

บทความพื้นวิชา

Diagnosis from the Blood Smear

กิตติ ต่อจรัส

กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า

ปัจจุบันมีการนำเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ (automated blood - cell analyzers) มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการซึ่งได้ผลถูกต้องและรวดเร็ว การตรวจสเมียร์เลือด (blood smear) จึงถูกลดบทบาทลงไปน้อยกว่าร้อยละ 10 - 15 อย่างไรก็ตาม การตรวจสเมียร์เลือดมีราคาถูกกว่า แม้วางยังต้องอาศัยขั้นตอนในการเตรียม ใช้บุคลากรที่มีทักษะในการแปลผล แต่ยังเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการช่วยการวินิจฉัยที่สำคัญ (crucial diagnosis aid)¹ ตารางที่ 1 แสดงข้อบ่งชี้ทางคลินิกที่ต้องตรวจสเมียร์เลือด เพื่อการวินิจฉัยเบื้องต้น (provisional diagnosis) เพื่อวินิจฉัยแยกโรค และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ต่อไป

หลักการวินิจฉัยจากการตรวจสเมียร์เลือด

การวินิจฉัยโรคนอกจากการใช้ข้อมูลประวัติ การตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นได้แก่ CBC, Urine examination แล้วการตรวจสเมียร์เลือดจะทำให้สามารถวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยาได้มากกว่าครึ่งหนึ่ง² โดยสเมียร์เลือดต้องไม่ผิดปกติ มีการเขียนชื่อหรือหมายเลขประจำตัวผู้ป่วยถูกต้อง คุณภาพการย้อมติดสีต้องดีสามารถแยกแยะและแปลผลได้ และการเลือกตำแหน่งของสเมียร์เลือดเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ต้องถูกต้องเหมาะสม

สมมีการกระจายของเม็ดเลือดชนิดต่างๆ อย่างเหมาะสม ไม่ซ้อนกัน

การตรวจสเมียร์เลือด ผู้ตรวจต้องดูด้วยกล้องใช้กำลังขยายต่ำ (10X10) ก่อนเสมอ เพื่อดูคุณภาพของสไลด์ (slide) การติดสีรวมทั้งจะให้เห็นภาพทั่วไป ของเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกร็ดเลือด โดยจะทำให้เห็นเม็ดเลือดขาวที่ผิดปกติได้ง่ายขึ้น แล้วจึงตรวจดูเม็ดเลือดทุกชนิดในสเมียร์เลือดนั้น

รูปร่างเม็ดเลือดแดง (red cell morphology)

เม็ดเลือดแดงปกติมีขนาด 7.2 - 7.9 μm . รูปร่างเป็น biconcave disc ขอบติดสี hemoglobin ตรงกลางไม่ติดสี (clear central area) สามารถดูปริมาตร (MCV) ได้จากเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ การดู blood smear จะช่วย confirm ผลที่เครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติและยังเป็นการช่วยวินิจฉัยโรคได้ง่ายและรวดเร็ว คัพท์ต่อไปนี้จะใช้ในการบรรยายลักษณะต่างๆ ของเม็ดเลือดแดง³

- Normocyte เม็ดเลือดแดงมีขนาดปกติ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.2 - 7.9 μm
- Microcyte เม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กกว่าปกติ
- Macrocyte เม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่กว่าปกติ
- Anisocytosis เม็ดเลือดแดงที่มีขนาดเล็กใหญ่ปะปนกัน

ตารางที่ 1 Clinical indication for examination of a blood smear

1. Anemia และหรือ unexplained jaundice
2. เลือดออกผิดปกติ ได้แก่ petechiae, bruising (thrombocytopenia)
3. Unexpected or severe infection (neutropenia)
4. อาการทางคลินิกของมะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลืองและโรคลกลุ่ม myeloproliferative disorders เช่น ซีด ต่อมน้ำเหลืองโต ม้ามโต น้ำหนักลด เป็นต้น
5. Disseminated intravascular coagulation (DIC)
6. โรคติดเชื้อไวรัส เช่น ไข้เลือดออก
7. โรคติดเชื้อปรสิต เช่น มาลาเรีย

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 9 พฤศจิกายน 2553 ได้ตีพิมพ์เมื่อ 9 พฤศจิกายน 2553

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พ.อ.กิตติ ต่อจรัส กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

- Poikilocytosis เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างต่างจากปกติ ลักษณะที่จำเพาะสามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ง่ายขึ้น (diagnostic clue) ตามตารางที่ 2
 - Normochromia การติดสีเม็ดเลือดแดงปกติ มี clear central area (central pallor) น้อยกว่า 1/2 ของเส้นผ่าศูนย์กลางเม็ดเลือดแดง
 - Hypochromia เม็ดเลือดแดงติดสีจาง มี increase central pallor ป่งถึงการสร้าง hemoglobin ได้น้อยลง
 - Polychromasia เม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่ติดสีม่วง
 - Spherocyte เม็ดเลือดแดงขนาดเล็กติดสีเต็มเซลล์ ไม่มี central pallor
 - Target cell เม็ดเลือดแดง ตรงกลางติดสีกลมล้อมด้วย clear area และที่ขอบมีสีของ hemoglobin ลักษณะเหมือนเป้าหรือตาวัว (bulls eye)
 - Rouleaux formation เม็ดเลือดแดงจับกลุ่ม (aggregates) เรียงซ้อนกันเหมือนเหรียญซ้อนกัน
- Pathology of reticulocyte and cell จะพบ inclusion bodies ในเม็ดเลือดแดงเมื่อย้อมด้วย Wright-stain ได้แก่
- Howell-Jolly bodies เป็นเม็ดติดสีม่วงแดงขนาด 5 μm เป็นส่วนที่หลงเหลืออยู่ nucleus ของเม็ดเลือดแดง
 - Cabot rings เป็นวงแหวนหรือ figure-of-eight ในเม็ดเลือดแดง
 - Basophilic stippling เป็นเม็ดติดสีน้ำเงินเข้มหลายขนาด (granulations)
- Inclusion bodies ที่พบได้จากการย้อมด้วย supravital stain ด้วยสี Brilliant eyestal หรือ new methylene blue (ตารางที่ 3)⁵ ได้แก่
- Heinz bodies เป็นเม็ดขนาดใหญ่ เกิดจาก denatured

ตารางที่ 2 แสดงรูปร่างของเม็ดเลือดแดงและความสัมพันธ์กับโรค

ลักษณะเม็ดเลือดแดง	โรคที่พบ
1. Echinocyte (burr cell)	- Uremia, liver disease, low - potassium red cell, carcinoma of stomach
2. Acanthocyte (spur cell)	- Abetalipoproteinemia, alcoholic liver disease, postsplenectomy state, malabsorptive states
3. Stomatocyte (mouth cell)	- Hereditary spherocytosis, hereditary stomatocytosis, alcoholism, cirrhosis, obstructive liver disease
4. Spherocyte	- Hereditary spherocytosis immune hemolytic anemia
5. Elliptocyte (ovalocyte)	- Hereditary elliptocytosis, thalassemia, iron deficiency, megaloblastic anemia, myelophthistic anemia
6. Schistocyte (helmet cell)	- Microangiopathic hemolytic anemia (TTP, DIC, vasculitis, glomerulonephritis, renal graft rejection) heart-valve hemolysis (prosthetic or pathologic valve), severe burns, march hemoglobinuria
7. Target cell	- Hemoglobinopathies (E, C), thalassemia, obstructive liver disease, iron deficiency, postsplenectomy state
8. Teardrop cell	- Myelofibrosis with myeloid metaplasia, myelophthistic anemia, thalassemia

ตารางที่ 3 แสดง red cell inclusions ในภาวะต่างๆ

Inclusion	โรคหรือภาวะที่พบ
Basophilic stippling	Thalassemia, unstable haemoglobin, lead poisoning, pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency
Howell-Jolly bodies	Asplenia, pernicious anemia, dyserythropoietic anemia, severe iron deficiency anemia
Cabot rings	Lead poisoning, pernicious anemia, iron deficiency anemia
Heinz bodies	G6PD deficiency after oxidant stress, thalassemia syndrome or unstable hemoglobin, in patient with asplenia or chronic liver disease
Siderocytes	Splenectomy, chronic infection, aplastic anemia or hemolytic anemia

proteins (hemoglobin)

- Hemoglobin H inclusions เป็นเม็ดเล็ก ๆ จำนวนมาก ทำให้มองดูเม็ดเลือดแดงเหมือนลูกกอล์ฟ (golf-ball-like) เกิดจาก impaired α -chain production ทำให้มี β -chain มาก เกิดเป็น β tetramers

ลักษณะเม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างต่างจากปกติ (poikilocytosis) ที่สำคัญมีดังนี้⁴

- Acanthocyte (spur cell) เม็ดเลือดแดงมีหนาม (tipped spicules) ยื่นออกมารอบๆ ตั้งแต่ 2 - 10 หนาม แต่ละหนามจะไม่เท่ากัน
- Echinocyte (burr cell) เม็ดเลือดแดงที่มีหนามยื่นออกมาเท่าๆ กัน (uniform dimension)
- Stomatocyte (mouth cell) เม็ดเลือดแดงขอบหนาไว้ตรงกลาง (central concavity) จะเห็นเป็นรูปาก (mouth cell)
- Schizocyte (schistocyte, helmet cell, fragmented cell) เม็ดเลือดแดงเป็นชิ้นส่วนหรือเสี้ยว (fragmentation)
- Elliptocyte (ovalocyte) เม็ดเลือดแดงรูปรี (oval)
- Sickle cell เม็ดเลือดแดงรูปเคียวเกี่ยวข้าว
- Teardrop cell (dacryocyte) เม็ดเลือดแดงเป็นรูปหยดน้ำตา
- Bite cell เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะแหงนหายไปบางส่วน ของเซลล์

การรายงานผล blood smear⁶

- การติดสีของ RBC สามารถรายงานได้เป็นระดับดังตัวอย่าง
 Hypochromia คือ ภาวะที่เม็ดเลือดแดงมี hemoglobin content ต่ำกว่าปกติทำให้เม็ดเลือดแดงติดสีน้อยเห็น central pallor มากกว่า 1 ใน 3 ของเส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดเลือดแดง ให้รายงานดังดังนี้
 Hypochromia 1+ เม็ดเลือดแดงที่ติดสีน้อยกว่าปกติ เห็น central pallor มากกว่า 1 ใน 3 ของเส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดเลือดแดงแต่ไม่ถึงร้อยละ 50 ของเซลล์
 Hypochromia 2+ เม็ดเลือดแดงติดสีน้อยกว่าปกติเห็น central pallor กว้างประมาณครึ่งของเซลล์
 Hypochromia 3+ เม็ดเลือดแดงที่ติดสีน้อยกว่าปกติเห็น central pallor กว้างมากกว่าครึ่งของเซลล์
 Hypochromia 4+ เม็ดเลือดแดงติดสีที่เฉพาะบริเวณขอบเซลล์เท่านั้น (ghost cell)

2. ความแตกต่างของรูปร่างเม็ดเลือดแดงที่เรียกว่า poikilocytosis สามารถรายงานได้เป็นระดับคือ

- Poikilocytosis few เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างต่างไปจากเซลล์ปกติมีจำนวนน้อยกว่าร้อยละ 25 ต่อ oil field
- Poikilocytosis 1+ เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างต่างไปจากเซลล์ปกติมีจำนวนประมาณร้อยละ 25 ต่อ oil field
- Poikilocytosis 2+ เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างต่างไปจากเซลล์ปกติมีจำนวนประมาณร้อยละ 50 ต่อ oil field
- Poikilocytosis 3+ เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างต่างไปจากเซลล์ปกติมีจำนวนประมาณร้อยละ 75 ต่อ oil field
- Poikilocytosis 4+ เม็ดเลือดแดงเกือบทั้งหมดมีรูปร่างต่างไปจากเซลล์ปกติ

รูปร่างของเม็ดเลือดขาว (leukocyte morphology)

- Neutrophils มีขนาด 10 - 14 μ m, nucleus เป็น lobe จำนวน 2 - 5 lobes เชื่อมต่อเข้ากันด้วย chromatin thread ในผู้หญิงอาจจะพบลักษณะเหมือนไม้ตีกลอง (drumstick) ที่ lobe ใดได้ cytoplasm จะใส (clear) มี pink granules
- Bands ลักษณะเหมือน neutrophil แต่ nucleus เป็นรูป U - shaped
- Eosinophils จะใหญ่กว่า neutrophils เล็กน้อย มี 2 lobes ลักษณะจำเพาะคือ มี orange-red granules ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าของ neutrophils
- Basophils ขนาดเล็กกว่า neutrophils ลักษณะจำเพาะมี large deeply basophilic granules
- Lymphocytes มี 2 ขนาดคือ small lymphocyte ขนาด 10 μ m และ large lymphocyte ขนาด 20 μ m, small lymphocyte จะพบมากกว่ามี nucleus กลมติดสีเข้ม (densely stained) และ chromatin หยาบ (coarse masses), cytoplasm จำนวนน้อย (scanty) ติดสีน้ำเงิน large lymphocyte จะมี nucleus

ใหญ่เป็นหยัก (indented) อาจพบ nucleoli, cytoplasm จำนวนมาก อาจพบ azurophilic ได้

Monocyte มีขนาดใหญ่สุดตั้งแต่ 15 - 22 μm , nucleus มีหลายรูปแบบ ได้แก่ round, kidney-shaped, oval, lobulated ส่วนมากจะพบ nucleus พับ (folded) ลักษณะ chromatin เป็น fine strands, cytoplasm ติดสีฟ้าหรือเทา มี fine purple granules

Artefact²

อาจพบเม็ดเลือดขาวที่มี damage หรือแตก อาจเห็นแต่เพียง nucleus ไม่เห็น cytoplasm เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า smudge cell และบางทีเห็นเป็นเส้นสายโยงจาก nucleus ที่ไม่มี cytoplasm เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า basket cell พวก damaged cell เหล่านี้เป็นเซลล์ที่มีความเปราะ มักพบจำนวนมากในรายที่เป็น lymphoid leukemia (เมื่อยังไม่ได้รับการรักษา)

เม็ดเลือดขาวที่อยู่ใน EDTA เพียงประมาณครึ่งชั่วโมงจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น เช่น nucleus ของ neutrophil จะบวม chromatin net work จะหายไป บางครั้ง nucleus ของ neutrophil เปลี่ยนเป็นรูปกลมคล้าย Pelger Huet anomaly แต่ nucleus ไม่มี chromatin pattern มี vacuole เกิดขึ้นใน cytoplasm ของ neutrophil และ monocyte จะเปลี่ยนรูปมี nucleus ลักษณะเป็นกบิลีๆ (radial segmentation of nucleus) ในบริเวณที่เสมีียร์หนา คือส่วนต้นของเสมีียร์จะแห้งซำกว่าบริเวณอื่น เม็ดเลือดแดงจะเรียงตัวเป็น rouleaux (artefact) เม็ดเลือดขาวจะหดตัวและติดสีเข้ม ทำให้แยกชนิด mononuclear cell จากกันได้ง่าย

รูปร่างของเกร็ดเลือด (Platelet morphology)

Platelets จะติดสีน้ำเงิน หรือสีจาง มี purple granule ขนาด 1 - 2 μm จำนวนที่พบเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 X (oil-immersion field) จะพบ 8 - 15 ตัว

CellaVision™ DM96

เป็นเครื่องอ่านและแปลผลเสมีียร์เลือดอัตโนมัติ⁷ สามารถตรวจลักษณะความผิดปกติของเม็ดเลือดแดง นับแยกเม็ดเลือดขาว smudge cell, nucleated red blood cells (NRBC) และลักษณะของเกร็ดเลือดที่ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ในการเก็บข้อมูล

ภาพถ่ายของเสมีียร์เลือดโดยแพทย์สามารถเรียกดูภาพถ่าย (image file) ได้ทาง computer online หรือ hospital management system (HMS) ที่เครื่องคอมพิวเตอร์ ณ ห้องตรวจโรคหรือห้องผู้ป่วย โดยมีค่าความถูกต้องแม่นยำ (precision) ของเครื่องเกี่ยวกับการตรวจเสมีียร์เลือดโดยเปรียบเทียบกับผู้เชี่ยวชาญ พบว่ามี accuracy 98% แต่ข้อจำกัดคือให้ค่า accuracy กับ basophil, immature granulocyte และ NRBC เป็น 83, 86 และ 82% นอกจากนี้ราคายังแพงกว่าการตรวจด้วยเสมีียร์เลือด

สรุป

การตรวจเสมีียร์เลือดยังเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการวินิจฉัยโรค แพทย์ควรจะต้องดูเสมีียร์เลือดเสมอเพื่อทำให้การวินิจฉัยได้ง่ายและรวดเร็ว ลดขั้นตอนการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่ไม่จำเป็นและเป็นภาระหดยศค่าใช้จ่ายประกอบกับสามารถทำได้ในทุกห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

เอกสารอ้างอิง

- Bain BJ. *Current concepts diagnosis from the blood smear.* *N Engl J Med* 2005;5:498-507.
- อนงค์ เพียรกิจกรรม หลักการวินิจฉัยโรคจากการตรวจเสมีียร์เลือดและโรคที่การตรวจเสมีียร์เลือดอาจชี้แนะโรคได้. เอกสารประกอบการสอน ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง อนงค์ เพียรกิจกรรม สาขาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล.
- Ryan DH. *Examination of the blood.* In : Beutler E, Lichtman MA, Coller RS, Kipps TJ, Seligsohn U, eds. *Williams Hematology.* 6th ed. New York: McGraw-Hill, Inc., 2001:9-16.
- Bull BS. *Morphology of the erythron.* In : Beutler E, Lichtman MA, Coller RS, Kipps TJ, Seligsohn U, eds. *Williams Hematology.* 6th ed. New York: McGraw-Hill, Inc., 2001:271-88.
- กิตติ ต่อจรัส A diagnostic approach to anemic patient ใน: กิตติ ต่อจรัส ปรีชาพันธ์ แสงอรุณ ยุพาพิน จุลไมกษ์ บรรณาธิการ. *Clinical practice in pediatrics: A Comprehensive approach.* กรุงเทพฯ: บริษัท รุ่งศิลป์การพิมพ์ 2548: 278-93.
- อ้อยทิพย์ ณ ถลาง, ภัสรา อาณัติ. การตรวจ Complete blood count. ใน: อ้อยทิพย์ ณ ถลาง บรรณาธิการ. *การตรวจทางพยาธิวิทยาคลินิก.* กรุงเทพฯ: บริษัท รุ่งศิลป์การพิมพ์ 2546: 6-21.
- Cornet E, Perol JP, Troussard X. *Performance evaluation and relevance of the CellaVision™ DM96 system in routine analysis and in patients with malignant hematological disease.* *Int. JnL. Hem.* 2008;30:536-42.