

DOCUMENTOS TÉCNICOS PARA EL LABORATORIO CLÍNICO

RECOMENDACIONES PARA LA MEDICIÓN DE LA VELOCIDAD HEMÁTICA DE SEDIMENTACIÓN

ENERO, 2017

AUTORES

T.M. Eduardo Retamales Castelletto.

Jefe de Sección de Hematología e Inmunoematología,
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES INTERNOS

Dra. Verónica Ramírez Muñoz.

Jefa Subdepartamento Coordinación Externa.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

BQ. Hugo Moscoso Espinoza.

Jefe Subdepartamento de Enfermedades No Transmisibles.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

T.M. Mitzy Celis Morales.

Jefe Sección Coordinación Redes.
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES EXTERNOS

Integrantes Comité de Expertos PEEC Subprograma de Hematología.

Dra. María Elena Cabrera Contreras.

Médico Jefe de Sección Hematología.
Jefa del Laboratorio de Referencia Nacional de Citometría de Flujo.
Hospital del Salvador.

T.M. Mg Cs José Díaz Garrote.

Profesor Asociado e Investigador Asociado Centro de Tecnologías para el Cáncer.
Instituto de Ciencias Biomédicas,
Programa de Biología celular y Molecular.
Facultad de Medicina.
Universidad de Chile.

RECOMENDACIONES PARA LA MEDICIÓN DE LA VELOCIDAD HEMÁTICA DE SEDIMENTACIÓN

RESUMEN

El método para medir de la velocidad hemática de sedimentación fue descrita por el Dr. A Westergren en el año 1921 como tamizaje para proteínas de fase aguda que se liberan en procesos inflamatorios. La Velocidad Hemática de Sedimentación es una prueba analítica que mide la precipitación de los glóbulos rojos en una hora y se relaciona con la tendencia de los mismos de formar pilas de moneda dependiente de la concentración plasmática de proteínas (globulinas y fibrinógeno). El objetivo de este documento es entregar las recomendaciones para realizar el método de Westergren, método de referencia basado en las recomendaciones de la guía H5A2 de la CLSI.

ALCANCE

Dirigida a los laboratorios clínicos públicos y privados que realizan e informan la Velocidad Hemática de Sedimentación dentro de sus prestaciones.

INTRODUCCIÓN

Si en una pipeta especial la sangre anticoagulada se deja reposar verticalmente o en ángulo, se observa cómo los glóbulos rojos sedimentan espontáneamente, dejando sobre ellos una columna de plasma. Este proceso se denomina hemosedimentación y la velocidad con que ocurre corresponde a la Velocidad Hemática de Sedimentación (VHS), prueba de screening que se altera en diferentes situaciones fisiológicas y patológicas.

Una forma de medir la VHS es a través del mé-

todo manual de Westergren (Alf Vilhelm Albertsson Westergren 1921), que fue y es considerado por la International Committee for Standardization in Haematology (ICSH) como el método de referencia desde el año 1965 y confirmado el año 2011 hasta la fecha.

El método para la VHS fue descrito por primera vez por Edmund Biernacki (1894), quién posteriormente estableció su alteración en ciertas condiciones fisiopatológicas (1897). En 1915 Fahreus estableció la relación de la VHS con las bases empíricas modernas de la medicina y en 1921 Westergren trabajó refinando la ejecución de la técnica. La VHS se convirtió entonces en una prueba de detección estandarizada que permitía dar evidencia de enfermedades inflamatorias crónicas (Westergren, 1926). A pesar de algunas limitaciones técnicas y el nuevo conocimiento sobre los mecanismos y moléculas implicadas en la inflamación aguda y crónica evidentemente más específicos (citoquinas), la VHS sigue siendo una prueba crucial y de amplio uso a nivel clínico. Desde la década del 90, ha avanzado en desarrollo tecnológico basados en nuevos métodos de medición, en modificaciones del ángulo de ejecución, grado variable de automatización, sistemas de lecturas y/o algoritmos de medición; todos los cuales se traducen en un tiempo de respuesta más acotado si se compara con la técnica de referencia.

Este documento describe el método estandarizado de referencia para VHS en el laboratorio de hematología según los criterios del ICSH (2011) y aceptados además por CLSI en el documento Procedures for the Erythrocyte Sedimentation Rate test; Approved estándar – Fifth Edition H02-A5 (2011). Es necesario mencionar dada la naturaleza y las características de la muestra empleada, que este método no posee y no

están disponibles calibradores para estandarizar la determinación (Waived method or home used).

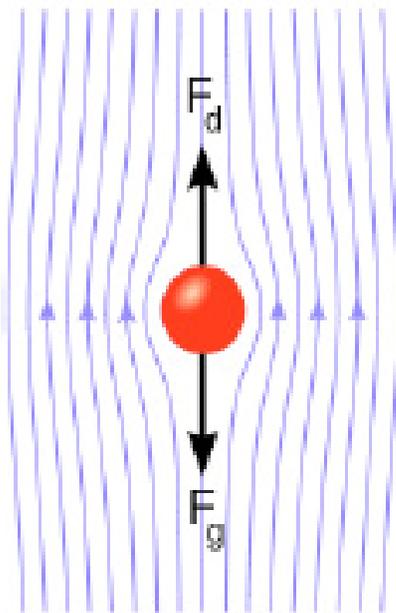
DESARROLLO

• PROPIEDADES DE LOS ERITROCITOS

La sedimentación de una partícula esférica, Fig N°1 considera los eritrocitos esferas suspendidas en un medio infinito, se mueven de forma laminar en una matriz viscosa (plasma) responde a la Ley de Stokes (George Gabriel Stokes 1891), cuyos componentes se relacionan de la siguiente forma:

Fig. N°1:

Esfera en suspensión.



Fuente: *An introduction to fluid dynamics, Cambridge University Press. Pages 230–235.*

$$\bullet Fr = 6 \pi R \eta v$$

Fr fuerza de fricción, R es el radio de la esfera, v su velocidad y η la viscosidad del fluido.

$$\bullet Vs = 2 \pi r^2 g (\rho p - \rho f) / 9 \eta$$

Vs es la velocidad de caída de las partículas (velocidad límite); g es la aceleración de la gravedad; ρp es la densidad de las partículas y ρf es la densidad

del fluido; η es la viscosidad del fluido; r es el radio equivalente de la partícula.

Fig. N°2:

Etapas de la Velocidad Hemática de Sedimentación.

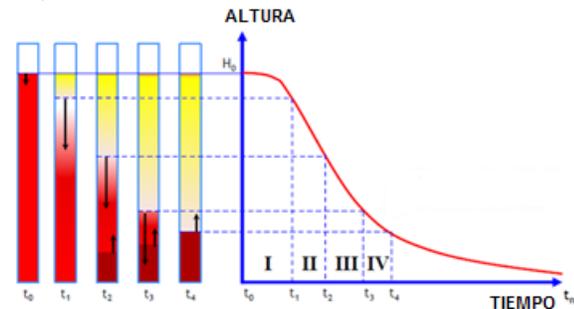


Imagen diseñada por Prof. T.M. MCs José Díaz Garrote.

Claramente la geometría de disco bicóncavo del eritrocito (en reposo) está lejana a una esfera descrita en la Ley de Stokes; más aún el eritrocito además presenta, carga neta negativa dada la presencia de ácido siálico sobre las glicoforinas generando una distancia crítica entre eritrocitos conocida como potencial Zeta, uno de los factores que determina las variaciones de la VHS. Dichas características determinan que la sedimentación de éste, describa una curva sigmoidea, en la cual se identifican 3 etapas, Fig. N°2 hemaglutinación, sedimentación y empaquetamiento, existe una cuarta etapa sin nombre, que establece la medición de la VHS tomada a las 2 horas. En cada una de las etapas el eritrocito experimenta cambios geométricos típicos, que explican el proceso de sedimentación no lineal de esta partícula, y su asociación con su número (anemia-policitemia), tamaño (microcitosiis-normocitosiis-macrocitosiis) y forma de los eritrocitos (poiquilocitosiis).

• APLICACIONES CLÍNICAS DE LA VHS

La prueba de VHS es un ensayo de laboratorio relativamente “simple”, poco costoso, ampliamente utilizado en medicina, como un indicador general de enfermedad para procesos inflamatorios, infecciosos o neoplásicos, por lo que su interpretación debe estar relacionada con las manifestaciones clínicas y el resto de pruebas analíticas o exámenes pertinentes de laboratorio. La VHS no mide un analito sino más bien

un fenómeno físico que depende de un gran número de variables. La VHS es una prueba de detección de enfermedad en un “amplio espectro”, con dos principales propósitos: orientación al diagnóstico de una enfermedad y evolución de tratamiento. En el primer caso, la VHS utilizada e interpretada correctamente entrega una valiosa información orientadora, la cual mejora si se interpreta en conjunto con una electroforesis de proteínas, proteína C reactiva (PCR) o perfiles de citoquinas permitiendo distinguir entre un trastorno agudo o crónico de proteínas plasmáticas, principal determinante de la VHS.

• ALTERACIONES CUANTITATIVAS Y CUALITATIVAS DE LOS ERITROCITOS Y COMO AFECTAN EL RESULTADO DE LA VHS:

Alteraciones cualitativas

Las alteraciones cualitativas de los eritrocitos se pueden agrupar principalmente en tres categorías:

Hemoglobinopatías: Corresponde a toda patología inherente a la síntesis de hemoglobina. Estas afectan a los eritrocitos, de forma que acorta su vida media y son funcionalmente menos eficientes en el transporte de oxígeno que un eritrocito con hemoglobina normal. La hemoglobinopatía a la cual se le atribuye una disminución de la VHS es la forma homocigota para la formación de hemoglobina C, esto es debido a que en esta condición los eritrocitos sufren una modificación estructural reduciendo la formación de rouleaux.

- B) Membranopatías: Corresponden a todas aquellas patologías eritrocitarias que afectan el funcionamiento normal de la membrana. Un eritrocito morfológicamente incorrecto, como es lo que ocurre en la esferocitosis tiende a disminuir la VHS ya que su forma esférica impide la formación de rouleaux.
- C) Enzimopatías: Alteración de la síntesis normal de las enzimas necesarias para llevar a cabo cualquier proceso metabólico del eritrocito resultando en un acortamiento de su vida media, ejemplo de esto es el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la cual causaría un aumento de la VHS por la destrucción prematura de los eritrocitos.

Alteraciones cuantitativas

Las alteraciones cuantitativas poseen un origen multifactorial que pueden tener como resultante el aumento o la disminución de los eritrocitos circulantes en sangre:

Aumento de la masa eritrocitaria: Conocidas como policitemias, consiste en el aumento del número de eritrocitos por sobre los valores normales. El aumento de los eritrocitos disminuye la VHS.

Disminución de la masa eritrocitaria: Generalmente este concepto se le asocia a los cuadros de anemia, pero la Organización Mundial de la Salud (OMS) define anemia como una baja en los niveles de Hb en el organismo. Sin embargo, al ser el eritrocito el principal contenedor de Hb en el organismo, la disminución eritrocitaria se asocia a la disminución de la Hb. Los cuadros anémicos producen un aumento de la VHS.

• FACTORES QUE PUEDEN MODIFICAR LA VHS

Geográficos

Los factores geográficos son aquellas variaciones que modifican los valores de VHS por un efecto secundario a un mecanismo de adaptación del organismo al estrés ambiental, en específico, como es el caso de la altura y las estaciones climáticas.

Estacionales

En el caso de la primavera y otoño, en ambos casos aumenta la VHS, mientras que en verano disminuye la VHS. La disminución de la humedad ambiental, reduce los valores de VHS.

Alimentación

Puede ser un factor que altera la VHS, el ayuno prolongado y la caquexia generan ambos un leve aumento. La anorexia nerviosa, puede generar un aumento de la VHS, cuando afecta la morfología de los eritrocitos por déficit de vitaminas u oligoelementos como el hierro. En el caso de la obesidad, se ha demostrado el aumento de citoquinas inflamatorias y aumento de la VHS.

Edad

En el recién nacido por la poliglobulia y la disminución del plasma la VHS es baja (1 mm/h), pero antes del año de edad se iguala a la VHS del adulto. El envejecimiento se asocia a una VHS mayor debido a un proceso fisiológico de “inflamación” asociado a la senescencia. Se puede considerar a partir de los 40 años, un aumento de la VHS en 0,85 mm/5 años.

Género

Las mujeres presentan una VHS más elevada que los varones, donde se ha postulado a los andrógenos como una explicación probable. También se ha postulado en el caso de las mujeres menopáusicas un aumento de los niveles de fibrinógeno.

Embarazo

En esta condición hay un gran número de procesos que ocurren en la mujer. Dentro de ellos aumento del fibrinógeno, disminución del hematocrito (aumento del plasma), alfa 2 globulina y aumento de IL8. El aumento se inicia alrededor del 4to mes, alcanza un peak en la primera semana del puerperio y vuelve a cifras normales entre la 3ra—4ta semana post parto.

Medicamentos

La heparina aumenta la VHS hasta en un 75% (100 UI/ml), los anticonceptivos orales, provocan un leve aumento en la VHS y se ha planteado como asociación causal al fibrinógeno. Algunos anestésicos, salicilatos, cortisona y asparraginasa disminuyen la VHS.

• VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia deben ser establecidos localmente de acuerdo con las recomendaciones de la ICSH (ICSH, 1978; Federación Internacional de Química Clínica IFCC y ICSH, 1987) y deben ser obtenidos con sangre diluida en citrato. A razón del aumento progresivo de la VHS con la

edad, se deben establecer valores para cada década de la vida en hombres y mujeres. El ICSH no acepta los resultados de VHS obtenidos con muestras de sangre sin diluir.

TABLA N° 1.

Valores de referencia según edad y género (CLSI - H02-A5 2011).

VHS método de Westergren mm/hora				
Edad	Hombre	Mujer	Máximo	
			Hombre	Mujer
18-30	3	5	< 7	< 11
31-40	3	6	< 8	< 11
41-50	6	6	< 11	< 13
51-60	6	9	< 12	< 19
60-70	6	9	< 13	< 20
>70	6	10	< 30	< 35

• MÉTODOS PARA MEDIR VHS

Método Westergren

Es el método de referencia para la medición de la VHS, este método se ha utilizado para validar y verificar nuevas metodologías. Su desventaja es que la técnica no puede ser calibrada y no existe ni está disponible material de referencia. El método emplea sangre anticoagulada con citrato trisódico en una relación de cuatro volúmenes de sangre con uno de citrato, debe ser leído en un rango de 1 hora \pm 1 minuto. Se pueden utilizar tubos de plástico o de vidrio según la norma ISO 13079:2011. Técnicamente los resultados de la prueba de VHS por este método está influenciada por temperatura ambiental, tiempo de almacenamiento y temperatura de almacenamiento de la muestra, dilución con el anticoagulante y proporción sangre / anticoagulante, hematocrito, tamaño y forma de eritrocito y de manera particular para este método se debe tener en consideración lo siguiente:

a) Condiciones de manipulación de la pipeta de Westergren

Las pipetas de Westergren pueden ser de plástico o de vidrio, deberán tener un diámetro de $2,55 \pm 0,15$ mm a lo largo de toda la columna, y deberán poseer una longitud de 200 mm, además las pipetas deberán tener una escala graduada en milímetros para facilitar la lectura. Las pipetas deben ser dispuestas sobre una base perfectamente vertical, ($90^\circ \pm 2^\circ$). La sangre tiene que ser aforada hasta la marca "0 mm" en el extremo superior de la pipeta.

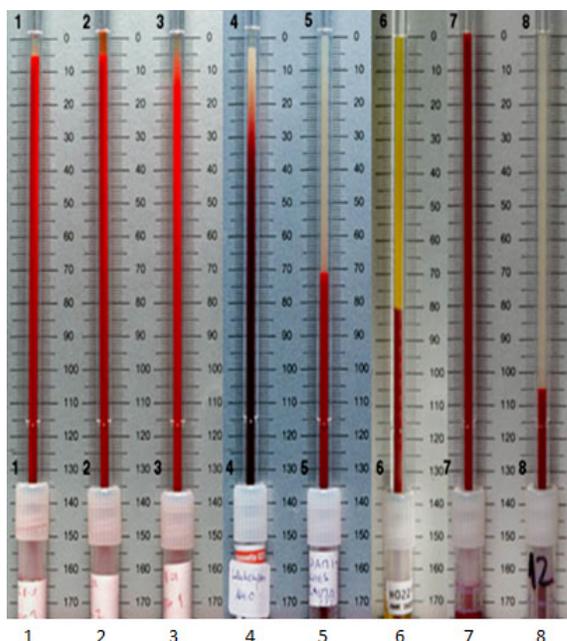
b) Lectura de la prueba

Se debe leer después de 1 hora \pm 1 minuto. La lectura se debe realizar en el menisco de sedimentación de los glóbulos rojos, la capa leucocitaria debe ser excluida. En el caso de formarse un rango difuso de lectura como (forma de un árbol de navidad), la lectura debe realizarse en el sector donde los glóbulos rojos estén más concentrados.

COLUMNA DE SEDIMENTACIÓN EN PIPETA WESTERGREN

Fig. N°3

Lectura de la velocidad hemática de sedimentación: pipeta n°1= 5 mm/1hr; pipeta n°2 = 4 mm/1hr; pipeta n°3= 10 mm/1hr; pipeta n°4 = 25 mm/1hr; pipeta n°5= 71 mm/1hr; pipeta n°6 = 81 mm/1hr; pipeta n°7= 0 mm/1hr; pipeta n°8 = 105 mm/1hr.



Fuente: Atlante Medicina. WordPress.com. VES - Metodo Westergren: <https://m3e.meduniwien.ac>.

Desarrollo Método Westergren

1. Colocar en la copa de Westergren 1 mL de sangre anticoagulada (EDTA)
2. Con una micropipeta, agregar a la copa 250 uL de citrato trisódico al 3,8%, tapar el tubo y realizar 12 inversiones completas, de tal forma que la sangre se desplace de un extremo al otro.
3. Introducir la pipeta con suavidad dentro de la copa permitiendo que la sangre suba por la pipeta hasta llegar a la marca "0 mm". Dejar la pipeta en el soporte para Westergren en forma vertical y mantener en dicha posición 1 hora.
4. Transcurrido el tiempo, leer el menisco de sedimentación de glóbulos rojos
5. Informar en mm/hora.

Método automatizado

La automatización del método ha sido un gran aporte en el procesamiento de un elevado número de muestras, simplificando el trabajo, estandarizando los procesos y optimizando los recursos.

La lectura en equipos semiautomatizados y automatizados se fundamenta principalmente en el principio óptico. Consiste en la emisión de luz infrarroja emitida por una luz led y recibida por un receptor sensible a esta frecuencia ubicada en el punto focal. La luz atraviesa la matriz (plasma) y refracta en los glóbulos rojos reduciendo el paso de luz, y es detectado por el receptor infrarrojo.

Fig. N°4

Ejemplo de equipos automatizados para medir la VHS. En general miden por barrido infrarrojo.





• ESTANDARIZACIÓN DE LA MEDICIÓN DE LA VELOCIDAD HEMÁTICA DE SEDIMENTACIÓN.

Es necesario controlar los factores externos al método que pueda influir en la determinación de los resultados. Los factores estables y posibles de controlar a través del tiempo son:

- a) Condiciones de estabilidad de la muestra
Las muestras de sangre pueden permanecer a temperatura ambiente entre 18 a 25°C por un máximo de 4 horas, o permanecer a 4 °C con una estabilidad de 24 horas. En este último caso con la precaución de mantener 15 minutos antes de la determinación a temperatura ambiente.
- b) Condiciones de preparación de la muestra
La sangre debe ser homogeneizada antes de iniciar la prueba, para esto se recomiendan realizar 12 o más inversiones completas para que la sangre fluya de extremo a extremo de la copa, este procedimiento puede ser manual o automatizado.
- c) Condiciones de suspensión de la sangre
La sangre debe ser anticoagulada con EDTA a una concentración final de 3.5 a 5.4 mmol/L (tubo hemograma), se utilizará el sistema al vacío para la toma de muestras, luego serán diluidas en citrato trisódico o suero fisiológico en relación 1:4.
- d) Control de Calidad
El análisis permite conocer el desempeño de un método, evalúa diferentes procesos con el fin de lograr el cumplimiento de los requisitos de calidad establecidos en cada laboratorio. Existe comercialmente material control que pueden ser utilizados tanto para el método de Westergren como para los métodos automatizados y que representan las condiciones normales y patológicas de la población, en este contexto la CLSI recomienda cubrir el rango de 15 a 115 mm/hora.
- e) Condiciones de lugar de trabajo
El área de trabajo debe estar libre de vibraciones y la superficie debe estar nivelada, la temperatura ambiental debe de ser entre 18-25°C.
- f) Informe de resultados
Los resultados de la Velocidad Hemática de Sedimentación se deben informar en mm/hora.

AGRADECIMIENTOS

Participantes al XV Taller Nacional de Hematología PEEC 2015.

REFERENCIAS

- (1) Heloise F, Cesar C, Lourdes M. Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011; 33 (4): 297-301.
- (2) Thomas L. Fabry. *Blood*, Vol 70, N°5 (November), 1987: pp 1572-1576.
- (3) Yang et al. Incorporation geographical factors with artificial neural networks to predict reference values of erythrocyte sedimentation rate. *International Journal of Health Geographics* 2013, 12:11.
- (4) L. Jurado. Why Shouldn't We Determine the Erythrocyte Sedimentation Rate? *CID* 2001; 33:548-9.
- (5) Caglayan O, Buyukkocak U, Kara FK, et al. The decrease in erythrocyte sedimentation rate related to general anesthesia. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006; 35(4):459-62.
- (6) Kameneva MV1, Antaki JF, Watach MJ, Borovetz HS, Kormos RL. Heparin effect on red blood cell aggregation. *Biorheology* 1994 May-Jun; 31(3):297-304.
- (7) Osei-Bimpong A., Meek JH., Lewis SM. ESR or CRP? A comparison of their clinical utility *Hematology* 2007 Aug; 12(4): 353-7.
- (8) Bottiger LE, Svedberg CA. Normal erythrocyte sedimentation rate and age – Stockholm. *Br Med J.* 1967; 2: 85-7.
- (9) Bull B.S, et al. International committee for Standardization in Hematology (ISCH); Recommendations for measurement erythrocytes sedimentation rate. *J Clin Pathol.* 1993; 46: 198-203.
- (10) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the Erythrocyte Sedimentation Rate Test; Approved Standard; Firth Edition H02-A5. 2012; Vol. 31: 1-23.
- (11) UNE-ISO 13079:2011. Material de laboratorio de vidrio o de plástico. Tubos y soportes para la medición de la Velocidad de Sedimentación de Hematíes por el Método de Westergren.
- (12) G.K. Batchelor (1967) An introduction to fluid dynamics, Cambridge University Press. Pages 230-235