

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจ Complete Blood Count (CBC) ด้วยเครื่อง The Coulter Stks เทียบกับการประมาณจำนวนเซลล์จาก Peripheral Blood Smear และการวัด Hematocrit จาก Capillary Tube

เอกชัย สิงหติราช, วิชัย ประยูรวิวัฒน์, ราชภัฏ โคกเกษม และ จตุพร พูลเกษ

หน่วยโลหิตวิทยา กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

บทคัดย่อ : วัตถุประสงค์ : 1) การหาความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจ complete blood count โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ และไม่ใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ 2) ประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาว จำนวนเกร็ดเลือด จาก peripheral blood smear 3) ค่า hematocrit มีผลต่อการดูจำนวนเกร็ดเลือดหรือไม่

วิธีการศึกษา : เชิงพรรณนา

วัสดุและวิธีการ : ศึกษาข้อมูลจากการตรวจเลือดผู้ป่วยที่มารักษาที่แผนกโลหิตวิทยา กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า จำนวน 115 ราย โดยเจาะเลือดทำสเมียร์บนแผ่นกระจกสไลด์ 2 แผ่นแล้วใส่ EDTA ส่งให้แผนกพยาธิวิทยาเพื่อตรวจ complete blood count โดยใช้เครื่อง The Coulter Stks และกะประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดโดยเฉลี่ยจากการนับ 10 oil fields จาก peripheral blood smear ที่ย้อมด้วยสี Wright และวัด hematocrit จากการปั่นด้วยวิธี capillary tube

ผลการศึกษา : ค่า hematocrit ที่ได้จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันดีสามารถใช้แทนกันได้ ($r = 0.97$) ส่วนการกะประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาว จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันไม่ดี ($r = 0.58$) จึงไม่สามารถประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวจาก peripheral blood smear แต่การกะประมาณจำนวนเกร็ดเลือดจากทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันดี ($r = 0.88$) สามารถประมาณได้ว่าเกร็ดเลือด 1 ตัวต่อ oil field มีค่าประมาณ 16,903 ตัว/ลบ.มม. โดยมีความแม่นยำสูงถ้าจำนวนเกร็ดเลือดไม่เกิน 24 ตัวต่อ 1 oil field ($r = 0.91$) และค่า hematocrit ไม่มีผลต่อการกะประมาณจำนวนเกร็ดเลือด

สรุป : ในสถานที่ที่ไม่มีเครื่อง automated ในการตรวจ complete blood count สามารถตรวจโดยใช้การวัด hematocrit จาก capillary tube การประมาณจำนวนเกร็ดเลือดจาก peripheral blood smear ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับการตรวจโดยเครื่องเป็นอย่างดี แต่ไม่สามารถประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวได้ นอกจากนี้สเมียร์ยังใช้ดูรายละเอียดต่างๆ ของเม็ดเลือดได้โดยที่เครื่องทำไม่ได้อีกด้วย

Key Words : ● Peripheral blood smear ● CBC ● Automated ● Hematocrit ● WBC ● Platelet

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2541;8:327-32.

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 25 พฤศจิกายน 2541 และให้ตีพิมพ์ 15 ธันวาคม 2541

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.นพ.วิชัย ประยูรวิวัฒน์ แผนกโลหิตวิทยา
กอง อายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี เขตราชเทวี
กรุงเทพฯ 10400

Complete blood count (CBC) เป็นการตรวจที่จำเป็นและเป็นการตรวจพื้นฐานในการแปลผลผู้ป่วยทางคลินิกประกอบไปด้วยการตรวจ hematocrit จำนวนเม็ดเลือดขาวแยกชนิดต่างๆ และจำนวนเกร็ดเลือด ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าการตรวจโดยใช้เครื่อง เช่น The Coulter Counter ให้ผลที่เที่ยงตรง ซึ่งอาศัยหลักการเรื่องขนาดของ particle ที่มีขนาดต่างกัน เมื่อวิ่งผ่าน electrode 2 อัน ทำให้มีความต้านทานต่างกัน เมื่อแปลงเข้า oscilloscope ออกมาเป็น histogram ของเซลล์ต่างๆ ทำให้ทราบวาประกอบไปด้วยเซลล์ปริมาณเท่าใด แต่ในสถานที่ที่ไม่มีเครื่องมือดังกล่าว จำเป็นต้องตรวจด้วยการวัด hematocrit จาก capillary tube และการดูลักษณะเซลล์และกะประมาณจำนวนเซลล์จาก peripheral blood smear การศึกษานี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจ complete blood count จากทั้ง 2 วิธี เพื่อ

1. หาความสัมพันธ์ระหว่าง hematocrit จำนวนเม็ดเลือดขาวและจำนวนเกร็ดเลือด จากทั้ง 2 วิธี
2. กะประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาว และเกร็ดเลือดจาก peripheral blood smear ว่ามีค่าเป็นเท่าใด เมื่อเทียบกับ gold standard คือการตรวจด้วยเครื่อง The Coulter STKs
3. ค่าของ hematocrit มีความสัมพันธ์กับการดูจำนวนเกร็ดเลือด จาก peripheral blood smear หรือไม่

วัสดุและวิธีการ

ข้อมูลได้จากการตรวจเลือดผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่แผนกโลหิตวิทยา กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้าจำนวน 115 ราย โดยเจาะเลือดและทำสเมียร์บนแผ่นกระจกสไลด์ 2 แผ่น แล้วใส่ EDTA ส่งให้แผนกพยาธิวิทยา เพื่อตรวจ complete blood count ใช้เครื่อง The Coulter Stks ซึ่งประกอบไปด้วยการตรวจ hematocrit จำนวนเม็ดเลือดขาว และจำนวนเกร็ดเลือด

เปรียบเทียบกับการกะประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดโดยเฉลี่ยจากการนับ 10 oil fields จาก peripheral blood smear ที่ย้อมด้วยสี Wright และวัด hematocrit จากการปั่นด้วยวิธี capillary tube โดยแบ่งเป็น 2 วิธี

วิธีที่ 1. การตรวจโดยใช้เครื่อง The Coulter Stks ซึ่งเป็นเครื่องที่ใช้อยู่เป็นประจำใน รพ.พระมงกุฎเกล้า

วิธีที่ 2. 2.1) นำเลือดที่ใส่ EDTA แล้วจำนวน 1 หยด ขนาด 2-3 มม. ไปหยดบน สไลด์ที่ผิวเรียบและสะอาด โดยหยดให้ห่างจากขอบสไลด์ 1 ซม. และใช้สไลด์อีกอันหนึ่งไถด้วยมุม 30-45 องศา แล้วปล่อยให้แห้งเอง ต่อมานำไปย้อมด้วย Wright's stain หลังจากนั้นจะนำ peripheral blood smear ที่ได้มานับจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือด 10 oil fields เพื่อหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกร็ดเลือดต่อ 1 oil field

2.2) นำเลือดที่ใส่ EDTA แล้วบรรจุเลือดลงไปใน capillary tube เพื่อนำไปปั่นโดยใช้เครื่อง centrifuge ปั่นที่ 12,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที¹ หลังจากนั้นนำไปอ่านค่าจากเครื่อง spectroscope

สถิติ การคำนวณทางสถิติใช้วิธี simple regression

ผลการศึกษา

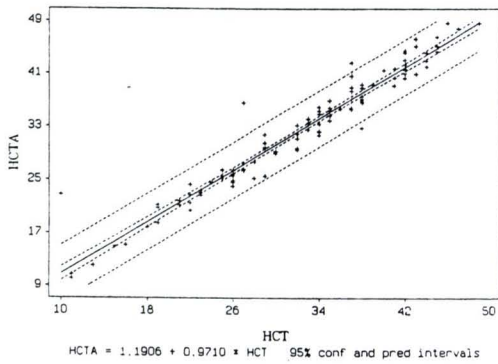
ผลการตรวจ hematocrit จำนวนเม็ดเลือดขาวและจำนวนเกร็ดเลือด จากทั้ง 2 วิธีจากผู้ป่วยด้วยโรคทางโลหิตวิทยาของแผนกโลหิตวิทยา จำนวน 115 ราย ถูกนำมาหาความสัมพันธ์กันโดยใช้วิธี regression analysis ได้ผลดังนี้

Hematocrit

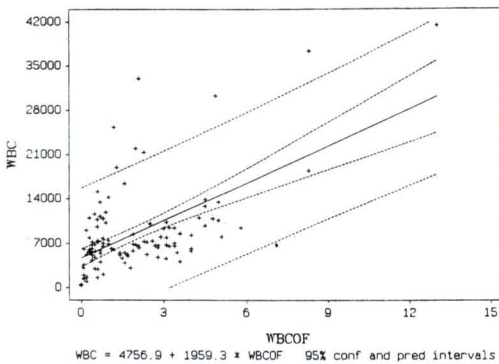
ความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจ hematocrit ทั้ง 2 วิธีได้กราฟดังรูปที่ 1 ซึ่งมีค่า correlation r เท่ากับ 0.97 จะเห็นได้ว่าการตรวจทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันดีมาก

เม็ดเลือดขาว

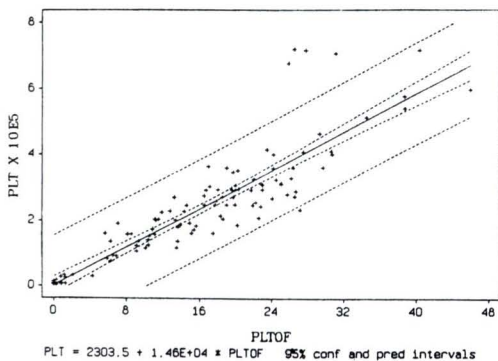
ความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจเม็ดเลือดขาว ทั้ง 2



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง HCTA (hematocrit ที่ตรวจโดยเครื่อง) กับ HCT (hematocrit ที่วัดจาก capillary tube)



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่าง WBC (เม็ดเลือดขาวที่ตรวจโดยเครื่อง) กับ WBCOF (เม็ดเลือดขาวที่ตรวจโดยการดูจาก peripheral blood smear เป็นจำนวนตัวต่อ oil field)



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง PLT (เกร็ดเลือดที่ตรวจโดยเครื่อง) กับ PLTOF (เกร็ดเลือดที่ตรวจโดยการดูจาก peripheral blood smear เป็นจำนวนตัวต่อ oil field)

วิธี ได้กราฟดังรูปที่ 2 ซึ่งมีค่า correlation r เท่ากับ 0.58 จะเห็นได้ว่าการตรวจทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันไม่ดี

เกร็ดเลือด

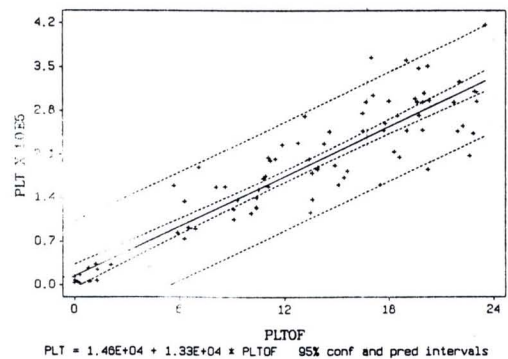
ความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจจำนวนเกร็ดเลือดทั้ง 2 วิธี ได้กราฟดังรูปที่ 3 ซึ่งมีค่า correlation r เท่ากับ 0.88 จะเห็นได้ว่าการตรวจทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันดี โดยมีค่า

PLT ตั้งแต่ 3,000 - 716,000/mm³

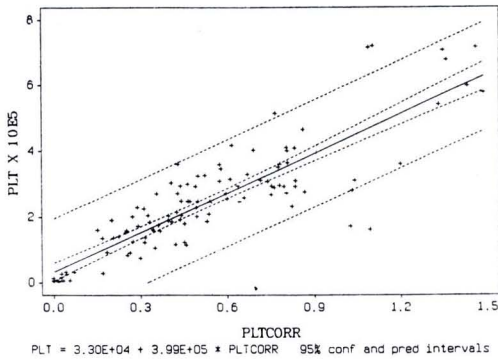
PLTOF ตั้งแต่ 0 - 40.3/oil field

ซึ่งค่าต่ำสุดของทั้ง 2 ข้อมูล เป็นข้อมูลเดียวกัน แต่ค่าสูงสุดของทั้ง 2 ข้อมูล เป็นข้อมูลต่างกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า มีการกระจายข้อมูลมากในช่วงข้อมูลที่มีค่ามาก จึงได้ทำการหาความสัมพันธ์ในช่วงข้อมูลที่มีค่าต่ำซึ่งเกาะกลุ่มกัน โดยกำหนดให้ PLTOF น้อยกว่าหรือเท่ากับ 24 ได้กราฟดังรูปที่ 4 ซึ่งมีค่า correlation r เท่ากับ 0.91 จะทำให้การแปลผลความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเกร็ดเลือดที่ตรวจโดยเครื่องและจำนวนเกร็ดเลือดที่ตรวจโดยการดูจาก peripheral blood smear มีความสัมพันธ์กันดีขึ้น

เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของ hematocrit อาจมีผลต่อการดูเกร็ดเลือดจาก peripheral blood smear จึงมีการ transformation ข้อมูล PLTOF โดยนำไปคูณด้วย



รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง PLT กับ PLTOF เช่นเดียวกับกราฟรูปที่ 3 แต่กำหนดให้ค่า PLTOF น้อยกว่า หรือเท่ากับ 24



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่าง PLT (เกร็ดเลือด ที่ตรวจโดยเครื่อง) กับ CORPLT (เกร็ดเลือดที่ตรวจโดยการดูจาก peripheral blood smear เป็นจำนวนตัวต่อ oil field แล้วนำไปคูณด้วย 40 และหารด้วย hematocrit ของผู้ป่วย)

40 และหารด้วย hematocrit ได้ค่า correlation r เท่ากับ 0.86 จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบกับกราฟรูปที่ 3 ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง เกร็ดเลือด ที่ไม่ได้ทำการ transformation พบว่าค่า r จาก 0.88 ลดลงเป็น 0.86 แสดงว่าการ transformation ไม่ได้ทำให้ความสัมพันธ์ดีขึ้น

วิจารณ์

ปัจจุบันการตรวจ complete blood count จากเครื่อง The Coulter Stks ให้ผลเที่ยงตรงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไป ดังนั้นการตรวจ CBC ในที่ซึ่งไม่มีเครื่องมือดังกล่าวโดยใช้การตรวจจาก capillary tube และการดูจาก peripheral blood smear ถ้าได้ผลใกล้เคียงกับเครื่อง ถือว่ามีความถูกต้องและได้ประโยชน์ในทางคลินิกมาก

การตรวจ hematocrit เป็นการตรวจ relative packed red cell volume ของเม็ดเลือดแดง เทียบกับปริมาตรของเซลล์รวมกับพลาสมา เมื่อตรวจด้วยการวัดจาก capillary tube ส่วนการตรวจจากเครื่องเป็นการคำนวณจากสมการ $Hct = RBC \times MCV$ 2 ซึ่งการตรวจด้วย capillary tube นั้นอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ ถ้ามีการรัด tourniquet นานเกินไป หรือใส่สารต้านการแข็งตัวของเลือด (EDTA) มากเกินไป³ เนื่องจากไปเปลี่ยนแปลงปริมาตรของเซลล์ จากผลการศึกษาพบว่า การตรวจ

hematocrit ด้วยวิธีการวัดจาก capillary tube มีความสัมพันธ์กับการตรวจจากเครื่องเป็นอย่างดี โดยมีค่า correlation r เท่ากับ 0.97 ดังนั้นสามารถใช้การตรวจจาก capillary tube เป็นตัวบอกภาวะซีดได้เป็นอย่างดี

การตรวจจำนวนเม็ดเลือดขาวจาก peripheral blood smear มีผลคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง โดยมีค่า coefficient of variation เท่ากับ 6.5% ในกรณีที่จำนวนเม็ดเลือดขาวปกติหรือสูง และ 15% ในกรณีที่จำนวนเม็ดเลือดขาวต่ำ ขณะที่เครื่องตรวจมีค่า coefficient of variation ประมาณ 1-3% จากผลการศึกษาพบว่าความสัมพันธ์ของการตรวจจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้ง 2 วิธีไม่ดี โดยมีค่า correlation r เท่ากับ 0.58 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการกระจายตัวของเม็ดเลือดขาว ไม่สม่ำเสมอโดยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ เช่น monocytes polymorphonuclear leukocytes มักอยู่หนาแน่นบริเวณขอบของ peripheral blood smear⁴ ซึ่งการตรวจโดยเตรียม blood smear จาก cover slip จะมีปัญหาเรื่องการกระจายตัวน้อยกว่า

สำหรับการประมาณค่าจำนวนเม็ดเลือดขาว จาก peripheral blood smear ได้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ โดยสมการ $WBC = 4756.9 + 1959.3 \times WBCOF$ นั้นคงไม่สามารถใช้การกะประมาณจำนวนเม็ดเลือดขาวได้ (จากกราฟรูปที่ 2)

การตรวจจำนวนเกร็ดเลือด โดยทั่วไปใช้การนับโดยเครื่อง ซึ่งเดิมนั้นใช้การดูโดยใช้ 1% ammonium oxalate เป็น diluting fluid แล้วนับด้วย phase contrast microscopy เพื่อนับจำนวนเกร็ดเลือด ได้มีการศึกษามาแล้วพบว่า การนับโดยเครื่องได้ผลแม่นยำ สะดวก และรวดเร็วกว่าเดิม⁵⁻¹⁰ จากผลการศึกษาพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจจำนวน platelet ทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์ดี โดยมีค่า correlation r เท่ากับ 0.88 และสามารถใช้ค่า PLTOF ซึ่งเป็นค่าจำนวนเกร็ดเลือดต่อ oil field ประมาณจำนวนเกร็ดเลือดจากเครื่องได้ จากกราฟรูปที่ 3 สมการ $PLT = 2303.5 + 1.46 \times 10^4 \times$

PLTOF จะได้ว่าเกร็ดเลือด 1 ตัวต่อ oil field มีค่าประมาณ 16,903 ตัว/ลบ.มม. และใน peripheral blood smear ที่เตรียมอย่างดี ถ้าจำนวนเกร็ดเลือดปกติ จะมีการกระจายตัวของเกร็ดเลือด 1 ตัวต่อเม็ดเลือดแดง 10-30 ตัว¹⁰ ดังนั้นถ้ามีการเปลี่ยนแปลงของ hematocrit อาจทำให้การดูจำนวนเกร็ดเลือด จาก peripheral blood smear เปลี่ยนแปลงจากความเป็นจริงไปได้ ในการศึกษาพบว่า hematocrit ไม่มีผลต่อการดูจำนวนเกร็ดเลือดจาก peripheral blood smear ส่วนการตรวจจำนวนเกร็ดเลือดด้วยเครื่องนั้นได้มีการแยกเม็ดเลือดแดงออกไปก่อน และมีการใช้ correlation factor เพื่อแก้ไขข้อผิดพลาดจากเม็ดเลือดแดง^{5,7-9} ดังนั้นจำนวนเกร็ดเลือดที่ตรวจจากเครื่องจึงมีความถูกต้องสูง สำหรับการดูจำนวนเกร็ดเลือด จาก peripheral blood smear เนื่องจากเกร็ดเลือดมีขนาดเพียง 2-4 ไมครอน ดังนั้นในการดูจำนวนมากๆ อาจนับได้ไม่หมด หรือซ้อนอยู่กับตัวเม็ดเลือดแดง ถ้าดูจากกราฟรูปที่ 4 พบว่าการดูจำนวนเกร็ดเลือดที่น้อยกว่า 24 ตัว ต่อ oil field จะทำให้การแปลผลความสัมพันธ์ขึ้น ดังนั้นถ้าจะใช้การประมาณเกร็ดเลือดจาก peripheral blood smear ควรใช้ในการดูเกร็ดเลือด ที่ไม่เกิน 24 ตัวต่อ oil field

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ พ.อ.สถาพร ชิตวิเชียรเลิศ ที่กรุณาช่วยในการคำนวณข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. Jandl JH. The complete blood count. In : Jandy JH, ed. Blood Textbook of Hematology. 1st ed. Boston : Little Brown, 1987:1-48.
2. Ross DW. Laboratory evaluation of the patient with hematologic disease. In : Bick RL, ed. Hematology Clinical and Laboratory Practise. 1st ed. Missouri : Mosby-Year Book Inc., 1993:7-16.
3. Lampajjo JA. Error in hematocrit value produced by excessive ethylenediamine-tetra acetate. Am J Clin Pathol 1965;44:109-14.
4. Williams WJ, Morris MW, Welson DA. Examination of blood. In : Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, eds. Williams Hematology. 5th ed. New York : McGraw-Hill, Inc., 1995:1-20.
5. Gottfried EL, Wehman J, Wall B. Electronic platelet counts with the Coulter. Am J Clin Pathol 1976;66: 506-11.
6. Cornbleet PJ, Kessinger S. Accuracy of low platelet counts on the Coulter s-plus IV. Am J Clin Pathol 1985;86:78-80.
7. Bessman JD. Evaluation of automated whole platelet counts and particle sizing. Am J Clin Pathol 1980;74: 157-62.
8. Bull BJ, Schneiderman MA, Brecher G. Platelet counts with the Coulter. Am J Clin Pathol 1965;44:678-88.
9. Bull S. Aids to electronic platelet counting. Am J Clin Pathol 1970;54:707-10.
10. Nelson DA, Morris MW. Basic examination of blood. In : Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 18th ed. Philadelphia : Saunders, 1991:553-603.

A Comparative Study between the Automated Complete Blood Count (CBC) and the Manually-Determined Hematocrit Level and the Cell Count Estimated from Peripheral Blood Smear

Ekachai Singhatiraj, Wichai Prayoonwiwat, Ratchapat Kokchasem, Jatuporn Pulkert

Division of Hematology, Department of Medicine, Phramongkutklao Hospital

Abstract : Objectives : To determine the relationship between the automated complete blood count and the manually-determined hematocrit level and direct estimation of the amount of white blood cell and platelet from peripheral blood smear. To determine the effect of hematocrit level in estimating the amount of platelet count from peripheral blood smear.

Design : Descriptive study

Materials and Methods : Peripheral blood samples were taken from 115 patients at the Hematology Clinic, Department of Medicine, Phramongkutklao Hospital. After smearing on two glass slides, the blood samples were preserved in EDTA tubes and sent for automated complete blood count using a Coulter Stks machine. Manual hematocrit determination was carried out by filling the EDTA-preserved blood into a hematocrit tube and reading the value after centrifugation. We estimated the number of white blood cell and platelet from peripheral blood smear by averaging cells counted from 10 oil fields.

Results : The hematocrit level determined from both methods showed a good correlation ($r = 0.97$). The white blood cell count obtained from both methods disclosed a poor correlation ($r = 0.58$). Estimation for the number of white blood cell using peripheral blood smear is not recommended. The number of platelet count from both methods showed a good correlation ($r = 0.88$). The estimated number of platelet count from peripheral blood smear was 1 per oil field equals to 16,903 cells per mm^3 . There is a good correlation between the number of automated if the platelet count was lower than 24 per oil field ($r = 0.91$). It is also noted that the hematocrit level has no effect on the estimated platelet count.

Conclusion : Manual hematocrit determination is comparable to that obtained from automated hematocrit. The platelet count estimated from peripheral blood smear is useful with no correlation with the value of hematocrit.

Key Words : ● Peripheral blood smear ● CBC ● Automated ● Hematocrit ● WBC ● Platelet

Thai J Hematol Transf Med 1998;8:327-32.