

Eritrosit Sedimentasyon Hızının Ölçümünde Farklı Otomasyon Sistemlerinin Referans Yöntem ile Karşılaştırılması

The Comparison of Different Automation Systems with Reference Method for Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement

Nalan Akalın

Serap Ankan

Nagihan Türkeli

Turan Serter

Başkent Üniversitesi Alanya Araştırma ve Uygulama Merkezi Biyokimya Laboratuvarı, Ankara

ÖZET

Amaç: Eritrosit sedimentasyon hızının ölçümünde otomatize cihazların kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Bu çalışmada üç farklı otomatize sedim cihazı (Micro TEST-1, Sedisystem, Sed Rate Screener) ile klasik manuel Westergren yöntemini karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Rastgele seçilen hastalara ait kan örnekleri vakumlu K₃EDTA ve sodyum sitratlı tüplere alınarak 4 saat içerisinde 3 farklı sedim analizörü ve manuel Westergren yöntemiyle eş zamanlı olarak çalışıldı (n=40, 2-120 mm/saat).

Bulgular: Sedisystem cihazı dışındaki cihazların ölçüm sonuçlarının Manuel Westergren yöntemi sonuçlarından istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edildi (Sedisystem p=0.558, Micro TEST-1 p=0.034, Sed Rate Screener p=0.000). Manuel yöntem ile cihazların sonuçları arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edildi (Micro TEST-1 r= 0.712, Sedisystem r= 0.913 ve Sed Rate Screener r= 0.934, p değerleri=0.000). Regresyon denklemleri sırası ile Micro TEST-1 için $y = 0.80x + 0.56$, Sedisystem için $y = 1.10x - 1.35$, Sed Rate Screener için $y = 0.77x - 0.17$ olarak tespit edildi.

Sonuç: İş yükü yüksek olan klinik laboratuvarlarda sonuç süresini kısaltan tüm bu otomatize sistemlerin klinik laboratuvarlarda kullanımının uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Westergren Yöntemi, Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR), Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Komitesi (ICSH)

ABSTRACT

Purpose: In recent decades, several new techniques for measuring erythrocyte sedimentation rate have been developed in clinical laboratories. The aim of this study to compare three different automated sedimentation analyzers (Micro TEST-1, Sedisystem, Sed Rate Screener) with the manual Westergren reference method.

Materials and Methods: Patient blood samples were collected in K₃ EDTA vacutainers and in sodium citrate Vacu-Tec tubes and assayed within 4 hours of veinpuncture in three different sedimentation analyzer and manual Westergren method (n=40, 2-120 mm/h).

Results: The assays results of the automated sedimentation analyzers were statistically different from the manual Westergren method except Sedisystem (Sedisystem p=0.558, Micro TEST-1 p=0.034, Sed Rate Screener p=0.000). There were significantly high correlations between the results of sedimentation analyzers and the manual Westergren method (Micro TEST-1 r= 0.712, Sedisystem r= 0.913, Sed Rate Screener r= 0.934, p values=0.000). The regression statistics obtained from the method comparison study were: Micro TEST-1; $y = 0.80x + 0.56$, Sedisystem; $y = 1.10x - 1.35$, and Sed Rate Screener; $y = 0.77x - 0.17$.

Conclusion: The new fully automated systems for ESR measurement are safe, precise, accurate, and easy to use in clinical laboratories

Key Words: Westergren Method, Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR), International Council for Standardization in Haematology (ICSH)

GİRİŞ

Eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) çeşitli hastalıkların tanısında kullanılan nonspesifik bir testtir. ESR romatizma, kollejen vasküler hastalıklar ve temporal arteritte tanı, aktivite belirlenmesi ve remisyonun takibi amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca kanser ve Hodgkin lenfoma gibi bir çok hastalığın seyri sırasında da arttığı tespit edilmiştir. ESR akut faz proteinleri diye bilinen plazma proteinlerinin artışı, akut doku hasarı, kronik inflamasyon ve gebelik gibi durumlarda da artmaktadır.

ESR ölçümünde, klasik Westergren yöntemi "The International Council for Standardization in Haematology" (ICSH) tarafından 1977 yılında "Gold Standart" olarak belirtilen referans yöntemdir. Referans yöntemde kan ESR değeri, K3 EDTA ile antikoagüle edilmiş tüpe kanın alınmasından sonraki 4 saat içerisinde Westergren yöntemi ile saptanmaktadır. Tüm örnekler 8 kez manuel karıştırılır ve vertikal olarak uygun sehpaye yerleştirilir. Ölçüm sırasında örnekler; direkt ışıktan ve titreşimden korunmalı ve ölçümler 25°C'dan fazla olmayan standart oda sıcaklığında yapılmalıdır. Sonuçlar mm/saat olarak verilir (1).

ESR tayininde kullanılan metodoloji üzerine yoğunlaşan çalışmalar sonucu değişik otomatize kapalı sistemler geliştirilmeye başlandı. Bu sistemler güvenilirlik, hız ve örnek kullanımında ciddi avantajlar sağlamaktadır (2,3).

Bu çalışmadaki amacımız, son yıllarda klinik laboratuvarlarda sık kullanılmaya başlanan otomatize sedim cihazları (Micro TEST-1, Sedisystem ve Sed Rate Screener) ile klasik manuel Westergren yöntemi sonuçlarını karşılaştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan örnekler, Başkent Üniversitesi Alanya Uygulama ve Araştırma Merkezinin farklı servislerine başvuran hastalardan elde edildi. Bu amaçla hemogram istemi de bulunan ve hematokrit değeri 35 ve üzerinde olan hastalardan rastgele seçilen 40 kişiden (Kadın/Erkek: 25/15, yaş ortalamaları ve aralıkları; K: 42.00 ± 16.08 (8-75), E: 45.27 ± 15.92 (9-82)) EDTA'lı ve sitratlı kan örnekleri alındı. ESR değerleri üç farklı otomatize sedim cihazı ile (Micro TEST-1 (ALIFAX S.P.A., Padova, Italy), Sedisystem (Becton-Dickinson, KSA), Sed Rate Screener (Greiner, SWZ)) ve klasik manuel Westergren yöntemi ile çalışıldı (ölçüm değerleri aralığı 2-120 mm/saat). Hemogram ölçümleri Cell-Dyn 3700 (Abbott, USA) cihazında yapıldı.

Sedisystem cihazında, sitratlı tüplere alınan kan örneği (200 mm uzunluğunda 3 mm çapında) otomatik olarak 5 dakika karıştırılır ve 20 dakika boyunca CCD kamera tarafından okunur. Bulunan değerler Westergren metodu ile oranlanarak 1 ve 2 saatlik sedimentasyon değerleri hesaplanır. Sedisystem cihazında ölçüm, herbir tüpte aynı anda başlamaktadır (2,3).

Tablo 1. Cihazların istatistiksel karşılaştırma sonuçları.

Referans Yöntem	Manuel Westergren (n=40) X ± SD = 18.55 ± 10.64		
	Micro Test-1	Sedisystem	SED Rate Screener
X ± SD	15.53 ± 12.06	19.05 ± 12.82	14.13 ± 8.78
r (p)	0.712 (0.000)	0.913 (0.000)	0.934 (0.000)
t (p)	-2.195 (0.034)	0.591 (0.558)	-7.055 (0.000)
Regresyon denklemi	y = 0.80x + 0.56	y = 1.10x - 1.35	y = 0.77x - 0.17
Sy/x	8.58	5.31	3.16

X: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma, r (p): korelasyon değerleri ve anlamlılığı, t (p): Student-t testi değeri ve anlamlılığı, Sy/x: Regresyonun standart hatası.

Sed Rate Screener otomatize sedimentasyon cihazında 1.6 mL'lik sitratlü tüplere alınan kan örnekleri 5 dakika süresince mikserde karıştırıldıktan sonra cihazın üzerindeki kuyucuklara yerleştirilir ve 20 dakika sonra Westergren metodu ile oranlanarak 1 ve 2 saatlik ölçüm değerleri hesaplanır. Grainer cihazında ölçümler tüm örneklerde ayrı ayrı yapılabilmekte ve sonuçlar 30 dakika sonra LCD ekranda görünmektedir (4).

Micro TEST-1 cihazı da kantitatif kapiller fotometri prensibine göre ölçüm yapan semi-otomatize sedimentasyon ölçüm analizörüdür. Ölçüm için mikro volümde örnek (30 mikrolitre) kullanılmakta olup tüp bağımlılığı yoktur. 37°C'a ayarlı olan cihazın test kapasitesi saatte 180 testtir. EDTA'lı kan örneği aspire edildikten sonra kapiller sisteme dağıtılmakta ve 20 g'de santrifüj edilmektedir. İnfrared ışıkla 950 nm dalga boyunda ölçüm yapan mikro fotometre kullanılır. Elektrik impulsları fotodiod dedektör tarafından birim zamandaki impulslar şeklinde saptanarak her örneğin sedimentasyon eğrisi çizilir. Lineer regresyon modeli kullanılarak birim zaman başına sinyaldeki azalma derecesi saptanarak ki buna "ortalama sinyal" denir örnekten elde edilen değer ile karşılaştırılır. Ölçümler Westergren değerlerine çevrilir. İlk sonuç 3 dakikanın sonunda, daha sonraki sonuçlar ise her 20 saniyede bir verilmektedir (5-7).

Cihazların her birinden elde edilen değerlerin ortalamaları ile manuel Westergren yön-

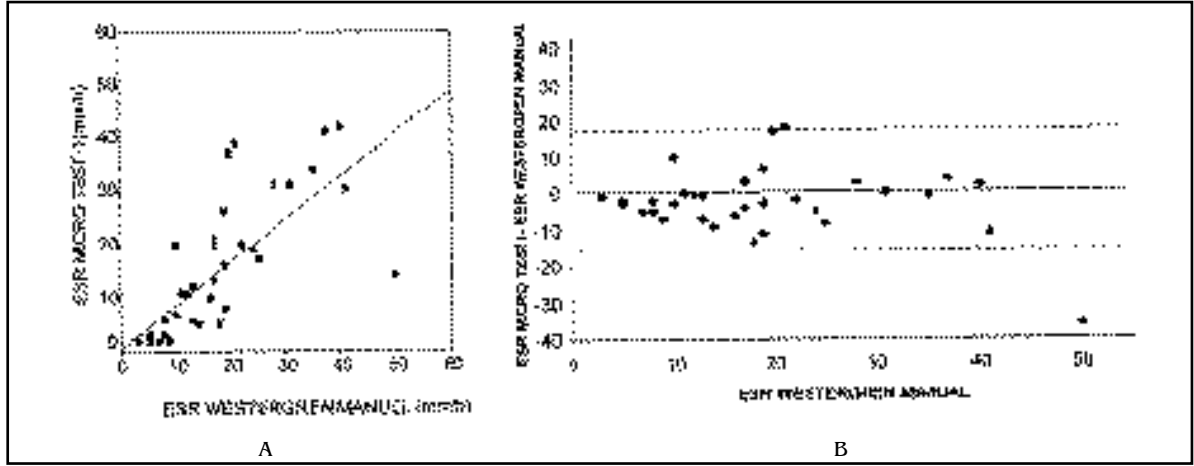
temi ortalaması arasındaki farkların anlamlılığı paired Student-t testi ile, yöntemlerin korelasyon ilişkileri Pearson korelasyon analizi ile, regresyon eşitlikleri Passing-Bablok regresyon analizi ile saptandı. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde SPSS-11.00 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, USA) programı kullanıldı.

BULGULAR

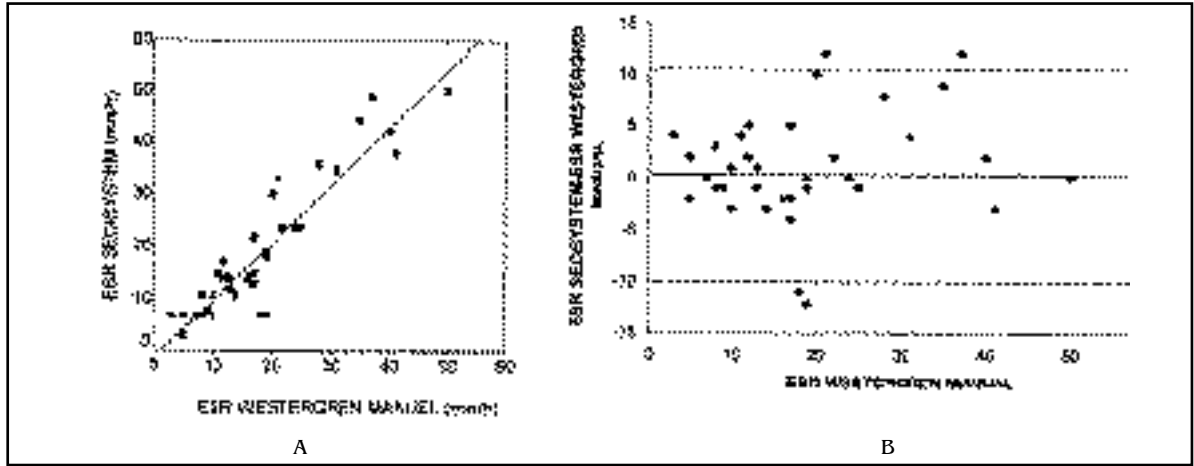
Hematokrit değerleri 35 ve üzerinde olan kan örnekleri ile yaptığımız çalışmalardan elde edilen değerlere göre, Sedisystem sedim analizörü ile manuel Westergren yöntemi ortalama değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilemezken (p=0.558), Micro TEST-1 ve Sed Rate Screener sedim analizörleri ile manuel Westergren yöntemi ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi (sırasıyla p= 0.034, p=0.000). Yapılan korelasyon ve regresyon analizlerinde kabul edilebilir bir ilişki olduğu saptandı. Yöntemler arasında saptanan korelasyonlar, regresyon eşitlikleri Tablo 1'de, regresyon eğrileri ve fark grafikleri Şekil 1,2,3'de verilmektedir.

TARTIŞMA

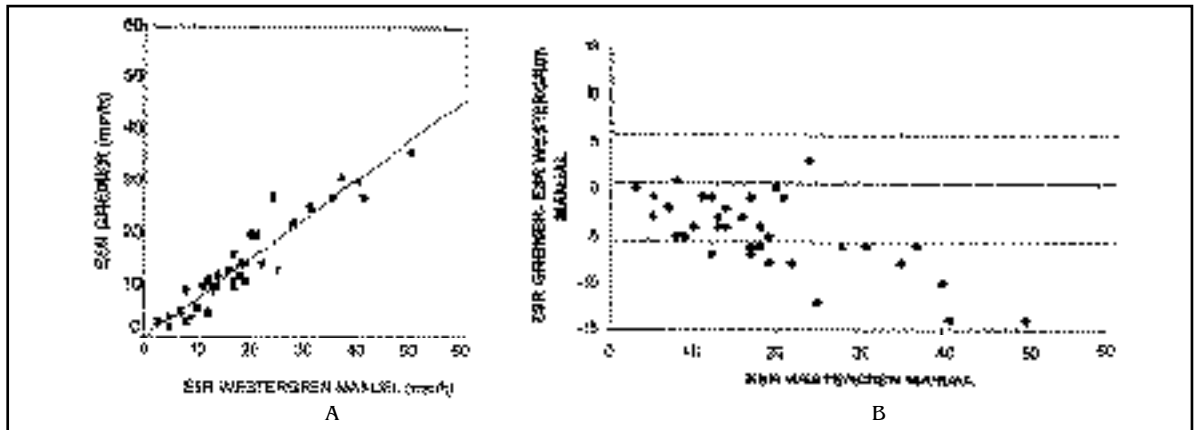
Bugün artık daha yaygın olarak kanda sedimentasyon reaksiyonunun uzunluğu (LSRB) olarak da tanımlanan eritrosit sedimentasyon hızı, geçen yüzyılın başlarından itibaren pek çok infeksiyon, imflamatuvar hastalık ve bazı kanser tiplerinin izlenmesinde yaygın



Şekil 1. (A) Micro TEST-1 ve manuel Westergren yönteminin ESR ölçümü açısından Passing-Bablok regresyon analizi; $y = 0.80x + 0.56$, eğim için %95 CI: 0.54 - 1.06, y-kesişim için %95 CI: -5.00 - 6.13, $Sy/x = 8.58$; $n = 40$. (B) Micro Test-1 ve manuel Westergren yöntemi arasındaki farkların 2SD içindeki dağılım grafiği.



Şekil 2. (A) Sedisystem ve manuel Westergren yönteminin ESR ölçümü açısından Passing-Bablok regresyon analizi; $y = 1.10x - 1.35$, eğim için %95 CI: 0.93 - 1.26, y-kesişim için %95 CI: -4.79 - 2.097; $Sy/x = 5.31$; $n = 40$. (B) Sedisystem ve manuel Westergren yöntemi arasındaki farkların 2SD içindeki dağılım grafiği.



Şekil 3. (A) Sed Rate Screener (Greiner) ve manuel Westergren yönteminin ESR ölçümü açısından Passing-Bablok regresyon analizi; $y = 0.77x - 0.17$, eğim için %95 CI: 0.674 - 0.867, y-kesişim için %95 CI: -2.227 - 1.886; $Sy/x = 3.16$, $n = 40$. (B) Sed rate Screener ve manuel Westergren yöntemi arasındaki farkların 2SD içindeki dağılım grafiği

olarak kullanılan spesifik olmayan basit ve ucuz bir testtir (8). Sedimentasyon hızı, plazma ve eritrosite bağlı faktörlerin etkilediği eritrosit agregasyonu ile tayin edilir. Hematokrit (anemi), fibrinojen konsantrasyonu, diğer plazma proteinleri gibi değişik faktörlerin eritrosit sedimentasyonunu etkilediği pek çok regresyon analizi ile gösterilmiştir (9). Sodyum sitratlı örneklerin kullanıldığı manuel Westergren metodu 1988 yılında Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Komitesi tarafından referans yöntem olarak kabul edilmiştir (8). Tüm dünyada rutin olarak kullanılan bu yöntemin fazla miktarda sodyum sitrat veya EDTA gerektirmesi ve test sonuç süresinin 2 saat olması önemli sakıncalarıdır (10). Bu sorun özellikle yeni-doğan, çocuk ve onkoloji hastalarında çok önemli bir durumdur. ESR ölçümünde kullanılan tüpler eğer düzgün ve dik yerleştirilmezse hatalı sonuçlar çıkabilir, çevre sıcaklığı ve okuma hattı (menisküs çizgisi) yanlış sonuçlara neden olabilir (10).

Yakın zamanda sedimentasyon ölçüm prosedürünü iyileştiren, güvenliği ve güvenilirliği arttıran yeni yöntem ve cihazlar geliştirilmiştir (11,12). Yeni otomatize sistemler güvenilir, hassas, doğru ve klinik kullanımı kolay cihazlardır. Ölçümlerde kapalı ve otomatize sistemlerin kullanımı kişi bağımlılığını azaltmakta ve güvenlik açısından tercih edilir olmaktadır.

Otomatik sistemlerde ESR analizi için gereken kan hacmi azaltılmış olup, klasik Westergren methodunda 1.8 mL kan miktarı gerekmektedir. Tam kan sayımı için kullanılan EDTA'lı tüpleri kullanabilme özelliği hastadan ikinci bir sitratlı tüp alınma gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca antikoagülana bağlı oluşan preanalitik hatayı da azaltmaktadır. ICSH ve National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından dilüe edilmemiş K3 EDTA'lı örnek tipi; sodyum sitratlı tüplere göre daha güvenilir olduğu için önerilmektedir (13).

Yapılan yöntem karşılaştırma çalışmalarında en az 40 örnek önerilmekte olup değişik sa-

yıda örnekler ile yapılan çalışmalarda bulunmaktadır (5-7, 14). Çalışmamıza dahil edilen cihazların referans manuel Westergren yöntem ile yapılan korelasyon analizlerinde kabul edilebilir bir ilişki olduğu saptandı. Her üç cihaz ile yapılmış, bulgularımızı destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur (2, 15-18).

Sedimentasyon ölçümünde kullanılan otomatize cihazların çeşitliliği göz önüne alındığında; cihazın büyüklüğü, test süresinin kısalığı, örnek volümünün azlığı, kullanım kolaylığı, değişik yaş gruplarındaki kullanım verimliliği, test başına maliyet gibi teknik değişkenlikler cihaz seçimini etkileyebilmektedir. Bu çalışma ile sedim analizörleri arasındaki farklılıklar kişiler tarafından değerlendirilmeye açık hale getirilmiştir. Gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmanın cihazların performanslarının değerlendirilmesi yönünden yapılacak olan diğer çalışmalar için bir temel oluşturacağı düşüncesindeyiz. Çalışmamıza göre günlük örnek sayısının yüksek olduğu klinik laboratuvarlarda iş yükünün ve işlem süresinin azaltılması açısından otomatize sedim cihazları kullanımı tercih edilebilir olarak yorumlandı.

Teşekkür

Çalışmamıza katkılarından dolayı Başkent Üniversitesi Alanya Uygulama ve Araştırma Merkezi Başhekimliği'ne ve tüm laboratuvar personeline teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. The International Council for Standardization in Haematology (ICSH) has precipitated in the revision of the third edition of the document NCCLS H2-A4 20: 27; 12, 2000.
2. Romero A, Munoz M, Ramirez G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the test 1 ESR system with the ICSH reference method and the sedisystem 15. Clin Chem Lab Med 2003; 41(2): 232-7.
3. Imafuku Y, Yoshida H, Greenfield S, Rabinovitch A. Automated measurement of sedimentation rate and its relation to red blood cell concentration and plasma proteins. Hematol cell ther 1998; 40 (1): 27-32.

4. Koch P, Bitterli A, Alunsagay A, Huber A. Comparison of manual vs. automated Blood Sedimentation Test: Quality and Economy. *J Lab Med* 2001; 25 (5/6): 189-194.
5. Plebani M, Piva E. Erythrocyte sedimentation rate: use of fresh blood for quality control. *Am J Clin Pathol* 2002; 117 (4): 621-6.
6. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST-1 automated System a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 334-340.
7. Plebani M, Piva E, Sanzari MC. Method comparison of automated systems for the erythrocyte sedimentation rate the author's reply. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 723-724.
8. Piva E, Sanzari MC, Servidio G, Plebani M. Length of sedimentation reaction in undiluted blood (erythrocyte sedimentation rate): variations with sex and age and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39 (5): 451-4.
9. Holley L, Woodland N, Hung Wt, Cordatos K, Reuben A. Influence of fibrinogen and haematocrit on erythrocyte sedimentation kinetics. *Biorheology* 1999; 36(4): 287-97.
10. Tobuchi T, Tominaga H, Tatsumi N. Problems related to rapid methods for erythrocyte sedimentation rate test and their solution. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33 (Suppl 2): 151-4.
11. Giavarina D, Capuzzo S, Cauduro F, Carta M, Soffiati G. Internal quality control for erythrocyte sedimentation rate measured by TEST-1 Analyzer. *Clin Lab* 2002; 48(9-10): 459-62.
12. Piva E, Fassina P, Plebani M. Determination of the length of sedimentation reaction (erythrocyte sedimentation rate) in non-anticoagulated blood with the Microtest-1. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(7): 713-7.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference procedure for erythrocyte sedimentation rate (ESR) test. In Approved standard; NCCLS document H2-A3 Villanova; NCCLS, 1993.
14. Passing H, Bablok W. Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part II. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 431-445.
15. Wiwanitkit V, Chotekiatikul C, Tanwuttikool R. Micro Sed SR-system: new method for determination of ESR--efficacy and expected value. *Clin Appl Thromb Hemost* 2003; 9(3): 247-50.
16. Besson I, Kinder M, Jou JM, Vives Corrons JL. Evolution of 3 automatic systems for measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Sangre (Barc)* 1995; 40(2): 103- 107.
17. Giavarina D, Dall'Olio G, Soffiati G. Method comparison of automated systems for the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 721-722.
18. Arezzini C, Ricci A. Method comparison of automated systems for the erythrocyte sedimentation rate-more study needed (Letter). *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 722-724.

Yazışma adresi:

Nalan Akalın
Başkent Üniversitesi Alanya Uygulama Merkezi,
Alanya, Antalya
Tel : 0242 511 25 11 / 3822
Faks : 0242 511 10 08
e-mail : nalana@baskent-aln.edu.tr
GSM : 0532 366 26 30
