

基于血细胞形态识别的自动检测系统的研发^{*}

何文军, 李 曼, 李 涛, 钟伟国, 肖长周, 钟彦晶, 张云超, 徐 宁
(广州中医药大学第二附属医院/广东省中医院, 广州 510370)

摘要:目的 建立血细胞形态自动检测系统工作平台。方法 运用自动化控制、显微数字影像与人工智能神经网络技术, 自动拍摄待检样品选定区域的显微镜放大图像, 提取血细胞图像面积、边界和纹理等多种特征, 对血细胞形态进行识别。结果 该系统识别白细胞的正确率 95.1%, 重复率 0.1%, 漏检率 0.7%, 稳定性 97.7% 和速度 ≤ 5 min/片, 该系统可估算有核红细胞、网织红细胞数量, 在此基础上给出白细胞个数修正因子, 同时可初步估算血小板数量, 提示异常红细胞。结论 实验设计了一个完整的血细胞形态识别系统, 减轻了临床的工作量, 提高了检测效率。

关键词: 血细胞形态; 自动化检测; 系统评价

中图分类号: R446 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)02-104-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.02.027

Study on Automatic Detection System Base on Blood Cell Morphology Recognition

HE Wen-jun, LI Man, LI Tao,

ZHONG Wei-guo, XIAO Chang-zhou, ZHONG Yan-jing, ZHANG Yun-chao, XU Ning

(the Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine/
Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510370, China)

Abstract: **Objective** To establish a blood cell morphology automatic detection platform. **Methods** Using the techniques of automatic control, digital microscopic imaging and artificial intelligence neural network, automatic shooting the selected area on the microscope magnified image of sample, then the area, boundary, texture and other characteristics were extracted to compare with blood cell in cell morphology. **Results** In identifying WBC, the system accuracy was 95.1%, repetition rate was 0.1%, miss rate was 0.7%, the stability was 97.7%, and the read speed less the 5min/piece. The system could estimate reticulocyte and nucleated red blood cell number. And then leukocyte number correction factor was given too. At the same time, the system could preliminary estimate platelet number and suggest abnormal red blood cells. **Conclusion** A complete blood cell morphological identification system was established which could reduce the work load and improve the detection efficiency.

Keywords: hemocyte morphology; automatic detection; systematic reviews

血细胞形态检查是临床检验的常规工作,也是疾病诊疗的重要手段^[1-3]。传统人工镜检分类是血细胞形态检查的金标准,对技术人员依赖性较大,一方面存在要求高、速度慢、工作量大、重复性差、难追溯等问题,另一方面也影响了检验数据与实验室信息系统(LIS)和医院信息系统(HIS)等电子信息处理系统对接。同时,因检验结果缺少图像数据,无法满足大数据积累和深入研究的需求。因此,临床实验室迫切需要改进工作流程,引进稳定、高效、易于数据化的细胞形态检测系统。本研究采用先进的图像处理、收集数据和识别形态等技术,建立一套新型的细胞形态自动阅片分析系统。该系统可以进行白细胞六分类计数、有核红细胞计数和网织红细胞计数,并在此基础上给出白细胞个数修正因子,同时可以初步估算血小板数量,还可提示异常红细胞。每个数值均有图像结果支持,方便

审核者浏览,数据化结果可与实验室信息系统对接,实现电子化管理^[4]。

1 材料与方法

1.1 系统设计 研究以先进的图像识别技术为基础,建立三个功能子模块:图像采集、算法训练和算法应用,组成形态自动识别工作系统。系统的框架如图1所示。

1.1.1 配置图像采集系统:在分辨率和放大倍数满足要求的情况下,安装用于镜检瑞氏染色血涂片的成像设备,并连接500万像素以上的图像采集系统,用于血涂片图像的采集、储存。

1.1.2 开发自动控制系统:配置自动控制马达,编写显微镜自动控制软件,通过控制信号调节载物台的上下运动调焦,并控制玻片的左右、前后运动,模拟人工阅片模式。

^{*} 基金项目:广东省科技支撑计划资助项目(粤科规财字[2016]88号-25)。

作者简介:何文军(1967—),男,本科,副主任技师,主要从事医学检验工作,E-mail: hwj1967@163.com。



图1 血细胞形态自动识别系统框架图

1.1.3 建立数据库:由三位经验丰富的血液学专家识别白细胞、红细胞和血小板,选取结果正常和异常的人血液标本涂片瑞氏染色,选择分类明确的细胞图像存入系统。通过形态识别管理系统提取各类细胞图像的面积、边界和纹理等40多项特征,运用人工神经网络(artificial neural network, ANN)和AdaBoost算法进行训练,建立白细胞六分类、红细胞和血小板图像标准数据库。

1.1.4 开发形态自动识别分析软件:图像处理模块是系统的核心部分。采用先进的图像处理技术、小波信号处理、数据挖掘和模式识别等技术,通过课题组自主研发的计算机识别技术自动判断图像中各区域细胞的重叠情况,正确性要求达到95%以上。

1.1.5 构建数据处理和结果输出模块:结合临床需求对采集到的数据进行处理,输出临床结果。

1.2 系统组成

1.2.1 硬件系统:主要是全自动显微成像单元,由

显微放大光学通路和自动控制平台组成。可自动识别血涂片中细胞重叠部分,选取细胞平铺部分,模拟人工阅片,自动调焦;调节血涂片位置。其框架见图2。

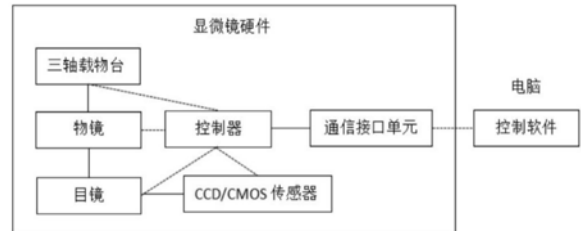


图2 显微镜硬件框架图

1.2.2 软件系统:包括图像采集、图像特征提取、识别血细胞并标记、复核结果及生成报告。

1.2.2.1 图像采集:由血液学专家标注血细胞图像中的细胞类型,为机器学习算法提供信号(见图3)。其它有监督学习功能的分类算法也可应用该软件。

1.2.2.2 图像特征提取:提取专家标注细胞的特征数据,包括血细胞的面积、周长、圆度、色度、灰度均值、熵、对比度等。

1.2.2.3 识别血细胞:根据这些图像特征提取算法,自动找到图像中需要的血细胞的区域和位置并做出标记。见图4。

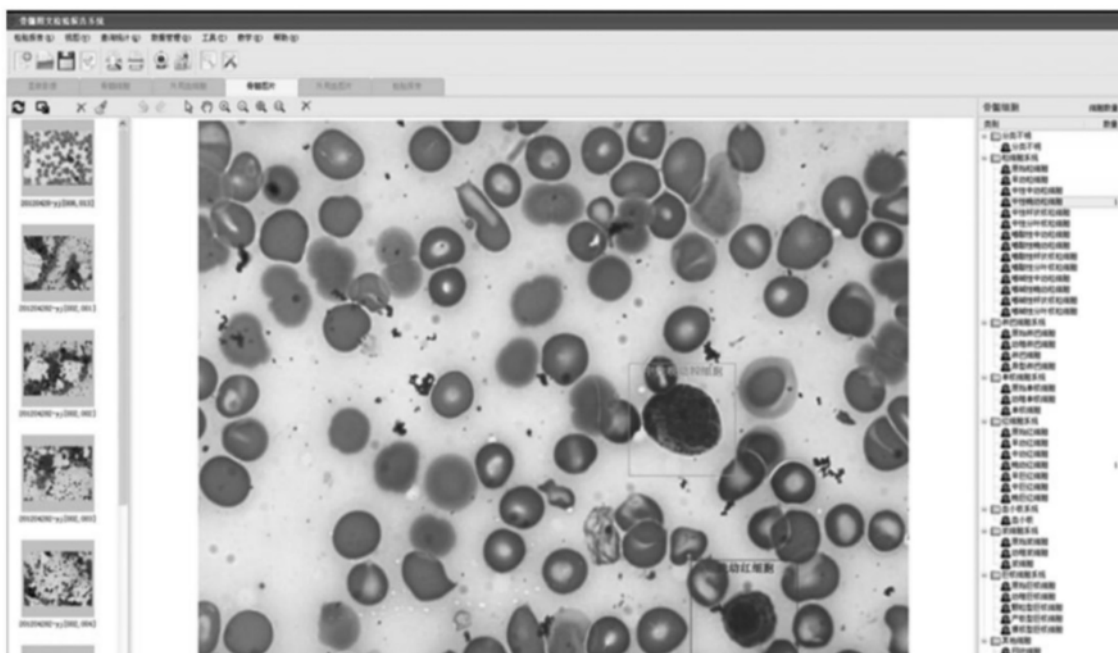


图3 输入专家标注白细胞类型工作界面

1.2.2.4 复核结果:确定分类结果正确性,计算分类准确率,然后确定上述特征中的有效性,根据分类准确性算法的参数,对血细胞图像中的细胞类型进行自动分类。该系统实现和支持的分类算法包括:线性分类算法、二次曲线分类算法、近邻分类算

法(KNN),神经网络分类算法(MLP),支持向量机分类算法(SVM),贝叶斯分类算法(bayes error estimation),基于信息量和决策树的分类算法。

1.2.2.5 生成报告:对1.2.2.4的结果进行统计分析,生成相应的报告。见图5。



图4 自动提取和标记白细胞工作界面

设置健康正常值范围								
设置各类细胞的正常值范围, 以百分比计算								
细 胞 名 称		正常值范围		细 胞 名 称		正常值范围		
		最小 %	最大 %			最小 %	最大 %	
粒 细 胞 系 统	中 性 粒 细 胞	原始粒细胞	0.31	0.97	单 核 细 胞	原始单核细胞	0	0.05
		早幼粒细胞	1.51	1.63		幼稚单核细胞	0	0.33
		中幼	4.45	6.53		单核细胞	2.12	3.68
		晚幼	5.93	9.87	浆 细 胞	原始浆细胞	0	0.24
		杆状核	20.22	27.25		幼稚浆细胞	0	0.264
		分叶核	6.52	12.36		浆细胞	0.29	1.13
	嗜 酸 性 粒 细 胞	中幼	0.15	0.61	巨 核 细 胞	原始巨核细胞		
		晚幼	0.17	0.81		幼稚巨核细胞		
		杆状核	0.84	1.86		颗粒巨核细胞		
		分叶核	0.25	1.47		产板型巨核细胞		
	嗜 碱 性 粒 细 胞	中幼	0	0.07		裸核型巨核细胞		
		晚幼	0	0.13	其 他 细 胞	网状细胞	0	0.37
		杆状核	0	0.19		内皮细胞	0	0.14
		分叶核	0	0.08		骨髓瘤细胞		
红 细 胞 系 统	原始红细胞	0.27	0.87	组织细胞				
	早幼红细胞	0.51	1.33	吞噬细胞		0	0.14	
	中幼红细胞	5.5	9.32	脂肪嗜碱细胞	0	0.11		
	晚幼红细胞	8.39	13.11	脂肪嗜酸细胞	0	0.034		
	早巨红细胞			脂肪细胞				
	中巨红细胞			分类不明细胞				
淋 巴 细 胞	晚巨红细胞			其他异常细胞				
	原始淋巴细胞	0	0.14					
	幼稚淋巴细胞	0	1.31					
	淋巴细胞	15.74	29.82					
	异型淋巴细胞							

保存

退出

图5 生成报告工作界面

1.2.2.6 工作流程:制备血涂片→采集图像→提取特征→识别血细胞→复核结果→生成报告

2 结果 系统应用

2.1 白细胞自动识别系统的应用评价

2.1.1 评价对象:随机抽 240 例白细胞计数范围在 $(2.0\sim 25.0)\times 10^9/L$ 的血液标本,涂片,瑞氏染色,镜检计数,要求白细胞总数超过 $(3.50\sim 9.50)\times 10^9/L$ 范围的数量应大于百分之五十。

2.1.2 评价方案:项目研发的自动识别系统从每张瑞氏染色的外周血涂片中分割出 100 个白细胞

图像,自动分类为中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和其他有核细胞。所有试验均以人工镜检计数为标准^[5]。

2.1.2.1 正确率:在 260 例血液涂片中抽取 240 例计算正确率,系统自动扫描血涂片、识别、分类,人工判读细胞图像,正确率为系统正确识别的白细胞数与所有识别的白细胞数的百分比。

2.1.2.2 重复率:在上述 240 例血液涂片中随机抽取 20 例,人工审核系统自动判读的每例 100 帧白细胞,再一次计算白细胞数,与总数 2 000 个白

细胞的百分比即重复率。

2.1.2.3 漏检率:抽240份血涂片余下的20例,划分入选区域,覆盖非入选区域,系统只可识别入选区域。系统对血片进行自动扫描,读取白细胞信息,与人工镜检计数的差值(差值必须为正数)即漏检白细胞数,漏检数与人工镜检计数的百分比即系统漏检率。

2.1.2.4 稳定性:对一张血涂片的相同位置连续检测10次,结果即系统稳定性。

2.1.2.5 检测速度:在上述血片中随机抽20例,计算系统采集、分类和生成报告所用时间的均值即

系统检测速度。

2.1.2.6 结果分析 使用Excel 2007软件统计数据。

2.1.2.7 结果:系统计数白细胞2000个,人工计数1998个,重复率为0.1%,系统计数白细胞2962个,人工计数2983个,漏检率0.7%,正确率95.1%,稳定性97.7%,检测速度 ≤ 5 min/片,总体性能达标。每张血片中嗜碱性粒细胞较少,故存在阅片误差,仅55.4%。白细胞分类计数的正确率见表1,综合性能评价见表2。

表1 240张血涂片分类结果

参 数	中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞	嗜酸性粒细胞	嗜碱性粒细胞	其他细胞	合 计
检出总数	16 910	4 090	1 607	714	166	329	23 816
正确个数	16 654	3 831	1 377	608	92	233	22 795
正确率(%)	98.5	93.7	85.7	85.2	55.4	70.8	95.1

表2 综合评价性能

性能指标	结果	判断标准	结论
准确率	95.1%	$\geq 92.0\%$	合格
重复率	0.1%	$\leq 1.0\%$	合格
漏检率	0.7%	$\leq 1.0\%$	合格
稳定性	97.7%	$\geq 96.0\%$	合格
检测速度	4'13"	$\leq 5'$	合格

2.2 红细胞与血小板自动识别系统的应用评价

2.2.1 对红细胞大小进行预分类:小红细胞,大红细胞,巨幼红细胞,正常红细胞;提示有核红细胞,检验人员可根据复原图总体判断血涂片的红细胞状况。

2.2.2 血小板数量估算:系统可获取血小板概览图,并将概览图中血小板数量换算出平均每高倍镜视野下的血小板数量。人工镜检血涂片,选取分布均匀,视野清晰,估算血小板数量。方法:血小板数($\times 10^9/L$)=一个高倍镜(油镜)视野中血小板平均个数 $\times 15 \times 10^9/L$ (或血小板估算经验系数,根据视野面积计算0.16倍)^[6]。

3 讨论 随着临床实验室血液学复检规则的严格执行及临床标本的增加,实现自动化仪器进行细胞形态分析是实验室自动化发展的必然趋势^[7-10]。20世纪60年代末研发出第一台可自动搜索血涂片细胞并可对细胞进行分类的全自动研究系统cellscan/gloprw^[11],2000年以后,新的检测系统对白细胞形态的识别率达百分之八十以上,同时可识别成熟红细胞和血小板,但主要在欧美国家使用,还没有成熟的血细胞形态检测仪应用于我国市场,因此,建立一个完整的、具有市场应用价值的分析

识别产品,有着广阔的应用前景。

随着全自动血细胞分析仪在检验工作中的普及,可快速提供检查结果,但由于方法学的局限性和细胞形态的多样性,仍需配合血涂片细胞形态学检验,以提高血液检查的准确性^[12-14]。中科院的洪继光教授等针对白细胞识别问题,提出了反映细胞形状、纹理特征及光密度等上百种参数,结合图像识别方面技术的突破与实践积累,能够很好地解决白细胞实时检测时的精度和速度问题^[15]。本研究设计了一个开放性的图像识别管理系统,不仅可以识别血细胞的形态,还可应用到其他主要依靠肉眼判断和识别的工作中,比如:血涂片找疟原虫、尿液沉渣分析、白带分析、前列腺液分析、精液分析等。肉眼显微镜镜检存在速度慢、重复性差、主观性强、缺少图像证据、差错率高等不足,本研究以先进的图像识别技术为基础,建立图像采集、算法训练和算法应用三个功能子模块,组成形态自动识别工作系统,包括由显微放大光学通路和自动控制平台组成的硬件系统,由图像采集、图像特征提取、识别血细胞并标记、复核结果及生成报告的软件系统。除此之外,该系统也是一个柔性可扩展、紧凑而灵敏的血细胞自动分类系统,它将高清晰的显微镜成像、边缘识别数学模型和计算机技术相结合,有效地整合和利用现有先进技术,通过人工镜检结果不断改善对血细胞形态的识别,更加清楚的判断细胞类型,反特征排除,建立细胞与不同疾病之间的联系,提高检验工作在临床诊断中的价值。

通过对血细胞形态识别的自动检测系统多方面的评价,有效地验证了该系统的可应用性,并将其延伸到其他形态学检验中,为临床提供结果,为

科研积累数据,促进医学领域的发展。

参考文献:

- [1] 李艳花. 探讨显微镜检查在血细胞分析中的应用效果[J]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(1): 182-183.
LI Yanhua, To explore the application effect of microscopy in blood cell analysis[J]. Clinical Laboratory Journal(Electronic Edition), 2019, 8(1): 182-183.
- [2] 李勤, 石佳, 卢兴兵, 等. XN-9000 全自动血液细胞分析仪有核红细胞计数与手工方法验证的探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 124-127.
LI Qin, SHI Jia, LU Xingbing, et al. Evaluation of the nucleated red blood cells count of sysmex XN-900 automatic hematology analyzer and the validation of manual method[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(1): 124-127.
- [3] 黄道连, 蔡凤娟, 童辉纯, 等. 外周血涂片球形红细胞计数在新生儿 ABO 溶血病中的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 63-66.
HUANG Daolian, CAI Fengjuan, TONG Huichun, et al. Diagnostic value of peripheral blood smear spherical erythrocyte count in ABO-hemolytic disease of the newborn[J]. J Mod Lab Med, 2018, 33(1): 63-66.
- [4] 中华医学会血液学分会实验诊断血液学学组. 血细胞形态学分析中国专家共识(2013 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(6): 558-560.
Hematology Society of Chinese Medical Association Laboratory Diagnosis Group. Consensus of Chinese experts on morphologic analysis of blood cells (2013th)[J]. Chin J Hematol, 2013, 34(6): 558-560.
- [5] Simson E, 崔巍. 全自动血液分析仪的复检标准[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(4): 371-373.
SIMSON E, CUI Wei. Review criteria for automated hematology analyzers[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2007, 30(4): 371-373.
- [6] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[S]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 14-15.
SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National guide to clinical laboratory procedures[S]. 4th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 14-15.
- [7] 乐家新, 丛玉隆, 王海, 等. Sysmex XE-2100 血细胞分析仪血涂片复检规则的应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(1): 30-36.
YUE Jiaxin, CONG Yulong, WANG Hai, et al. Applied studies of blood slide review criteria on sysmex XE-2100 hematology analyzer[J]. J Mod Lab Med, 2010, 25(1): 30-36.
- [8] 洪俊, 饶永彩. XN-9000 血细胞分析仪筛查外周血中 Sezary 细胞的临床价值研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(3): 92-96.
HONG Jun, RAO Yongcai. Performance evaluation of alarms and parameters generated by hematology analyzer during detection of circulating sezary cells of peripheral blood smears[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(3): 92-96.
- [9] YU Hongbo, 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.
- [10] 刘艳红. SP-1000i 全自动推片染色仪 Cella Vision 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 Yanhong. Application of morphology microscopically comparison by using SP-1000i and cella vision DM96[J]. J Mod Lab Med, 2016, 31(3): 135-137, 142.
- [11] PRESTON K. High-resolution leukocyte analyzers: retrospective and prospective[J]. Applied Optics, 1987, 26(16): 3258-3265.
- [12] 薛坤. 评估血细胞分析联合血细胞形态观察的临床应用与意义[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(69): 149.
XUE Kun. To evaluate the clinical application on blood cell analyzer combined with blood cell morphology[J]. World Latest Medicine Information, 2018, 18(69): 149.
- [13] 刘五香. 全自动血细胞分析仪联合血涂片细胞形态学在血常规检验中的应用效果观察[J]. 河南医学研究杂志, 2017, 26(7): 149.
LIU Wuxiang. The application of automatic blood cell analyzer combined with blood smear cell morphology in routine blood examination[J]. Henan Medical Research, 2017, 26(7): 149.
- [14] 高飞, 唐晶, 李景岗, 等. 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[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 86-90.
GAO Fei, TANG Jing, LI Jinggang, et al. Evaluation of LD BC-1 blood cell image automatic analyzer in analysis of the nucleated cells in peripheral blood smear[J]. J Mod Lab Med, 2018, 33(2): 86-90.
- [15] 荆莹, 闫晓华, 普程伟, 等. 全自动数字图像分析在外周血白细胞形态学复检中的临床应用[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(8): 634-639.
XING Ying, YAN Xiaohua, PU Chengwei, et al. Clinical application of automated digital image analysis for morphology review of peripheral blood leukocyte[J]. National Medical Journal of China, 2016, 96(8): 634-639.

收稿日期: 2017-08-09

修回日期: 2019-03-03