

Technicon H: เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในทางการแพทย์

นวพรรณ จารุรักษ์*

Charuruks N. Technicon H: An automatic hematology analyser in medicine. Chula Med J 1996 Jul;40(7): 585-600

The conventional manually conducted complete blood count is a frequently performed test that has limited clinical value. It is influenced by physiologic variance, interpretive bias, sampling errors, and the non-random distribution of cells in a blood film. The result is data that are statistically imprecise, insensitive, and nonspecific. In recent years, complete blood counts are increasingly being performed automated hemotologic analysers. Automated assays are more precise than their manual counterparts, and frequently are assumed to have greater value. Many new hematologic parameters are indices that can be generated by these analysers. Herein, we report, the basic principle and clinical applications of these hematologic parameters using the third generation TECHNICON H analyser as an example.

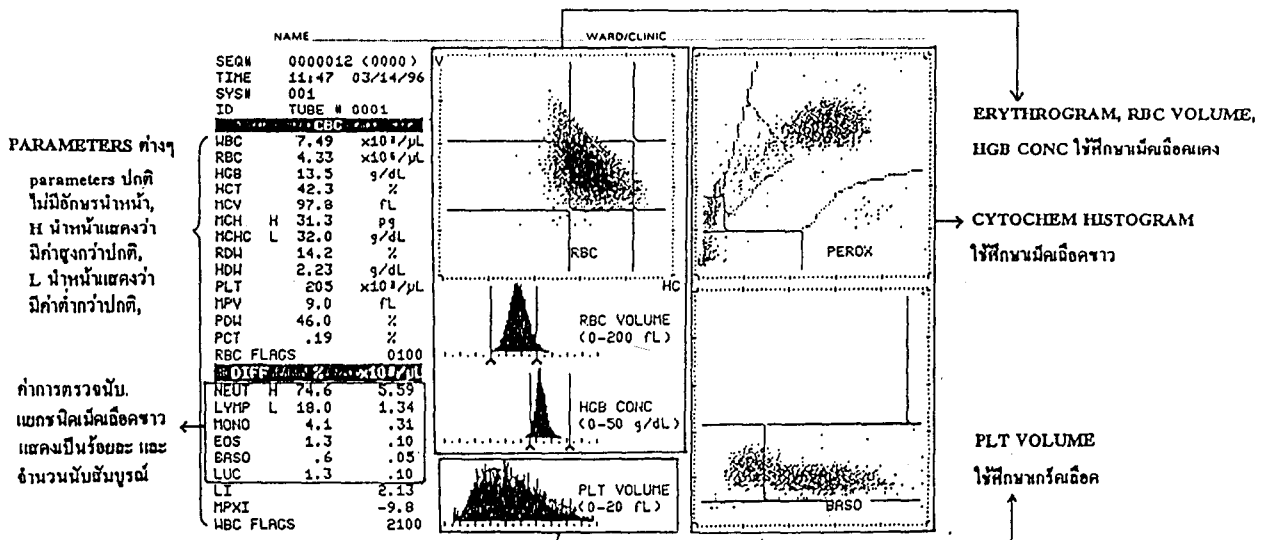
Key words: Complete blood count, Automate blood cell analyser, Clinical application.

Reprint request: Charuruks N, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. May 15, 1996.

ในปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์เลือด complete blood count หรือ CBC เป็นการตรวจที่แพทย์สั่งตรวจมากที่สุดการตรวจหนึ่ง สถิติโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2537⁽¹⁾ รายงานว่าแพทย์สั่งตรวจ CBC ในผู้ป่วยนอกถึง 81,365 การตรวจ หรือเฉลี่ยประมาณ 325 การตรวจต่อหนึ่งวันทำการ และสั่งเป็นการตรวจประจำสำหรับผู้ป่วยนอกก่อนจะเข้าหอผู้ป่วยเกือบทุกราย การตรวจ CBC มีจำนวนการตรวจเพิ่มขึ้นทุกปี สถิติโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2535,⁽²⁾ 2536,⁽³⁾ และ 2537⁽¹⁾ มีการตรวจ CBC เพิ่มขึ้นจาก 98,755 การตรวจ เป็น 120,076 และ 129,129 การตรวจตามลำดับ จากความสำคัญและจำนวนการตรวจที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้

มีการพัฒนาเทคโนโลยี และผลิตเครื่องมือตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติขึ้น เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในปัจจุบันมีหลายระบบ^(4,5) เครื่องในตระกูล Technicon H เป็นเครื่องวิเคราะห์ที่ให้ค่า hematologic parameters ต่างๆ ในทางการแพทย์ ที่มีประโยชน์ควรแก่การศึกษา เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการใช้เทคโนโลยีทางการแพทย์ บทความนี้กล่าวถึงการวิเคราะห์เม็ดเลือดแดง,เม็ดเลือดขาว, และเกร็ดเลือด และการนำมาใช้ประโยชน์ทางคลินิกโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในตระกูล Technicon H รูปที่ 1 แสดงตัวอย่างในรายงานผลการตรวจวิเคราะห์เลือดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ Technicon H*1



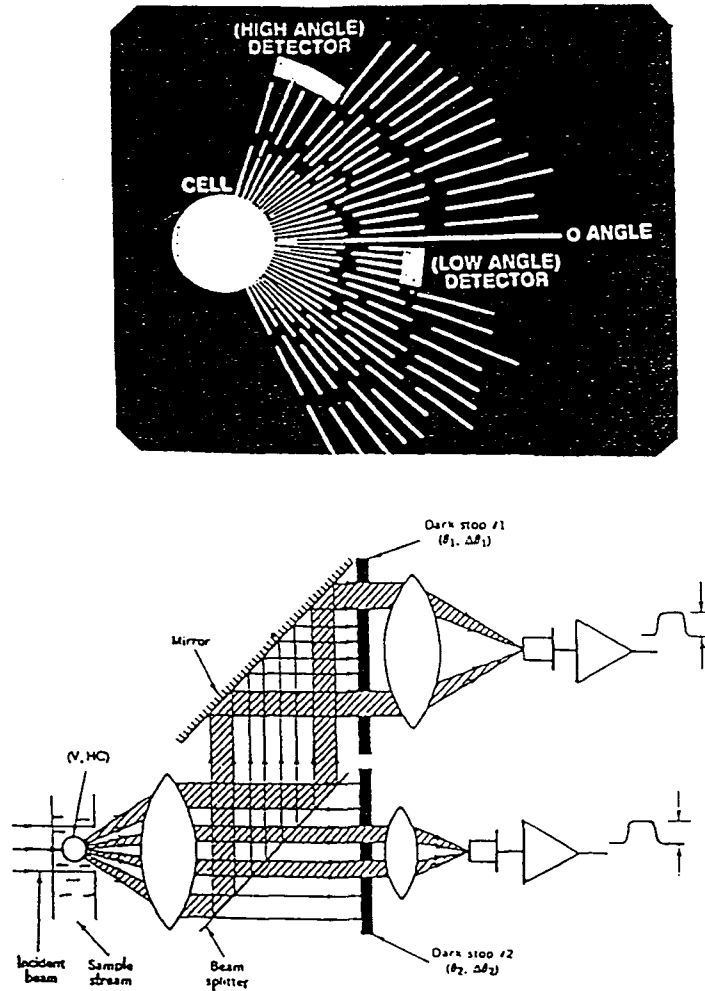
รูปที่ 1. ตัวอย่างใบรายงานผลการตรวจ CBC โดยเครื่อง Technicon H ข้อมูลของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจแสดงอยู่มุมบนด้านซ้ายของใบรายงานผล ผลการตรวจแสดงเป็น parameters ถึง 21 ค่า ทางด้านซ้าย คือ WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, PLT, MPV, PDW, PCT, NEUT, LYMP, MONO, EOS, BASO, LUC, LI, MPXI กรณีที่เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติเครื่องสามารถเตือนโดยแสดงค่า RBC Flags เช่นเดียวกับกรณีที่เม็ดเลือดขาวมีความผิดปกติเครื่องสามารถเตือนโดยแสดงค่า WBC FLAGS นอกจากนี้เครื่องยังแสดง ERYTHROGRAM, RBC VOLUME, HGB CONC สำหรับศึกษาเม็ดเลือดแดง PLT VOLUME สำหรับศึกษาเกร็ดเลือด และ CYTOCHEM HISTOGRAM คือ PEROX และ BASO สำหรับศึกษาเม็ดเลือดขาว

หลักและวิธีการวิเคราะห์เลือด

การตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือด

ส่วนที่วิเคราะห์เม็ดเลือดแดงและเกร็ดเลือดใช้เทคนิค light scattering ทำการนับเม็ดเลือดจำนวน 5,000-10,000 เซลล์ ซึ่งถูกทำให้มีรูปร่างกลม (isovolumetrically sphered) และถูกส่งผ่านไปตามท่อ flow cell ซึ่งทำให้เม็ดเลือดไหลเรียงเดี่ยวผ่านลำแสงจาก helium neon laser ซึ่งมีคลื่นความถี่เดียว (monochromatic light) ณ จุดที่เรียกว่า sensing zone เมื่อลำแสงตกกระทบเซลล์เม็ดเลือดจะเกิดการดูดซับ

และกระทบทหักเหของแสงเกิดเป็นสัญญาณซึ่งถูกจับโดย low-angle photodiode (2-3 องศา) และ high-angle photodiode (5-15 องศา) โดยสัญญาณจาก low-angle photodiode จะถูกแปลเป็นขนาดหรือปริมาตรของเม็ดเลือด และสัญญาณจาก high-angle photodiode จะถูกแปลเป็นความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง⁽⁶⁻⁸⁾ การตรวจจับสัญญาณโดย photodiode จากมุมที่ต่างกัน 2 มุมนี้ ช่วยลดข้อผิดพลาดจากการเกิดปรากฏการณ์ coincidence loss⁽⁹⁾ ทำให้การตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้องแม่นยำสูง (รูปที่ 2)



รูปที่ 2. แสดงหลักการ Light scatter แสง Laser เมื่อตกกระทบเซลล์เม็ดเลือดจะเกิดการกระจายหักเหของแสง โดยมี Low angle photodiode และ High angle photodiode เป็นตัวรับสัญญาณ และสัญญาณที่ได้จะบอกถึงปริมาตรของเซลล์และความเข้มข้นของฮีโมโกลบินภายในเซลล์ (ได้รับอนุญาต จากบริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด)

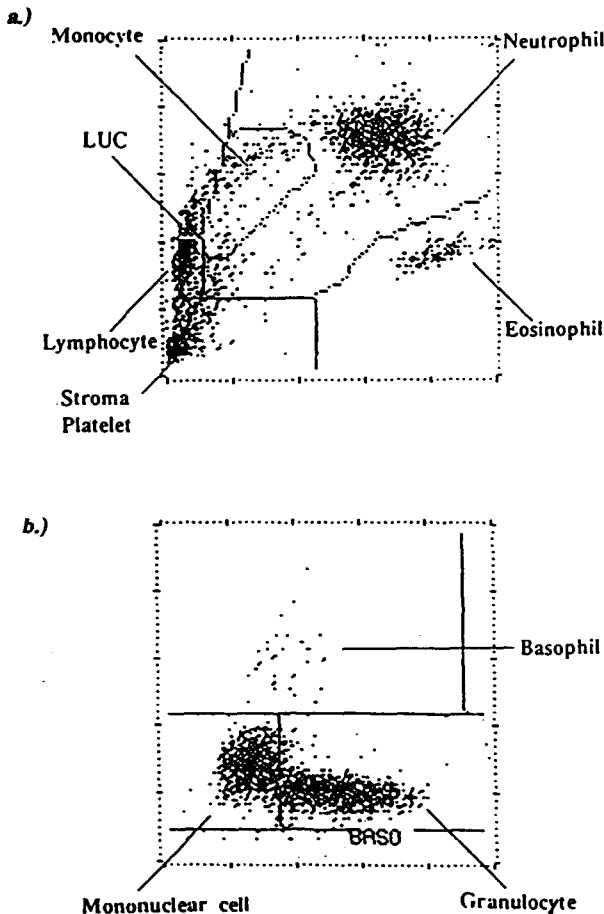
เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติตระกูล Technicon H สามารถแสดงค่าการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (red cell count, Rbc count), การตรวจหาค่าฮีโมโกลบิน (hemoglobin concentration, Hb conc.) โดยตรง ซึ่งทำให้สามารถตรวจหา Hb conc. ในเซลล์เม็ดเลือดแดง แต่ละเซลล์และแสดงการกระจายของ Hb เป็นแผนภูมิรูปภาพ (Hb concentration histogram) รวมทั้งแสดงค่าการกระจายความกว้างของ Hb เป็นตัวเลข (Hb distribution width, HDW) และแสดงค่าเฉลี่ยความเข้มข้น Hb ในเม็ดเลือดแดง (cellular hemoglobin concentration mean, CHCM), เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติตระกูล Technicon H ยังตรวจหาค่า Hb ด้วยวิธี cyanmethemoglobin และแสดงค่าเฉลี่ยความเข้มข้น Hb ในเม็ดเลือดแดงจากการคำนวณ (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) เครื่องจะใช้ค่า CMCH และ MCHC ตรวจสอบความถูกต้องซึ่งกันและกัน และรายงานผลเป็นค่า MCHC ซึ่งเป็นค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงตัวหนึ่งที่แพทย์คุ้นเคยอยู่แล้ว ค่าตรวจวัดปริมาณของเม็ดเลือดแดงโดยตรง ทำให้สามารถแสดงการกระจายขนาดของเซลล์เม็ดเลือดแดง เป็นแผนภูมิรูปภาพ (Rbc volume histogram) ซึ่งการแสดงการกระจายของขนาดของเม็ดเลือดแดงนี้ก็คือ การแสดงลักษณะ anisocytosis นั้นเอง นอกจากนี้ Rbc volume และ Hb conc. ยังถูกนำมาวิเคราะห์และแสดงเป็นแผนภูมิรูปภาพ (erythrogram) ได้อีกด้วยและแสดงค่าเฉลี่ยปริมาตรของเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular volume, MCV) และจาก erythrogram และ MCV เครื่องสามารถนำมาใช้คำนวณ และแสดงค่าความกว้างของการกระจายตัวของเม็ดเลือดแดงที่ต่างปริมาตรกัน (Rbc distribution width, RDW) นอกจากนี้เครื่องยังใช้คอมพิวเตอร์คำนวณและแสดงค่าฮีมาโตคริต หรือปริมาตรอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง (hematocrit, Hct, or packed red cell volume, PCV), ค่าเฉลี่ยน้ำหนักฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin, MCH)

ส่วนเกร็ดเลือดนั้นแยกจากเม็ดเลือดแดงได้จากขนาดและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน⁽⁶⁾ และแสดงค่าตรวจนับจำนวนเกร็ดเลือด (platelet count), ค่าเฉลี่ยปริมาตรของเกร็ดเลือด (mean platelet volume, MPV), ค่าความกว้างของการกระจายตัวของเกร็ดเลือดที่ต่างปริมาตรกัน (platelet distribution width, PDW), และเกร็ดเลือดคริตหรือปริมาตรอัดแน่นของเกร็ดเลือด (platelet-crit, Pct)⁽⁶⁾

การตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดขาว

เครื่องอัตโนมัตินี้รายงานค่าการนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (white cell count, Wbc count) และนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาว (differential leukocyte count, DLC) โดยการใช้เทคนิค light scattering ร่วมกับปฏิกิริยาทางเคมีต่อเซลล์ (cytochemistry) คือ peroxidase activity และ basophil / lobularity method⁽⁹⁾ และแสดงแผนภูมิรูปภาพของ peroxidase (รูปที่ 3.a) และ basophil (รูปที่ 3.b) สามารถแยกเม็ดเลือดขาวออกเป็น neutrophil, lymphocyte, monocyte, eosinophil, basophil และ large unstained cell (LUC) และแสดงค่าเม็ดเลือดขาวเหล่านี้เป็นร้อยละและจำนวนนับสมบูรณ์ (absolute count) นอกจากนี้ ยังแสดงค่าดัชนีเพิ่มขึ้นอีก 2 ชนิด คือ ค่าดัชนีเฉลี่ยกลุ่มเซลล์ที่ติดสี peroxidase เรียกว่า mean peroxidase activity index (MPXI)⁽¹⁰⁾ และดัชนีเกี่ยวกับลักษณะนิวเคลียสและจำนวน lobe ของนิวเคลียส เรียกว่า lobularity index (LI)

การตรวจวิเคราะห์เลือดโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติของตระกูล Technicon H ยังแสดงค่า morphology flags ที่สำคัญและมีประโยชน์ต่อแพทย์อีกเกือบ 10 ชนิด ANISO (anisocytosis), MICRO (microcyte), MACRO (macrocyte), VAR (variation in Hb concentration, anisochromia), HYPO (hypochromia), HYPER (hyperchromia), left-shift, atypical, blast, และอื่นๆ เป็นต้น



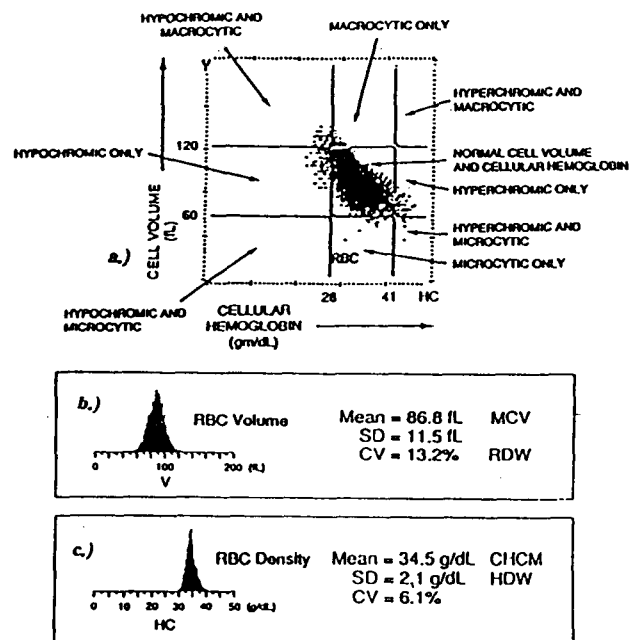
รูปที่ 3. แสดงแผนภูมิรูปภาพของ a.) แสดงการกระจายของเม็ดเลือดขาว neutrophil, eosinophil, monocyte, lymphocyte, และ large unstained cell (LUC) โดยอาศัยข้อมูลปริมาณเซลล์ (แกนตั้ง) และการเกิดสี peroxidase (แกนนอน) b.) แสดงการกระจายของเม็ดเลือดขาว basophil และนิวเคลียสเม็ดเลือดขาวชนิดอื่นๆ เม็ดเลือดขาวประเภท mononuclear cell, และ blast cell จะกระจายอยู่ด้านซ้าย เม็ดเลือดขาวประเภทที่นิวเคลียสมีลักษณะเป็น lobe จะกระจายอยู่ด้านขวา ยังมี lobe มากก็ยิ่งกระจายมาทางด้านขวามากขึ้น ส่วน basophil อยู่ด้านบน (ตัดแปลงและได้รับอนุญาตจากบริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด)

การนำมาใช้ประโยชน์ทางคลินิก

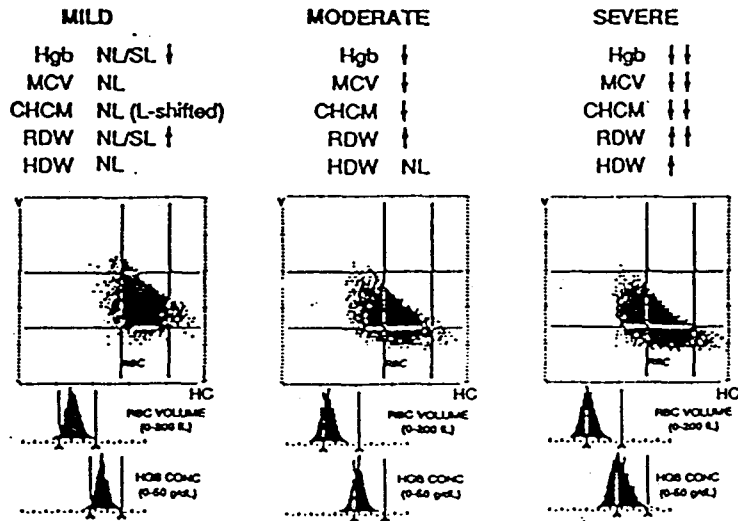
1) การศึกษาภาวะโลหิตจาง

ค่า Rbc count, Rbc volume, RDW, Hb conc., ค่า Rbc parameters อื่นๆ และแผนภูมิรูปภาพ

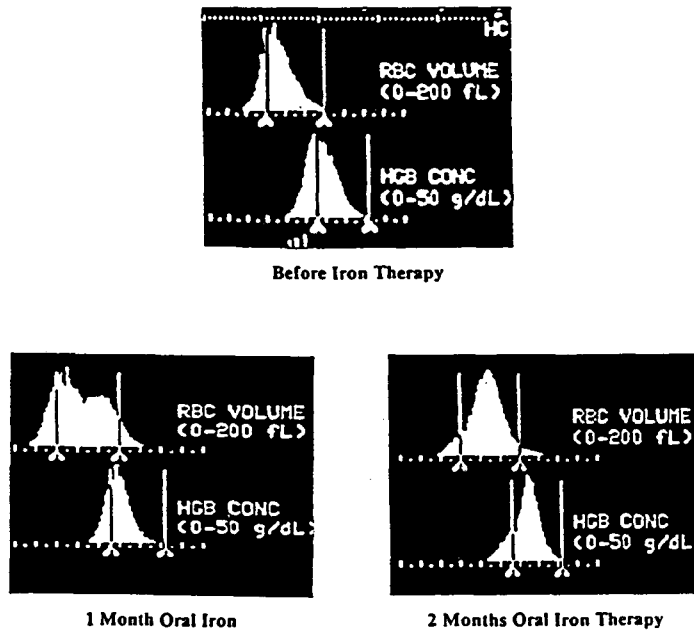
erythrogram ช่วยให้การจัดแยกชนิดภาวะโลหิตจางสะดวก รวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ (ตารางที่ 1, รูปที่ 4.a) และติดตามผลการรักษา⁽¹¹⁾ เช่น ภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็ก (iron deficiency anemia)⁽¹²⁻¹⁴⁾ ธาลัสซีเมีย (thalassemia),⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ กลุ่ม megaloblastic anemia⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ เป็นต้น ในภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็ก เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติของตระกูล Technicon H สามารถแสดงลักษณะ erythrogram และแผนภูมิรูปภาพของ Rbc volume (รูปที่ 4.b) ที่มีลักษณะจำเพาะและแยกออกเป็นระยะเริ่มแรก (mild), ระยะกลาง (moderate), ระยะรุนแรง (severe) นอกจากนี้ยังใช้ติดตามภาวะโลหิตจางเป็นระยะต่อเนื่อง (รูปที่ 5) รวมทั้งใช้ติดตามผลการรักษาได้อย่างต่อเนื่องด้วย



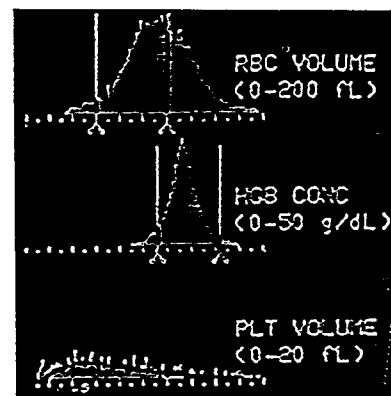
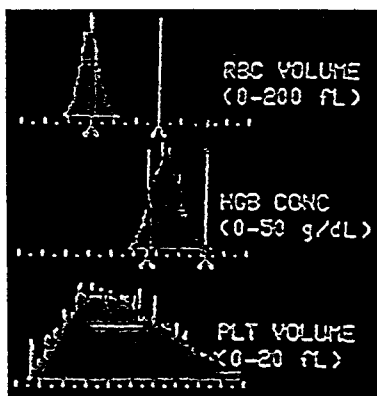
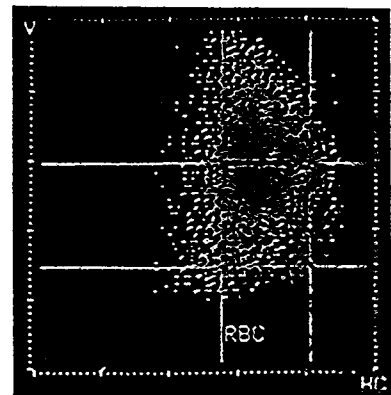
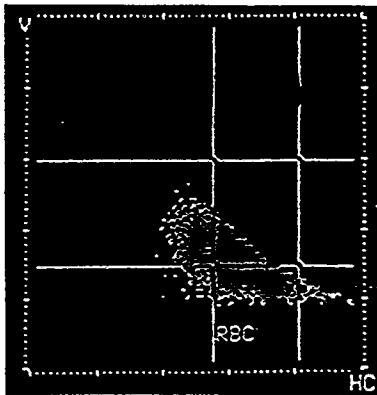
รูปที่ 4. แสดงแผนภูมิรูปภาพของ a.) erythrogram b.) Rbc volume และ c.) Hb concentration ของคนปกติ ในรูป a.) แสดงช่องต่าง ๆ 9 ช่องที่แสดงลักษณะเม็ดเลือดแดงต่าง ๆ กัน โดยอาศัยข้อมูลปริมาณเซลล์เม็ดเลือดแดง (แกนตั้ง) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินภายในเซลล์ (แกนนอน) (ตัดแปลงจาก Green R. In: Niitsu Y, ed, Current Topics and Future Prospects of Iron Deficiency Anemia.1989: 33-42)



รูปที่ 5. แสดงแผนภูมิรูปภาพของ a.) erythrogram b.) Rbc volume และ c.) Hb concentration ในผู้ป่วยภาวะซีดจากการขาดเหล็กตั้งแต่ระยะเริ่มต้น, ระยะกลาง, จนสู่ระยะรุนแรง โดยในระยะเริ่มต้นนั้นภาวะโลหิตจางยังไม่ชัดเจนและอาจมีการเพิ่มขึ้นของ RDW ในระยะกลางนั้นภาวะโลหิตจางชัดเจนขึ้นเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กลง RDW สูงขึ้นเล็กน้อย แต่ค่า HDW ยังปกติอยู่ ในระยะรุนแรงนั้นเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติจะตรวจพบภาวะซีดชัดเจนเม็ดเลือดมีขนาดเล็กกว่าปกติ RDW สูงขึ้น ในขณะที่ค่า HDW สูงขึ้นมาก (ดัดแปลงจาก Green R. In : Niitsu Y, ed, Current Topics and Future Prospects of Iron Deficiency Anemia. 1989 : 33-42)



รูปที่ 6. แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของ Rbc volume และ Hb concentration ในผู้ป่วยภาวะโลหิตจางจากการขาดเหล็กก่อนการรักษา มีลักษณะ hypochromic และ microcytic ชัดเจน และเมื่อเริ่มได้รับการรักษาแล้ว Rbc volume จะแสดงลักษณะของเม็ดเลือดแดงสองกลุ่ม คือกลุ่มที่มีขนาดเล็ก microcytic และกลุ่มที่มีขนาดปกติ normocytic ซึ่งเกิดจากการสนองตอบของการรักษาภาวะโลหิตจางดังกล่าว และเมื่อการรักษาดีขึ้นเป็นลำดับเม็ดเลือดแดงก็จะกลับมีขนาดเป็นปกติทั้งหมด รวมทั้งค่า Hb concentration ก็ akan กลับเป็นปกติด้วย (ดัดแปลงและปรับปรุงจาก Ross DW. Atlas of Automated Cytochemical Hematology. 1988 : 21)



รูปที่ 7. แสดงตัวอย่างของ erythrogram, Rbc volume และ Hb concentration ในผู้ป่วย β -Thal trait ซึ่งจะพบลักษณะ microcytosis และ hypochromia (ดัดแปลง และ ได้รับอนุญาตจากบริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด)

รูปที่ 8. แสดงตัวอย่างของ erythrogram, Rbc volume และ Hb concentration ในผู้ป่วย megaloblastic anemia เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีลักษณะ normochromic macrocytic และมีการกระจายของปริมาณเซลล์แตกต่างกันมาก หรือมีลักษณะ anisocytosis สูงคือมีค่า RDW สูงนั่นเอง (ดัดแปลง และ ได้รับอนุญาตจาก บริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด)

(รูปที่ 6) ลักษณะที่ตรวจจากเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในกลุ่มระยะเริ่มแรกนั้นจะตรวจพบภาวะโลหิตจางเล็กน้อย ค่า RDW สูงขึ้นเล็กน้อย สำหรับค่าดัชนีเม็ดเลือดยังไม่พบความผิดปกติ อย่างไรก็ตาม จาก Rbc volume histogram และ Hb concentration histogram จะมีลักษณะ left-shift เล็กน้อย สำหรับในกลุ่มระยะกลางนั้นภาวะโลหิตจางจะชัดเจนเซลล์มีขนาดเล็กและค่า CHCM ต่ำลง ส่วนค่า RDW สูงขึ้น ค่า Rbc volume histogram และ Hb concentration histogram มีลักษณะ left-shift ชัดเจนขึ้น สำหรับใน

กลุ่มระยะรุนแรง จะพบการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ชัดเจน นอกจากนี้ค่า HDW จะพบว่าสูงขึ้น ภาวะโลหิตจางในกลุ่มโรคธาลัสซีเมียนี้มีความแตกต่างกันตามแต่ละชนิดของธาลัสซีเมียต่างๆ โดยมีลักษณะของภาวะซีดมากขึ้นอยู่กับชนิดของธาลัสซีเมียและความรุนแรงของโรค ลักษณะทั่วไปจะพบ left-shift ของ Rbc volume histogram และ Hb concentration histogram (รูปที่ 7) ภาวะโลหิตจางในกลุ่ม megaloblastic anemia นั้นจะพบ right-shift ของ Rbc volume histogram และ left-shift ของ Hb concentration histogram และค่า

RDW สูงขึ้นมากน้อยขึ้นอยู่กับความรุนแรงของภาวะซีด (รูปที่ 8) จากการศึกษาสไลด์เลือดของผู้ป่วยกลุ่มนี้ ตรวจพบ hypersegmented neutrophils ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของผู้ป่วยกลุ่มนี้ เครื่องวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติจะพบว่า ค่า MPXI สูงขึ้น, ค่า LI ต่ำลง⁽¹⁹⁾

ซึ่งอธิบายได้ว่าค่า MPXI ในผู้ป่วยกลุ่มนี้สูงขึ้นเพราะมี cytoplasm ของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เจริญดี แต่ค่า LI ต่ำลงเป็นเพราะมีความผิดปกติที่นิวเคลียส โดยมี chromatin ผิดปกติไป ทำให้การกระจายหักเหของแสงที่ตกกระทบนิวเคลียสลดลง⁽¹⁸⁾

ตารางที่ 1. แสดงการแบ่งกลุ่มภาวะโลหิตจางโดยอาศัย MCV และ RDW (Bessman JD, et al. AM J Clin Pathol 1983; 80:322-6)

MCV Low RDW Normal	MCV Low RDW High	MCV Normal RDW Normal	MCV Normal RDW High	MCV High RDW Normal	MCV High RDW High
Heterozygous thalassemia	Iron deficiency	Normal	Mixed deficiency	Aplastic anemia	Folate deficiency
Chronic disease	S-β-thalassemia	Chronic disease	Early iron or folate deficiency	Preleukemia	
	Hemoglobin H	Chronic liver disease	Anemic hemoglobinopathy		Immune hemolysis
	Fragmentation	Hemoglobinopathy trait (S.C) Transfusion Chemotherapy CLL, CML Hemorrhage Hereditary spherocytosis	Myelofibrosis, sideroblastic anemia		Cold agglutinins CLL*

MCV, mean corpuscular volume; RDW, red cell distribution width; CLL, chronic lymphocytic leukemia; CML, chronic myelogenous leukemia.

* Due to inclusion of leukocytes in the red cell volume distribution in CLL.

2) การศึกษาภาวะติดเชื้อ

ในภาวะติดเชื้อจากเชื้อแบคทีเรีย จะพบจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น ร่วมกับการเกิด^(9,19,20) neutrophilia นอกจากนี้จะพบค่า MPXI สูงขึ้น และ LI ต่ำลง เนื่องจากเกิด shift to the left เกิดขึ้น ส่วนภาวะติดเชื้อไวรัสนั้นจะพบ lymphocytosis, LUC สูงขึ้น

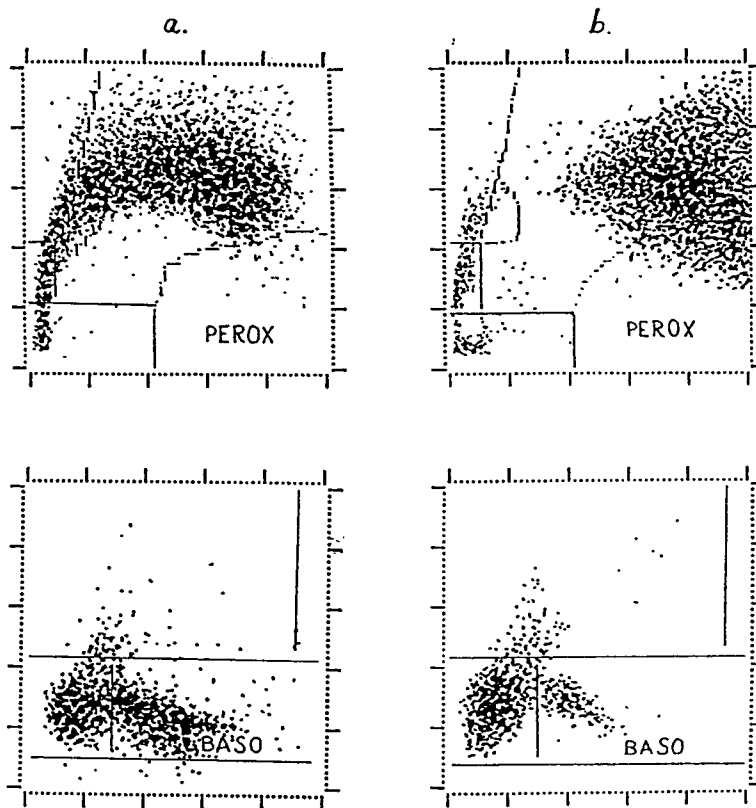
เนื่องจากการเกิด atypical lymphocyte ค่า LI ต่ำลง เนื่องจาก mononuclear ที่สูงขึ้น^(19,21) ส่วนในภาวะติดเชื้อปรสิตนั้นพบ eosinophilia นอกจากนี้มีผู้นำเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติมาใช้ศึกษาภาวะติดเชื้อมาลาเรีย⁽²²⁾ และพบว่าใน P. vivax และ P.falciparum มีค่า MPXI, LUC, RDW, และ HDW

สูงขึ้น ส่วนใน *P. vivax* นั้น พบว่าค่า MCV สูงขึ้นด้วย

3) การศึกษามะเร็งเม็ดเลือดขาว

ประโยชน์จาก cytogram ของ peroxidase activity และ basophil study แสดงลักษณะเฉพาะของมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ช่วยให้สามารถจัดกลุ่มตาม French American British (FAB) criteria ได้สะดวกขึ้น^(9,10,23-26) สามารถนำมาแยก acute myeloblastic leukemia ออกจาก acute lymphoblastic leukemia ได้โดยง่าย สะดวก และรวดเร็ว ในผู้ป่วย

acute myeloblastic with maturation (M2) และ acute promyelocytic leukemia (M3) peroxidase cytogram ต่างมีลักษณะเฉพาะโดยใน M2 มีการกระจายของกลุ่มเซลล์เริ่มจากบริเวณ large unstained cell (LUC) ไปจนถึงบริเวณของ neutrophils อย่างหนาแน่น (รูปที่ 9.a) และค่า MPXI ต่ำกว่าปกติ ส่วนใน M3 ลักษณะการกระจายของกลุ่มเซลล์ขนาดกลางที่ติดสี peroxidase อย่างหนาแน่นเป็นรูปคล้ายพัดหรือกรวย (รูปที่ 9.b) และค่า MPXI สูงกว่าปกติ เป็นต้น

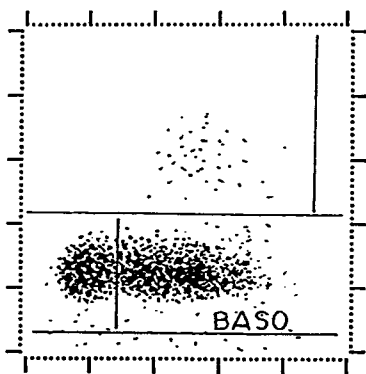
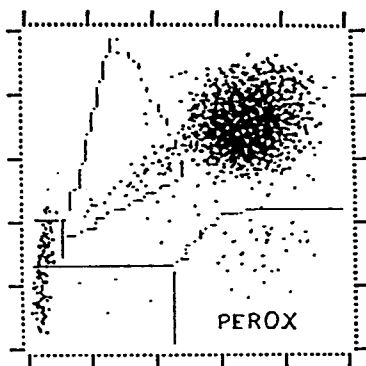


รูปที่ 9. แสดงลักษณะ peroxidase activity และ basophil study ในผู้ป่วย a.) Acute myeloblastic leukemia (M2) และ b.) Acute promyelocytic leukemia (M3) จะพบว่าใน M2 มีการกระจายของกลุ่มเซลล์ เริ่มจากบริเวณ large unstained cell (LUC) ไปจนถึงกลุ่ม neutrophil อย่างหนาแน่น ใน M3 มีการกระจายของกลุ่มเซลล์ในบริเวณกลุ่ม neutrophil อย่างหนาแน่นและเป็นลักษณะรูปใบพัดหรือกรวย (ดัดแปลงและปรับปรุงจาก Ross DW. Atlas of Automated Cytochemical Hematology. 1988 : 21)

4) การติดตามการเปลี่ยนแปลงเลือดในผู้ป่วยมะเร็งที่รักษาด้วยเคมีบำบัดและได้รับ cytokines

ผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับเคมีบำบัดซึ่งกวดการทำงาน ของไขกระดูกและได้รับ cytokines เช่น recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF), erythropoietin เป็นต้น มีการเปลี่ยนแปลง

ของเลือดอย่างมากและจำเป็นต้องติดตาม จากการใช้ เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติตระกูล Technicon H พบว่าสามารถนำมาใช้ติดตามการรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽²⁶⁻²⁷⁾ และพบว่า ค่า MPXI สูงขึ้น นอกจากนี้ยังใช้ศึกษาเซลล์ตัวอ่อนที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นของ rhG-CSF ได้⁽²⁹⁾ (รูปที่ 10)



รูปที่ 10. แสดงลักษณะ peroxidase activity และ basophil study ในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ได้รับเคมีบำบัดและได้รับ rhG-CSF มีการกระจายของเซลล์ในกลุ่ม peroxidase สูงขึ้น และเซลล์มีลักษณะตัวโตขึ้น ใน basophil histogram แสดงลักษณะการกระจายของเซลล์ทางด้านซ้ายสูงขึ้น โดยค่า LI ลดลง คือเกิด shift to the left นั่นเอง (ดัดแปลงและปรับปรุงจาก Charuruks N, et al. Chula Med J 1994; 38: 553-63)

5) การศึกษาการทำงานของเกร็ดเลือด

การศึกษาการทำงานของเกร็ดเลือด โดยทั่วไป ทำโดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเกร็ดเลือด เช่น ผนังของเกร็ดเลือด, สารที่บรรจุใน granules, การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัญญาณของเกร็ดเลือดเองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เป็นต้น นอกจากนี้ยังศึกษาได้จากความสามารถในการเกาะติด (adhesion), การเกาะจับกัน (aggregation), การหลั่งสารสำคัญต่างๆ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของเมตะ-บอิลิซึมต่างๆ แต่วิธี

การเหล่านี้ล้วนใช้เวลาและยุ่งยาก การศึกษาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาตรของเกร็ดเลือด (mean platelet volume, MPV) ที่ใส่และไม่ใส่สารกันเลือดแข็ง EDTA (dMPV) ถูกนำมาใช้และพบว่ามีความสัมพันธ์กับการศึกษาการทำงานของเกร็ดเลือดเป็นอย่างดี⁽³⁰⁾

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยทั้ง congenital และ acquired myeloperoxidase deficiency,^(10,29,31) myelodysplastic syndrome,⁽³²⁾ hereditary spherocytosis(HS),⁽³³⁾ เป็นต้น

เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในตระกูล Technicon มีความถูกต้อง แม่นยำสูง สะดวก และรวดเร็ว⁽³⁴⁾ แต่อย่างไรก็ดียังคงมีข้อจำกัดและปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจที่ต้องระมัดระวัง⁽³⁵⁾ ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบการทำงานระหว่างวิธีมาตรฐานคือ conventional manual method กับการทำงานของเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในตระกูล Technicon ตารางที่

3 ได้รวบรวมปัจจัยและข้อจำกัดต่างๆที่อาจมีผลต่อการตรวจวิเคราะห์เลือดโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติดังกล่าว เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติมีความเหมาะสมอย่างยิ่งต่อการตรวจกรองเลือดทั่วไป เพราะสามารถทำงานได้อย่างรวดเร็ว และมีความถูกต้อง แม่นยำสูง ส่วนในการตรวจวิเคราะห์เลือดในโรคต่างๆ นั้นเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติได้แสดงลักษณะ

ตารางที่ 2. แสดงข้อเปรียบเทียบในวิธีการตรวจวิเคราะห์เลือดระหว่างวิธีมาตรฐานและการใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ Technicon H series manual method VS Technicon H)

Parameters	Manual Method	Technicon H series
การตรวจนับจำนวน		
- Rbc count	เจือจางเลือดแล้ว fill ใน counting chamber แล้วนับโดยใช้กล้องจุลทรรศน์	เซลล์ที่ละเซลล์ไหลเรียงเดียว ผ่านแสง laser เกิดสัญญาณตรวจจับด้วย photodiode (Light scatter method)
- Wbc count		
- Platelet count		
การตรวจหา		
- Hb	Cyanmethemoglobin	Cyanmethemoglobin และ Light scatter method ตรวจสอบซึ่งกันและกัน
- Hct	Centrifugation	คำนวณจาก MCV และ Rbc count
- Rbc indices	คำนวณ	คำนวณ
- RDW, HDW, MPV, PIt. Hct	-	Light scatter method
Rbc morphology		
- Anisochromia	PBS } ต้องใช้ผู้มีความรู้และมีความชำนาญ	Rbc histogram และ Hb conc. histogram
- Anisocytosis		
- Poikilocytosis		
Wbc diff		
- Wbc diff. (%)	PBS นับ Wbc 100 เซลล์	Light scatter และ Cytochemistry
- Absolute Wbc diff	-	Light scatter และ Cytochemistry
- MPXI	-	Light scatter และ Cytochemistry
Wbc morphology	PBS ต้องใช้ผู้มีความรู้ และความชำนาญ	Light scatter และ Cytochemistry (ในกรณีที่มีผิดปกติเครื่องจะเตือนด้วย WBC FLAGS)

ตารางที่ 3. แสดงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการรายงานผลของเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ และการแก้ไข (ดัดแปลงและปรับปรุงจาก Charuruks N, et al. Chula Med J 1993 Dec; 37 (12) : 715-20

ปัจจัย	ผลต่อ parameters	คำอธิบาย และ การแก้ไข
Autogglutination	↓ RBC, Hct ↑ MCV, MCHC	- ทำให้เกิดการจับของเซลล์และถูกนับรวมเป็นเซลล์เดียว - แก้ไขโดยการอุ่นเลือดที่ 37°C ก่อนการตรวจ, และใช้การปั่นตรวจหา Hct หมายเหตุ โดยหลักการ Light scatter และการใช้ตัวรับสัญญาณ 2 มุม ทำให้สามารถลดปรากฏการณ์ coincidence loss
Carboxyhemoglobin	↓ Hb	- เกิดจากการเปลี่ยนจาก Carboxyhemoglobin เป็น cyamethemoglobin ซ้ำ - แก้ไขโดยทำการตรวจหา Hb โดยวิธี manual และใช้ความเข้มข้นของ ของน้ำยาเป็น 5 เท่าของปกติ เพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น หมายเหตุ โดยหลักการ Light scatter และการใช้ตัวรับสัญญาณ 2 มุม ทำให้สามารถวัดความเข้มข้นของ Hb ภายในเซลล์โดยตรงได้
Clotting	↓ all cell count, Hb	- ทำการตรวจจากตัวอย่างใหม่
Cryoglobulin, Cryofibrinogen	↑ RBC,Hb,Hct,WBC, platelets	- ทำให้เกิดการจับของ amorphous material - แก้ไขโดยการอุ่นเลือดที่ 37°C ก่อนการตรวจ,ถ้าไม่ได้ผลให้ทำการตรวจหาโดยวิธี manual
Giant platelets	↓ platelet count,MCH, MCHC ↑ RBC,Hct,variable MCV	- ทำให้เกิดการนับผิดเป็น RBC - แก้ไขโดยทำการตรวจหาโดยวิธี manual หมายเหตุ โดยหลักการ Light scatter และการใช้ตัวรับสัญญาณ 2 มุม ทำให้สามารถวัดความเข้มข้นของ Hb ภายในเซลล์โดยตรงได้ และแยกเซลล์เม็ดเลือดแดงจากเกร็ดเลือดจากความแตกต่าง ที่เม็ดเลือดแดงมี Hb ในขณะที่เกร็ดเลือดไม่มี
Hemolysis (in vivo)	↑ MCH,MCHC	- เนื่องจากกระทบค่า Hb เพราะจะเป็นค่ารวมของทั้งใน plasma และRBC แต่ค่า cell count และ Hct ไม่ถูกกระทบ
Hemolysis (in vitro)	↓ RBC,Hct ↑ platelet count, MCH,MCHC	- เนื่องจาก RBC แตก และปลดปล่อย Hb ออกจากเซลล์ที่แตกนี้ซึ่งจะถูกนับผิดเป็นเกร็ดเลือด - ค่า Hb ไม่ถูกกระทบ แต่ค่า Hct และ RBC ถูกกระทบ - แก้ไขโดยการตรวจตัวอย่างใหม่
Heparin	↑ WBC,Hb ↓ platelet count	- เนื่องจาก heparin ทำปฏิกิริยากับ lysing reagents ทำให้ WBC และ Hb สูงขึ้น - และยังทำให้เกร็ดเลือดเกาะกันลดจำนวนนับของเกร็ดเลือด - แก้ไขโดยการตรวจตัวอย่างที่ใช้ EDTA

ปัจจัย	ผลต่อ parameters	คำอธิบาย และ การแก้ไข
High WBC (>50,000/ μL)	↑ Hb,RBC,Hct,MCV, MCH ↓ MCHC	- เนื่องจากทำให้เกิดความขุ่นและถูกนับปะปนกับ RBC - แก้ไขโดยการตรวจ Hct โดยวิธีปั่น และ ตรวจ Hb โดยวิธี manual โดยปั่น แยก WBC ออกก่อน ส่วนการนับ RBC ให้แก้ไขโดยการลบค่านับ WBC
High WBC (>99,999/ μL)	ไม่แสดงค่านับ WBC	- แก้ไขโดยการเจือจางเลือดตัวอย่างด้วย normal saline
Hyperbilirubinemia	↑ Hb	- เนื่องจาก bilirubin รบกวนการวัด absorbance - แก้ไขโดยใช้สูตร $\text{Corrected Hb} = \text{whole blood Hb} - (1 - \text{Hct}) \times \text{plasma Hct}$
Hyperglycemia (>600 mg / dL)	↑ MCV,Hct ↓ MCHC	- เนื่องจากเกิด hyperosmolar ทำให้น้ำไหลเข้าไปเซลล์ ทำให้เซลล์โตขึ้น - แก้ไขโดยการเจือจางเลือดตัวอย่างที่ตรวจ และปล่อยให้ตัวอย่างเลือดเกิด equilibrium ก่อน โดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาที หลังการเจือจาง
Lipemia	Hb	- เนื่องจากทำให้เกิดความขุ่น - แก้ไขโดยใช้สูตร $\text{Corrected Hb} = \text{whole blood Hb} - (1 - \text{Hct}) \times \text{plasma Hct}$
Microcytic RBC	↑ MCV,Hct	- เนื่องจากถูกนับรวมกับเกร็ดเลือด - แก้ไขโดยการตรวจด้วยวิธี manual
Monoclonal proteins	↑ WBC,Hb	- เนื่องจาก monoclonal proteins มีปริมาณสูงจะตกตะกอนและถูกนับรวม เป็น WBC - แก้ไขโดยการตรวจด้วยวิธี manual โดยการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำยา Drabkin หรือโดยการเติม nonionic detergent
Nucleated RBC	↑ WBC	- เนื่องจากถูกนับรวมกับ WBC - แก้ไขโดยใช้สูตร $\text{True WBC} = \frac{\text{instrument count} \times 100}{100 + \text{NRBC}}$ หมายเหตุ NRBC คือจำนวน NRBC ที่นับได้จากการนับ WBC จำนวน 100 เซลล์
Platelet clumping	↑ platelet count	- เนื่องจากถูกนับรวมกับ WBC - แก้ไขโดยการปรับปรุงการเก็บตัวอย่างเลือดให้ถูกต้อง โดยใช้ EDTA และ ผสมเลือดกับ EDTA ให้เข้ากันดี
Smudge cells	↓ WBC	- แก้ไขโดยการตรวจด้วยวิธี manual
WBC fragments	↑ platelet count	- แก้ไขโดยการตรวจด้วยวิธี manual

เฉพาะของโรคต่างๆ นั้นอย่างน่าสนใจ ดังได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น การผสมผสานเทคโนโลยีเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติเข้ากับวิธีมาตรฐาน คือ conventional manual method เพื่อกำจัดข้อจำกัดของแต่ละวิธี ทำให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์เลือดที่สมบูรณ์และเปี่ยมด้วยคุณค่าโดยเฉพาะเลือดที่มีความผิดปกติ ฉะนั้นการรู้หลักการ ประโยชน์ และปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์เลือดด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ และการรู้จักการผสมผสานเทคโนโลยี เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติเข้ากับวิธีมาตรฐาน สามารถก่อให้เกิดความรู้ที่ทันสมัยทันยุคที่ทรงคุณค่ายิ่งและเป็นการรู้จักใช้เทคโนโลยีให้ได้รับประโยชน์สูงสุด

ในปัจจุบันนี้เครื่องตรวจวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติในตระกูล Technicon เช่น Technicon H*3 RCT หรือ RTX ได้พัฒนาให้สามารถตรวจหาจำนวนเรติคูลโลไซท์ (reticulocyte count) โดยแสดงค่าตรวจเป็นร้อยละ และค่าสัมบูรณ์ นอกจากนี้ยังสามารถบอกสัดส่วนของกลุ่มเซลล์เรติคูลโลไซท์ในระยะเวลาต่างๆ ของการพัฒนาเจริญวัยที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนี้บริษัทอื่น ๆ ได้พัฒนาเครื่องตรวจวิเคราะห์เซลล์เรติคูลโลไซท์ที่มีประสิทธิภาพสูงเป็นที่น่าสนใจอีกหลายบริษัท รายละเอียดของการตรวจวิเคราะห์เรติคูลโลไซท์นี้จะได้กล่าวในโอกาสต่อไป

อ้างอิง

1. สถิติโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2537. รวบรวมและจัดทำโดยแผนกเวชระเบียนและสถิติ. กรุงเทพฯ: โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์. 2538.
2. สถิติโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2535. รวบรวมและจัดทำโดยแผนกเวชระเบียนและสถิติ. กรุงเทพฯ: โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์. 2536.
3. สถิติโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ 2536. รวบรวมและจัดทำโดยแผนกเวชระเบียนและสถิติ. กรุงเทพฯ: โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์, 2537.
4. Krailadsiri P. Automated blood cell analyzers. Chula Med J 1992 Jul ; 36(7) : 489-97
5. Ryan DH. Automated analysis of blood cells. In : Hoffman R, Benz EJ Jr., Shattil SJ, eds. Hematology: Basic Principles and Practice. 2nd ed New York: Churchill Livingstone, 1995 : 2223-35
6. Tycko DH, Metz MH, Epstein EA, Grinbaum A. Flow-cytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration. Appl Optics 1985 May ; 24(9) : 1355-65
7. Kim YR, Ornstein L. Isovolumetric spherizing of erythrocytes for more accurate and precise cell volume measurement by flow cytometry. Cytometry 1983 May; 3(6) 419-27
8. Mohandas N, Kim YR, Tycko DH, Orlik J, Wyatt J, Groner W. Accurate and Independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering. Blood 1986 Aug; 68 (2) : 506-13
9. Saw D, Tham KT. Medical practice clinical applications of an automated haematology analyser. J Hong Kong Med Assoc 1988 ; 40(3): 219-22
10. Charurus N. Myeloperoxidase measurement by automated blood cell analyzer. Chula Med J 1994 Oct ; 38(10) : 553-63
11. Bessman JD, Gilmer PR PR, Gardner FH. Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol 1983 Sep; 80(3): 322-6

12. DeCresce R. Technicon H*1 : a discrete fully automated complete blood count and differential analyzer. *Lab Med* 1986; 17 (1): 17-21
13. Green R. Direct measurement of red cell hemoglobin concentration and volume distribution in iron deficiency anemia. In: Niitsu Y, ed. *Current Topics and Future Prospects of Iron deficiency Anemia*. Eisai Round-Table, Brisbane: Australia, 1989: 33-42
14. Patton WN, Cave RJ, Harris RIA study of changes in red cell volume and haemoglobin concentration during phlebotomy induced iron deficiency and iron repletion using the Technicon H*1. *Clin Lab Haemat* 1991; 13(2): 153-61
15. Bunyaratvej A, Fucharoen S, Hathirat P, Saw D, Butthep P. Discrimination between the two genotypes of hemoglobin H disease using the H*1 system. *ASCP/CAP Fall Meeting and Exhibitions*. Washington DC, Oct 28-Nov 3, 1989.
16. Bunyaratvej A, Fucharoen S, Butthep P, Saw D. Flow cytometric analysis of thalassemia carrier states. *ASCP/CAP Fall Meeting Exhibitions*. Washington DC, Oct 28-Nov 3, 1989.
17. Ross DW, Henderson AS. Quantitative changes in cellular myeloperoxidase content as a measure of granulocyte maturation. XII Congress of the International Society of Hematology, Milan, 1988 : Abstract SYM-M-6-1
18. Taylor C, Bain BJ. Technicon H.1 automated white cell parameters in the diagnosis of megaloblastic erythropoiesis. *Eur J Haematol* 1991 Apr; 46(4): 248-9
19. Wenz B, Ramirez MA, Burns ER. The H*1 hematology analyzer. Its performance characteristics and value in the diagnosis of infectious disease. *Arch Pathol Lab Med* 1987 Jun ; 111 (6): 521-4
20. Banez EI, Bacaiing JHD. An evaluation of the TECHNICON H*1 automated hematology analyzer on detecting peripheral blood changes in acute inflammation. *CAP/ASCP meeting*. Spring 1987 (abstract).
21. Han P.H*1 Technology for white cell differential : usefulness in diagnosis of infections. *Satellite Symposium VII Congress Asia Pacific Division, ISH* November 18, 1991. Hong Kong, 1991.
22. Bunyaratvej A, Butthep P, Bunyaratvej P. Cytometric analysis of blood cells from malaria-infected patients and in vitro infected blood. *Cytometry* 1993 ; 14 (1): 81-5
23. Kawarabayashi K, Tsuda I, Tatsumi N, Okuda K. Leukemia blasts detected by the Technicon H-1 blood cell counter. *Am J Clin Pathol* 1987 Nov ; 88(5):624-7
24. Krause JR, Costello RT, Krause J, Panchansky L. Use of the Technicon H-1 in the characterization of leukemias. *Arch Pathol Lab Med* 1988 Sep ; 112 (9) : 889-94
25. D'Onofrio G, Mancini S, Leone G, Bizzi B, Mango G. Identification of blast cells in

- peripheral blood through automatic assessment of nuclear density : a new tool for monitoring of patients with acute leukemia. *Br J Hematol* 1987 Aug ; 66(4) : 473-7
26. Ross DW, Kocher WD, Maxwell ID, Kadin MG, Krause JR, Richar WJ. Malignant WBC disorders. In: Simson E, Ross DW, Kocher WD, eds. *Atlas of Automated Cytochemical Hematology*. New York: Technicon Instruments, 1988: 71-107
27. Charuruks N, Krailadsiri P, Voravud N. Hematologic effect of recombinant human colony-stimulating factor in patient receiving myelosuppressive chemotherapy. *Chula Med J* 1994 Sep ; 38(9) : 515-27
28. Charuruks N, Krailadsiri P, Voravud N, Nitipaijit N, Srisink N, Settapiboon R. Changes in white blood cells and myeloperoxidase activity in rhG-CSF prophylactic patients receiving cytotoxic chemotherapy. *J Med Assoc Thai* 1994 Aug ; 77(8) : 426-34
29. Charuruks N, Krailadsiri P, Voravud N. Alkaline phosphatase activity and peripheral changes of granulocyte following prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor. *J Med Assoc Thai* (accepted)
30. Vickers MV, Ip AHL, Cutts M, Tandy NP, Seghatchain MJ. Characteristics of platelet concentrations, with particular reference to Autopheresis C Plateletcell : correlation between dMPV and other tests for platelet function *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991 Apr;2:(2) 361-6
31. Parry MF, Root RK, Metcalf JA, Delaney KK, Kaplow LS, Richar WJ. Myeloperoxidase deficiency: prevalence and clinical significance. *Ann Intern Med* 1981 Sep ; 95(3) : 293-301
32. Waton JS, Ross DW. Characterization of myelodysplastic syndromes by flow cytochemistry with the Technicon H-1. *Med Technol* 1987 ; 18(1) : 18-28
33. Ialongo P, Vignetti M, Cigliano G, Amadori S, Mandelli F. Flow cytometric measurement (H-1 Technicon) of microcytic and hyperchromic red cell populations in pediatric patients affected by hereditary spherocytosis (HS). *Haematologica* 1989 Nov-Dec;74(6) : 547-53
34. Bollinger PB, Drewinko B, Brailas CD, Smeeton NA, Trujello JM. The Technicon H-1-an automated hematology analyzer for today and tomorrow. Complete blood count parameters. *Am J Clin Pathol* 1987 Jan; 87 (10): 71-8
35. Charuruks N, Krailadsiri P. Factors causing the spurious results for hematological tests in automated blood cell analyzer. *Chula Med J* 1993 Dec; 37 (12): 715-20