

بررسی مقایسه‌ای اثر ضدانعقادهای سیترات سدیم و EDTA در اندازه‌گیری سرعت رسوب اریتروسیتی در ساعت اول و دوم دردو گروه کودکان و بزرگسالان

دکتر رضا مقصودی*، دستیار تخصصی آسیب شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر علی گرانسر، متخصص آسیب شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر عیسی جهانزاد، متخصص آسیب شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر لیلا قوجه‌زاده، پزشک عمومی، پژوهشگر دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

هدف: یکی از تست‌های معمول انجام شده در آزمایشگاهها اندازه‌گیری سرعت رسوب اریتروسیتی (ESR) در ساعت‌های اول و دوم می‌باشد که برای ارزیابی روند بسیاری از بیماری‌های التهابی، عفونی و بعضی از کانسرها بکار می‌رود. روش مرجع توسط کمیته استاندارد کردن در هماتولوژی (ICSH) و کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه‌های بالینی (NCCLS) استفاده از خون رقیق نشده حاوی EDTA می‌باشد. اما روش انتخابی برای کارهای روزمره آزمایشگاهها استفاده از خون حاوی سیترات سدیم رقیق شده است. هدف از این مطالعه مقایسه این دو روش بوده است.

روش مطالعه: در مطالعه ما ۳۰۰ بیمار که ۱۵۰ نفر بالای ۱۴ سال و ۱۵۰ نفر زیر ۱۴ سال داشتند، وارد مطالعه شدند و ESR ساعت‌های اول و دوم هر بیمار با استفاده از نمونه خون‌های حاوی سیترات سدیم و EDTA به روش وسترگرن اندازه‌گیری شد. از نمونه CBC بیماران به شرطی که حجم مناسب برای انجام آزمایش را داشت بعنوان نمونه خون حاوی EDTA استفاده گردید. سپس نتایج ESR بدست آمده با استفاده از دو روش در ساعت‌های اول و دوم با استفاده از آزمون آماری Paired t-test با هم مقایسه گردیدند.

یافته‌ها: در مطالعه ما اختلاف معنی‌داری بین نتایج ESR اندازه‌گیری شده با خون حاوی EDTA و سیترات سدیم در بزرگسالان و افراد آمیک وجود داشت اما در بچه‌ها بین ESR ساعت اول اندازه‌گیری شده با خون حاوی EDTA و سیترات سدیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: چنانچه هدف اندازه‌گیری ESR ساعت اول باشد می‌توان از همان نمونه خون حاوی EDTA که برای سایر آزمایشات درخواست گردیده استفاده نمود که این امر هم باعث کاهش حجم خون‌گیری در اطفال و هم موجب کاهش حجم کار در آزمایشگاه می‌شود.

*مسئول مقاله، آدرس:

تهران، انتهای بلوار کشاورز، بیمارستان

امام خمینی، بخش پاتولوژی

E-mail:

rmaghsoodi@razi.tums.ac.ir

واژه‌های کلیدی: سرعت رسوب اریتروسیتی، ESR، EDTA، سیترات سدیم، روش

وسترگرن

مقدمه

و دوم) که بر حسب میلیمتر بیان می‌گردد. اندازه‌گیری ESR یکی از قدیمی‌ترین تست‌های آزمایشگاهی است که هنوز مورد استفاده قرار می‌گیرد. خون، سوسپانسیون گلبول‌ها در پلاسما است لذا هر گاه خون وریدی را با

سرعت رسوب اریتروسیتی (ESR) عبارت است از میزان سرعت رسوب گلبول‌های قرمز در واحد زمان (ساعت اول

شمارش افتراقی سلول‌ها و شمارش رتیکولوسیت نیز درخواست می‌نمایند؛ بنابراین از این بیماران حجم بیشتری از خون باید گرفته شود که این امر زمانی بیشتر اهمیت پیدا می‌کند که بخواهیم آزمایش‌های فوق را برای در کودکان انجام دهیم که طبعاً گرفتن حجم زیاد خون از کودکان بسیار مشکل و گاه غیر ممکن است. از طرف دیگر گاه نمونه خون حاوی سیترات سدیم که برای آزمایش ESR گرفته می‌شود حجم خونی کمتر یا بیشتر از حد توصیه شده دارد که کمتر بودن حجم خون باعث جواب‌های نادرست و بیشتر بودن خون سبب لخته شدن آن می‌گردد و در این حالات باید مجدداً از بیمار خون-گیری به عمل آید در حالی که اگر همین بیمار نمونه خون حاوی EDTA برای آزمایش‌های دیگر داشته باشد می‌توان از همان نمونه برای اندازه‌گیری ESR استفاده نمود. بنابراین اگر بتوانیم از همان نمونه خون حاوی EDTA برای آزمایش ESR استفاده نماییم هم نیاز به گرفتن حجم زیاد خون از بیماران بخصوص کودکان برطرف می‌شود و هم از نظر اقتصادی با صرفه‌تر است. زیرا تعداد لوله‌های مصرف کمتر می‌شود و نیاز به ساختن محلول سیترات سدیم و پخش آن در لوله‌ها وجود ندارد و حجم کار آزمایشگاه هماتولوژی به طور محسوس کاهش خواهد یافت.

بنابراین ما در این تحقیق بر آن شدیم تا با اندازه‌گیری ESR به این دو روش و مقایسه نتایج بدست آمده به این سؤال که بهترین ماده ضدانعقاد برای تست ESR چیست پاسخی داده باشیم.

مواد و روشها

از بین مراجعه کنندگان به آزمایشگاه بیمارستان امام خمینی تهران که درخواست ESR و CBC داشتند ۳۰۰ نفر انتخاب و وارد مطالعه شدند. ۱۵۰ نفر از بیماران سن بالای ۱۴ سال و ۱۵۰ بیمار دیگر سن کمتر از ۱۴ سال داشتند. بیمارانی که خون حاوی EDTA یا سیترات سدیم دریافتی لخته شده داشتند و یا از زمان خون‌گیری آنها بیش از ۲ ساعت گذشته بود از مطالعه حذف شدند. ابتدا محلول ۳/۸٪ سیترات سدیم تهیه و به میزان لازم در لوله مخصوص جمع‌آوری برای اندازه‌گیری ESR ریخته شد که به نسبت ۴ به ۱ با خون دریافتی مخلوط می‌گردید. سپس نمونه دارای EDTA همان

ماده ضد انعقاد مخلوط و در لوله‌ای بصورت عمودی قرار دهیم گلبول‌های قرمز در ته آن رسوب خواهند کرد. در افراد عادی این سرعت آهسته است ولی در برخی بیماری‌های عفونی، التهابی و بدخیم ESR افزایش می‌یابد که در بعضی از حالات با شدت بیماری متناسب است.

اندازه‌گیری ESR تستی ساده و ارزان است و به روش دستی به دو طریق وینتروب لاندسبرگ (Wintrob & Landsberg) و وسترگرین (Westergrene) انجام می‌شود. در روش اول از خون رقیق نشده دارای اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و در روش دوم از خون رقیق شده با سیترات سدیم استفاده می‌شود.

در سال ۱۹۶۸ وینتروب و Landsberg اساس اندازه‌گیری ESR را پی‌ریزی نمودند که در این روش از پیپت ماکروهماتوکریت برای اندازه‌گیری استفاده می‌شد. اما در سال ۱۹۷۵ روش دیگری ابداع شد که در این روش از سیترات سدیم به عنوان ضد انعقاد و از پیپتی به طول ۳۰۰ میلی‌متر که از ۰ تا ۲۰۰ بر حسب میلی‌متر درجه‌بندی شده بود استفاده شد. این روش بعدها تغییراتی یافت و به نام Modified Westergren شناخته شد که تنها تفاوت آن با روش کلاسیک وسترگرین استفاده از خون حاوی EDTA است که برای استفاده روزمره هماتولوژی کاربرد فراوانی دارد [۱، ۲، ۳].

روش پیشنهادی برای استفاده روتین جهت اندازه‌گیری سرعت رسوب اریتروسیته در آزمایشگاه‌ها از سوی کمیته بین المللی استاندارد کردن در هماتولوژی (ICSH) و کمیته بین المللی استانداردهای آزمایشگاه بالینی (NCCLS) همان روش وسترگرین است که در این روش از سیترات سدیم به عنوان ماده ضدانعقاد و رقیق کننده استفاده می‌شود. از طرفی روش مرجع توسط همان کمیته‌ها برای اندازه‌گیری سرعت رسوب اریتروسیته استفاده از خون دارای EDTA بدون رقیق کننده به روش وسترگرین می‌باشد [۴]. از آنجایی که در آزمایش‌های هماتولوژی دیگر مانند شمارش سلولهای خونی (CBC) و شمارش رتیکولوسیت و غیره از ماده EDTA به عنوان ضد انعقاد استفاده می‌شود و از سوی دیگر پزشکان اغلب همراه ESR آزمایش‌های دیگر هماتولوژی از جمله CBC و بررسی لام خون محیطی و

گروه کودکان $2/15 \pm 0/56$ سال و در گروه بزرگسالان $34/5 \pm 0/32$ سال بود. هفتادونه بیمار نیز آنمی داشتند. نتایج ESRهای بدست آمده در گروه اطفال و بزرگسال با استفاده از دو ضد انعقاد سیترات سدیم و EDTA در ساعت اول و دوم در جدول ۱ نشان داده شده است. میانگین ESR ساعت اول با استفاده از ضد انعقاد سیترات سدیم در هر دو گروه کودکان و بزرگسالان کمتر از روش استفاده از ضدانعقاد EDTA بود.

مقایسه نتایج ESR های بدست آمده با استفاده از دو ماده ضد انعقاد سیترات سدیم و EDTA در گروههای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. فقط در کودکان زیر ۱۴ ساعت بین نتایج ESR بدست آمده در ساعت اول به دو روش، اختلاف معنی داری وجود نداشت (نمودار ۱) ($t=0/979$) و در کودکان بین نتایج ESR بدست آمده در ساعت دوم و در افراد آنمیک و بزرگسالان بین نتایج حاصل از اندازه گیری ESR به دو روش اختلاف معنی داری وجود داشت.

بحث

با نگاهی به تاریخچه اندازه گیری ESR از گذشته تاکنون از هنگامی که با روش های دستی از خون دارای EDTA (روش وینتروب) و خون سیترا ته (روش وسترگرین) استفاده می شده تاکنون که در روشهای اتوماتیک نیز

بیمار که جهت آزمایش CBC ارسال گردیده بود و اگر پس از انجام CBC حجم مناسب برای اندازه گیری داشت و از زمان خون گیری آن بیش از ۲ ساعت نگذشته بود به همراه نمونه سیترا ته جهت اندازه گیری ESR ساعت اول و دوم مورد آزمایش قرار گرفتند. سپس اطلاعات حاصله شامل میزان هموگلوبین و سن و جنس و میزان ESR ساعت اول و دوم نمونه سیترا ته و حاوی EDTA وارد چک لیست گردیدند و توسط رایانه با استفاده از برنامه SPSS 11 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. از آزمون های Paired t-test به عنوان روش آماری جهت سنجش استفاده گردید.

از آنجایی که در این تحقیق می بایست برای هر بیمار علاوه بر روش روتین اندازه گیری ESR از روش دیگر (خون حاوی EDTA) هم استفاده می شد لذا به حجم دو برابر خون جهت اندازه گیری رسوب اریتروسیستی نیاز بود که مجبور به خونگیری به میزان بیشتری بودیم اما چون از لحاظ اخلاقی می بایست از بیماران رضایت گرفته می شد و بعضی از بیماران موافق این مسئله نبودند لذا ترجیح داده شد که از نمونه بیمارانی که درخواست همزمان CBC داشتند استفاده شود.

یافته ها

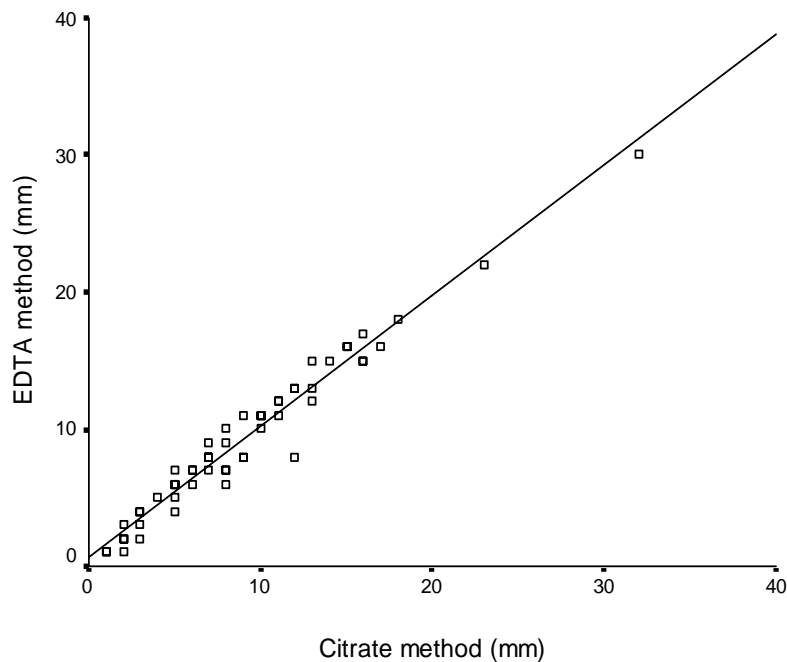
از ۳۰۰ بیمار مورد بررسی ۱۲۵ بیمار مذکر و ۱۷۵ بیمار مؤنث بودند. میانگین سنی نمونه های مورد بررسی در

جدول ۱- مقایسه شاخصهای آماری مقادیر ESR با ضد انعقاد سیترات سدیم و EDTA در کودکان و بزرگسالان

نوع ضد انعقاد		شاخص های آماری در گروه های مورد مطالعه	
سیترات سدیم ساعت اول	EDTA ساعت اول	سیترات سدیم ساعت دوم	EDTA ساعت دوم
میانگین (انحراف معیار)	۹/۱ (±۵/۷)	۹/۴ (±۵/۶)	۱۹/۳ (±۱۱/۵)
محدوده	۳۱	۲۹	۶۸
حداقل	۱	۱	۲
حداکثر	۳۲	۳۰	۷۰
میانگین (انحراف معیار)	۵/۹ (±۱۴/۷)	۱۸/۱ (±۱۷/۰)	۴۱/۸ (±۲۸/۵)
محدوده	۷۱	۷۱	۱۱۲
حداقل	۱	۱	۳
حداکثر	۷۲	۷۲	۱۱۵

جدول ۲- مقایسه نتایج ESR ساعت اول و دوم اندازه‌گیری شده با دو ضدانعقاد EDTA و سیترات سدیم در گروه‌های مختلف با آزمون Paired t-test

مقایسه نتایج ESR ساعت اول اندازه‌گیری شده به دو روش مختلف (p value)	مقایسه نتایج ESR ساعت دوم اندازه‌گیری شده به دو روش مختلف (p value)	گروه‌های مورد مطالعه
<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	کل ۳۰۰ نفر
<۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	بیماران بالای ۱۴ سال
۰/۰۳۷	۰/۰۷۷	بیماران زیر ۱۴ سال
<۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	بیماران آنمیک



نمودار ۱- رابطه بین ESR اندازه‌گیری شده در ساعت اول با استفاده از ضدانعقاد EDTA و سیترات سدیم در کودکان

EDTA را به‌عنوان ماده ضدانعقاد مناسب جهت اندازه‌گیری ESR معرفی کرده‌اند. Belin و همکارانش مقایسه‌ای بین میزان ESRهای بدست آمده از روش‌های Classic Westergren و Modified Westergren و استفاده از خون حاوی EDTA بدون رقیق کننده انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که بهترین و مطمئن‌ترین نتیجه مربوط به همان دو روش کلاسیک و اصلاح شده وسترگرین بوده و استفاده از خون حاوی EDTA بدون رقیق کننده برای اندازه‌گیری ESR نتایج قابل قبولی ندارد [۵].

بعضی دستگاه‌ها از خون حاوی EDTA و دستگاه‌های دیگر از خون سیتراته استفاده می‌کنند. این سؤال مطرح می‌گردد که کدام ضدانعقاد جهت اندازه‌گیری رسوب اریتروسیتهی مناسب‌تر است و آیا آنها را به‌جای یکدیگر می‌توان استفاده کرد و این که آیا حتماً نیاز به رقیق کننده (سیترات سدیم یا نرمال سالین) وجود دارد یا خیر؟
مطالعات متعددی در مورد این مسئله صورت گرفته است و نتایج مختلفی نیز طی این مطالعات بدست آمده است. برخی از این مطالعات سیترات سدیم و برخی دیگر

آزمایشگاه‌ها استفاده از رقیق‌کننده‌هایی مانند سیترات سدیم یا نرمال سالین می‌باشد [۴]. با توجه به نتایج حاصله از تحقیق ما که ESR ساعت‌های اول و دوم اندازه‌گیری شده با استفاده از سیترات سدیم و خون حاوی EDTA بدون رقیق کردن اختلاف معنی‌داری را در گروه بزرگسالان و کسانی که کم‌خونی داشتند نشان می‌دهد. بنابراین استفاده روتین از خون سیترا ته و یا اضافه نمودن سیترات سدیم به خون دارای EDTA معقول به نظر می‌رسد. اما یافته جالب در این تحقیق عدم وجود اختلاف معنی‌دار در ESR ساعت اول خون‌های حاوی EDTA و سیترات سدیم در گروه کودکان می‌باشد که اگر اندازه‌گیری ESR ساعت اول مد نظر باشد با توجه به این‌که خون‌گیری با حجم زیاد در این گروه مشکل می‌باشد می‌توان از همان نمونه‌ای که برای سایر آزمایشات از جمله CBC ارسال می‌گردد در صورت داشتن حجم مناسب جهت اندازه‌گیری رسوب اریتروسیتی ساعت اول استفاده نمود.

نکته دیگری در مورد یافته‌های این تحقیق اختلاف معنی‌دار ESR اندازه‌گیری شده با خون سیترا ته و حاوی EDTA رقیق نشده در بیماران آمیک است که انتظار می‌رفت در این گروه با توجه به هموگلوبین و هماتوکریت پایین آنها نسبت به افراد طبیعی (با توجه به روش مرجع ICSH که شرط آن هماتوکریت کمتر از ۰/۳۵ می‌باشد) میزان رسوب اریتروسیتی اندازه‌گیری شده به روش‌های وسترگرین کلاسیک و خون حاوی EDTA رقیق نشده همخوانی داشته باشد که این گونه نبود.

نتیجه‌گیری

چنانچه هدف اندازه‌گیری ESR ساعت اول باشد (که معمولاً ساعت دوم درخواست نمی‌شود) می‌توان از همان نمونه خون حاوی EDTA که برای سایر آزمایشات درخواست گردیده استفاده نمود که این امر هم باعث کاهش حجم خون‌گیری در کودکان و هم موجب کاهش حجم کار در آزمایشگاه می‌شود.

در سال ۱۹۹۳ کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاه بالینی نتایج ESR های بدست آمده از روش‌های Modified Westergren را با نتایج ESR های بدست آمده از خون حاوی EDTA بدون رقیق‌کننده با لوله وسترگرین مقایسه نموده و تفاوت معنی‌داری بین این دو روش مشاهده نمودند [۶].

Plebani و همکارانش طی تحقیقی با هدف دستیابی به روش جدید برای اتوماتیک کردن اندازه‌گیری ESR، از خون حاوی EDTA به عنوان ضدانعقاد بدون رقیق‌کننده استفاده کردند و در نهایت نتایج را با روش مرجع وسترگرین مقایسه نمودند در این مطالعه نتایج بدست آمده کاملاً منطبق بر همدیگر بود و تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند [۷].

Plebani و همکارانش در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۲ طی تحقیقی برای اندازه‌گیری ESR از ۰/۲ میلی‌لیتر خون بدون ضدانعقاد و به روش 1 Micro Test استفاده کرده و نتایج آن را با نتایج روش استاندارد ICSH/NCCLS سنجیده و نتایج را با همخوانی کامل اعلام نموده و آن را روش مناسبی برای اندازه‌گیری ESR در کودکان عنوان کرده‌اند [۸].

Happe و همکارانش نیز روش Sample DMV ESR Analyzer را در سال ۲۰۰۲ جهت اندازه‌گیری اتوماتیک ESR شرح دادند و برای اندازه‌گیری ESR از ۰/۲۵ میلی‌لیتر خون سیترا ته استفاده کردند که همبستگی خوبی با نتایج ICSH/NCCLS داشته و این روش را روش سریع و مطمئنی برای اندازه‌گیری سرعت رسوب اریتروسیتی معرفی نمودند [۹].

مطلب مهم این است که کمیته بین‌المللی استانداردهای آزمایشگاه بالینی و کمیته بین‌المللی استاندارد کردن هماتولوژی (NCCLS/ICSH) استفاده از خون غیر رقیق شده حاوی EDTA را به شرطی که هماتوکریت بیمار از ۰/۳۵ بیشتر نباشد به عنوان روش مرجع اندازه‌گیری ESR توصیه می‌کند از طرفی از سوی همین کمیته روش انتخابی برای استفاده روتین

A comparative study on the effect of sodium citrate and EDTA in erythrocyte sedimentation rate after one and two hours in children and adults

R Maghsoodi * MD, Clinical Pathology Resident, Tehran University of Medical Sciences
A Geransar MD, Assoc Prof of Clinical Pathology, Tehran University of Medical Sciences
E Jahanzad MD, Ass Prof of Clinical Pathology, Tehran University of Medical Sciences
L Ghojzadeh MD, General Physician, Tehran University of Medical Sciences

* Correspondence author,
Address: Department of
Pathology, Imam Khomini
Hospital, Keshavarz Blvd,
Tehran, I.R.Iran
E-mail:
rmaghsoodi@razi.tums.ac.ir

Abstract

Background: One of the most common tests performed in the hematology laboratories is erythrocyte sedimentation rate (ESR) test at the first and second hours for monitoring the course of infections, inflammatory diseases and some types of cancers. The recommended method by the international council for standardization in hematology (ICSH) and national committee for clinical laboratory standards (NCCLS) for ESR measurement is based on the traditional Westergren method, using EDTA anticoagulated sample without dilution. But selected method for routine works in laboratories is using sodium citrate while EDTA is used in most other hematological tests. Now if the same blood samples containing EDTA could be used for ESR measurement, it would lead to decrease in laboratory working load as well as the amount of required blood.

Methods: Three hundred cases (125 males, 75 females, 79 of the total cases anemic) were included in this study. 150 cases were less than 14 years and 150 cases more than 14 years old. Two blood samples were taken from each patient with EDTA or sodium citrate anticoagulant. We used samples of CBC test as EDTA containing samples. The first and second hour ESR were measured simultaneously for both samples using Westergren method under completely identical conditions and the results were recorded, the ESR results obtained using sodium citrate in the first and second hour were compared with the ESR test results of the same patients with EDTA containing samples by paired t-test.

Results: It was observed that there was significant difference between the results of ESR test by using two anticoagulants in adults and anemic cases. But in children, statistical difference between first hour ESR test results using EDTA and sodium citrate was not significant.

Conclusion: It can be concluded that if only first hour ESR in children is required, samples containing EDTA can be used which will decrease the amount of required blood to a half. It would also cause a decrease in working load of laboratories.

Keywords: Erythrocyte sedimentation rate, Sodium citrate, ESR, EDTA, Westergren method

REFERENCES

1. Henry JB, Davey FR. Hematology, coagulation and transfusion medicine. In: Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. London, Saunders. 2001; Pp: 515-7.

2. Dacie JV, Lewis SM. Practical Hematology. 8th ed. London, Edinburg; Churchill Livingstone. 2001 Pp:176-80.
3. Saadeh C. The erythrocyte sedimentation rate: old and new clinical applications. South Med J. 1998;91:220-5.
4. National committee for clinical laboratory standards. References and selected procedure for Erythrocyt Sedimentation Rate (ESR) test; Approved Standard, 4th ed. H2-A4. Villanova, PA: NCCLS; 2000.
5. Belin DC, Morse E, Weinstein A. Whither Westergren: the sedimentation rate reevaluated. J Rheumatol. 1981; 8:331-5.
6. International Council for Standardization in Haematology (Expert Panel on Blood Rheology). ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. J Clin Pathol. 1993; 46:198-203.
7. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, et al. The TEST 1 automated system: a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. Am J Clin Pathol. 1998;110:334-40.
8. Plebani M, Piva E. Erythrocyte sedimentation rate: use of fresh blood for quality control. Am J Clin Pathol. 2002;117:621-6.
9. Happe MR, Battafarano DF, Dooley DP, et al. Westergren ESR method in patients with systemic inflammatory conditions. Am J Clin Pathol. 2002;118:14-7.

Archive of SID