

Çeşitli Rahim içi Araçların (RİA'ların) Demir Eksikliği Anemisi ile İlişkisi

Melahat E. DÖNMEZ
Kader KÖSE
Hale ÜZER
Muzaffer ÜSTDAL

THE CORRELATION BETWEEN
DIFFERENT KINDS OF INTRAUTERINE
DEVICES (IUD) AND IRON DEFICIENCY ANEMIA

bre. Oniv. Tıp Fak. Kadın Hastı. ve Doğum. Biyokimya
Anabilim Dallan, KAYSERİ

Geliş Tarihi: 18 Mart 1987

tt/F.T

SUMMARY

Bu araştırma Erciye Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran toplam 100 kadın üzerinde yapıldı. Bu kadınların 50'si bakirli rahim içi araç (RİA) kullanmakta, 25'i lippes loop tipi RİA kullanmakta, ve 25 kadın kontrol grubunu oluşturmaktaydı. Bu hastalardan alınan kan örneklerinde Hb (Hemoglobin), Hct (Hematokrit), Eritrosit sayısı, MCV (Ortalama Eritrosit Hacmi), MCHC (Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu), MCH (Ortalama Eritrosit Hemoglobini), serum demiri, DBK (Demir Bağlama Kapasitesi = Transferrin) ve TDBK (Total Demir Bağlama Kapasitesi) bakıldı Her üç grup arasında bu değerler bakımından anlamlı bir fark görülmedi.*

Bizim sonuçlarımız RİA'lann demir eksikliği anemisine yol açtığı yolundaki düşünceleri desteklememektedir.

Anahtar Kelimeler: Bakirli RİA, lippes loop RİA.
Demir eksikliği anemisi.

T Kİ Tıp Bil Aras Dergisi C.6, S.3. 1988. 217-221

This study is made on 100 women attending our clinic in University of Erciyes Medical Faculty 50 of these women were using copper intrauterine device, 25 were using lippes loop IUD and 25 women were taken as control group. Hb (Hemoglobin), Hct (Hematocrit), red blood count, MCV (Mean Corpuscular Volume), MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin), Serum Iron, IBC (Iron Binding Capacity = Transferrin) and TIBC (Total Iron Binding capacity) were measured in the blood samples taken. When the results were compared there was no significant difference between the IUD and control groups.

Our results do not support the hypothesis regarding development of iron deficiency anemia in women who use copper intrauterine devices.

Key Word* Copper IUD, Lippes Loop IUD, Iron Deficiency Anemia.

T J Research Med Sel V.6. N.3. 1988. 217-221

GİRİŞ

Rahim içi araç uygulanması, günümüzde kullanılan aile planlaması yöntemlerinden olup, geçerliliğini halen sürdürmektedir (17,18). RİA kullanımında karşılaşılan en önemli sorun, RİA'ya bağlı menstrüel kanamada uzama ve miktanda artma ile intermenstrüel kanamadır (3,6,19). Bu yan etkiler yüzünden, RİA uygulanan vakaların %5-15'inde, RİA'nın çıkartılmak zorunda kalındığını belirten yayınlar vardır (3,6,17). RİA kullanan kadınlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalarda, plazma ferritin, Hb ve demir metabolizması incelenmiştir. Ancak Hb konsantrasyonu, serum demiri ve DBK'inde önemli ölçüde bir azalma saptanamamıştır (2, 3, 6,9,10,17).

Bu çalışmanın amacı, bakirli ve lippes loop RİA kullanan kadınlarda demir eksikliği anemisinin görülüp görülmediğini araştırmak; demir eksikliği anemisi saptandığı takdirde, bu iki tip RİA'dan hangisinin daha az zararlı olduğunu belirlemektir. Bu nedenle, hasta ve kontrol grubunda serum demiri, DBK, TDBK, Hb, Hct, Eritrosit sayısı, MCV, MCHC ve MCH ölçümleri çalışıldı.

MATERYAL VE METOD

Mart 1986 - Şubat 1987 tarihleri arasında, E.ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim

Tablo 1
Vakaların Yaş Gruplarına Göre Dağılımı*

| Yaş Grupları | Bakirli spiral | | Lippes loop | | Kontrol | | Toplam | |
|--------------|----------------|-------|-------------|-------|---------|-------|--------|-------|
| | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % | Sayı | % |
| 20-29 | 29 | 49.15 | 12 | 20.34 | 18 | 30.51 | 59 | 100.0 |
| 30-39 | 21 | 55.26 | 10 | 26.32 | 7 | 18.42 | 38 | 100.0 |
| > 40 | 0 | 0.0 | 3 | 100.0 | 0 | 0.0 | 3 | 100.0 |

* Satır yüzdeleri alınmıştır.

Dalına başvuran, en az 6 ay süreyle bakirli spiral (Multiload, Cu 250, Nova T) ve lippes loop kullanan kadınlar çalışma kapsamına alındı. Kadınların daha önce oral kontraseptif, RİA kullanmamış veya demir replasman tedavisi almamış olmasına özellikle dikkat edildi. Ayrıca, çalışma süresince kadınlar demir, antifibrinolitik ilaç veya prostoglandin sentetaz inhibitörü gibi ilaçlar kullanmadılar.

1. grup, bakirli RİA kullanan sağlıklı 50 kadından; 2. grup ise lippes loop kullanan 25 kadından oluşturuldu. Kontrol grubu için kondom (4 kişi), koitus interruptus (12 kişi), takvim metodu (3 kişi), suppozituar (2 kişi) ve tubal ligasyon (4 kişi) uygulanan toplam 25 kadın seçildi.

Bakirli RİA kullanan kadınların %49.15'i 20-29 yaşları arasında iken; lippes loop kullanan grubun

%20.34'ü, kontrol grubunda %30.51'i aynı yaş grubunu teşkil ediyordu. 30-39 yaş grubu için bu oran bakirli RİA grubunda %55.26; lippes loopda %26.32 kontrol grubunda ise %18.42 idi (Tablo 1).

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan örneklerinde serum demiri, DBK ve TDBK değerleri hazır kit (Merck) kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi. Hb, Drabkins solüsyonu kullanılarak siyanohemoglobin yöntemi ile ölçüldü (4). Htc, heparinlenmiş kapiller pipetler yardımıyla mikrohematokrit metoduyla tayin edildi. Hasta ve kontrol gruplarının eritrosit değerleri ise Thoma pipeti ve Thoma lamı yardımıyla sayılarak bulundu (8).

Hasta ve kontrol gruplarına ait Hb, Htc ve eritrosit değerleri kullanılarak MCV, MCHC ve MCH parametreleri hesaplandı (21).

Tablo II

Bakirli RİA Kullananlar ile Lippes Loop Kullananlar Arasındaki Karşı Değerleri

| Kan Değerleri | Bakirli RİA Grubu n: 50 | | | Lippes Loop Grubu n: 25 | | | t | P |
|---|----------------------------|------|-------------|----------------------------|------|-------------|------|--------|
| | X±SX | SD | Sınır | X±Sx | SD | Sınır | | |
| Hb (%gr) | 11.7 ± 0.3 | 2.2 | 7.4 - 15.0 | 11.2 ± 0.3 | 1.5 | 7.4-12.8 | 1.04 | > 0.05 |
| İlet (%) | 33.8 ± 0.8 | 6.0 | 22 - 45 | 31.9 ± 0.8 | 4.1 | 22 - 38 | 1.61 | > 0.5 |
| Eritrosit sayısı (milyon/mm ³) | 3.8 ± 0.1 | 0.7 | 2.1 - 4.5 | 4.4 ± 0.2 | 0.9 | 2.8 - 5.5 | 3.07 | < 0.01 |
| M.C.V. (V3) | 94.8 ± 2.5 | 17.5 | 57.8 - 126 | 75.7 ± 2.6 | 12.9 | 51.9 - 94 | 5.34 | < 0.01 |
| M.C.H.C. (%gr) | 33.2 ± 0.03 | 0.2 | 19.5 - 33.5 | 34.8 ± 0.3 | 1.4 | 32.8 - 38.4 | 5.69 | < 0.01 |
| Serum demiri (%Agr/dl) | 92.4 ± 6.2 | 43.8 | 56 - 210 | 96.7 ± 6.3 | 31.7 | 28 - 140 | 0.45 | > 0.05 |
| Transferrin (Wgr) | 262.5 ± 12.3 | 87.2 | 101 - 460 | 252.4 ± 15.4 | 77.0 | 142 - 385 | 0.51 | > 0.05 |
| Total demir bağlama kapasitesi (T.I.B.C.) (r ² Hgr/dl) | 355.2 ± 11.7 | 82.8 | 205 - 477 | 331.7 ± 12.6 | 62.8 | 246 - 419 | 0.47 | > 0.05 |
| M.C.H. (jAjgr) | 31.3 ± 0.7 | 5.5 | 15.4 - 54.2 | 26.1 ± 0.9 | 4.4 | 18 - 29.7 | 4.43 | < 0.01 |

Sonuçlar iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testine göre değerlendirildi.

BULGULAR

Vakaların yaş gruplarına göre dağılımı materyal ve metod kısmında tablo I'de verilmiştir.

Bakirli RİA grubu ile lippes loop arasında Hb, Hct, serum demir, transferrin ve total demir bağlama kapasitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (Tablo II). Eritrosit sayısı bakirli grupta anlamlı olarak düşük bulunmuştur. MCV değerleri lippes loop grubunda bakirli RİA kullananlara göre anlamlı olarak düşük (p (0.01), MCHC değerleri ise bakirli RİA grubunda lippes loop RİA grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p< 0.01).

Bakirli RİA ile kontrol grubuna ait bazı kan değerleri karşılaştırıldığında; Hb, Hct, eritrosit sayısı, MCV, MCHC, serum demiri, transferin, total demir bağlama kapasitesi, MCH değerleri anlamsız olarak bulunmuştur (p) 0.05). Tüm değerler tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo IV, lippes loop ile kontrol grubu arasındaki bazı kan değerlerini vermektedir. Tablo incelendiğinde lippes loop grubu ile kontrol grubu arasında serum demiri, transferrin, total demir bağlama kapasitesi değerleri anlamsız bulunmuştur (p)0.05). Hb, Hct, eritrosit sayısı, MCV, MCHC ve MCH değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak lippes loop grubunda düşük bulunmuştur.

Tablo III

Bakirli RİA Kullananlar ile Kontrol Grubuna Ait Kan Değerleri

| Kan Değerleri | Bakirli RİA Grubu n: 50 | | | Kontrol Grubu n: 25 | | | | |
|---|----------------------------|------|-------------|------------------------|------|---------------|------|--------|
| | X ± Sx | SD | Sınır | X ± Sx | SD | Sınır | t | P |
| Hb (%gr) | 11.7 ± 0.3 | 2.2 | 7.4 -- 15.0 | 12.6 ± 0.7 | 2.9 | 9.4 - 14.7 | 1.37 | >0.05 |
| İlet (%) | 33.8 ± 0.8 | 60 | 22 - 45 | 35.3 ± 0.7 | 3.6 | 28 - 44 | 1.35 | >0.05 |
| Eritrosit sayısı (milyon/mm ³) | 3.8 ± 0.1 | 0.7 | 2.1 -- 4.5 | 3.9 ± 0.02 | 0.4 | 3.3 - 4.4 | 0.79 | > 0.05 |
| M.C.V. (M ³) | 94.8 ± 2.5 | 17.5 | 57.8 -- 126 | 88.9 ± 2,1 | 10.3 | 62.5 -- 111.7 | 1.83 | > 0.05 |
| M.C.H.C. (%gr) | 33.2 ± 0.03 | 0.2 | 19.5 - 33.5 | 33.3 ± 0.1 | 0.3 | 31.8 -- 33.6 | 1.51 | >0.05 |
| Serum demiri (%_M _r /dl) | 92.4 ± 6.2 | 43.8 | 56 - 210 | 94.3 ± 6,7 | 34.3 | 33 - 180 | 0.21 | >0.05 |
| Transferrin (D.B.K. (M _{gr}) (U.I.B.C.)) | 262.5 ± 12.3 | 87.2 | 101 - 460 | 230.7 ± 14.5 | 72.4 | 124 - 358 | 1.67 | > 0.05 |
| Total demir bağlama kapasitesi (T.I.B.C.) (%/lgr/dl) | 355.2 ± 11.7 | 82.8 | 205 - 477 | 347.3 ± 12.1 | 60.5 | 217 - 413 | 0.47 | > 0.05 |
| M.C.H. (OHM.?) | 31.3 ± 0.7 | 5.5 | 15.4 - 54.2 | 30.0 ± 0.7 | 3.2 | 34.4 - 205 | 1.29 | > 0.05 |

TARTIŞMA

RİA'lann anemi yapmasından menstrual kan kaybını arttırmaları sorumludur (5,7,10,13,16,17). Burada RİA ile temas eden endometrium yüzeyindeki fibrinolitik aktivitenin rolü vardır. Histolojik olarak aracın direkt teması ile vasküler erozyon, indirekt teması ile vasküler perméabilité artışı meydana gelmektedir (5,10,11,12,17). Böylece bakirli tip spirallerle lippes looplar arasında kanama miktarını arttırma bakımından fark vardır ve hatta bakirli spirallerin özellikle büyük boylarının küçüklere oranla daha fazla kan kaybına yol açtığı gerçeği ortaya çıkarılmıştır (1,5,10,11).

Çalışmamızda bakirli RİA ile lippes loop kan değerleri karşılaştırılmasında eritrosit sayısı, MCHC anlamlı olarak düşük, MCV ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Serum demiri, total demir bağlama kapasitesi, Hb, Hct değerleri iki grup arasındaki karşılaştırmada anlamsız bulunduğundan demir eksikliği anemisi açısından fark olmadığı saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada RİA kullananların %20 oranında demir eksikliği bulguları gösterdikleri, %10'unun bir yıllık kullanım sonunda klinik anemi gösterdikleri belirtilmiştir. Ayrıca anemi geliştirmesi yönünden spiralın tipleri (Nova T, Multiload, Fincoind) arasında fark görülmemiştir (9).

Tablo IV

Lippes Loop Grubu ile Kontrol Grubu Arasındaki Kan Değerleri

| Kan Değerleri | Lippes Loop grubu | | | Kontrol grubu | | | |
|---|-------------------|------|-------------|---------------|------|--------------|-------------|
| | X Sx | SD | Sınır | X Sx | SD | Sınır | |
| Hb (%gr) | 11.2 + 0.3 | 1.5 | 7.4 - 12.8 | 12.6 ±0.7 | 2.9 | 9.4 - 14.7 | 2.14 < 0.05 |
| Hct (%) | 31.9 ±0.8 | 4.1 | 22 - 38 | 35.3 ±0.7 | 3.6 | 28 - 44 | 3.12<0.01 |
| Eritrosit sayısı (milyon/ rara^) | 4.4 ± 0.2 | 0.9 | 2.8 - 5.5 | 3.9 ± 0.02 | 0.4 | 3.3 - 4.4 | 2.54 < 0.02 |
| M.C.V. (JA'ı) | 75.2 ± 2.6 | 12.9 | 51.9 - 94 | 88.9 ± 21 | 10.3 | 62.5 - 111.7 | 3.99 < 0.01 |
| M.C.H.C. (%gr) | 34.8 ± 0.3 | 1.4 | 38.8 - 38.4 | 33.3 +0.1 | 0.3 | 31.8 - 33.6 | 5.24 < 0.01 |
| Serum demiri (%/4gr/dl) | 96.7 +6.3 | 31.7 | 28 - 140 | 94.3 + 6.7 | 34.3 | 33 - 180 | 0.38r>0.05 |
| Transferrin (y^gr) (D.B.K.) (UJ.B.C.) | 252.4+ 15.4 | 77.0 | 142 - 385 | 230.7 ± 14.5 | 72.4 | 124 - 358 | 1.03>0.05 |
| Total demir bağlama kapa- sitesi (T.I.B.C.) (%Xgr/dl) | 33 1.7 ± 12.8 | 62.8 | 2 4 6 - 419 | 347.3 + 121 | 60.5 | 217 - 413 | 0.89 >0.05 |
| M.C.H. (XM.gr) | 26.1 + 0.9 | 4.4 | 18 - 29.7 | 30.0 + 0.7 | 3.2 | 34.4 - 20.5 | 3.58 < 0.01 |

Mensesle kan kaybının ölçülerek aneminin değerlendirildiği araştırmalarda 40-80 cm^'lük kan kaybının 0.6-1.2 mg/gün demir kaybına uyacağı ve bununda bakirli RİA'larla artış göstereceğinden bakirli RİA uygulanan hastalarda ek demir sağlanmasının şart olduğu görüşündedirler (5). Buna zıt görüşteki araştırmalarda, Cu7'nin takılışından sonra 12 aylık dönemde menstruel kan kaybında çok az bir artış veya hiç artma izlenmediği belirtilmektedir (13).

Biz bakirli spiral ve kontrol grubuyla karşılaştırmalı yaptığımız çalışmada tüm kan değerleri açısından anlamlı bir fark bulamadık.

Yapılan bir çalışmada takılışından 3-6 ay sonra lippes loop tipi RİA kullananlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemişken, 12 ve 15 ay sonra Hb ve Hct değerlerinde istatistiksel düşme saptanmıştır. Lippes looplarda yapılan çalışma süresinde serum demiri ve demir bağlama kapasitesinde değişme gözlenememiştir. Çalışmada lippes loop takılmadan önce normalin alt sınırında ya da düşük seviyede serum demirine sahip hastalarda anemi gelişme insidansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (16).

Serum ferritini diurnal ritmiere ve farklılıklara çok az duyarlı demir eksikliğini en iyi gösteren bir kriter olarak gösterilmiştir (9,14,15). Demir eksikliği anemisinde serum ferritin düzeyi (15 mikro gram İt-

nin altındadır. Yapılan bir çalışmada 1 yılın sonunda bakirli RİA'sı olan kadınların %19'unda bariz anemi, %40'ında düşük ferritin seviyeleri saptanmıştır (5).

Lippes loop ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda; serum demiri, transferrin, total demir bağlama kapasitesi anlamsız (p > 0.05) eritrosit sayısı ve MCHC anlamlı olarak lippes loop grubunda yüksek bulunurken lib, Hct, MCV, MCH değerleri anlamlı olarak kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (p<0.01).

Progesteron içeren RİA'lar adet kanama miktarında azalmaya yol açarlar ve hatta hipermenore uzun süre baskı altına alınabilir. Bu bakımdan her iki tip RİA'ya üstünlük sağlarlar (7,12,20).

Sonuçta her iki tip RİA'da bizim çalışmamıza göre demir eksikliği anemisine yol açmayan vazgeçilmez kontraseptif yöntemdir. Ancak yeni ve daha az yan etkili RİA tiplerinin de yaygın hale getirilmesi ve üzerinde çalışılması gereği bahsedilmeye değerdir.

Teşekkür: Çalışmalarımız sırasında kitleri sağlayan Sifar İlaçları Ticaret ve Sanayi A.Ş'ne ve istatistiksel değerlendirmeleri yapan Doç. Dr. Osman GÜNAY'a teşekkür borçluyuz.

KAYNAKLAR

1. Acar B, Demir N, Önvural A ve Ark: Bakirli Spiralin Saç Bakır **Düzeyi** Üzerine Etkisi. E.O, Tıp Fak. Dergisi, 23: 1025-1029, 1984.
2. Bilgin S, Andudu F: Lippes Loop, Multiload Copper 250 ve Nova T olmak üzere 3 Farklı IUD üzerinde Yapılan Klinik Değerlendirmeler ve Sonuçları, Aile Planlaması. Ankara Jinekoloji Derneği Yayını, Ankara, Tunalı Matbaası, 1986, 44.
3. Bölükbaşı S, Topaloğlu U, Pekcan H ve Ark: Kayseri ve Yöresinde Rahim içi Araç Kullanan Kadınlarda Rahim içi Araç Sonlanmaları, Kayseri Üniversitesi Cevher Nesibe Tıp Fakültesi Mecmuası, Cilt 1: 169-173, 1979.
4. Fairbanks VF, **Klee** GG: Biochemical Aspects of Ilacmology. In Tietz NW (ed), Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia, WB Saunders, pp: 1532-1533, 1986
5. Guillebaud J, Barnett M.D. Gordon J.B; Plasma Ferritin Levels As an Index of Iron Deficiency in Women Using Intrauterine Devices; Br J. **Obstet gynaecol**, 86: 51-55, 1979.
6. Güneri A, Karacadağ O, Hassa İI ve Ark: Kayseri ve Yöresinde Rallim içi Araç Kullanan Kadınların Rahim içi Araç Sonlanmaları, Kayseri Üniversitesi Cevher Nesibe Tıp Fakültesi Mecmuası. 1: 169-173, 1979.
7. Illeikkila M, Nylander P, Luukkainen T: Body Iron Stores and Patterns of Bleeding After Insertion of a Levonorgestrel or a Cooper Releasing Intrauterine Contraception Device; Contraception, 26: 465-473, 1982.
8. İmren AİI, Turan O: Klinik Tanıda Lab, Beta Basını, İstanbul; 1985: pp. 63-97
9. Kivijarvi A, Timonen II, Rafamaki A et al: Iron Deficiency in Women Using Modern Copper Intrauterine Devices *Obstet Gynecol* 67: 95-98, 1986.
10. Leidholm P, Srivastwa K, Wingerup L et al: Higher Fibrinolytic Activity in Human Endometrium in Direct Contact with an IUD *Acta Obstet Gynecol Scand*, 62: 169-170, 1983.
11. Makaraian L, Ylikorkala O: Ibuprofen Prevents IUCD-Induced Increases in Menstrual Blood Loss: *Br J Obstet Gynecol* 93: 285-288, 1986.
12. Parmer J, Alto P: Long-term Suppression of Hypermenorrhea B. Progesterone Intrauterine Contraceptive Devices *Am J Obstet Gynecol* 149: 578, 1984.
13. Redron N, Gallejos A.J. Lozano M et al: Menstrua: Blood Loss Estimates in Women Using Copper 7 and Multiload 250 Intrauterine Devices. *Contraception*, 26: 475-485, 1982.
14. Pekcan II, Pekcan G, San ve Ark: Kayseri'de Rahim içi Araç Uygulaması ve Sonlanma Durumu. Kayseri Üniversitesi Cevher Nesibe Tıp Fakültesi Mecmuası: 169-173, 1979.
15. Powards D.R. Sandhu M, Niland-Weiss J et al: Pregnancy in Sick Cell Disease, *Obstet Gynecol*, 67: 217-228, 1986.
16. Roberta R, Gaitan JR, Cesar LN et al: Effect of The Lippes IUD on The Circulating Levels of Hemoglobin, Hematocrit, Serum Iron and Iron Binding Capacity in Normal Women. *Contraception*. 17: 195-205, 1978.
17. Söylemez F, Erk A: Aile Planlamasında Intrauterin Araçlar: Kadın Doğum Dergisi Özel Sayısı, 38-42, 1985.
18. Tatum III.: Contraception and Family Planning In Benson R.C. (ed), *Current Obstetrics and Gynecology* 4 th Edition California. Lange Medical Publication, 1982. 502-532.
19. Tezcan S, Bulut A, Özcebe II ve Ark: İki Sağlık Ocağında Uygulanan Rahim içi Araçların Bir Yıllık Kullanım Durumu, Aile Planlaması, Ankara, Jinekoloji Derneği Yayını, Ankara, Tunalı Matbaası, 1986, 66-72.
20. Zatuchni G.I: Research in Fertility Regulation In Siciarra J.J. (ed) *Gynecology and Obstetrics* Revides Edition, Vol. 6, Chapter 66. Philadelphia Harper and Row Publishers, 1984, pp 1 - 15.
21. Zauer J.D: Haematology in Frankel S, Reitmen S, Sonnenwirth A. (eds) *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis* (7th ed): London CV **Mosby** Company, 1970, 403-490.