Comparison of Automated Hematology Analyzers XN-350 and XT-4000i with Microscopic Examination for Body Fluid Analysis

Sasiorn Kongasa*, Anuchat Aumkhyan, Rawadee Komvisut, Natsuda Fungpia
Rommanee Khositnithikul, Mongkol Kunakorn and Surasak Phundhusuwannakul

Clinical Microscopy Laboratory, Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

The objective of this study was to compare automated hematology analyzers XN-350 and XT-4000i with microscopic examination which is a gold standard method for body fluid analysis. Body fluid in this study included cerebrospinal fluid, ascites fluid, pleural fluid, synovial fluid, etc. Red blood cells (RBC) and white blood cells (WBC) counting were the essential parts of body fluids analysis. White blood cell differentiation was divided into 2 groups; mononuclear cell (MN) consisting of lymphocyte, monocyte and macrophage and polymorphonuclear cell (PMN) consisting of neutrophil, eosinophil and basophil. The results showed that RBC count and WBC count from XN-350, XT4000i and conventional microscopic cell count had very good correlation values. WBC differentiation (MN, PMN) also had good correlation values. Automated hematology analyzers (XN-350 and XT4000i) were shown to be an alternative choice for body fluid analysis. However, this method still has a limitation in examining samples with abnormal cells or malignant cells which need to be determined by conventional microscopic examination.

Keywords: Body fluid, XN-350, XT-4000i

***Corresponding author E-mail address:** ywl076@gmail.com

Received: 6 February 2019 Revised: 8 March 2019 Accepted: 22 May 2019

การเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ XN-350 และ XT-4000i กับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

ศศิร์อร กองอาษา* อนุชาติ อ่วมขยัน เรวดี คำวิสุทธิ์ ณัฐสุดา ฟุ้งเปีย รมย์มณี โฆษิตนิธิกุล มงคล คุณากร และ สุรศักดิ์ พันธุสุวรรณกุล

หน่วยจุลทรรศนศาสตร์คลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น XN-350 และ XT4000i เปรียบเทียบกับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน สารน้ำจากร่างกายที่ศึกษา ได้แก่ น้ำไขสันหลัง (cerebrospinal fluid: CSF) น้ำในช่องท้อง (ascites) น้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอด (pleural fluid) น้ำไขข้อ (synovial fluid) และสารน้ำอื่น ๆ โดยการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดง [red blood cell (RBC) count] และเม็ดเลือดขาว [white blood cell (WBC) count] การนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ mononuclear cell (MN) ได้แก่ lymphocyte, monocyte, macrophage และ polymorphonuclear cell (PMN) ได้แก่ neutrophil, eosinophil, basophil ผลการศึกษาพบว่า ผลที่ได้จากการตรวจด้วยเครื่อง XN-350 และ XT4000i เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ จำนวนเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว มีความสอดคล้องกันอยู่ในเกณฑ์ดีมาก การทดสอบการนับแยกชนิดของ MN และ PMN ได้ค่าสอดคล้องกันอยู่ในเกณฑ์ดี ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าเครื่อง XN-350 และ XT-4000i สามารถใช้เป็นอีกทางเลือกสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายในเบื้องต้นได้ อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดบางอย่างของการใช้เครื่อง เช่น กรณีตัวอย่างที่มีเซลล์ผิดปกติหรือเซลล์มะเร็งยังคงต้องนำมาตรวจวิเคราะห์ซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญ เพื่อรายงานผลต่อไป

คำสำคัญ: Body fluid, XN-350, XT-4000i

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** ywl076@gmail.com

รับบทความ: 6 กุมภาพันธ์ 2562 แก้ไขบทความ: 8 มีนาคม 2562 รับตีพิมพ์บทความ: 22 พฤษภาคม 2562

บทนำ

ของเหลวที่อยู่ในช่องระหว่างเยื่อหุ้มอวัยวะต่าง ๆ ภายในร่างกาย ทำหน้าที่เป็นส่วนหล่อลื่นอวัยวะต่าง ๆ ให้ทำงานได้สะดวกขึ้น ช่วยลดการเสียดสีในขณะที่อวัยวะมีการขยับเคลื่อนไหว แต่เมื่อเกิดพยาธิสภาพที่รบกวนสมดุลของของเหลวดังกล่าวจะทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีลักษณะผิดปกติไป เรียกของเหลวที่เกิดขึ้นนี้ว่า สารน้ำจากร่างกาย (body fluid) การตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดในสารน้ำต่าง ๆ จากร่างกายมีประโยชน์อย่างมากในการช่วยวินิจฉัยโรคและภาวะของอวัยวะต่าง ๆ สามารถบอกถึงความผิดปกติ การอักเสบ การติดเชื้อ หรือเซลล์มะเร็งได้ การตรวจสารน้ำจากร่างกายทางห้องปฏิบัติการ เช่น การตรวจน้ำไขสันหลังด้วยตาเปล่า (macroscopic examination) ได้แก่ การวัดสีและความขุ่น และการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) ได้แก่ การนับจำนวนเม็ดเลือด ซึ่งควรทำทันทีหลังเจาะเสร็จ ไม่ควรทิ้งนานเกิน 1 ชั่วโมง เพราะเซลล์จะแตกทำให้ได้จำนวนน้อยกว่าที่เป็นจริง และการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว ซึ่งในน้ำไขสันหลังของคนปกติจะไม่พบเม็ดเลือดแดงแต่จะพบเม็ดเลือดขาวเฉพาะชนิด lymphocyte ไม่เกิน 5 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร[1] โดยแพทย์สามารถนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ประเมินโรคและภาวะของผู้ป่วยในเบื้องต้น ทำให้สามารถได้รับการวินิจฉัยโรคเพื่อรับการรักษาอย่างรวดเร็ว ดังนั้นผลการตรวจวิเคราะห์จำเป็นต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ และได้ผลที่รวดเร็ว การตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ เช่น กล้องจุลทรรศน์ และ hemocytometer ซึ่งสามารถออกแบบขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับแต่ละห้องปฏิบัติการ[2] ถือเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard)[3] แต่มีหลายขั้นตอน ใช้เวลานาน ต้องการผู้ปฏิบัติงานที่มีความรู้ความชำนาญ และมีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนสูง[3, 4] ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยีของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติให้สามารถตรวจวิเคราะห์เซลล์ในสารน้ำจากร่างกายได้ด้วย[5] เพื่อช่วยการทำงานของห้องปฏิบัติการให้มีความถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วขึ้น และเป็นทางเลือกเพื่อช่วยลดภาระงานและเพิ่มความรวดเร็วในการรายงานผลให้กับแพทย์

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค่าความถูกต้อง (accuracy) ความแม่นยำ (precision) การปนเปื้อนระหว่างตัวอย่าง (carry over) และความเป็นเชิงเส้น (linearity) ของผลการวิเคราะห์ของเครื่องวิเคราะห์ตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น XN-350 และรุ่น XT-4000i และเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติรุ่น XN-350 และ XT-4000i กับวิธีตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประเมินประสิทธิภาพ และเป็นแนวทางการประกันคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์ของเครื่องที่ใช้ในห้องปฏิบัติการหน่วยจุลทรรศนศาสตร์คลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

วัสดุและวิธีการ

สิ่งส่งตรวจ

ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสารน้ำต่าง ๆ จากร่างกายที่เหลือจากการส่งตรวจของผู้ป่วยที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลรามาธิบดี 203 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจากผู้ป่วยนอก 13 ตัวอย่าง ผู้ป่วยใน 159 ตัวอย่าง และจากห้องฉุกเฉิน 31 ตัวอย่าง โดยผู้ป่วยมีอายุตั้งแต่ 1 วัน ถึง 96 ปี เป็นเด็ก 23 ตัวอย่าง ผู้ป่วยชาย 98 ตัวอย่าง และผู้ป่วยหญิง 105 ตัวอย่าง เลือกเฉพาะสารน้ำจากร่างกายที่ไม่มีเซลล์ตัวอ่อน เซลล์มะเร็ง หรือเซลล์ที่มีการติดสีฟลูออเรสเซนต์สูง [พิจารณาจากค่า % high fluorescence (%HF) ของเครื่อง XT-4000i ไม่เกิน 10/100 WBC] ปะปนอยู่

แบ่งเป็นน้ำไขสันหลัง 66 ตัวอย่าง น้ำในช่องท้อง 46 ตัวอย่าง น้ำในช่องเยื่อหุ้มปอด 38 ตัวอย่าง น้ำไขข้อ 34 ตัวอย่าง น้ำในช่องท้องจาก continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) 10 ตัวอย่าง และอื่น ๆ 9 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วยถูกนำส่งห้องปฏิบัติการทันทีและตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมง

การตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจวิเคราะห์ใช้ hemocytometer ความลึก 0.1 มิลลิเมตร ในการนับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ เตรียมเสมียร์โดยการปั่นสารน้ำจากร่างกายด้วยเครื่อง cytocentrifuge ที่ความเร็ว 85 × g นาน 5 นาที[3] กรณีที่สารน้ำจากร่างกายมีปริมาณเซลล์มากต้องเจือจางด้วย normal saline ย้อมเสมียร์ด้วยสี Wright-Giemsa stain แล้วนำไปนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 × จำนวน 100 เซลล์ รายงานเป็นร้อยละ โดยนับแยกเป็น neutrophil, eosinophil, basophil (3 ชนิดนี้นับรวมเป็น polymorphonuclear cell) และ lymphocyte, monocyte, macrophage (3 ชนิดนี้นับรวมเป็น mononuclear cell)[6]

เครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น XN-350 และ XT-4000i

การตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วย body fluid mode ของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติรุ่น XN-350 และรุ่น XT-4000i ใช้หลักการ fluorescence flow cytometry ในการนับจำนวนและนับแยกชนิดของเซลล์ โดยอาศัยขนาด รูปร่างและโครงสร้างภายในเซลล์ และชนิดของโปรตีนที่อยู่ในเซลล์ ซึ่งต้องการปริมาตรสารน้ำจากร่างกายอย่างน้อย 180 ไมโครลิตร ปริมาตรที่ใช้จริงคือ 70 ไมโครลิตร สำหรับเครื่อง XN-350 และ 85 ไมโครลิตร สำหรับเครื่อง XT-4000i ตัวอย่างจะถูกเจือจางและย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ด้วยน้ำยาในเครื่องแล้วฉีดเข้า flow cell ให้เซลล์ไหลเรียงเดี่ยวผ่านแหล่งกำเนิดแสงเลเซอร์ (semiconductor laser) เมื่อเซลล์ถูกแสงเลเซอร์ตกกระทบจะเกิดการทะลุผ่านหรือหักเหเล็กน้อยเรียกว่า forward scatter โดยปริมาณลำแสงขึ้นกับขนาดของเซลล์ ส่วนลำแสงที่หักเหไปด้านข้างหรือสะท้อน เรียกว่า side scatter ซึ่งขึ้นกับส่วนประกอบและโครงสร้างภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังมีส่วนของ side fluorescence system ที่วัดความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนต์ในเซลล์ สัญญาณทางไฟฟ้าเหล่านี้จะถูกนำไปประมวลผล ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับขนาดและความซับซ้อนของโครงสร้างภายในเซลล์ รวมถึงจำนวนของเซลล์แต่ละชนิด แล้วรายงานเป็นค่า WBC count, RBC count และค่า differential WBC ซึ่งแบ่งเป็น mononuclear และ polymorphonuclear cell[7, 8]

การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

ทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ (within-run precision) ของการวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว โดยเครื่อง XN-350 ใช้สารควบคุมคุณภาพที่เหมาะสม และวิธีตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้สารควบคุมคุณภาพ XN CHECK™ BF 2 ระดับ [level 1 (low) และ level 2 (high)] ส่วนเครื่อง XT-4000i ใช้สารควบคุมคุณภาพ e-CHECK®(XE) 3 ระดับ [level 1 (low), level 2 (moderate) และ level 3 (high)] โดยวิเคราะห์ซ้ำ 20 ครั้ง ภายใน 1 วัน

การทดสอบความแม่นยำระหว่างการวิเคราะห์ (between-run precision) ใช้การวิเคราะห์เม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาว โดยใช้สารควบคุม

คุณภาพดังกล่าวข้างต้น วิเคราะห์ซ้ำติดต่อกันเป็นเวลา 20 วัน จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, %CV)

การทดสอบความเป็นเชิงเส้น (Linearity)

ทดสอบความเป็นเส้นตรงของค่าเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว โดยนำสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่มีจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวสูงมาเจือจางด้วยน้ำยา Cell pack ของเครื่อง ในอัตราส่วน 1:10 1:20 1:100 และ 1:200 แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่อง XT-4000i และ เครื่อง XN-350 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความเป็นเชิงเส้นของการวิเคราะห์โดยให้แกน X แทนค่าที่คาดหมาย (expected value) ส่วนแกน Y แทนค่าที่วิเคราะห์ได้ แล้วคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R^2) และค่าวิเคราะห์การถดถอย (linear regression)

การทดสอบการปนเปื้อนระหว่างตัวอย่าง (Carry over)

ทดสอบ carry over ของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ โดยนำสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยที่มีค่าเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวสูง มาวิเคราะห์โดยเครื่อง XN-350 และ เครื่อง XT-4000i จากนั้นวัดค่า blank 3 ครั้ง จำนวน 5 ตัวอย่าง ผล carry over ที่ยอมรับได้ต้องไม่เกินร้อยละ 0.3[7]

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความสอดคล้องของการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดและการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวของทั้ง 3 วิธีโดยใช้โปรแกรม Microsoft® Excel 2016 และ Analyse-it เพื่อหา Passing-Bablok regression analysis และคำนวณหาค่า correlation coefficient (R^2), linear regression และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบ Pearson (R)

ผลการวิจัย

การทดสอบ within-run precision ของเครื่อง XN-350 ใช้ตัวอย่าง เป็น XN CHECK™ BF จำนวน 2 ระดับ ตรวจวิเคราะห์ใน body fluid mode พบว่า %CV ของ WBC, MN, PMN และ RBC มีค่า < 4.5 (Table 1) ส่วนเครื่อง XT-4000i ใช้ e-CHECK® จำนวน 3 ระดับ ตรวจวิเคราะห์ใน whole blood mode มีค่า %CV ที่ได้ในแต่ละพารามิเตอร์ < 10 แต่เม็ดเลือดขาวกลุ่ม mononu-

Table 1 Within-run precision (XN-350)

Sample	Parameter	Mean (10^6/L)	SD	%CV
BF XN-check I	WBC	74.3	3.25	4.37
	MN	21.85	2.03	9.30
	PMN	52.45	2.60	3.16
	RBC	28000.00	858.39	3.06
BF XN-check II	WBC	304.09	6.86	2.26
	MN	89.19	2.90	3.26
	PMN	214.90	6.08	2.83
	RBC	83476.19	1289.15	1.54

clear cell ได้ค่า %CV สูงที่สารควบคุมคุณภาพระดับ low level ในเครื่อง XN-350 และที่ระดับ low และ moderate level ในเครื่อง XT-4000i โดยมีค่า 16.65 และ 12.03 ตามลำดับ (Table 2) เมื่อนำผลการทดสอบ within-run precision ของเครื่อง XN-350, XT-4000i และวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์มาเปรียบเทียบกัน พบว่า %CV ของวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีค่าสูงกว่าของเครื่อง XN-350 และ XT-4000i อย่างมาก ตัวอย่างเช่น WBC count ของ BF XN-check I และ XN BF-check II ที่ทดสอบด้วยเครื่อง XN-350 มีค่า %CV 4.37 และ 2.26 ตามลำดับ วิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ได้ค่า %CV 48.01 และ 21.55 ตามลำดับ ส่วนการทดสอบ WBC count ด้วยเครื่อง XT-4000i โดยใช้สารควบคุมคุณภาพ e-check 3 ระดับ ได้ค่า %CV 2.73, 1.55, 1.20 ตามลำดับ นอกจากนี้ %CV ของการทดสอบในพารามิเตอร์อื่น ๆ ได้แก่ RBC count, WBC differential (MN, PMN) โดยวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีค่าสูงกว่าค่าที่ได้จากเครื่อง XN-350 และ XT-4000i เช่นกัน จะเห็นได้ว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีความแปรปรวนของผลค่อนข้างสูง ความแม่นยำในการวัดแต่ละครั้งจึงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการวัดด้วยเครื่องอัตโนมัติ XN-350 และ XT-4000i (Table 3)

Table 2 Within-run precision (XT-4000i)

Sample	Parameter	Mean (10^6/L)	SD	%CV
e-check I	WBC	3069.05	83.96	2.73
	Neutrophil	1324.76	46.54	3.51
	Eosinophil	280.48	24.18	8.62
	Basophil	1771.90	55.46	3.13
	Lymphocyte	1089.05	80.86	7.42
	Monocyte	374.76	62.42	16.65
	RBC	2379524	18296.5	0.77
e-check II	WBC	7190.91	111.22	1.55
	Neutrophil	3415.91	54.74	1.60
	Eosinophil	676.36	48.16	7.12
	Basophil	4560.45	101.11	2.22
	Lymphocyte	2270.91	93.34	4.11
	Monocyte	830.91	99.99	12.03
	RBC	4545909	26305.7	0.58
e-check III	WBC	18125.24	217.41	1.20
	Neutrophil	9352.38	244.48	2.61
	Eosinophil	1973.81	168.45	8.53
	Basophil	12955.71	190.83	1.47
	Lymphocyte	4539.52	245.69	5.41
	Monocyte	2263.33	216.55	9.57
	RBC	5471905	35863.5	0.65

Table 3 Within-run precision (manual)

Sample	Parameter	Mean (10^6/L)	SD	%CV
BF XN-check I	WBC	78.67	37.77	48.01
	MN	27.34	9.98	28.71
	PMN	51.33	9.98	15.29
	RBC	25400.00	2575.71	10.14
BF XN-check II	WBC	259.85	56.00	21.55
	MN	76.01	7.93	27.11
	PMN	183.84	7.93	11.21
	RBC	86923.08	22429.38	25.80

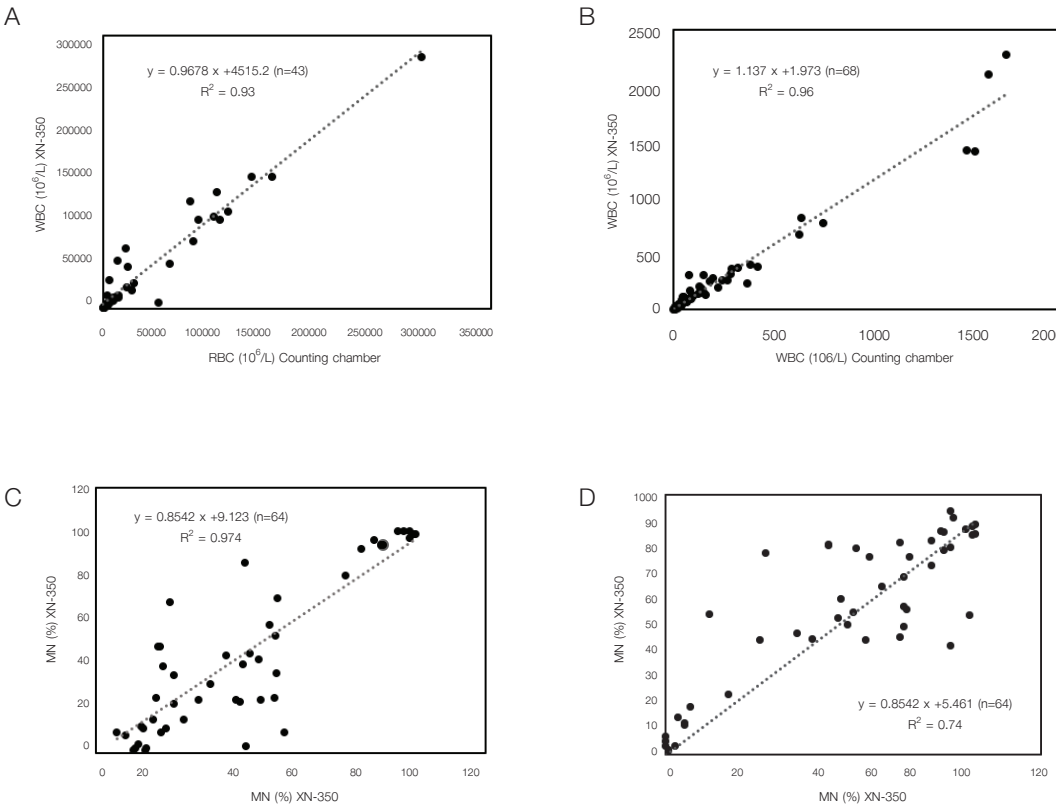


Fig. 1 Comparison of blood cell counting between the XN-350 and the reference microscopic methods in cerebrospinal fluid. (A) RBC, (B) WBC, (C) MN and (D) PMN

ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำไขสันหลังด้วยเครื่องอัตโนมัติและวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบระหว่างเครื่อง XN-350 กับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าค่าการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง มีความสอดคล้องกันดีมาก ($y = 1.137x + 1.973$, $R^2 = 0.96$, Pearson (R) = 0.98) และ ($y = 0.9678x + 4515$, $R^2 = 0.93$, Pearson (R) = 0.97) ตามลำดับ ผลการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว ค่าที่ได้มีความสอดคล้องกันทั้ง mononuclear cell และ polymorphonuclear cell ($y = 0.8542x + 9.123$, $R^2 = 0.74$, Pearson(R) = 0.83) และ ($y = 0.8542x + 5.461$, $R^2 = 0.74$, Pearson(R) = 0.83) เมื่อเปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดขาวในน้ำไขสันหลัง ที่ตรวจวิเคราะห์จากเครื่อง XN-350 กับเครื่อง XT-4000i พบว่าค่าที่ได้มีความสอดคล้องกันมาก ($y = 0.9793x-1.242$, $R^2 = 0.97$, Pearson(R) = 0.99) เช่นเดียวกับการนับแยกชนิด mononuclear cell ($R^2 = 0.96$, Pearson(R) = 0.91) และ polymorphonuclear cell ($R^2 = 0.96$, Pearson(R) = 0.91) และผลที่ได้จากเครื่อง XT-4000i เทียบกับผลจากวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวมีความสอดคล้องในเกณฑ์ดีมาก ($R^2 = 0.93$, Pearson(R) = 0.97) ส่วนการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว mononuclear cell และ polymorphonuclear cell มีความสอดคล้องกัน ($y = 0.882x + 3.972$, $R^2 = 0.75$, Pearson(R) = 0.80 และ $y = 0.8818x + 7.832$, $R^2 = 0.75$, Pearson(R) = 0.80) เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง XN-350 กับผลจากวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวได้ค่า $R^2>0.90$, Pearson(R)>0.90 ซึ่งมีความสอดคล้องกันมาก และการนับแยกชนิด WBC ได้ค่า $R^2 > 0.70$, Pearson(R) > 0.80 ผลตรวจนับแยกชนิด WBC ของน้ำในช่องท้องและสารน้ำอื่น ๆ จากร่างกาย มีความสอดคล้องกันมากที่สุด [MN ; $y = 0.9391x - 0.6543$, PMN; $y = 0.9391 + 6.741$, $R^2 = 0.93$, Pearson(R) = 0.88 และ MN ; $y = 0.8413x + 1.311$, PMN; $y = 0.8413x + 14.56$, $R^2 = 0.93$, Pearson(R) = 0.86 ตามลำดับ]

เมื่อเปรียบเทียบผลตรวจด้วยเครื่อง XT-4000i กับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ การนับจำนวนเม็ดเลือดขาวได้ค่าที่มีความสอดคล้องกัน ($R^2 \geqslant 0.75$, Pearson(R) $\geqslant$ 0.80) โดยในน้ำไขสันหลังให้ค่าที่สอดคล้องกันมากที่สุด $y = 1.15x + 3.474$, CI slope: 1.047-1.319, CI intercept: 1.885-7.872, $R^2 = 0.93$, Pearson(R) = 0.97 และสารน้ำอื่น ๆ จากร่างกายมีค่าการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวสอดคล้องกันที่สุด [MN; $y = 0.8898x-0.2223$, $R^2 = 0.88$, Pearson(R) = 0.94 และ PMN; $y = 0.8904x + 11.2$, $R^2 = 0.88$, Pearson(R) = 0.94] การศึกษานี้พบว่า การนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวด้วยเครื่องอัตโนมัติมีค่าแตกต่างจากการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวด้วยวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ในบางตัวอย่างที่มีลักษณะของเซลล์ผิดไปจากปกติ เช่น lymphocyte ที่นิวเคลียสมีลักษณะเป็น lobe โดยเครื่องอัตโนมัติจะให้ค่า %MN ต่ำกว่าและค่า %PMN สูงกว่าค่าที่ได้จากวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

การนับจำนวนและนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวในสารน้ำชนิดต่าง ๆ จากร่างกาย ด้วยเครื่อง XN-350 และ XT-4000i ให้ค่าที่มีความสอดคล้องกันมาก ทั้งการนับจำนวน ($R^2 > 0.95$, Pearson (R) > 0.95) และการนับแยกชนิด ($R^2 > 0.90$, Pearson(R) > 0.90) ในสิ่งส่งตรวจทุกชนิด ซึ่งผลการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวจากเครื่องอัตโนมัติทั้ง 2 รุ่น ในน้ำไขสันหลังและน้ำจากช่องเยื่อหุ้มปอดมีความสอดคล้องกันที่สุด ($y = 0.9793x - 1.242$, $R^2 = 0.97$, Pearson(R) = 0.99 และ $y = 0.9881x-$

7.726, R^2 = 0.97, Pearson(R) = 0.99) และการนับแยกชนิด WBC ในสารน้ำอื่น ๆ จากร่างกายให้ค่าสอดคล้องกันมาก MN y = 0.984x + 0.5543, R^2 = 0.97, Pearson(R) = 0.98 และ PMN y = 0.984x + 1.041, R^2 = 0.97, Pearson(R) = 0.98 (Table 4), (Fig. 2-3)

Table 4 Method comparison between XN-350 and Microscopic examination, XT4000i and Microscopic examination, and XN-350 and XT-4000i

Body fluid	XN-350 and Microscopic examination		XT-4000i and Microscopic examination		XN-350 and XT-4000i	
	Pearson (R)	R^2	Pearson (R)	R^2	Pearson (R)	R^2
$CSF_{(WBC)}$	0.98	0.96	0.97	0.93	0.99	0.97
$CSF_{(MN)}$	0.83	0.74	0.80	0.75	0.91	0.96
$CSF_{(PMN)}$	0.83	0.74	0.80	0.75	0.91	0.96
$Ascites_{(WBC)}$	0.99	0.98	0.96	0.91	0.98	0.95
$Ascites_{(MN)}$	0.93	0.88	0.91	0.84	0.96	0.93
$Ascites_{(PMN)}$	0.93	0.88	0.91	0.84	0.96	0.93
$Pleural_{(WBC)}$	0.95	0.91	0.93	0.87	0.99	0.97
$Pleural_{(MN)}$	0.86	0.78	0.82	0.77	0.92	0.92
$Pleural_{(PMN)}$	0.86	0.78	0.82	0.77	0.92	0.92
$Other_{(WBC)}$	0.98	0.96	0.91	0.90	0.95	0.94
$Other_{(MN)}$	0.93	0.86	0.94	0.88	0.98	0.97
$Other_{(PMN)}$	0.93	0.86	0.94	0.88	0.98	0.97

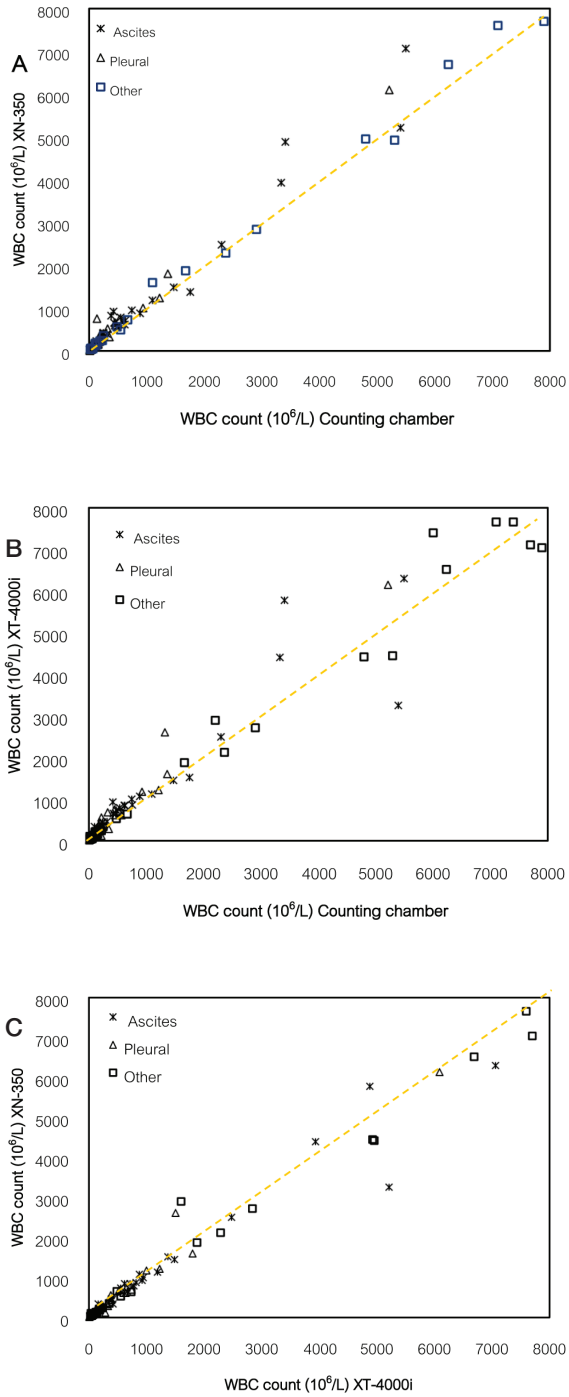


Fig. 2 Comparison between the XN-350, XT-4000i and the manual microscopic method for WBC counting in various body fluids. (A) XN-350: manual, (B) XT-4000i: manual, (C) XN-350: XT-4000i

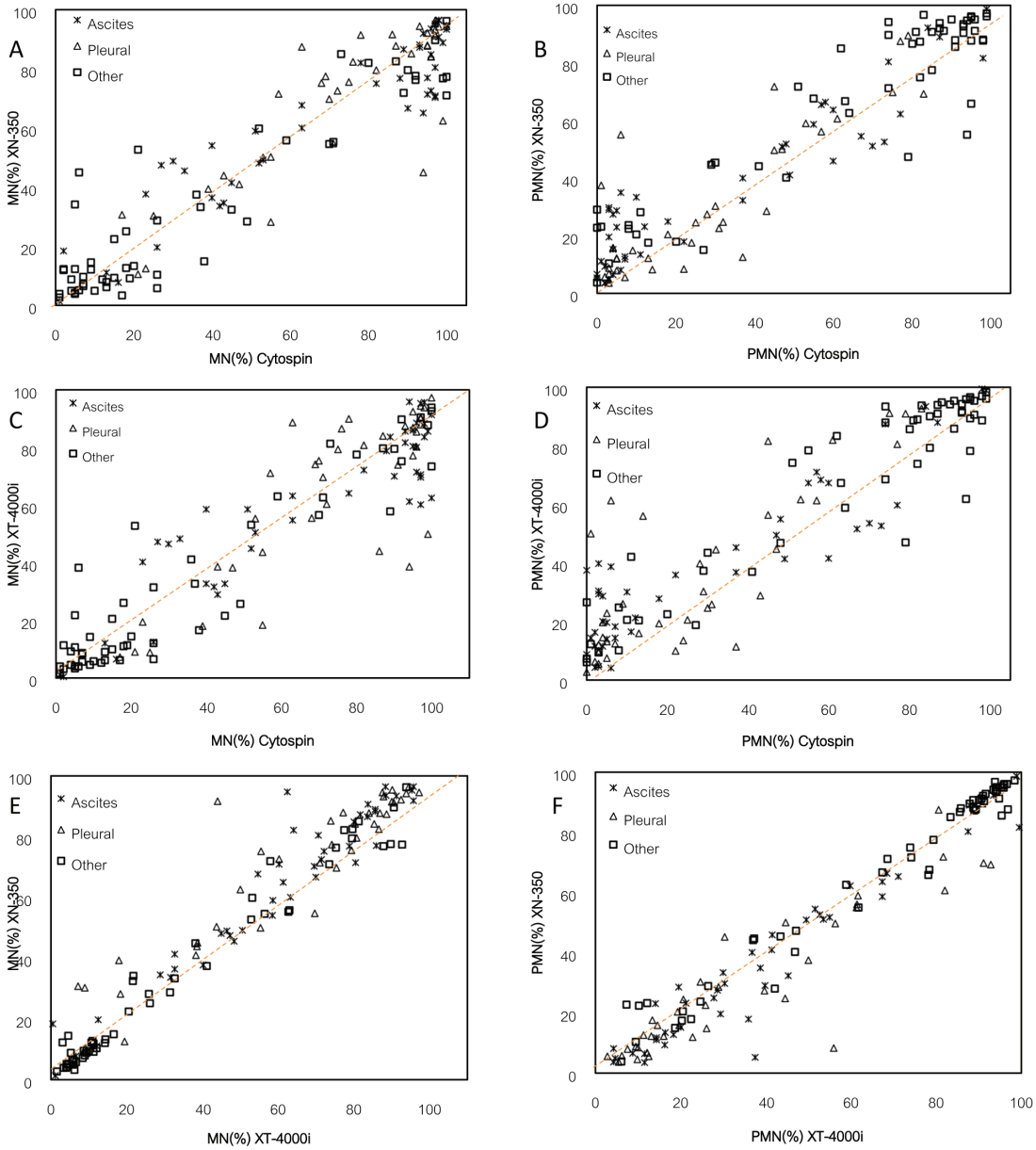


Fig. 3 Comparison between the XN-350, XT-4000i and manual microscopic method for differential WBC (MN and PMN) in fluids. (A): MN (XN-350: manual), (B): PMN (XN-350: manual), (C): MN (XT-4000i: manual), (D): PMN (XT-4000i: manual), (E): MN (XN-350: XT-4000i), (F): PMN (XN-350: XT-4000i)

ผลการทดสอบความเป็นเชิงเส้น (Linearity)

การทดสอบความเป็นเชิงเส้น (linearity) โดยการนำสิ่งส่งตรวจที่มีค่า WBC สูงจำนวน 2 ราย และมีค่า RBC สูงจำนวน 1 ราย มาเจือจางที่ความเข้มข้น 1:10, 1:20, 1:100 และ 1:200 ผลการทดสอบของเครื่อง XN-350 และ XT-4000i ให้ค่า correlation coefficient ที่ดีมาก ($R^2 \geqslant 0.99$) (Fig. 4-5) โดย WBC มีค่าตั้งแต่ 36-38396 × 10^6 ต่อลิตร และ RBC มีค่าตั้งแต่ 21000-4523000 × 10^6 ต่อลิตร

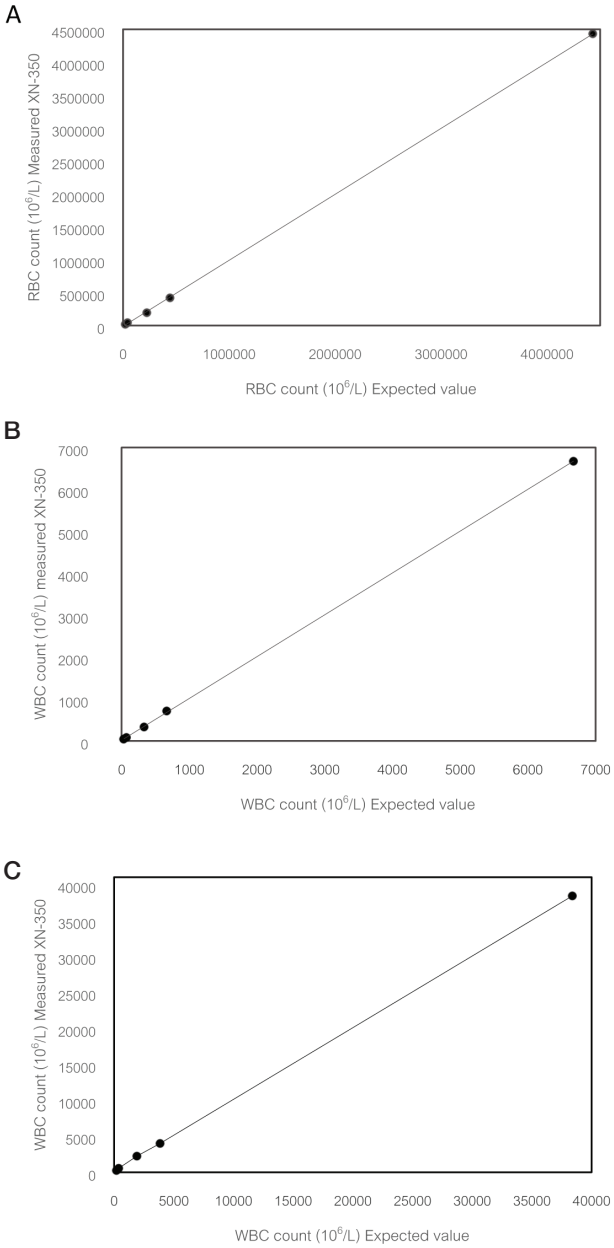


Fig. 4 Linearity of XN-350 in fluids. (A) RBC, (B) WBC low count, (C) WBC high count.

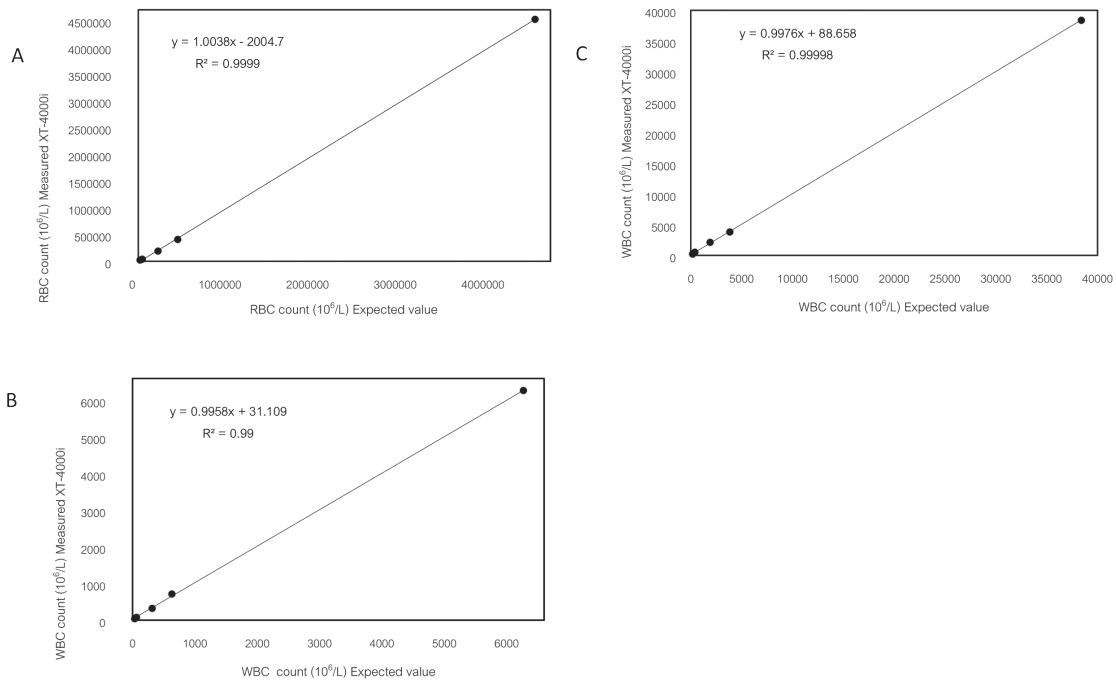


Fig. 5 Linearity of the XT-4000i in fluids. (A) RBC, (B) WBC low count, (C) WBC high count.

ผลการทดสอบ Carry over

การทดสอบเครื่อง XN-350 (Table 5) และเครื่อง XT-4000i (Table 6) ไม่พบการ carry over (% carry over < 0.3) อย่างไรก็ตามหากค่าที่วิเคราะห์ได้สูงเกินค่าที่กำหนด เครื่องจะเตือนให้ล้างและตรวจสอบ background (execute background) ทุกครั้งก่อนการตรวจวิเคราะห์ครั้งถัดไป เพื่อช่วยลดโอกาสที่จะเกิดความคลาดเคลื่อน เนื่องจากสิ่งส่งตรวจที่ได้วัดไปก่อนหน้า

Table 5 Sample carry over (XN-350)

Sample	Mean		Carry over (%)	
	RBC (10^6/L)	WBC (10^6/L)	RBC	WBC
Sample 1	333	1275	0	0
Sample 2	133	538	0	0
Sample 3	19333	1854	0	0
Sample 4	42333	18578	0	0
Sample 5	5333	12882	0	0

Table 6 Sample carry over (XT-4000i)

Sample	Mean		Carry over (%)	
	RBC (10^6/L)	WBC (10^6/L)	RBC	WBC
Sample 1	300	1233.67	0	0
Sample 2	133.33	543	0	0
Sample 3	20333.33	1863.33	0	0
Sample 4	2000	1989	0	0.09
Sample 5	6333.33	16394.67	0	0

วิจารณ์

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกายด้วยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ 2 รุ่น คือ XT-4000i และ XN-350 กับวิธีตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์จำเพาะที่หายากหรือราคาสูง แต่มีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนของผลการตรวจวิเคราะห์ได้สูง ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีของเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติในการตรวจวิเคราะห์สารน้ำจากร่างกาย จึงมีประโยชน์ในการทำงานของห้องปฏิบัติการโดยได้เลือกศึกษา 4 พารามิเตอร์ ได้แก่ RBC count, WBC count และ WBC differential (MN, PMN) พบว่าเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ XN-350 และ XT-4000i มีความถูกต้องและความแม่นยำในการตรวจมากกว่าการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ในทุกพารามิเตอร์ และเมื่อเปรียบเทียบผลการนับจำนวนและการนับแยกชนิดของเซลล์ พบว่าค่าที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ XN-350 และ XT-4000i มีความสอดคล้องกับผลจากวิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์มาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบในอดีตระหว่างเครื่อง XT-4000i กับวิธีการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์[9] ดังนั้นเครื่องตรวจนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ XN-350 และ XT-4000i สามารถใช้เป็นทางเลือกของห้องปฏิบัติการในการตรวจสารน้ำจากร่างกาย ซึ่งนอกจากจะช่วยลดระยะเวลาในการสัมผัสกับสิ่งส่งตรวจของผู้ปฏิบัติงาน ยังสามารถลดระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ (turnaround time) ช่วยให้แพทย์ได้ผลไปเป็นแนวทางรักษาคนไข้ได้รวดเร็วขึ้น[3] อย่างไรก็ตามสารน้ำจากร่างกายเหล่านี้ควรถูกนำส่งห้องปฏิบัติการอย่างรวดเร็ว และนำไปตรวจวิเคราะห์ทันที เพื่อลดโอกาสเกิดการตรวจวิเคราะห์ที่คลาดเคลื่อนเนื่องจากคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดบางอย่างที่ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์คลาดเคลื่อน ได้แก่ เม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะของนิวเคลียสผิดปกติ เช่น lymphocyte ที่มีนิวเคลียสลักษณะเป็น lobe ทำให้ค่า polymorphonuclear cell ที่เครื่องตรวจนับได้สูงกว่าความเป็นจริง หรือเซลล์มะเร็งที่ปะปนออกมากับสารน้ำจากร่างกายที่อาจมีผลให้ค่า mononuclear cell สูงกว่าความเป็นจริง หากตรวจด้วยเครื่องอัตโนมัติสามารถใช้ค่า %HF ร่วมกับการดู WBC abnormal scattergram เพื่อช่วยคัดกรองในเบื้องต้นได้[3] ซึ่งกรณีที่พบความผิดปกติของเซลล์ทางห้องปฏิบัติควรนำสิ่งส่งตรวจมาตรวจนับซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์ทุกครั้ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ และบุคลากรในห้องปฏิบัติการจุลทรรศนศาสตร์คลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดีทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณบริษัท เมดิท็อป จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องและน้ำยาของเครื่อง XN-350 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Lebnak T, Tangeyoon B, Preechaborisutkul B, *et al*. Urinalysis and Body Fluids. 2nd ed. Bangkok: Faculty of Medical Technology, Mahidol University;1996. (in Thai)
2. CLSI. Body Fluid Analysis for Cellular Composition; Approved Guideline. CLSI document H56-A. 3rded. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
3. Fleming C, Brouwer R, Lindemans J, de Jonge R. Validation of the body fluid module on the new Sysmex XN-1000 for counting blood cells in cerebrospinal fluid and other body fluids. Clin Chem Lab Med 2012; 50:1791-8.
4. Yang D, Zhou Y, Chen B. Performance evaluation and result comparison of the automated hematology analyzers Abbott CD 3700, Sysmex XE 2100 and Coulter LH 750 for cell counts in serous fluids. Clin Chim Acta 2013; 419: 113-8.
5. Li A, GrÖnlund E, Brattsand G. Automate white blood cell counts in cerebrospinal fluid using the body fluid mode on the platform Sysmex XE-5000. Scand J Clin Lab Invest 2014; 74: 673-80.
6. Boer K, Deufel T, Reinhoefer M. Evaluation of the XE-5000 for the automated analysis of blood cells in cerebrospinal fluid. Clin Biochem 2009; 42: 684-91.
7. Sysmex Corporation. Automated Hematology analyzer XN-L Series XN-550/XN-450/ XN-350 General Information. Kobe Japan; 2014.
8. Sysmex Corporation. Automated Hematology analyzer XT-4000i Instructions for Use. Kobe Japan; 2013.
9. Lohajaroensub S, Sakoonwatanyoo P, Sakunthawon S, Pichanun D. Comparison of Body Fluid Cell Counting between Automated Hematology Analyzer Sysmex XT-4000i and Manual Microscopic Method. Vajira Medical Journal 2015; 59: 21-33