

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Original articles

Научная статья

УДК 57.087.3

DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.012-018

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ПОДСЧЕТ КЛЕТОК ПЛОСКОГО ЭПИТЕЛИЯ В ПРЕПАРАТАХ ЖИДКОСТНОЙ ЦИТОЛОГИИ

К. Т. Касоян¹, И. П. Шабалова¹, В. А. Сапожков^{2, 3}, А. С. Чурилова⁴, М. С. Лубнин⁴, Б. Ф. Фалков⁴

¹Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва, Россия, karishe@list.ru, irenshab@inbox.ru

²ООО «Медика Продакт», Москва, Россия, v.sapozhkov@westmedica.com

³Международная школа цитологии и Медицинская школа Инноваций, Москва, Россия, icsschool.2019@gmail.com

⁴ООО «Медика Продакт», Пермь, Россия, a.churilova@westmedica.com, m.lubnin@westmedica.com, b.falkov@westmedica.com

Цитологический скрининг эффективен только при получении адекватного цитологического материала. Международная система The Bethesda System (TBS) стандартизации результатов цитологического исследования материала из шейки матки устанавливает критерии адекватности. Согласно TBS стеклопрепарат, приготовленный методом жидкостной цитологии (ЖЦ), может считаться адекватным при наличии не менее 5000 клеток плоского эпителия. Существуют приемы ручной оценки клеточности цитологических препаратов. Однако равномерное распределение клеточного материала в препаратах ЖЦ дает возможность применить автоматические инструменты оценки адекватности материала.

В настоящей статье проводится сравнение результатов оценки адекватности цифровых препаратов ЖЦ с помощью автоматизированного метода искусственных нейронных сетей Vision Cyto Pap и метода ручной оценки.

Анализ результатов подсчета клеток плоского эпителия в 506 препаратах показал значительную корреляцию ($r = 0,93$) между автоматизированным и ручным методом. Высокие диагностические показатели (чувствительность 93,8 % и специфичность 99,2 %) автоматизированного метода Vision Cyto Pap позволяют сделать вывод о возможности использования алгоритмов такого инструмента для достаточно достоверного определения адекватности цитологического материала по количеству клеток плоского эпителия.

Ключевые слова: жидкостная цитология, цитологический скрининг, подсчет клеток, автоматизация микроскопии, Vision Cyto PAP, искусственная нейронная сеть, оценка клеточности, адекватность материала.

Для цитирования: Касоян К.Т., Шабалова И.П., Сапожков В.А., Чурилова А.С., Лубнин М.С., Фалков Б.Ф. Автоматизированный подсчет клеток плоского эпителия в препаратах жидкостной цитологии // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2023. Т. 3, № 2. С. 12 – 18. DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.012-018

Research Article

AUTOMATED COUNTING OF SQUAMOUS EPITHELIAL CELLS IN LIQUID-BASED CYTOLOGY SAMPLES

K. T. Kasoyan¹, I. P. Shabalova¹, V. A. Sapozhkov^{2, 3}, A. S. Churilova⁴, M. S. Lubnin⁴, B. F. Falkov⁴

¹Department of clinical laboratory diagnostics with a course of laboratory immunology, FSBEI FPE RMACPE MOH Russia, Moscow, Russia

²LLC "Medica Product", Moscow, Russia

³International Cytology School & Innovatory Medical School, Moscow, Russia

⁴LLC "Medica Product", Perm, Russia

Cytologic screening is only effective with adequate material. The Bethesda System (TBS), an international system for standardizing the results of cervical cytology, establishes criteria for adequacy. According to the TBS, a sample prepared by liquid-based cytology (LBC) can be classified as adequate if it contains not less than 5,000 squamous epithelial cells.

There are methods of manual assessment of the cellularity of cytological samples. However, the uniformity of cellular material distribution of LBC samples makes possible the application of automatic tools for assessing the adequacy of the material based on the cellularity criterion.

This paper compares the results of digital LBC samples adequacy assessment using the automated artificial neural network method Vision Cyto Pap and the manual assessment method.

Analysis of the results of counting squamous epithelial cells in 506 LBC samples showed a significant correlation ($r = 0.93$) between the automated and manual method. The high diagnostic parameters (sensitivity = 93.8 % and specificity = 99.2 %) of the automated Vision Cyto Pap method allow to conclude that the algorithms of such a tool can be used to determine the adequacy of the cytological material by the number of squamous epithelium cells with sufficient reliability.

Key words: liquid-based cytology, cytological screening, squamous epithelium, cell counting, microscopy automation, Vision Cyto PAP, artificial neural network, cellularity assessment, material adequacy.

For citation: Kasoyan KT, Shabalova IP, Sapozhkov VA, Churilova AS, Lubnin MS, Falkov BF. Automated counting of squamous epithelial cells in liquid-based cytology samples. *Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy.* 2023;3(2):12-18. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2023.02.pp.012-018

Введение

Цитологическое исследование материала из шейки матки (ШМ) широко применяется для выявления интраэпителиальных изменений, которые при отсутствии своевременного лечения могут привести к развитию инвазивного рака. Цитологический скрининг рекомендован всем женщинам в возрасте от 21 до 65 лет с интервалом в 3 года или при совместном молекулярно-биологическом исследовании на вирус папилломы человека (ВПЧ) у женщин старше 30 лет каждые 5 лет (у ВПЧ негативных женщин) и ежегодно (у ВПЧ позитивных женщин) [1].

Метод жидкостной цитологии (ЖЦ) является стандартизированной технологией приготовления цитологических препаратов с равномерным распределением клеток на ограниченном участке без «загрязнения» препарата эритроцитами и воспалительными элементами, что позволяет применять современные технологии искусственного интеллекта для анализа цитологического материала.

Стандартизация описаний результатов цитологического исследования материала из ШМ при традиционной цитологии и ЖЦ выполняется с помощью международной системы The Bethesda System (TBS). Согласно TBS цитологический скрининг эффективен только при получении адекватного цитологического материала. Неадекватным материалом является препарат с числом клеток плоского эпителия менее 5000 для ЖЦ, менее 8000 – 10 000 для традиционной цитологии [2].

В большинстве случаев клеточность полученного материала на стеклопрепарате оценивается

«на глаз», особенно в препаратах традиционной цитологии с неравномерным распределением клеток на стекле. Для препаратов ЖЦ разработаны критерии оценки клеточности для каждой системы ЖЦ в зависимости от площади нанесения клеточного материала – от 50 до 118 клеток в поле зрения с объективом $\times 10$ FN20 [2], и в практической работе оцениваются приблизительно. Реже, в пограничных случаях, клетки плоского эпителия подсчитываются вручную: вычисляется среднее количество клеток в поле зрения и экстраполируется для вычисления приблизительного числа клеток во всем препарате.

Равномерное распределение клеточного материала и высокое качество препаратов ЖЦ дает возможность автоматизировать процесс цитологического скрининга, что в свою очередь требует наличия точного инструмента для автоматизированной оценки адекватности цитологического материала.

Целью настоящего исследования является сравнение результатов оценки адекватности цифровых препаратов жидкостной цитологии на основе подсчета клеток плоского эпителия с помощью автоматизированного метода искусственных нейронных сетей Vision Cyto Pap с методом ручной оценки.

Материалы и методы

Работа выполнена с использованием 506 стеклопрепаратов ЖЦ материала из ШМ. Диаметр круглого поля нанесения клеточного материала для всех стеклопрепаратов составил 13 мм ($132,73 \text{ мм}^2$). Стеклопрепараты содержали разное количество

клеток плоского эпителия. Из них семь образцов были с полным отсутствием клеточного материала на стеклопрепарате для исключения влияния артефактов (остатков красителей и дефектов заключения стеклопрепаратов в монтирующую среду) на результат подсчета.

Оценку адекватности стеклопрепаратов по количеству клеток плоского эпителия проводили на цифровых копиях данных препаратов как ручным методом с привлечением семи экспертов-цитологов, так и с помощью алгоритмов искусственных нейронных сетей VCPAP для каждого образца.

Цифровые копии стеклопрепаратов получены с помощью сканирующей системы Vision System Ultimate (West Medica, Австрия) с объективом микроскопа Plan-Apochromat 20×/0.8 (соответствует результирующему увеличению ×40). При результирующем увеличении ×40 каждый цифровой препарат содержал 559 полей зрения (рис. 1). При создании цифровой копии препарата одновременно осуществлялась автоматизированная оценка адекватности: алгоритмы искусственной нейронной сети Vision Cyto Pap (VCPAP) подсчитывали все клетки плоского эпителия во всем препарате (рис. 2).

Подсчет клеток ручным методом эксперты выполняли на цифровом препарате. Каждый эксперт анализировал 72–73 препарата. Оценку клеточности образца эксперты проводили путем усредненного подсчета клеток в цифровом препарате в 10 полях зрения \overline{C}_{10} на увеличении ×20. Общее число клеток в препарате C_3 рассчитывается по формуле:

$$C_3 = \frac{\sum_{i=1}^{10} C_i}{10} n_{FV} = \overline{C}_{10} n_{FV},$$

где C_i – число клеток в каждом из 10 полей зрения; \overline{C}_{10} – среднее арифметическое количества клеток в 10 полях зрения; n_{FV} – количество полей зрения в препарате на увеличении ×20, $n_{FV} = 599$ для исследуемых препаратов.

При ручном подсчете клеточности препарата эксперты учитывали только клетки плоского эпителия с сохранными ядрами. Учитывали как зрелые клетки плоского эпителия – поверхностные и промежуточные, так и незрелые – базально-пара-

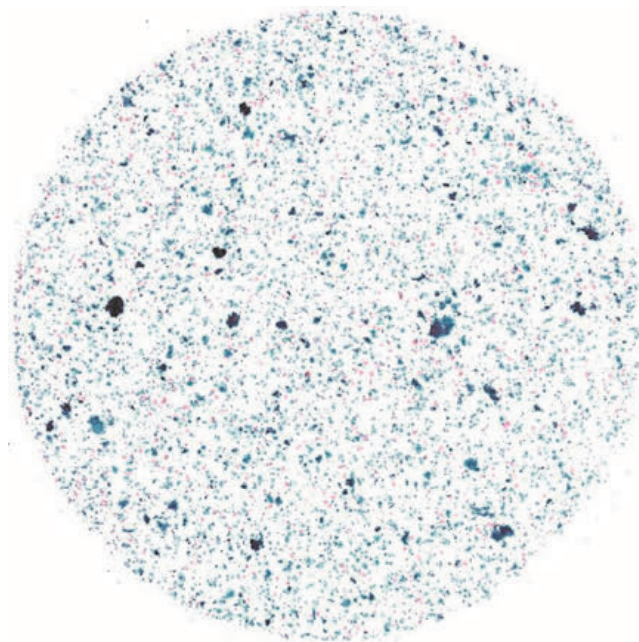


Рис. 1. Цифровой препарат
Fig. 1. Digital slide

базальные. «Голые» ядра без цитоплазмы, клетки без ядер и фрагменты цитоплазмы не учитывались. Скопления клеток подсчитывали по количеству содержащихся в них ядер, даже если края цитоплазмы клеток не определялись. Клетки на краю поля зрения учитывали, только если был виден весь контур ядра. Клетки железистого эпителия и другие клеточные элементы в оценку не включали.

Статистическая обработка данных и расчет коэффициента корреляции по Пирсону проводили с помощью пакета анализа Microsoft Excel 2010.

Чувствительность (SE) и специфичность (SP) метода оценивали по формулам соответственно:

$$SE = TP / (TP + FN), \quad SP = TN / (TN + FP),$$

где TP – истинно положительные результаты (число образцов; оцененных экспертами и VCPAP как неадекватные); FN – ложноотрицательные резуль-

▼ Пап-тест показатели

Название	Значение	Референтный диапазон
Количество клеток	9180	> 5 000,0
Количество клеток в FN 22, 40x	18	

Рис. 2. Результат автоматизированной оценки адекватности препарата системой Vision Cyto Pap

Fig. 2. The result of the automated assessment of sample adequacy by the Vision Cyto Pap software

таты (число образцов, оцененных экспертами как неадекватные, а VCPAP – как адекватные); *TN* – истинно отрицательные результаты (число образцов, оцененных экспертами и VCPAP как адекватные); *FP* – ложноположительные результаты (число образцов, оцененных экспертами как адекватные, а VCPAP – как неадекватные).

Результаты

По итогам ручного подсчета экспертами было определено 490 препаратов с адекватной клеточностью (> 5000 клеток в препарате) и 16 – с низкой (< 5000 клеток). Результаты анализа с помощью VCPAP составили соответственно 487 и 19 препаратов (таблица 1).

Одновременно обоими методами 15 образцов были определены как неадекватные. Из них все семь контрольных образцов с отсутствием клеточного материала на стекле система VCPAP оценила с результатом ноль клеток, что позволило исключить влияние артефактов на подсчет клеток.

При анализе образцов с несовпадением результатов по категории адекватности ручного и автоматизированного подсчета четыре препарата (0,8 %) были оценены экспертами адекватными, а системой VCPAP в данных образцах было подсчитано менее 5000 клеток. Также в первом образце (0,2 %), признанном экспертом как неадекватный (4987 клеток), система VCPAP определила 5008 клеток. В последнем случае разница между автоматизированным и ручным подсчетом составила только 36 клеток (0,7 %) (таблица 2).

По результатам анализа всей выборки данных определена высокая корреляция между двумя методами (коэффициент корреляции $r = 0,93$).

Таблица 1 / Table 1

Оценка адекватности цифровых препаратов жидкостной цитологии ручным и автоматизированным методом
Assessment of the adequacy of digital liquid-based cytology samples by manual and automated methods

Способ подсчета / Calculation method	Оценка экспертов / Expert assessment	VCPAP
Препараты / Samples		
Число адекватных препаратов, шт. / Number of adequate samples, pcs.	490	487
Число неадекватных препаратов, шт. / Number of inadequate samples, pcs.	16	19

При этом алгоритмы VCPAP склонны в равной степени к занижению и завышению значений клеточности по отношению к ручному подсчету экспертов: из 506 препаратов в 246 клеточность занижена, что составляет около половины образцов (48,7 %). Это подтверждается распределением значений на точечной диаграмме (рис. 3) и их расположением относительно линии тренда. Однако данные отличия в количественных результатах не повлияли на классификацию образцов по категории адекватности в 99,0 % случаев.

Таблица 2 / Table 2

Расхождение результатов оценки адекватности препаратов ручным и автоматизированным методом
Divergence of adequacy assessment results of samples by manual and automated method

Препарат № / Sample No.	Оценка экспертов / Expert assessment		VCPAP		Откл. абс Δ, кл. / Abs. dev. Δ, cells	Откл. отн. δ, % / Rel. dev. δ, cells
	Кол-во клеток / Cell count	Адекватность / Adequacy	Кол-во клеток / Cell count	Адекватность / Adequacy		
226	5391	ДА / YES	4358	НЕТ / NO	1033	19,2
269	6589	ДА / YES	3879	НЕТ / NO	2710	41,1
313	5391	ДА / YES	4987	НЕТ / NO	404	7,5
346	4972	НЕТ / NO	5008	ДА / YES	36	0,7
498	5391	ДА / YES	4890	НЕТ / NO	501	9,3

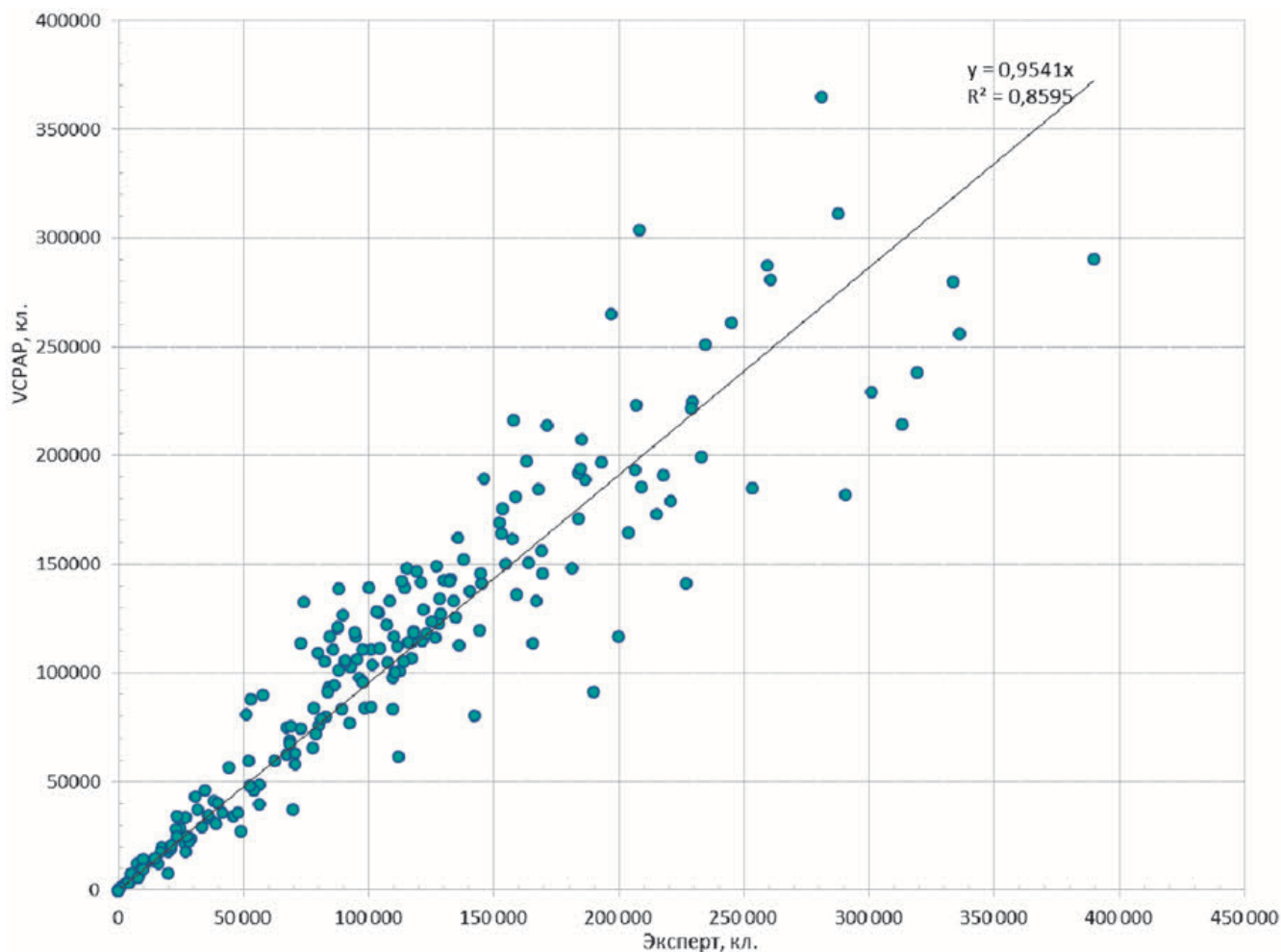


Рис. 3. Количество клеток плоского эпителия в цифровых препаратах при оценке ручным методом и автоматизированным с помощью VCPAP

Fig. 3. Number of squamous cells in digital samples evaluated manually and automated with VCPAP

Чувствительность и специфичность автоматизированного подсчета составили соответственно 93,8 и 99,2 %. Такие показатели в совокупности с достаточно высоким коэффициентом корреляции ($r = 0,93$) позволяют сделать вывод о возможности алгоритмов VCPAP достоверно и с хорошей точностью определять адекватность цитологического материала по количеству клеток плоского эпителия.

Обсуждение

Полученные в нашей работе расхождения автоматизированного подсчета клеточности относительно ручного не являются критичными по следующим причинам.

Во-первых, ложноположительный результат в контексте определения адекватности препарата ЖЦ может привести лишь к привлечению дополнительного внимания специалиста к данному материа-

лу. Поскольку доля образцов с ложноположительной оценкой адекватности невысока (0,8 %), то это не может привести к ощутимым временным затратам.

Во-вторых, традиционный ручной метод оценки клеточности препаратов является субъективным, так как результат зависит по меньшей мере от таких случайных факторов как расположение исследуемых полей зрения на препарате и равномерность распределения клеточного материала, а также нельзя исключить человеческий фактор, который приводит к ошибкам в подсчете клеток.

Выводы. Автоматизированный подсчет клеток с помощью алгоритмов искусственных нейронных сетей Vision Cyto PAP показал высокую чувствительность, специфичность и корреляцию с ручной оценкой адекватности препаратов жидкостной цитологии.

Список литературы

1. Клинические рекомендации «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки» 2020 г.
2. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Third Edition. Editors: Ritu Nayar, David C. Wilbur, 2015.

References

1. Clinical guidelines "Cervical intraepithelial neoplasia, erosion and ectropion of the cervix. 2020. Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation.
2. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Third Edition. Editors: Ritu Nayar, David C. Wilbur, 2015.

Поступила в редакцию / Received 28.11.2022

Принята к публикации / Accepted 14.06.2023

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Financing. The study was conducted without sponsorship.

Вклад авторов.

Касоян К. Т. – 30 % участия в сборе материала, 50 % участия в оформлении статьи по правилам для авторов, 40 % участия в разработке концепции и дизайна статьи, 60 % участия в подготовке текста статьи.

Шабалова И. П. – 20 % участия в оформлении статьи по правилам для авторов, 10 % участия в подготовке текста статьи.

Сапожков В. А. – 100 % участия в написании абстракта на русском и английском языках, 30 % участия в оформлении статьи по правилам для авторов, 40 % участия в статистической обработке результатов, 20 % участия в подготовке текста статьи.

Чурилова А. С. – 30 % участия в сборе материала, 20 % участия в разработке концепции и дизайна статьи, 40 % участия в статистической обработке результатов.

Лубнин М. С. – 20 % участия в сборе материала, 20 % участия в статистической обработке результатов.

Фалков Б. Ф. – 20 % участия в сборе материала, 30 % участия в разработке концепции и дизайна статьи, 10 % участия в подготовке текста статьи.

Authors' contributions.

K. Kasoyan – 30% participation in the collection of material, 50% participation in the design of the article according to the rules, 40% participation in the development of the concept and design of the article, 60% participation in the preparation of the article text

I. Shabalova – 20% participation in the preparation of the article according to the rules, 10% participation in the preparation of the article text

V. Sapozhkov – 100% participation in writing an abstract in Russian and English, 30% participation in the design of the article according to the rules, 40% participation in the statistical processing of the results, 20% participation in the preparation of the article text

A. Churilova – 30% participation in the collection of material, 20% participation in the development of the concept and design of the article, 40% participation in the statistical processing of the results

M. Lubnin – 20% participation in the collection of material, 20% participation in the statistical processing of the results

B. Falkov – 20% participation in the collection of material, 30% participation in the development of the concept and design of the article, 10% participation in the preparation of the article text

Сведения об авторах / Information about authors



Карине Тимуровна Касоян – к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом лабораторной иммунологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России), врач клинической лабораторной диагностики (цитолог). Член Международной Академии Цитологии (МИАС), Москва, Россия.

Karine T. Kasoyan – associate professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics with a course of laboratory immunology at Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (FSBEI FPE RMACPE MOH Russia), clinical laboratory diagnostician (cytologist). Member of the International Academy of Cytology (MIAC), Moscow, Russia.

E-mail: karishe@list.ru. **SPIN РИНЦ:** 3311-7512

ORCID: 0000-0002-8113-5251



Ирина Петровна Шабалова – д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России), врач клинической лабораторной диагностики (цитолог). Член Международной Академии Цитологии (МИАС), Москва, Россия.

Irina P. Shabalova – professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics at Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (FSBEI FPE RMACPE MOH Russia), clinical laboratory diagnostician (cytologist). Member of the International Academy of Cytology (MIAC), Moscow, Russia.

E-mail: irenshab@inbox.ru. **SPIN РИНЦ:** 7390-0085

ORCID:



Владислав Александрович Сапожков – инженер группы аналитических систем сервисного центра ООО «Медика Продакт»; начальник Департамента Научно-исследовательской лаборатории клинических разработок Международной Школы Цитологии и Медицинской Школы Инноваций, Москва, Россия.

Vladislav A. Sapozhkov – Engineer of the analytical systems group of the service center LLC 'Medica product'; Head of R&D Department, International Cytology School&Innovatory Medical School, Moscow, Russia.

E-mail: v.sapozhkov@westmedica.com. **SPIN РИНЦ:** 8362-2836

ORCID: 0000-0001-7894-2901



Анна Святославовна Чурилова – руководитель группы разработки ПО искусственного интеллекта отдела разработки ПО ООО «Медика Продакт», Пермь, Россия.

Anna S. Churilova – Head of the Artificial Intelligence Development Group of the Software Development Department LLC 'Medica Product', Perm, Russia.

E-mail: a.churilova@westmedica.com. **SPIN РИНЦ:** 3029-5350

ORCID: 0000-0002-2247-6611



Максим Сергеевич Лубнин – разработчик ПО отдела разработки ПО ООО «Медика Продакт», Пермь, Россия.

Maksim S. Lubnin – software developer of the Software Development Department LLC 'Medica Product', Perm, Russia.

E-mail: m.lubnin@westmedica.com. **SPIN РИНЦ:** 9076-5320

ORCID: 0000-0002-8920-3378



Борис Фимович Фалков – директор разработки ПО ООО «Медика Продакт», Пермь, Россия.

Boris F. Falkov – Head of the Artificial Intelligence Development Group of the Software Development Department LLC 'Medica Product', Perm, Russia.

E-mail: b.falkov@westmedica.com. **SPIN РИНЦ:** 9469-0189

ORCID: 0000-0003-4766-8203