

การตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Westergren

ยศสมบัติ จังตระกุล¹, นิโรดา เจะเตะ², กมลชนก มุลลิสาร²,
เกรียงไกร กิจเจริญ³, ปิยวรรณ คำแสน¹, สุทธิพรรณ กิจเจริญ^{3*}

Received: November 1, 2018

Revised: December 20, 2018

Accepted: December 24, 2018

บทคัดย่อ

การตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดง เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่นิยมใช้ในการตรวจกรองหรือติดตามภาวะอักเสบ การติดเชื้อ มะเร็ง หรือโรคอิมมูน การตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงทำได้หลายวิธี แต่วิธีมาตรฐาน คือ วิธี Westergren ซึ่งเป็นวิธีใช้เวลาในการตรวจนานและใช้เลือดปริมาณมาก การศึกษาครั้งนี้ต้องการปรับปรุงการตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR โดยใช้หลอดฮีมาโตคริต และเปรียบเทียบกับวิธี Westergren โดยนำตัวอย่างเลือดที่ดีที่เอามาตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR และวิธี Westergren ซึ่งดำเนินการตามคำแนะนำของ International Council for Standardization in Haematology (ICSH) ตัวอย่างเลือดชุดแรกจำนวน 65 ราย ใช้เพื่อหาสูตรคำนวณค่า micro-ESR เป็นค่า ESR ด้วยวิธี Westergren สูตรที่ได้ คือ $\text{Micro-ESR (mm/hr)} = 0.0026x^3 - 0.1472x^2 + 4.1674x$ โดย x = ค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงหน่วยเป็นมิลลิเมตรที่เวลา 45 นาที ตัวอย่างเลือดชุดที่ 2 จำนวน 101 ราย ใช้เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR กับวิธี Westergren ด้วยสถิติ Spearman's correlation และ Bland-Altman plot พบว่า ผลการตรวจอัตราการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR กับวิธี Westergren มีความสัมพันธ์กันดีมาก ($r = 0.92$) และการวิเคราะห์ด้วย Bland-Altman plot แสดงให้เห็นว่า ผลต่างของการทดสอบระหว่าง 2 วิธี มีการกระจายอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (mean bias = 0.6) การตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงด้วยวิธี micro-ESR เป็นวิธีที่น่าเชื่อถือ ใช้เวลาในการตรวจน้อยกว่า ราคาถูกกว่า และใช้ตัวอย่างเลือดน้อยกว่าวิธี Westergren จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงในกรณีที่มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการเจาะเก็บเลือด เช่น ทารก ผู้สูงอายุ และผู้ป่วยหนัก

คำสำคัญ: blood sedimentation, ICSH, recommendation

¹ หน่วยงานยุทธศาสตร์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² นักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ



Comparison of the erythrocyte sedimentation rate measured by the micro-ESR method and the gold standard Westergren method

Yotsombat Changtrakul¹, Niraida Jehteh², Kamonchanok Moonlisarn², Kriengkrai Kitcharoen³,
Piyawan Kumsaen¹, Suttiphan Kitcharoen^{3*}

Abstract

Erythrocyte sedimentation rate (ESR) is a commonly performed laboratory test for screening and monitoring of inflammation, infection, cancer or autoimmune disease. There are several methods for measuring the ESR, but the gold standard method is the Westergren method, which is time-consuming and requires a large amount of blood sample. This study aims to improve the micro-ESR method using hematocrit tube and compare with the Westergren method. EDTA blood samples were processed for ESR measurement by micro-ESR method and Westergren method according to the International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendation. The first set of 65 blood samples was used to generate an equation for calculating the micro-ESR to the Westergren ESR. The obtained equation is $\text{micro-ESR (mm/hr)} = 0.0026x^3 - 0.1472x^2 + 4.1674x$, where x is the distance in millimeters of erythrocyte sedimentation for 45 minutes. The second set of 101 blood samples was used to compare the ESR measured by micro-ESR method with Westergren method. Spearman's correlation and Bland-Altman plot were performed to analyze the data. Micro-ESR results showed high correlation coefficient of 0.92 and the Bland-Altman plot revealed an acceptable agreement (mean bias = 0.6) with the Westergren method. The micro-ESR method is a reliable method for ESR determination. The test is faster, cheaper and requires small blood volume as compare to the Westergren method. It is an appropriate method for determining ESR especially for the patients with limitation of blood collection as pediatric patients, very old patients and critically ill patients.

Keywords: blood sedimentation, ICSH, recommendation

¹ Diagnostic Microscopy Unit, Srinagarind hospital, Faculty of Medical, Khon Kaen University

² Medical Technology student, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

³ Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author: email: sutpra@kku.ac.th

บทนำ

การตรวจอัตราการตกตะกอนเม็ดเลือดแดงหรือ erythrocyte sedimentation rate (ESR) ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1894 โดยนายแพทย์ชาวโปแลนด์ Dr. Edmund Biernacki ต่อมาได้มีรายงานความผิดปกติของค่า ESR ในโรคและภาวะต่างๆ โดยนายแพทย์อีก 3 ท่าน คือ L. Herszfeld, R. Fåhræus และ A. Westergren⁽¹⁾ การตรวจ ESR ได้กลายเป็นการทดสอบที่แพทย์ทั่วโลกนิยมใช้ในการตรวจกรองและติดตามภาวะอักเสบที่เกิดจากสาเหตุต่างๆ เช่น การติดเชื้อ มะเร็ง และออโตอิมมูน^(2, 3) นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าค่า ESR มีความสัมพันธ์กับการทำนายโรคที่ไม่ดีในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary syndrome)^(3, 4) วิธีการตรวจ ESR มีหลากหลายวิธี จึงมีความจำเป็นต้องปรับให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ในปี ค.ศ. 2011 International Council for Standardization in Haematology (ICSH) และ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS; ปัจจุบันคือ Clinical Laboratory Standard Institute [CLSI]) ได้ให้การรับรองการตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren เป็นวิธีอ้างอิง (reference method) พร้อมทั้งระบุรายละเอียดวิธีการทำไว้อย่างชัดเจน⁽⁵⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 2017 ICSH ได้กำหนดให้วิธี Westergren เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard method) สำหรับการประเมินวิธีการตรวจ ESR ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่⁽⁶⁾

ปัจจุบันมีการตรวจ ESR หลายวิธี ทั้งที่ดัดแปลงจากวิธี Westergren และวิธีการใหม่ๆ ที่ไม่ได้เป็นไปตามหลักการของ Westergren เช่น ใช้หลักการปั่นตกตะกอน (centrifugation) หรือใช้หลักการไหลร่วมกับการวัดความเข้มแสง (photometric rheology) เป็นต้น แม้วิธี Westergren จะเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและราคาไม่แพง แต่มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้เวลาในการทดสอบนาน 1 ชั่วโมง ทำให้เกิดความล่าช้าในการรายงานผลต่อแพทย์ และใช้เลือดปริมาณมากตั้งแต่ 2 มิลลิลิตรขึ้นไป จึงอาจมีปัญหาในการเจาะเก็บเลือดจากผู้ป่วยหนัก ผู้สูงอายุ เด็กอ่อน และเด็กทารก การตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR เป็นวิธีที่ใช้เลือดปริมาณน้อยลง

ในปี ค.ศ. 1982 Shah และ Kumar⁽⁷⁾ ได้รายงานการใช้ Natelson heparinized capillary tubes (ความยาว 150 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 มิลลิเมตร ปริมาตรสุทธิ 250 ไมโครลิตร) ในการตรวจ ESR จากเลือดทารกแรกเกิดจำนวน 15 ราย พบว่ามีความสัมพันธ์กันดีกับการตรวจ ESR ด้วยวิธี Wintrobe และมีรายงานการนำหลอดฮีมาโตคริต (hematocrit tube) มาใช้ในการตรวจ ESR^(8, 9) แต่รายงานวิจัยทั้ง 2 เรื่องนี้ เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจ micro-ESR ขึ้น โดยยังไม่มี การนำไปตรวจในตัวอย่างกลุ่มใหม่ เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีการ (validity)

ในการศึกษาครั้งนี้ มุ่งเน้นเพื่อปรับปรุงการตรวจ ESR ด้วยหลอดฮีมาโตคริต (ในการศึกษานี้เรียกว่า micro-ESR) ให้มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น ด้วยการเจาะเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำตามมาตรฐานของ ICSH 2011 และประดิษฐ์ micro-ESR rack ขึ้น เพื่อใช้ตั้งหลอดฮีมาโตคริตให้ตั้งตรงทำมุม 90° พอดี พร้อมทั้งประเมินค่า ESR ที่ตรวจวัดได้กับวิธี Westergren ซึ่งเป็น gold standard method⁽⁶⁾ วิธี micro-ESR ที่ได้ปรับปรุงขึ้นมา นี้จะเป็นประโยชน์ในกรณีที่ต้องการตรวจ ESR ในตัวอย่างเลือดที่มีปริมาณน้อยได้

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเลือดอีดีทีเอ (ethylenediaminetetraacetic acid; EDTA) ที่เหลือจากงานตรวจประจำวัน ของหน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตัวอย่างเลือดที่ใช้ต้องมีปริมาตรไม่น้อยกว่า 2 มิลลิลิตร เพื่อให้เพียงพอสำหรับการตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren และวิธี micro-ESR

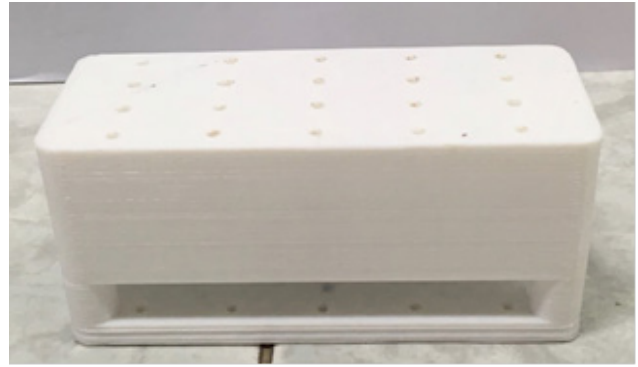
วิธีการศึกษา

การตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren

การตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren ทำตามข้อกำหนดของ ICSH^(5, 6) ซึ่งมีขั้นตอนการทำดังนี้ เจือจางตัวอย่างเลือดด้วยน้ำเกลือปราศเชื้อ (sterile normal saline) ในอัตราส่วนเลือด : น้ำเกลือ = 4 : 1 ในหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร โดยใช้เลือด 1.6 มิลลิตร : น้ำเกลือ 0.4 มิลลิตร จะได้เลือดปริมาตร 2 มิลลิตร นำมาตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren โดยใช้ plastic Westergren pipet ที่เสียบอยู่กับจุกยาง เมื่อเสียบลงในหลอดเลือดจะเกิดระบบสุญญากาศดูดเลือดขึ้นมาอยู่ที่ตำแหน่ง 0 พอดี ตั้งหลอดเลือดที่มี Westergren pipet เสียบอยู่ในที่วางหลอด ให้ตั้งตรงทำมุม 90° กับฐาน เมื่อครบ 60 นาที อ่านค่าความสูงของพลาสมา (plasma) หน่วยเป็นมิลลิเมตร จะได้ค่า ESR หน่วยเป็นมิลลิเมตรต่อชั่วโมง (mm/hr)

การตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR

นำหลอดฮีมาโตคริตวัดความยาวจากขอบบนสุดลงมา 1 เซนติเมตร ใช้ปากกาทำสัญลักษณ์เพื่อกำหนดปริมาตรการใส่เลือดให้เท่ากันทุกครั้ง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ดีที่เอ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำเกลือปราศเชื้อปริมาตร 50 ไมโครลิตร จะได้อัตราส่วน 4 : 1 ผสมให้เข้ากันดี นำหลอดฮีมาโตคริตที่เตรียมไว้ มาดูดเลือดขึ้นไปให้ถึงสัญลักษณ์ที่ขีดไว้ แล้วปิดปลายด้านหนึ่งของหลอดด้วยดินน้ำมันให้สูงประมาณ 2 มิลลิเมตร นำไปวางใน micro-ESR rack ที่ประดิษฐ์ขึ้นสำหรับตั้งหลอดฮีมาโตคริตโดยเฉพาะ สามารถตั้งหลอดได้พร้อมกัน 20 หลอด ซึ่งหลอดจะตั้งตรงทำมุม 90° พอดี micro-ESR rack นี้ ออกแบบโดยใช้โปรแกรม autodesk inventor และโปรแกรม Cura จากนั้นนำไปพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ (รูปที่ 1) โดยได้ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการอ่านผล และพบว่าที่เวลา 45 นาที เป็นเวลาที่น้อยที่สุดที่เม็ดเลือดแดงแยกชั้นจากพลาสมาอย่างชัดเจน



รูปที่ 1 Micro-ESR rack สำหรับทำตั้งหลอดฮีมาโตคริตในการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR

เมื่อครบเวลา 45 นาที นำหลอดออกมาวัดการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง โดยใช้ไม้บรรทัดวัดค่าความสูงของพลาสมาหน่วยเป็นมิลลิเมตร แล้วคำนวณเป็นค่า ESR ตามของวิธี Westergren (mm/hr) ดังแสดงขั้นตอนการทำในรูปที่ 2

การศึกษาเพื่อหาสูตรคำนวณค่า micro-ESR เป็นค่า ESR ด้วยวิธี Westergren

ใช้ตัวอย่างเลือดจำนวน 75 ราย มาตรวจวัด ESR ด้วยวิธี Westergren และวิธี micro-ESR โดยให้มีค่า ESR ครอบคลุมตั้งแต่ 2-120 mm/hr วิธี micro-ESR จะทำการทดสอบรายละเอียด 3 ค่า ข้อมูลที่พบว่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงที่วัดจากความสูงของพลาสมา 3 ครั้ง ได้ค่าแตกต่างกันเกิน 5 มิลลิเมตร จะไม่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล^(5, 6) นำผลที่ได้มาสร้างกราฟ โดยแกน Y เป็นค่า ESR ด้วยวิธี Westergren (mm/hr) และแกน X เป็นค่าความสูงของพลาสมาจากวิธี micro-ESR หน่วยเป็นมิลลิเมตร แล้วหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างวิธี Westergren และค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงจากวิธี micro-ESR

การศึกษาความแม่นยำของการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR

เลือกตัวอย่างเลือดจำนวน 6 ราย โดยแบ่งตามช่วงค่า ESR เป็น 3 กลุ่ม คือ 1-20 mm/hr, 21-60 mm/hr และ >60 mm/hr นำมาตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR โดยทำซ้ำรายละเอียด 15 ครั้ง แล้ววิเคราะห์ค่า

ความแม่นยำโดยคำนวณค่าเฉลี่ย (mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (coefficient of variation, CV)

การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR และวิธี Westergren

ใช้ตัวอย่างเลือดชุดใหม่จำนวน 101 ราย แบ่งตามช่วงค่า ESR เป็น 3 กลุ่ม คือ 1-20 mm/hr, 21-60 mm/hr และ >60 mm/hr นำมาตรวจวัด ESR ด้วยวิธี Westergren และ micro-ESR โดยวิธี micro-ESR จะทำการทดสอบรายละ 3 ค่า โดยทั้ง 3 ค่าต้องแตกต่างกันไม่เกิน 5 มิลลิเมตร แล้วใช้ค่าเฉลี่ยในการเปรียบเทียบผลการตรวจ โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบสเปียร์แมน (Spearman rank correlation coefficient) และ Bland-Altman plot^(5, 6, 10)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทำตามคำแนะนำของ ICSH^(4, 5) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel และโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 15.0 ในการคำนวณค่าเฉลี่ย, ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, ค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย, สมการถดถอย (linear regression) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบสเปียร์แมน

ข้อพิจารณาด้านจริยธรรมวิจัย

การทำวิจัยครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE 611125)

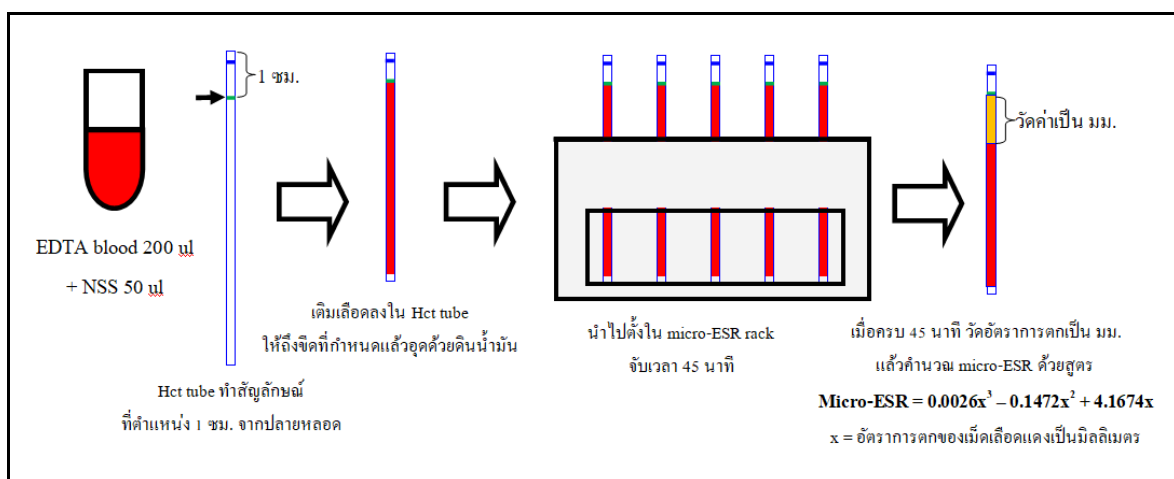
ผลการศึกษา

การศึกษาเพื่อหาสูตรคำนวณค่า micro-ESR เป็นค่า ESR ด้วยวิธี Westergren

เมื่อนำตัวอย่างเลือดจำนวน 75 ราย มาตรวจวัด ESR ด้วยวิธี Westergren พบว่ามีค่า ESR อยู่ในช่วง 1-145 mm/hr และตรวจวัดด้วยวิธี micro-ESR รายละ 3 ครั้ง จากผลการทดสอบพบว่า มี 7 ราย ที่วัดค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดง 3 ครั้ง ได้ค่าแตกต่างกันเกิน 5 มิลลิเมตร และมี 3 ราย ที่อ่านค่า Westergren ไม่ได้ เนื่องจากมีฟองอากาศ จึงเหลือข้อมูลสำหรับใช้หาสูตรคำนวณจำนวน 65 ราย เมื่อสร้างกราฟระหว่างค่า ESR ด้วยวิธี Westergren และค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงจากวิธี micro-ESR พบว่ามีความสัมพันธ์แบบไม่เป็นเส้นตรง และได้สมการสำหรับคำนวณค่า micro-ESR ดังนี้

$$\text{Micro-ESR (mm/hr)} = 0.0026x^3 - 0.1472x^2 + 4.1674x$$

โดย x = ค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงหน่วยเป็น มิลลิเมตร ที่เวลา 45 นาที



รูปที่ 2 ขั้นตอนการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR

การศึกษาความแม่นยำของการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR

การศึกษาความแม่นยำของการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR ใช้ตัวอย่างเลือดจำนวน 6 ราย แต่ละรายทำการตรวจซ้ำ 15 ครั้ง พบว่า ตัวอย่างเลือดที่มีค่า micro-ESR อยู่ในช่วง 1-20 mm/hr จำนวน 2 ราย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.2 ± 1.0 mm/hr และ 8.6 ± 0.9 mm/hr และมีค่า CV เท่ากับ 12.6% และ 10.6% ตามลำดับ ตัวอย่างเลือดที่มีค่า micro-ESR อยู่ในช่วง 21-60 mm/hr จำนวน 2 ราย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 38.4 ± 3.1 mm/hr และ 52.5 ± 4.2 mm/hr และมีค่า CV เท่ากับ 8.0% และ 7.9% ตามลำดับ และตัวอย่างเลือดที่มีค่า micro-ESR อยู่ในช่วง >60 mm/hr จำนวน 2 ราย ราย มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 83.8 ± 2.5 mm/hr และ 98.5 ± 3.2 mm/hr และมีค่า CV เท่ากับ 3.0% และ 3.2% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในรายที่มีค่า micro-ESR ต่ำ จะมีค่า CV สูง และค่า CV จะลดลงเมื่อค่า micro-ESR สูงขึ้น ข้อมูลแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (CV) ของการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR โดยแต่ละรายทำซ้ำ 15 ครั้ง

Sample No.	Mean $\pm$ SD (mm/hr)	Range (mm/hr)	CV (%)
1	8.2 ± 1.0	7.8 – 11.2	12.6
2	8.6 ± 0.9	7.8 – 9.5	10.6
3	38.4 ± 3.1	31.5 – 46.0	8.0
4	52.5 ± 4.2	47.4 – 61.6	7.9
5	83.8 ± 2.5	78.8 – 88.5	3.0
6	98.5 ± 3.2	92.9 – 105.3	3.2

การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวัด ESR ด้วยวิธี micro-ESR และวิธี Westergren

ใช้ตัวอย่างเลือดชุดใหม่จำนวน 101 ราย เป็นเพศชาย 47 ราย และเพศหญิง 54 ราย อายุตั้งแต่ 8 - 88 ปี มีค่า ESR จากวิธี Westergren อยู่ในช่วง 2 - 156 mm/hr มีค่าเฉลี่ย ESR ที่ตรวจวัดด้วยวิธี Westergren และ micro-ESR เท่ากับ 39.5 ± 30.0 mm/hr และ 40.1 ± 27.0 mm/hr ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Spearman correlation และ Bland-Altman plot

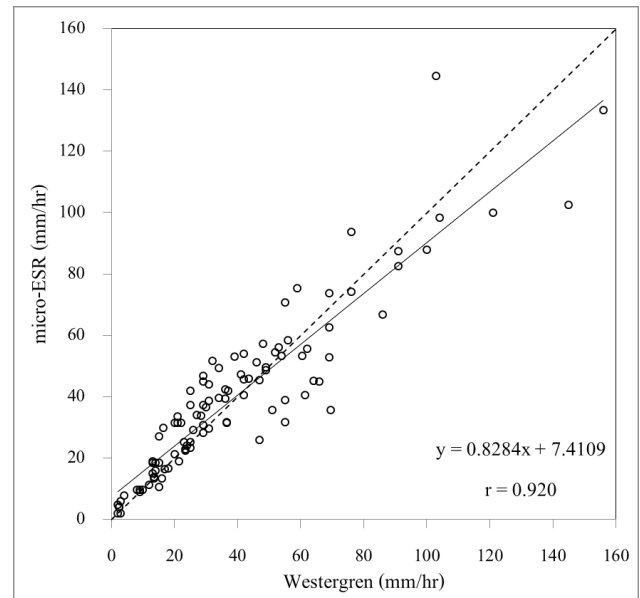
Range of ESR (mm/hr)	n	Westergren (mm/hr)	Micro-ESR (mm/hr)	Spearman correlation	Mean Bias	95% limit of agreement
1 - 20	28	11.2 ± 5.8	13.5 ± 7.8	$r = 0.864$	2.3	-5.9 – 10.5
21 - 60	53	36.5 ± 11.3	40.4 ± 12.3	$r = 0.709$	3.8	-14.2 – 21.8
> 60	20	87.0 ± 27.6	76.8 ± 29.8	$r = 0.867$	-10.2	-45.4 – 25.0
รวม	101	39.5 ± 30.0	40.1 ± 27.0	$r = 0.920$	0.6	-22.5 – 23.8

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Spearman's correlation พบว่า ผลตรวจ ESR ของทั้ง 2 วิธี มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง ($r = 0.92$) แสดงให้เห็นว่า ผลตรวจ ESR ของทั้ง 2 วิธี มีค่าแปรตามกันและมีความสัมพันธ์กันดีมาก เมื่อแบ่งตัวอย่างเลือดตามช่วงค่า ESR เป็น 3 กลุ่ม คือ 1-20, 21-60 และ >60 mm/hr จะมีจำนวนตัวอย่าง 28, 53 และ 20 ราย ตามลำดับ พบว่า กลุ่มที่มีค่า ESR อยู่ในช่วง 21-60 mm/hr มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ต่ำที่สุด ($r = 0.709$) ส่วนกลุ่มที่มีค่า ESR อยู่ในช่วง 1-20 และ >60 mm/hr มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน ($r = 0.864$ และ 0.867 ตามลำดับ) ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 3 และการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Bland-Altman plot พบว่า mean bias ของทั้ง 2 วิธี เท่ากับ 0.6 mm/hr โดยกลุ่มที่มีค่า ESR >60 mm/hr มีค่า mean bias เป็นลบ (-10.2 mm/hr) แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มที่มีค่า ESR สูง ผลการตรวจวัดด้วยวิธี micro-ESR มีค่าต่ำกว่าวิธี Westergren ข้อมูลแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 4

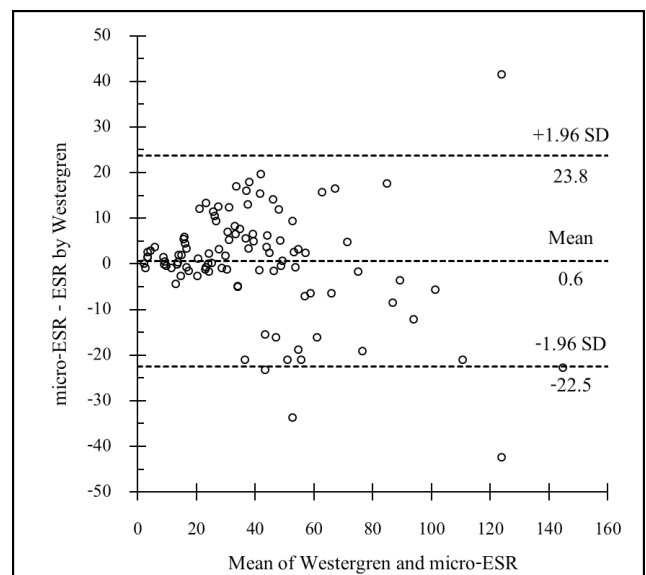
วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ICSH ได้กำหนดให้การตรวจ ESR ด้วยวิธี Westergren เป็นวิธีมาตรฐาน แต่จากปัญหาเรื่องการใช้เลือดปริมาณมากและระยะเวลาาน จึงได้มีการปรับปรุงหรือดัดแปลงวิธีการตรวจวัดให้สะดวกและรวดเร็วมากขึ้น รวมทั้งใช้เลือดปริมาณน้อยลง การตรวจ micro-ESR โดยใช้หลอดฮีมาโตคริตน์ ได้มีรายงานการศึกษาจากประเทศอิหร่าน เมื่อปี ค.ศ. 2015 โดย Hashemi และคณะ⁽⁸⁾ และจากประเทศอินเดีย เมื่อปี ค.ศ. 2018 โดย Preet และคณะ⁽⁹⁾ พบว่ามีความสัมพันธ์ดีมากกับวิธี Westergren ($r = 0.987$ และ 0.9977 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามรายงานวิจัยทั้ง 2 เรื่องนี้ ในการเจาะงัดเลือดใช้การหยดเลือดผสมกับสารกันเลือดแข็ง 3.8% โซเดียม ซิเตรท บนแผ่นสไลด์แก้ว ในอัตราส่วนเลือด : สารกันเลือดแข็ง 4 : 1 หยด จึงมีโอกาสสูงที่จะเกิดความคลาดเคลื่อนของปริมาตรเลือดและสารกันเลือดแข็ง นอกจากนี้ในรายงานวิจัยทั้ง 2 เรื่อง ยังได้ระบุข้อจำกัดของการศึกษาไว้ว่า ในการตรวจตัวอย่างแต่ละรายเป็นการตรวจเพียงครั้งเดียว ทำให้ไม่สามารถประเมินเกี่ยวกับความแม่นยำในการทำซ้ำ (reproducibility) ได้

คณะผู้วิจัยได้ปรับปรุงการตรวจ micro-ESR โดยพยายามควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตรวจวัด ESR ได้แก่ การเจาะงัดเลือดให้แม่นยำมากขึ้น เพื่อให้ได้อัตราส่วน 4 : 1 พอดี (เลือด : น้ำเกลือ = 200 : 50 ไมโครลิตร) การดูดเลือดเข้าหลอดฮีมาโตคริตน์ให้ได้ปริมาณใกล้เคียงกันทุกหลอดโดยทำสัญลักษณ์ที่ระยะ 1 เซนติเมตรจากปลายหลอด



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า ESR ที่ตรวจวัดด้วยวิธี Westergren และวิธี micro-ESR มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) 0.92



รูปที่ 4 Bland-Altman plot ระหว่างค่า ESR ที่ตรวจวัดด้วยวิธี Westergren และวิธี micro-ESR

การประดิษฐ์ micro-ESR rack สำหรับใช้ตรวจ micro-ESR โดยเฉพาะ เพื่อควบคุมให้หลอดฮีมาโตคริต ตั้งตรง 90° พอดี และทำการทดสอบรายละเอียด 3 ค่า เพื่อควบคุม reproducibility รวมทั้งลดเวลาในการอ่าน ผลจาก 60 นาที เหลือ 45 นาที ช่วยให้รายงานผลได้เร็วขึ้น

ผลจากการศึกษาพบว่า ความสูงของพลาสมา มีความสัมพันธ์แบบไม่เป็นเส้นตรงกับค่า ESR ที่ตรวจวัด โดยวิธี Westergren และได้สูตรคำนวณเป็น Micro-ESR (mm/hr) = $0.0026x^3 - 0.1472x^2 + 4.1674x$ ซึ่ง x คือ ค่าการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงหน่วยเป็นมิลลิเมตร ที่เวลา 45 นาที สูตรที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ต่างจากสูตรของ Hashemi และคณะ⁽⁸⁾ ที่คำนวณจาก regression equation และได้ค่า ESR (mm/hr) = $2.819 \times \text{micro-ESR ที่ 20 นาที} + 1.346$ ส่วนสูตรของ Preet และคณะ⁽⁹⁾ ที่ได้ค่า ESR (mm/hr) = (ความสูงของพลาสมา ที่เวลา 1 ชั่วโมง/ความสูงของเลือดทั้งหมด) $\times 200$ โดยไม่ได้บอกที่มาของสูตร อย่างไรก็ตามความแตกต่างของสูตรที่ได้ อาจเป็นผลจากความแตกต่างของตัวอย่างเลือดที่ใช้วิธีการทำ ระยะเวลาการอ่านผล รวมถึงกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันด้วย

การศึกษาความแม่นยำของการตรวจ micro-ESR ในตัวอย่างเลือดที่มีค่า ESR ต่ำ (1-20 mm/hr) ปานกลาง (21-60 mm/hr) และสูง (>60 mm/hr) ช่วงค่าละ 2 ราย โดยค่า CV ที่ได้ คือ 12.6%, 10.6%, 8.0%, 7.9%, 3.0% และ 3.2% อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ CLSI H2-A4 guideline ที่กำหนดค่า CV ของการตรวจ ESR ไว้ที่ 10.88% - 38.88%⁽¹¹⁾ ซึ่งค่า CV จะลดลงตามลำดับเมื่อค่า ESR เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) ลักษณะแนวโน้มค่า CV ที่ลดลงเมื่อค่า ESR เพิ่มขึ้นนี้ คล้ายกับการศึกษาของ Boğdaycıoğlu และคณะ⁽¹²⁾ ที่ศึกษาการตรวจ ESR ด้วยเครื่องอัตโนมัติ 2 รุ่น คือ iSED และ Ves-Matic Cube 200 ซึ่งพบว่าค่า CV ของการตรวจ ESR ด้วยเครื่อง iSED ในตัวอย่างเลือดที่มีค่า ESR ต่ำ ปานกลาง และสูง เท่ากับ 14.21%, 8.92% และ 8.48% ตามลำดับ และ CV ของการตรวจ ESR ด้วยเครื่อง Ves-Matic Cube 200 เท่ากับ

19.99%, 10.19% และ 9.9% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR ในการศึกษาครั้งนี้ มีความแม่นยำดีมาก เนื่องจากมีค่า CV อยู่ในช่วงค่าที่ยอมรับได้ของ CLSI และยังมีค่า CV ต่ำกว่าค่า CV ที่ได้จากเครื่องอัตโนมัติทั้งในช่วงค่า ESR ต่ำ ปานกลาง และสูง (ตารางที่ 1)

การเปรียบเทียบผลการตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR กับวิธีมาตรฐาน Westergren พบว่าทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์กันดีมาก ($r = 0.92$) แม้ค่า r ที่ได้จะต่ำกว่าการศึกษาของ Hashemi และคณะ⁽⁸⁾ ที่ได้ค่า $r = 0.987$ และการศึกษาของ Preet และคณะ⁽⁹⁾ ที่ได้ค่า $r = 0.9977$ แต่ผลการศึกษาของคณะผู้วิจัยทั้ง 3 กลุ่มนี้ ยืนยันได้ว่าวิธี micro-ESR สามารถใช้ตรวจ ESR เทียบเคียงได้กับวิธีมาตรฐาน Westergren ส่วนค่าความสัมพันธ์ (r) ที่แตกต่างกันนั้น อาจเป็นผลจากความแตกต่างของตัวอย่างเลือดที่ใช้ กล่าวคือ การศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเลือดที่ดีที่เอามาเจือจางด้วยน้ำเกลือ ส่วนการศึกษาของ Hashemi และคณะ⁽⁸⁾ และการศึกษาของ Preet และคณะ⁽⁹⁾ ใช้เลือดสดผสมกับสารกันเลือดแข็ง 3.8% โซเดียม ซิเตรตโดยตรง ระยะเวลาในการอ่านผลก็แตกต่างกัน คือ การศึกษาครั้งนี้อ่านผลที่เวลา 45 นาที Hashemi และคณะ อ่านผลที่เวลา 20 นาที และ Preet และคณะ อ่านผลที่เวลา 1 ชั่วโมง

นอกจากนี้งานวิจัยทั้ง 2 เรื่อง ได้กล่าวถึงข้อจำกัดของงานวิจัยว่า ไม่ได้คัดเลือกตัวอย่างเลือดอย่างครอบคลุม ทำให้ตัวอย่างเลือดส่วนใหญ่มีค่า ESR อยู่ในช่วงค่าปกติ ดังเช่น การศึกษาของ Preet และคณะ ตัวอย่างเลือดมีค่า ESR อยู่ในช่วง 8 – 87 mm/hr ส่วน Hashemi และคณะ ระบุเพียงว่าส่วนใหญ่เป็นค่าที่อยู่ในช่วงปกติ แต่ไม่ได้รายงานช่วงค่าของ ESR ไว้ ขณะที่การศึกษาครั้งนี้ค่า ESR ของตัวอย่างเลือดมีช่วงกว้างตั้งแต่ 2 – 156 mm/hr ส่งผลให้ค่า r ลดลง อย่างไรก็ตามค่า r ของการศึกษานี้ ยังสูงกว่าค่า r ของการศึกษาที่ตรวจวัด ESR จากเครื่องอัตโนมัติ iSED และ Ves-Matic Cube 200 ที่มีค่า $r = 0.76$ และ 0.84 ตามลำดับ⁽¹²⁾ ดังนั้นวิธี micro-ESR ที่ได้รับการปรับปรุงขึ้นมานี้ จึงเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือสำหรับการตรวจ ESR

นอกจากนี้การเปรียบเทียบผลการตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR กับวิธีมาตรฐาน Westergren โดย Bland-Altman plot พบว่ามีค่า mean bias = 0.6 หมายถึงค่า ESR ด้วยวิธี micro-ESR จะสูงกว่าวิธี Westergren เล็กน้อย เมื่อเทียบกับการตรวจ ESR ด้วยเครื่อง Ves-Matic Cube 200 (mean bias = -1.4) และเครื่อง iSED (mean bias = -13.0) จะเห็นว่าวิธี micro-ESR ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับวิธี Westergren มากกว่า แต่เมื่อพิจารณาแยกเป็นช่วงค่า ESR ต่างๆ จะพบค่า mean bias 2.3, 3.8 และ -10.2 ในกลุ่มค่า ESR 1-20, 21-60 และ >60 mm/hr ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าในช่วงค่า ESR >60 mm/hr ผลตรวจ micro-ESR จะได้ค่าต่ำกว่าวิธี Westergren ส่วนหนึ่งอาจมีสาเหตุจากข้อจำกัดเรื่องความยาวของหลอดฮีมาโตคริต และระยะเวลาอ่านผลที่สั้นกว่ามาตรฐาน ทำให้เม็ดเลือดแดงยังตกตะกอนไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตามในกรณีที่ค่า ESR สูงกว่าปกติเช่นนี้ จะไม่มีปัญหาในการแปลผลการตรวจ เนื่องจากเป็นค่าที่ผิดปกติอยู่แล้ว สำหรับการติดตามผลการรักษานั้น แพทย์จำเป็นต้องเปรียบเทียบผลการตรวจกับผลการตรวจเดิมที่ตรวจวัดด้วยวิธีเดียวกัน เนื่องจากมีความแตกต่างระหว่างผลการตรวจที่ได้จากวิธีการตรวจวัดที่ต่างกัน⁽⁶⁾

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจ ESR ด้วยวิธี micro-ESR ESR ที่ปรับปรุงขึ้นมา มีขั้นตอนการทำไม่ยุ่งยาก ใช้หลอดฮีมาโตคริตที่มีราคาถูก และใช้ตัวอย่างเลือดปริมาณน้อย สามารถนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อแก้ปัญหากรณีที่เจาะเก็บตัวอย่างเลือดได้ปริมาณน้อย โดยผู้วิจัยจะพัฒนาวิธีการตรวจให้ดียิ่งขึ้น เพื่อลดปริมาณเลือดและระยะเวลาการอ่านผลลงอีก และเพิ่มความถูกต้องแม่นยำให้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Grzybowski A, Sak J. A short history of the discovery of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 2012; 34: 442-4.
2. Brigden ML. Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. *Am Fam Physician* 1999; 60: 1443-50.
3. Bochen K, Krasowska A, Milaniuk S, Kulczyńska M, Prystupa A, Dzida G. Erythrocyte sedimentation rate-an old marker with new applications. *J Pre Clin Clin Res* 2011; 5: 50-5.
4. Wu LA, Tan SL, Wright RS, Kopecky SL, Burritt MF, Santrach PJ, Frye RL. Prognostic value of the erythrocyte sedimentation rate in patients with unstable angina. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126: 772.
5. Jou JM, Lewis SM, Briggs C, Lee SH, De La Salle B, McFadden S. ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 2011; 33: 125-32.
6. Kratz A, Plebani M, Peng M, Lee YK, McCafferty R, Machin SJ. ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 2017; 39: 448-57.
7. Shah Y, Kumar A. Erythrocyte sedimentation rate: evaluation of a micro technique. *J Natl Med Assoc* 1982; 74: 887-9.
8. Hashemi R, Majidi A, Motamed H, Amini A, Najari F, Tabatabaey A. Erythrocyte sedimentation rate measurement using as a rapid alternative to the Westergren method. *Emergency* 2015; 3: 50-3.

9. Preet K, Anchinmane VT, Sankhe S. Evaluation of micro-ESR method with Westergren method for determination of erythrocyte sedimentation rate. *Int J Res Med Sci* 2018; 6: 628-31.
10. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307-10.
11. Koepke JA, Bull BS, Simson E, van Assendelft OW. Reference and selected procedure for the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test; approved standard—fourth edition. NCCLS document H2-A4. 2000; 20: 1-24.
12. Boğdaycioğlu N, Yilmaz FM, Sezer S, Oğuz E. Comparison of iSED and Ves-Matic Cube 200 erythrocyte sedimentation rate measurements with Westergren method. *J Clin Lab Anal.* 2015; 29: 397-404.