

เปรียบเทียบการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และการจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสโดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (Vision Hema® 8Pro) กับ การใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญที่เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยปัจจุบัน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2564  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Comparison between automated bone marrow aspirate smears analyzer(Vision Hema® 8Pro) and standard manual microscopic bone marrow examination in diagnosing acute myeloid leukemia and classification of myelodysplastic syndrome



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เปรียบเทียบการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และการจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสโดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (Vision Hema® 8Pro)กับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญที่เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยปัจจุบัน
โดย	น.ส.กฤษณา ปานรงค์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ

---

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชาย สิริพิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์กมล แก้วกิติณรงค์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงปนัดดา ศรีจอมขวัญ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(อาจารย์ แพทย์หญิงพิจิกา จันทราธรรมชาติ)

กฤษฎณา ปานรงค์ : เปรียบเทียบการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และการจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสโดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (Vision Hema® 8Pro) กับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญที่เป็นมาตรฐานในการวินิจฉัยปัจจุบัน. ( Comparison between automated bone marrow aspirate smears analyzer(Vision Hema® 8Pro) and standard manual microscopic bone marrow examination in diagnosing acute myeloid leukemia and classification of myelodysplastic syndrome) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. นพ.นภชาญ เอื้อประเสริฐ

ที่มา: การตรวจไขกระดูกถือเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยา การวิเคราะห์แปลผลไขกระดูกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาหรือพยาธิแพทย์ถือเป็นมาตรฐานในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกถือเป็นภาระงานที่ใช้เวลาค่อนข้างมาก ต้องอาศัยผู้มีความชำนาญมาก

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกอัตโนมัติในการช่วยวินิจฉัยแยกโรคในกลุ่มมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสโดยดูจากปริมาณของบลาสต์ในไขกระดูกเป็นหลัก และเปรียบเทียบการจำแนกสัดส่วนเซลล์แต่ละประเภทในสเมียร์ไขกระดูกของทั้งสองวิธี

ระเบียบวิธีวิจัย: การวิจัยนี้ศึกษาในตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกที่ทำในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ในช่วงปี พ.ศ.2561-พ.ศ.2563 โดยสนใจศึกษาในสเมียร์ไขกระดูก 140 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 4 กลุ่มเท่าๆกัน โดยตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกทั้งหมดในการวิจัยนี้จะถูกนำมาวิเคราะห์ 2 ครั้ง คือโดยเครื่อง Vision Hema® 8Pro และโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยา เพื่อนำผลการวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีมาเปรียบเทียบตามวัตถุประสงค์ต่อไป

ผลการศึกษา: จากการศึกษาในสเมียร์ไขกระดูกทั้งหมด 131 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย ไขกระดูกปกติ 31 ตัวอย่าง, ไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสชนิดบลาสต์น้อย 33 ตัวอย่าง, ไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอสชนิดบลาสต์มาก 33 ตัวอย่าง และไขกระดูกโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ 34 ตัวอย่าง พบว่าการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกเพื่อวินิจฉัยแยกกลุ่มโรคด้วยทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันในระดับปานกลางโดยมีค่าสัมประสิทธิ์แคปปาของโคเฮน เท่ากับ 0.50 และ ค่า  $p < 0.001$  สำหรับการจำแนกสัดส่วนเซลล์แต่ละประเภทในสเมียร์ไขกระดูกด้วยทั้งสองวิธี พบว่ามีความสอดคล้องค่อนข้างดีสำหรับ เซลล์ต้นกำเนิดของเม็ดเลือดแดงและเซลล์บลาสต์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน เท่ากับ 0.72 (ค่า  $p < 0.001$ ) และ 0.71 (ค่า  $p < 0.001$ ) ตามลำดับ

สรุปผล: จากการศึกษาข้างต้นนี้ แสดงให้เห็นว่าเครื่อง Vision Hema® 8Pro ยังไม่สามารถทดแทนแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส โดยดูจากปริมาณบลาสต์ การพัฒนาระบบการวิเคราะห์ของเครื่องและการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มโรคอื่นๆยังเป็นสิ่งจำเป็น

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

# # 6370129730 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: bone marrow aspirate smear, Bone marrow analysis, Automated bone marrow smears analysis, Acute myeloid leukemia, AML, Myelodysplastic syndrome, MDS

Krissana Panrong : Comparison between automated bone marrow aspirate smears analyzer (Vision Hema® 8Pro) and standard manual microscopic bone marrow examination in diagnosing acute myeloid leukemia and classification of myelodysplastic syndrome. Advisor: Assoc. Prof. NOPPACHARN UAPRASERT, M.D.

Background: Analysis of bone marrow aspirate (BMA) smear by an experienced hematologist or pathologist remains the gold standard for diagnosis and evaluation of many hematologic disorders. Nevertheless, it is labor-intensive, time-consuming, and requires well-trained hematologists/pathologists. We aimed to evaluate the performance of an automated BMA smear analyzer in the differential diagnosis of acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS).

Methods: BMA smears from King Chulalongkorn Memorial Hospital archives were analyzed twice; first using an automated analyzer, Vision Hema® 8Pro, and followed by an experienced hematologist using the standard microscopic examination. The primary outcome was to identify the concordance between an automated BMA smear analyzer and standard manual microscopic examination in diagnosis of AML and classification of MDS. The secondary outcomes were to compare blast counts and differential cell proportions by the two methods.

Results: One hundred thirty-one BMA smear specimens including 31 normal bone marrow, 33 low-blast count MDS, 33 MDS-excess blasts, and 34 AML were analyzed. The automated analyzer showed a moderate degree of agreement with standard microscopy (Cohen's kappa = 0.50, p-value < 0.001) and a strong correlation between the automatic and manual examination for blast counts (r=0.71, p<0.001).

Conclusion: This pilot study demonstrated that the digital microscope, Vision Hema® 8Pro, requires more extensive training for diagnosis of AML and classification of MDS. Further development of the BMA smear analytic system is crucial.

Field of Study: Medicine

Student's Signature .....

Academic Year: 2021

Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความอนุเคราะห์และสนับสนุนเป็นอย่างดีจาก รองศาสตราจารย์นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ อาจารย์ประจำสาขาวิชาโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ซึ่งสละเวลามาช่วยเหลือในการอ่านผลสเมียร์ไขกระดูกทั้งหมด เนื่องจากอาจารย์เป็นผู้มีความเชี่ยวชาญทั้งเรื่องโรคและความผิดปกติทางโลหิตวิทยา ทั้งยังมีประสบการณ์และความชำนาญในการแปลผลสเมียร์ไขกระดูก ยิ่งไปกว่านั้น อาจารย์ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการตรวจสอบความถูกต้องของการเขียนรายงานการวิจัย รูปแบบการเขียน การใช้ภาษาและการนำเสนอผลการวิจัยต่างๆ

ขอบพระคุณอาจารย์ท่านอื่นๆในหน่วยโลหิตวิทยา ที่เป็นผู้อ่านผลสเมียร์ไขกระดูกเดิมของผู้ป่วยและรุ่นพี่แพทย์สาขาโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทยทุกท่าน ที่เป็นผู้ทำการส่งตรวจไขกระดูก

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่หน่วยโลหิตวิทยา ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการเตรียมการทำและจัดเก็บสเมียร์ไขกระดูกไว้อย่างดี

ขอบพระคุณบริษัทพีซีแอล โฮลดิ้ง จำกัด และเจ้าหน้าที่ ที่ได้อนุเคราะห์ให้นำเครื่อง Vision Hema® 8Pro มาใช้ในงานวิจัยนี้ โดยทางบริษัทได้ให้อิสระแก่ผู้ทำวิจัยในการทำการวิจัย นอกจากนี้ทางบริษัทยังยินดีที่จะช่วยเหลือเสมอเมื่อทางผู้วิจัยมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการทำงานของเครื่อง ทำให้การเก็บข้อมูลดำเนินไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์ของทุกท่านที่กล่าวมา ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ ซึ่งมีส่วนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณบิดา มารดา เพื่อนร่วมงาน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจเสมอมา

กฤษณา ปานรงค์

## สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale).....	1
1.2 คำถามของการวิจัย (Research question).....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives).....	2
1.4 สมมติฐาน (Hypothesis).....	3
1.5 คำสำคัญ (Keywords).....	3
1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework).....	3
1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition).....	4
1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application).....	5
1.9 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the.....	5
problems).....	5
บทที่ 2.....	7

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	7
บทที่ 3 .....	10
วิธีดำเนินการวิจัย .....	10
3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design) .....	10
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology).....	10
<u>เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)</u> .....	10
<u>เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)</u> .....	10
3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size).....	11
3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย .....	12
3.5 วิธีการเข้าถึงตัวอย่างการวิจัย.....	15
3.6 การรวบรวมข้อมูล (Data collection).....	15
3.7 ข้อจำกัดในการวิจัย (Study limitations).....	15
3.8 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย.....	16
3.9 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis and Statistics).....	16
3.10 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical considerations).....	16
บทที่ 4 .....	18
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....	18
4.1 ตัวอย่างที่นำมาศึกษา .....	18
4.2 คุณลักษณะของตัวอย่างที่นำมาศึกษา.....	18
4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา.....	19
บทที่ 5 .....	22
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ .....	22
5.1 อภิปรายผล .....	22
5.2 ข้อดีของการศึกษานี้ .....	24



5.3 ข้อจำกัดของการศึกษานี้ .....	24
5.4 สรุปผลการวิจัย.....	24
5.5 ข้อเสนอแนะ.....	25
ภาคผนวก .....	26
บรรณานุกรม .....	27
ประวัติผู้เขียน .....	29



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงค่ามัธยฐานของ blast ในสเมียร์ไขกระดูกแต่ละกลุ่ม.....	19
ตารางที่ 2 แสดงความสอดคล้องของการวินิจฉัยแยกสีกลุ่มโรค โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและเครื่อง Vision Hema® 8Pro.....	20
ตารางที่ 3 แสดงความสอดคล้องในการจำแนกประเภทเซลล์แต่ละชนิดในสเมียร์ไขกระดูกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและเครื่อง Vision Hema® 8Pro.....	21



## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย .....	4
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะและจอแสดงผลของเครื่อง Vision Hema® 8Pro .....	13
ภาพที่ 3 แสดงลักษณะภาพที่สร้างจากเลนส์กำลังขยาย 10 เท่าของเครื่อง Vision Hema® 8Pro. 14	14
ภาพที่ 4 แสดงการรายงานผลการจำแนกสัดส่วนของเซลล์ประเภทต่างๆและภาพเซลล์ประเภทต่างๆ ภายหลังการสร้างภาพด้วยเลนส์กำลังขยาย 100 เท่าของเครื่อง Vision Hema® 8Pro .....	14
ภาพที่ 5 แผนภูมิแสดงตัวอย่างที่อยู่ในเกณฑ์คัดเข้าและคัดออกจากการวิจัย.....	18
ภาพที่ 6 แผนภูมิวงกลมแสดงสัดส่วนของจำนวนสเมียร์ไขกระดูกในแต่ละกลุ่ม .....	19

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

อุบัติการณ์ของโรคทางระบบโลหิต เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดมัยอีลอยด์ กลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น พบเพิ่มขึ้นทั่วโลก การตรวจหาความผิดปกติจากไขกระดูกถือเป็นขั้นตอนเบื้องต้นที่สำคัญสำหรับการวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยา

การตรวจไขกระดูกเป็นหนึ่งในขั้นตอนสำคัญของการตรวจวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยา เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia) มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดลิมโฟยด์ (acute lymphoblastic leukemia) มะเร็งเม็ดเลือดขาวมัลติเพิลมัยอีโลมา (multiple myeloma) โรคไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส (myelodysplastic syndrome) มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) เนื้องอกจากเซลล์ไขกระดูกเพิ่มจำนวน (myeloproliferative neoplasm) และโรคไขกระดูกฝ่อ (aplastic anemia) เป็นต้น ในการจัดประเภทของกลุ่มโรค myeloid neoplasm และมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลัน ฉบับแก้ไขล่าสุดปีคริสต์ศักราช 2016 จัดทำโดยองค์การอนามัยโลก(1) ยังให้ความสำคัญกับการตรวจไขกระดูก เพื่อวิเคราะห์พื้นฐานวิทยาของเซลล์ (cell morphology) นำไปประเมินร่วมกับการตรวจอิมมูโนฟีโนไทป์ (immunophenotype) เซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) และอณูพันธุศาสตร์ (molecular genetics)

การแปลผลสเมียร์ไขกระดูก (bone marrow aspirate smear) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยโลหิตแพทย์ หรือพยาธิแพทย์ที่มีประสบการณ์ ยังถือว่าเป็นมาตรฐานในปัจจุบัน โดยสเมียร์ไขกระดูกประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นเนื้อไขกระดูกซึ่งเราสนใจอยู่ตรงกลางและล้อมด้วยเลือดที่ปนมากับไขกระดูก ในการแปลผลสเมียร์ไขกระดูก ตามเกณฑ์ของ International society for laboratory hematology (ICSH)(2) จะต้องมีอย่างน้อย 500 เซลล์ จึงจะเพียงพอให้การจำแนกชนิดเซลล์และการวินิจฉัยโรคและบางโรคที่ต้องการจำนวนสัดส่วนชนิดเซลล์ที่แม่นยำอาจต้องดูหลายสเมียร์ ทำให้การแปลผลสเมียร์ไขกระดูกแม้จะแปลผลโดยผู้เชี่ยวชาญ ก็ยังใช้เวลาในการแปลผลค่อนข้างนาน มีความผันผวนของการแปลผลในแต่ละครั้งและอาจแตกต่างกันในแต่ละบุคคล ซึ่งส่งผลให้เกิดความแตกต่างในการวินิจฉัยโรคได้

ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา ได้มีการพัฒนาระบบประมวลผลภาพอัตโนมัติและระบบปัญญาประดิษฐ์ (artificial intelligence) เพื่อมาช่วยแก้ไขปัญหาในการแปลผลสิ่งส่งตรวจทางโลหิตวิทยา เช่น peripheral blood smear และ bone marrow aspirate smear โดยมีการพัฒนาให้สามารถนำมาช่วยจำแนกชนิดของเซลล์ ระบบที่พัฒนาให้สามารถแปลผลจำแนกชนิดเซลล์จากสเมียร์ไขกระดูกกำลังอยู่ในช่วงพัฒนาและกำลังได้รับความสนใจมากขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติและการนำมาต่อยอดประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยายังมีน้อย (3)

การประเมินปริมาณและสัญญาณวิทยาเซลล์ตัวอ่อน (blast) ในไขกระดูก ยังคงเป็นเกณฑ์สำคัญที่ใช้ในการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลัน และจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส โดยเกณฑ์การวินิจฉัยยังถือปริมาณของเซลล์ตัวอ่อนในไขกระดูกที่นับโดยตรงจากกล้องจุลทรรศน์เป็นมาตรฐานการวินิจฉัยอยู่(4) จึงทำให้ผู้ทำวิจัยสนใจการนำเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติมาใช้นับปริมาณของตัวอ่อนเม็ดเลือดขาวชนิดมัยอีลอยด์ (myeloblast) เพื่อการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ และจำแนกชนิดย่อยของกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส โดยเปรียบเทียบความถูกต้องกับการนับจากกล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีมาตรฐาน

## 1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

### 1.2.1 คำถามหลัก (Primary research question)

- การวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และการจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส โดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติมีความสอดคล้อง (concordance) กับการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญที่เป็นมาตรฐาน (gold standard) หรือไม่

### 1.2.2 คำถามรอง (Secondary research question)

- ความสอดคล้อง (concordance) ของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติกับการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกเซลล์ชนิดต่างๆ ในไขกระดูก
- ความถูกต้อง (accuracy) ของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติในการจำแนกชนิดเซลล์ต่างๆ ในไขกระดูก

## 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

- 1.3.1 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และ

การจำแนกโรคไขกระดูกฝ่อชนิดเอ็มดีเอส ด้วยสเมียร์ไขกระดูกโดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ

1.3.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการตรวจพบ blast ในสเมียร์ไขกระดูก โดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ

1.3.3 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการจำแนกชนิดเซลล์ต่างๆ ในสเมียร์ไขกระดูก โดยการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ

#### 1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

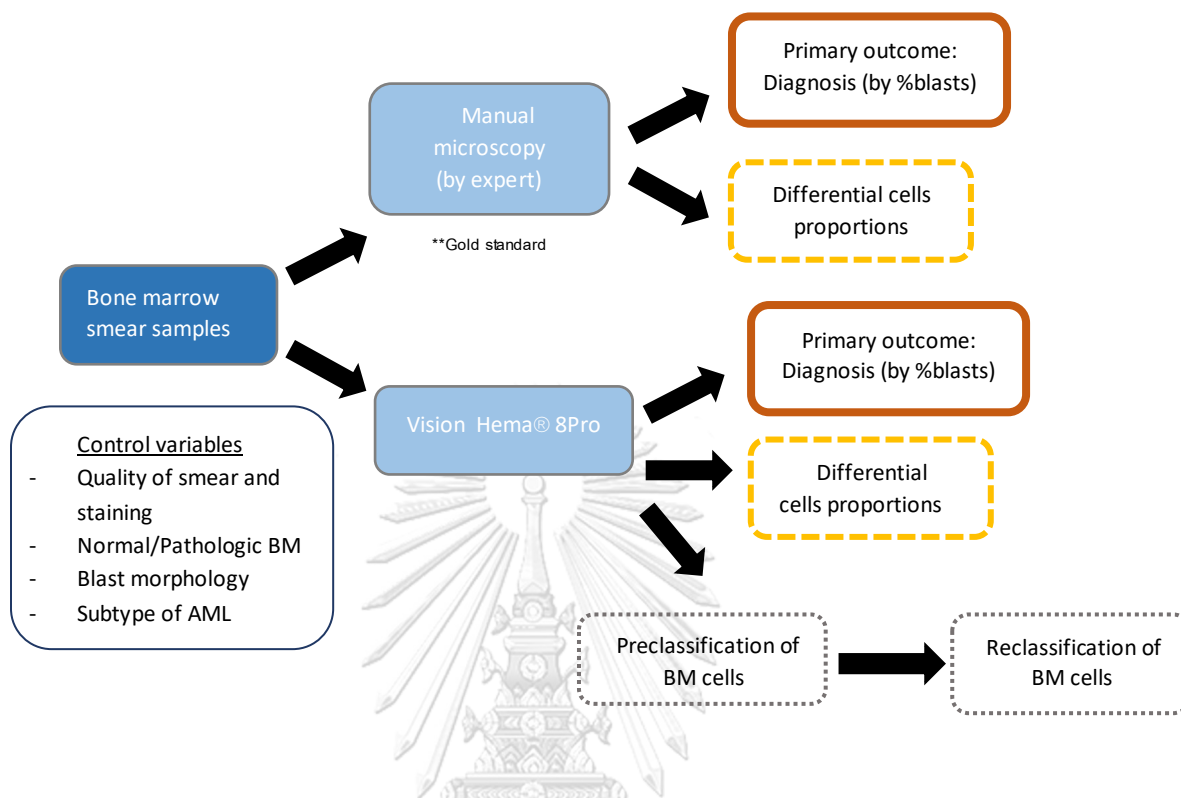
- การวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ โดยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ (manual microscopy) มีความสอดคล้องกัน (concordance) สูง
- การจำแนกโรคไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส ด้วยสเมียร์ไขกระดูกโดยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ (manual microscopy) มีความสอดคล้องกัน (concordance) สูง
- การจำแนกชนิดเซลล์ต่างๆ ในสเมียร์ไขกระดูกโดยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ เทียบกับการใช้กล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ มีความสอดคล้องกัน (concordance) โดยอาจแตกต่างกันในแต่ละชนิดของเซลล์
- การจำแนกชนิดเซลล์ต่างๆ ในสเมียร์ไขกระดูกโดยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติมีความจำเพาะ (specificity) สูง

#### 1.5 คำสำคัญ (Keywords)

- Bone marrow aspirate smear
- Bone marrow analysis
- Automated bone marrow smears analysis
- Acute myeloid leukemia (AML)
- Myelodysplastic syndrome (MDS)

#### 1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

ภาพที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



### 1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition)

- **Normal bone marrow:** ในการวิจัยนี้ จะถือว่าไขกระดูกที่ตรวจไม่พบ blast หรือมีเซลล์ถูกวินิจฉัยว่าเป็น blast < 1% เป็นกลุ่ม normal bone marrow ซึ่งจะได้มาจากสเมียร์ของผู้ป่วยมะเร็งต่อม้าน้ำเหลืองที่ตรวจไม่พบมะเร็งต่อม้าน้ำเหลืองในไขกระดูก
- **Acute myeloid leukemia (AML):** มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ ในการศึกษานี้จะวินิจฉัย AML เมื่อพบ myeloblast ในสเมียร์ไขกระดูกมากกว่าหรือเท่ากับ 20%
- **Myelodysplastic syndrome (MDS):** กลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส การตรวจไขกระดูกจะพบ dysplastic cell lineage(s) และอาจตรวจพบ myeloblast โดยในการศึกษานี้ จะจำแนกกลุ่ม ตามปริมาณของ myeloblast ที่พบในสเมียร์ไขกระดูก ดังนี้ low-blast count myelodysplastic syndrome (MDS): พบ myeloblasts 1-4% ในสเมียร์ไขกระดูก, myelodysplastic syndrome with excess blast (MDS-EB): พบ myeloblasts 5-19% ในสเมียร์ไขกระดูก
- **Regions of interest:** ตำแหน่งบนภาพสเมียร์ไขกระดูกดิจิทัลกำลังขยาย 10 เท่าที่ถูกเลือก เพื่อจะใช้ในการแปลผลด้วยกำลังขยาย 100 เท่าต่อไป โดยจะเลือกตำแหน่งโดยแพทย์

ซึ่งจะเลือกในบริเวณที่เซลล์ไขกระดูกเรียงตัวไม่ทับซ้อนกัน สามารถอ่านผลได้ชัดเจน และไม่อยู่บริเวณริมขอบของเสมียร์จนเกินไป จะเลือกอย่างน้อย 10 ตำแหน่ง หรือจนวนกว่าจะได้เซลล์อย่างน้อย 500 เซลล์ ตามมาตรฐานในการวิเคราะห์เสมียร์ไขกระดูก

- **Vision Hema® 8Pro:** คือเครื่องวิเคราะห์เสมียร์ไขกระดูกอัตโนมัติที่นำมาใช้ในการวิจัย โดยจะเลือกใช้โปรแกรมที่ใช้วิเคราะห์เสมียร์ไขกระดูก โดยเครื่องรุ่นนี้มีคุณสมบัติในการวิเคราะห์เสมียร์ไขกระดูกเช่นเดียวกับรุ่น Vision Hema® 4Pro จะแตกต่างกันที่ถาดวางตัวอย่างได้จำนวนไม่เท่ากัน

### 1.8 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

- ทราบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติในการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์และจำแนกกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส โดยการนับจำนวนตัวอ่อนเม็ดเลือดขาวชนิดมัยอีลอยด์ (myeloblast)
- ทราบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติในการจำแนกเซลล์ประเภทอื่นๆ
- ทราบระยะเวลาที่ใช้ในการแปลผลเสมียร์ไขกระดูกด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ
- สามารถนำภาพดิจิทัลไขกระดูกมาทบทวนซ้ำได้
- การเก็บภาพดิจิทัลของไขกระดูกสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเรียนการสอนได้
- หากประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติเป็นที่น่าพอใจ อาจนำไปสู่การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องเพิ่มเติมและในอนาคตอาจนำไปใช้ในการวินิจฉัยเบื้องต้นในสถานพยาบาลที่ขาดแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาหรือพยาธิแพทย์
- หากประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติยังไม่ดีพอ นำไปสู่การพัฒนาระบบเพิ่มเติม

### 1.9 อุปสรรคที่อาจจะเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems)

#### 1.9.1 อุปสรรคที่อาจจะเกิดขึ้น

- จำนวนเสมียร์ไขกระดูกในแต่ละกลุ่มโรคที่เราสนใจมีไม่เพียงพอ
- การแปลผลไขกระดูกด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ โดยการใช้ automated regions of interest อาจมีผลต่อจำนวนเซลล์ในแต่ละชนิด
- ปัญหาขัดข้องในการใช้เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ

#### 1.9.2 แนวทางแก้ไขปัญหา

- ใช้เสมียร์ไขกระดูกในช่วงสามปี ซึ่งคาดว่าจะได้ปริมาณเสมียร์ไขกระดูกที่มากพอ



- เลือกตำแหน่งของสเมียร์ไอกระดุกที่สนใจ (regions of interest) โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาก่อนจะให้เครื่องวิเคราะห์ไอกระดุกอัตโนมัติแปลผล
- ปรัชษาผู้เชี่ยวชาญการใช้เครื่องวิเคราะห์ไอกระดุกอัตโนมัติ



## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia, AML) เป็นโรคที่มีความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดกลุ่มมัยอีลอยด์ในไขกระดูก ที่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและมีความผิดปกติในการพัฒนาเป็นเซลล์ตัวเต็มวัย และยังมีผลทำให้การสร้างเซลล์ชนิดอื่นๆ ในไขกระดูกผิดปกติ ก่อให้เกิดภาวะซีด เลือดออกผิดปกติจากเกล็ดเลือดต่ำ เสี่ยงต่อการติดเชื้อเนื่องจากมีปริมาณเม็ดเลือดขาวผิดปกติ มีไข้ เป็นต้น โดยอุบัติการณ์ทั่วโลกพบมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีการศึกษาในสหรัฐอเมริกา พบอุบัติการณ์ของ AML 4.5 ราย ต่อประชากร 100,000 รายต่อปี และพบว่าอุบัติการณ์มากขึ้นสัมพันธ์กับอายุที่เพิ่มขึ้น สาเหตุของ AML เช่น เคยได้รับยาหรือสารที่ก่อให้เกิดการทำลายต่อสารพันธุกรรม มีความผิดปกติทางพันธุกรรมของผู้ป่วยเอง ซึ่งโดยส่วนมากไม่ได้พบสาเหตุที่ชัดเจน นอกจากนี้ AML ยังเป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวที่พบมากที่สุด ในมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันในผู้ใหญ่ และระยะเวลาอยู่รอดสั้นที่สุด (5-year survival 24%)(2) การวินิจฉัย AML ต้องอาศัยอาการ การตรวจไขกระดูกเพื่อดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา ซึ่งจะพบ blasts  $\geq 20\%$  ร่วมกับการส่งตรวจ flow cytometry, cytogenetic และ molecular analysis อื่นๆ เพิ่มเติม การรักษาหลักในปัจจุบันคือการให้ยาเคมีบำบัด พิจารณาปลูกถ่ายไขกระดูกในบางราย ดังนั้นการวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว แม่นยำ และการเลือกแนวทางการรักษาที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อการดำเนินโรคของผู้ป่วยอย่างมาก

กลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส (Myelodysplastic syndrome, MDS) คือ กลุ่มโรคที่มีความผิดปกติของไขกระดูกในการสร้างเม็ดเลือด ทำให้ไม่สามารถสร้างเซลล์เม็ดเลือดออกมาในเลือดได้เพียงพอ (peripheral blood cytopenia) อุตบัติการณ์ของ MDS พบประมาณ 4-5 ราย ต่อ 100,000 รายต่อปี ซึ่งคาดว่าต่ำกว่าความเป็นจริงเนื่องจากยังมีการตรวจวินิจฉัยน้อยและมีการรายงานโรคต่ำ ค่ากลางของอายุผู้ป่วย (median age) ประมาณ 70 ปี(5) มีการศึกษาในสหรัฐอเมริกาพบอุบัติการณ์ของ MDS 4 รายต่อประชากร 100,000 รายต่อปี และอุบัติการณ์เพิ่มขึ้นตามอายุ นอกจากอายุยังมีความเสี่ยงอื่นๆ เช่น เพศชาย ภาวะอ้วน สูบบุหรี่ เคยได้รับยาเคมีบำบัด หรือฉายแสง เป็นต้น ความผิดปกติของไขกระดูกในกลุ่มอาการไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส อาจมีผลต่อเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว หรือเกล็ดเลือด ทำให้มีการแสดงออกของโรคได้หลากหลาย เช่น โลหิตจาง อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย ใจสั่น มีจ้ำเลือดผิดปกติ เลือดออกมาก เจ็บป่วยเรื้อรัง ติดเชื้อง่าย มีไข้ เป็นต้น ซึ่งอาการและการดำเนินโรคอาจจะแตกต่างกันในแต่ละชนิดของ MDS การจำแนกชนิดย่อยของ MDS ประเมินจากการตรวจไขกระดูกโดยจะพิจารณา จำนวน dysplastic lineage, การ

พบหรือไม่พบ ring sideroblast, ปริมาณ blast, ความผิดปกติทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetic abnormalities) โดยการวินิจฉัย MDS จะพบ blast ในไขกระดูกน้อยกว่า 20% อย่างไรก็ตามผู้ป่วย MDS มีความเสี่ยงที่จะวิวัฒนาการเป็น AML ได้มากกว่าคนปกติ จึงต้องมีการติดตามเพื่อการดำเนินโรคของผู้ป่วย(6)

เครื่องวิเคราะห์สเมียร์เลือดอัตโนมัติ (automated peripheral blood smear analyzer) ได้เริ่มมีการพัฒนามาตั้งแต่ช่วงปีคริสต์ศักราช 1960 แต่ในช่วงแรกการทำงานของเครื่องยังล่าช้า และไม่ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับวิธีที่เป็นมาตรฐาน จนกระทั่งการศึกษาของ H. Ceelie และคณะ(7) ในปีคริสต์ศักราช 2007 ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเครื่อง Diffmaster Octavia และ Cellavision DM96 ผลพบว่าความถูกต้องในการจำแนกชนิดเซลล์ (preclassification accuracy) สูงถึง 87% และ 92% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถวิเคราะห์ชนิดของเม็ดเลือดขาวได้สอดคล้องมากกับการดูสเมียร์เลือดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ด้วยผู้เชี่ยวชาญ แต่สำหรับการแปลผลสเมียร์ไขกระดูก มีอุปสรรคมากกว่าการแปลผลสเมียร์เลือด เนื่องจากในไขกระดูกมีไขมันจำนวนมาก และมีเซลล์หลากหลายชนิด เครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติกำลังได้รับความสนใจและอยู่ในช่วงพัฒนา

Xinyan Fu และคณะ(8) ได้ทำการศึกษาระบบ Morphogo ซึ่งเป็นระบบปัญญาประดิษฐ์ (artificial intelligence) สำหรับวิเคราะห์จำแนกเซลล์จากภาพสเมียร์ไขกระดูกดิจิทัล ทำการศึกษาในสเมียร์ไขกระดูก 230 ราย พบว่ามีความถูกต้องของการจำแนกชนิดเซลล์มากกว่า 85.7% ค่าเฉลี่ยในการอ่านเซลล์แต่ละชนิด มีความไวและความจำเพาะ 69.4% และ 97.2% ตามลำดับและเปรียบเทียบการแยกชนิดของเซลล์ (differential cell percentage) ระหว่างการใช้ระบบ Morphogo กับการดูกล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญพบความสอดคล้องกันสูงสำหรับ granulocyte, erythrocyte และ lymphocyte ( $r \geq 0.76$ ,  $p < 0.001$ ) แต่ในการศึกษานี้พบความสอดคล้องสำหรับ blast ต่ำมาก การศึกษานี้ถือเป็นหนึ่งในงานวิจัยนำร่องที่บ่งบอกว่าระบบวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติมีประสิทธิภาพค่อนข้างดี หากนำไปพัฒนาต่อยอดน่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยโรคได้

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Kathleen Deiteren และคณะ(6) ศึกษาประสิทธิภาพของ Vision Hema® bone marrow 4Pro พบว่ามีความจำเพาะในการตรวจเซลล์ในไขกระดูกสูงกว่า 97% ยกเว้น lymphocyte (95.1%) และพบความสอดคล้องสูงมากระหว่างเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติกับการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญในการตรวจ blast โดยในการศึกษานี้มีข้อจำกัดคือ พบว่าการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกด้วยเครื่องอัตโนมัติ โดยใช้ automated regions of interest ยังต่อยกว่าการเลือกตำแหน่งโดยแพทย์เล็กน้อย โดยระบุไว้ว่าการใช้ automated ROI จะนับรวม smudge cells มากกว่า และทำให้ได้ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดชนิดอื่น ๆ ลดลงเนื่องจากมักไป

เลือกบริเวณที่อยู่ริมของสเมียร์ไขกระดูก รวมถึงเครื่องอัตโนมัติยังไม่สามารถจำแนกประเภทของ blast นอกจากนี้การพัฒนาเครื่องอัตโนมัติเพื่อให้แยกชนิดของ blast หรือจำแนกลักษณะ dysplasia ยังไม่สามารถทำได้ในปัจจุบัน ซึ่งคิดว่าเป็นข้อจำกัดที่สำคัญ ซึ่งอาจมีการศึกษาเพิ่มเติม หลังจากมีการพัฒนาระบบในอนาคต อย่างไรก็ตามในขณะนี้ยังไม่พบการศึกษาอื่นๆที่นำเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติมาเปรียบเทียบกับ standard manual microscopy เพื่อประยุกต์ใช้ในการช่วยวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยา



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

- Descriptive study, diagnostic test evaluation (retrospective)

#### 3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

- ประชากรเป้าหมาย (Targeted population): สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจไขกระดูก
- ประชากรสุ่ม (Sample population): สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจไขกระดูกที่หน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- ประชากรกลุ่มควบคุม (Control population): ไม่มี
- วิธีการเข้าถึงอาสาสมัคร (Approach to participant): สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วย ที่จัดเก็บไว้ที่หน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยแพทย์และทีมวิจัย เป็นผู้ประเมินว่าคุณสมบัติของสเมียร์ไขกระดูกเข้าเกณฑ์ในการนำมาศึกษาหรือไม่

#### เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)

1. สเมียร์ไขกระดูกที่ทำในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยในช่วงปีพุทธศักราช 2561-2563
2. สเมียร์ไขกระดูกที่ได้รับการแปลผลจากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาหรือพยาธิแพทย์
3. สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส (myelodysplastic syndrome, MDS)
4. สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอลอยด์ (acute myeloid leukemia, AML)
5. สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าไม่พบมะเร็งต่อมน้ำเหลืองในไขกระดูก (no bone marrow involvement by lymphoma)

#### เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

1. สเมียร์ไขกระดูกที่ชำรุด เช่น แตกหัก มีรอยขีดข่วนมากที่มีผลต่อการแปลผล
2. สเมียร์ไขกระดูกที่ย้อมติดสีไม่ได้มาตรฐาน

3. Suboptimal specimen, bone marrow touch specimen
4. ไม่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยโรคที่แน่นอนโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาหรือพยาธิแพทย์
5. สเมียร์ไขกระดูกที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคหรือภาวะอื่นๆ ที่ไม่ได้อยู่ใน inclusion criteria
6. สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia, AML) ชนิด acute promyelocytic leukemia (APL, AML M3), acute erythroblastic leukemia (AML M6) และ acute megakaryoblastic leukemia (AML M7)
7. สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยโรคไขกระดูกเสื่อมชนิดเอ็มดีเอส ชนิดที่ไม่พบ blast

### 3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size)

เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ใช้เครื่องตรวจไขกระดูกอัตโนมัติในการวินิจฉัยแยกโรค AML และ MDS หากลองใช้การคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง การวิจัยนี้ต้องการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (Vision Hema® 8Pro) ในการวินิจฉัย AML และ จำแนก MDS โดยใช้การนับ blast จึงคาดการณ์ว่าเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ ควรมี specificity ไม่ต่ำกว่า 90% ในการอ่าน blast เมื่อเทียบกับ standard diagnostic test (manual microscopic exam) โดยในการศึกษาก่อนหน้านี้ศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพเครื่อง Vision Hema® bone marrow 4Pro(6) พบว่ามี specificity of blasts 98% (Vision Hema® 4Pro และ Vision Hema® 8Pro เป็นเครื่องมือที่ใช้โปรแกรมเดียวกันทุกอย่าง ต่างกันแค่จำนวนสเมียร์ที่สามารถวางในถาดของตัวเครื่อง) การคำนวณ sample size จะคำนวณตามสมการดังนี้ (9)

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \hat{P}(1 - \hat{P})}{d^2}$$

- $n$  = sample size
- Confidence level =  $(1 - \alpha)\%$
- $d$  = maximum marginal error for constructing confidence interval of true value of specificity
- $\hat{P}$  = pre-determined value of specificity

- $Z_{\alpha/2}$  = critical value from a standard normal distribution which cuts off the centre  $100*(1-\alpha)\%$  of the distribution

$$\alpha = 0.05, d = \text{error rate} = 0.05, \hat{P} = 90\%, Z_{\alpha/2} = 1.96 \text{ (for } \alpha = 0.05 \text{)}$$

$$n = \frac{(1.96*1.96)(0.9)(1-0.9)}{0.05^2} = 138.29$$

ดังนั้นในการวิจัยนี้จะใช้กลุ่มตัวอย่างประมาณ 140 ตัวอย่าง จะเป็นจำนวนที่เหมาะสม

ในการวิจัยนี้ต้องการเปรียบเทียบ new diagnostic test vs gold standard ซึ่งโดยทั่วไปควรใช้กลุ่มตัวอย่างอย่างน้อย 120 ตัวอย่าง โดยการศึกษาแบ่งเป็น 4 กลุ่ม (normal bone marrow, low-blast count MDS, MDS-EB, AML) จะได้กลุ่มละ 30 ตัวอย่าง ซึ่งจากการคำนวณเบื้องต้นจึงใช้กลุ่มตัวอย่าง 140 ตัวอย่าง กลุ่มละ 35 ตัวอย่าง ซึ่งจากที่คาดการณ์เบื้องต้น สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่วินิจฉัยโรคในทุกกลุ่มที่สนใจศึกษาในช่วงสามปี มีเพียงพอสำหรับการศึกษา

### 3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย

- 3.4.1 ผู้ทำวิจัยทบทวนเอกสารบันทึกการทำสเมียร์ไขกระดูก ในช่วงปีพุทธศักราช 2561-2563 ที่ถูกเก็บรวบรวมอยู่ในหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- 3.4.2 แบ่งสเมียร์ไขกระดูกเป็น 4 กลุ่ม คือ 1. normal bone marrow, 2. low-blast count MDS, 3. MDS-EB, 4. AML โดยคำนียามแต่ละกลุ่มตามหัวข้อที่ 1.7
- 3.4.3 คัดเลือกสเมียร์ไขกระดูกที่การวินิจฉัยตรงกับ inclusion criteria โดยจะไล่ตามลำดับวันที่ก่อน-หลังที่ทำการตรวจไขกระดูก และคัดสเมียร์ไขกระดูกที่ตรงกับ exclusion criteria ออกไป โดยจะใช้สเมียร์ไขกระดูกกลุ่มละ 35 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 140 ตัวอย่าง หากตัวอย่างกลุ่มใดครบจำนวนแล้วก็จะหยุดการค้นหา เพื่อลดความอคติในการคัดเลือกสเมียร์ไขกระดูกเข้าการศึกษา
- 3.4.4 หลังจากได้สเมียร์ไขกระดูกของผู้ป่วยที่จะนำเข้าการศึกษาแล้ว ผู้วิจัยจะทบทวนประวัติการวินิจฉัยของผู้ป่วยที่ถูกบันทึกไว้ในระบบฐานข้อมูลของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์อีกครั้ง โดยยึดเกณฑ์การวินิจฉัยตาม The 2016 revision of the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and

acute leukemia หากพบทวนแล้วไม่เข้าเกณฑ์การคัดเลือก จะถูกนำออกจากการวิจัยนี้

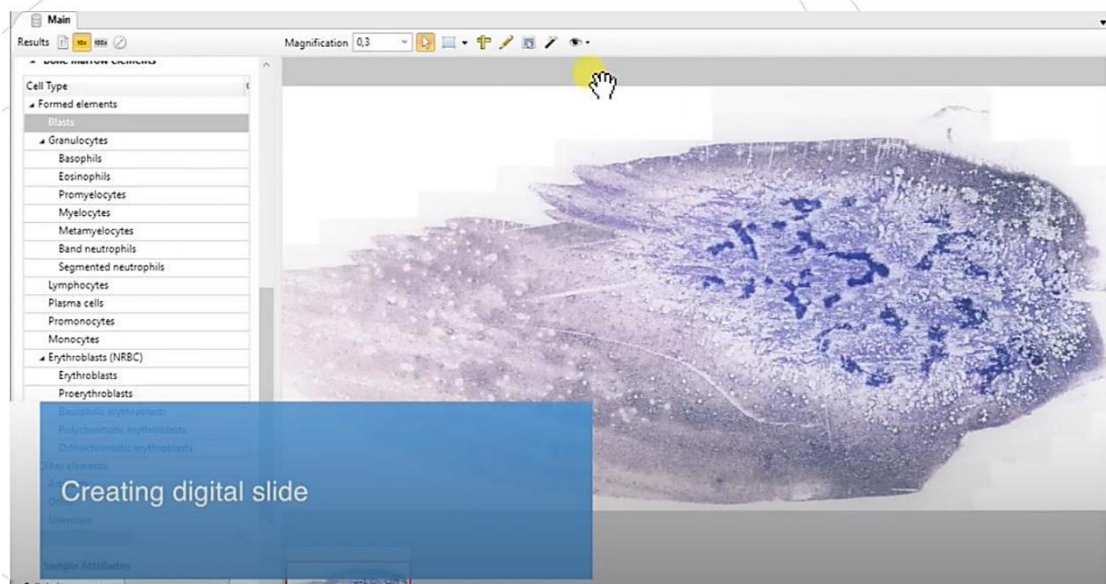
- 3.4.5 สเมียร์ไขกระดูกทั้งหมดที่ถูกนำเข้ามาในการศึกษา จะถูกแปลผลโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ และโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยา โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญจะไม่ทราบผลการวินิจฉัยเดิมของสเมียร์ไขกระดูกก่อนจะแปลผล
- 3.4.6 สเมียร์ไขกระดูกที่นำเข้ามาในการศึกษา แล้วพบว่าผลการวินิจฉัยโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญไม่ตรงกับการวินิจฉัยเดิมโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ จะถูกคัดออก (ผลการวินิจฉัยไม่ตรงกัน หมายถึงการวินิจฉัยเปลี่ยนกลุ่มโรคตามคำนิยามหัวข้อที่ 1.7)
- 3.4.7 เครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกอัตโนมัติ หรือ Vision Hema® 8Pro จะเริ่มจากการถ่ายภาพเพื่อสร้างภาพดิจิทัลของสเมียร์ไขกระดูกทั้งแผ่นด้วยเลนส์กำลังขยาย 10 เท่า หลังจากนั้นสามารถดูภาพดิจิทัลได้จากหน้าจอคอมพิวเตอร์และเลือกตำแหน่งบริเวณที่เหมาะสมของสเมียร์ไขกระดูก เพื่อให้เครื่องวิเคราะห์และสร้างภาพด้วยเลนส์กำลังขยาย 100 เท่าต่อไป โดยในการใช้เครื่อง Vision Hema® 8Pro ต้องใช้น้ำมันหยดก่อนการถ่ายภาพด้วยเลนส์กำลังขยาย 100 เท่าเช่นเดียวกับการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์
- 3.4.8 บันทึกผลการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญลงในแบบฟอร์มบันทึกข้อมูลตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูก หลังจากตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลแล้วบันทึกข้อมูลลงในแบบฟอร์มอิเล็กทรอนิกส์
- 3.4.9 บันทึกผลการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกโดยเครื่อง Vision Hema® 8Pro ลงในแบบฟอร์มอิเล็กทรอนิกส์
- 3.4.10 หลังตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลทั้งหมด ข้อมูลจะถูกไปเปรียบเทียบและวิเคราะห์ตามวัตถุประสงค์ของการวิจัยต่อไป

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะและจอแสดงผลของเครื่อง Vision Hema® 8Pro

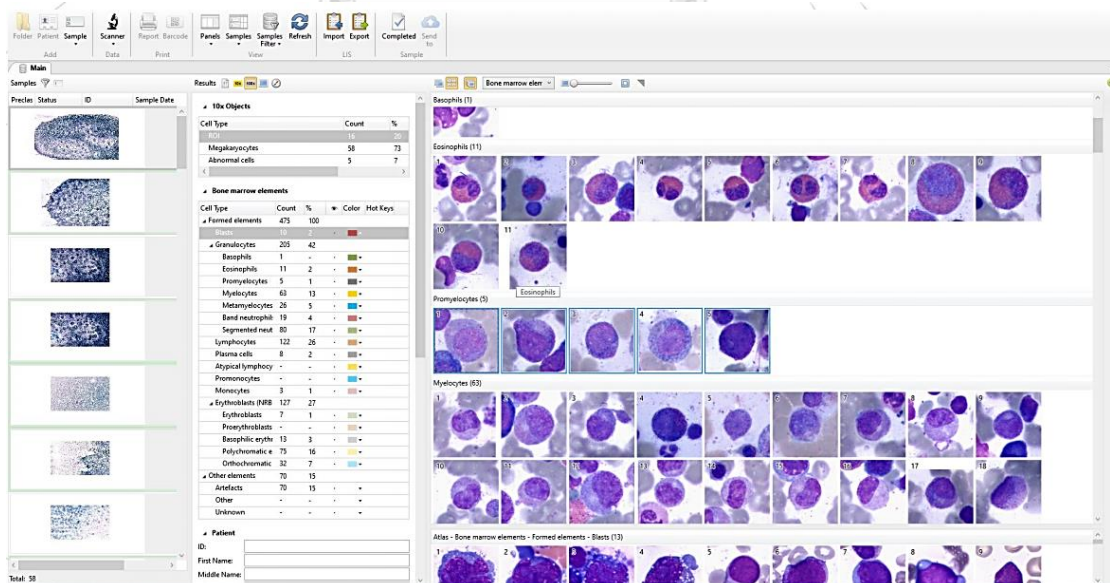




ภาพที่ 3 แสดงลักษณะภาพที่สร้างจากเลนส์กำลังขยาย 10 เท่าของเครื่อง Vision Hema® 8Pro



ภาพที่ 4 แสดงการรายงานผลการจำแนกสัดส่วนของเซลล์ประเภทต่างๆและภาพเซลล์ประเภทต่างๆ ภายหลังจากสร้างภาพด้วยเลนส์กำลังขยาย 100 เท่าของเครื่อง Vision Hema® 8Pro



### 3.5 วิธีการเข้าถึงตัวอย่างการวิจัย

- 3.5.1 ทบทวนการวิจัยเบื้องต้นของสเมียร์ไขกระดูกที่บันทึกไว้ในสมุดบันทึกการตรวจไขกระดูกของหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย โดยเริ่มตั้งแต่ตัวอย่างแรกของปี พ.ศ. 2561 ถึง ตัวอย่างสุดท้ายของปี พ.ศ. 2563 จากนั้นจดบันทึกหมายเลขตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกที่เข้าข่ายเกณฑ์คัดเข้าการวิจัย
- 3.5.2 หลังได้หมายเลขตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกที่สนใจแล้ว นำไปค้นหาสเมียร์ไขกระดูกจริงที่ถูกเก็บไว้ในหน่วยโลหิตวิทยา เพื่อตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของสเมียร์ไขกระดูก เช่น ความหนาของสเมียร์ ลักษณะการย้อมสี รอยแตกชำรุด เป็นต้น
- 3.5.3 ทบทวนข้อมูลประวัติ การส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ การวินิจฉัยของสเมียร์ไขกระดูกที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าการวิจัยในระบบฐานข้อมูลของโรงพยาบาลอีกครั้ง จากนั้นนำสเมียร์ไขกระดูกที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าและไม่ตรงกับเกณฑ์คัดออก ที่ผ่านการทบทวนข้อมูลเพิ่มเติมในฐานข้อมูลเรียบร้อยแล้วเข้าสู่การวิจัยเพื่อนำไปวิเคราะห์ตามจุดประสงค์การวิจัยต่อไป โดยคาดว่าจะได้ทั้งหมด 140 ตัวอย่าง กลุ่มละ 35 ตัวอย่าง ลำดับการนำเข้าเรียงตามหมายเลขก่อน-หลัง ของตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูก

### 3.6 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

- 3.6.1 เก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้ตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกจากหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- 3.6.2 ข้อมูลการวิเคราะห์ตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกจากทั้งสองวิธี จะถูกเก็บบันทึกไว้
- 3.6.3 ผู้เก็บข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย
- 3.6.4 ผู้บันทึกข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย

### 3.7 ข้อจำกัดในการวิจัย (Study limitations)

- 3.7.1 การวิจัยนี้ ศึกษาจากสเมียร์ไขกระดูกที่เก็บไว้ในหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในช่วงปีพุทธศักราช 2561-2563 ไม่ได้ศึกษาจากสเมียร์ที่ทำจากผู้ป่วยรายใหม่ ทำให้อาจมีผลต่อคุณภาพของสเมียร์ไขกระดูก
- 3.7.2 การวิจัยนี้ ศึกษาจากสเมียร์ไขกระดูกที่เก็บไว้ในหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยเพียงที่เดียว

### 3.8 การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลส่วนตัวของผู้ป่วย ประวัติอาการ การรักษา ผลการรักษา จะถูกเก็บรักษาเป็นความลับ โดยคำนึงถึงสิทธิของผู้ป่วยเป็นหลัก การนำเสนอผลการวิจัยจะแสดงข้อมูลโดยรวมของการศึกษา ไม่ได้เสนอข้อมูลรายบุคคล และไม่ได้นำเสนอชื่อหรือข้อมูลอื่นๆของผู้ป่วย หลีกเลี่ยงการเปิดเผย HN หรือ hospital number ของผู้ป่วย ที่จะเชื่อมโยงถึงข้อมูลผู้ป่วยได้

### 3.9 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis and Statistics)

- 3.9.1 การนำเสนอข้อมูลทั่วไป ผลการนับปริมาณเซลล์ แสดงเป็นเลขจำนวน, เปอร์เซ็นต์ และค่าเฉลี่ย (mean)/ค่ามัธยฐาน (median)
- 3.9.2 การเปรียบเทียบความสอดคล้องในการวินิจฉัยจำแนกโรคของ 2 เครื่องมือ (degree of agreement) ใช้ Cohen's kappa statistic (10)
- 3.9.3 การจำแนกชนิดเซลล์แต่ละชนิดของเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (automated differential cell count) แสดงผลเป็นจำนวน เปอร์เซ็นต์ และวิเคราะห์แสดงผลข้อมูลเป็น accuracy, sensitivity, specificity
- 3.9.4 เปรียบเทียบสัดส่วนการจำแนกเซลล์แต่ละชนิด (automated vs manual differential cell proportions) ด้วย correlation analysis โดยใช้ Pearson correlation coefficient (R), scatterplots with line of linear regression
- 3.9.5 ใช้โปรแกรม SPSS version 22 ในการประมวลผลข้อมูล

### 3.10 ปัญหาทางจริยธรรม (Ethical considerations)

3.10.1 **หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)** คือข้อมูลของผู้ป่วยทั้งเรื่อง ประวัติอาการ การรักษา ผลการรักษา จะถูกเก็บรักษาเป็นความลับโดยคำนึงถึงสิทธิของผู้ป่วยเป็นหลัก การนำเสนอผลการวิจัยจะแสดงข้อมูลโดยรวมของการศึกษา ไม่ได้เสนอข้อมูลรายบุคคล และไม่ได้นำเสนอชื่อหรือข้อมูลอื่นๆของผู้ป่วย หลีกเลี่ยงการเปิดเผย HN หรือ hospital number ของผู้ป่วย ที่จะเชื่อมโยงถึงข้อมูลผู้ป่วยได้

3.10.2 **หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence)** การวิจัยนี้ไม่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อผู้ป่วย ผู้ป่วยไม่ต้องเข้ารับการตรวจไขกระดูกใหม่เนื่องจากเป็นการศึกษาแบบ retrospective study ผู้ป่วยจะไม่ได้รับประโยชน์จากการวิจัยนี้ แต่ผลการศึกษาวิจัยนำไปสู่การพัฒนาการ

วินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยาในอนาคต และอาจมีประโยชน์ต่อระบบการศึกษาของแพทย์

- 3.10.3 หลักความยุติธรรม (Justice)** การวิจัยนี้มีหลักเกณฑ์การเลือกสเมียร์ไขกระดูกที่จะนำเข้าหรือคัดออกจากการศึกษาที่ชัดเจน และผลจากการวิจัยจะไม่ส่งผลต่อการให้การรักษาผู้ป่วยตามมาตรฐานในปัจจุบัน



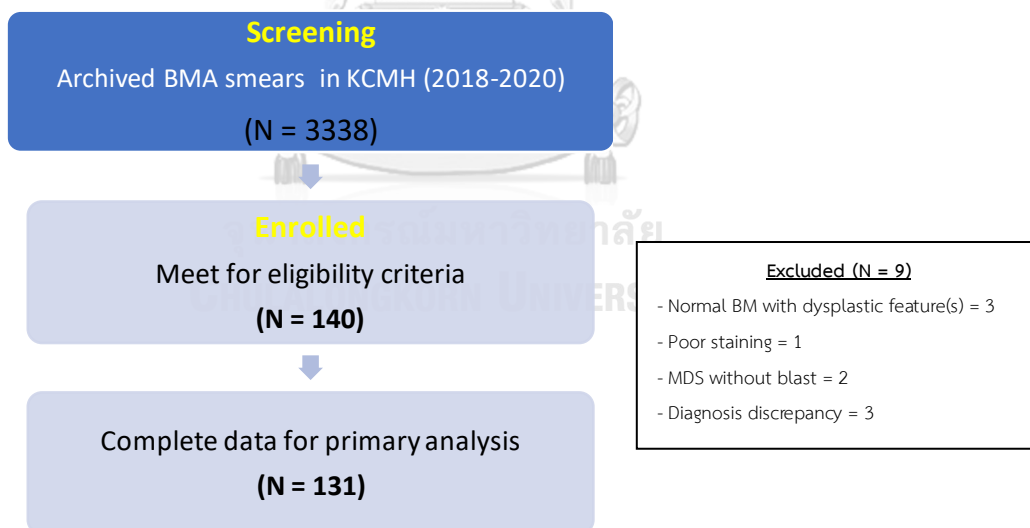
## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### 4.1 ตัวอย่างที่นำมาศึกษา

การคัดเลือกสเมียร์ไขกระดูกที่ทำในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ในช่วงปี พุทธศักราช 2561-2563 ตามเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออกจากการวิจัย ได้สเมียร์ไขกระดูกทั้งหมด 140 ตัวอย่างตามที่คำนวณไว้ก่อนการวิจัย โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 35 ตัวอย่าง เมื่อนำมา ทบทวนการวินิจฉัย และข้อมูลอื่นๆโดยละเอียด พบว่ามี 9 ตัวอย่างที่ถูกคัดออกจากการวิจัย เมื่อตัด ตัวอย่าง normal bone marrow ที่มี dysplastic features 3 ตัวอย่าง, MDS ที่ไม่พบ blast 2 ตัวอย่าง และตัวอย่างที่ย้อมไม่ดี 1 ตัวอย่างแล้ว ผู้เชี่ยวชาญเห็นตรงกับการวินิจฉัยเดิม 131 จาก 134 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 97.8 จึงได้สเมียร์ไขกระดูกทั้งหมด 131 ตัวอย่างที่ตรงกับเกณฑ์ของการศึกษาและผู้เชี่ยวชาญเห็นตรงกับการวินิจฉัยเดิม ที่จะถูกนำมาวิเคราะห์ในการวิจัยนี้ต่อไป

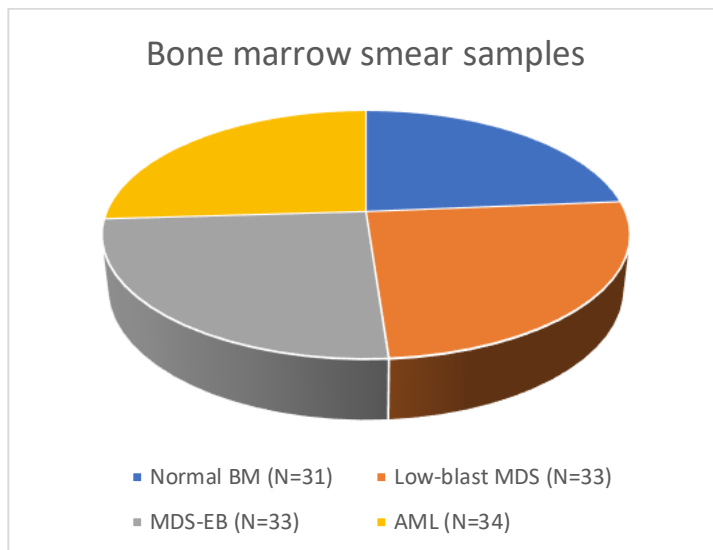
ภาพที่ 5 แผนภูมิแสดงตัวอย่างที่อยู่ในเกณฑ์คัดเลือกและคัดออกจากการวิจัย



#### 4.2 คุณลักษณะของตัวอย่างที่นำมาศึกษา

ทั้งหมด 131 ตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูก จำแนกเป็น normal bone marrow 31 ตัวอย่าง, low-blast count MDS 33 ตัวอย่าง, MDS-EB 33 ตัวอย่าง และ AML 34 ตัวอย่าง โดยมีค่ามัธยฐาน (median (IQR)) ของ blast ในกลุ่ม low-blast count MDS, MDS-EB และ AML เท่ากับ 1 (1-2), 8 (6-13) และ 73 (57.8-79.8) ตามลำดับ

ภาพที่ 6 แผนภูมิวงกลมแสดงสัดส่วนของจำนวนสเมียร์ไขกระดูกในแต่ละกลุ่ม



ตารางที่ 1 แสดงค่ามัธยฐานของ blast ในสเมียร์ไขกระดูกแต่ละกลุ่ม

Diagnosis (by expert)	Percentage(s) of blast (median (IQR))
Normal BM	0
Low-blast count MDS	1 (1-2)
MDS-EB	8 (6-13)
AML	73 (57.8-79.8)

#### 4.3 ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา

เมื่อนำทั้ง 131 ตัวอย่างของสเมียร์ไขกระดูก ซึ่งประกอบไปด้วย normal bone marrow 31 ตัวอย่าง, low-blast count MDS 33 ตัวอย่าง, MDS-EB 33 ตัวอย่าง และ AML 34 ตัวอย่าง มาผ่านการแปลผลสเมียร์ไขกระดูก โดยทุกๆ ตัวอย่างจะผ่านการวิเคราะห์แปลผลแยกกัน 2 ครั้ง คือ แปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยา และโดยเครื่องวิเคราะห์ไขกระดูกอัตโนมัติ (Vision Hema® 8Pro) หลังจากนั้นนำผลการวิเคราะห์ทั้งสองครั้ง มาเปรียบเทียบความสอดคล้องของการจำแนกการวินิจฉัยเป็นสีกลุ่ม พบว่ามีความสอดคล้องระดับปานกลางในการวินิจฉัยแยกสีกลุ่มโดยมีค่าความสอดคล้องโดยใช้ Cohen's kappa statistic ได้ค่า Cohen's kappa ( $\kappa$ ) เท่ากับ 0.50 มี

นัยสำคัญทางสถิติโดย  $p$  value  $< 0.001$  โดยรวมทุกการวินิจฉัยเครื่อง Vision Hema® 8Pro วินิจฉัยได้ถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 62.6 และถ้าจำแนกตามกลุ่มพบว่า ในกลุ่ม normal bone marrow, low-blast count MDS, MDS-EB และ AML วินิจฉัยถูกต้องคิดเป็นร้อยละ 83.9, 81.8, 36.4 และ 50.00 ตามลำดับ

ผลการเปรียบเทียบการจำแนกประเภทเซลล์ในสเมียร์ไขกระดูกทั้งหมด 12 ประเภท จากการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกด้วยทั้งสองวิธี โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) หรือค่า  $r$  พบว่ามีความสอดคล้องแตกต่างกันในแต่ละประเภทของเซลล์ โดยพบว่าเซลล์ที่มีความสอดคล้องกันมากที่สุดคือ erythroid precursor โดยมีค่า  $r$  เท่ากับ 0.72 และ  $p$  value  $< 0.001$  อันดับที่สองคือ myeloblast มีค่า  $r$  เท่ากับ 0.71 และ  $p$  value  $< 0.001$  รองลงมาเป็น band/segmented neutrophil, metamyelocyte, promyelocyte, eosinophil, plasma cell, monocyte, basophil, lymphocyte ซึ่งมีค่า  $r$  เท่ากับ 0.68, 0.52, 0.41, 0.36, 0.25, 0.25, 0.23, 0.18 ตามลำดับ โดยมี  $p$  value  $< 0.05$  และสำหรับ myelocyte, promonocyte มีค่า  $r$  เท่ากับ 0.13 ( $p$  value 0.128), 0.01 ( $p$  value 0.933) ตามลำดับ

**ตารางที่ 2** แสดงความสอดคล้องของการวินิจฉัยแยกกลุ่มโรค โดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและเครื่อง Vision Hema® 8Pro

		Manual examination			
		Normal bone marrow	Low-blast count MDS	MDS-EB	AML
Automated BMA analyzer	Normal bone marrow	26	4	1	0
	Low-blast count MDS	5	27	20	7
	MDS-EB	0	2	12	10
	AML	0	0	0	17
	Total N = 131	31	33	33	34

Cohen's Kappa coefficient ( $K$ ) = 0.50,  $p < 0.001$

**ตารางที่ 3** แสดงความสอดคล้องในการจำแนกประเภทเซลล์แต่ละชนิดในสเมียร์ไขกระดูกโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญและเครื่อง Vision Hema® 8Pro

Cell Class	Correlation coefficient (r)	P value
Erythroid precursor	0.72	<0.001 <sup>†</sup>
Blast	0.71	<0.001 <sup>†</sup>
Band + segmented neutrophil	0.68	<0.001 <sup>†</sup>
Metamyelocyte	0.52	<0.001 <sup>†</sup>
Promyelocyte	0.41	<0.001 <sup>†</sup>
Eosinophil	0.36	<0.001 <sup>†</sup>
Plasma cell	0.25	0.003 <sup>†</sup>
Monocyte	0.25	0.005 <sup>†</sup>
Basophil	0.23	0.009 <sup>†</sup>
Lymphocyte	0.18	0.043 <sup>†</sup>
Myelocyte	0.13	0.128
Promonocyte	0.01	0.933

† Statistical significant



## บทที่ 5

### อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 อภิปรายผล

จากผลการศึกษาแบบย้อนหลังแบบ single-center diagnostic test evaluation ที่มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องในการวินิจฉัยแยกโรค AML และกลุ่ม MDS ทั้งหมด 131 ตัวอย่าง ด้วยสองวิธีคือโดยการใช้เครื่อง Vision Hema® 8Pro และโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยาซึ่งยังถือเป็น gold standard ในปัจจุบัน พบว่ามีความสอดคล้องกันปานกลางในการวินิจฉัยแยกกลุ่มโรค ซึ่งการแยกกลุ่มโรคในการวินิจฉัยนี้ดูจากปริมาณของ blast เป็นหลัก โดยจะนับรวมทั้งจำนวนของ myeloblast, monoblast, promonocyte ว่าเป็นกลุ่ม blasts เนื่องจากผลการจำแนกสัดส่วนเซลล์แต่ละประเภทในสเมียร์ไขกระดูกด้วย Vision Hema® 8Pro พบว่ามีความสอดคล้องเท่ากับแพทย์ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนก promonocyte ซึ่งถือเป็น blast equivalent และมีข้อจำกัดที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดของ blast ได้ จึงอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการวินิจฉัยแยกกลุ่มโรค ดังในผลการศึกษาจะสังเกตเห็นว่ากลุ่มที่มีความสอดคล้องกันระหว่างสองวิธีมากที่สุดคือกลุ่ม normal bone marrow (blast<1%) รองลงมาเป็นกลุ่ม low-blast count MDS

ในการวิจัยนี้ได้แสดงผลการเปรียบเทียบการจำแนกสัดส่วนเซลล์ทั้งหมด 12 ประเภทในสเมียร์ไขกระดูกด้วยสองวิธี พบว่ามีความสอดคล้องกันในระดับที่ค่อนข้างดีสำหรับ erythroid precursors และ blasts มีความสอดคล้องระดับปานกลางสำหรับ band/segmented neutrophil, metamyelocyte, promyelocyte แต่ยังคงมีความสอดคล้องต่ำสำหรับเซลล์ประเภทอื่นๆ ซึ่งคิดว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อการจำแนกสัดส่วนของเซลล์ในสเมียร์ไขกระดูกด้วยทั้งสองวิธี คือ region of interest (ROI) ซึ่งอาจเป็นคนละบริเวณกัน ทำให้มีผลต่อการเปรียบเทียบได้ สาเหตุอื่นๆอาจเกิดจากคุณภาพของสเมียร์ไขกระดูก เช่น ความหนาของสเมียร์ไขกระดูกในแต่ละตัวอย่าง ลักษณะการติดสีย้อม เป็นต้น เนื่องจากสเมียร์ไขกระดูกประกอบด้วยทั้งไขมันและเซลล์อื่น ๆ อีกหลากหลายชนิด และความหนาแต่ละบริเวณของสเมียร์จะแตกต่างกัน จึงเป็นสาเหตุหลักที่การแปลผลสเมียร์ไขกระดูกมีความซับซ้อนกว่าสเมียร์เลือดมาก

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Kathleen Deiteren และคณะ(6)ที่เคยทำการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่อง Vision Hema® 4Pro ซึ่งมีโปรแกรมการแปลผลสเมียร์ไขกระดูกเดียวกันกับเครื่อง Vision Hema® 8Pro โดยศึกษาในสเมียร์ไขกระดูก 263 ตัวอย่าง ประกอบด้วยไขกระดูกปกติ (e.g. blasts≤4%, no dysplastic cell) 108 ตัวอย่าง, ไขกระดูกผิดปกติซึ่งมีหลากหลายโรค

155 ตัวอย่าง ในการศึกษานี้มีการเปรียบเทียบการจำแนกสัดส่วนเซลล์แต่ละประเภทในสเมียร์ไขกระดูกด้วยเครื่อง Vision Hema® 4Pro (ภายหลังการทบทวนผลโดยพยาธิแพทย์แล้ว) กับการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยผู้เชี่ยวชาญ พบว่ามีความสอดคล้องสูงที่สุดสำหรับ blast มีค่า correlation coefficient (R) เท่ากับ 0.99 รองลงมาเป็น lymphocyte และ plasma cell ที่มีค่า R เท่ากับ 0.95 และ 0.93 ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ชัดว่ามีความแตกต่างกับการศึกษานี้พอสมควร เนื่องจากการศึกษาเดิมเน้นที่การทดสอบความแตกต่างระหว่างการเลือก automated ROI กับ manual ROI ทำให้ผลการจำแนกสัดส่วนของเซลล์ประเภทต่าง ๆ ที่มาจากเครื่อง Vision Hema® 4Pro ได้รับการทบทวนโดยพยาธิแพทย์แล้วก่อนที่จะนำมาเปรียบเทียบกับผลจาก manual microscopy แต่การศึกษานี้มุ่งเน้นดูการวิจัยแยกกลุ่มโรคโดยดูจากปริมาณ blast ผลที่นำมาเปรียบเทียบกันจึงเป็นผลจากเครื่อง Vision Hema® 8Pro ที่ไม่ได้ผ่านการทบทวนหรือแก้ไขมาก่อน นอกจากนี้ Kathleen Deiteren และคณะยังได้วิเคราะห์ sensitivity และ specificity ของการอ่านเซลล์แต่ละประเภททั้งในสเมียร์ไขกระดูกปกติและไขกระดูกที่ผิดปกติ พบว่า blast มีความจำเพาะ (specificity) สูงถึง 99% และ 98% แต่มีความไว (sensitivity) ระดับปานกลางที่ 75.1% และ 62.1% ในสเมียร์ไขกระดูกปกติและสเมียร์ไขกระดูกที่ผิดปกติตามลำดับ ซึ่งอาจสามารถอธิบายผลการศึกษานี้ที่การวินิจฉัยจาก Vision Hema® 8Pro บางส่วนคลาดเคลื่อนกับแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ โดยที่การวินิจฉัยจาก Vision Hema® 8Pro มักจะจัดกลุ่มให้อยู่ในกลุ่มที่มี blast น้อยกว่าการวินิจฉัยโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ สาเหตุอื่น ๆ ที่อาจทำให้ผลการศึกษาของเราต่างจากการศึกษาเดิม เช่น ลักษณะเทคนิคการย้อมสเมียร์ไขกระดูก กลุ่มโรคของสเมียร์ไขกระดูกที่นำเข้ามาในการศึกษา (การศึกษาเดิมมีตัวอย่างไขกระดูกปกติในสัดส่วนที่มากกว่า) เป็นต้น

จากผลของการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่าเครื่อง Vision Hema® 8Pro อาจยังไม่สามารถนำมาใช้แปลผลสเมียร์ไขกระดูกทดแทน experienced hematologist/pathologist เนื่องจากยังมีความสอดคล้องกับการวินิจฉัยด้วย gold standard ในระดับปานกลาง ซึ่งอาจเป็นผลจาก sensitivity ของ blasts ของเครื่อง Vision Hema® 8Pro ยังไม่ดี จากผลการจำแนกการวินิจฉัยของเครื่อง Vision Hema® 8Pro จะเห็นว่าไม่มีสเมียร์ไขกระดูกที่เป็น normal bone marrow ถูกอ่านจำแนกผิดเป็น AML และไม่มีสเมียร์ไขกระดูกในกลุ่ม AML ที่ถูกจำแนกผิดเป็น normal bone marrow จึงอาจนำไปใช้ช่วยแยกกลุ่มโรคคร่าว ๆ แต่ทั้งนี้ยังคงต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการยืนยันการวินิจฉัยโรค

ผลการวิจัยนี้น่าจะช่วยผลักดันนำไปสู่การพัฒนาโปรแกรมของเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกอัตโนมัติ ซึ่งหากพัฒนาให้สามารถแยกชนิดของ blast ได้ พัฒนาความถูกต้องแม่นยำของการจำแนกเซลล์ไขกระดูกบางประเภท พัฒนาความสามารถในการแปลผลลักษณะ dysplasia จะสามารถนำไปต่อยอดในการช่วยวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยาได้หลากหลาย ทั้งยังช่วยลดภาระของ

แพทย์ในการแปลผลสเมียร์ไขกระดูกซึ่งต้องอาศัยความชำนาญสูง ใช้เวลาในการแปลผลค่อนข้างนาน หากต้องการนับจำนวนเซลล์อย่างละเอียด และลดความคลาดเคลื่อนในการแปลผลซ้ำได้

## 5.2 ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่ได้นำเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกมาช่วยในการวินิจฉัยแยกโรค และเป็นการศึกษาแรกของประเทศไทยที่ศึกษาถึงประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกซึ่งอาจนำไปใช้ช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคทางโลหิตวิทยาและแบ่งเบาภาระของแพทย์ในการนับหรือการแปลผลเซลล์ในสเมียร์ไขกระดูก อาจนำไปสู่การพัฒนาระบบโปรแกรมของเครื่อง และยังสามารถนำภาพดิจิทัลของสเมียร์และภาพเซลล์ในไขกระดูกไปใช้ในการศึกษาต่อ สามารถทบทวนผลการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกที่บันทึกไว้ในระบบได้

## 5.3 ข้อจำกัดของการศึกษานี้

ตัวอย่างสเมียร์ไขกระดูกที่ใช้ในการศึกษานี้นำมาจากแหล่งเดียว คือจากหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ทำให้อาจมีความแตกต่างจากสเมียร์ไขกระดูกแหล่งอื่น ๆ และเป็นการศึกษาในสเมียร์ไขกระดูกที่ทำในช่วงปี พ.ศ.2561- พ.ศ.2563 ซึ่งการเก็บรักษาสเมียร์ไขกระดูกอาจมีผลต่อคุณภาพของตัวอย่าง นอกจากนี้เป็นการศึกษาเฉพาะในกลุ่มความผิดปกติของ AML และ MDS อาจทำให้ไม่สามารถคาดการณ์ผลของการนำเครื่องนี้ไปใช้ในกลุ่มโรคอื่นๆ

เครื่อง Vision Hema® 8Pro เป็นเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกที่สามารถนับจำแนกประเภทเซลล์ต่าง ๆ ในสเมียร์ไขกระดูกได้ แต่ความถูกต้องแม่นยำแตกต่างกันในเซลล์แต่ละประเภท และยังไม่สามารถแปลผลลักษณะ dysplasia ได้

## 5.4 สรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้ เป็นการวิจัยแรกที่ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูก Vision Hema® 8Pro ในการช่วยวินิจฉัยแยกโรค AML และ MDS โดยดูจากปริมาณของ blast ในสเมียร์ไขกระดูก ซึ่งพบว่ามีความสอดคล้องระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับการวินิจฉัยโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางโลหิตวิทยา นอกจากนี้ยังพบว่าการจำแนกประเภทของเซลล์ในสเมียร์ไขกระดูกโดยทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันในระดับที่ค่อนข้างดีสำหรับ erythroid precursor และ myeloblast ทั้งนี้การพัฒนาเครื่องและโปรแกรมของ Vision Hema® 8Pro เพื่อให้มีความแม่นยำในการแปลผลเซลล์ชนิดอื่น ๆ มากขึ้น รวมถึงความสามารถในการวิเคราะห์ dysplastic feature มีความสำคัญมาก อาจนำไปใช้ประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยโรคทางโลหิตวิทยาได้

### 5.5 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาต่อยอดจากการวิจัยนี้ โดยการดูประสิทธิภาพของเครื่อง Vision Hema® 8Pro ในแง่ของ accuracy, sensitivity, specificity ของการแปลผลเซลล์แต่ละประเภท ด้วยการให้แพทย์ผู้เชี่ยวชาญตรวจสอบและทำการ reclassify ประเภทเซลล์ที่ไม่เห็นด้วยกับการแปลผลของเครื่อง Vision Hema® 8Pro
2. ถ้าได้จำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นและมีความหลากหลายมากขึ้น อาจสามารถประเมินประสิทธิภาพของการวิเคราะห์สเมียร์ไขกระดูกได้ดีขึ้น ทั้งความหลากหลายในแง่ของการวินิจฉัยและแหล่งที่มาของสเมียร์ไขกระดูก
3. หากพัฒนาให้โปรแกรมของเครื่อง Vision Hema® 8Pro มีความสามารถในการจำแนกชนิดของ blast มีความถูกต้องในการแปลผลเซลล์ไขกระดูกแต่ละประเภทได้ดีขึ้น และรายงาน dysplastic features ได้ อาจนำไปสู่การศึกษาความสามารถของเครื่องในการช่วยวินิจฉัยโรคในกลุ่มอื่น ๆ และนำมาใช้ช่วยแพทย์ในการวินิจฉัยโรคได้

ภาคผนวก  
**Case Record Form**

Sample number: .....

Date of performed specimen (date/month/year): .....

Analyzed by:  Automated bone marrow analyzer

Manual microscopic exam

Result:

Cell type	Count (number)	%
Total cell counts		
Blasts		
Promyelocytes		
Myelocytes		
Metamyelocytes		
Band/Segmented neutrophils		
Basophils		
Eosinophils		
Lymphocytes		
Plasma cells		
Promonocytes		
Monocytes		
Erythroid precursors		
Others		

Percentage(s) of blast: .....

Provisional diagnosis:

- Normal bone marrow
- Low-blast count MDS
- MDS with excess blasts
- Acute myeloid leukemia

## บรรณานุกรม

1. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol.* 2008;30(5):349-64.
2. Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. *Blood Rev.* 2019;36:70-87.
3. Jin H, Fu X, Cao X, Sun M, Wang X, Zhong Y, et al. Developing and Preliminary Validating an Automatic Cell Classification System for Bone Marrow Smears: a Pilot Study. *J Med Syst.* 2020;44(10):184.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391-405.
5. Cazzola M. Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med.* 2020;383(14):1358-74.
6. Zeidan AM, Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: Why characterizing the beast is a prerequisite to taming it. *Blood Rev.* 2019;34:1-15.
7. Ceelie H, Dinkelaar RB, van Gelder W. Examination of peripheral blood films using automated microscopy; evaluation of Diffmaster Octavia and Cellavision DM96. *J Clin Pathol.* 2007;60(1):72-9.
8. Fu X, Fu M, Li Q, Peng X, Lu J, Fang F, et al. Morphogo: An Automatic Bone Marrow Cell Classification System on Digital Images Analyzed by Artificial Intelligence. *Acta Cytol.* 2020;64(6):588-96.
9. Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. *J Biomed Inform.* 2014;48:193-204.
10. Kwiecien R, Kopp-Schneider A, Blettner M. Concordance analysis: part 16 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(30):515-21.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	กฤษณา ปานรงค์
วัน เดือน ปี เกิด	3 ตุลาคม 2534
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลราชบุรียินดี อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
วุฒิการศึกษา	- แพทยศาสตรบัณฑิต (พ.บ.) (เกียรตินิยมอันดับ 1) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย - วุฒิบัตรเพื่อแสดงความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์(ว. อายุรศาสตร์) โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาด ไทย
ที่อยู่ปัจจุบัน	341 ถนนราชบุรีอุทิศ ตำบลหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
ผลงานตีพิมพ์	- Uprasert N, Panrong K, Tungjitviboonkun S, Dussadee K, Decharatanachart P, Kaveevorayan P, Shoosanglertwijit R, Watanaboonyongcharoen P, Bunworasate U, Rojnuckarin P. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine-associated thrombocytopenia: three cases of immune thrombocytopenia after 107 720 doses of ChAdOx1 vaccination in Thailand. Blood Coagul Fibrinolysis. 2022 Jan 1;33(1):67-70. - Uprasert N, Panrong K, Rojnuckarin P, Chiasakul T. Thromboembolic and hemorrhagic risks after vaccination against SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Thromb J. 2021 Nov 13;19(1):86. - Chewcharat A, Takkavatakam K, Wongrattanagorn S, Panrong K, Kittiskulnam P, Eiam-Ong S, Susantitaphong P. The Effects of Restricted Protein Diet Supplemented With Ketoanalogue on Renal Function, Blood Pressure, Nutritional Status, and Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder in Chronic Kidney Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Ren Nutr. 2020 May;30(3):189-199.





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**