Mahidol University
Faculty of Medical Technology

โครงการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการจุลทรรศนศาสตร์คลินิก โดยองค์กรภายนอก
The External Quality Assessment Scheme in Clinical Microscopy, EQAM
ภาควิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
เขตโรงพยาบาลศิริราช กทม. 10700 โทร. 02-411-2258 ต่อ 171, 174 Fax. 02-412-4110
E-mail: eqammtmu@gmail.com

เอกสารให้ความรู้เรื่อง

กลไกการตกของเม็ดเลือดแดงและเทคโนโลยีในการทดสอบอัตราการตกของเม็ดเลือดแดง

อ.ดร.จิตรดา เพชรฟอง

ในภาวะที่มีการอักเสบของเนื้อเยื่อในร่างกายจากการบาดเจ็บ การติดเชื้อ การขาดเลือด การมีระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ หรือจากมะเร็ง เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage, monocyte และ neutrophil จะหลั่งสารจำพวก proinflammatory cytokines ได้แก่ interleukin-6 (IL-6), IL-1, tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), interferon-gamma (IFN-gamma) ซึ่งจะกระตุ้นให้ตับมีการสร้าง acute phase protein (APP) เพิ่มขึ้นหรือลดลง APP ที่มีการเพิ่มขึ้นเมื่อมีการอักเสบ ได้แก่ procalcitonin, C-reactive protein (CRP), ferritin, fibrinogen, α2-macroglobulin และ serum amyloid A เป็นต้น ในขณะที่ APP ที่มีการลดลงเมื่อมีการอักเสบ ได้แก่ albumin, prealbumin, transferrin, antithrombin เป็นต้น การตรวจติดตามระดับของ APP ในพลาสมาของผู้ป่วยจึงช่วยในการประเมินภาวะอักเสบในร่างกาย ตัวที่นิยมตรวจคือ CRP และ fibrinogen ควบคู่ไปกับการทดสอบอัตราการตกของเม็ดเลือดแดง (Erythrocyte Sedimentation Rate, ESR)

การทดสอบ ESR อาศัยการวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงในระยะเวลาหนึ่ง โดยปกติบนผิวของเม็ดเลือดแดงจะมีประจุลบซึ่งเป็นแรงต้านการตกของเม็ดเลือดแดงเรียกว่า zeta potential เมื่อโปรตีนในพลาสมาสูงขึ้นจะไปลดประจุบนผิวเม็ดเลือดแดงและลดแรง zeta potential ทำให้เม็ดเลือดแดงจับตัวกันคล้ายรูปเหรียญที่วางซ้อนกัน (rouleaux formation) และมีอัตราการตกเพิ่มขึ้น จากการศึกษาพบว่าค่า ESR ที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับค่า fibrinogen และ CRP ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่มีการอักเสบ เช่น rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, systemic vasculitis, systemic sclerosis และมะเร็ง (1, 2) การวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงจึงมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคเหล่านี้

วิธีการวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงที่นิยมใช้คือ Westergren method ซึ่งเป็นวิธีอ้างอิงที่กำหนดโดยองค์กร International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) เป็นการเก็บตัวอย่างเลือดในสารกันเลือดแข็ง 3% trisodium citrate ในสัดส่วนเลือด 4 ส่วนต่อ trisodium citrate 1 ส่วน หรือใช้เลือดที่เก็บจากสารกันเลือดแข็ง EDTA เจือจางกับน้ำเกลือในสัดส่วนเลือด 4 ส่วนต่อน้ำเกลือ 1 ส่วน (modified westergren method) บรรจุใส่หลอด westergren ยาว 30 ซม. และวางไว้ในแนวตั้ง วัดอัตราการตกของเม็ดเลือดในระยะเวลา 1 ชั่วโมง (mm/h) นอกจากนี้ ICSH ได้กำหนดวิธีมาตรฐานการวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงโดยใช้เลือดที่เก็บจากสารกันเลือดแข็ง EDTA และไม่ต้องเจือจางเลือด วิธีมาตรฐานนี้จะใช้ได้เมื่อค่า hematocrit ไม่เกิน 35% และต้องมีการคำนวณ correction factor เพื่อแปลงค่าอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงให้เทียบเคียงวิธีอ้างอิง ในกรณีที่เก็บตัวอย่างเลือดได้น้อย เช่น ในเด็กและคนแก่ สามารถใช้วิธี micro-ESR ซึ่งเป็นการทดสอบอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงในหลอด capillary tube ค่าที่ได้จะถูกคำนวณ correction factor เพื่อเทียบเคียงกับวิธีอ้างอิง (3)

ปัจจุบันการวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงมีหลายวิธี ทั้งวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธี westergren และวิธีที่ใช้หลักการใหม่ๆ ในการวัดผล รวมทั้งมีเครื่องมืออัตโนมัติในการทดสอบ ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ความสะดวกรวดเร็วในการทดสอบ อีกทั้งลดปริมาตรตัวอย่างตรวจเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี westergren ในที่นี้จะยกตัวอย่างเทคนิคและเครื่องมืออัตโนมัติที่มีการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ ดังนี้

1. วิธีอ่านผลโดยอาศัยหลักการ optoelectronic sensor ซึ่งหลักการทดสอบดัดแปลงจากวิธี westergren มีการใช้ระบบแสงอินฟาเรดในการวัดความขุ่นของหลอดบรรจุตัวอย่างเลือดแรกเริ่มและความขุ่นเมื่อตั้งไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งเพื่อเทียบขอบเขตเม็ดเลือดแดง ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะใช้เวลาในการทดสอบ 20-30 นาที แล้วแปลงเป็นค่าอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงเทียบเคียงกับวิธีอ้างอิง วิธีนี้ถูกนำมาใช้ในเครื่องอัตโนมัติหลายรุ่นด้วยกัน เช่น Vesmatic Cube 200 (Diesse Diagnostica), StaRRsed (RR Mechatronics) เป็นต้น

2. Photometric rheology เป็นการวัดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงโดยตรงโดยอาศัยหลักการไหลของเม็ดเลือดแดง ซึ่งจะมีการบันทึกภาพการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงตั้งแต่ในช่วงแรกๆ ที่มีการเกิด rouleaux formation เวลาในการเกิด rouleaux formation จะถูกแปลงเป็นค่าอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงเทียบเคียงกับวิธีอ้างอิง เครื่องอัตโนมัติที่ใช้หลักการนี้ ได้แก่ iSED (Alcor Scientific) ซึ่งใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 100 ไมโครลิตร และใช้เวลาทดสอบเพียง 20 วินาที อีกทั้งวิธีนี้ไม่มีปัจจัยรบกวนจากค่า hematocrit

3. Photometric-kinetic technology ใช้หลักการวัดการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปเมื่อเม็ดเลือดแดงมีการเข้าใกล้กันและจับกลุ่มจากการที่มีโปรตีนในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น โดยตัวอย่างเลือดจะถูกดูดใส่ capillary ขนาดเล็ก มีการปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เม็ดเลือดแดงเข้าใกล้กัน และใช้แสงอินฟาเรดในการอ่านการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง โดยมี photodiode เป็นตัวแปลงสัญญาณแสงให้เป็นกระแสไฟฟ้า ค่าที่ได้จะถูกคำนวณและแปลงเป็นค่าอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงเทียบเคียงวิธีอ้างอิง เครื่องอัตโนมัติที่ใช้หลักการนี้ ได้แก่ TEST 1 (Alifax), Roller 20 LC (Alifax) ซึ่งมีการอ่านผล 1,000 ครั้งในเวลา 20 วินาที

4. Centrifugation-based method ใช้หลักการปั่นตกตัวอย่างเลือดในหลอด capillary เพื่อให้เม็ดเลือดแดงเข้าใกล้กัน และอ่านผลการตกของเม็ดเลือดแดงโดยใช้แสงอินฟาเรดวัดขอบเขตของเม็ดเลือดแดงกับพลาสมาแล้วแปลงค่าเป็นอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงเทียบเคียงกับวิธีอ้างอิง เครื่องอัตโนมัติที่ใช้วิธีนี้ ได้แก่ ESR STAT-PLUS (HemaTechnologies) ซึ่งอ่านผลภายใน 5 นาที และใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 25 ไมโครลิตร

5. Zeta Sedimentation Rate (ZSR) เป็นวิธีการวัดที่มีความสัมพันธ์กับค่า zeta potential ระหว่างเม็ดเลือดแดงในร่างกายโดยตรง เป็นวิธีการที่น่าเชื่อถือมากกว่าค่าอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงและมีความไวต่อการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยของ acute phase protein ในพลาสมา โดยตัวอย่างเลือดจะถูกบรรจุใส่หลอด capillary และปั่นตกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงจำ2เพาะคือ Zetafuge (Coulter Electronics) ที่มีการปั่นหลายรอบในทิศทาง 180 องศา ค่าการตกของเม็ดเลือดแดงที่อ่านได้เรียกว่า Zetacrit ซึ่งจะนำมาคำนวณเทียบสัดส่วนกับค่า hematocrit เพื่อให้ได้ค่า ZSR รายงานเป็นเปอร์เซ็น วิธีนี้ไม่มีปัจจัยรบกวนจากค่า hematocrit และยังคงการอ่านผลแบบ manual

นอกเหนือจากเทคนิคและเครื่องมืออัตโนมัติที่ได้กล่าวข้างต้น เทคนิคหรือหลักการอื่นๆ ที่ใช้ในการวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดง ได้แก่ การวัดความหนืด (Low-shear viscosity), การใช้หลักการ microfluidic system, การใช้คลื่น ultrasound scattering, การวัดการเปลี่ยนแปลงกระแสไฟฟ้าในตัวอย่างเลือด เป็นต้น (4, 5) อย่างไรก็ตาม การวัดอัตราการตกของเม็ดเลือดแดงเป็นการทดสอบเบื้องต้นที่ช่วยประเมินภาวะอักเสบแบบไม่จำเพาะ ซึ่งมีปัจจัยที่ส่งผลรบกวนการตรวจ เช่น ค่า hematocrit, รูปร่างของเม็ดเลือดแดง, อุณหภูมิ เป็นต้น จึงควรทำการวัดระดับ acute phase protein ในพลาสมาร่วมด้วยเพื่อยืนยันภาวะอักเสบหรือเพื่อวินิจฉัยโรค

เอกสารอ้างอิง

1. Kotulska, A., Kopeć-Mędrek, M., Grosicka, A., Kubicka, M., & Kucharz, E. J. (2015). Correlation between erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein level in patients with rheumatic diseases. Reumatologia, 53(5), 243–246.

2. Babikir, M., Gaufri, N. (2017). Association of Fibrinogen, Erythrocyte Sedimentation Rate and C-Reactive Protein Levels with Rheumatoid Arthritis. Open Access Library Journal, 4(4), 1-8.

3. Hashemi, R., Majidi, A., Motamed, H., Amini, A., Najari, F., & Tabatabaey, A. (2015). Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement Using as a Rapid Alternative to the Westergren Method. Emergency (Tehran, Iran), 3(2), 50–53.

4. Kratz, A., Plebani, M., Peng, M., Lee, Y. K., McCafferty, R., Machin, S. J., & International Council for Standardization in Haematology (ICSH) (2017). ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. International journal of laboratory hematology, 39(5), 448–457.

5. Baskurt, O., Neu, B., & Meiselman, H. J. (2012). Red blood cell aggregation. CRC Press Taylor & Francis Group. Northwest, Boca Raton FL.