

ความถูกต้องของดัชนีค่าเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่มีนิวเคลียส นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซต์
ที่ได้จากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติเปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

**The Accuracy Index of NRBC Neutrophil Lymphocyte and Monocyte
from Automated Cell Counter Compared to The Staining from View under A Microscope**

วิมลสิริ ชนะตริรัตน์พันธุ์ วท.บ.

Wimonsiri Chanatrirattanapan B.Sc.

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

Department of Medical Technology

โรงพยาบาลสวรรคภ์ประชารักษ์

Sawanpracharak Hospital

จังหวัดนครสวรรค์

Nakhon Sawan

สวรรคภ์ประชารักษ์เวชสาร

Sawanpracharak Medical Journal

ปีที่ 14 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2560

Vol. 14 No. 1 January-April 2017

บทคัดย่อ

- วัตถุประสงค์** : เพื่อศึกษาจำนวนเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่มีนิวเคลียส (nucleated red blood cell : NRBC) นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และ โมโนไซต์ จากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์
- สถานที่ศึกษา** : ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสวรรคภ์ประชารักษ์
- รูปแบบงานวิจัย** : การศึกษาวิจัยเชิงพรรณนาแบบไปข้างหน้า
- กลุ่มตัวอย่าง** : ผู้ป่วยนอกที่มารับบริการตรวจเม็ดเลือดสมบูรณ์แบบ (complete blood count: CBC) ทางห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก ที่มีใบสั่งตรวจจากแพทย์ ไม่จำกัดเพศ อายุ และอาการ ตั้งแต่ 9 พฤศจิกายน 2558 ถึง 31 พฤษภาคม 2559 จำนวน 489 ราย
- วิธีการศึกษา** : เก็บรวบรวมข้อมูลผลการตรวจจากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการตรวจทั้งสองวิธี ด้วยสถิติ t-test และหาความสัมพันธ์ของผลการตรวจทั้งสองวิธี ด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (concordance correlation coefficient : Rho - c) กำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ระหว่างการตรวจทั้งสองวิธีที่ร้อยละ 10

- ผลการศึกษา :** ความแตกต่างในการนับ NRBC, neutrophil, lymphocyte และ monocyte จากการตรวจทั้งสองวิธี มีค่า P value เท่ากับ 0.076, < 0.001, < 0.001 และ < 0.001 ตามลำดับ แต่เมื่อทดสอบความสอดคล้องด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์พบว่าจำนวน NRBC และ monocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับพอใช้และแย ในขณะที่ neutrophil และ lymphocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับดีมาก และดี เมื่อใช้เกณฑ์ที่ความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10 มาสร้างกราฟ ได้ผลสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีของ NRBC ที่ช่วง 50-170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว และ monocyte ได้ผลสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธี ที่ 0-10 เซลล์ ส่วน neutrophil และ lymphocyte ได้ผลสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีทุกค่า
- วิจารณ์และสรุป :** ค่าความแตกต่างของจำนวน neutrophil, lymphocyte และ monocyte จากการนับทั้งสองวิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากเป็นช่วงการระบาดของไข้เลือดออก ซึ่งเชื้อไวรัสจะทำให้ lymphocyte บางตัวมีลักษณะรูปร่างลักษณะเปลี่ยนไปเหมือน monocyte ได้ การนับจำนวน neutrophil และ lymphocyte จากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติมีความน่าเชื่อถือ สามารถใช้ในการพิจารณาออกผลตรวจได้ แต่การนับจำนวน monocyte จากเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติหากได้ค่ามากกว่า 10 เซลล์ ควรพิจารณาตรวจซ้ำด้วยวิธีการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในขณะที่จำนวน NRBC ที่ได้จากเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติหากได้ค่าน้อยกว่า 50 และมากกว่า 170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว ควรพิจารณาตรวจซ้ำด้วยวิธีการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ เช่นกัน
- คำสำคัญ :** ความถูกต้องของดัชนีค่าเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่มีนิวเคลียส เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ การย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

Abstract

- Objective :** To study the accuracy index of automate cell counter by comparing number of nucleated red blood cell (NRBC), neutrophil, lymphocyte and monocyte of automate cell counter to the microscopic examination of blood smear
- Setting :** Sawanpracharak hospital Laboratory
- Design :** Prospective descriptive research.
- Subjects :** 489 CBC samples from patient of any age group, gender, or type of illness at outpatient department, Sawanpracharak Hospital during 9 November 2015 – 31 May 2016
- Method :** Data from the automate cell counter was compared to data from microscopic examination of blood smear using t-test with accepting concordance correlation coefficient at 10 %

- Result** : There are statistically differences in NRBC, neutrophil, lymphocyte and monocyte counts from both methods (all P value <0.001). However, when the correlation coefficients were tested, NRBC and monocyte they were moderately consistent between both methods, while neutrophils and lymphocyte were at good and excellent levels. With a tolerance of no more than 10%, there was consistency of the NRBC method at 50-170 cells per 100 white blood cells and monocyte. The consistency of both neutrophil 0 to 10 and lymphocyte – cell cohorts were consistent across the two approaches.
- Conclusion** : The way to automate cell counter and staining from view under a microscope test result consistent with a neutrophil and lymphocyte count but monocyte consistent at 0-10 cells while the NRBC consistent at 50 -170 cells per 100 wbc. If monocyte automate cell counter count greater than 10 cells should be repeated with staining from view under a microscope. If NRBC automate cell counter count less than 50 and greater than 170 cells should be repeated with staining from view under a microscope
- Key words** : The accuracy index of NRBC , automate cell counter, staining from view under a microscope

บทนำ

ผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจเลือดในโรงพยาบาล โดยเฉพาะการตรวจเม็ดเลือดสมบูรณ์แบบ (complete blood count : CBC) จะมีปริมาณการส่งตรวจมาก ซึ่งในขั้นตอนของการตรวจวิเคราะห์ CBC ใช้เวลาในการตรวจบางรายไม่เท่ากันแม้จะใช้เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติก็ตาม เนื่องจากมีข้อจำกัด เช่น เครื่องนับแยกไม่ได้ นับได้ไม่ถูกต้อง หรือเครื่องนับค่าเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน (nucleated red blood cell : NRBC) ออกมาจากเหตุผลดังกล่าวนี้ จึงมีความจำเป็นที่ต้องมาตรวจวิเคราะห์เพิ่มเติมด้วยการย้อมสีแล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์⁽¹⁾ ทำให้การออกผลตรวจล่าช้า และเพิ่มเวลาการรอคอยของผู้มารับบริการ เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีการทำงานที่สัมพันธ์ต่อกันแบ่งเป็น 3 หลักการ หลักการแรกคือ poor conductivity ที่ไปขัดขวางการไหลของกระแสไฟฟ้า

หลักการนี้ใช้นับเซลล์เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเกร็ดเลือด หลักการที่สองคือ หลักการวัดปริมาตรสภาพความนำคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและการกระเจิงแสงเมื่อเซลล์กระทบลำแสงเลเซอร์ (volume conductivity scatter :VCS) โดยใช้คุณสมบัติการกระจายแสงเลเซอร์ในการแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ หลักการที่สามคือหลักการของ impedance และ VCS technology วิเคราะห์จากตำแหน่งของ NRBC ใน differential data plot โดยอาศัยหลักการ VCS และตำแหน่ง NRBC ที่อยู่ด้านซ้ายของ WBC histogram ถ้ามีกลุ่มเซลล์ปรากฏอยู่ในตำแหน่งของ NRBC ทั้งสองหลักการนี้จะทำการนับและรายงานจำนวน NRBC จาก WBC histogram จากหลักการดังกล่าว ถึงแม้เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติจะมีความแม่นยำในการนับเม็ดเลือดมากก็ตาม แต่ในทางปฏิบัติก็ยังพบปัญหาที่เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัตินับเม็ดเลือดแดงตัวตัวอ่อนออกมา

เกินความเป็นจริงเมื่อเปรียบเทียบกับการนับด้วยกล้องจุลทรรศน์⁽²⁾ และยังไม่มีการวิจัยศึกษาผลของการนับ NRBC ปลอดภัยนั้นจึงทำการศึกษาค้นคว้าโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจำนวน NRBC นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซต์ ที่ได้จากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาการรายงานผลการตรวจ CBC ของห้องปฏิบัติการต่อไป

วิธีการศึกษา

ทำการศึกษาวินิจฉัยเชิงพรรณนาไปยังหน้า คำนวณกลุ่มตัวอย่างคนไข้ที่มารับบริการทางห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอกได้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 489 ราย เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยนอกที่มารับบริการตรวจ CBC พร้อมใบส่งตรวจจากแพทย์ ไม่จำกัดเพศ อายุ และอาการ ทุกรายจนครบ 489 ราย ตั้งแต่ 9 พฤศจิกายน 2558 ถึง 31 พฤษภาคม 2559 โดยเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในสารกันเลือดแข็ง K3EDTA นำเข้าเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น Coulter LH750^(3,4) จากนั้นนำผลตรวจ CBC^(5,6) ที่นับได้ NRBC ตั้งแต่ 0 เซลล์ขึ้นไป พร้อมทั้งบันทึกค่าความเข้มข้นของเลือด (hematocrit : Hct) โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือผลตรวจที่มีค่าความเข้มข้นของเลือดปกติ คือ Hct มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 และกลุ่มสองคือผลตรวจที่มีค่าความเข้มข้นของเลือดที่น้อยกว่าร้อยละ 36 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความเข้มข้นของเลือดที่มีผลต่อการนับจำนวน NRBC โมโนไซต์ (monocyte) บันทึกจำนวน NRBC, neutrophil, lymphocyte และ monocyte ลงในแบบบันทึก (record form) และนำตัวอย่างเลือดจากรายเดียวกันทั้ง 489 ราย ทำสเมียร์เลือด

และย้อมด้วยสี Wright เพื่อนับ NRBC, neutrophil, lymphocyte และ monocyte จากกล้องจุลทรรศน์ โดยผู้วิจัย พร้อมทั้งบันทึกค่าดังกล่าวลงใน record form เช่นเดียวกันกับแบบบันทึกที่ได้จากเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติทดสอบความแตกต่างของผลการตรวจทั้งสองวิธีด้วยสถิติ t-test และทดสอบความสอดคล้องกันของผลการตรวจทั้งสองวิธีด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (concordance correlation coefficient: Rho - c)⁽⁷⁻⁹⁾ และนำเสนอด้วยรูปภาพ โดยกำหนดเกณฑ์แปลผล Rho - c เป็น 4 ระดับคือน้อยกว่า 0.4, 0.41 ถึง 0.60, 0.61 ถึง 0.80 และมากกว่า 0.80 แปลผลความสอดคล้องได้ว่า แย่ พอใช้ ดี และดีมาก ตามลำดับ กำหนดความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้เพื่อดูค่าความถูกต้องของเม็ดเลือดที่ศึกษาแต่ละชนิดที่ห้องปฏิบัติการได้กำหนดไว้คือไม่เกินร้อยละ 10

ผลการศึกษา

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจ CBC จากการตรวจทั้งสองวิธีพบว่า ที่ค่า Hct มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 จำนวน NRBC และ neutrophil จากการตรวจทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน (P value เท่ากับ 0.156 และ 0.127) แต่จำนวน lymphocyte และ monocyte จากการตรวจทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.001) (ตารางที่ 1) ที่ค่า Hct น้อยกว่าร้อยละ 36 จำนวน NRBC จากการตรวจทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน (P value = 0.068) แต่จำนวน neutrophil, lymphocyte และ monocyte จากการตรวจทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.001) (ตารางที่ 2) และเมื่อทดสอบค่าความสอดคล้องกัน

ของการตรวจทั้งสองวิธี โดยใช้ค่า Rho-c พบว่า ที่ค่า Hct มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 จำนวน NRBC, neutrophil และ lymphocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีอยู่ในระดับดี ดีมาก และดี แต่จำนวน monocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธี

อยู่ในระดับแย่ (ตารางที่ 1) ที่ค่า Hct น้อยกว่าร้อยละ 36 จำนวน NRBC, neutrophil และ lymphocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีอยู่ในระดับพอใช้ ดี และดีมาก ส่วนจำนวน monocyte อยู่ในระดับแย่ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติและความสอดคล้องกันด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการนับเซลล์ที่ศึกษาที่ค่าความเข้มข้นของเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 เปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

เซลล์	Automated Mean±SD	Manual Mean±SD	P value	Rho-c	95%CI
NRBC/100wbc	2.4±5.3	1.8±8.1	0.156	0.769	0.716-0.822
Neutrophils (%)	50.0±18.5	51.1±19.3	0.127	0.906	0.877-0.935
Lymphocyte (%)	34.3±16.2	41.2±18.8	<0.001	0.719	0.646-0.791
Monocyte (%)	12.2±8.7	5.6±5.6	<0.001	0.181	0.077-0.285

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติและความสอดคล้องกันด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการนับเซลล์ที่ศึกษาที่ค่าความเข้มข้นของเลือดน้อยกว่าร้อยละ 36 เปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

เซลล์	Automated Mean±SD	Manual Mean±SD	P value	Rho-c	95%CI
NRBC/100wbc	9.2±39.4	17.9±112.0	0.068	0.448	0.406-0.489
Neutrophils (%)	58.2±18.3	60.1±19.3	<0.001	0.873	0.848-0.898
Lymphocyte (%)	28.5±14.2	32.7±17.8	<0.001	0.803	0.769-0.837
Monocyte (%)	9.9±7.4	4.7±4.5	<0.001	0.271	0.207-0.336

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจ CBC จากการตรวจทั้งสองวิธี โดยไม่คำนึงถึงค่าความเข้มข้นของเลือดพบว่า จำนวน NRBC จากการตรวจทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน (P value = 0.076) แต่จำนวน neutrophil, lymphocyte และ monocyte จากการตรวจทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value < 0.001)

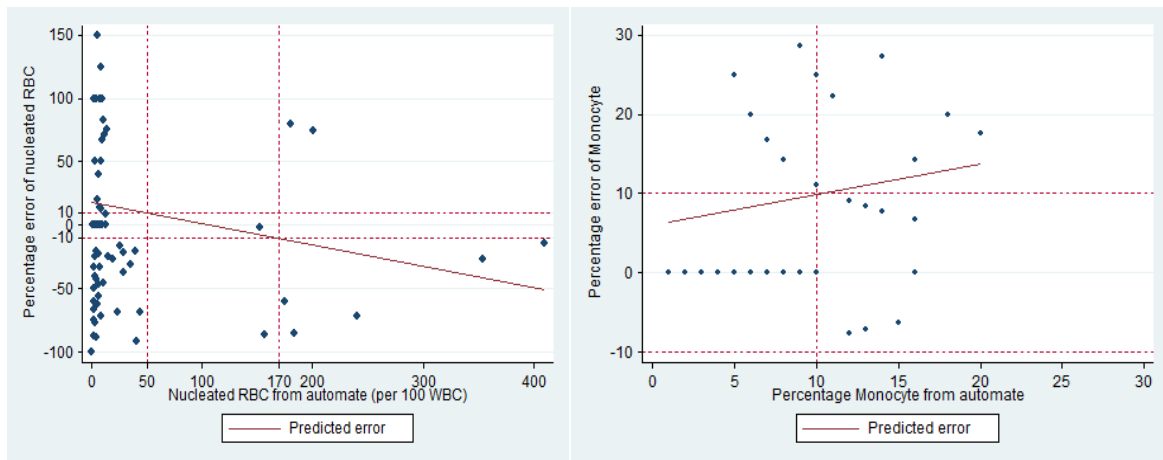
และเมื่อทดสอบค่าความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีพบว่าจำนวน NRBC และ monocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับพอใช้ และแย ในขณะที่จำนวน neutrophil และ lymphocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับดีมาก และดี (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความแตกต่างทางสถิติและความสอดคล้องกันด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของการนับเซลล์ที่ศึกษาโดยไม่แยกค่าความเข้มข้นของเลือด เปรียบเทียบระหว่างเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

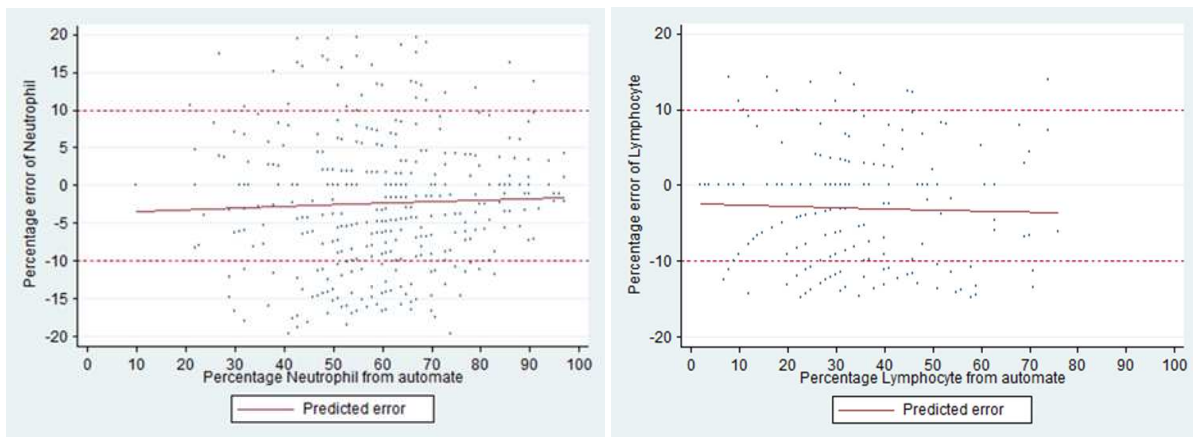
เซลล์	Automated Mean±SD	Manual Mean±SD	P value	Rho-c	95%CI
NRBC/100wbc	7.2±33.4	13.1±94.4	0.076	0.451	0.416-0.486
Neutrophils (%)	55.8±18.7	57.4±19.7	<0.001	0.887	0.869-0.906
Lymphocyte (%)	30.2±15.3	35.2±18.5	<0.001	0.783	0.751-0.814
Monocyte (%)	10.6±7.9	5.0±4.9	<0.001	0.242	0.187-0.297

จากข้อตกลงทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ ได้กำหนดค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ ระหว่างเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติเปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ไม่เกินร้อยละ 10 เมื่อนำมาสร้างกราฟแสดงค่าที่สอดคล้อง ได้ผลดังนี้คือ จำนวน NRBC ที่ค่าความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10 มีค่าความสอดคล้องของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ 50-170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว ในขณะที่จำนวน NRBC น้อยกว่า 50 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว และที่

จำนวน NRBC มากกว่า 170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว ได้ผลไม่สอดคล้องกัน จำนวน monocyte ที่ค่าความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10 มีค่าความสอดคล้องของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ 0-10 เซลล์ ในขณะที่ค่า monocyte มากกว่า 10 เซลล์ จะได้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน (รูปที่ 1) สำหรับจำนวน neutrophil และ lymphocyte ที่ค่าความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10 มีค่าความสอดคล้องของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ทุกค่า (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 กราฟแสดงค่าที่สอดคล้องของ NRBC และ monocyte ระหว่างการนับโดยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการข้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ (เส้นทึบแสดงแนวโน้มของทิศทางความคลาดเคลื่อน เส้นประแสดงขอบเขตการยอมรับค่าที่ $\pm 10\%$)



รูปที่ 2 กราฟแสดงค่าที่สอดคล้องของ neutrophil และ lymphocyte ระหว่างการนับโดยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการข้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ (เส้นทึบแสดงแนวโน้มของทิศทางความคลาดเคลื่อน เส้นประแสดงขอบเขตการยอมรับค่าที่ $\pm 10\%$)

วิจารณ์และสรุป

จากผลการศึกษาเมื่อวิเคราะห์ผลโดยจำแนกตามค่าความเข้มข้นของเลือด พบค่าเฉลี่ยของจำนวน NRBC ที่ความเข้มข้นของเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 และน้อยกว่าร้อยละ 36 ไม่มีความแตกต่างกัน จำนวน neutrophil ที่ความเข้มข้นของเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ที่ความเข้มข้นของเลือดน้อยกว่าร้อยละ 36 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่จำนวน lymphocyte และจำนวน monocyte ที่ความเข้มข้นของเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 และน้อยกว่าร้อยละ 36 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้เมื่อได้ทำการทดสอบความสอดคล้องของการตรวจทั้งวิธีนับโดยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติและการย้อมสีดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในกรณีที่ค่าความเข้มข้นของเลือดมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 36 และน้อยกว่าร้อยละ 36 มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีของค่า NRBC ในระดับดี และพอใช้ จำนวน neutrophil และ lymphocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับดีมาก แต่จำนวน monocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับแย่

ผลการศึกษากรณีที่ไม่ได้จำแนกตามค่าความเข้มข้นของเลือด ให้ผลไปในแนวทางเดียวกัน ทั้งความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่ได้ และความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธี ที่ความเข้มข้นของเลือดน้อยกว่าร้อยละ 36 ซึ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความสำคัญ ต้องทราบสาเหตุของภาวะโลหิตจางที่เกิดขึ้น ผู้วิจัยจึงมุ่งเน้นในกรณีที่ตรวจโดยไม่จำแนก

ค่าความเข้มข้นของเลือด เพื่อใช้เป็นหลักเกณฑ์เดียวกันในการตรวจนับเม็ดเลือด

จากผลการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวน NRBC จากการตรวจทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน และมีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับพอใช้ จำนวน neutrophil, lymphocyte และ monocyte มีค่าเฉลี่ยจากการตรวจทั้งสองวิธีที่แตกต่างกัน แต่ monocyte มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีที่แย่กว่า neutrophil และ lymphocyte จากผลการวิเคราะห์ข้างต้นนี้ สืบเนื่องจากการเก็บข้อมูลจากการวิจัยครั้งนี้ อยู่ในช่วงการระบาดของไข้เลือดออก (dengue fever) จึงอาจมีผลต่อการวิเคราะห์ของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติในครั้งนี้ ซึ่งเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า หากผู้ป่วยมีการติดเชื้อไวรัสไข้เลือดออกดังกล่าว มีผลทำให้การนับและแยกชนิดของเม็ดเลือดผิดไป กล่าวคือ dengue virus จะทำให้ lymphocyte เปลี่ยนรูปร่างไปเหมือน monocyte หรือทำให้ขนาดของ lymphocyte ใหญ่ขึ้น^(10,11) ซึ่งเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติใช้หลักการวัดปริมาตรหรือขนาดของเซลล์ สภาพความนำคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า และการกระเจิงแสงเมื่อเซลล์กระทบลำแสงเลเซอร์ (volume conductivity scatter) ทำให้มีผลต่อการแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวเป็นหลัก นอกจากนี้เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติเมื่อทำการวิเคราะห์จำแนกเซลล์จะนับจำนวนเซลล์ทั้งหมดประมาณ 8,000 เซลล์ ส่วนการตรวจคูสมียร์เลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยทั่วไปจะนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวเพียง 100 เซลล์ของเม็ดเลือดขาว แต่หลังจากพิสูจน์ต่อด้วยกราฟที่มาจากข้อตกลงทางห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ได้

กำหนดค่าความคลาดเคลื่อนระหว่างเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ เปรียบเทียบกับการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่ร้อยละ 10 ซึ่งเป็นเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับทางห้องปฏิบัติการ⁽¹²⁾ จะเห็นว่าจำนวนของ monocyte และ NRBC ไม่ได้มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธีในระดับพอใช้ และแยกค่า โดยพบว่าจำนวน monocyte ในช่วงที่นับได้ 0-10 เซลล์ มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธี หากค่ามากกว่า 10 เซลล์ จึงจะได้ค่าที่ไม่สอดคล้อง ส่วน NRBC ในช่วงที่นับจำนวนได้ 50-170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว มีความสอดคล้องของการตรวจทั้งสองวิธี หากค่าน้อยกว่า 50 หรือมากกว่า 170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว จึงจะไม่มี ความสอดคล้องกันของทั้งสองวิธี ซึ่งจำนวน NRBC 50-170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว และจำนวน monocyte 0-10 เซลล์ เป็นค่าความถูกต้องที่เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติและการย้อมสีด้วยกล้องจุลทรรศน์มีความสอดคล้องกัน ซึ่งทางห้องปฏิบัติการสามารถนำค่าความสอดคล้องนี้ไปใช้กำหนดการลดขั้นตอนการทำงานที่เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ นับได้ โดยสามารถใช้ค่าที่เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ นับได้กับจำนวน neutrophil และ lymphocyte ส่วนการนับ monocyte และ NRBC จากเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ นับหากจำนวน monocyte ได้ค่ามากกว่า 10 เซลล์ และจำนวน NRBC มีค่าน้อยกว่า 50 และมากกว่า 170 เซลล์ต่อเม็ดเลือดขาว 100 ตัว ควรพิจารณาตรวจซ้ำด้วยวิธีการย้อมสีแล้วนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถลดขั้นตอนการย้อมสไลด์ทุกรายที่เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ นับค่า NRBC, neutrophil, lymphocyte และ monocyte แล้วได้ค่าที่เกินจากระดับปกติในกระแสเลือด⁽¹³⁾

จากการศึกษางานวิจัยอื่นๆ ซึ่งมีการศึกษาเปรียบเทียบการแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวจากทั้งสองวิธี แตกต่างกับการศึกษานี้ที่การคัดเลือกตัวอย่าง หากเป็นตัวอย่างในกลุ่มคนสุขภาพดีจะได้ผลการตรวจทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันและมีความสอดคล้องกันดี นอกจากนี้งานวิจัยอื่นมิได้กำหนดขอบเขตของค่าความถูกต้องไว้ ผู้วิจัยจึงเห็นว่างานวิจัยนี้มีได้เลือกเฉพาะกลุ่มคนสุขภาพดี แต่ศึกษาจากผู้ใช้บริการทั้งหมดในสถานการณ์จริงที่ไม่สามารถเลือกช่วงเวลาการตรวจวิเคราะห์ หรือกลุ่มผู้รับบริการได้ ซึ่งจากผลของงานวิจัยในครั้งนี้ น่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้มารับบริการในโรงพยาบาลได้มากขึ้น ในการลดเวลาการรอคอยทำให้สามารถได้รับการรักษาที่รวดเร็ว และเกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้มารับบริการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดอกเตอร์ นายแพทย์ชยันตร์ธร ปทุมานนท์ และคณะที่ให้คำแนะนำในการศึกษาและการเขียนนิพนธ์ฉบับขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสวารค์ประชารักษ์ ที่มีส่วนให้คำปรึกษาในงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. NCCLS. Reference leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods. Approved standard NCCLS Document H20-A; 1992.
2. Buttarello M, Gadotti M, Lorenz C, Toffalori E, Ceschini N, Valentini A, et al. Evaluation of four automated hematology analyzer: a comparative study of differential counts (imprecision and inaccuracy). *Am J Clin Pathol* 1992;97:345-52.
3. Coulter Corporation. Coulter® LH 750 system reference manual. Miami: A Beckman Coulter Company; 2002.
4. Standard operating proceder (SOP) For LH 750. Bangkok ; PCL Holding Co.,ltd ; 2010.
5. Bain BJ. Blood cell morphology in health and disease. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, editors. *Dacie and Lewis practical haematology*. 10th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2006:79-113.
6. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers : a review part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 21-41.
7. Lin L. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 1989; 45: 255-68.
8. Lin L. A note on the concordance correlation coefficient. *Biometrics* 2000; 56: 324-5.
9. McBride GB. A proposal for strength-of-agreement criteria for Lin's Concordance Correlation Coefficient. 2005 (cite 2016 Oct 12). NIWA Client Report: HAM2005-062. Available from: <https://www.medcalc.org/download/pdf/McBride2005.pdf>
10. ศิริเพ็ญ กัลป์ยานรุธ บรรณาธิการ. แนวทางการวินิจฉัยและรักษาโรคไข้เลือดออกในระดับโรงพยาบาลศูนย์/โรงพยาบาลทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2548.
11. WHO. Dengue, guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva : World Health Organization; 2009.
12. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol* 2005;11(2):83-90.
13. Choladda V. Differential blood count. 2015 (cite 2016 Oct 12). Available from : URI : <http://www.emedicine.medscape.com/article/2085133-overview>