

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DEL USO DE LOS ANTICOAGULANTES
CITRATO DISÓDICO Y ÁCIDO
ETILENDIAMINTETRACÉTICO (EDTA) EN LA
DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE
SEDIMENTACIÓN ERITROCÍTICA POR MEDIO DEL
SISTEMA TAKIVES®.**

JUAN MANUEL SOLIS ZAVALA

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, noviembre de 2010

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**EVALUACIÓN DEL USO DE LOS ANTICOAGULANTES
CITRATO DISÓDICO Y ÁCIDO
ETILENDIAMINTETRACÉTICO (EDTA) EN LA
DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE
SEDIMENTACIÓN ERITROCÍTICA POR MEDIO DEL
SISTEMA TAKIVES®.**

INFORME DE TESIS

Presentado por

JUAN MANUEL SOLIS ZAVALA

Para optar al título de

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, noviembre de 2010

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

| | |
|---|------------|
| Oscar Cobar Pinto, Ph.D. | Decano |
| Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A. | Secretario |
| Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A. | Vocal I |
| Licda. Liliana Vides de Urizar | Vocal II |
| Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli | Vocal III |
| Br. María Estuardo Guerra Valle | Vocal IV |
| Br. Berta Alejandra Morales Mérida | Vocal V |

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

A MI FAMILIA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

A LA ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

A Lic. Óscar Federico Nave Herrera

A Licda. Liliana Vides de Urízar

A Licda. Vivian Lucrecia Matta Ríos de García, MSc.

A Clínicas Médicas San Francisco

INDICE

| | TEMA | PAGINA |
|------|---|--------|
| I | RESUMEN | 1 |
| II | INTRODUCCION | 3 |
| III | ANTECEDENTES | 5 |
| | 3.1 Definición de velocidad de sedimentación eritrocítica | 6 |
| | 3.2 Fisiología de la velocidad de sedimentación eritrocítica | 7 |
| | 3.3 Significado clínico de la velocidad de sedimentación eritrocítica | 9 |
| | 3.4 Factores que afectan la velocidad de sedimentación eritrocítica | 10 |
| | 3.5 Etapas de la velocidad de sedimentación eritrocítica | 12 |
| | 4 Anticoagulantes | 16 |
| | 5 Métodos para la determinación de la velocidad de sedimentación eritrocítica | 19 |
| | 6 Estudios realizados en Guatemala | 27 |
| IV | JUSTIFICACIÓN | 29 |
| V | OBJETIVOS | 30 |
| VI | HIPOTÉISIS | 31 |
| VII | MATERIALES Y MÉTODOS | 32 |
| | 1.1 Universo de Trabajo | 32 |
| | 1.2 Muestra a analizar | 32 |
| | 2 Recursos | 33 |
| | 2.1 Recursos Humanos | 33 |
| | 2.2 Recursos Institucionales | 33 |
| | 2.3 Recursos Físicos | 33 |
| | 3 Procedimiento | 34 |
| | 3.1 Toma de la muestra | 34 |
| | 3.2 Manejo de la muestra | 34 |
| | 4 Diseño de la Investigación | 35 |
| | 5 Análisis de Resultados | 36 |
| VIII | RESULTADOS | 37 |
| IX | DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 48 |
| X | CONCLUSIONES | 51 |
| XI | RECOMENDACIONES | 52 |
| XII | REFERENCIAS | 53 |
| XIII | ANEXOS | 61 |

I. RESUMEN

En el presente estudio se comparó el uso de dos diferentes anticoagulantes, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y citrato de sodio para medir la velocidad de sedimentación eritrocítica (VSE) tanto con el sistema TAKIVES® como con el método de referencia de Westergren, en pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico San Francisco de la Iglesia La Recolección de la ciudad de Guatemala en el período comprendido del 3 de noviembre del año 2008 al 25 de enero del año 2009.

Se estudiaron 200 pacientes de ambos géneros, de diferentes edades, con un promedio de edad en mujeres de 33.94 años y en hombres de 30.74 años. A estos pacientes se les extrajo una muestra de sangre y se determinó la VSE por los métodos antes descritos. Una vez obtenidos todos los resultados de la VSE, se procedió a efectuar el análisis estadístico para establecer si el sistema TAKIVES® utilizando los dos anticoagulantes presenta una adecuada concordancia con el método de referencia.

Se efectuó la prueba de Análisis de Varianza de dos vías que reveló que no existe diferencia significativa entre los métodos utilizados ($p=0.2561$). Luego se calculó el coeficiente de correlación de concordancia para los métodos: TAKIVES®/citrato y TAKIVES®/EDTA ($r_c: 0.98$); Westergren y TAKIVES®/citrato ($r_c: 0.99$) y entre Westergren y TAKIVES®/EDTA ($r_c: 0.98$), lo que indica que tanto TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/citrato, presentan una buena concordancia con Westergren, así como entre ellos.

Se determinó la sensibilidad y especificidad, para todas las comparaciones, encontrándose que las ecuaciones de regresión dieron pendientes no diferentes significativamente a 1 ($p>0.05$) e interceptos no diferentes significativamente a 0 ($p>0.05$), lo que se interpreta como igual sensibilidad y especificidad de los dos anticoagulantes en el sistema TAKIVES® al compararlos con Westergren

Se clasificaron los casos de VSE según los valores de referencia correspondientes en Normal o Alterada y se elaboró una tabla de contingencia para determinar los valores de sensibilidad y especificidad para TAKIVES®/citrato con una sensibilidad de 98.17% y

especificidad de 96.70%, para TAKIVES®/EDTA una sensibilidad de 100.00% y especificidad de 97.80% y TAKIVES®/EDTA frente a TAKIVES®/citrato, con valores de sensibilidad de 97.30% y especificidad de 97.75%. El Índice *Kappa* que mostró la concordancia entre TAKIVES®/EDTA con Westergren (0.98), entre TAKIVES®/citrato con Westergren (0.95) y entre TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/citrato (0.95). Estos datos indican que los anticoagulantes con el método TAKIVES® son equivalentes al método de referencia de Westergren.

En conclusión, el método TAKIVES® es altamente reproducible, sensible y específico y no presenta diferencia significativa con el método de referencia (Westergren). Los anticoagulantes no alteraron significativamente los resultados del método TAKIVES®, obteniéndose también excelente reproducibilidad, sensibilidad, especificidad y concordancia, ya sea con EDTA o con citrato, por lo que se recomienda su uso dentro del laboratorio clínico, tanto a nivel público como privado.

II. INTRODUCCION

La determinación de la velocidad de sedimentación eritrocítica es uno de los exámenes más utilizados en los laboratorios clínicos públicos y privados de Guatemala. La prueba se utiliza como un elemento de diagnóstico en algunas pocas condiciones patológicas que incluyen arteritis temporal, polimialgia reumática y en cuadros de artritis reumatoide. Su uso diagnóstico en otras condiciones patológicas no está bien documentado. La prueba mide la distancia que recorren los eritrocitos durante una hora cuando se coloca la sangre con anticoagulante en una columna vertical, por la influencia de la gravedad (1-4).

El método más satisfactorio y más utilizado en Guatemala es el método de Westergren, el cual fue introducido como método de referencia a nivel mundial en 1921. Los valores de referencia varían de acuerdo a los laboratorios que utilizan el método, aunque las mujeres tienen valores de velocidad de sedimentación eritrocítica más altos, al igual que los ancianos y las personas obesas. Una disminución de la velocidad de sedimentación eritrocítica está asociada con enfermedades sanguíneas donde los eritrocitos tienen una forma irregular o disminuida que causa una precipitación retardada (5,6).

Debido a que es una prueba que se realiza de rutina en la mayoría de laboratorios clínicos en Guatemala, un estudio técnico cuidadoso debe ser implementado para evaluar los factores que pueden conducir a un error en su interpretación o realización. Aunque se han encontrado pruebas de mayor utilidad que la velocidad de sedimentación eritrocítica como la Proteína C Reactiva, es interesante el hecho de que tanto la velocidad de sedimentación eritrocítica como la viscosidad del plasma han mostrado mucha efectividad en la determinación y monitoreo de la respuesta de fase aguda de las enfermedades en las primeras 24 horas (7).

Actualmente, tanto a nivel hospitalario como privado, se está haciendo más común el uso de una versión modificada del método de Westergren, en el cual las pipetas utilizadas varían en ciertas características de las tradicionalmente empleadas en dicho método. Estas pipetas pertenecen al sistema TAKIVES®, que proveen al operador una

mayor seguridad puesto que éste no entra en contacto con el fluido sanguíneo, tienen un bajo costo, son desechables y poseen las atribuciones propias del método tradicional, sin embargo, no todos los laboratorios cumplen con los requerimientos técnicos que esta pipeta establece, lo que podría provocar errores en la lectura e interpretación de los resultados (7).

En el presente estudio se comparó el uso de la pipeta TAKIVES® en muestras de sangre que utilizan dos diferentes anticoagulantes, uno el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y el otro citrato de sodio, a volúmenes iguales y con las especificaciones del método de Westergren similares para ambas muestras. Se estudiaron 200 pacientes que acudieron diariamente al Laboratorio Clínico San Francisco de la Iglesia La Recolección sin importar la edad, sexo, condición económica o estado de enfermedad referente (7).

Se obtuvieron en total 200 muestras de sangre a las cuales se les midió la velocidad de sedimentación eritrocítica. Los resultados obtenidos se compararon, utilizando la prueba de análisis de varianza de dos vías para evaluar los dos anticoagulantes con el sistema TAKIVES® y el método de Westergren, coeficiente de correlación de concordancia entre los métodos, así como sensibilidad, especificidad e índice Kappa, tomando como referencia el método tradicional de Westergren.

Los resultados obtenidos serán utilizados como referencia bibliográfica del trabajo de tesis y así mismo se trasladarán hacia los laboratorios clínicos tanto privados como públicos, que deseen informarse sobre las actualizaciones metodológicas más recientes sobre la prueba de la velocidad de sedimentación eritrocítica a través de la difusión del artículo científico del trabajo por intermedio del Colegio de Farmacéuticos y Químicos de Guatemala.

III. ANTECEDENTES

La sangre es un líquido, generalmente de color rojo, que circula por las arterias y venas del cuerpo de los animales. Se compone de una parte líquida o plasma y de células en suspensión: eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Su función es distribuir oxígeno, nutrientes y otras sustancias a las células del organismo, y recoger de éstas los productos de desecho (1).

En 1918, Fahraeus, mientras trataba de implementar una prueba temprana para embarazo, descubrió que la estabilidad de la suspensión sanguínea se altera con el embarazo, aunque encontró también que la velocidad de la sedimentación se acelera en muchas otras enfermedades. Las variaciones en la estabilidad de la suspensión sanguínea fue probablemente lo que condujo al desarrollo de la teoría de los cuatro humores en la antigua Grecia (1).

La técnica de Westergren es usualmente la más utilizada para la determinación de la velocidad de sedimentación eritrocítica (VSE) recomendada por el Comité Internacional para la Estandarización en Hematología (ICSH, por sus siglas en inglés). Los métodos tales como Wintrobe, el Rango de Potencial Cero y la viscosidad plasmática son sensibles a los cambios en las proteínas plasmáticas, sin embargo, en general, el método Westergren se presenta como el método más conveniente ya que no necesita de materiales e instrumentos complejos o cálculos engorrosos. A pesar de que la ICSH continuamente revisa y estandariza el método Westergren, éste se ha mantenido prácticamente sin cambios desde su origen (2).

En décadas recientes, muchas nuevas técnicas para la medición de la velocidad de sedimentación eritrocítica han sido desarrolladas e introducidas en el uso del laboratorio clínico y que están destinadas a cubrir las siguientes necesidades:

- Garantizar seguridad al operador utilizando sistemas cerrados y automatizados.

- Automatizar la medición por sí misma y optimizar el flujo de trabajo y la utilización de recursos humanos.
- Crear una única alternativa de trabajo en la medición de la VSE y al mismo tiempo poder realizar otras mediciones como el recuento leucocitario, eritrocitario y de reticulocitos en un mismo espécimen (2).

A inicios del siglo XX la prueba de velocidad de sedimentación eritrocítica fue utilizada como un auxiliar en el diagnóstico de embarazo, posteriormente se empleó como un indicador de patologías inflamatorias o infecciosas. Actualmente, con la disponibilidad de exámenes más sofisticados, la velocidad de sedimentación eritrocítica continúa siendo muy solicitada por los reumatólogos que la utilizan en el diagnóstico o acompañamiento clínico de enfermedades como la artritis reumatoide o el lupus eritematoso (3).

3.1 Definición de la velocidad de sedimentación eritrocítica:

Es la precipitación de los eritrocitos (glóbulos rojos) en un tiempo determinado, que se relaciona directamente con la tendencia de los glóbulos rojos hacia la formación de acúmulos (pilas de monedas) así como a la concentración plasmática de proteínas (globulinas y fibrinógeno); la capacidad y la velocidad de formar estos acúmulos dependen de la atracción de la superficie de los glóbulos rojos. El análisis de la velocidad de sedimentación eritrocítica se realiza normalmente en un estudio completo de hematimetría.

Los principales usos de la medición de la velocidad de sedimentación eritrocítica son:

1. Detectar procesos inflamatorios o infecciosos. Como discriminador o reactante de presencia de enfermedad.
2. Controlar la evolución de ciertas enfermedades crónicas ó infecciosas.
3. Detectar procesos crónicos inflamatorios ocultos o tumores.

La técnica no es muy sensible y es, además, poco específica. Por sí sola tiene escaso valor y se debe asociar a otros estudios para poder orientar un diagnóstico. Básicamente es un examen de tamizaje para monitorear distintos tipos de enfermedades, el

procedimiento mide la distancia en milímetros en que los glóbulos rojos se sedimentan hacia el fondo de un tubo de prueba, especialmente marcado, durante 1 hora (4).

3.2 Fisiología de la velocidad de sedimentación eritrocítica:

El rango de sedimentación eritrocítica depende de la interacción entre fuerzas físicas opuestas, la sedimentación ocurre porque la densidad de los eritrocitos es mayor que la densidad del medio, la caída de los eritrocitos causa un desplazamiento ascendente del medio, produciendo así una corriente ascendente y una fuerza retardante (4 - 9).

Cuando una muestra sanguínea con anticoagulante se mantiene en una posición estable, las células rojas se sedimentan, sin embargo una sedimentación eritrocitaria discreta se conforma muy lentamente, mientras que mayores agregados eritrocitarios lo hacen más rápidamente. El rango de velocidad eritrocítica está directamente relacionado con el tamaño de los agregados. La agregación de eritrocitos usualmente ocurre como una formación de *roleaux*, en la cual las células rojas se apilan a manera de monedas. En un plasma normal la formación de *roleaux* es mínima y la sedimentación es lenta (4).

Los eritrocitos poseen una carga negativa (potencial zeta), las alteraciones en las proporciones y concentraciones de varias fracciones proteicas hidrofílicas del plasma reducen este potencial zeta e incrementan la tasa de formación de *roleaux* y el tamaño de los agregados, aumentando, por consiguiente la tasa de sedimentación. Los cambios en las proteínas plasmáticas ocurren en el daño tisular o en procesos patológicos inflamatorios y crónicos, la relación entre las proteínas plasmáticas y la formación de *roleaux* es la base principal en la medición de la velocidad de sedimentación eritrocítica (4 - 9).

En la sangre obtenida de personas sanas la concentración de los eritrocitos es relativamente grande y un mayor volumen de plasma puede ser desplazado ascendentemente si ocurre una gran sedimentación. En una sangre normal, las fuerzas ascendentes y descendentes son casi iguales, por lo que no se producen cambios significativos. Cuando el número de células rojas es menor de lo normal, hay un escaso retraso de la sedimentación producido por ellos mismos. No importa que tan alta pueda

ser la columna de sangre, esta longitud no es infinita y el retraso es producido por las células al golpear el fondo y apilarse una sobre otra (9).

Estos parámetros son particularmente propios de una columna vertical, cualquier desviación de esa verticalidad causa una aceleración del rango de sedimentación. El factor de mayor importancia que afecta el rango de sedimentación es el tamaño de la partícula que sedimenta, a grandes volúmenes de partículas, menor es la superficie relativa; la fuerza de ascensión o retraso es una función del área de superficie expuesta al medio (4 - 10).

La fuerza de descenso depende del peso de la partícula. En presencia de ciertas condiciones la agregación de los eritrocitos (formación de rouleaux) se incrementa considerablemente, y esto resulta en la producción de agregados corpusculares de gran volumen, pero con un área superficial relativamente pequeña, la razón para que se produzca una agregación incrementada no es totalmente clara; sin embargo, es probable que sea el resultado de cambios en la carga negativa superficial (potencial zeta) de los eritrocitos.

El potencial zeta es una función de grupos de ácido siálico en la membrana eritrocitaria, puede ser atenuado por el efecto dieléctrico de proteínas en el plasma circundante, especialmente macromoléculas asimétricas. Al efecto del potencial zeta contribuye de forma importante la propia albúmina plasmática, de manera que el valor del potencial zeta disminuye cuando lo hace la concentración de albúmina plasmática. El fibrinógeno y las globulinas presentan un elevado peso molecular y aumentan la llamada constante dieléctrica del plasma, reduciendo con ello el potencial zeta eritrocitario (1,23).

3.2.1 Velocidad plasmática y de sangre total

La viscosidad es la resistencia que presentan los fluidos al deformarse. Cuando a un líquido se le aplica una fuerza tangencial Z , tiende a deformarse en el sentido de la misma a una velocidad γ que depende de su viscosidad aparente (η_{an}). En el plasma, la relación entre estas dos variables es de tipo lineal, lo que significa que este líquido tiene un comportamiento newtoniano y el valor de η_{an} es independiente del valor de γ y se

mantiene siempre constante. Por el contrario, en la sangre total el valor de η_{an} aumenta de forma exponencial al disminuir γ , esto significa que la sangre presenta un comportamiento fluido no newtoniano cuando existen valores bajos de γ . Sin embargo, cuando los valores de γ se hacen muy elevados, el comportamiento de la sangre total se hace newtoniano como el plasma.

En condiciones fisiológicas normales, el factor determinante más importante de la viscosidad sanguínea es el hematocrito. A valores normales de hematocrito existe una relación lineal entre éste y el logaritmo de la viscosidad, pero ésta se pierde para valores de hematocrito en los extremos altos o bajos, las cifras normales de hematocrito en personas oscilan en hombres: de 40.7 a 50.3 % y en mujeres: de 36.1 a 44.3 % dependiendo de diversos factores fisiológicos, como la edad y la condición física del sujeto. (10,54).

3.3 Significado clínico de la velocidad de sedimentación eritrocítica:

La velocidad de sedimentación eritrocítica es una prueba de laboratorio cuyo uso diagnóstico es no específico y poco sensible. Sin embargo, este parámetro ha sido ampliamente utilizado en la medicina clínica y se perfila como una de las pruebas de fase aguda de respuesta inflamatoria más frecuentemente utilizada por los laboratorios clínicos; la velocidad de sedimentación eritrocítica también puede ser usada para monitorear el curso de cualquier enfermedad reumática o colágeno-vascular y su respuesta a la terapia. Puede usarse además para monitorear la actividad de la enfermedad y para establecer la remisión de ésta en algunos pacientes.

La gran mayoría de infecciones agudas o crónicas, así como enfermedades degenerativas, están asociadas con cambios en las globulinas plasmáticas o el fibrinógeno, lo cual conduce a una aceleración de la sedimentación. La velocidad de sedimentación eritrocítica está influenciada por proteínas de fase aguda y el hematocrito, los cuales cambian en los desórdenes antes mencionados y tienen un efecto aditivo sobre la velocidad de sedimentación eritrocítica. Si su valor es mayor de 100 mm/hora se debe de pensar que existe una probable asociación con cáncer, colagenosis, enfermedades reumáticas, y otras enfermedades infecciosas crónicas (9, 53).

3.4 Factores que afectan la velocidad de sedimentación eritrocítica

Los valores de referencia recomendados para la velocidad de sedimentación eritrocítica (anexo tabla 11) varían con la edad, además existen muchos factores (anexo tabla 12) que pueden afectar la sedimentación eritrocítica tales como la viscosidad plasmática y la proporción de las células rojas en el plasma. Los cambios en la viscosidad plasmática afectan a la velocidad de sedimentación eritrocítica en al menos dos formas:

- Al incrementarse la viscosidad plasmática se retarda la sedimentación de los eritrocitos y por consiguiente la velocidad de sedimentación eritrocítica debería ser baja. Tal incremento en la viscosidad, sin embargo, ocurre usualmente debido a una elevación de la concentración plasmática de moléculas proteicas asimétricas, las cuales aceleran fuertemente la velocidad de sedimentación eritrocítica.
- La elevación de la concentración plasmática de moléculas proteicas asimétricas es mucho más pronunciada que el incremento de la viscosidad plasmática y ésta es la razón por la que la velocidad de sedimentación eritrocítica y la viscosidad plasmática son paralelas, por tal razón, la velocidad de sedimentación eritrocítica no es el método de elección en aquellos pacientes cuya viscosidad plasmática es muy alta, por ejemplo la paraproteinemia (10 -24).

Se sabe además que los cambios en el volumen de células empacadas (VCE) tiene una alta influencia en la velocidad de sedimentación eritrocítica. Una disminución del volumen que ocupan los eritrocitos en la sangre disminuye la velocidad de flujo del plasma, lo cual altera la sedimentación eritrocítica. Como resultado de esto, los agregados eritrocíticos caen rápidamente. Así, una disminución en el volumen de células empacadas aumenta la velocidad de sedimentación eritrocítica independientemente de los cambios de los reactantes de fase aguda. Cambios en el tamaño de los eritrocitos, su forma, deformabilidad y densidad también influyen en la velocidad de sedimentación. La anemia y la macrocitosis aumentan la velocidad de sedimentación eritrocítica; en la anemia, al disminuir el hematocrito, se altera la

velocidad de flujo ascendente del plasma y la caída de los agregados de hematíes es más rápida y por tanto aumenta la velocidad de sedimentación (24).

Una velocidad de sedimentación eritrocítica disminuida se asocia a enfermedades de la sangre en las que los hematíes tengan una forma irregular o más pequeña que cause una caída más lenta. En pacientes con policitemia, al haber muchos eritrocitos, estos impiden que se compacten los agregados y el valor de velocidad de sedimentación eritrocítica está disminuido (24).

La velocidad de sedimentación eritrocítica se ve afectada también por la edad y el sexo, en sujetos sanos la velocidad de sedimentación eritrocítica es más alta en mujeres que en hombres y en ambos sexos ocurre una elevación en relación a la edad. Un incremento en el nivel de fibrinógeno es un factor importante para la elevación patológica de la velocidad de sedimentación eritrocítica; otras proteínas plasmáticas como la albúmina también influyen en la diferencia de velocidad de sedimentación eritrocítica observada de acuerdo a la edad, efectivamente, la caída de albúmina con la edad afecta el parámetro de la velocidad de sedimentación eritrocítica (24-26).

La albúmina dispersa el rouleaux y retarda la agregación eritrocítica, por lo que la velocidad de sedimentación eritrocítica correlaciona negativamente con los niveles de albúmina (22-26).

Otro factor que afecta a la velocidad de sedimentación eritrocítica es el incremento en la temperatura. La presencia de crioaglutininas activas a temperatura ambiente puede alterar la sedimentación; idealmente la velocidad de sedimentación eritrocítica debe ser realizada en un ambiente de temperatura controlada, pero por conveniencia y simplicidad se realiza a temperatura ambiente (24-26).

3.5 Etapas de la velocidad de sedimentación eritrocítica

La velocidad de sedimentación eritrocítica se mantiene como un fenómeno parcialmente entendido. Tres fases pueden ser distinguidas en el proceso de sedimentación:

1. En la primera fase, la fase de agregación, se refleja el período en el cual los eritrocitos individuales forman el rouleaux. Esta es una pequeña sedimentación.
2. Durante la segunda fase o fase de precipitación, la interfase plasma-eritrocitos cae más rápidamente (incrementando la sedimentación).
3. En la tercera fase final, o fase de empacamiento, los agregados eritrocíticos se apilan en la base del tubo, la sedimentación se produce más lentamente como resultado de una interferencia mutua de los agregados empacados que se encuentran muy cercanos unos de otros. Así, si el descendimiento de la interfase plasma-eritrocitos es medida contra el tiempo, se obtiene una típica curva sigmoidea (9).

En el proceso en que los eritrocitos sedimentan, ocurre un desplazamiento hacia arriba del plasma, el cual produce una fuerza que retarda la caída de los eritrocitos (9).

Cuando los eritrocitos sedimentan en forma de pilas de monedas su peso se incrementa proporcionalmente al área de su superficie, lo que provoca que la fuerza de su caída sea superior a la fuerza de resistencia del plasma obteniéndose un aumento en la velocidad de caída eritrocitaria (9).

El tamaño de los agregados formados en la primera fase es crítico para el desarrollo de la sedimentación y cuanto más pequeños sean los agregados, más lentamente se producirá la sedimentación; estos agregados se debe a las fuerzas de Van der Waals que enlazan débilmente a las células (9).

Las velocidades de agregación y sedimentación son manifestaciones de la inestabilidad de la suspensión sanguínea, lo cual está basado en un efecto recíproco entre la superficie de membrana del eritrocito y ciertas proteínas plasmáticas

denominadas aglomerinas, ellas tienen una alta afinidad por las glicoproteínas de la membrana eritrocitaria y tienen un tamaño molecular suficiente para formar puentes entre los eritrocitos individuales: el fibrinógeno, anticuerpos como la inmunoglobulina M, y la alfa-macroglobulina tienen propiedades de aglomerinas; los productos de la descomposición del fibrinógeno muestran una actividad sedimentaria que disminuye con la reducción del tamaño molecular, la actividad de sedimentación de la alfa-acidoglicoproteína, alfaantitripsina, ceruloplasmina y haptoglobina no está plenamente demostrada, aunque existe una correlación positiva entre la concentración de estos reactantes de fase aguda y la velocidad de sedimentación eritrocítica. Sus concentraciones se elevan y caen conjuntamente con el fibrinógeno (9).

La inmunoglobulina G incrementa la velocidad de sedimentación eritrocítica sólo en altas concentraciones. Algunas macromoléculas, que normalmente no se encuentran en la sangre, como la goma arábica, pectina, dextranos, gelatina y el ácido hialurónico pueden comportarse como aglomerinas (9).

3.5.1 Modelo matemático que describe la proporción de sedimentación de los eritrocitos.

Este método evalúa el comportamiento de sedimentación de partículas individuales y múltiples en medios homogéneo y heterogéneo (multifase) y cómo este comportamiento se relaciona a su estructura interior (la agregación de sólido o las partículas deformadas). El sistema de la ecuación se ha resuelto numéricamente (54-60).

El sistema toma en cuenta la influencia de la pared del vaso en la agregación de grupo de partículas en los tubos así como los efectos de rotación de partículas, el coeficiente de constreñimiento y viscosidad de una mezcla como una función del fragmento de volumen; este modelo puede describir la velocidad de sedimentación eritrocítica como una función de la velocidad de adherencia de eritrocitos; la determinación de la velocidad de sedimentación eritrocítica se dirige mejor en ciertos intervalos de tiempo, es decir, en una serie de períodos que no excedan los cinco minutos.

Stokes fue el primero quién derivó una ecuación para el flujo del estado no sostenido cuando él linearizó la ecuación de movimiento de un fluido viscoso. En ese trabajo, Stokes desarrolla una teoría de resistencia para un cuerpo esférico cayente. La relación que él derivó se llama la fórmula Stokes:

$$F = 6\pi\mu aV$$

Donde μ representa la viscosidad del fluido, a el radio de la esfera, V la velocidad de caída, y F la fuerza de resistencia.

Albert Einstein investigó los disturbios causados por una partícula suspendida en un flujo con un gradiente de velocidad constante (54,56).

Einstein desarrolló una teoría de resistencia para una suspensión de partículas pequeñas y esféricas en un medio de fluido continuo y estimó teóricamente que un incremento en la viscosidad de un fluido transportando partículas sólidas está relacionado con la fracción de volumen de las partículas a través de un coeficiente de proporcionalidad:

$$\mu = \mu_0 (1 + 2.5 f_2)$$

Donde, según Happel y Brenner, μ_0 representa la viscosidad del fluido, y f_2 la concentración de las partículas (57).

Más estudios se han realizado sobre la precipitación de una partícula sencilla o de múltiples partículas diluidas en un fluido viscoso newtoniano y han permitido corregir algunos parámetros de la fórmula propuesta por Stokes. Por ejemplo, Ozeen dedujo una solución aproximada a las ecuaciones para el flujo de esferas (54,56).

Subsecuentemente, algunos problemas relacionados con el comportamiento no newtoniano de los fluidos, también fue investigado. Casuell y Schwarz aplicaron el modelo de Ericson y Rivlin para el flujo lento de un fluido no newtoniano. Aplicando los términos de expansiones internas y externas a la fórmula de flujo esférico, ellos derivaron una fórmula dependiente de parámetros no newtonianos que se convierte en una constante para cualquier fluido dado bajo condiciones isotérmicas (54,56).

Lesli también investigó un flujo esférico lento usando el modelo Oldroide, él concluyó que el término no newtoniano es proporcional a la velocidad de caída al cubo $(V)^3$ (56).

Los estudios arriba mencionados se refieren a la precipitación o flujo de una partícula esférica individual. Sin embargo, mezclas concentradas con un gran número de partículas interactuando durante la precipitación o en un flujo son afectadas, no solo por las fuerzas de Stokes, sino también por otras fuerzas como la fuerza de flotación (56).

La fuerza friccional o fuerza de Stokes resultante de la fuerza viscosa durante la interacción de ambas fases, es determinada por la diferencia entre las velocidades, tamaño, cantidad y forma de las inclusiones y por las propiedades físicas de las fases. Así como también una fuerza relacionada al efecto de “masas adicionadas” y causada por el movimiento acelerado de inclusiones (partículas) relativas al medio de transporte (fluido viscoso) cuando los disturbios alcanzan una distancia en relación al tamaño de las partículas, la fuerza de efecto adicional en las partículas, debido a gradientes en el área de velocidades promedio en fase (la fuerza de Magnus o Zhukovski). Esta fuerza es el resultado de la diferencia entre las densidades de fases y la diferencia entre presiones en los lados opuestos de una partícula fluyendo (54-57).

En el orden de cuantificar el efecto Magnus es necesario tomar dentro de esta valoración la rotación de las partículas, y en todos los casos generales, también el parámetro cinético correspondiente a ω_2 , el cual representa la velocidad de rotación (56).

Debe observarse que en el caso de un volumen moderado de partículas en un fluido, la mezcla de dos fases incomprensibles no puede ser considerada en términos de la ecuación de Navier – Stokes, sin embargo, en ausencia de un movimiento relativo de rotación y radial si puede aplicarse la fórmula. Esto es porque la viscosidad de las suspensiones y emulsiones son determinadas usando un viscosímetro basado en la medida del consumo de masa de una Q a través de un tubo, con diámetro d y largo L , dependiente de una presión P (58- 60).

3.5.2 Fuerzas en medios de dos fases que afectan la precipitación de los eritrocitos en la sangre

De acuerdo a los principios físicos de la dinámica de los fluidos pueden existir cuatro fuerzas básicas interactuando cuando los eritrocitos precipitan en la sangre:

1. La fuerza de flotación, que ocurre debido a las diferencias entre las densidades de las fases;
2. La fuerza de fricción o fuerza Stokes; que resulta de la interacción entre las dos fases;
3. La fuerza de adición de masas, dependiente del movimiento comprimido o acelerado de las partículas.
4. La fuerza de efecto adicional de las partículas, la cual es causada por gradientes en el área de velocidades promedio en la fase (la fuerza Magnus o Zhukovski).

Estas fuerzas deberán ser tomadas en consideración cuando se cree un modelo matemático que involucre una precipitación grupal, particularmente los eritrocitos, en un medio multifase (58 -76).

4. Anticoagulantes

Para casi todo trabajo hematológico y para muchos análisis bioquímicos se requiere sangre sin coagular. Existen numerosos anticoagulantes, la mayor parte de ellos impiden que el calcio intervenga en la coagulación, bien sea precipitándolo como sal (oxalatos) o fijándolo en forma no ionizada (citrato y EDTA). La heparina actúa como agente antitrombínico (7).

4.1 Citratos

Se utiliza la sal disódica en una concentración recomendada de 129 mmol/L, pH= 7.20. Las concentraciones al 3.8 % o bien al 4 o 5% se emplean en los exámenes hematológicos en proporción de una parte de solución de citrato y cuatro partes de

sangre y cuando se requiere para realizar la velocidad de sedimentación globular, según el método de Westergren se usan 0.5 mililitros de una solución al 3.8 % del anticoagulante para 1.5 mililitros de sangre (7, 10, 41, 42,43).

4.1.1 Aplicaciones

Este anticoagulante se utiliza en estudios de coagulación tales como: Tiempo de protrombina, determinación de fibrinógeno, otros factores de coagulación, recuento de plaquetas, eritrosedimentación y otras determinaciones que requieran sangre citratada (41 - 43).

4.1.2 Muestra

Las muestras de sangre para determinación de tiempo de protrombina pueden conservarse hasta 8 horas después de la extracción. Sangres conservadas a 4 °C durante siete días, mantienen constante la actividad de los factores V y VII (41 - 43).

4.1.3 Modo de empleo

Para eritrosedimentación la relación sangre/anticoagulante adecuada es 4+1 (2 mL sangre + 0.5 mL anticoagulante).

Para estudios de coagulación la relación sangre/anticoagulante es 9+1 (2.7 mL de sangre+ 0.3 mL de anticoagulante) (41 - 43).

4.2 Sal dipotásica o disódica del ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) por quelación, impide que se ionice el calcio y ejerce una acción anticoagulante muy intensa cuando se utiliza en cantidades de 1 a 2 mg por mL de sangre. Es preferible la sal dipotásica, pues es más soluble. Es el mejor anticoagulante para la hematología habitual, las muestras recogidas sobre EDTA se pueden conservar toda la noche a 4° C sin inconvenientes, la concentración recomendada de EDTA es de 0.342 mol/L (15%) y pH=7.20, en una proporción de 50 μ L del anticoagulante para 5 mL sangre (6,10, 41, 41,43).

4.2.1 Aplicaciones:

Este anticoagulante sirve para la obtención de muestras sanguíneas para hematología, siendo las determinaciones que pueden efectuarse las siguientes: recuento globular, hematocrito, hemoglobina, recuento de plaquetas, reticulocitos, eritrosedimentación. También es útil en la clasificación y tipificación de la sangre.

Puede utilizarse en todas las determinaciones en Química Clínica en las que sea conveniente utilizar plasma, excepto para sodio, potasio y calcio (5 - 8).

4.2.2 Muestra:

Las muestras de sangre para eritrosedimentación y extendidos para exámenes morfológicos pueden conservarse de 3 a 6 horas a temperatura ambiente o 24 horas en refrigerador. Las muestras para otras determinaciones hematológicas pueden conservarse 24 horas a temperatura ambiente o 48 horas en refrigerador (5, 8, 41, 42,43).

4.2.3 Modo de empleo:

Puede utilizarse en dos formas diferentes:

* Directamente en forma líquida (se comete en este caso un error despreciable en la práctica).

* Desecado: En este caso luego de colocar los 50 μ L de anticoagulante a los frascos de recolección, llevarlos a la estufa a 37-50 °C durante 4 a 6 horas (en este caso el error es nulo).

Para recoger cantidades menores de sangre, pueden usarse cantidades menores de anticoagulante. Se recomienda usar 20 μ L para volúmenes de hasta 2 mL de sangre (5, 10, 41,42, 43).

5. Métodos para la determinación de la velocidad eritrocítica

La velocidad de la sedimentación eritrocítica (VSE) es una medida de la tasa en la cual los eritrocitos se depositan y forman acúmulos (pilas de monedas). Para determinar la velocidad de la sedimentación eritrocítica, la sangre que se analiza se trata primero con un anticoagulante y entonces se procede a realizar la medición. Los dos métodos empleados más comúnmente para la determinación de la velocidad de la sedimentación eritrocítica son Westergren y Wintrobe. En cualquiera de estos métodos, la sangre se coloca por una hora en un tubo correctamente calibrado y se mide el volumen de plasma sobre la columna de las células sanguíneas (1).

5.1 Método de Westergren

El Comité Internacional para la Estandarización en Hematología (National Committee for Clinical Laboratory Standards por sus siglas en inglés (NCLLS)) propone que un examen de velocidad de sedimentación eritrocítica realizado en una muestra sanguínea sin diluir, con un hematocrito de 35% o menos, debiera ser procesada bajo condiciones estandarizadas en una pipeta de Westergren con sus dos extremos abiertos y que responda a las especificaciones de dicho comité. Estas muestras no diluidas llevan como anticoagulante EDTA (9,21).

Las especificaciones de la pipeta de sedimentación según el NCLLS son:

1. Las pipetas deben ser transparentes y sin color
2. Deben ser circulares
3. Lo suficientemente largas para dar 200 mm de escala de sedimentación.
4. La escala debe estar marcada en la pipeta con líneas claramente visibles a intervalos de 1 mm y numeradas hasta 200 en la base con demarcación a intervalos de 10 mm.
5. El ancho de las pipetas ha sido tradicionalmente de 2.50 mm +/- 0.15 mm, pero el NCLLS recomienda que el diámetro de la pipeta no debe ser menor de 2.50 mm. Esta medida debe ser constante a lo largo de toda la pipeta.

6. Pueden utilizarse pipetas de vidrio o plásticas, de preferencia polipropileno, pero éstas últimas no deberán mostrar ninguna propiedad adhesiva hacia los eritrocitos para no alterar la sedimentación.
7. La pipeta debe ser llenada hasta una altura de 200 mm, asegurando una lectura inicial en 0 (9,13, 20).

Durante el período de sedimentación y durante el subsecuente descarte el sistema debe prevenir el derramamiento de la sangre o la generación de aerosoles, por lo que la sangre debe ser drenada de la pipeta muy lentamente. Es vital que la sangre esté bien mezclada antes de realizar la prueba de velocidad de sedimentación eritrocítica. Durante el período de sedimentación la pipeta debe mantenerse en una posición estrictamente vertical, protegida de la luz solar directa, protegida de movimientos, vibraciones y mantenida en un rango de temperatura ambiente (18-25°C) durante una hora, al finalizar dicho período se procede a la lectura de la columna asegurando una lectura inicial en 0 hasta la altura en milímetros donde se separan las fases plasmática y eritrocitaria. El resultado se expresa como: VSE (Westergren 1 hr)= x mm/hr (ver tabla 11 para rangos de referencia) (9, 13, 21, 25).

5.2 Sistema TAKIVES®

El sistema TAKIVES®, es una marca patentada que permite una rápida, simple y segura ejecución del examen. La pipeta es de poliestireno estéril, recubiertas por dentro con sodiocitrato polipropileno.

El sistema de aspiración permite al operador, a través de la tracción arriba del pistón interior, succionar la sangre para hacer subir la columna de sangre hasta el nivel “0”. La pipeta se introduce con una escala graduada de “0” a “160” y por consiguiente permite una lectura transparente. El soporte de pipetas tiene 10 posiciones numeradas y le asegura perfectamente una posición vertical a la pipeta. La pipeta puede ser implantada en cualquier tipo de tubo, permitiendo así un sistema abierto de lectura. Un sistema automático de aspiración directo le permite al operador no entrar en contacto con la sangre. Se recomienda utilizar muestras de sangre diluidas con citrato disódico como anticoagulante. Los rangos de referencia son los mismos que para el método tradicional de Westergren (8,13, 25, 76)

5.2.1 Aspectos técnicos

El sistema TAKIVES® utiliza una pipeta graduada serigrafiada de 0 a 160 mm con una longitud de 200 mm y un agujero interno de 2,5 mm de acuerdo al sistema Westergren. El sistema Micro admite un volumen total de 1 mL. El pistón incorporado asciende estirándolo con la mano hasta un tope que existe en la pipeta. De este modo se ha aspirado el volumen correspondiente de la mezcla sangre-citrato. Existen dos modelos de tubos con citrato disponibles, ambos para 2 mL de volumen total (sangre 1.6 mL). Los tubos están fabricados en polipropileno de alta transparencia. El modelo marca Deltalab® No 1164 de la casa Vidrolab® posee tapón perforable, el No 601006 de la misma casa y marca posee un tapón de polietileno que hay que destapar para poder ser utilizado (76).

Es de vital importancia que al emplear un método diseñado para evaluar la velocidad de sedimentación eritrocítica, se consideren muchos factores externos que pueden alterar el resultado. La correcta homogenización de la muestra después de la venipunción y el inicio, lo más pronto posible, de la prueba, son de los factores más importantes que pueden influir sobre el resultado de ésta (13, 25).

Otros factores igual de importantes son mantener la verticalidad de la pipeta, la temperatura ambiental a la cual se realizará la prueba, el control de la vibración de la superficie donde reposará la pipeta y utilizar las pipetas graduadas que tengan las dimensiones apropiadas para la realización de la prueba. Al utilizar pruebas comerciales, como el sistema TAKIVES®, la mayoría de estos factores pueden controlarse siguiendo las especificaciones del fabricante. La fabricación de la pipeta se enmarca dentro de los estándares establecidos para el método de Westergren y las recomendaciones del Comité Internacional para la Estandarización en Hematología (76).

5.2.2 Ventajas del Sistema TAKIVES®

Las ventajas que presenta el método son:

- i. Es un método sencillo en su realización y al igual que los otros métodos no automáticos, emplea pipetas y gradillas de sedimentación.
- ii. Al igual que el método de referencia, es manual.
- iii. Por su sistema de succión, a través de un pistón plástico, el operador no entra en contacto directo con el espécimen sanguíneo (76).
- iv. Las pipetas son desechables lo que disminuye el riesgo de contaminación con material potencialmente infeccioso y permite un mejor manejo del producto de descarte. Durante los últimos años, y debido a que es imposible conocer si se trabaja con material infeccioso o no, todos los especímenes de sangre humana deben ser considerados como si lo fueran y manejarlos de acuerdo a las precauciones estándar; si a esa circunstancia se une la dificultad en obtener equipamiento para realizar la velocidad de sedimentación eritrocítica según el método de referencia, el gran número de muestras a realizar diariamente y el disponer de métodos más seguros para la extracción, como el uso de tubos de vacío, permite entender la proliferación de nuevos instrumentos para realizar la medida de la velocidad de sedimentación eritrocítica. Debido a la movilidad de los pacientes y a los beneficios que reporta la comparación entre métodos y laboratorios, el Consejo Internacional para la Estandarización en Hematología ha introducido un método estandarizado como alternativa y potencial sustitución al método de referencia, adoptado también por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorio Clínico de los Estados Unidos (25).
- v. Su costo, aunque es un poco mayor que el del método de Westergren clásico, sigue siendo accesible para el laboratorio clínico (14, 25, 76).

5.2.3 Desventajas del Sistema TAKIVES®

La única desventaja que se reporta del método es referente al tiempo de ejecución de la prueba que es igual al del método de Westergren clásico (76).

5.2.4 Actualización metodológica

Los comités internacionales de Hematología: el Consejo Internacional para la Estandarización en Hematología (Council for Standardization in Haematology por sus siglas en inglés (ICSH)) y el NCLLS de EEUU reconocen la técnica de Westergren como método de referencia y al respecto han publicado las siguientes recomendaciones:

- Establecer una jerarquía de métodos frente a los cuales deben compararse los nuevos métodos y analizadores que salgan al mercado. Así se establece la siguiente clasificación:
 - Método de referencia.
 - Método estándar.
 - Método seleccionado (13, 25).

Para realizar el método de referencia debe hacerse con pipetas de Westergren de vidrio de 200 mm como lo especifica el ICSH; debe usarse el EDTA como anticoagulante y las muestras han de tener un hematocrito de 35% o inferior. Para el método estándar pueden usarse pipetas de vidrio o plástico del tipo Westergren y debe hacerse con EDTA como anticoagulante. El método seleccionado, que es el que se va a evaluar o probar para su utilización en rutina, debe proporcionar unos resultados equivalentes al método estándar (13, 25).

Para lo cual se debe:

- Establecer un protocolo para la evaluación de los métodos a estudiar y definir los límites para que dicho método, tecnología o analizador sea aceptable.
- Realizar un control de calidad tanto interno como externo mediante la participación en los programas pertinentes (13, 25,78).

El documento del NCLLS de los Estados Unidos incluye una lista de las novedades técnicas de la prueba. Las técnicas nuevas deben innovar y permitir:

- Garantizar la seguridad de los técnicos mediante el uso de analizadores automáticos y tubos cerrados;
- optimizar los recursos humanos y la rapidez del proceso;
- que los resultados puedan llegar al médico con la mayor celeridad posible y sean útiles para tomar decisiones clínicas (15, 27).

En la actualidad ya han aparecido sistemas de análisis que realizan la prueba a partir de 150 mL de sangre anticoagulada con EDTA y que son capaces de procesar 60 muestras en 20 minutos mediante la lectura por microfotómetros de rayos infrarrojos. Es fácil predecir que esta nueva tecnología en un futuro no muy lejano podrá incorporarse a los analizadores de hematología y será una magnitud más del hemograma (77-79).

Se realizó una amplia investigación sobre el método TAKIVES®, sin embargo no se encontraron referencias respecto del método y de su evaluación.

5.3 Método de Wintrobe

Este método usa un tubo de vidrio de 110 mm de largo cerrado en uno de sus extremos, el cual tiene un diámetro de 2.5 mm y una escala graduada de 100 mm de la base hasta el 0 del tope. La sangre usada en este método no está diluida y utiliza un anticoagulante seco: EDTA dipotásico. El tubo es llenado usando una pipeta capilar y colocada en posición vertical, la sedimentación se lee después de una hora. Se dice que el método de Wintrobe es más sensible cuando la velocidad de sedimentación eritrocítica es baja, pero el Westergren refleja de mejor manera los estados clínicos. Los valores normales son de 0-10mm/hora para hombres y de 0-20mm/hora para mujeres (1, 3,9).

5.4 La Seidometría rápida de Fuente-Hita

La determinación de la velocidad de sedimentación eritrocitaria por el método de la Seidometría rápida de Fuentes-Hita emplea la centrifugación como procedimiento acelerador mediante la inclinación del tubo seidométrico a 45 grados.

El procedimiento consiste en un método de bolsillo, con material de dimensiones muy reducidas y tiempo de observación muy breve. Como material se necesitan un tubo de 11 cm. de largo por 5 mm de luz interior, cerrado por la extremidad inferior y graduado en 100 mm lineales, estando el 100 en el fondo mismo; así como una solución de citrato y jeringuilla. En este método el tubo se enjuaga previamente con la solución de citrato. La mezcla de sangre y citrato puede hacerse en la jeringa, según la técnica habitual, o en el mismo tubo; se vierte en ésta la solución del citrato hasta la división 80, se hace la punción venosa y se añade en el tubo la sangre necesaria para llenarlo hasta el cero, mezclándolo delicadamente, sin sacudir. Se coloca el tubo en posición inclinada, a 45 grados en el soporte y se anota la hora. En este método de tubo inclinado, cada cuarto de hora corresponde a 1 hora en posición vertical; así la velocidad de sedimentación de la primera hora es leída a los 15 minutos, la de la segunda hora a los 30, y la total puede leerse al cabo de 1, 2 ó 3 horas, según los casos, en lugar de las 24 horas como en el método vertical. La lectura se verifica enderezando el tubo unos segundos para efectuar la lectura exacta en posición vertical (78, 79).

5.5 Determinación ultrasónica de Agregación Eritrocitaria

Existen muchos factores que por su relevancia orientan al estudio de ciertas características del fluido sanguíneo por el hematólogo. Entre ellas se pueden mencionar cantidad de glóbulos rojos, viscosidad, hematocrito, eritrosedimentación y agregación eritrocitaria. Para cada una de las determinaciones arriba citadas, existen en la actualidad métodos de probada eficacia que permiten obtener en forma manual o automática el parámetro deseado. En general, se trata de técnicas o instrumentos que permiten la determinación de un sólo parámetro por muestra de sangre. Sin embargo, con el uso de ultrasonidos de alta frecuencia es posible, con una muestra de sangre, la obtención de varios parámetros en forma simultánea, en especial, el grado de agregación eritrocitaria a partir de la eritrosedimentación (79).

La determinación de agregación de glóbulos rojos mediante Interferometría Ultrasónica es una alternativa real ante los métodos convencionales empleados en la actualidad. Entre otras presenta la gran ventaja de realizar la determinación en condiciones muy similares a la del organismo. En efecto, por un lado permite someter a la muestra de sangre bajo estudio a gradientes de velocidad similares al del lecho arterial, venoso o capilar. Por el otro, las variaciones de temperatura de la muestra pueden ser determinadas directamente a partir de la señal de ultrasonido recibida, logrando realizar compensaciones automáticas de los parámetros medidos, tarea muy complicada de realizar por otras metodologías (77,83).

La técnica a discutir se basa en las propiedades físicas de la figura de interferencia formada por los ecos devueltos por la interfaz situada entre el sedimento y la suspensión de la muestra de sangre, depositada en una celda de medición especialmente diseñada para la técnica propuesta (39).

5.6 Determinación de VSE por el Analizador de prueba-1 (Alifax S.p.A®)

Este método diseñado para la determinación de la VSE utiliza un analizador, el cual aspira 150 μ L de muestra, se mezclan cuidadosamente por dos minutos. El método utiliza un sistema hidrodinámico, probablemente los eritrocitos estabilizados ofrecen una alta resistencia al movimiento intracapilar lo que provoca distorsiones en la curva de sedimentación, por lo cual la prueba no es recomendable para el control de calidad (40,41).

Luego se coloca en el sistema, el cual mide la concentración eritrocítica capilarmente en un fotómetro a 950 nm de longitud de onda. Para cada muestra, se obtiene una curva de sedimentación, cuyos valores se trasladan a los del método de comparación de Westergren, el primer resultado es obtenido en menos de tres minutos y los subsiguientes resultados se obtienen cada treinta segundos (78).

Tiene la ventaja de utilizar EDTA como anticoagulante en lugar del citrato de sodio, lo que evita el paso de dilución con sus consecuentes errores analíticos, y usa una sola muestra para múltiples análisis hematológicos (78 - 82).

El analizador estudia la sedimentación y la capacidad de agregación de los eritrocitos por medio de la densidad óptica. Cada muestra es leída 1000 veces en 20 segundos. Las señales electrónicas medidas durante la rotación centrífuga están relacionadas con el número de eritrocitos (78 - 83).

El impulso medido por unidad de tiempo define una curva de sedimentación. La media decrece en la señal por unidad de tiempo (señal media) y el valor de la señal integral es transformada a los valores de comparación de Westergren (78 - 83).

6. Estudios realizados en Guatemala

Hasta el momento, se han realizado en Guatemala estudios comparativos de métodos tanto manuales como automatizados de la velocidad de sedimentación.

López en 1993, en estudio realizado en el Hospital General San Juan de Dios, buscó establecer y estandarizar un micrométodo para medir la velocidad de sedimentación eritrocítica en neonatos. Para tales efectos utilizó un método de Westergren modificado que utilizaba heparina o EDTA como anticoagulante y utilizó tubos capilares de distintos tamaños. Las lecturas se realizaron a la hora de reposo, López concluyó que una velocidad de sedimentación eritrocítica llevada a cabo con muestras de sangre capilar puede ser de mucho valor diagnóstico en el período neonatal, sin embargo, ya que una infección sistémica en esta edad es difícil de detectarse, es preferible realizar determinaciones en serie, principalmente si los resultados de los cultivos bacteriológicos son enmascarados por la terapia antibiótica. Por otra parte, el micrométodo de velocidad de sedimentación eritrocítica se hace funcional cuando la venipunción se dificulta (84).

Sierra, en 1997, investigó un método que permitiera reducir el tiempo de lectura de la velocidad de sedimentación eritrocítica. Comparó el método de Westergren clásico con métodos modificados de Westergren que utilizan inclinación para su lectura (45 y 60 grados). La evaluación utilizó intervalos de tiempo distintos para la lectura y concluyó que los resultados de los métodos inclinados no presentan una diferencia estadísticamente significativa respecto del método de referencia de Westergren clásico, presentando la ventaja de que permite un ahorro en tiempo y recursos humanos para el laboratorio clínico que los emplee (85).

Meneses, en 1998, realizó un estudio donde comparó el método modificado de Westergren, que utiliza EDTA como anticoagulante, con un micrométodo que utiliza capilares sin heparina de 65 milímetros de longitud con lecturas a los 60 minutos, encontrando que si la velocidad de sedimentación eritrocítica se perfila con una cinética baja, los resultados por micrométodo correlacionan con los datos obtenidos por el método de Westergren modificado, no así cuando la cinética aumenta considerablemente (86).

En el 2003, Arreola, en su estudio de tesis comparó el método automatizado Test - 1- Analyzer® con el método tradicional de Westergren, así como la sensibilidad y especificidad relativa del método automatizado encontrando que el método automatizado presenta una diferencia con el método de referencia de Westergren en cuanto presenta una baja precisión, baja sensibilidad y una inadecuada concordancia, aunque sí una buena especificidad en relación con el método de Westergren clásico (87).

IV. JUSTIFICACION

La velocidad de sedimentación eritrocítica es uno de los parámetros hematológicos más difundidos y utilizados en el ámbito del laboratorio clínico y que permite monitorear el curso de cualquier enfermedad reumática o colágeno-vascular y su respuesta a la terapia; puede usarse también para monitorear la progresión de estas enfermedades y para establecer la remisión de ésta en algunos pacientes. Aunque en la mayoría de laboratorios clínicos de Guatemala se sigue utilizando la versión clásica del método de Westergren, algunas innovaciones metodológicas están tomando auge. Tal es el caso del sistema TAKIVES®, que utiliza una pipeta de poliestireno estéril.

El método TAKIVES® utiliza habitualmente al citrato sódico como anticoagulante, sin embargo, debido al factor económico y la escasa influencia que tiene sobre los componentes sanguíneos, el EDTA es el anticoagulante más utilizado en la mayoría de laboratorios clínicos públicos y privados del país, quienes, ante la practicidad y mayor seguridad que provee el sistema TAKIVES® lo utilizan con este último anticoagulante sin haber establecido previamente que efectos puede tener sobre los factores precipitantes en la sedimentación eritrocítica. Además, la pipeta no es del mismo material que la pipeta utilizada en el método clásico de Westergren. Por lo tanto, es conveniente determinar la correlación que existe entre ambos anticoagulantes para un mismo sistema de determinación de la velocidad eritrocítica.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

1. Comparar los resultados de la velocidad de sedimentación eritrocítica con el sistema TAKIVES®, utilizando como anticoagulantes EDTA y citrato disódico al 3.8 % contra Westergren como método de referencia.

B. ESPECÍFICOS

1. Establecer el grado de concordancia en el sistema TAKIVES® del uso del anticoagulante EDTA con relación al anticoagulante de citrato disódico al 3.8 %.
2. Establecer la sensibilidad y especificidad del uso del anticoagulante EDTA con respecto al citrato disódico al 3.8 % en el sistema TAKIVES®.
3. Establecer la factibilidad de implementar el uso del sistema TAKIVES® para su uso en laboratorios clínicos públicos y privados.

VI. HIPÓTESIS

La utilización del anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) en el sistema TAKIVES® presenta concordancia con el uso del anticoagulante de citrato sódico en la determinación de la velocidad de sedimentación eritrocítica con sensibilidad y especificidad aceptables.

VII. MATERIALES Y METODOS

1.1 Universo de Trabajo

Pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico San Francisco de la Iglesia de la Recolectión por diversas causas a realizarse el examen de Hematología.

1.1.1 Criterios de inclusión:

Todo paciente, sin importar edad, sexo, condición social o religiosa, salud o enfermedad, que asistió al laboratorio clínico San Francisco en su horario de atención al público, durante el período comprendido del 03 de noviembre del año 2008 al 25 de enero del año 2009,

1.1.2 Criterios de exclusión:

No hay.

1.2 Muestra a Analizar

Se tomaron 200 muestras de sangre total de pacientes que llenaban los criterios de inclusión, las muestras se dividieron en volúmenes iguales utilizando EDTA y citrato sódico como anticoagulantes. Para cada anticoagulante se midió la Velocidad de Sedimentación Eritrocítica por medio del sistema TAKIVES® y el método clásico de Westergren, el cual se usó como método de referencia.

2. Recursos

2.1 Recursos Humanos

Investigador: Juan Manuel Solís Zavala

Asesor: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

2.2 Recursos Institucionales

Laboratorio Clínico San Francisco de la Iglesia de la Recolectión

2.3 Recursos Físicos

2.3.1 Materiales

- Jeringas de 10 mL
- Agujas de 21 x 1 ½
- Algodón
- Recipientes para hematología de 7 ml de capacidad
- Tapones blancos de baquelita para los recipientes
- Marcador para rotulación
- Pipetas del sistema TAKIVES®
- Soporte para pipetas del sistema TAKIVES®
- Pipetas de Westergren clásico
- Soporte para pipetas de Westergren clásico
- Papel mayordomo
- Descartador de jeringas
- Descartador de punzocortantes
- Descartador de materiales biológicos

2.3.2 Reactivos

- Solución al 15% de anticoagulante Etilendiaminotetraacético (EDTA)
- Solución de citrato disódico 0.106 M
- Alcohol Isopropílico

2.3.3 Cristalería

- Homogenizador para hematología
- Cronómetro

3. Procedimiento

3.1 Toma de la muestra:

Se incluyeron en esta investigación las muestras destinadas al examen de Hematología completa que ingresaron al área de recepción del Laboratorio Clínico San Francisco, en el horario de las 6:30 a 14:00 hrs.

La muestra se extrajo con las técnicas adecuadas para realizar el examen de hematología. Se extrajeron 10 mililitros de sangre por punción venosa, repartiéndose en dos recipientes de la siguiente manera:

- ☐ 5 mililitros de sangre venosa mezclados con 50 μ L del anticoagulante EDTA.
- ☐ 5 mililitros de sangre venosa mezclada en una proporción de 1:4 con citrato disódico al 3.8 %.

3.2 Manejo de la muestra:

Luego de obtenidas las dos muestras se trasladaron al lugar de procesamiento, el cual se realizó de la siguiente manera:

- ☐ Homogenización de las muestras por cinco minutos.
- ☐ Llenado de las pipetas TAKIVES®, graduadas en milímetros de 160 a 0, las cuales se llenaron hasta la marca Cero. El llenado se hizo a través del dispositivo de succión que dichas pipetas traen. Se utilizó una pipeta para la muestra con EDTA y una para la muestra citratada.
- ☐ Se realizó, además, la prueba de Westergren clásica para ambos anticoagulantes.
- ☐ Ambas pipetas se colocaron en posición vertical en un soporte o gradilla para pipetas TAKIVES® y para Westergren clásica.
- ☐ Se leyó la velocidad de sedimentación eritrocítica en un período de 60 minutos.

- Se observaron los requerimientos de condiciones estándar ambientales, es decir, protegido de la luz solar directa, se colocó el soporte en una superficie libre de vibraciones y a una temperatura constante (18-25 °C)

4. Diseño en la Investigación

4.1 Muestra y Diseño de muestreo

4.1.1 Muestra (n)

No probabilística, por conveniencia, se tomaron doscientos pacientes.

4.1.2 Diseño de muestreo

Por cuota. Se ingresaron conforme llegaron al laboratorio clínico, hasta completar la cantidad fijada.

5. Análisis de Resultados

5.1. Comparación de los resultados de la velocidad de sedimentación eritrocítica por los métodos Westergren clásico y los dos anticoagulantes para pipetas TAKIVES®, por medio de la prueba de Análisis de Varianza de dos vías a un nivel de significancia $\alpha=0.05$, tomando los métodos como tratamientos y los pacientes como bloques (88,89).

5.2. Análisis de regresión para evaluar la sensibilidad y especificidad de los dos anticoagulantes con pipetas TAKIVES® frente al método de Westergren, realizando pruebas de hipótesis sobre la pendiente ($H_0: b=1.00$) y sobre el intercepto ($H_0: a=0.00$), por medio de la prueba de t de Student.

5.3. Coeficiente de correlación de concordancia entre los dos métodos contra Westergren y entre sí (88).

5.4. Pruebas de *Kappa* de concordancia entre los métodos contra Westergren y entre sí, al clasificar las respuestas en normales o alteradas de acuerdo a los valores de referencia para cada método (88,89).

5.5. Sensibilidad y especificidad de las dos variantes de anticoagulante con el sistema TAKIVES® contra el método de Westergren como referencia, presentando los resultados en tablas de contingencia de 2x2 al clasificar las respuestas en normales o alteradas de acuerdo a los valores de referencia para cada método (88-91).

VIII. RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron las muestras de 200 pacientes, recolectadas en el Laboratorio Clínico de las Clínicas Médicas San Francisco, durante el período correspondiente del 03 de noviembre del año 2008 al 25 de enero del año 2009, provenientes del servicio de consulta externa de las clínicas. En cada una de las muestras se les determinó la velocidad de sedimentación eritrocítica, tanto por el método de referencia de Westergren, que empleó como anticoagulante el EDTA, como por el método modificado del Sistema TAKIVES®, utilizando ambos anticoagulantes, EDTA y citrato disódico. Para cada paciente se registró la edad, sexo, así como de los resultados de la VSE por las tres técnicas y se llenó un consentimiento para su participación en la investigación.

Con relación a la edad de los pacientes estudiados se tuvo un promedio de 32.99 años con una desviación estándar de 13.67 años. En la distribución por género, se obtuvo un promedio de edades en mujeres de 33.94 años con una desviación estándar de 14.4 años; en hombres se obtuvo un promedio de edades de 30.74 años con una desviación estándar de 12.41 años (tabla 1).

Se analizaron a 62 pacientes hombres, que corresponden al 31.0 % y 138 mujeres que proporcionaron el 69.0 % del total de casos estudiados (tabla 1).

TABLA 1**Promedio de edades y distribución de los pacientes clasificados por género**

| GÉNERO | EDAD(MEDIA) | DESVIACIÓN ESTANDARD | FRECUENCIA | % |
|---------------|--------------------|-----------------------------|-------------------|----------|
| Masculino | 30.74 | 12.41 | 62 | 31 |
| Femenino | 33.94 | 14.4 | 138 | 69 |
| TOTAL | | | 200 | 100 |

Fuente: Datos experimentales

El análisis de varianza no mostró diferencia significativa entre los tres métodos ($p=0.2561$) y presentó una distribución asimétrica hacia la derecha donde los valores se ubicaron en el área de menor dispersión de datos, los cuales tienden a concentrarse más hacia un punto de la escala, lo que indica que los datos son homogéneos y presentan poca variación (tabla 2, gráfica 1) (90-91)

TABLA 2**Análisis de Varianza**

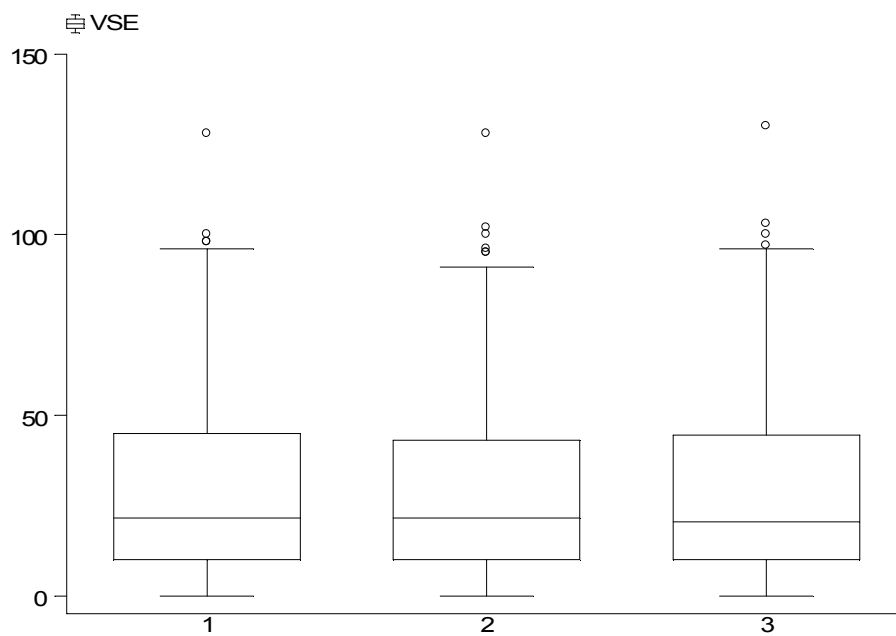
| Fuente | SS Parcial | df | MS | F | Prob > F |
|---------------|-------------------|-----------|-----------|----------|--------------------|
| Modelo | 388429.797 | 201 | 1932.4866 | 242.31 | 0 |
| Paciente | 388407.993 | 199 | 1951.799 | 244.73 | 0 |
| Método | 21.8033333 | 2 | 10.901667 | 1.37 | 0.2561 |
| Residual | 3174.19667 | 398 | 7.9753685 | | |

| | | | | | |
|-------|------------|-----|-----------|--|--|
| Total | 391603.993 | 599 | 653.76293 | | |
|-------|------------|-----|-----------|--|--|

Fuente: Datos experimentales

GRÁFICA 1

Gráfica de Cajas de Tukey para la determinación de la VSE por los métodos Westergren, TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/ Citrato



Fuente: Datos experimentales

Caja 1: Westergren

Caja 2: TAKIVES®/EDTA

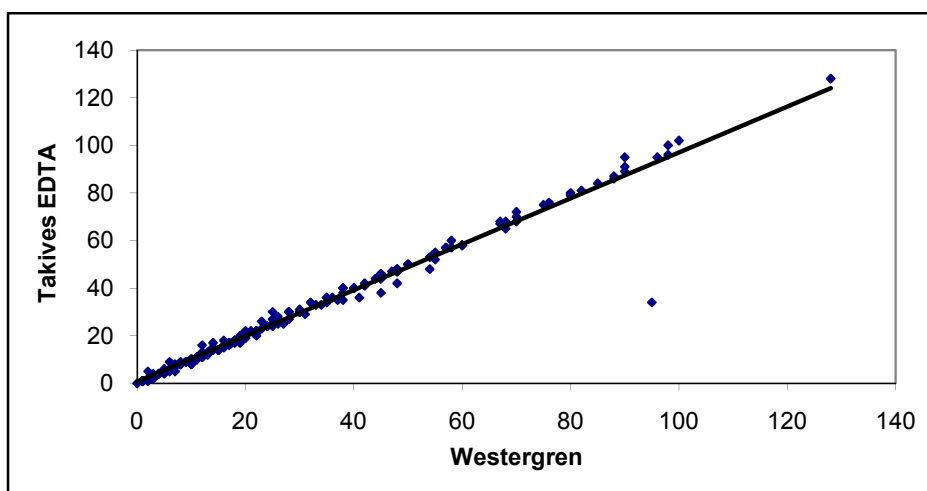
Caja 3: TAKIVES®/ Citrato

Se compararon los tratamientos entre sí y se elaboraron las gráficas de análisis de regresión (gráficas 2-4). Cada una se presenta con su respectiva ecuación de regresión:

GRÁFICA 2

Evaluación de la sensibilidad y especificidad del Sistema TAKIVES®/EDTA Y Westergren

Ecuación: $y = 0.9639x + 0.6412$ ($r^2 = 0.9692$, $p < 0.00001$).

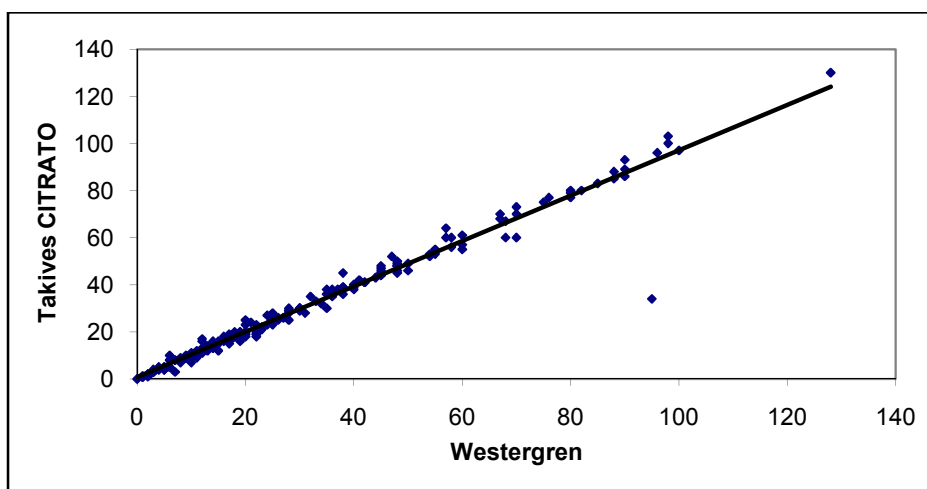


Fuente: Datos experimentales

GRÁFICA 3

Evaluación de la sensibilidad y especificidad del Sistema TAKIVES®/Citrato y Westergren

Ecuación: $y = 0.9637x + 0.7484$ ($r^2 = 0.9659$, $p < 0.00001$).

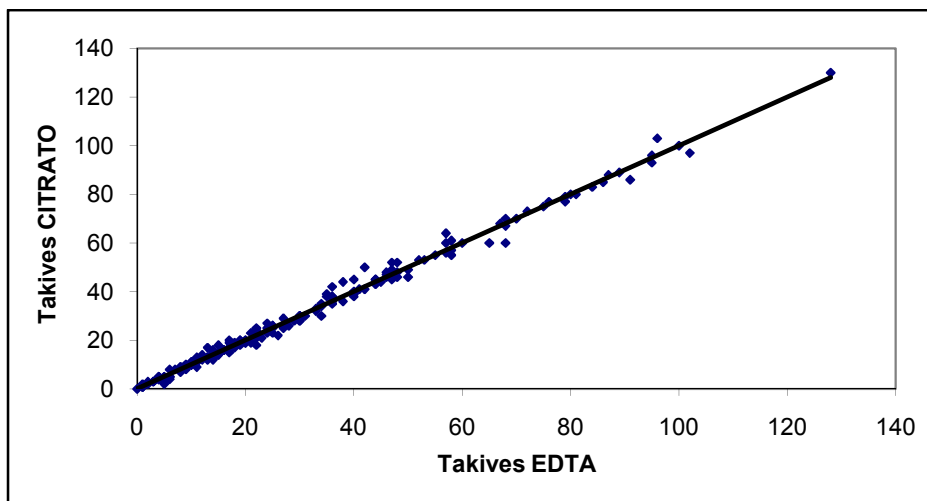


Fuente: Datos experimentales

GRÁFICA 4

Evaluación de la sensibilidad y especificidad del Sistema TAKIVES®/Citrato y TAKIVES®/EDTA

Ecuación: $y = 0.9983x + 0.1499$ ($r^2 = 0.9937$, $p < 0.00001$).



Fuente: Datos experimentales

La prueba de hipótesis sobre la pendiente (sensibilidad), indicó que no hubo diferencia significativa a 1.00 ($p > 0.05$) así como la del intercepto (especificidad) a 0.00 ($p > 0.05$).

Estos resultados confirman que cuantitativamente, ambos métodos presentan igual sensibilidad y especificidad al compararlos con Westergren y entre sí.

Para determinar la sensibilidad y especificidad de los métodos de las respuestas cualitativas (VSE alterada o normal) se clasificaron los casos de VSE según los valores de referencia correspondientes, en normal o alterada (6).

Se elaboró una tabla de contingencia calculándose la sensibilidad y la especificidad de los métodos (tablas 3-8)

TABLA 3

Tabla de contingencia 2x2 de resultados de la VSE para el sistema TAKIVES®/EDTA

| TAKIVES®/EDTA | Westergren | | |
|----------------------|-------------------|-----------|----------------------|
| TAKIVES®/EDTA | A | N | Total general |
| A | 109 | 2 | 111 |
| N | 0 | 89 | 89 |
| Total general | 109 | 91 | 200 |

Fuente: Datos experimentales

A: alterada

N: normal

TABLA 4

Determinación de la sensibilidad y especificidad para el Sistema TAKIVES®/EDTA en relación al método Westergren de referencia

| | Valor | IC (95%) |
|--------------------------|--------------|---------------------|
| Sensibilidad (%) | 100 | 99.54-100.00 |
| Especificidad (%) | 97.8 | 97.23-98.37 |

Fuente: Datos experimentales

TABLA 5

Tabla de contingencia 2x2 de resultados de la VSE para el sistema TAKIVES®/Citrato

| TAKIVES®/Citrato | Westergren | | |
|-------------------------|-------------------|-----------|----------------------|
| TAKIVES®/Citrato | A | N | Total general |
| A | 107 | 3 | 110 |
| N | 2 | 88 | 90 |
| Total general | 109 | 91 | 200 |

Fuente: Datos experimentales

A: alterada

N: normal

TABLA 6

Determinación de la sensibilidad y especificidad para el Sistema TAKIVES®/Citrato en relación al método Westergren de referencia

| | Valor | IC (95%) |
|--------------------------|--------------|--------------------|
| Sensibilidad (%) | 98.17 | 97.69-98.64 |
| Especificidad (%) | 96.7 | 96.13-97.28 |

Fuente: Datos experimentales

TABLA 7

Tabla de contingencia 2x2 de resultados de la VSE para los sistemas TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/Citrato

| TAKIVES®/Citrato | TAKIVES®/EDTA | | |
|-------------------------|----------------------|-----------|----------------------|
| TAKIVES®/Citrato | A | N | Total general |
| A | 108 | 2 | 110 |
| N | 3 | 87 | 90 |
| Total general | 111 | 89 | 200 |

Fuente: Datos experimentales

A: alterada

N: normal

TABLA 8

Determinación de la sensibilidad y especificidad para los sistemas TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/Citrato en relación al método Westergren de referencia

| | Valor | IC (95%) |
|--------------------------|--------------|--------------------|
| Sensibilidad (%) | 97.3 | 96.83-97.77 |
| Especificidad (%) | 97.75 | 97.17-98.33 |

Fuente: Datos experimentales

Los resultados indican que el método TAKIVES® es altamente reproducible, sensible y específico y no presenta diferencia con el método de referencia (Westergren). Los anticoagulantes no alteran significativamente los resultados del método TAKIVES®, obteniéndose también excelente reproducibilidad, sensibilidad, especificidad y concordancia, ya sea con EDTA o citrato disódico.

El análisis de correlación de concordancia entre todos los métodos indica que tanto TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/Citrato, presentan una buena concordancia con Westergren, así como entre ellos (tabla 9).

TABLA 9

Análisis de correlación de concordancia entre todos los métodos

| | |
|---------------------------------|----------------------------|
| Westergren-TAKIVES®/EDTA | r_c: 0.98 |
|---------------------------------|----------------------------|

| | |
|--|----------------------------|
| TAKIVES®/EDTA- TAKIVES®/CITRATO | r_c: 0.98 |
| Westergren- TAKIVES®/CITRATO | r_c: 0.99 |

Fuente: Datos experimentales

Respecto de los valores de concordancia para los métodos, se encontró que existe una excelente concordancia entre métodos (tabla 10).

TABLA 10

Concordancia entre métodos

| METODO | Kappa | IC (95.0%) |
|---|--------------|-------------------|
| TAKIVES®/EDTA con Westergren | 0.9798 | 0.9520-1.0000 |
| TAKIVES®/Citrato con Westergren | 0.9495 | 0.9059-0.9932 |
| TAKIVES®/EDTA con TAKIVES®/Citrato | 0.9494 | 0.9057-0.9932 |

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Aunque la velocidad de sedimentación eritrocítica es una prueba de importancia en el diagnóstico médico, es un parámetro no específico que está relacionado con muchas enfermedades. Se han descrito varios métodos para la determinación de la VSE. El método de Westergren es aceptado como el método de referencia, sin embargo, presenta algunas limitaciones en la técnica utilizada; de las cuales la más importante consiste en que es un método abierto, lo que implica un contacto directo con la muestra sanguínea y es, por tanto, una fuente potencial de infecciones de alto riesgo. Por tal motivo se han desarrollado nuevos métodos modificados del Westergren original, como el sistema TAKIVES®, una pipeta plástica que provee al operador de mayor seguridad al manipular la muestra puesto que éste no entra en contacto con el fluido sanguíneo, además, tiene un bajo costo, es desechable y posee las atribuciones propias del método tradicional(7).

En los pacientes estudiados en la presente investigación hubo un mayor número de mujeres que hombres (31 y 69 %, respectivamente). En lo referente a las edades se tuvo un promedio de edades en mujeres de 33.94 años y en hombres se obtuvo un promedio de edades de 30.74 años. Para el análisis de datos, de conformidad con los objetivos e hipótesis planteados en la presente investigación, no se realizó ninguna diferenciación entre grupo étnico, género, diagnóstico o motivo de consulta., debido a que se trata de una comparación de métodos, por lo que estos factores no la afectan, es decir que el valor de la VSE debería ser similar por cualquiera de los métodos, independientemente de dichos factores.

Para el presente estudio, el análisis de varianza de dos vías indica que no existe diferencia significativa entre los métodos ($p=0.2561$) (tabla 2). El análisis de varianza

de dos vías es un diseño de Análisis de Varianza (Anova) que permite estudiar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación. En este caso la principal fuente de variación son los métodos y la segunda fuente de variación fueron los pacientes considerados como bloques, ya que cada muestra se analizó por los tres métodos, lo cual permitió controlar la variación entre pacientes (90,91).

Al realizar el análisis de regresión de los métodos, se mostró una adecuada relación lineal ($p < 0.00001$), que muestra el comportamiento de las pruebas donde, al calcular los límites de estimación de la recta se obtiene que éstos son paralelos a la recta de regresión y que, a medida que se incrementan o reducen los valores en el método de referencia de Westergren, también lo hacen en los sistemas de TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/ Citrato, lo que indica una alta precisión (gráficas 2, 3,4, tablas 4,6,8,9).

Al calcular el coeficiente de concordancia (r_c) entre los métodos, los resultados obtenidos muestran que tanto TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/ Citrato, presentan una buena concordancia con el método de referencia de Westergren, así como entre ellos (respecto a los resultados cuantitativos de la VSE). Lo que indica que existe una buena reproducibilidad, entendiéndose como un alto grado de acuerdo en los resultados mutuamente independientes de los métodos, obtenidos en condiciones estándar de trabajo.

Se puede inferir que los sistemas TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/ Citrato son apropiados para sustituir al método de referencia de Westergren y cada uno de los sistemas puede reemplazar al otro sin que haya desacuerdo en los resultados obtenidos (tabla 10) (90-91).

Se encontró que los sistemas TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/ Citrato tienen una alta especificidad y alta sensibilidad. Estos datos indican que los métodos antes descritos son altamente adecuados para clasificar la VSE como alterada o normal según sea el caso, ya que concuerdan con los datos obtenidos por el método de referencia de Westergren, que se hizo de conformidad con los valores de referencia de acuerdo al género y edad, estos valores, de acuerdo con las recomendaciones del NCCLS, deberían ser establecidos por cada laboratorio (tablas 4, 6, 8) (9,21).

La convergencia entre sensibilidad y especificidad puede confirmarse con los valores obtenidos del Índice *kappa* para cada sistema y que al interpretarse con base en los criterios de Fleiss, muestran que existe un acuerdo alto entre los métodos cuando la VSE se clasifica como normal o alterada (tabla 10) (88).

Estos resultados indicaron que no existen proporciones de casos falsos positivos (VSE alterada tanto en TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/ Citrato y normal en Westergren), o negativos (VSE normal para TAKIVES®/EDTA y/o TAKIVES®/ Citrato y alterada para Westergren); lo que demostró que ambos métodos, tanto TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/ Citrato, son apropiados para clasificar la VSE como normal o alterada (tablas 3,5, 7) (6).

X. CONCLUSIONES

1. Ambos métodos evaluados, TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/Citrato, presentan la misma sensibilidad y especificidad al compararlos con Westergren y entre sí.
2. Tanto TAKIVES®/EDTA como TAKIVES®/Citrato, presentan una concordancia con Westergren, así como entre ellos.
3. Para los sistemas TAKIVES®/EDTA y TAKIVES®/Citrato se determinó la sensibilidad que fue de 100 % y 97.8 %, respectivamente y una especificidad del 98.1 % y 96.7 %, respectivamente.
4. El sistema TAKIVES® puede utilizarse como prueba diagnóstica de la velocidad de sedimentación eritrocítica en pacientes ambulatorios que acuden a instituciones públicas y privadas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Utilizar en la rutina del laboratorio clínico indistintamente ambos anticoagulantes, EDTA y citrato disódico, con el sistema TAKIVES®, ya que su uso no altera significativamente los valores de la velocidad de sedimentación eritrocítica en relación al método de referencia de Westergren.
2. Cada laboratorio clínico debe establecer sus propios valores de referencia para los sistemas utilizados, incluyendo el método de Westergren y realizar comparaciones si se desea utilizar otro tipo de anticoagulantes como la heparina u oxalatos.

XII. REFERENCIAS

1. Wintrobe M. *et al.* Clinical Hematology. 9th Ed. Filadelfia. Lea & Febiger, 1993. pp 1-2021
2. Plebani M, *et al.* Erythrocyte Sedimentation Rate. American Society for Clinical Pathology. 2002; 117: 621-626
3. Dos Santos V. *et al.* Velocidade de Sedimentação das Hemácias: Utilidade e Limitações. Ev Ass Med Brasil, 2000; 46(3):232-236
4. Tango Inc. VeriMed Healthcare Network. A medical encyclopedia article on the topic. VeriMed Healthcare Network. 2001.
5. Lynch M., *et al.* Métodos de Laboratorio. Interamericana, México. 2ª ed. Volumen 1 1988. pp 705-710
6. Bottiger L. *et al.* Normal Erythrocyte Sedimentation Rate and Age. Br Med J 1967; 2:85-7.
7. Stanford P. Velocidad de Sedimentación Globular. Division de Reumatología, Washington University School of Medicine, 2005.
8. Piera C. *et al.* Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. Editoriales Profesionales S.A. Sevilla España 1987, pp 185-190
9. Saadeh C. The Erythrocyte Sedimentation Rate: Old and New Clinical Applications. South Med J 1998; 3:220-5.
10. Vives J. *et al.* Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. España, Salvat Editores. 1988. pp 1-20

11. Rafael A. Análisis Clínicos Hematológicos de Rutina - El Valor Hematocrito. 20:44, 2008.
12. Manual de Laboratorio Clínico. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Dirección General de Servicios de Salud, Departamento de Laboratorios Centrales. Tipografía Nacional, Guatemala. 1975. Pp 57-65
13. ICSH Expert Panel. Guidelines on the Selection of Laboratory Test for Monitoring the Acute Phase Response. *J. Clin Pathol.* 1998; 41:1203-1212.
14. Gillum R. *et al.* Erythrocyte Sedimentation Rate and Coronary Heart Disease: The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *J Clin Epidemiol* 1995, 48(3):353-361. [[PubMed Abstract](#)]
15. Chamorro A. *et al.* Early Prediction of Stroke Severity. Role of the eErythrocyte Sedimentation Rate. *Stroke* 1995, 26(4):573-576. (PubMed Abstract)
16. Van den Hoogen H. *et al.* On the Accuracy of History, Physical Examination, and Erythrocyte Sedimentation Rate in Diagnosing Low Back Pain in General Practice. A Criteria-Based Review of the Literature. *Spine* 1995, 20(3):318-327. (PubMed Abstract)
17. Smith E. *et al.* Use of the Erythrocyte Sedimentation Rate in the Elderly. *Br J Hosp Med* 1994; 51:394-7.
18. Brigden M. The erythrocyte Sedimentation Rate: Still a Helpful Test when used Judiciously. *Postgrad Med* 1998;103:257-74.
19. Lluberas-Acosta G. *et al.* Markedly Elevated Erythrocyte Sedimentation Rates: Consideration of Clinical Implications in a Hospital Population. *Br J Clin Pract* 1996; 50:138-42.
20. Michael S. Erythrocyte Sedimentation Rate. *Haematology HAPS.* 1998
21. Malcolm L. *et al.* Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate *American Family Physician*, 1999

22. Tarik M. *et al.* Reactive Protein and Erythrocyte Sedimentation Rate in Orthopaedics. Tripler Army Medical Center, Orthopaedic Surgery Service, Honolulu, HI.2005
23. Foglar C. *et al.* C-Reactive Protein in Orthopedics. *Orthopedics* 1998; 21(6):687--691.
24. Hall M. *et al.* *Medical Laboratory Haematology*.1984.En www.tecnofin.com.mx
25. NCCLS. Reference and Selected Procedure for the Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) Test, Approved Standard. 2001, 4th edition, H2-A24, Vol. 20 No 27 pp 1-24
26. Bedell S. *et al.* Erythrocyte Sedimentation Rate: From Folklore to Facts. *Am J Med* 1985. 78:1001-1009
27. Vidal Rodrigo. *Discrasias Sanguíneas*. Medwave. Año VI No. 7. 2006.
28. Preidt Robert, *et al.* *New Test Diagnoses Anemia in Chronic Disease*. HealthDay. 2008
29. National Institutes of Health Clinical Center (CC). *Evaluation of Patients with Blood Disorders*. February 2008.
30. Vives J. *Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología*. 2006 , 741p
31. Torres Bouza C *et al.* *Información Sobre Desarrollo de Guías de Práctica Clínica*.2007, 70p
32. Morrison K. *Laboratorio Clínico y Pruebas de Diagnóstico*. Ed. Manual Moderno: The Columbia Encyclopedia. 7. 1998, 191p
33. Castillo, C., *et al.* *Manual de Laboratorio FMVZ*. UNAM. 2000
34. Tamama Kenichi, *et al.* *Química Clínica*. Universidad de Pittsburgh Medical Center, Departamento de Patología. Enero 2005 en www.path.upmc.edu/cases/case413.html.
35. Moses C. *Velocidad de Sedimentación Eritrocítica*. CSC, Health System.2006 en cy.mosescone.hispanicare.com/printarticle.asp?lid=2&request=003283 - 6k

36. Zollo A. Secretos de la Medicina. Mc Grawhill, 3ra ed. 2004, pp 1 – 47
37. Alberto C. Eritrosedimentación; Su Aplicación en la Clínica. 1ª ed. 2003
38. Fuentes Xavier *et al.* Codex de Ciencias de Laboratorio Clínico: Indicaciones e Interpretación de la Velocidad de Sedimentación Eritrocítica. 2003, 230p
39. Guzmán R. Eritrosedimentación: Valor pronóstico y Diagnóstico del Índice de Katz. Publicaciones de la Universidad autónoma de Cochabamba, 2004
40. Noriega E. Velocidad de Sedimentación Eritrocítica.- Interpretación de los Hallazgos Hematológicos: Eritrocitos y sus trastornos.2007.
41. Henry R., Clinical Chemistry. Principles and Technics, 2004.
42. Miale J.; Am. J. Clin. Path. 52/2:154, 2006.
43. Mustard, J., Am. J. Clin. Path. 30:498 ,2007.
44. Aaron SD, *et al.* Topical Tetracaine Prior to Arterial Puncture: a Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. Respir Med. 2003 (11): 1195-1199.
45. Burtis C. A. *et al.* Textbook of Clinical Chemistry . 2nd edition, 2004
46. McPherson R. *et al.* H Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.21st ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders; 2007:459-60..
47. Hoffman R, et al. eds. Hematology: Basic Principles and Practice. 4th ed. Philadelphia, Pa: Churchill Livingstone; 2005: 2674p.
48. University of Maryland Medical Center (UMMC). University of Maryland Medical System, Baltimore, 2008
49. Johansson J. Erythrocyte Sedimentation Rate as a Tumor Marker in Human Prostatic Cancer. An Analysis of Prognostic Factors in 300 Population-Based Consecutive Cases Cancer. 2002, 70(6):1556-1563. [PubMed Abstract]
50. Del Beccaro MA. Acute-Phase Reactants and Acute Bacterial Otitis Media. Am J Dis Child 2002, 146(9):1037-1039. [PubMed Abstract]

51. Ballas SK. The Sickle Cell Painful Crisis in Adults: Phases and Objective Signs Hemoglobin. 2005, 19(6):323-333. [PubMed Abstract]
52. Akinola N. Rheological Changes in the Prodromal and Established Phases of Sickle Cell Vaso-Occlusive Crisis. Br J Haematol 2004, 81(4):598-602. [PubMed Abstract]
53. Lawrence C. Erythrocyte Sedimentation Rate During Steady State and Painful Crisis in Sickle Cell Anemia. Am J Med 2006, 81(5):801-8. [PubMed Abstract]
54. Losev E. A Physical Model of Gravitational Erythrocyte Sedimentation. PubMed Abstract. *Biofizika* 1992, 37(6):1057-106255.
55. Normatov T. *et al.* Determination of Constraint Coefficients and Viscosity of Mixture in Dependence on Volume Fraction of Particles. *Nauka* 2001, 5:35-38.
56. Happel J. *et al.* Low Reynolds Number Hydrodynamics with Special Applications to
60. Navruzov K. *et al.* Dynamics of Non-Newtonian Fluids and Lectures for biological Mechanics. Moscow: MGU; 1980
Particulate Media. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers; 1986.
57. Nigmatullin R. Basic Mechanics of Multiphase Medium. Moscow: Nauka; 1978.
En <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/4/1/24>
58. Pedley T. The Fluid Mechanics of Large Blood Vessels. Cambridge: Cambridge University Press; 1980.
59. Thomas D. Transport Characteristics of Suspension: VIII. A Note on the Viscosity of Newtonian Suspensions of Uniform Spherical Particles. J Coll Sci 1965, 20:267-77.
61. Pavlovski U. *et al.* Hydrodynamics of Blood. Moscow: VINITI; 1970
62. Faizulaev D. *et al.* Investigation of Precipitation of Particles by Photoelectrical Method. Registration of Concentrations. Problems of Mechanics 1974, 130-133.
63. Navruzov K. *et al.* Dynamics of Non-Newtonian fluids. Tashkent: Nauka; 2000.

64. Ismailov R. Mathematical Model of Blunt Injury to the Vascular Wall Via Formation of Rouleaux and Changes in Local Hemodynamic and Rheological Factors. Implications for the Mechanism of Traumatic Myocardial Infarction. *Theor Biol Med Model* 2005, 2:13. [PubMed Abstract]
65. Rovshan M. *et al.* Mathematical Model Describing Erythrocyte Sedimentation Rate. Implications for Blood Viscosity Changes in Traumatic Shock and Crush Syndrome . Institute of Mechanics and Seismic Stability of Structures, Academy of Science of Uzbekistan, 4:24, 2005.
66. Regurer S. Lectures for Biological Mechanics. Moscow: MGU; 2003.
67. Minz D. About Weight of Grain Layer in Rising Flow of Fluid. *Reports RAN* 2002, 1:17-20.
68. Rakhmatullin K. Foundations of Gas Dynamics of Mutually Penetrable Flows of Compressible Medium. *Prikladnaya Matematika Mekhanika* 2006, 20(2):184-195
69. Batchelor G. An Introduction to Fluid Dynamics. Cambridge: Cambridge University Press; 2007
70. Podrabinek P. On the Gulden Size of Erythrocytes. *Laboratornoye* 2007, 8:482484.
71. Gavalov S. Mechanism of Fractional Erythrocyte Sedimentation Rate. *Sov Med* 2004 , 21(8):62-66. [PubMed Abstract]
72. Khusanov H. Sedimentation of Particles in Fluid. *Nauka* 2006, 120-130.
73. Caro C. The Mechanics of the Circulation. Oxford: Oxford University Press; 2000.
74. Bradford H. Streck ESR-Vacuum Tubes™ Yield Stable Erythrocyte Sedimentation Rates with Variable Temperatures. *J Clin Path* 2007: 10, 354
75. Koepke J. Welcome Innovation in Erythrocyte Sedimentation Testing. American Society for Clinical Pathology. 2002.
76. Il Sistema TAKIVES®, Italy, 2005. En info@biomedcentral.com
77. Brigden M. The Erythrocyte Sedimentation Rate. *Postgrad Med* 1998; 103:257-74.

78. Sox H *et al.* The Erythrocyte Sedimentation Rate: Guidelines for Rational Use. *Ann Intern Med* 1986; 104:515-23.
79. Veca A. Instituto de Automática, Facultad de Ingeniería Universidad Nacional de San Juan Libertador 1109 (Oeste), (5400), San Juan.2006. En aveca@inaut.unsj.edu.ar
80. De Jonge N. *et al.* Erythrocyte Sedimentation Rate by the Test-1 Analyzer. American Association for Clinical Chemistry. *Clinical Chemistry*. 2000; 46:881-882
81. Galiano P. Test -1 Internal Quality Control. CEO, ALIFAX S.p.A. 2003.
82. Giavarina D. *et al.* Internal Quality Control for Erythrocyte Sedimentation Rate Measured by Test-1 Analyzer. *Clin. Lab*. 2002; 48: 459-462.
83. Heverin E. Comparison of the Westergren Method versus the Test 1 Technique for Determining the Erythrocyte Sedimentation Rate. Galway-Mayo Institute of Technology. USA, 2002, 1-19
84. López C. Establecimiento y Estandarización de un Micrométodo de Velocidad de Eritrosedimentación. Guatemala: USAC (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1993. 47 p
85. Sierra E. Métodos Para Reducir el Tiempo de Lectura de la Velocidad de Sedimentación Globular. Guatemala: USAC (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1997. 51 p
86. Meneses S. Determinación de la Velocidad de Eritrosedimentación por Micrométodo en una Muestra de Población Normal y Enferma. Guatemala: USAC (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1998. 80 p.
87. Arreola H. Comparación del Método Automatizado Test- 1- Analyzer® con el Método Manual de Westergren para Medir la Velocidad de Sedimentación Eritrocítica en Pacientes que Acuden al Centro Médico Militar. Guatemala: USAC (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2003.
88. Fleiss JL. *Statistical methods for rates and proportions*, 2nd edition. New York: Wiley; 2000.

89. Abaira V. Métodos Multivariantes en Bioestadística. Ed. Centro de Estudios Ramón Areces. 1996.

90. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures: Methodology, ICH-Q2B, Geneva, 1996.

91. ICH harmonized tripartite guideline. Methodology of validation of analytical method. Recomendado en nov. 1996. Geneva: ICH; 1996.

XIII. ANEXOS

TABLA 11

Rangos de referencia para la Velocidad de Sedimentación Eritrocítica

| Edad | Rangos de Referencia(mm/hr) |
|-----------------------|------------------------------------|
| Recién nacidos | hasta 2 |
| Lactantes (0-2 años) | hasta 10 |
| Escolares (4-15 años) | hasta 11 |
| Hombres < 50 años | hasta 15 |
| Hombres > 50 años | hasta 20 |
| Mujeres < 50 años | hasta 20 |
| Mujeres>50 años | hasta 30 |

Tomado de Valores de referencia para la VSE por el método de Westergren de acuerdo a Bottiger L. *et al.* Normal Erythrocyte Sedimentation Rate and Age. Br Med J 1967, 2:85-7. En afpservaafp.org y Stanford P. Velocidad de Sedimentación Globular. Division de Reumatología, Washington University School of Medicine, 2005.

TABLA 12

Factores que pueden influir en la determinación de la VSE

| Incrementan la VSE | Disminuyen la VSE | Clínicamente no significativos |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
| Edad avanzada | Extrema leucocitosis | Obesidad |
| Mujeres | Policitemia | Temperatura corporal |
| Embarazo | Anormalidades eritrocitarias | Comida reciente |
| Anemia | Esferocitosis | Aspirina |
| Anormalidades eritrocitarias | Acantocitosis | |
| Macrocitosis | Microcitosis | |
| Factores técnicos | Factores técnicos | |
| problemas dilucionales | problemas dilucionales | |
| alta temperatura del espécimen | mezcla inadecuada | |
| nivel de fibrinógeno elevado | coagulación de la muestra | |
| Infección | pipeta de VSE muy corta | |
| Inflamación | vibración durante la prueba | |
| Malignidad | Anormalidades en proteínas | |
| | Hipofibrinogenemia | |
| | Hipogammaglobulinemia | |
| | Disproteïnemia | |
| | con estado de hiperviscosidad | |

Tomado de: ICSH Expert panel en Guidelines on the Selection of Laboratory test for Monitoring the Acute Phase Response. J. Clin. Pathol. 1998, 41:1203-1212. En www.tecnofilm.com.mx/TVT.36k