

CellaVision DM96 自动成像系统在白细胞分类计数中的应用

杨 婧¹, 关会霞², 牛景阳², 杨 华², 陈渝宁^{2△} (沈阳军区总医院: 1. 感染控制科; 2. 检验科, 沈阳 110840)

【摘要】 目的 探讨 CellaVision DM96 自动成像系统对外周血涂片中白细胞分类计数的应用价值。**方法** 采用 2011 年 7 月 1 日至 8 月 31 日沈阳军区总医院住院和门诊患者的乙二胺四乙酸二钾抗凝静脉血, 在贝克曼库尔特 LH750 血液分析仪检测需复检的 112 例标本, 同时用 CellaVision DM96 系统和显微镜法进行复检, 两组数据采用微软 Office Excel 软件进行统计学分析。**结果** CellaVision DM96 系统与显微镜手工分类有着很好的相关性, 其中中性分叶核粒细胞、中性杆状核粒细胞、淋巴细胞及嗜酸性粒细胞的相关系数分别达到 0.98、0.93、0.97 和 0.94。**结论** CellaVision DM96 系统作为一种全自动血细胞形态鉴定仪器, 能够给临床实验室提供准确、可靠的白细胞分类数据, 适于临床推广应用。

【关键词】 DM96 系统; 白细胞分类; 显微镜; 自动化

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.07.013 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)07-0891-02

Evaluation of CellaVision DM96 automated image analysis system for leucocyte differential count in peripheral blood smears YANG Jing¹, GUAN Hui-xia², NIU Jing-yang², YANG Hua², CHEN Yu-ning^{2△} (1. Infection Control Department; 2. Clinical Laboratory, General Hospital of Shenyang Military Area Command, Shenyang, Liaoning 110840, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the value of CellaVision DM96 automated digital cell morphology and informatics system (DM96 system) for leucocyte differential count in peripheral blood smears. **Methods** A total of 112 samples treated with dipotassium ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA-K₂) and needed reclassification after detection of LH750 hematology analyzer were collected. Leucocyte differential counts of each sample were performed with both DM96 system and microscopy. Data were analyzed with Microsoft Excel software. **Results** There was fine correlation of classification of unidentified cells between DM96 system and manual detection with microscopy, and the correlation coefficients of segmented neutrophils, band neutrophils, lymphocytes and eosinophils were 0.98, 0.93, 0.97 and 0.94, respectively. **Conclusion** DM96 system could supply correct and reliable leucocyte differential data as a novel automated instrument in the hematology laboratory and might be suitable for clinical application.

【Key words】 DM96 system; leucocyte differential; microscopy; automation

近年来, 自动血细胞分析仪的发展使得短时间内分析数万个细胞成为可能^[1]。由于血液分析仪提供的白细胞、红细胞及血小板的形态学资料有限, 因此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^[2-3]。近年出现的 Nextslide 及 CellaVision DM96 自动成像系统均是全自动血细胞形态鉴定仪器, 可以实现血涂片检查的自动化^[4-5]。此类分析仪可以将染色后的血涂片置于高倍镜下拍摄每个细胞的数码图像, 通过软件进行细胞分类和鉴定。除了白细胞的分类, 仪器还提供红细胞形态信息和血小板数量的粗略估算^[6]。为验证 CellaVision DM96 系统对外周血涂片中白细胞分类计数的应用价值, 作者选择 2011 年 7 月 1 日至 8 月 31 日住院和门诊患者的乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K₂) 抗凝静脉血, 在贝克曼库尔特 LH750 血液分析仪检测需要复检的 112 例标本, 同时用 CellaVision DM96 系统和显微镜法进行检测, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 7 月 1 日至 8 月 31 日住院和门诊患者的 EDTA-K₂ 抗凝静脉血, 经贝克曼库尔特 LH750 血液仪分析检测需要复检的 112 例标本, 对应 112 例患者中男 54 例, 女 58 例, 年龄 15~69 岁, 白细胞计数范围为 (0.52~43.79) ×

10⁹/L。

1.2 仪器与试剂 瑞典 CellaVision DM96 系统, 美国贝克曼库尔特 LH750 血液分析仪, 日本奥林巴斯电光学显微镜。LH750 血液分析仪试剂使用原厂配套试剂, 质控品由贝克曼库尔特实验室系统 (苏州) 有限公司提供。染料为瑞氏染料, EDTA-K₂ 真空管为 BD 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 CellaVision DM96 系统 严格按 LH750 血液分析仪操作说明, 每天进行清洗及高、中、低值质控品检测, 确保其在控后再进行标本检测。标本在 15~25 ℃ 环境中, 用 LH750 血液分析仪进行检测, 对分类中符合复检规则的标本进行推片、染色, 选择体尾交界处染色良好的区域, 在 CellaVision DM96 系统油镜计数 200 个细胞, 按形态特征分类, 计数各类细胞的百分比。

1.3.2 手工镜检法 依据《全国临床检验操作规程 (第 3 版)》执行^[7], 由两位具有多年血细胞形态学检验工作经验的技师进行镜检。

1.3.3 复检规则 利用 LH750 自动血细胞分析仪报警系统, 并参考“国际血液学 41 条复检规则”及国内文献^[7-8], 制订本

院白细胞分类计数的复检规则:白细胞小于或等于 $2 \times 10^9/L$, 白细胞大于或等于 $20 \times 10^9/L$, 无分类结果或分类结果不全, 中性粒细胞比例首次大于或等于 85%, 淋巴细胞比例大于或等于 60%, 单核细胞比例大于或等于 16%, 嗜酸性粒细胞比例首次大于或等于 15%, 嗜碱性粒细胞比例首次大于或等于 5%, 细胞左移报警, 原始细胞报警, 不典型/异型淋巴细胞报警。

1.4 统计学处理 以显微镜手工镜检法为标准, 将 CellaVision DM96 系统对各类细胞直接分类(未校正)与经过人工校正后分类(校正)的两种数据采用微软 Office Excel 2007 软件进行统计学处理, 进行相关性分析。

2 结 果

2.1 各类细胞的相关性结果 用 CellaVision DM96 系统进行自动分类, 中性分叶核粒细胞、中性杆状核粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、异型淋巴细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞及原始细胞与显微镜镜检法的未校正及经人工校正后相关系数见表 1 和图 1(以中性分叶核粒细胞为例)。

表 1 各类细胞经 CellaVision DM96 系统分类与手工镜检法的相关系数

细胞分类	未校正	校正后	细胞分类	未校正	校正后
分叶核中性粒细胞	0.87	0.98	异型淋巴细胞	0.51	0.84
杆状核中性粒细胞	0.43	0.93	早幼粒细胞	0.58	0.87
淋巴细胞	0.79	0.97	中幼粒细胞	0.01	0.90
单核细胞	0.01	0.81	晚幼粒细胞	0.31	0.84
嗜酸性粒细胞	0.49	0.94	原始细胞	0.24	0.91
嗜碱性粒细胞	0.04	0.78	—	—	—

注:—表示无数据。

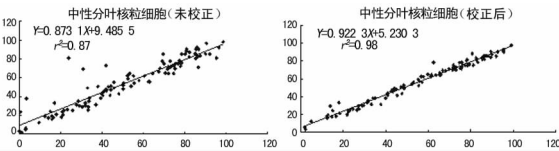


图 1 中性分叶核粒细胞 CellaVision DM96 系统与手工镜下分类计数方法的相关性

2.2 不成熟粒细胞的相关性结果 将早幼粒细胞、中幼粒细胞和晚幼粒细胞合在一起称为不成熟粒细胞后, 用 CellaVision DM96 系统进行自动分类, 与显微镜镜检法的相关系数为 0.30, 经人工校正后, 该相关系数为 0.91, 见图 2。

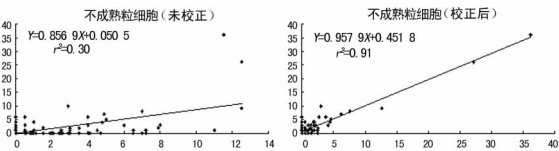


图 2 不成熟粒细胞经 CellaVision DM96 系统与手工镜下分类计数方法的相关性

3 讨 论

LH750 血液分析仪对白细胞分类采用独特的 VCS(容量、电导、光散射)原理, 操作快捷、结果准确、精度可靠, 因此白细胞分类结果可以作为常规血液检查的筛选手段^[9]。但对于白细胞分类计数在仪器法出现异常报警及达到复检规则时, 仍需通过血液涂片复检进行白细胞形态的观察以及分类计数^[10]。传统的外周血涂片显微镜检查方法不仅耗费时间, 而且无法实现血涂片检查的自动化。

本研究对 CellaVision DM96 自动分类结果及操作者校正后的分类与在显微镜下计数 100 个细胞进行了比较, 仪器自动分类与手工法相比, 只有中性分叶核粒细胞和淋巴细胞具有较好的相关性(相关系数分别为 0.87 和 0.79); 而操作者校正后分叶及杆状核中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞均具有良好的相关性(相关系数均大于或等于 0.93), 这就意味着 CellaVision DM96 系统在中性分叶及杆状核粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞的鉴定方面与手工分类有相似的准确性。嗜碱性粒细胞相关性较差, 经人工校正后相关系数为 0.78。分析其原因可能与涂片的染色有关, 一旦涂片染色较深, 利用仪器分类可能将某些中性分叶核粒细胞误判为嗜碱性粒细胞。对于单核细胞, 众所周知, 血涂片这种方法会直接导致其呈现不均一性分布, 选择不同的观察区域(CellaVision DM96 系统与手工镜检法可能会有不同)及分析的细胞数目都可能导致单核细胞计数的差异。因此, 经过校正后单核细胞的相关系数也仅达到 0.81。

除了上述五类细胞, 对于异型淋巴细胞、早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞以及原始细胞等正常外周血中的少见细胞, CellaVision DM96 系统与手工镜检法的相关系数较低, 经人工校正后, 相关系数可分别达到 0.84、0.87、0.90、0.84 和 0.91。分析其原因, 可能是这几类细胞计数较少的缘故。另外, 对于不成熟粒细胞, 还可能是由于将某些细胞计入了其前或后一阶段细胞所致, 例如可能将中幼粒细胞计数为晚幼粒细胞。当将早幼粒细胞、中幼粒细胞及晚幼粒细胞合在一起称为不成熟粒细胞后, 用 CellaVision DM96 系统进行分类, 经人工校正后, 该相关系数达到 0.91, 也从另一方面证实了这一点。

综上所述, CellaVision DM96 系统作为一种全自动血细胞形态鉴定仪器, 经人工校正后外周血中常见的五类细胞与传统镜检的金标准具有很好的相关性, 能够给临床实验室提供准确、可靠的白细胞分类数据, 实现血涂片检查的自动化, 适于临床推广应用。

参考文献

[1] Simson E, Gascon-Lema MG, Brown DL. Performance of automated slidemakers and stainers in a working laboratory environment - routine operation and quality control[J]. Int J Lab Hematol, 2010, 32(1 Pt 1): 64-76.

[2] 于红梅, 汤冬静, 刘晨. 外周血细胞形态学检查的重要性[J]. 医学检验与临床, 2012, 23(6): 88.

[3] 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.

[4] 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.

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

[6] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 10-11.

[7] 王厚芳, 孙芾, 于贵杰, 等. 国际血细胞复检规则在贝克曼-库尔特系列血细胞分析仪上的应用(下转第 895 页)

高清晰的数码显微成像系统^[7]；其中的相差装置使显微镜视野中明暗反差大,可观察到尿液标本中有形成分的最佳形态。视野计数量为 5 μL , 沉渣厚度为 0.127 mm, 每一小格容积为 0.01 μL , 报告方式以个/微升。每次充池都是定量的, 有形成分的分布较为均匀, 具有背景清晰, 准确性好、精密度高的优点, 计数完毕可自动冲洗。

从实验结果可知, 仪器的检出率大于或等于 90%, 符合标准; 精密度(RBC 浓度)200 个/微升检测的 $CV < 15\%$ 、50 个/微升检测的 $CV < 25\%$, 亦符合标准, 可见仪器对 RBC、WBC 等主要参数的敏感性、重复性较好, CV 较小。RBC、WBC 识别率分别为 82.4% 和 80.0%, 符合 70.0% 和 80.0% 的标准, 但 CAST 的识别率较低, 仅为 10.5%, 低于 50.0% 的标准, 以上三者同时存在漏诊率和误诊率, 与流式尿沉渣分析仪不尽相同, 需要人工复核校准^[8]。仪器的假阴性率 4.0%, 稍高于要求的 3%。

仪器的稳定性好, 开机预热后及 4 h 和 8 h 的检测结果其 CV 值均小于 15%, 达到标准; RBC、WBC 携带污染率分别为 0.015% 和 0.026%, 均小于 0.05% 的标准, 但在细菌检测方面本仪器不敏感, 要注意此类标本, 需人工去校准。

仪器具有良好的线性关系: RBC、WBC 的相关系数(r^2)分别为 0.998 8、0.998 9, 符合大于或等于 0.95 的行业规定要求; 本仪器可报告线性范围(表 3)为 2~15 000 个/微升, 故遇到严重血尿标本时, 最好先稀释标本再进行细胞计数。

仪器介绍书称这类分析仪进行沉渣分析时, 具有无需离心, 检测速度快, 病理成分检测敏感性及重复性好, 每份尿液标本检测步骤模式一致, 利于质量控制和标准化。事实上由于尿液中有形成分多达 45 种以上, 且大小、成分、形态会因疾病的种类、程度不同而不同, 还因保存条件和不同因素的影响而出现较多的改变, 因此在识别上带来不少困难^[9]。几乎所有的尿沉渣分析仪都具有假阳性率和假阴性率过高的缺陷^[7]。最好的解决方法是与干化学试带联合应用, 通过计算机处理观察二者间的符合程度, 对可疑标本再进行人工显微镜检测, 而这需要有经验的检验技术人员来校准结果^[8]。

仪器的不足之处: 不能检测出细菌、滴虫、脂肪滴及一些药物结晶, 不能识别管型及各种管型分类。尿液标本中的精子、结晶、真菌等物质会影响结果的准确性。另仪器虽有自动冲洗功能, 但对一些蛋白质多、黏性大及白细胞多、糖量高的标本则需多次冲洗, 真菌多亦不易洗去, 应注意其携带污染的发生^[10]。必要时可用 10 g/L 次氯酸钠溶液浸泡。故住院部的尿液标本应在 2 h 内检测, 标本放置过长会因细胞形态改变而影响细胞计数。

综上所述, LX-8000 尿液尿沉渣分析仪具有自动化、标准化、速度快、操作简单等优点, 由自动识别功能对阴性、阳性标本进行快速过筛, 对阴性标本快速检测, 对阳性标本进行识别与人工辅助判别相结合, 可缩短审核报告的时间。本仪器可应用于临床上尿液有形成分的检测。

值得一提的是, 针对不同原理和不同仪器建立恰当的尿沉渣复检规则, 需要专业技术人员在实践中不断去建立和完善^[11-12]。至于本仪器是否经得起长期大批量标本的冲击, 有待以后使用观察。亦期待不断有更完善的尿液分析仪出现, 从而实现尿液形态学分析真正的自动化和标准化。

参考文献

- [1] 张时民. 尿有形成分检查自动化进展和质量保证[J]. 中国医疗器械信息, 2012, 18(4): 13-22.
- [2] 丛玉隆. 尿沉渣检查标准化建议[J]. 中华检验医学杂志, 2002, 25(7): 249-250.
- [3] 顾可梁. 重视尿液有形成分检查[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(1): 1-3.
- [4] 丛玉隆, 马骏龙. 尿液有形成分镜检与自动化检测方法学利弊和互补分析[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(6): 609-611.
- [5] 黄平, 周云丽. 尿有形成分检验的现状与发展趋势[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(11): 1095-1096.
- [6] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 293-294.
- [7] 斯健. 尿沉渣分析仪的发展和应用简述[J]. 现代医学仪器与应用, 2007, 19(5): 33-37.
- [8] 周强, 罗森珊, 文燕. 流式尿沉渣分析仪、尿干化学分析仪检测尿红、白细胞的分析研究[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2005, 26(9): 592-593.
- [9] 顾可梁. 尿有形成分的识别与检查方法的选择[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(6): 572-575.
- [10] 陶树高. 龙鑫 LX-3000 全自动尿沉渣分析仪的临床应用评价[J]. 临床检验杂志, 2006, 24(1): 71-72.
- [11] 马晓露, 刘艳, 李艳莲. 尿液有形成分显微镜检查复检标准的探讨[J]. 大连医科大学学报, 2010, 32(3): 339-342.
- [12] 杨学敏, 李光迪, 赵有利. 不同原理尿液分析仪检测尿有形成分结果比较及显微镜复检规则探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(3): 671-672.

(收稿日期: 2013-09-20 修回日期: 2013-11-20)

(上接第 892 页)

- 及改进方案[J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(7): 758-762.
- [8] 丛玉隆, 乐家新. 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.
- [9] Zhu Y, Cao X, Xu D. Detection of morphologic changes in peripheral mononuclear cells in hepatitis B virus infection

using the beckman coulter LH 750[J]. Lab Hematol, 2011, 17(3): 22-26.

- [10] 唐劲光, 郭谊, 李世生, 等. LH750 血细胞分析仪白细胞分类失败的原因及对策[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(8): 1050-1051.

(收稿日期: 2013-08-25 修回日期: 2013-12-18)