automatic analyzer was reduced by 3.81 minutes when compared with artificial microscopy, the  $P$  values was less than 0.01. LD BC- I agreed 71.4%, 64.8%, 28.8%, 21.1% and 71.6% respectively for pre-differentiation of the blast cells, promyelocytes, myelocyte, metamyelocytes and atypical lymphocytes. The diagnosis accordance rates of five nucleated cells above increased to 87.7%, 81.5%, 38.1%, 26.3% and 86.2% after manual review. Passing-Bablok regression analysis found that the correlation coefficient ( $r$ ) of two methods of neutrophils was 0.981, lymphocytes ( $r=0.894$ ), monocytes ( $r=0.725$ ), eosinophils ( $r=0.772$ ), and there were significant correlation between two methods (all  $P<0.01$ ). Bland-Altman analysis found that the coincidence rate of the neutrophils and lymphocytes were 96%, the monocytes were 91% and the eosinophils were 94%. **Conclusion** The LD BC- I automatic blood cell image analyzer could significantly improve the analysis efficiency of the nucleated cells. There was good consistency in the classification results of mature granulocytes, monocytes and lymphocytes between instrumental detection and artificial microscopy. The method has certain clinical value to be applied widely.

**Keywords:** artificial microscopy; nucleated cells; LD BC- I automatic blood cell image analyzer

近年来,随着数字化细胞图像分析技术迅速发展,自动化的扫描技术,结合现代神经网络分析的

<sup>\*</sup> 基金项目:福建省血液医学中心建设资助项目[闽政办 2017(4)号];国家和福建省临床重点专科建设资助项目。

作者简介:高 飞(1970—),男,硕士研究生,副主任技师,主要从事血液病实验诊断工作, E-mail: fuzhougaofei@163.com。

通讯作者:汪 键(1957—),男,博士,教授,主要从事骨髓、血液检测仪器研究, E-mail: wangjian@landing-med.com。

方式,使细胞扫描过程简洁化、标准化,可高效筛选和分类异常细胞,为临床医生进行疾病诊断提供帮助。目前国内外已有一些全自动血细胞图像分析仪,例如瑞典 Cella Vision 公司推出的 DM96 全自动血细胞数字图像分析仪,该款仪器在白细胞分类、细胞内寄生虫检测方面有一定临床价值<sup>[1~3]</sup>,国内的有北京赛尔蒂扶公司的 CELLDIFF BCM-2 血细胞形态分析仪,在白细胞分类方面也有文献报道<sup>[4]</sup>。但目前临床中应用的血细胞图像分析仪存在一些问题,例如细胞图像清晰度不高、软件操作步骤较为繁琐等问题,影响细胞的分类诊断效率<sup>[5]</sup>。

LD BC-I (Landing blood cell analyzer-I 型,武汉兰丁高科技生物有限公司研制)全自动血细胞图像分析仪是一款采用 CortexM3 内核 32MCU 为核心,通过以太网控制平台 3 轴联动,CCD 摄像头取图,计算机软件对采集的数据进行分析与计算,最终实现有核细胞自动分类及统计的分析系统。具有操作界面简洁、图像分辨率高等特点。本次实验主要从人工分析效率、分类结果相关性及各类型细胞符合率等方面予以比较分析,考察该仪器临床检测性能。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2016 年 10~12 月福建医科大学附属协和医院门诊血细胞检测分析病例共 202 例(EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝),其中男性 105 例,女性 97 例,年龄范围 15~77 岁,中位年龄 45 岁。血细胞检测由希森美康血液分析系统 X2100 测定,结果提示白细胞增高患者 31 例,减低 28 例,贫血患者 13 例,血小板减低患者 7 例,提示幼稚细胞 5 例,血细胞检测结果大致正常者 118 例。

1.2 仪器和试剂 LD BC-I 型血细胞图像全自动分析仪,主要由硬件和软件两部分组成。硬件部分包括生物学显微镜 OLYMPUS BX41、高精度平台、彩色摄像头 (IMAGINGSOURCE DFK 23G274)、计算机及计算机外设组成;软件部分包括三维自动定位调焦系统、图像处理系统及诊断报告输出系统。瑞氏-姬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 样本准备:同一例标本平行制备血液涂片 2 张,室温自然晾干,瑞氏-姬姆萨染色,流水冲洗,涂片自然晾干后先进行人工镜检,然后再由仪器扫描检测。

1.3.2 人工镜检:血液涂片行瑞氏-姬姆萨染色后,由福建医科大学附属协和医院 2 位经验丰富的医师(工作年限超过 15 年,中级或以上技术职称)

平行阅片,按照美国临床实验室标准化协会 (CLSI) H20-2A<sup>[6]</sup>规定的方法步骤,分别对同一血涂片在显微镜下分类 100 个白细胞,共分类 200 个细胞,并记录每一位医生检查所用时间,医生所用时间是指:医生在镜下观察分类有核细胞并记录下各类细胞数量完成结果统计出具报告所用时间,最后对时间进行平均计算。

1.3.3 LD BC-I 型全自动血细胞图像分析仪测定:将医生镜检后的血液推片置于该系统自动平台上,开机,新建样本编号后点击开始,分析仪就会自动进行扫描,扫描结束后自动保存血细胞图片信息,医生可在电脑上进行人工复核,将分类不正确的白细胞修改到所属细胞类别。对有疑问的细胞,通过软件自动定位功能,锁定其所在坐标轴,可在镜下观察。完成白细胞分类诊断后点击生成报告,可编辑病人相关信息和诊断结论,发出报告。全自动分析仪所用时间指:血液推片置于该系统自动平台该系统开始至停止扫描、计算完成后,医生观察细胞图像、修改所属类别细胞并在镜下复查可疑细胞,完成报告所需的时间。

1.4 统计学分析 统计分析采用 Excel 2015 (Microsoft office, Microsoft Inc., Redmond, US) 和 MedCalc 15.0 (Medcalc software, Mariakerke, Belgium),血细胞图像全自动分析仪和人工镜检所用时间及细胞分类比较采用两样本的配对 *t* 检验,两种检测方法相关性分析采用 Passing-Bablok 回归分析,一致性分析采用 Bland-Altman 分析,相关性程度分析采用 Pearson 相关系数 (*r*)。

## 2 结果

2.1 血细胞图像自动分析仪与人工镜检所用时间比较 通过统计分析 202 例血液样本检测时间,人工镜检平均所用时间为  $7.19 \pm 2.40$  min,中位数为 6.95 min;全自动分析仪平均所用时间为  $3.38 \pm 1.12$  min,中位数为 3.20 min;血细胞图像自动分析仪所用平均时间较人工镜检缩短  $3.81 \pm 2.11$  min,中位数为 3.40 min,两方法所用时间的差异有统计学意义 ( $t=25.626, P<0.01$ )。

## 2.2 两种方法的四种有核细胞分类计数均值比较

同一标本采用两种方法计数结果属于配对设计,各类白细胞两种方法计数差值的均值见表 1。配对 *t* 检验显示仪器法结果在中性粒、淋巴、单核和嗜酸性粒细胞计数上与常规方法结果一致,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

2.3 不同方法检测原始细胞及异常细胞识别能力比较 分别对比人工镜检、仪器预分类、仪器预分类后人工复核细胞数的差异及符合率,结果见表 2。人工镜检识别幼稚细胞和异常细胞数量均比仪

器预分类少,有核红细胞符合率最高,达到96.9%,其余5类细胞(原始/幼稚细胞、早、中、晚幼粒细胞、异型淋巴细胞)符合率均低于90%;比较仪器预分类后人工复核与单独进行仪器预分类的符合率,发现存在类似趋势。

2.4 人工镜检与血细胞图像自动分析仪结果方法学比较 采用 Passing-Bablok 回归法和 Bland-

Altman 法分别对中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞四种有核细胞两种检测方法相关性及其一致性分析,发现四种有核细胞进行两种方法比较的相关系数均大于0.7,符合率均大于90%,比较结果见表3。四种有核细胞进行两种方法的相关性分析见图1,四种有核细胞进行两种方法的一致性分析见图2。

表1 两种检查方法四种有核细胞分类计数均值比较[ $\bar{x} \pm s(\%)$ ]

有核细胞	人工组	仪器组	人工组-仪器组	配对 <i>t</i> 值	P 值
中性粒细胞	59.78±13.20(60.5)	59.29±18.81(62.11)	0.07±3.14(0.205)	0.297	0.767
淋巴细胞	32.05±13.92(29.5)	31.54±14.16(29.81)	0.37±6.43(0.365)	0.81	0.419
单核细胞	6.17±3.11(6.27)	5.88±3.12(5.5)	0.21±4.43(0.126)	1.135	0.139
嗜酸性粒细胞	1.74±1.59(1.5)	1.61±1.54(1.24)	0.13±1.06(0.025)	1.685	0.093

注:\* 刮号内为中位数。

表2 不成熟有核细胞及异常细胞识别原始细胞及异常细胞能力比较(*n*)

细胞分类	人工镜检细胞总数 (I)	仪器预分类细胞总数 (II)	仪器预分类后人工复核细胞总数 (III)	符合率 I/II (%)	符合率 III/II (%)
原始/幼稚细胞	110	154	135	71.4	87.7
有核红细胞	250	258	252	96.9	97.7
早幼粒细胞	35	54	44	64.8	81.5
中幼粒细胞	46	160	61	28.8	38.1
晚幼粒细胞	53	251	66	21.1	26.3
异型淋巴细胞	78	109	94	71.6	86.2
总计	572	986	652	58	66.1

表3 四种有核细胞两种方法相关性和一致性分析表

方法学比对	相关系数( <i>r</i> )	P 值	差值均值(mean)	差值 95% 置信区间	符合例数	符合率(%)
中性粒细胞	0.981	<0.01	0.1	-6.1~6.2	194	96
淋巴细胞	0.894	<0.01	0.4	-12.2~13.0	194	96
单核细胞	0.725	<0.01	-0.3	-4.8~4.2	184	91
嗜酸性粒细胞	0.772	<0.01	0.1	-1.9~2.2	189	94

3 讨论 随着计算机技术和信息化技术的不断进步,血细胞图像分析技术获得了飞速的发展。近十年来,全自动血细胞图像分析技术逐步进入临床应用,已经能够提供比较准确的有核细胞分类结果。Cella Vision 公司推出的 DM96 型全自动血细胞数字图像分析仪,能够完成血涂片上载的自动化、单细胞层定位、细胞识别、报告自动生成等功能。在国外得到广泛使用,在国内,该分析仪仅在少数大型实验室使用,尚不普及。一方面由于该仪器价格较高,限制了在一般性临床实验室的应用普及,另一方面该仪器在部分细胞类型检测上尚不能满足临床需要,尤其是在血小板、红细胞检测等方面<sup>[7,8]</sup>。

LD BC-I 型血细胞图像分析仪搭载高精度平

台和全自动物镜转换系统,可完成不同分辨率(10倍~100倍)的细胞自动聚焦和定位功能,进一步通过图像采集和细胞识别系统能快速对部分有核细胞实现预分类。同时借助人工审核,修改细胞类型,并对统计数据及时更新。LD BC-I 分析仪具有图像拼接功能,人工镜检后标本的信息会丢失,而分析仪所采集的每个细胞形态都能完整的保留在系统中,通过点击相应的细胞就能精确找到其在涂片上面的具体位置,同时摄像头捕捉的每张图片能拼接成一张完整的血细胞图谱,可方便检验人员及时复审。本分析仪通过与云平台有机结合,将扫描数据进行及时上传,对诊断有疑问的数据,自行识别,可进行远程专家细胞会诊,大大提高诊断的准确性。借助网络手段,能让患者通过手机或电

脑及时查询自己的检验报告,与DM96分析仪相比,本分析仪具有以下特点:体积更小巧,中文操作

界面简洁方便,具有自主知识产权的物镜转换系统,图像拼接系统等。

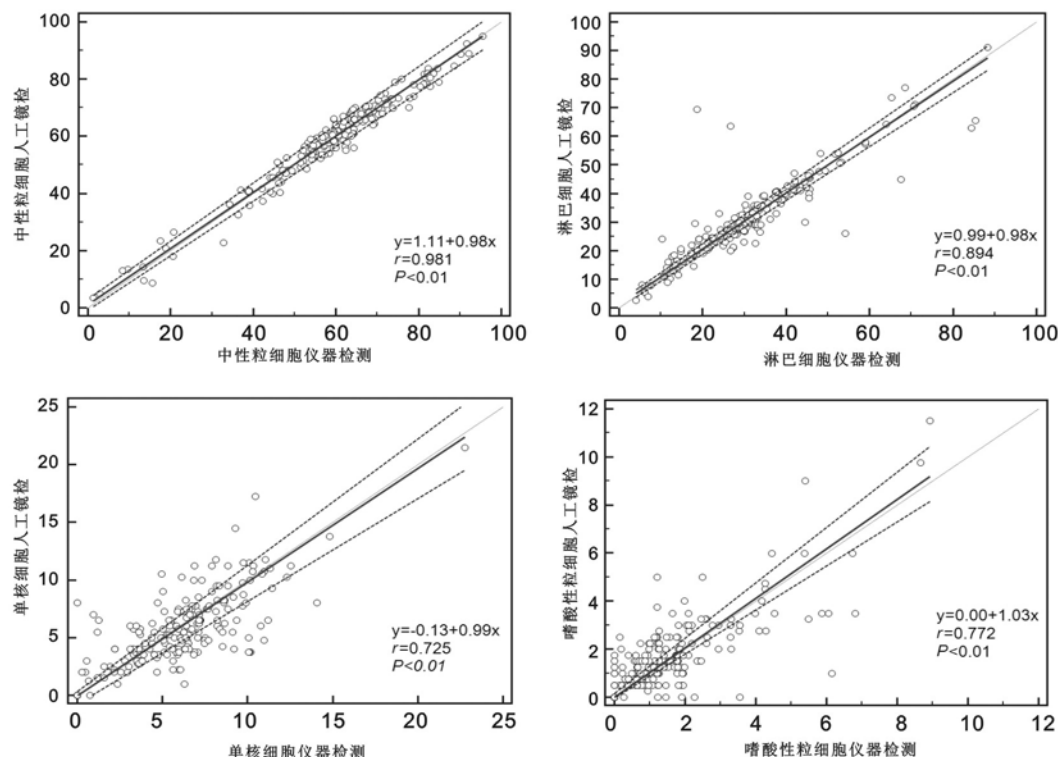


图1 四种有核细胞仪器检测与人工镜检相关性分析图

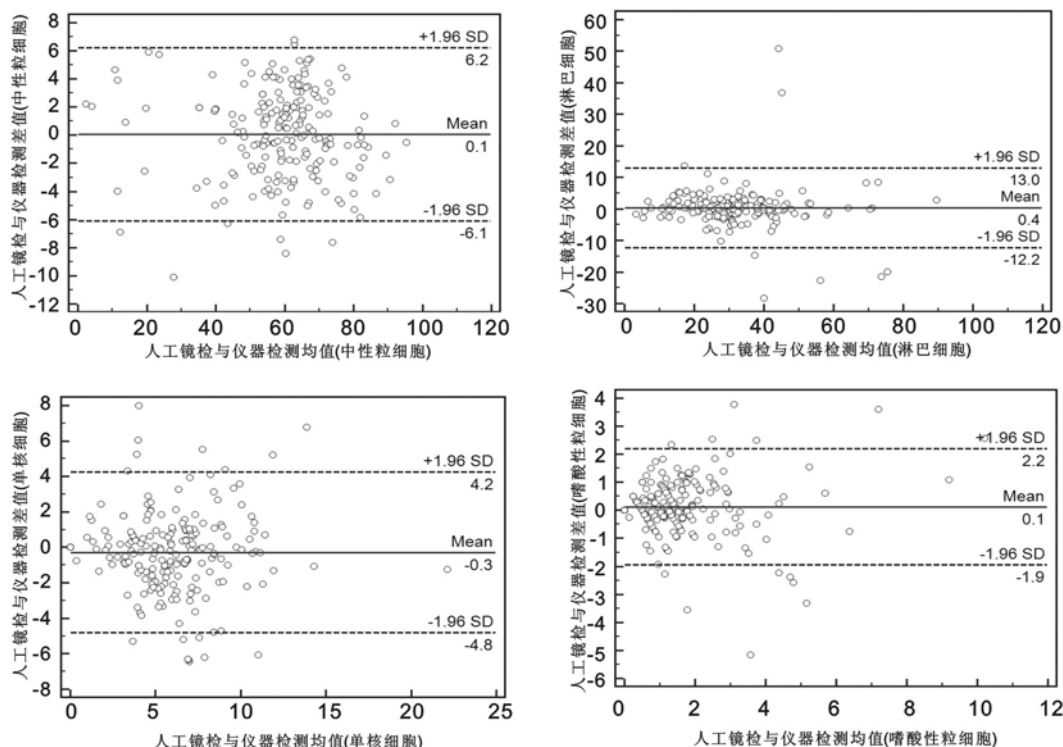


图2 四种有核细胞仪器检测与人工镜检一致性分析图

自动分析仪对血液系统常见有核细胞准确分类并显著提高分析效率是进入临床应用的基础,LD BC-I分析仪分析所用平均时间较人工镜检效率明显提高,两种方法在中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞的分类计数方面无明显差

异,说明LD BC-I分析仪能够在常见有核细胞分析方面能较好地替代人工镜检。

本研究测试了分析仪对于不成熟有核细胞和异常细胞的识别能力,其中有核红细胞、异型淋巴细胞、原始细胞和早幼粒细胞的符合率较高,原因

可能是这四种细胞特征显著,较易与其他类型细胞区别。中幼粒细胞和晚幼粒细胞符合率较低,可能的原因一方面是这两种细胞形态学特征重叠较多,易混淆;另一方面本系统中参考细胞库数量较少,导致识别准确率不高。经人工复核后,以上六种有核细胞符合率均有不同程度的提高,但跟人工镜检分类仍有差异,会降低部分病理血象改变如慢性粒细胞白血病、类白血病反应及核左移等的分析判断,会影响或误导临床诊断,进一步丰富参考细胞库提高系统细胞分类识别能力,仍需要进一步的改进工作。

Cella Vision DM96 是目前临床应用较多的血细胞分类分析系统,Stouten 等<sup>[9]</sup>收集 6 945 例血涂片,比较 Cella Vision DM96 系统与人工镜检有核细胞分类相关性研究,中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞相关系数分别达到 0.997, 0.995, 0.933 和 0.978,相关性极高,同时两种方法检测结果有良好的符合率。LD BC- I 分析仪与人工镜检分类比较的相关系数略低,较 Cella Vision DM96 与人工镜检的分析比较数据略有差距,可能原因是本次测试搜集的样本数量较少、细胞数据库尚不够丰富有关,但相关系数的变化规律与报道相似。另外 Riedl 等<sup>[10]</sup>比较四个临床实验室应用 DM96 系统进行外周血细胞计数相关系数差异,发现不同实验室检测中性粒细胞相关系数可变范围在 0.9~0.96 之间、淋巴细胞相关系数可变范围在 0.83~0.94 之间、单核细胞相关系数可变范围在 0.77~0.82 之间、嗜酸性粒细胞相关系数可变范围在 0.70~0.78 之间。本次试验的中性粒细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞的相关系数与文献报道相似,单核细胞相关系数较 DM96 略低,可能由于中性杆状核、晚幼粒细胞及单核细胞细胞数据库尚不完善有关,有待进一步提升优化。

LD BC- I 型血细胞图像分析仪通过自动化图像分析方法,分类原理类似于人工镜检,与人工镜检相比,明显缩短细胞分类的时间,提高工作效率,对外周血中数量和比例高的有核细胞具有较高的辨识度,分类结果与人工相关性较好,一致性较高,具有临床推广应用价值。不足之处在于,分析仪对于异常淋巴细胞、偏幼稚细胞及单核细胞的识别能力需进一步提高,仍需进一步丰富细胞库,提高本系统早期及异常细胞的辨别能力及诊断效能。

#### 参考文献:

[1] Park SH, Park CJ, Choi MO, et al. Automated digital cell morphology identification system (CellaVision DM96) is very useful for leukocyte differentials in specimens with qualitative or quantitative abnormali-

ties[J]. *Int J Lab Hematol*, 2013, 35(5): 517-527.

[2] 刘艳红. 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[J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(3): 135-137, 142.

Liu YH. Application of morphology microscopically comparison by using SP-1000i and CellaVision DM96 [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(3): 135-137, 142.

[3] 洪俊, 饶永彩. 评估 CellaVision™ DM96 全自动数字细胞形态学分析系统在外周血涂片中检测细胞内寄生虫的临床价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(5): 123-126, 129.

Hong J, Rao YC. Performance evaluation of the Cella Vision™ DM96 analyzer during detection of intracellular parasites of peripheral blood smears[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(5): 123-126, 129.

[4] 孙晓冰, 黄晓春, 徐健, 等. Celldiff BCM-2 血细胞形态分析系统白细胞分类能力的初步验证和临床应用评价[J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(5): 28-31, 35.

Sun XB, Huang XC, Xu J, et al. Initial verification and clinical evaluation of Celldiff BCM-2 automated analysis system for white blood cell differentiation [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015, 30(5): 28-31, 35.

[5] Vanvraken SJ, Patterson ES, Rudmann SV, et al. A survey study of benefits and limitations of using Cella Vision DM96 for peripheral blood differentials[J]. *Clin Lab Sci*, 2014, 27(1): 32-39.

[6] Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI H 20-A2 Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; approved standard-second edition [S]. Wayne: PA, CLSI H20-2A, 2007.

[7] Egelé A, Stouten K, van der Heul-Nieuwenhuijsen L, et al. Classification of several morphological red blood cell abnormalities by DM96 digital imaging[J]. *Int J Lab Hematol*, 2016, 38(5): 98-101.

[8] Gao Y, Mansoor A, Wood B, et al. Platelet count estimation using the CellaVision DM96 system [J]. *J Pathol Inform*, 2013, 4(1): 16.

[9] Stouten K, Riedl JA, Levin MD, et al. Examination of peripheral blood smears: performance evaluation of a digital microscope system using a large-scale leukocyte database[J]. *Int J Lab Hematol*, 2015, 37(5): 137-140.

[10] Riedl JA, Stouten K, Ceelie H, et al. Interlaboratory reproducibility of blood morphology using the digital microscope[J]. *J Lab Autom*, 2015, 20(6): 670-675.