

Confronto di due sistemi automatici per la misura della velocità di eritrosedimentazione: Ves-Matic e Test 1

Giancarlo Fiorucci*, Luisa Camogliano**, Roberto Massacane**

*Direzione Sanitaria Ospedale Evangelico Valdese -Torino

**Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia ASL Novi-Acqui-Ovada

ABSTRACT

Comparison of two automated systems for the measurement of Erythrocyte Sedimentation Rate: Ves-matic and Test 1

The present study was performed to compare two methods for the measurement of Erythrocyte Sedimentation Rate, Ves-Matic and Test 1, with the classic Westergren method. The evaluation was performed by testing 102 blood samples; each sample was tested with the three methods. The results were assessed by both linear regression analysis and evaluation of the bias according to Bland and Altman, the latter method being considered to be more suitable for methods comparison. Our study confirms the excellent correlation between Ves-Matic and Westergren. The Test 1 system, on the other hand, showed a lower degree of agreement. Although the results obtained with this last instrument are within acceptable limits, the Ves-Matic instrument shows better correlation with the Westergren method, with a consequently lower risk of false positive or false negative results. The possibility that Test 1 measures sample properties having a different clinical meaning is discussed.

RIASSUNTO

Il presente studio è stato condotto allo scopo di confrontare due metodi automatici per la misura della velocità di eritrosedimentazione, il Ves-Matic e il Test 1, con il classico metodo Westergren. La valutazione è stata effettuata su 102 campioni di sangue, analizzando ciascun campione con i tre metodi. I risultati sono stati elaborati mediante regressione lineare e valutando il "bias" secondo Bland e Altman: quest'ultimo metodo è considerato il più adatto per il confronto di due metodi di analisi. Lo studio conferma l'eccellente accordo tra Ves-Matic e Westergren. Il Test 1 invece ha mostrato un grado di accordo inferiore. Sebbene i risultati ottenuti con questo ultimo strumento siano da considerare accettabili, lo strumento Ves-Matic per il suo migliore accordo con il metodo di Westergren (considerato metodo di riferimento) comporta un minore rischio di risultati falso positivi o falso negativi. Si discute la possibilità che il Test 1 misuri proprietà del campione di significato clinico differente.

INTRODUZIONE

La velocità di eritrosedimentazione (VES) risulta alterata in molte patologie infettive, infiammatorie e tumorali, nelle malattie autoimmuni e nel mieloma multiplo; può essere utilizzata nel monitoraggio dell'evoluzione di alcune patologie quali artrite reumatoide, LES, ecc. Sebbene manchi di specificità, il valore della VES è sempre di grande interesse diagnostico.

Il metodo per la misura della VES, originariamente proposto da Westergren (1), è relativamente semplice da eseguire ed è stato raccomandato con alcune modifiche (sostanzialmente con l'uso di campione di sangue non diluito) come metodo di riferimento da International Committee for Standardization in Haematology (ICSH) (2). Tuttavia il metodo non è automatico e la sua corretta esecuzione richiede molta attenzione; inoltre non è del tutto privo di rischi per l'operatore, in seguito alla possibilità di venire a contatto con i campioni di sangue.

Lo strumento Ves-Matic per la misura della VES prodotto da DIESSE (Monteriggioni, Siena, Italia) esegue l'esame in completa automazione ed è stato valutato in passato da molti autori (3, 4, 5), che hanno dimostrato l'accuratezza e la precisione del metodo, in grado di fornire valori in ottimo accordo con il metodo Westergren. Un altro strumento automatico che è comparso recentemente sul mercato, il sistema Test 1 (SIRE Analytical Systems, Udine, Italia), è stato valutato e giudicato molto accurato e preciso (6).

Si è perciò ritenuto interessante effettuare uno studio comparativo tra Ves-Matic e Westergren e tra Test 1 e Westergren, allo scopo di stabilire quale metodo sia in grado di fornire il miglior accordo con il metodo di riferimento.

MATERIALI E METODI

Le misure di VES sono state eseguite con i due stru-

menti automatici, Ves-Matic 20 e Test 1, seguendo le istruzioni per l'uso fornite dal fabbricante. Nel caso del Test 1 i campioni di sangue risultavano perciò anticoagulati con EDTA, senza apprezzabile diluizione, mentre per il Ves-Matic i campioni venivano diluiti con citrato (un volume di citrato di sodio 0.105 M per quattro volumi di sangue). Il citrato è contenuto nelle provette Vacu-Tec, per la raccolta del sangue sotto vuoto in modo da ridurre al minimo il rischio per l'operatore. Il metodo Westergren è stato eseguito secondo le raccomandazioni di ICSH (2), usando campioni di sangue diluiti con citrato.

La valutazione è stata effettuata su 102 campioni di sangue, analizzando ciascun campione con i tre metodi. I risultati ottenuti con i due strumenti sono stati confrontati con quelli forniti dal metodo Westergren sia mediante regressione lineare di seconda specie (7) sia con il metodo proposto da Bland e Altmann (8) (valutazione del "bias"), considerato particolarmente adatto per il confronto tra metodi analitici.

Quando si usa la regressione lineare per un confronto fra metodi analitici, si calcolano i parametri a e b dell'equazione $y = a+bx$ e il coefficiente di correlazione r con il metodo dei minimi quadrati. Poiché sia la x che la y sono potenzialmente affette da errore, una normale regressione non è adatta e si è preferito usare la regressione lineare di seconda specie (7), dove sia la x che la y sono considerate come potenzialmente affette da errore. Il metodo di Bland e Altmann analizza la distribuzione delle differenze tra i valori ottenuti con coppie di metodi; in caso di accordo tra i metodi, la media delle differenze (bias) deve essere zero. L'intervallo medio più o meno due deviazioni standard delle differenze rappresenta l'intervallo entro cui si trovano i valori, con 95% di probabilità. Questo intervallo (delimitato dai limiti di accordo) deve essere più ristretto possibile.

È inoltre molto importante che per ciascun valore del metodo di riferimento l'intervallo entro cui ricadono i rispettivi valori del metodo confrontato comprenda casi con equivalente significato clinico, altrimenti si troveranno campioni positivi con un metodo e negativi con l'altro.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I dati riportati nel presente lavoro confermano l'eccellente accordo, già riportato da altri (3, 4, 5), tra i metodi Ves-Matic e Westergren, come dimostrato analizzando i dati mediante regressione lineare di seconda specie (7) e

mediante valutazione del bias (8). La Figura I mostra il confronto dei risultati ottenuti con il metodo Westergren e con il metodo Ves-Matic, analizzati mediante regressione lineare di seconda specie. La Figura II mostra i risultati del confronto fra gli stessi dati con il metodo di Bland e Altman. Le Figure III e IV mostrano i risultati del confronto fra i metodi Westergren e Test 1. I parametri numerici fondamentali di tali confronti sono riportati nella Tabella 1.

Si deve osservare che il Test 1 usa campioni di sangue non diluiti, a differenza del Westergren che usa campioni diluiti (un volume di citrato per quattro volumi di sangue). Pertanto la relazione attesa fra VES nel campione non-diluito e VES nel campione diluito non è di uguaglianza come nel caso del confronto Ves-Matic/Westergren (figura I), ma i valori devono essere compresi nei limiti di accettabilità previsti da ICSH (2). Le due curve riportate in Figura III rappresentano i limiti di accettabilità del confronto fra un metodo che usa sangue diluito (asse delle x) e un metodo che usa sangue non diluito (asse delle y) secondo quanto previsto da ICSH (2). Da questa figura risulta chiaramente che molti valori forniti dallo strumento

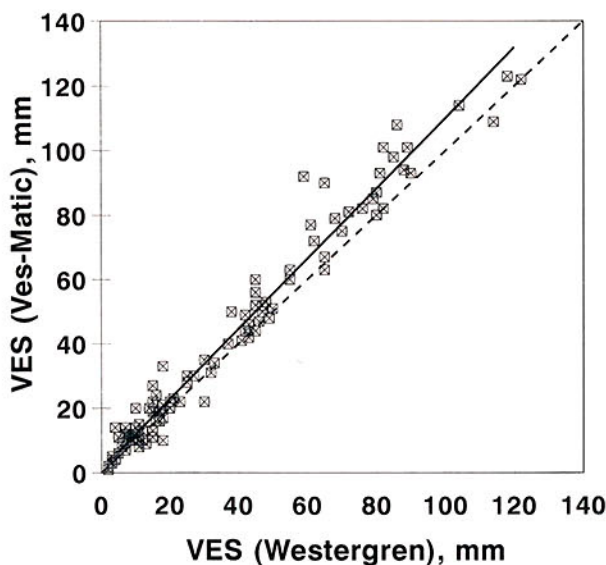


Figura I

Analisi mediante regressione lineare del confronto fra Westergren e Ves-Matic. La linea continua rappresenta la retta calcolata mediante regressione lineare di seconda specie, la linea tratteggiata rappresenta la retta di uguaglianza $y=x$

Tabella 1

Confronto dei sistemi automatici Ves-Matic e Test 1 con il metodo Westergren. Parametri numerici della analisi mediante regressione lineare (sistemi automatici: variabile dipendente; metodo di Westergren: variabile indipendente) e della analisi secondo Bland e Altman delle differenze (automatico - Westergren)

Sistema automatico confrontato	Parametri della regressione lineare			Parametri del metodo di Bland e Altman	
	a (mm)	b	r	Bias (mm)	Limiti di accordo (mm)
Ves Matic	1,13	1,09	0,983	4,4	-8,8 + 17,2
Test 1	6,85	1,05	0,884	8,8	-21,7 + 39,2

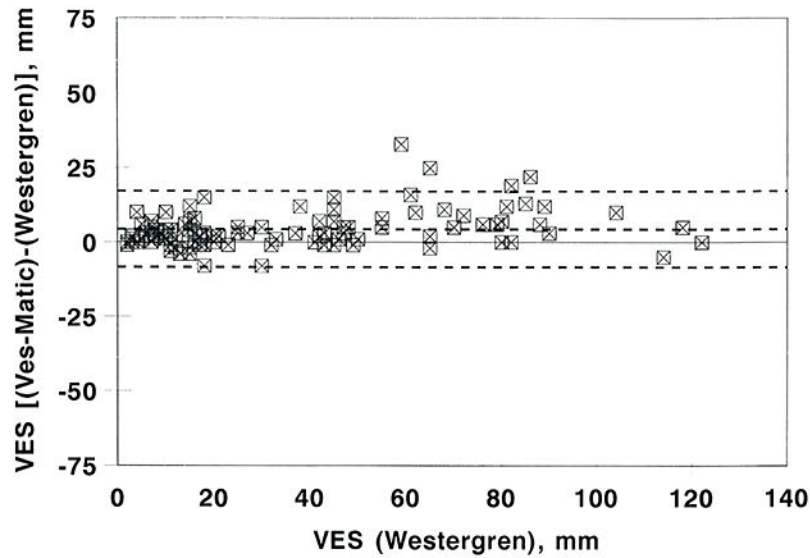


Figura II
 Analisi secondo Bland e Altman del confronto fra Westergren e Ves-Matic. Le tre linee tratteggiate rappresentano il bias (linea centrale) e i corrispondenti limiti di accordo (linea inferiore e linea superiore), la linea continua rappresenta la retta di uguaglianza (bias=0)

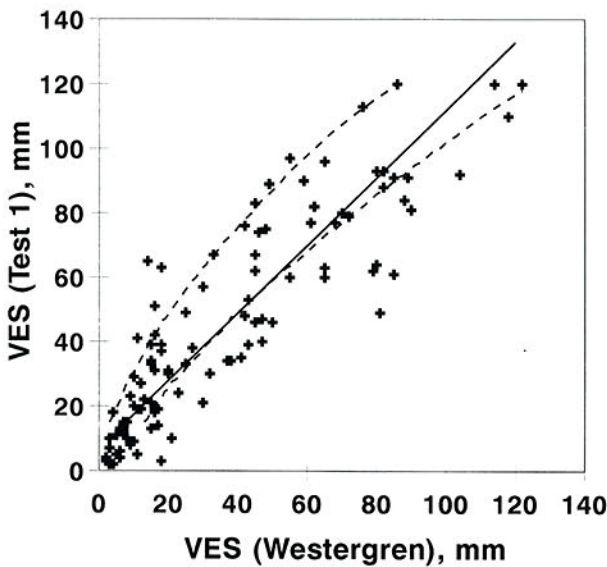


Figura III
 Analisi mediante regressione lineare del confronto fra Westergren e Test 1. La linea continua rappresenta la retta calcolata mediante regressione lineare di seconda specie, le due curve rappresentano i limiti di accettabilità secondo ICSH (riferimento bibliografico 2)

Test 1 sono al di fuori dei limiti di accettabilità.

I risultati ottenuti dimostrano che il Ves-Matic presenta un accordo con il metodo Westergren migliore di quello trovato con il Test 1, come mostrato soprattutto dal più alto valore del coefficiente di correlazione e dal valore più ristretto dei limiti di accordo del bias.

Plebani et al. (6) hanno eseguito un confronto fra Test

1, Ves-Matic e Westergren analogo a quello riportato nel presente lavoro. I risultati ottenuti da questi autori mettono in evidenza una correlazione significativa sia per il confronto fra Test 1 e Westergren sia per il confronto fra Ves-Matic e Westergren. Tuttavia un valore significativo del coefficiente di correlazione significa semplicemente che la relazione fra i dati non è del tutto casuale; ma quando si confrontano due metodi di analisi ci si aspetta una correlazione più alta possibile e non semplicemente un valore significativo: la bontà dell'accordo è meglio valutato mediante determinazione del bias, che non mediante la stima della regressione lineare. Gli autori citati mostrano risultati che essi considerano buoni ma secondo noi poco soddisfacenti sia per il confronto fra Ves-Matic e Westergren sia per il confronto fra Test 1 e Westergren, analizzando i dati sia mediante regressione lineare, sia mediante valutazione del bias. Al contrario il nostro lavoro evidenzia per il Ves-Matic un grado di accordo con il metodo di Westergren molto buono, migliore di quello presentato dal Test 1.

La possibile generazione di risultati falso positivi o falso negativi rappresenta un punto importante da tenere sotto controllo nel confronto tra metodi di analisi. Per quanto riguarda la determinazione della VES i valori di riferimento variano con l'età. Poiché i nostri campioni di sangue non erano classificati per età, abbiamo assunto un limite superiore dell'intervallo di riferimento uguale a 20 mm, considerando come potenzialmente patologici i campioni di sangue con VES > 20 mm. Con riferimento a tale valore soglia, come mostrato nella figura V, il confronto Ves-Matic/Westergren evidenzia una frequenza molto bassa di risultati falso positivi (5/102) e nessun falso negativo; il confronto Test 1/Westergren (figura VI) pre-

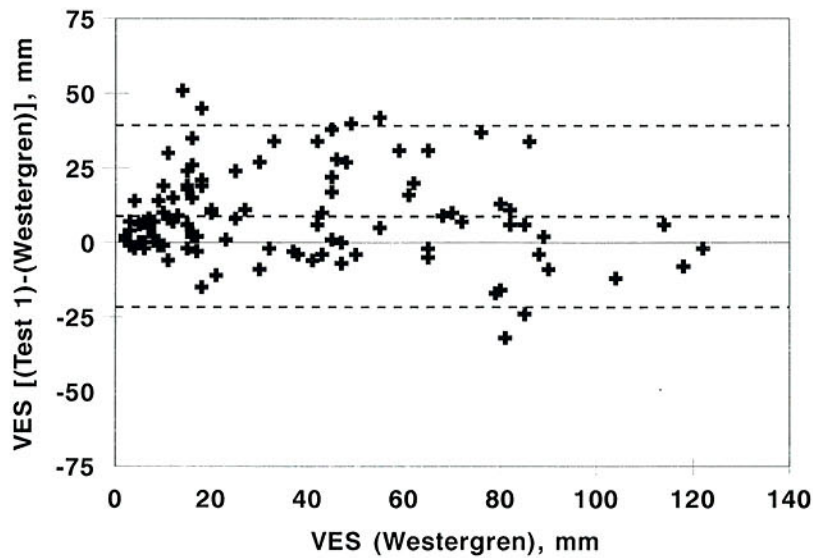


Figura IV

Analisi secondo Bland e Altman del confronto fra Westergren e Test 1. Le tre linee tratteggiate rappresentano il bias (linea centrale) e i corrispondenti limiti di accordo (linea inferiore e linea superiore), la linea continua rappresenta la retta di uguaglianza (bias=0)

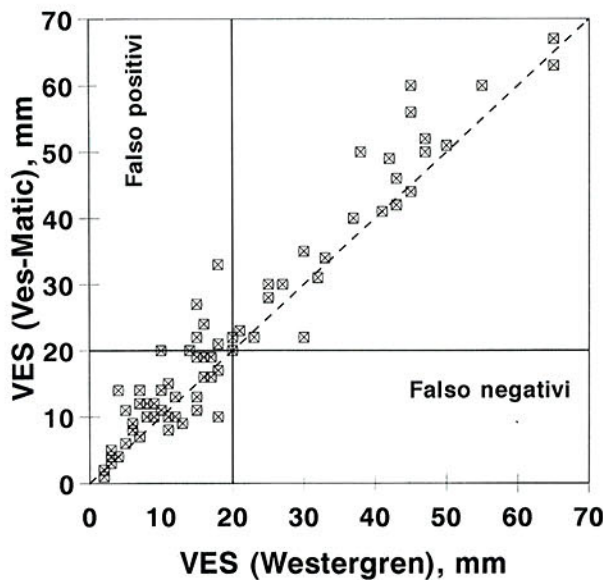


Figura V

Frequenza di risultati falso positivi e falso negativi nel confronto del metodo automatico Ves-Matic con il metodo di Westergren, con riferimento al valore soglia di 20 mm

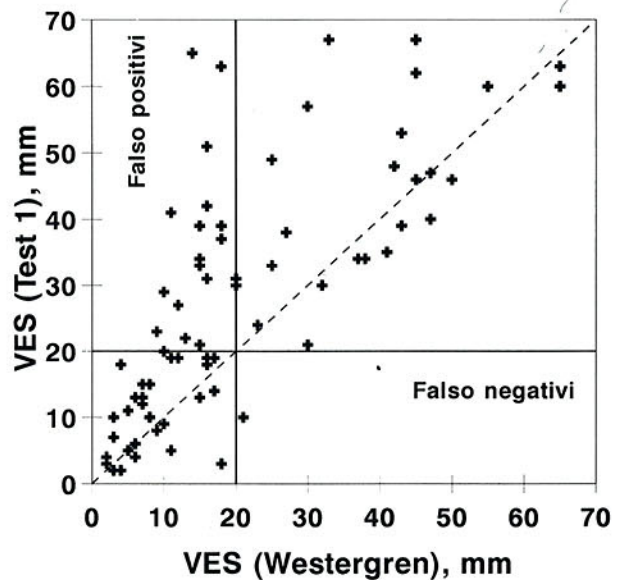


Figura VI

Frequenza di risultati falso positivi e falso negativi nel confronto del metodo automatico Test 1 con il metodo di Westergren, con riferimento al valore soglia di 20 mm

senta invece 16/102 falsi positivo e 1/102 falso negativo. I risultati cambiano poco assumendo valori di riferimento differenti. E' da notare inoltre come in alcuni casi l'errore presentato dal Test 1 sia particolarmente significativo: 3 campioni che con il metodo Westergren presentano valori di VES fra 10 mm e 20 mm, con il Test 1 mostrano valori superiori a 50 mm (Figura VI).

Lo scarso accordo evidenziato tra Test 1 e Westergren

piuttosto che essere imputabile a scarsa qualità analitica del metodo potrebbe indicare che il Test 1 misura differenti proprietà del campione. In questo caso si dovrebbe stabilire il significato clinico della proprietà misurata, che può essere importante ma differente da quella misurata dal metodo di Westergren.

In relazione all'utilizzo della misura della VES con metodi automatici nell'ambito del laboratorio clinico, è

anche da rilevare che per il sistema Ves-Matic è stato proposto e validato l'utilizzo di adatti materiali per un controllo giornaliero della qualità analitica (9).

Il confronto Ves-Matic/Test 1 è stato recentemente riesaminato criticamente da altri autori (10 - 12).

BIBLIOGRAFIA

- 1 Westergren A. Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis. *Acta Med Scand* 1920-1921; 54: 247-282
- 2 International Committee for Standardization in Haematology. ICSH Recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Pathol* 1993; 46: 198-203
- 3 Jou J M, Insa M J, Aymerch M, Vives Corrons J L. Evaluación de un sistema totalmente automático para realizar la velocidad de sedimentación globular. *Sangre* 1988; 33: 474-478
- 4 Koepke J A, Caracappa P, Johnson L. The evolution of Erythrocyte Sedimentation Rate Methodology. *Labmedica*, 1990; 22-24.
- 5 Caswell M, Stuart J Assesment of Diesse Ves-matic automated system for measuring erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Pathol* 1991; 44: 946-949.
- 6 Plebani M, De Toni S, Sanzari M C, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST 1 Automated system. A new method for measuring the Erythrocyte Sedimentation rate. *Am J Clin Pathol* 1999; 110: 334-340.
- 7 Deming W E. *Statistical Adjustment of Data*. John Wiley and Sons, New York, NY, 1943; 184.
- 8 Bland J M, Altman D G *Statistical methods for assessing agreement between two metods of clinical measurement*. *Lancet* 1986; 1: 307-310
- 9 Luraschi P, Morelli AM, Brambilla S, Franzini C. Valutazione di un nuovo materiale per il controllo di qualità della velocità di eritrosedimentazione. *Bioch Clin* 1999; 23: 398-403.
- 10 Giavarina D, Dall'Olio G, Soffiati G. Method Comparison of Automated Systems for the Erythrocyte Sedimentation Rate. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 721-722
- 11 Arezzini C, Ricci A. More Study Needed. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 722
- 12 Plebani M, Piva E. The Authors' Reply. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 723-724