

Comparação de dois métodos na realização do exame de velocidade de hemossedimentação (VHS) em um hospital oncológico

Comparison between two methods for performing the erythrocyte sedimentation test (ESR) in an oncology hospital

Tiago César Gouvêa Moreira¹
Caio Agostini Calheiros Grosso²
Micaely Santos Stanzani³
Paola Braga dos Santos⁴
Núbia de Lima Pedrosa⁵

Resumo

Introdução: O exame de velocidade de hemossedimentação (VHS) mede a distância em que os eritrócitos caem durante 60 minutos em um tubo vertical. Objetivo: Comparar dois métodos de realização do exame de VHS em um hospital oncológico. Material e métodos: Foram coletados, de 45 pacientes, 5mL a 6mL de sangue que foram transferidos para dois tubos com anticoagulante. O sangue de ambos os tubos foi transferido para uma pipeta de vidro com capacidade de 200mm e 2,5mm de diâmetro interno, que foi adaptada em suporte vertical, aguardando por uma hora. Os resultados foram analisados pelo programa SPSS versão 25. Resultados: O nível de sedimentação em milímetros (mm) do método referência de Westergren modificado utilizando citrato de sódio 3,2% é menor quando comparado com o método alternativo utilizando anticoagulante EDTA, com Z score: -5,29 (p = 0,01) e R = 0,79. Discussão: O International Council for Standardization in Haematology (ICSH) descreveu grandes diferenças entre os métodos de Westergren e os não baseados em Westergren. Conclusão: Sugere-se a utilização do método de Westergren modificado na realização do exame. Além disso, com a padronização do melhor método de realização do exame, gerará resultados mais confiáveis, refletindo de forma positiva na rotina hospitalar.

Palavras-chave

Hemossedimentação; Neoplasias; Testes Hematológicos

INTRODUÇÃO

A velocidade de hemossedimentação (VHS) é um exame utilizado como marcador de resposta inflamatória, sendo um teste simples e de baixo custo que tem sido realizado há mais de meio século.⁽¹⁾

O exame de velocidade de hemossedimentação (VHS) mede a distância em que os eritrócitos caem durante 60 minutos em um tubo vertical. Seu significado foi descoberto em 1897 pelo médico Edmund Biernacki, que observou que a taxa de VHS era diferente entre os indivíduos, sendo dependente do volume e da forma dos eritrócitos e das proteínas do plasma.^(2,3)

O resultado da VHS pode ser influenciado por diversos fatores intrínsecos ou extrínsecos, produzindo resultados pouco confiáveis. Apesar das limitações, o VHS vem sendo utilizado na prática clínica como marcador inespecífico para monitoramento de doenças inflamatórias e crônicas.⁽⁴⁾

Dentre os fatores que podem alterar o exame destacam-se a forma da coleta, o período de jejum, a viscosidade do plasma (concentração de fibrinogênio e das globulinas), a concentração de íons hidrogênio, a concentração do colesterol, o tamanho e a forma dos eritrócitos e o conteúdo hemoglobínico. Além da idade e do sexo dos pacientes, que devem ser levados em consideração na avaliação do resultado da VHS.⁽⁴⁾

¹ Bacharel em Biomedicina pelo Centro Universitário Faminas (UNIFAMINAS) - (Biomédico). Mestrando do programa de Neurologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)- Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Bacharel em Biomedicina pelo Centro Universitário Faminas (UNIFAMINAS). Muriaé, MG, Brasil.

³ Bióloga-Hospital do Câncer- Fundação Cristiano Varella. Muriaé, MG, Brasil.

⁴ Bióloga- Supervisora do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital do Câncer- Fundação Cristiano Varella. Muriaé, MG, Brasil.

⁵ Farmacêutica- Coordenadora e responsável técnica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital do Câncer- Fundação Cristiano Varella. Muriaé, MG, Brasil.

Recebido em 04/11/2020

Aprovado em 02/03/2022

DOI: 10.21877/2448-3877.202202082

A sedimentação eritrocitária depende da formação de *rouleaux* gerada pela agregação dos eritrócitos ao longo de um mesmo eixo, o que leva a um aumento da densidade promovendo uma sedimentação mais rápida.⁽⁵⁾

A formação de *rouleaux* está relacionada à carga negativa dos eritrócitos que tentam se repelir. Sendo assim, as macromoléculas plasmáticas, por possuírem cargas positivas, neutralizam a carga da superfície eritrocitária, ocasionando maior agregação das hemácias e a formação de *rouleaux*.⁽⁵⁾

O teste da VHS começou a ser utilizado em 1918 na Alemanha por Robin Fahreus, que reportou as características importantes relacionadas com a sedimentação e a capacidade do plasma em reduzir a carga eletrostática na superfície dos eritrócitos, o que proporciona maior sedimentação. Robin Fahreus também quantificou a capacidade de sedimentação das proteínas plasmáticas, avaliou o efeito da temperatura no exame e observou maior sedimentação em várias condições patológicas e fisiológicas.⁽¹⁾

Em 1921, o médico sueco Alf Vilhelm Westergren definiu padrões para o desempenho do teste de VHS, sendo assim, o método de Westergren passou a ser amplamente utilizado até os dias atuais.⁽⁶⁾

O método de Westergren é realizado com a coleta de uma quantidade fixa de sangue que é transferida para um tubo contendo citrato de sódio a 3,8% (relação 4:1). O sangue é deixado em repouso por uma hora em um tubo graduado na vertical, com 200mm de comprimento e 2,5mm de diâmetro interno, e em seguida é analisada a distância entre o topo da coluna sanguínea (menisco) com a camada superior dos glóbulos vermelhos (coluna de eritrócitos).^(5,6,7)

A VHS é utilizada no diagnóstico de duas doenças, a polimialgia reumática (PR) e da arterite temporal (AT), entretanto pode apresentar resultado acima de 100mm/h quando o paciente apresenta infecção, câncer metastático ou doenças inflamatórias do tecido conjuntivo. Embora se demonstre alterado em pacientes com câncer, o exame não deve ser utilizado como marcador para doenças malignas, pois a VHS está frequentemente dentro do valor referência nestes pacientes.^(5,8)

Em 2017, o *International Council for Standardization in Haematology (ICSH)* publicou atualizações para o exame de VHS. De acordo com o ICSH, estima-se que 2/3 dos laboratórios utilizam métodos de VHS alternativos ou modificados, entretanto o método de Westergren ainda é o padrão ouro para o exame. Além disso, observou-se que os resultados obtidos por estes métodos alternativos e modificados podem diferir significativamente do observado pelo método de Westergren.⁽⁹⁾

Com a validação e determinação de qual método utilizar durante a realização do exame de VHS, além obter resultados mais confiáveis, refletirá no custo e tempo de liberação do exame, sendo imprescindível em um hospital oncológico,

uma vez que grande parte dos pacientes encontra-se em cuidados paliativos ou em observação na unidade de terapia intensiva (UTI) e o médico necessita de um rápido resultado para determinação de intervenção terapêutica.

O objetivo geral deste estudo é comparar dois métodos de realização do exame de VHS, o método de referência de Westergren modificado e o método alternativo com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) no Hospital do Câncer de Muriaé (HCM), Fundação Cristiano Varella.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 45 amostras de sangue periférico de pacientes provenientes de atendimento do corpo clínico do HCM, as quais foram direcionadas para realização do VHS.

O critério de inclusão para a seleção dos participantes foi que o indivíduo tivesse indicação de teste de VHS pelo corpo clínico do hospital. Já o critério de exclusão foi indivíduos menores de 18 anos ou participantes que não aceitassem participar da pesquisa voluntariamente.

Foi realizada a coleta de 5mL a 6mL de sangue periférico com seringa (5mL) e agulha (25mm x 0,70mm). Após a coleta, o sangue foi transferido para dois tubos, um da marca *BD Vacutainer*, contendo 7,2mg de ácido etilenodiamino tetra-acético dipotássico (K2EDTA) (Figura 1A). Este tubo tem capacidade máxima de 4mL de sangue, não possuindo uma quantidade fixa de sangue a ser transferido para o tubo. O outro tubo é o da marca *Vacurette*, contendo citrato de sódio 3,2%, no qual foi adicionado sangue até a marca (Figura 1B), totalizando 2mL de sangue, mantendo a relação anticoagulante/sangue de 1:4.

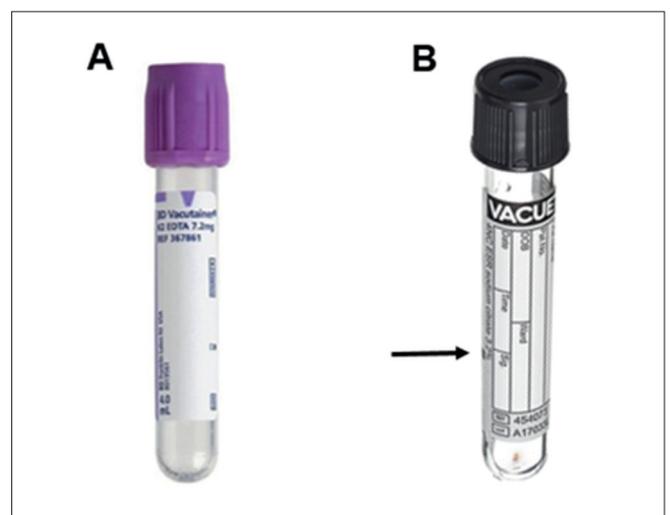


Figura 1 A e B - Tubos utilizados para coleta sanguínea dos pacientes. **A)** Tubo da marca *BD Vacutainer*, contendo 7,2mg de ácido etilenodiamino tetra-acético dipotássico (K2EDTA). Quantidade máxima de 4mL de sangue. **B)** Tubo da marca *Vacurette*, contendo citrato de sódio 3,2%. Seta indica a marca onde se deve colocar o sangue (2mL), mantendo uma relação anticoagulante/sangue de 1:4.

As amostras foram encaminhadas para o laboratório em temperatura ambiente em maleta de transporte biológico. As amostras dos dois tubos foram transferidas para pipeta graduada com capacidade de 200mm e 2,5mm de diâmetro interno, deixando em repouso por uma hora na vertical no suporte de pipetas. Após repouso, foi avaliada a distância do topo da coluna sanguínea (menisco) até a camada superior dos glóbulos vermelhos (camada eritrocitária).

O método de Westergren realizado neste estudo será modificado, pois, de acordo com o ICSH, na metodologia padrão ouro para o exame de VHS utiliza-se o tubo com cloreto de sódio 3,8% e não 3,2%, como utilizado neste estudo.

Os resultados dos dois métodos de coleta foram tabulados no programa SPSS Statistics Versão 25. Foram aplicadas análises descritivas e de frequência. Utilizou-se o teste de Spearman rho para análise de normalidade, e para a comparação entre os dois métodos foi aplicado o teste não paramétrico de postos de Wilcoxon. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Ética

A pesquisa foi submetida, e aprovada, à Plataforma Brasil para avaliar a ética em pesquisas com seres humanos de acordo com a Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). Essa resolução fundamenta-se nas declarações e diretrizes quando há

envolvimento com seres humanos e visa a ética em pesquisas (CAAE: 32207420.2.0000.5105).

Todos os participantes foram orientados sobre os objetivos, a confidencialidade dos dados gerados, os riscos e benefícios da pesquisa. Deixou-se clara a possibilidade de recusa de participação ou, caso desejasse, se retirar em qualquer momento por se sentir desconfortável. Após orientação, os participantes que concordaram voluntariamente a participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

RESULTADOS

As amostras de sangue periférico dos 45 pacientes com indicação para a realização do exame velocidade de hemossedimentação (VHS) foram obtidas no Hospital do Câncer da cidade de Muriaé, Minas Gerais, Brasil. Destes pacientes, 19 (42,2%) eram do sexo masculino e 26 (57,8%) do feminino.

Os resultados com o anticoagulante citrato de sódio 3,2% (método de Westergren modificado) foram considerados padrão ouro neste trabalho quando comparados com o EDTA 7,2mg (método alternativo), por se aproximar da metodologia padrão ouro na realização do exame de VHS, o método de Westergren, que utiliza citrato de sódio a 3,8%. Após a análise do exame de VHS por ambos os métodos, observou-se os resultados contidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Variação da hemossedimentação entre as amostras testadas.

Paciente	Sexo	Resultados (TUBO EDTA)	Resultados (TUBO CITRATO)	Diferença (EDTA - CITRATO)
Paciente 1	M	51	30	21
Paciente 2	M	23	13	10
Paciente 3	F	57	43	14
Paciente 4	F	38	27	11
Paciente 5	F	53	38	15
Paciente 6	M	15	10	5
Paciente 7	M	52	37	15
Paciente 8	M	4	3	1
Paciente 9	F	21	12	9
Paciente 10	F	19	12	7
Paciente 11	F	57	34	23
Paciente 12	M	14	9	5
Paciente 13	F	39	29	10
Paciente 14	M	32	19	13
Paciente 15	F	37	28	9
Paciente 16	M	18	13	5
Paciente 17	M	3	3	0

Tabela 1 (continuação) - Variação da hemossedimentação entre as amostras testadas.

Paciente	Sexo	Resultados (TUBO EDTA)	Resultados (TUBO CITRATO)	Diferença (EDTA - CITRATO)
Paciente 18	F	27	23	4
Paciente 19	M	19	13	6
Paciente 20	M	31	26	5
Paciente 21	M	31	14	17
Paciente 22	F	86	75	11
Paciente 23	F	18	14	4
Paciente 24	F	78	46	32
Paciente 25	M	70	54	16
Paciente 26	F	41	25	16
Paciente 27	M	8	4	4
Paciente 28	M	3	3	0
Paciente 29	F	34	20	14
Paciente 30	M	4	2	2
Paciente 31	M	5	5	0
Paciente 32	M	54	42	12
Paciente 33	F	112	96	16
Paciente 34	F	2	2	0
Paciente 35	F	147	157	-10
Paciente 36	F	4	1	3
Paciente 37	F	3	1	2
Paciente 38	F	28	21	7
Paciente 39	F	17	12	5
Paciente 40	F	21	12	9
Paciente 41	M	54	34	20
Paciente 42	F	60	43	17
Paciente 43	F	26	14	12
Paciente 44	F	19	5	14
Paciente 45	F	5	6	-1
MEDIANA		27	14	9

Foi possível averiguar diferença nos resultados do exame de VHS quando comparados os dois métodos. Em análise estatística, observou-se que o nível de sedimentação em milímetros (mm) do método referência de Westergren modificado utilizando citrato de sódio 3,2% é menor quando comparado com o método alternativo utilizando anticoagulante EDTA, com *Zscore*: -5,29 ($p = 0,01$) e $R = 0,79$. A metodologia com EDTA apresentou mediana de 27mm (mín. 2 e máx. 147), já o método com citrato de sódio teve mediana de 14mm (mín 1 e máx. 157).

Quando comparada a mediana da diferença do resultado da VHS entre os métodos, observou-se que o método com EDTA quantificou 9mm (mín. -10 e máx. 32) superior

ao método utilizando citrato de sódio. Esta diferença entre os resultados dos exames dos pacientes quando comparada as duas metodologias de análise pode ser mais bem visualizada no Figura 2.

A realização de um mesmo exame com metodologias diferentes faz com que seja necessário verificar a concordância entre os resultados. Assim, um erro sistemático não altera a correlação, contudo altera a concordância, sendo necessária a análise de Bland-Altman.

A Figura 3 mostra a diferença média de 9,11mm entre os resultados dos métodos e os limites de concordância (24,20mm a -5,98mm). Ademais, não foi observado erro sistemático entre os dois métodos (IC 95% de 6,79 a 11,4).

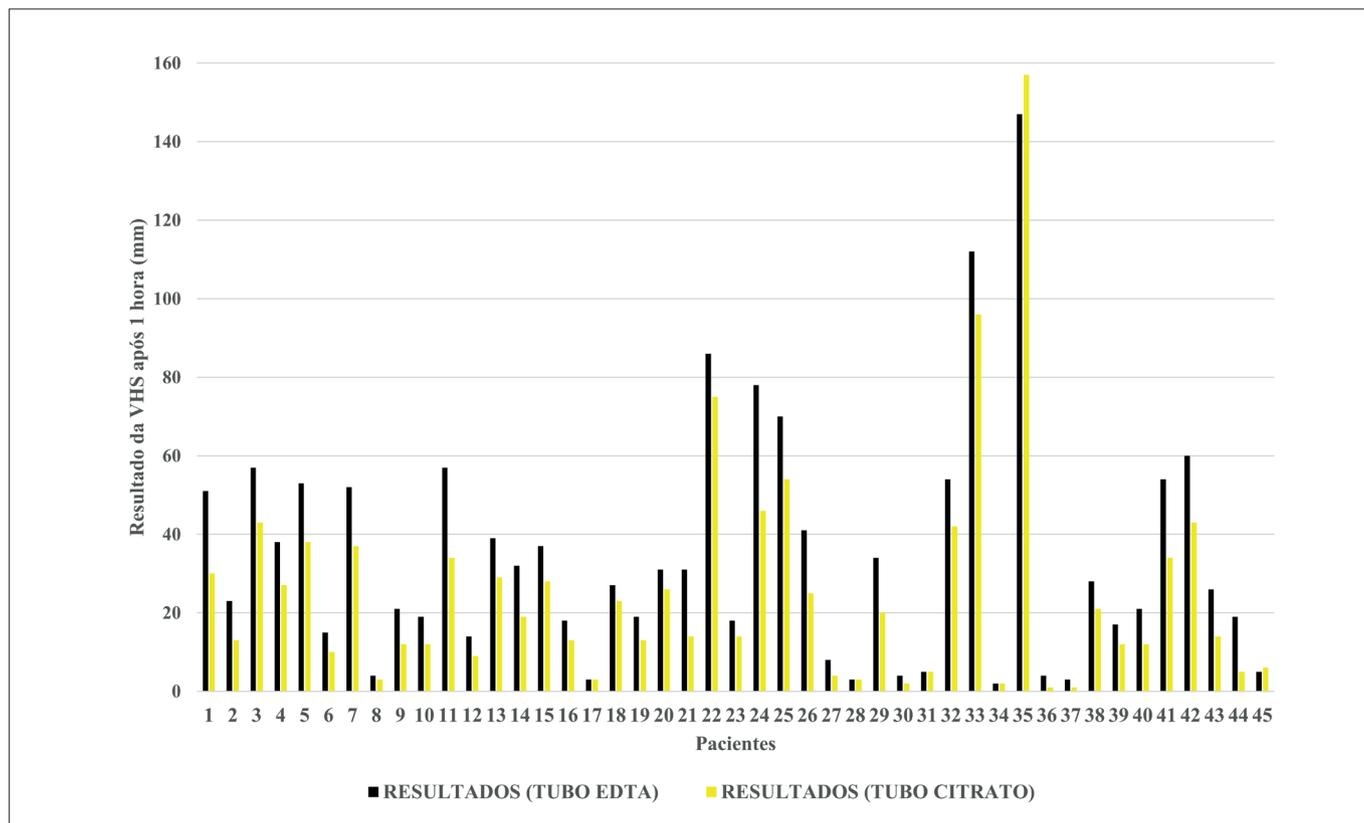


Figura 2. Comparação dos resultados da sedimentação das amostras em EDTA e o método com citrato de sódio 3,2% de todos os pacientes.

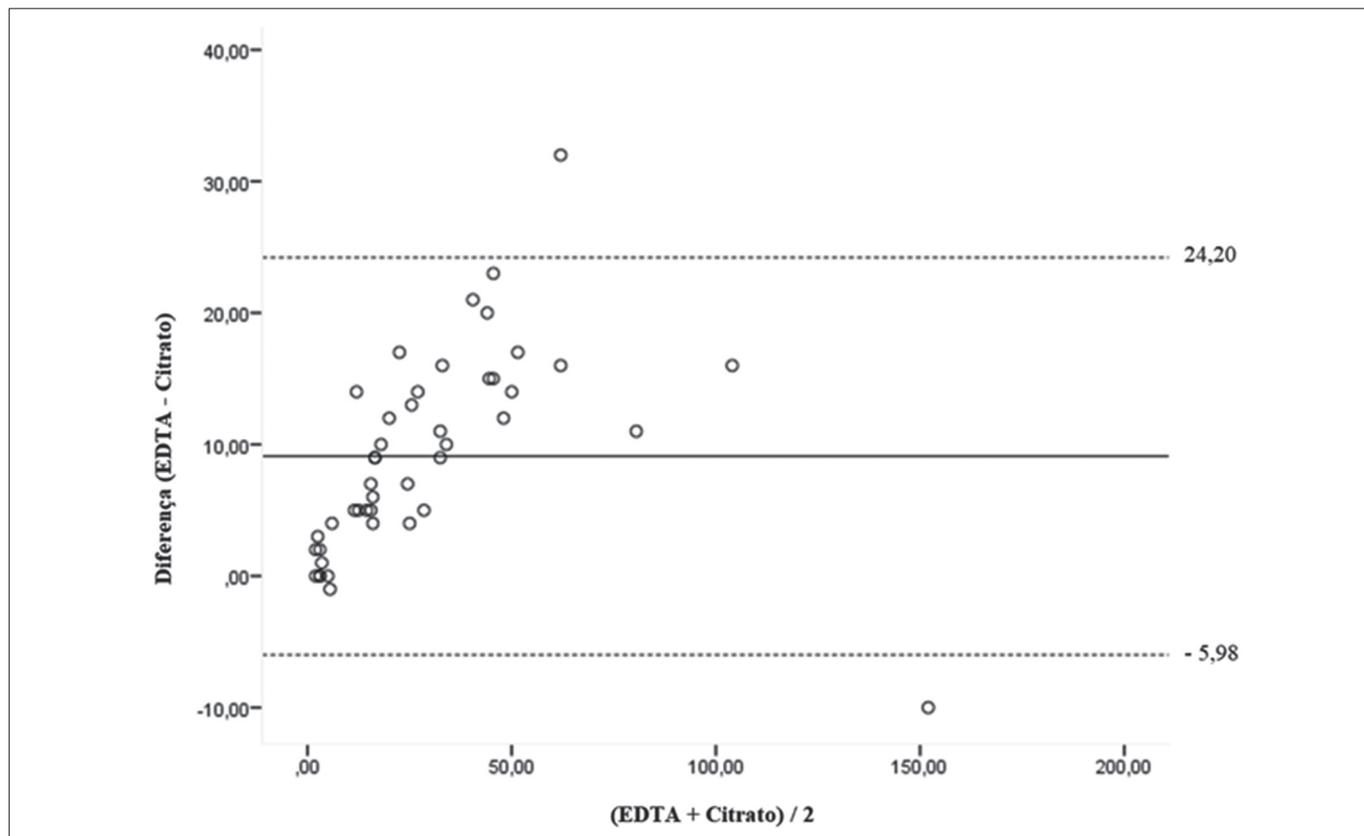


Figura 3. Diferença entre os resultados obtidos pelos dois métodos versus os valores médios dos resultados.

DISCUSSÃO

O exame de VHS não consiste na medida de um analito, mas sim na medida de um fenômeno físico que depende de muitas variáveis,^(10,11) algumas das quais podem ocorrer durante a coleta e o processamento das amostras, refletindo um resultado errôneo, como tempo de armazenamento da amostra, tempo de torniquete, técnica de flebotomia, incorreta relação de sangue e anticoagulante, tubos inadequados, amostras contaminadas, medicamentos e variações interlaboratoriais.⁽¹²⁾

Sendo assim, os exames devem passar por um processo de validação para que tenha o melhor método de realização do exame para obtenção de resultados confiáveis. Em média, 2/3 dos laboratórios de análises clínicas utilizam métodos alternativos ou modificados do padrão ouro na realização do exame de VHS (método de Westergren).

Em pesquisa realizada pelo *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH), observou-se que em alguns casos os resultados obtidos por estes métodos alternativos e modificados podem diferir significativamente do observado pelo método de Westergren.⁽⁸⁾ Neste estudo, observou-se que o nível de sedimentação em milímetros (mm) do método referência de Westergren modificado utilizando citrato de sódio 3,2% é menor quando comparado com o método alternativo utilizando anticoagulante EDTA, com Zscore: -5,29 ($p = 0,01$) e $R = 0,79$, demonstrando que há diferença entre ambos os testes na realização do exame de VHS.

Em contrapartida, em estudo realizado por Hachem e colaboradores (2010), que analisou 326 amostras ($n = 326$), em análise estatística evidenciou que não houve diferença entre o método Westergren com o utilizando sangue anticoagulado com EDTA, entretanto demonstrou que para amostras que apresentaram VHS acima de 30mm, os valores de VHS foram maiores, utilizando o método com EDTA quando comparado com o método padrão de Westergren.⁽¹³⁾

Merisio e Aiff (2013) apresentaram resultados parecidos, pois também demonstraram diferenças nos resultados do exame de VHS quando utilizado tubo contendo anticoagulante EDTA. Além disso, o estudo sugeriu a utilização apenas da técnica de Westergren na realização do exame.⁽¹⁴⁾

A alteração da sedimentação pode estar correlacionada com o tipo de anticoagulante utilizado para realização da VHS. Pesquisas demonstram que o citrato, nas concentrações empregadas no método de Westergren, possui capacidade de um retardamento na velocidade de sedimentação.⁽⁴⁾

O ICSH publicou recentemente um artigo de revisão, em que avaliou mais de 20 artigos de diversos países para a padronização do exame de VHS. Descreveu que houve grandes diferenças entre os métodos de Westergren e os não baseados em Westergren, e que alguns laboratórios apresentaram diferenças superiores a 40% nos resultados

do exame quando comparados, sendo que a maior diferença observada foi de 142%.⁽⁹⁾

O estudo realizado pelo ICSH concluiu que mesmo 120 anos após, o método de Westergren continua sendo o padrão ouro na realização do exame, entretanto os laboratórios podem adaptar os métodos de realização, porém devem validar o teste para que seja empregado adequadamente.⁽⁹⁾

Diante dos fatos, faz-se necessário compreensão e esclarecimento das possíveis diferenças apresentadas pelas metodologias utilizadas atualmente. Ressalta-se que um erro sistemático não altera a correlação, entretanto altera a concordância e, portanto, a utilização de diferentes metodologias faz com que seja relevante verificar a concordância entre os resultados obtidos.⁽¹⁵⁾

CONCLUSÃO

Como observado neste estudo, houve grande diferença nos resultados quando comparado o método utilizando anticoagulante EDTA e o que utiliza o citrato de sódio nos exames de Velocidade de Hemossedimentação (VHS). Deste modo, sugere-se o método de Westergren modificado na realização do exame, uma vez que apresenta maior semelhança com o método padrão ouro. Além disso, com a padronização do melhor método de realização do exame, gerará resultados mais confiáveis, refletindo de forma positiva na rotina hospitalar, uma vez que o médico necessita de resultados precisos para determinação da intervenção terapêutica nestes pacientes oncológicos.

SUPORTE FINANCEIRO

Fundação Cristiano Varella- Hospital do Câncer.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Prof^a Dra. Luciana de Andrade Agostinho, que nos ajudou na análise estatística do trabalho, e ao Hospital do Câncer, Fundação Cristiano Varella (FCV), por ter disponibilizado os dados utilizados para a construção do trabalho.

Abstract

Introduction: The erythrocyte velocity test (ESR) the distance at which erythrocytes fall within 60 minutes in a vertical tube. Objective: to compare two methods of performing the ESR test in an oncology hospital. Material and methods: 5-6 mL of blood were collected from 45 patients transferred to two tubes with anticoagulant. The blood from both tubes was transferred to a glass pipette with a 200mm capacity and 2.5mm internal diameter, which was adapted on a vertical support, waiting for 1 hour. The results obtained by the SPSS version 25 program. Results: The level of sediment in mm (mm) of the Westergren reference method modified using sodium citrate 3.2% is lower when compared to the alternative method using EDTA anticoagulant, with Z score: -5.29 ($p = 0.01$) and $R = 0.79$. Discussion: The International Council for Standardization in Hematology (ICSH), layouts that greatly differ

between Westergren's methods and those not based on Westergren. Conclusion: It is suggested to use the modified Westergren method when performing the exam. In addition, with the standardization of the best method of conducting the exam, it will generate better known results, reflecting positively on the hospital routine.

Keywords

Erythrocyte Sedimentation; Neoplasms; Hematologic Tests

REFERÊNCIAS

1. Collares GB, Vidigal PG. Recomendações para o uso da velocidade de hemossedimentação. Rev Med Minas Gerais 2004;14(1):52-7.
2. Grzybowski A, Sak J. A short history of the discovery of the erythrocyte sedimentation rate. Int J Lab Hematol. 2012;34(4):442-4.
3. Grzybowski A, Sak JJ. Who discovered the erythrocyte sedimentation rate? J Rheumatol. 2011;38(7):1521-2.
4. Dickinson, B. Avaliação da utilização de dois anticoagulantes e tempos diferentes para a realização do VHS, método Westergren. Sistema Vacutainer, 1998.
5. Bedell SE, Bush BT. Erythrocyte sedimentation rate. From folklore to facts. Am J Med. 1985;78(6 Pt 1):1001-9.
6. Janson L, Tischler M. The Big Picture: Medical Biochemistry. McGraw-Hill, editor 2012.
7. Batiivala SP. Focus on diagnosis: the erythrocyte sedimentation rate and the C-reactive protein test. Pediatr Rev. 2009;30(2):72-4.
8. Sox HC Jr., Liang MH. The erythrocyte sedimentation rate. Guidelines for rational use. Ann Intern Med. 1986;104(4):515-23.
9. Kratz A, Plebani M, Peng M, Lee YK, McCafferty R, Machin SJ, et al. ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. Int J Lab Hematol. 2017;39(5):448-57.
10. Romero A, Munoz M, Ramirez G. Length of sedimentation reaction in blood: a comparison of the test 1 ESR system with the ICSH reference method and the sedisystem 15. Clin Chem Lab Med. 2003; 41(2): 232-37.
11. Ozdem et al. Comparison of TEST 1 with SRS 100 and ICSH reference method for the measurement of the length of sedimentation reaction in blood. Clin Chem Lab Med. 2006; 44(4): 407-12.
12. Costa V, Moreli M. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. J Bras Patol Lab. 2012; 48(3): 163-168.
13. Hachem et al. Velocidade de hemossedimentação (vhs) sem diluição: metodologia confiável?. Visão Acadêmica. 2010, 11(2):67-74.
14. Merisio, P. M. Alff, F. A. Comparativo das Técnicas do Exame de Velocidade de Hemossedimentação (VHS) Descrita por Westergren com Citrato e a Usual com EDTA. NewsLab. Ed. 120, 2013.
15. Buck A, Velasquez PG, Düsman E. Análise comparativa das diferentes diluições para avaliação da velocidade de hemossedimentação-vhs. Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR, Umuarama, n.3, v.15, p. 213-218, 2011.

Correspondência

Tiago César Gouvêa Moreira

Fundação Cristiano Varella - Hospital do Câncer

Av. Cristiano Ferreira Varella, Bairro: Universitário, no. 555

E-mail: tiagoocesar@gmail.com