

• 论 著 •

# 全自动血细胞形态学识别系统在恶性血液系统疾病外周血涂片分析中的应用评价

唐玉凤, 陈吉祥, 陈 勋, 郭慧娟, 郑 颖, 王玲玲, 尚晓泓<sup>△</sup>

(中国中医科学院西苑医院检验科, 北京 100091)

**摘要:**目的 评价 Cellavision DM96(以下简称 DM96)全自动血细胞形态学识别系统在血液系统恶性疾病外周血涂片分析中的价值。方法 以人工显微镜检查法为评价标准,采用 DM96 自动分析后,人工校正法对 436 例血液系统恶性疾病的外周血涂片中的白细胞、有核红细胞、成熟红细胞、血小板进行分析,评价 DM96 系统识别 8 种异常(异常细胞或异常情况)的能力。结果 DM96 系统识别异常白细胞的一致性、特异性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值较高,其中原始细胞最高,分别为 98.4%、98.8%、97.9%、98.4%、98.4%,识别有核红细胞的敏感性、阳性预测值较低(62.1%、72.7%);对血小板聚集的敏感性较低(71.4%)。结论 DM96 系统是血液系统恶性疾病外周血涂片分析的有力工具,在白细胞、成熟红细胞形态分析方面准确度高,对有核红细胞和可疑血小板聚集的标本需辅以人工镜检。

**关键词:**血液系统疾病; 恶性; 白细胞分类; 显微镜; 细胞形态学

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.15.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)15-2116-03

## Application evaluation of automatic blood cell morphology recognition system in peripheral blood smear analysis of malignant hematological diseases

TANG Yufeng, CHEN Jixiang, CHEN Xun, GUO Huijuan, ZHENG Ying, WANG Lingling, SHANG Xiaohong<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100091, China)

**Abstract:** Objective To evaluate the value of the CellaVision DM96(DM96) automatic blood cell morphology recognition system in peripheral blood cell smear analysis of malignant hematological diseases. **Methods** The peripheral blood smear samples in 436 patients with malignant hematological diseases were analyzed on WBC, nucleated RBC, mature RBC and platelets by adopting the DM96 with the manual microscopy as the evaluation standard. The ability of DM96 for recognizing 8 abnormalities(abnormal cell or abnormal situation) was evaluated. **Results** The consistency, specificity, sensitivity, positive predictive value and negative predictive value of DM96 system for identifying abnormal WBC were higher, especially for primary cells, which were 98.4%, 98.8%, 97.9%, 98.4% and 98.4% respectively. Its sensitivity and positive predictive value for identifying nucleated red blood cells were lower(62.1%, 72.7%). Its sensitivity for identifying platelet clumps was lower (71.4%). **Conclusion** The DM96 system is a powerful tool of peripheral blood cell smear analysis, has higher accuracy in the analysis of WBC, mature RBC morphology, but the samples of nucleated RBC and suspected platelet clumps need to be assisted by manual microscopy examination.

**Key words:** hematological diseases; malignant; leucocyte classification; microscopy; cell morphology

近年来,随着免疫学、细胞遗传学和分子生物学的广泛应用,恶性血液系统疾病的检查手段越来越精准,但由于血液系统疾病形态学的异质性和血液分析仪的局限性,无论使用哪种血液分析仪,仍有约 15% 的血液标本需要人工显微镜检查<sup>[1]</sup>,不仅需要花费检验者较多的时间和精力,还需要经过良好培训的形态学技术人员才能完成。Celavision DM96(以下简称 DM96)是一种全自动血细胞形态分析仪器,它可以将染色后的血涂片置于油镜下,根据操作者所设定的分析白细胞数量拍摄每个白细胞的数码图像,并通过软件进行细胞分类鉴定,将分析后的结果连同图像显示在屏幕上,并提供红细胞形态信息和血小板数量的粗略估计。本研究旨在以显微镜检法为标准,评估 DM96 对血液系统恶性疾病外周血涂片的分析性能,比较其与传统显微镜分类方法的差异,判断其能否取代传统人工显微镜检查。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2015 年 1~8 月在本院未经系统治疗的

恶性血液系统疾病患者的乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝静脉血样本 436 例,其中男 237 例,女 199 例,年龄 15~84 岁,白血病 158 例,骨髓增生异常综合征(MDS)243 例,骨髓增殖性肿瘤 35 例。

**1.2 试剂与检测系统** DM96 全自动血细胞形态学分析仪, Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪, Sysmex SP1000i 推染机, OLYMPUS BX-51 光学显微镜,瑞氏-吉姆萨染液由珠海贝索生物技术有限公司提供。

### 1.3 方法

**1.3.1 DM96 系统法** Sysmex SP1000i 自动推染片机制备血涂片,当样本 WBC $\leq 2.0 \times 10^9/L$  时,采用手动模式制备 3 张血涂片备用,以满足白细胞分类数量的需要,运行 DM96 系统,每天严格按照仪器标准操作程序开关机、保养及进行室内质控,待室内质控通过后再分析试验样本,仪器设定每份样本分析 110 个白细胞,目的是至少分析 100 个完整白细胞,白细胞分类计数不足 100 个的样本用该患者的备用血涂片补足。待

仪器自动分类完成后,由长期从事形态学工作的主管技师进行校正、审核。为了与人工显微镜阳性标准对应,红细胞形态只以仪器判断为“Anisocytosis”(红细胞大小不均)或/和“Hypo-chromasia”(染色过浅)≥30%为阳性。巨大血小板和血小板聚集依据 DM96 系统对白细胞分类中“Giant thrombocyte”(巨大血小板)、“Thrombocyte clumps”(血小板聚集)、红细胞图像中血小板的形态、数量分布,血小板图像中血小板的数量、形态、分布综合进行评判。

1.3.2 手工镜检法 由 2 名多年从事形态学工作经验的技术主管采用双盲法在显微镜下对上述血涂片进行形态学分析,每人计数 100 个白细胞,结果取平均值进行比较。同时描述红细胞形态及评估血小板的形态及数量。

1.3.3 镜检阳性判断标准 根据国内血液学复检专家小组将国际制定的 12 条镜检阳性规则<sup>[2]</sup>进一步量化完善形成的同一标准:(1)原始细胞大于或等于 1%;(2)早幼粒细胞/中幼粒细胞大于或等于 1%;(3)晚幼粒细胞大于 2%;(4)浆细胞大于或等于 1%;(5)异型淋巴细胞大于 5%;(6)有核红细胞大于或等于 1%;(7)红细胞明显大小不等(大小相差 1 倍以上)或中空淡染大于 30%;(8)巨大血小板大于 15%;(9)可见血小板聚集;(10)Dohle 小体大于 10%;(11)中毒颗粒大于 10%;(12)空

泡大于 10%(由于异型淋巴细胞、中毒颗粒、空泡、Dohle 小体与恶性血液系统疾病诊疗无较大关系,在此不作为评判标准)。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Office Excel 2007 软件对实验结果进行统计学处理,以显微镜检结果为参照,计算 DM96 自动分析并人工校正后 8 种异常(包括 7 种异常细胞即原始细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞、有核红细胞、异常形态红细胞、巨大血小板和 1 种异常细胞分布即血小板聚集)结果的一致性、特异性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值。

2 结 果

2.1 DM96 对白细胞自动识别与人工校正后的一致性 DM96 自动识别与人工校正后相比,436 例血液系统恶性疾病外周血涂片所有白细胞(包括正常和异常形态)自动识别的一致率为 85.3%,一致性较高的是淋巴细胞和中性分叶核粒细胞,分别为 96.1%和 98.3%,一致性较低的是各阶段幼稚粒细胞,早幼粒、中幼粒、晚幼粒细胞分别为 30.8%、32.5%、38.7%。

2.2 异常形态的识别能力 以显微镜检为参照方法,观察并计算 DM96 校正后对 436 例血液系统恶性疾病外周血涂片中 8 种异常形态的识别能力。见表 1。

表 1 DM96 校正后对外周血涂片 8 种异常形态的辨别能力[% (n/n)]

| 异常形态          | 一致率           | 特异性            | 敏感性           | 阳性预测值         | 阴性预测值         |
|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
| 原始细胞          | 98.4(429/436) | 98.8(245/248)  | 97.9(184/188) | 98.4(184/187) | 98.4(245/249) |
| 早幼粒细胞大于或等于 1% | 93.8(409/436) | 95.8(294/307)  | 89.1(115/129) | 89.8(115/128) | 95.5(294/308) |
| 中幼粒细胞大于或等于 1% | 92.9(405/436) | 94.0(266/283)  | 90.8(139/153) | 89.1(139/156) | 95.0(266/280) |
| 晚幼粒细胞大于 2%    | 95.6(417/436) | 97.5(347/356)  | 87.5(70/80)   | 88.6(70/79)   | 97.2(347/357) |
| 有核红细胞大于或等于 1% | 85.6(373/436) | 92.8(309/333)  | 62.1(64/103)  | 72.7(64/88)   | 88.8(309/348) |
| 异常形态红细胞*      | 99.1(432/436) | 99.5(416/418)  | 88.9(16/18)   | 88.9(16/18)   | 99.5(416/418) |
| 巨大血小板         | 99.1(432/436) | 99.5(421/423)  | 84.6(11/13)   | 84.6(11/13)   | 99.5(421/423) |
| 血小板聚集         | 99.1(432/436) | 100.0(422/422) | 71.4(10/14)   | 100.0(10/10)  | 99.1(422/426) |

注:\* 仅指红细胞明显大小不等(大小相差 1 倍以上)或中空淡染大于或等于 30%,其他异常红细胞形态在此不做评判。

3 讨 论

DM96 是一种采用高质量影像技术、光电数字转换技术和人工智能神经网络系统为原理的全自动血细胞图像分析仪,人工智能神经网络系统可根据每个细胞的 360 多个参数,即形状、颜色、质地(颗粒)、监查(空泡)、Markov 概率(概率函数)、小波长等分析、辨别细胞类型,将血细胞自动分为 6 类红细胞、12 类白细胞,其中每个白细胞只归类为 12 类中的 1 类。检验人员只需在显示屏前浏览 DM96 自动分类结果,对个别未能归类和少数错误归类的细胞进行人为校正后即可得到分析结果。国内外已有多篇文献报道证实了该仪器可满足日常血常规复检的需要<sup>[3-6]</sup>。但应用该仪器对血液系统恶性疾病外周血细胞形态学检查的性能评价仅见 1 篇国外报道<sup>[1]</sup>。

3.1 DM96 识别白细胞的性能最佳 DM96 自动将白细胞分为 12 类,即嗜中性粒细胞、杆状核粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞、原始细胞、异型淋巴细胞、浆细胞。本组资料对全部白细胞自动识别的准确率为 85.3%,其中对淋巴细胞和中性分叶核粒细胞分类的准确率较高(95.0%以上),可见 DM96 对涂

片中绝大部分细胞能够正确识别,人工只需将极少一部分未分类或错误分类的细胞重新归类,且能将全部白细胞显示在同一屏幕上,审核者能快速浏览不同种类细胞。与人工显微镜检相比,不仅节省了劳动时间,最大限度提高了工作效率,同时能够给审核者提供相对轻松的工作环境,且能够使其快速定位异常细胞,防止漏检具有诊断价值的病理细胞。

以显微镜检为参照方法,从 DM96 校正后对原始细胞、早幼粒细胞大于或等于 1%、中幼粒细胞大于或等于 1%、晚幼粒细胞大于 2%的分析能力可以看出,DM96 分析原始及各阶段幼稚细胞与显微镜检有高度一致性(92.9%~98.4%),且敏感性(高于 90.0%)、特异性(高于 85.0%)均较高,可见 DM96 识别白细胞的性能佳。

3.2 DM96 对有核红细胞的判定欠佳,对异常形态红细胞识别能力强 DM96 对有核红细胞的敏感性(62.1%)和阳性预测值(72.7%)均较低,可能与有核红细胞在全部病例中的阳性比例较低有关,由于有核红细胞在白血病、MDS 等血液系统恶性疾病诊疗中并无明确的确诊意义,且假阴性和假阳性样本的有核红比例均小于或等于 3%,因此,DM96 在分析有核红细胞

方面并不会给临床诊疗造成影响。

DM96 能够将成熟红细胞中的 6 类(大小不均、小型红细胞、巨型红细胞、多色性红细胞、低色素红细胞、异形红细胞)自动按照百分比和等级划分,本研究根据镜检阳性判断标准,仅以红细胞明显大小不等(大小相差 1 倍以上)或中空淡染大于 30% 做为显微镜检阳性基准,因而 DM96 只针对相应形态,即大小不均和(或)低色素红细胞大于 30% 作为阳性,结果表明 DM96 在 2 种成熟红细胞异常形态判断上,与显微镜检法一致性、特异性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值均大于 90.0%,与国外的研究结果一致<sup>[7]</sup>。

**3.3 血小板计数触犯复检规则**,而 DM96 未发现血小板聚集时需人工镜检 以镜检阳性标准为根据,分别评价 DM96 在判定巨大血小板和血小板聚集两个方面的临床性能,在判定巨大血小板方面的一致性、特异性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值均大于 80.0%,说明在判断巨大血小板方面,DM96 基本能替代人工显微镜检查。但 DM96 在评价血小板聚集方面,敏感性仅为 71.4%,略低于 Gulati 等<sup>[8]</sup>的研究结果(82.8%)。原因是血小板聚集成团块后,常常分布于涂片的两侧和尾部,而 DM96 仅从距离涂片尾部 33 mm 的单细胞层向尾部扫描读取,涂片的两侧和尾部不能全面浏览,导致在分析抗凝剂依赖引起的血小板聚集血涂片时有可能漏检血小板聚集的部位,而人工镜检时能够根据需要浏览全片,尽可能避免了遗漏。鉴于此,当血小板计数触犯本实验室的复检规则( $\leq 80 \times 10^9/L$  且 1 周内未复检)时,若 DM96 分析过程中未发现血小板聚集,必须进行人工显微镜检查,以避免血小板聚集导致的假阴性。

综上所述,DM96 系统是血液系统恶性疾病外周血涂片分析的有用工具,能够提高工作效率。在分析白细胞(数量不低于 100 个)、成熟红细胞形态方面准确度高,但对有核红细胞的判定及触犯血小板复检规则下限的样本,需辅以人工显微镜检查。

(志谢:本文承蒙 CellaVision AB 公司许茜在数据导出方面的帮助,特此志谢!)

## 参考文献

[1] Cornet E, Perol JP, Troussard X. Performance evaluation

(上接第 2115 页)

- [9] Wiggins KL, Smith NL, Glazer NL, et al. ABO genotype and risk of thrombotic events and hemorrhagic stroke[J]. *Thromb Haemost*, 2009, 7(2): 263-269.
- [10] Kiechl S, Paré G, Barbalic M, et al. Association of variation at the ABO locus with circulating levels of soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble P-selectin, and soluble E-selectin: a meta-analysis [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(6): 681-686.
- [11] Amundadottir L, Kraft P, Stolzenberg-Solomon RZ, et al. Genome-wide association study identifies variants in the ABO locus associated with susceptibility to pancreatic cancer[J]. *Nat Genet*, 2009, 41: 986-990.
- [12] Rizzato C, Kato I, Plummer M, et al. Risk of advanced gastric precancerous lesions in *Helicobacter pylori* infected subjects is influenced by ABO blood group and cagA

and relevance of the CellaVision DM96 system in routine analysis and in patients with malignant hematological diseases[J]. *Int J Lab Hematol*, 2008, 30(6): 536-542.

- [2] 中华医学会检验分会全国血液学复检专家小组, 中华检验医学杂志编辑委员会. 全国血液学复检专家小组工作会议纪要暨血细胞自动计数复检标准释义[J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(4): 380-382.
- [3] 黄骥斌, 曾婷婷, 郭曼英, 等. CellaVision DM96 自动化数字图像分析系统进行白细胞分类的临床应用[J]. *检验医学*, 2012, 27(4): 299-303.
- [4] Smits SM, Leyte A. Clinical performance evaluation of the CellaVision Image Capture System in the white blood cell differential on peripheral blood smears[J]. *J Clin Pathol*, 2014, 67(2): 168-172.
- [5] Vanvranken SJ, Patterson ES, Rudmann SV, et al. A survey study of benefits and limitations of using CellaVision DM96 for peripheral blood differentials[J]. *Clin Lab Sci*, 2014, 27(1): 32-39.
- [6] 王庚, 解宏杰, 蒋显勇, 等. 细胞形态检测系统用于白细胞形态识别的临床应用评价[J]. *中华检验医学杂志*, 2015, 38(3): 168-172.
- [7] Maenou I, Tabe Y, Bengtsson HI, et al. Performance evaluation of the automated morphological analysis of erythrocytes by CellaVision DM96[J]. *Clin Lab*, 2013, 59(11/12): 1413-1417.
- [8] Gulati G, Uppal G, Florea AD, et al. Detection of platelet clumps on peripheral blood smears by CellaVision DM96 system and microscopic review [J]. *Lab Med*, 2014, 45(4): 368-371.

(收稿日期: 2016-01-02 修回日期: 2016-03-11)

status[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(2): 315-322.

- [13] Theresa KN, Paul W, Jane-Frances A. Effective of ABO/RH blood groups, G-6-PD enzyme activity and hemoglobin genotypes on malaria parasitaemia and parasite density[J]. *Afr J Health Sci*, 2004, 11(3-4): 93-97.
- [14] Zerihun T, Degarege A, Erko B. Association of ABO blood group and *Plasmodium falciparum* malaria in Dore Bafeno Area, southern Ethiopia[J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2011, 1(4): 289-294.
- [15] Behal R, Jain R, Behal KK, et al. Variation in the host ABO blood group may be associated with susceptibility to hepatitis C virus infection[J]. *Epidemiol Infect*, 2010, 138(8): 1096-1099.

(收稿日期: 2016-02-19 修回日期: 2016-04-21)