

Efficiency Improvement of The Workflow for Nucleated Red Blood Cell (NRBC) Enumeration by Beckman Coulter Unice[®] DxH Hematology Analyzer

Pichaisiri Nualmanee, Nutdanai Chaothai, Benjarat Chatachote and
Karan Paisooksantivatana*

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

Abstract

Manual blood smear examination is a standard method for nucleated red blood cells (NRBC) reporting. However, it is a time-consuming, labor-intensive, and costly method. Modern hematology analyzers can automatically quantify NRBC but with some limitations. This study aimed to establish a workflow for NRBC reporting to maximize its accuracy as well as to enhance its efficiency. NRBC measurement of 241 blood samples was carried out using Beckman Coulter Unice[®] DxH800. The results were compared against manual examination. The receiver operating characteristic (ROC) analysis and a decision tree model (Gini impurity) were conducted to construct workflows which incorporated NRBC (%) and related flags from the analyzer. The effectiveness of workflows was evaluated by sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV) while efficiency was assessed by the rate of manual slide review. The strong agreement between the automated analyzer and the manual NRBC count was found ($r = 0.98$; $p < 0.0001$, bias -0.7). To reduce clinical errors by taking NPV into account, the findings were as followed. By using the cutoff at the limit of detection of the analyzer ($<0.1\%$) alone, 100% NPV could be achieved but the efficiency was compromised due to the high slide review rate (59.3%). On the other hand, the cut-off derived from the ROC analysis ($<0.4\%$ and $<1.8\%$) could drastically reduce the slide review rate (29.0% and 7.9% respectively) but the false-negative rate was escalated (7 and 32 samples) with compromised NPV (95.9% and 85.6%). Alternatively, 100% NPV could be achieved using a decision tree that incorporated both a numerical value and certain flags with acceptable efficiency (48.1% manual slide review rate). Reporting NRBC from the automated hematology analyzer improves the workflow and efficiency of the laboratory. However, due to the variation of analyzers and patient characteristics, an individual laboratory should construct and verify its own workflow before implementation to ensure acceptable accuracy and efficiency.

Keywords: Efficiency, Automated hematology analyzer, Nucleated red blood cell

*Corresponding author E-mail address: karan.pai@mahidol.ac.th

Received: 26 June 2020

Revised: 31 July 2020

Accepted: 16 September 2020

การเพิ่มประสิทธิภาพการรายงานผล nucleated red blood cell จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Beckman Coulter Unice1[®]DxH

พิชัยสิริ นวลมณี ญัตตุนัย ชาวไทย เบญจรัตน์ ชาคะโชติ และ การ์นต์ ไผสุสานติวัฒนา*

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การตรวจสเมียร์เลือดเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการนับจำนวน nucleated red blood cell (NRBC) แต่เป็นวิธีที่ใช้เวลา ใช้แรงงาน และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติหลายรุ่นสามารถตรวจนับจำนวน NRBC พร้อมกับการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count; CBC) ได้ ซึ่งสะดวกและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดและปัจจัยรบกวนหลายอย่างที่อาจทำให้ผลตรวจโดยเครื่องอัตโนมัติผิดพลาด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องอัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลรามาธิบดี เพื่อจัดทำแนวทางการรายงานผล NRBC ให้ถูกต้องและมีประสิทธิภาพสูงสุด การศึกษาใช้เลือด 241 ตัวอย่าง นับจำนวน NRBC โดยเครื่อง Beckman Coulter Unice1[®]DxH800 เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากการตรวจสเมียร์เลือด จากนั้นได้ออกแบบแนวทางการรายงานผลโดยใช้การวิเคราะห์ receiver operating characteristic (ROC) และแผนภูมิทางเลือกตัดสินใจ (decision tree) ประเมินประสิทธิภาพของแต่ละแนวทางโดยใช้สถิติ ความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก (PPV) ค่าทำนายผลลบ (NPV) และอัตรา การตรวจสเมียร์เลือด โดยให้ความสำคัญกับค่าทำนายผลลบและอัตราผลลบลงเป็นอันดับแรกเพื่อความ ถูกต้องของผลที่จะนำไปใช้วินิจฉัยผู้ป่วย และอัตราการตรวจสเมียร์เลือดที่จะบ่งบอกถึงประสิทธิภาพ ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากทั้งสองวิธีอยู่ในระดับที่ดี ($r = 0.98$; $p < 0.0001$, bias -0.7) และเมื่อศึกษาประสิทธิภาพของแนวทางการรายงานผล พบว่า แผนภูมิทางเลือกตัดสินใจที่สร้างขึ้นโดย ใช้ค่า NRBC และ flag จากเครื่องตรวจวิเคราะห์ร่วมกันให้ค่าทำนายผลลบที่สูงคือร้อยละ 100 ไม่มีผล ลบลง และให้อัตราการตรวจสเมียร์เลือดต่ำกว่าการใช้เกณฑ์ตามขีดจำกัดของการระบุปริมาณ (limit of quantification; LOQ) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์เพียงอย่างเดียว สรุปว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ สามารถใช้รายงานผล NRBC ได้ แต่ต้องหาเกณฑ์ หรือแนวทางการรายงานผลที่เหมาะสมสำหรับแต่ละ ห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: ประสิทธิภาพ เครื่องตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ เม็ดเลือดแดงตัวอ่อน

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: karan.pai@mahidol.ac.th

รับบทความ: 26 มิถุนายน 2563

แก้ไขบทความ: 31 กรกฎาคม 2563

รับตีพิมพ์บทความ: 16 กันยายน 2563

บทนำ

Nucleated red blood cells (NRBC) คือ เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่ยังมีนิวเคลียสอยู่⁽¹⁻³⁾ การตรวจพบ NRBC ในกระแสเลือดมีความสำคัญทางคลินิก เพราะช่วยบ่งชี้ภาวะผิดปกติ หรือโรคที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดเลือดในไขกระดูก เช่น ภาวะขาดออกซิเจนอย่างรุนแรง ภาวะเลือดออกมาก และภาวะไขกระดูกเสียหาย⁽⁴⁻⁶⁾ นอกจากนี้มีรายงานว่า การพบ NRBC ในกระแสเลือดยังเป็นตัวบ่งชี้การพยากรณ์โรคในหลายภาวะ⁽⁷⁻¹⁰⁾

การตรวจนับจำนวน NRBC ในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปใช้วิธีตรวจสเมียร์เลือด (peripheral blood smear; PBS)⁽¹¹⁾ ซึ่งใช้เวลามาก ต้องอาศัยแรงงานคน เพิ่มค่าใช้จ่ายสำหรับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลาการรอคอยผลนานและทำให้เจ้าหน้าที่มีเวลาตรวจสเมียร์เลือดน้อยลงในรายอื่นๆ ที่จำเป็นมากกว่า⁽¹²⁾ ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดรุ่นใหม่ ๆ หลายรุ่นสามารถนับจำนวน NRBC ได้โดยอัตโนมัติ และสามารถรายงานผลได้พร้อมกับพารามิเตอร์อื่นๆ ของการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count; CBC) โดยสามารถตรวจพบ NRBC ได้แม้มีระดับต่ำ เช่น 0.1 NRBC/100 white blood cells (WBCs) ใช้เวลาตรวจวิเคราะห์น้อย รวมทั้งมี flags เตือนหากมีปัญหาเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ ทำให้สามารถนำมาใช้ช่วยลดภาระในการตรวจสเมียร์เลือดเพื่อบ่งชี้จำนวน NRBC ได้⁽¹³⁻¹⁴⁾ อย่างไรก็ตาม มีข้อมูลว่าการตรวจนับจำนวน NRBC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อาจถูกรบกวนได้จากหลายสาเหตุ เช่น เกล็ดเลือดขนาดใหญ่ การรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด ลิ้มโฟไซต์ขนาดเล็ก มาลาเรียและเม็ดเลือดแดงชนิดที่ทนต่อการไลซิส (lysis-resistant red blood cells)⁽¹⁴⁻¹⁷⁾ สาเหตุเหล่านี้ทำให้เกิดผลบวกปลอมซึ่งนำไปสู่การตรวจสเมียร์เลือดที่ไม่จำเป็น แต่หากปล่อยผลไปจะเป็นการเพิ่ม

ภาระงานของแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยในการสืบค้นหาสาเหตุโดยไม่จำเป็นได้เช่นกันหรือหากผลตรวจเป็นผลลบปลอมก็จะทำให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการดูแลวินิจฉัยที่ถูกต้อง

การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาแนวทางปฏิบัติสำหรับการรายงานผล NRBC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อให้มีความถูกต้องแม่นยำและมีประสิทธิภาพสูงสุด

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบแบบตัดขวาง (cross-sectional comparative study) โดยได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล (เลขที่ MURA2019/641) ใช้สิ่งส่งตรวจ K₂ EDTA blood ที่เหลือจากงานประจำจำนวน 241 ตัวอย่าง ที่ส่งมาตรวจในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2562

การนับจำนวน NRBC โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ใช้เครื่องรุ่น Beckman Coulter UniceL® DxH800 ซึ่งใช้หลักการ (VCS) รายงานผลเป็นจำนวน NRBC/100WBCs⁽¹⁴⁾ โดยเก็บข้อมูล flag ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Low events: N, Abn NRBC Pattern, NRBC Inter, Cellular Inter, High Event Rate: D และ Low Events: D ส่วนการนับจำนวน NRBC ใช้การตรวจสเมียร์เลือดเพื่อบ่งชี้แยกชนิดเม็ดเลือดขาว 200 เซลล์⁽¹⁸⁾ โดยนักเทคนิคการแพทย์ 3 ท่าน และรายงานผลเป็นจำนวน NRBC/100WBCs

การรายงานผลมี 4 แนวทางที่ใช้เกณฑ์แตกต่างกันดังนี้ 1. ใช้เกณฑ์ตามขีดจำกัดของการระบุปริมาณ (limit of quantification; LOQ) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ UniceL® DxH800 ที่ค่า 0.1

NRBC/100WBCs ตามแนวทางของ International Council for Standardization in Haematology (ICSH)⁽¹⁹⁾ 2. ใช้เกณฑ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ receiver operating characteristic (ROC) โดยไม่นำค่าความชุกและ estimated cost มาใช้ในการคำนวณ 3. ใช้เกณฑ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ receiver operating characteristic (ROC) โดยนำค่าความชุกและ estimated cost มาใช้ในการคำนวณด้วย 4. ใช้แผนภูมิทางเลือกตัดสินใจ (decision tree) ซึ่งเป็นการเรียนรู้ของเครื่องมือ (machine learning) รูปแบบหนึ่งที่ใช้ปัจจัยเกี่ยวข้องหลายๆ ส่วน มาทำนายหรือจัดกลุ่มตัวแปรที่จะศึกษา⁽²⁰⁾ โดยใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ เช่น Gini impurity ในการเลือกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการทำนายตัวแปรที่ศึกษา⁽²¹⁾ การศึกษานี้ใช้ค่าจากเครื่องตรวจวิเคราะห์ร่วมกับ flag ที่เกี่ยวข้อง

การวิเคราะห์ผล ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel และ MedCalc Statistical Software version 19.1.6 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium) ประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานคือการตรวจสเมียร์เลือด โดยใช้สถิติ paired t-test ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น และการวิเคราะห์ Bland-Altman ส่วนการประเมินประสิทธิภาพของแนวทางการรายงานผลแบบต่างๆ ใช้สถิติ ความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value) ผลบวกหลวง (false-positive results) ผลลบหลวง (false-negative results) และร้อยละอัตราการตรวจสเมียร์เลือด

ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ในการรายงานจำนวน NRBC เมื่อเทียบกับการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

ผลเปรียบเทียบค่า NRBC จากเครื่องตรวจวิเคราะห์และการตรวจสเมียร์เลือดพบค่าจากทั้งสองวิธีไม่แตกต่างกัน (paired t-test, $p = 0.024$) ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.98 ($p < 0.0001$) โดยได้สมการความสัมพันธ์คือ $y = 0.239 + 0.398x$ ส่วนการวิเคราะห์ Bland-Altman พบมีค่าความแตกต่างเฉลี่ย (mean bias) ที่ -0.7 NRBC/100 WBCs และ limit of agreement อยู่ในช่วง -10.8 ถึง +9.3 NRBC/100 WBCs (Fig. 1) และ flag ที่พบบ่อยสามอันดับแรก ได้แก่ Low events: N, Abn NRBC Pattern และ NRBC Inter (Table 1)

การประเมินประสิทธิภาพของแนวทางการรายงานผลแบบต่าง ๆ

ประสิทธิภาพของแนวทางการรายงานผล 4 แบบ (Table 2) สรุปได้ดังนี้ **แบบที่ 1** ใช้เกณฑ์ LOQ ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ค่า NRBC ≥ 0.1 /100WBCs ตามแนวทางของ ICSH⁽²³⁾ ไม่พบผลลบหลวง และมีอัตราการตรวจสเมียร์เลือดร้อยละ 59.3 **แบบที่ 2** ใช้เกณฑ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ ROC โดยไม่ใช้ความชุก และ cost คือ NRBC > 0.4 /100WBCs (เป็นจุดที่ให้ Youden index J สูงสุด = 0.72) พบผลลบหลวง 7 ราย (ร้อยละ 2.9) และมีอัตราการตรวจสเมียร์เลือดร้อยละ 29.0 **แบบที่ 3** ใช้เกณฑ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ ROC โดยใช้ความชุก และ estimated costs จากผลบวกหลวงและผลลบหลวงร่วมด้วย คือ NRBC > 1.8 /100WBCs พบ

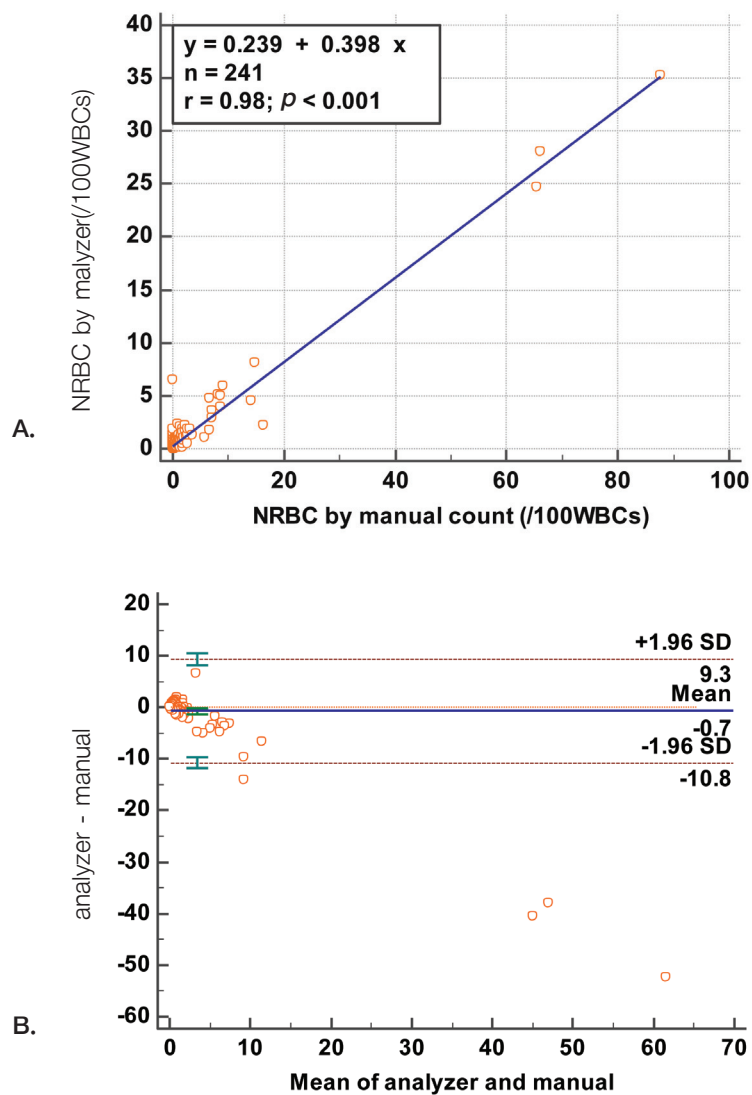


Fig. 1 Method comparison study of NRBC count between UniCel[®] DxH 800 Coulter[®] Cellular analysis system and manual NRBC count showed a correlation coefficient at 0.98 ($p < 0.001$) with an intercept at 0.239 and slope at 0.398 (A). The Bland-Altman analysis revealed a mean difference at -0.7 NRBC/100 WBCs (limit of agreement -10.8 to +9.3 NRBC/100 WBCs) (B)

Table 1 A frequency of related flags and diagnostic performance (n = 241)

Flag	Frequency (%)	TP	TN	FP	FN	Sensitivity	Specificity	NPV	PPV
Low events: N	9/241 (3.7)	0	182	9	50	0.0	95.3	78.4	N/A
Abn NRBC Pattern	4/241 (1.7)	1	188	3	49	2.0	98.4	79.3	25.0
NRBC Inter	6/241 (2.5)	1	186	5	49	2.0	97.4	79.1	16.7
Cellular Inter	4/241 (1.7)	2	189	2	48	4.0	99.0	79.7	50.0
High Event Rate: D	18/241 (7.5)	9	182	9	41	18.0	95.3	81.6	50.0
Low Events: D	8/241 (3.3)	1	184	7	49	2.0	96.3	79.0	12.5

TP = true positive, TN = true negative, FP = false positive, FN = false negative,
PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value, N/A = cannot be calculated

Table 2 Effectiveness and efficiency of reporting workflows (n = 241)

Reporting workflow	TP	TN	FP	FN	Sensitivity	Specificity	NPV	PPV	Manual slide review rate (%)
DXH < 0.1*	50	98	93	0	100.0	51.3	100.0	35.0	59.3
DXH < 0.4**	43	164	27	7	86.0	85.9	95.9	61.4	29.0
DXH < 1.8***	18	190	1	32	36.0	99.5	85.6	94.7	7.9
Decision tree****	79	98	64	0	100.0	60.5	100.0	55.2	48.1

* Limit of quantification (LOQ) of the analyzer
 ** Derived from receiver operating characteristic (ROC) analysis without using prevalence and estimated cost
 *** Derived from receiver operating characteristic (ROC) analysis using prevalence and estimated cost
 **** Derived from the decision tree (Fig. 3)
 TP = true positive, TN = true negative, FP = false positive, FN = false negative
 PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value

ผลลบลง 32 ราย (ร้อยละ 13.28) และมีอัตราการ
 ตรวจสอบเลือดร้อยละ 7.9 และ แบบที่ 4 ใช้
 แผนภูมิทางเลือกตัดสินใจโดยใช้ค่าจากเครื่องตรวจ

วิเคราะห์ร่วมกับ flag (Fig. 3) ไม่พบผลลบลง และ
 มีอัตราการตรวจสอบเลือดร้อยละ 48.1

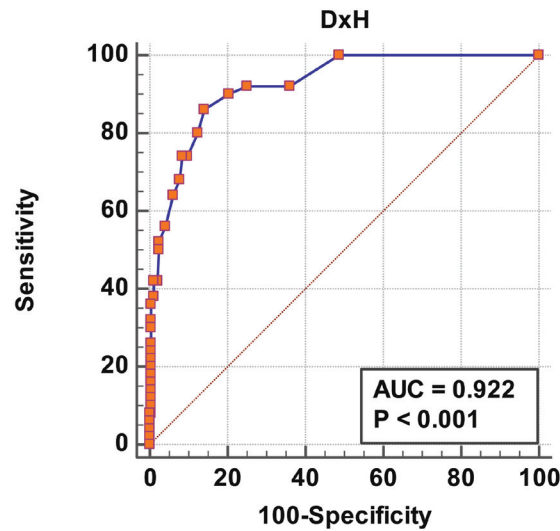


Fig. 2 ROC analysis using a manual NRBC count as a standard method gave an area under the curve at 0.922 ($p < 0.001$). Without using a prevalence and estimated cost, the maximum Youden index (0.72) was obtained at a level of NRBC > 0.4 cells/100WBCs which resulted in sensitivity at 86.0%, specificity at 85.86%. When the prevalence and estimated cost were used, the cutoff at NRBC > 1.8 was suggested with 36% sensitivity and 99.48% specificity

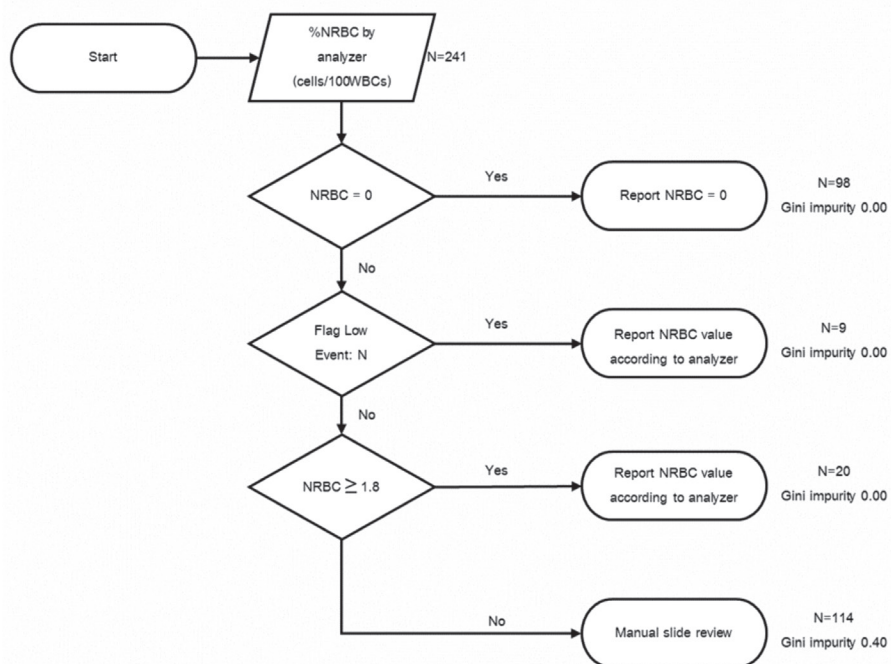


Fig. 3 Decision tree algorithm (Gini impurity) was designed using both NRBC count from the analyzer and related flags

วิจารณ์

การตรวจพบ NRBC ในกระแสเลือดเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญถึงความผิดปกติของการสร้างเม็ดเลือดในไขกระดูก ดังนั้นความถูกต้องแม่นยำในการตรวจนับและการรายงานผลจำนวน NRBC จึงมีความสำคัญต่อการดูแลผู้ป่วย แต่การตรวจนับด้วยการตรวจสเมียร์เลือดเป็นงานที่ใช้เวลา เปลืองแรงงาน และค่าใช้จ่าย ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติสามารถนับจำนวนและรายงานผล NRBC พร้อมผลตรวจ CBC ได้ทันที ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามยังมีหลายปัจจัยที่รบกวนการตรวจวิเคราะห์ซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมหรือผลลบปลอมได้ การศึกษานี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและพัฒนาแนวทางการรายงานผลเพื่อให้มีความถูกต้องแม่นยำและมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยพิจารณาความปลอดภัยของผู้ป่วยเป็นปัจจัยสำคัญอันดับแรก คือ ต้องให้มีค่าผลลบปลอมต่ำที่สุดและให้ค่าทำนายผลลบที่ถูกต้องที่สุดเพื่อไม่ให้เกิดการวินิจฉัยผิดพลาดในผู้ป่วย ปัจจัยต่อมาคือผลบวกปลอมจะต้องต่ำเพื่อลดภาระงานการตรวจสเมียร์เลือดโดยไม่จำเป็น ลดค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นจากการตรวจสเมียร์เลือด ตลอดจนลดระยะเวลาการคอยผล

จากผลประเมินประสิทธิภาพการตรวจวัด NRBC ของเครื่องตรวจวิเคราะห์ Unice1® DxH800 เปรียบเทียบกับการตรวจสเมียร์เลือด พบจำนวน NRBC ที่วัดได้จากทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.98 ($p < 0.0001$) และแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (paired t-test, $p = 0.024$) โดยมีค่า bias เพียง -0.7 cells/100 WBCs ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับของ ICSH⁽¹⁹⁾

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของแนวทางการรายงานผลแบบต่างๆ พบว่า การใช้เกณฑ์ LOQ ของ

เครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ $NRBC \geq 0.1$ cells/100WBCs ให้ค่า NPV ที่ดีมาก (ร้อยละ 100) และไม่พบรายที่เป็นผลลบปลอม แสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีและเชื่อถือได้ของเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่นนี้ แต่กลับพบว่ามีการเกิดผลบวกปลอมสูงทำให้ต้องตรวจสเมียร์เลือดจำนวนมาก (ร้อยละ 59.3 ของจำนวนสิ่งส่งตรวจทั้งหมด) ซึ่งอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ ที่พบบ่อยในงานประจำวัน ได้แก่ การรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregations) หรือมีเกล็ดเลือดขนาดใหญ่ (large/giant platelets) นอกจากนี้ในภาวะที่เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติ เช่น ภาวะขาดธาตุเหล็กหรือเป็นพาหะธาลัสซีเมีย ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่ถูกทำลายโดยน้ำยาของเครื่อง (lysis-resistant red blood cells) และถูกนับรวมเป็น NRBC ได้⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

ส่วนการใช้เกณฑ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ ROC ที่ $NRBC > 0.4$ ให้ความไวร้อยละ 86.0 ความจำเพาะร้อยละ 85.86 และอัตราการตรวจสเมียร์เลือดร้อยละ 29 ส่วนที่ $NRBC > 1.8$ ให้ความจำเพาะที่สูงขึ้นคือร้อยละ 99.48 แต่ความไวต่ำลงเหลือเพียงร้อยละ 36 และอัตราการตรวจสเมียร์เลือดลดเหลือเพียงร้อยละ 7.9 ซึ่งแม้การใช้ cutoff ที่ได้จาก ROC analysis ทั้งสองแบบ (0.4 และ 1.8) จะให้อัตราการตรวจสเมียร์เลือดต่ำ แต่พบผลบวกสูงถึง 7 ราย และ 32 ราย ตามลำดับ ซึ่งจะส่งผลเสียต่อการวินิจฉัยผู้ป่วย

M. J. Kwon และคณะ⁽²²⁾ ได้ศึกษาเปรียบเทียบค่า NRBC จากเครื่อง Unice1® DxH800 โดยใช้ cutoff ของเครื่อง (0.1 cells/100WBCs) กับการตรวจสเมียร์เลือดพบว่าให้ความไวร้อยละ 85.3 และความจำเพาะร้อยละ 96.1 โดยพบผลบวก 5 ราย จาก 34 ราย และจากการศึกษาของ Bren T. Tan และคณะ⁽²³⁾ พบว่า cutoff ที่เหมาะสมในการรายงานผลคือ 0.6 NRBC/100WBCs โดยให้ความไวร้อยละ 88.2 และความจำเพาะร้อยละ 92.2

แสดงว่า cutoff ที่เหมาะสมในแต่ละห้องปฏิบัติการ มีความแตกต่างกัน ให้ค่าความไว ความจำเพาะ อัตราผลลบลงและผลบวกลงแตกต่างกัน

ผลประเมินประสิทธิภาพการใช้แนวทางการรายงานผลแบบแผนภูมิทางเลือกตัดสินใจ (Fig. 3) ในการรายงานผล NRBC พบว่าไม่มีผลลบลง และให้ผลบวกลงต่ำ รวมทั้งอัตราการตรวจสเมียร์เลือดร้อยละ 48.1 ซึ่งต่ำกว่าการใช้ cutoff LOQ ของเครื่องตรวจวิเคราะห์เพียงอย่างเดียว (ร้อยละ 59.3) ดังนั้น จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการรายงานผล NRBC และยังสามารถนำแนวทางนี้ไปใช้รายงานผลโดยระบบ autoverification ได้อีกด้วย

ข้อจำกัดของงานวิจัยนี้คือการศึกษานี้ในเครื่องตรวจวิเคราะห์เพียงรุ่นเดียว การนำผลการศึกษาไปใช้ในเครื่องรุ่นอื่นอาจให้ค่าความไว ความจำเพาะ อัตราผลบวกลงและผลลบลงที่ต่างกั นนอกจากนี้เกณฑ์และแนวทางการรายงานผลที่ได้จากการศึกษานี้ อาจให้ประสิทธิภาพต่างกันหากนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการอื่นแม้จะเป็นเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่นเดียวกัน⁽²²⁻²³⁾ เพราะยังมีปัจจัยที่อาจมีผลกระทบ เช่น ความชุกของสิ่งส่งตรวจที่มี NRBC แตกต่างกั น ดังนั้นหากจะนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการอื่นอาจต้องมีการทวนสอบ (verification) ก่อนว่าเหมาะสมใช้ได้ อีกประการหนึ่งคือในแนวทางการรายงานผลโดยใช้แผนภูมิทางเลือกตัดสินใจ มีปัจจัยร่วมที่ใช้ในเกณฑ์คือ “systemic flags” ซึ่งมีเฉพาะในเครื่องตรวจวิเคราะห์รุ่นที่ใช้ในงานวิจัยนี้เท่านั้น

สรุป

การใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดอัตโนมัติในการรายงานผล NRBC มีความสะดวกและให้ค่าที่เชื่อถือได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานคือการตรวจสเมียร์เลือด ทั้งยังลดระยะเวลาการรอคอยผล และลดภาระงานของเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการ

ได้มาก แต่ควรมีการศึกษาหาเกณฑ์หรือแนวทางการรายงานผลที่มีประสิทธิภาพสำหรับแต่ละห้องปฏิบัติการ เพื่อลดการเกิดผลลบลงและผลบวกลงให้ต่ำที่สุด ทำให้การรายงานผลมีความถูกต้อง เพิ่มความปลอดภัยสำหรับผู้ป่วย และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

1. Hermansen MC. Nucleated red blood cells in the fetus and newborn. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2001; 84: 211-5.
2. Das DK, Maiti AK, Chakraborty C. Automated identification of normoblast cell from human peripheral blood smear images. J Microsc 2018; 269: 310-20.
3. Sysmex Xtra Online. The clinical relevance of measuring NRBC in the XN-CBC. [Internet]. 2012 [cited 2020 April 1]. Available from: https://www.sysmex.dk/fileadmin/media/f100/Xtra/Xtra_article_The_clinical_relevance_of_measuring_NRBC_in_the_XN-CBC.pdf
4. Benie TC, Bessie C. Nucleated RBCs—Significance in the peripheral blood film. Lab Med 2000; 31: 223-9.
5. Akhtar S, Mahure S. Nuance of nucleated RBCs (normoblastemia) in peripheral blood film. Panacea J Med Sci 2015; 5: 7-13.
6. Dipankar B, Sankar D. A study of nucleated red blood cell count as a marker of severity of hypoxic ischemic encephalopathy. Int J Contemp Pediatr 2015; 2: 224-6.

7. Stachon A, Holland-Letz T, Krieg M. High in-hospital mortality of intensive care patients with nucleated red blood cells in blood. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 933-8.
8. Menk M, Giebelhäuser L, Vorderwülbecke G, *et al.* Nucleated red blood cells as predictors of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study. *Ann Intensive Care* 2018; 8: 1-11.
9. Monteiro Júnior JG, Torres Dde O, da Silva MC, *et al.* Nucleated red blood cells as predictors of all-cause mortality in cardiac intensive care unit patients: a prospective cohort study. *PLoS One* 2015; 10: e0144259.
10. Stachon A, Segbers E, Holland-Letz T, Kempf R, Hering S, Krieg M. Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007; 11: R62.
11. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 104-16.
12. Pierre RV. Peripheral blood film review: the demise of the eye count leukocyte differential. *Clin Lab Med* 2002; 22: 279-97.
13. Da Rin G, Vidali M, Balboni F, Benegiamo A, Borin M, Ciardelli MG. Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell count of five commercial hematological analyzers. *Int J Lab Hem* 2017; 39: 663-70.
14. Beckman Coulter, Inc. UniCel® DxH 800 Coulter® Cellular analysis system instructions for use. PN 629743AC. 2008.
15. 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.
16. Shin S, Park SH, Park J. Incidental identification of *Plasmodium vivax* during routine complete blood count analysis using the UniCel® DxH 800. *Ann Lab Med* 2018; 38: 165-8.
17. Timilsena S, Ardsiri S, Lerdwasana S, Krishna DM, Pattanapanyasat K, Noulsri E. Accuracy of lymphocyte counts from UniCel® DxH 800 in β -thalassemia/HbE patients having various numbers of nucleated red blood cells. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2019; 18: 1-6.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrument methods: approved standard. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI; 2007. Document H20-A2.

19. Kingsford C, Salzberg SL. What are decision trees?. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 1011-3.
20. Nembrini S, König IR, Wright MN. The revival of the Gini importance? *Bioinformatics* 2018; 34: 3711-8.
21. Briggs C, Culp N, Davis B, d'Onofrio G, Zini G, Machin SJ. ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting. *Int J Lab Hematol* 2014; 36: 613-27.
22. Kwon MJ, Nam MH, Kim SH, *et al.* Evaluation of the nucleated red blood cell count in neonates using the Beckman Coulter UniCel® DxH 800 analyzer. *Int J Lab Hematol* 2011; 33: 620-8.
23. Brent TT, Armando J, Tracy I. Evaluation of the Beckman Coulter UniCel® DxH 800 and Abbott Diagnostics Cell-Dyn Sapphire hematology analyzers on pediatric and neonatal specimens in a tertiary care hospital. *Am J Clin Pathol* 2011; 135: 929-38.