



Velocidad de sedimentación globular (VSG): evaluación de la exactitud del sistema Dispette® con sangre no diluida.

María de Lourdes Freitas Do Carmo.¹.

¹Profesora Asistente. Cátedra de Hematología. Escuela de Bionálisis. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. loufre10@gmail.com

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 25 de Noviembre del 2009 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

La Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) es útil para el diagnóstico de procesos inflamatorios agudos y en el diagnóstico y progreso de desórdenes crónicos, neoplásicos y degenerativos. En su determinación, la etapa de la dilución es crítica. El documento H2-A3 del Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) y el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) establece que debe emplearse sangre total diluida para el método de rutina. En nuestro país hay laboratorios que emplean el Sistema Dispette® sin dilución posterior de la muestra; por ello, nuestro objetivo fue evaluar qué tan exacto es este

sistema con sangre no diluida al compararlo con el Método de Referencia. Se emplearon 109 muestras de sangre sin diluir utilizando Dispette® y se compararon los resultados con los obtenidos por el Método de Referencia. Se obtuvo un 68,47 % de rechazo y un 30,48 % de aceptación. El sistema Dispette®, sin dilución posterior, no arroja resultados exactos cuando se compara con el Método de Referencia.

PALABRAS CLAVE: Velocidad de Sedimentación Globular, Sistema Dispette®, exactitud

ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE (ESR): ASSESSMENT OF ACCURACY OF DISPETTE® SYSTEM USING UNDILUTED BLOOD.

SUMMARY

The Erythrocyte Sedimentation Rate (ERS) is useful for diagnosing acute inflammatory processes, and in the diagnosis and monitoring of chronic neoplastic and degenerative disorders. In its determination, dilution is the critical step. The H2-A3 document CLSI states that diluted whole blood should be used for the routine determination of ERS. In our country, there are some laboratories that use the Dispette® System without further dilution of the sample; therefore, our objective was to evaluate how accurate this system is with non diluted blood in comparison to the Reference Method. 109 samples of undiluted blood were processed using Dispette® and the results were compared to those obtained by the reference method. The assessment was carried out by comparing the Dispette® System with the Reference system. The results showed 68,47% of reject and 30,48% of acceptance. The Dispette® System, without later dilution, does not yield accurate results when compared to the Reference Method.

KEY WORDS: Erythrocyte Sedimentation Rate, Dispette® System, accuracy.

VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR (VSG): EVALUACIÓN DE LA EXACTITUD DEL SISTEMA DISPETTE® CON SANGRE NO DILUIDA.

INTRODUCCIÓN

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es una prueba sencilla, económica y de fácil realización y quizás es la prueba más solicitada al laboratorio hematológico después de la hematología⁽¹⁾. En conjunto con otras pruebas, es útil en el diagnóstico de procesos inflamatorios agudos, como criterio de diagnóstico importante para la polimialgia reumática y la arteritis de la arteria temporal y para el seguimiento y pronóstico de ciertas enfermedades^(1,2,3,4). Existen una gran variedad de metodologías en el mercado para realizar esta prueba, que van desde metodologías manuales a las innovadoras metodologías automatizadas, las cuales han contribuido a disminuir el riesgo de contaminación por los materiales potencialmente infecciosos y reportar los resultados en un menor tiempo^(5,6,7). Aún así, la metodología manual es empleada como método de rutina o como apoyo a los automatizados. Una gran cantidad de métodos manuales están disponibles en el mercado y en general, son modificaciones al método original de Westergren; entre ellos, el Sistema Dispette® es uno de los más ampliamente usados en nuestro medio⁽⁸⁾. La VSG no puede ser

calibrada pero, si es cuidadosamente estandarizada y si se realiza un adecuado control de la calidad diario, suministra resultados confiables. Dentro de los factores técnicos que pueden alterar los resultados de la prueba está la dilución de la muestra con citrato de sodio o solución salina. El Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) y el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), anteriormente denominado NCCLS, establecieron como método de Referencia para la VSG el de Westergren sin dilución de la muestra y como método de rutina, cualquier metodología con dilución de la muestra con citrato de sodio o con solución salina (7,8). Toda metodología, bien sea manual o automatizada, debe ser comparada para exactitud y reproductibilidad contra un método de referencia y cualquier modificación a lo establecido por los organismos expertos debe ser evaluada para exactitud y reproductibilidad. El procedimiento de comparación para VSG se encuentra especificado en el documento H2-A3 del CLSI (9,10). Las encuestas realizadas por la Cátedra de Hematología de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela, a los laboratorios de la capital y del interior del país (no se muestran resultados) reflejan que la gran mayoría emplean el Sistema Dispette® como metodología de rutina o como método de apoyo a la metodología automatizada y muchos de ellos realizan este método con sangre total pero sin dilución posterior de la muestra, lo que podría traer como consecuencia que los resultados no sean confiables. (9,10). Hasta la fecha no conocemos de bibliografía nacional e internacional acerca de la exactitud de la prueba al emplear sangre total sin dilución posterior empleando el sistema Dispette®. El propósito de este trabajo fue comparar el Sistema Dispette® con el método de referencia y así determinar si es adecuado emplear sangre extraída con EDTA sin dilución posterior para la realización de la VSG.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras para el estudio de comparación entre el sistema Dispette® y el método de referencia fueron obtenidas de pacientes con una gran variedad de enfermedades procedentes del Hospital Clínico Universitario de Caracas y fueron procesadas en el laboratorio de la Cátedra de Hematología de la Universidad Central de Venezuela. La obtención de las muestras se realizó siguiendo lo que recomienda el documento H2-A3 (10), el cual establece que para la comparación se requieren muestras de sangre total con un hematocrito igual o menor a 0.35. Fueron extraídas un total de 109 muestras. Cada muestra fue recolectada en tubos al vacío con K2EDTA (Becton Dickinson Vacutainer Systems®). Los hematocritos fueron determinados empleando el método del microhematocrito. Se eliminaron 5 muestras por presentar un hematocrito mayor a 0.35.

Método de Referencia El método de referencia se llevó a cabo siguiendo los procedimientos descritos en el documento H2-A3 del CLSI, el cual se basa en el método original de Westergren sin dilución posterior de la muestra. (10). Se emplearon pipetas de Westergren de vidrio (ADAMS. USA) y un soporte de metal con capacidad para colocar 10 pipetas en posición vertical. El Sistema Dispette® (Guest medical. uK) es una metodología manual basada en el método original de Westergren. El sistema consta de un reservorio azul de polietileno con una marca inferior con capacidad para 0,25 ml y una superior de 1,25 ml, pipetas de plástico y un soporte de plástico para mantener 10 pipetas en posición vertical. El fabricante establece que debe diluirse la muestra en una proporción de 4 volúmenes de sangre por 1 de diluente (4:1)

(8). En el presente trabajo el paso de la dilución se obvió para cumplir con el objetivo establecido. Se determinó el diámetro y la longitud de cada una de las pipetas tanto para el método de referencia de Westergren como para el sistema Dispette®. Las pipetas de vidrio fueron cuidadosamente lavadas y secadas antes de su uso y las Dispette®, al ser desechables, se eliminaron luego de realizada cada prueba. Siguiendo las recomendaciones del documento H2-A3, antes de comenzar la evaluación se estandarizó cuidadosamente los factores técnicos que podrían afectar los resultados de las muestras como son la temperatura ambiente, vibraciones, verticalidad y el mezclado de las muestras. Cada muestra fue procesada una sola vez por el sistema Dispette® y por la metodología de referencia dentro de las 4 horas de extraídas y fueron mezcladas 8 veces por inversión completa ($180^\circ \times 2$) inmediatamente antes de realizar cada uno de los métodos. Los resultados fueron registrados a los 60 min como mm/h. ⁽¹⁰⁾. Para la recolección de los datos y análisis estadístico se empleó el programa Microsoft Excel 2003. Además, se analizaron los datos según la tabla establecida en el documento H2-A3 del CLSI (8) y lo descrito por Bland and Altman ⁽¹¹⁾.

RESULTADOS

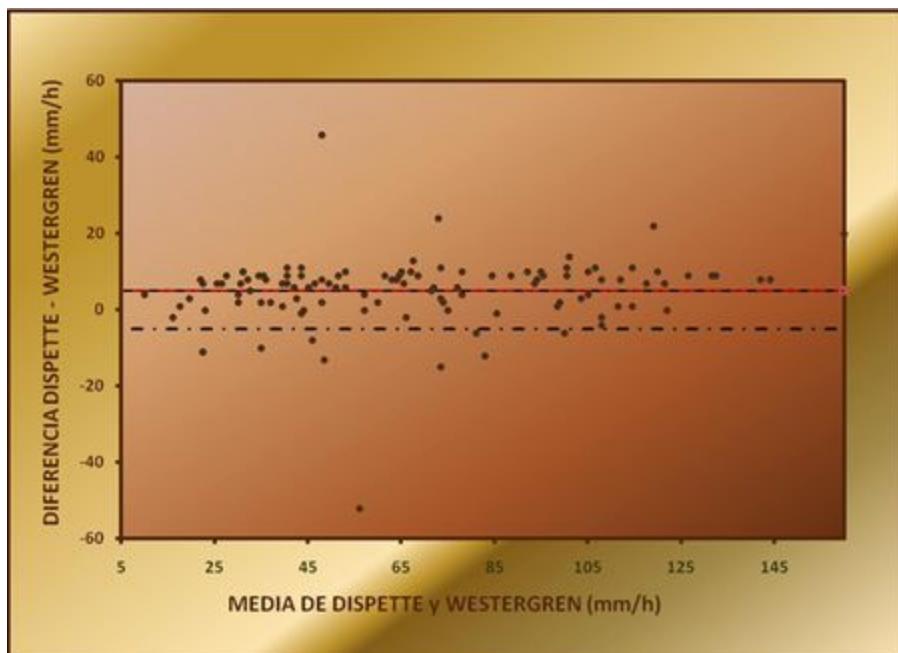
En la tabla 1 se muestran las características de las pipetas empleadas para el estudio, así como el diámetro interno de ambas pipetas, que fue medido con un vernier. Como se observa, las pipetas del sistema Dispette® tienen una longitud y un diámetro menor que las pipetas de Westergren.

Tabla 1. Características de las pipetas del Método de Referencia y del Sistema Dispette®

PIPETAS	MATERIAL	LONGITUD (mm)	DIAMETRO INTERNO (mm)	ESCALA (mm)
WESTERGREN	Vidrio	300	$2,66 \pm 0,13$	0 – 200
DISPETTE®	Plástico desechable	200	$2,00 \pm 0,03$	0 - 150

Durante el desarrollo del trabajo observamos que varias muestras procesadas por el sistema Dispette® presentaban acúmulos o grandes agregados de glóbulos rojos y por encima y debajo

de éste el plasma, creando una especie de interfase. Al observar detalladamente estos casos pudimos notar que en pocos minutos éstos agregados descendían muy rápidamente.



-----: sesgo: $\pm 5,00 \text{ mm/h}$. Descripto en el Protocolo H2A3.

-----: sesgo: 5,07 mm/h. Análisis por Bland y Altman

Figura 1. Diferencia de los dos métodos contra la media de ambos

En la Figura 1 se observa el gráfico de Bland y Altman que establece la relación de la diferencia entre los dos métodos contra la media de ambos; la media de los dos métodos en el eje horizontal (mm/h) y las diferencias del método Dispette® menos el Método de Referencia (mm/h) en el eje vertical.

En la Tabla 2 se expone la media y la desviación estándar para ambas metodologías y para la diferencia entre ambas. El sesgo o error obtenido fue de 5,07 mm/h.

TABLA 2. MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR

METODOLOGIA	DISPETTE® (mm/h)	WESTERGREN (mm/h)	DIFERENCIA: DISPETTE®- WESTERGREN (mm/h)
Media	70,5	65,4	5,07
Desviación estándar	35,07	33,66	9,29

charset:0; mso-generic-font-family:swiss; mso-font-pitch:variable; mso-font-signature:-1610611985 1073750139 0 0 159 0;} /* Style Definitions */ p.MsoNormal, li.MsoNormal, div.MsoNormal {mso-style-parent:""; margin-top:0cm; margin-right:0cm; margin-bottom:10.0pt; margin-left:0cm; line-height:115%; mso-pagination:widow-orphan; font-size:11.0pt; font-family:Calibri; mso-fareast-font-family:Calibri; mso-bidi-font-family:"Times New Roman"; mso-ansi-language:ES-VE; mso-fareast-language:EN-US;} @page Section1 {size:612.0pt 792.0pt; margin:70.85pt 3.0cm 70.85pt 3.0cm; mso-header-margin:36.0pt; mso-footer-margin:36.0pt; mso-paper-source:0;} div.Section1 {page:Section1;} --> Al analizar los datos según el protocolo H2-A3 se obtuvo que el porcentaje de aceptación fue de 30,48%, y el porcentaje de rechazo de un 68,57%.

DISCUSIÓN

La VSG es una prueba no específica ampliamente solicitada al laboratorio clínico y generalmente empleada para detectar inflamación sistémica y para el monitoreo y pronóstico de ciertas enfermedades (1,2,3,4). Además, está siendo usada para el pronóstico de condiciones no inflamatorias como enfermedad coronaria arterial, cáncer de próstata y en el diagnóstico y monitoreo de infecciones post operatorias en el área ortopédica (12,13,14). Si bien es cierto que hoy día contamos con una gran cantidad de equipos automatizados para realizar la VSG, muchos laboratorios de nuestro medio no cuentan con esta metodología por lo que emplean métodos manuales como metodología de rutina o como método de apoyo a la automatizada. La metodología manual más utilizada en nuestros laboratorios es la que emplea el Sistema Dispette® y el fabricante establece que debe realizarse la dilución de la muestra en una proporción 4:1 (8). Algunos centros emplean sangre extraída con EDTA sin dilución posterior de la muestra para realizar la VSG, quizás buscando disminuir los riesgos biológicos al realizar una menor manipulación de la muestra. La exactitud de cualquier método se conoce cuando se realiza la comparación con un método de referencia. Para la velocidad de sedimentación globular (VSG), el método de referencia es el que sigue las especificaciones del documento H2-A3 .del CLSI y en él se establece las pautas a seguir para la metodología de rutina (8). Lo establecido es que el 95 % de los valores del método en prueba, en este caso el Sistema Dispette® caigan dentro de la tabla establecida en el protocolo y el sesgo no debe ser mayor de ± 5 mm/h (10). Al comparar los datos obtenidos por ambas metodologías con la tabla establecida por el ICSH y el CLSI, se obtuvo que un 68,57% de los resultados del sistema Dispette® fueron más altos que los obtenidos por el método de referencia y un 30,48% caen dentro del rango de la tabla. Al analizar los datos por el método descrito por Bland and Altman obtuvimos el gráfico de la relación entre las diferencias (Dispette ®- Método de Referencia) y la media de ambos métodos, donde se observa claramente que la mayoría de los resultados están por encima de la media de las diferencias. Los resultados obtenidos por el Sistema Dispette® son 5,07mm/h (sesgo permitido) más altos que los obtenidos por el método de referencia. (Figura. 1) y el valor de la media del Sistema Dispette ® es más alto que el de la media obtenida por el método de referencia. (Tabla2). El sesgo obtenido al analizar los resultados por el método de Bland y Altman (5,07 mm/h) y por lo descrito en el protocolo H2A3 (± 5 mm/h) resultó ser prácticamente el mismo. Las diferencias observadas entre ambas

metodologías posiblemente sean debidas a la diferencia de los diámetros internos entre ambas pipetas. Las pipetas de Westergren de vidrio tienen un diámetro interno de 2,7 mm, mientras que las de plástico desechable del Sistema Dispette® tienen un diámetro de 2 mm (Tabla 1), lo que hace suponer que el área que tienen los glóbulos rojos para sedimentar es mayor en la pipeta de Westergren y menor en la pipeta Dispette®. Probablemente éstos resultados estén relacionados con la excesiva formación de agregados de glóbulos rojos observados sólo en las pipetas Dispette®. La razón de ello es desconocida aunque, posiblemente, al no realizarse la dilución de la muestra y al ser más estrecho el diámetro de las pipetas Dispette®, los acúmulos o agregados excesivos de glóbulos rojos desciendan más rápido arrojando resultados más altos que el método de referencia. Nuestros resultados concuerdan con lo recomendado por el CLSI⁽⁸⁾, el cual recomienda el uso de sangre diluida para las metodologías de rutina del laboratorio y con los obtenidos en nuestro laboratorio (datos próximos a publicar).

Conclusión: El Sistema Dispette® para medir VSG no proporciona resultados exactos cuando se emplea sangre total extraída con EDTA sin dilución posterior de la muestra, por lo que recomendamos diluir la sangre para realizar la VSG con el Sistema Dispette®.

Proyecto financiado por El Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela

Agradecimientos:

A las empresas RepreclinLab y Becton and Dickinson por su aporte en el suministro del Sistema Dispette® y tubos con EDTA respectivamente. Al profesor Alfredo Gallardo de la UCV, por su ayuda en el análisis estadístico y a la profesora Amadita López, profesora de la UCV, por sus observaciones y recomendaciones.

REFERENCIAS

1. Brigden ML. Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate. Am Fam Physician. 1999; 60:1444 – 50.
2. Saadeh C. The Erythrocyte Sedimentation Rate: Old and New Clinical Applications. South Med J. 1999; 91: 220-225.
3. Stephen K., Joseph W. Clinical Utility of Common Serum Rheumatologic Test. Am Fam Physician. 2002; 65:
4. Friedman S., Henry.Amar M., Cosset JM. Et al. Therapeutic implications and sites of relapse predicted by elevated posttherapy erythrocyte sedimentation rate. Am. J. of Hem. 1991; 37: 253-257.
5. Koepke JA. Welcome Innovation in Erythrocyte Sedimentation Testing. Am J Clin Pathol. 2000; 18: 11-12.
6. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC and col. The TEST 1 Automated System. A New Method for Measuring the Erythrocyte Sedimentation Rate. Am J Clin Pathol. 1998; 110:334-340.

7. Marc RD, Daniel FB, David PD et al. Validation of the Diesse Mini-Ves Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) Analyser Using the Westergren ESR Method in Patients With Systemic Inflammatory Conditions. Am J Clin Pathol 2002; 118:14-17.
8. Guidelines medical consumables. Disponible en: <http://www.guest-medical.co.uk>.
9. International Committee for Standards in Haematology. Recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. J Clin Pathol. 1993; 46:198-203.
10. NCCLS. Methods for the Erythrocyte Sedimentation Rate. (ESR) Test; Approved Standard. 3th ed. H2-A3. 1993.
11. Bland JM., Altman DG. Statistical Methods For Assessing Agreement Between Two Methods Of Clinical Measurement. Lancet. 1986; i: 307-310.
12. Andresdottir MB., Sigfusson N, Sigvaldason H., Gudnason V. Erythrocyte sedimentation rate, an independent predictor of coronary heart disease in men and women. Am J Epidemiol. 2003; 158(9):844-51.
13. Ingelson E., Ärnlöv J., Sundström J. and Lind L. Inflammation, as Measured by the Erythrocyte Sedimentation Rate, Is an Independent Predictor for the Development of Heart Failure. J Am Coll Cardiol. 2005; 45:1802-1806.
14. Park KK., Kim TK., Chang CB at col. Normative Temporal Values of CRP and ESR in Unilateral and Staged Bilateral TKA. Clin Orthop Relat Res. 2008; 466(1): 179-188.