

## Velocità di Eritrosedimentazione (VES): confronto tra VES – Matic Cube 80 e metodo manuale

*Erythrocyte sedimentation rate (ESR): comparison between VES-Matic Cube 80 and the manual method*

Maria Dolores Sofia · Stefania Zorco · Ferdinando Coghe

Ricevuto: 12 giugno 2011 / Accettato: 28 settembre 2011

© Springer 2011

**Riassunto** *Premesse.* La Velocità di Eritrosedimentazione (VES), esame semplice e aspecifico, rimane il parametro di laboratorio maggiormente utilizzato perché ancora considerato in particolar modo un affidabile marcatore di flogosi.

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di confrontare le prestazioni di VES-Matic Cube 80, analizzatore automatico per la misura della VES, con un metodo manuale tradizionale in uso nel nostro laboratorio che utilizza citrato di sodio come anticoagulante.

*Metodi.* Da febbraio ad aprile 2011 entrambi i metodi sono stati applicati a 357 campioni selezionati in modo

casuale da pazienti ricoverati e ambulatoriali. Per l'analisi statistica è stato utilizzato Microsoft Office Excel 2007. Per l'accuratezza sono stati presi in considerazione il coefficiente di correlazione, la regressione lineare, il t test per dati appaiati e il metodo di analisi dei dati di Bland-Altman per l'accuratezza totale e proporzionale. La precisione, invece, è stata valutata complessivamente con i *replicate tests* su 30 campioni così suddivisi: 10 con valori di VES  $\leq 20$  mm, 10 tra 21 e 40 mm e 10 superiori a 40 mm. L'analisi è stata eseguita 5 volte con entrambi i metodi, con un intervallo di un'ora tra ogni determinazione. Per l'elaborazione sono stati presi in considerazione le medie, le deviazioni standard (DS), l'intervallo di confidenza (IC), il coefficiente di variazione (CV) e per l'imprecisione totale e proporzionale dei *replicate tests* il metodo secondo Bland-Altman.

*Risultati.* L'analisi ha messo in evidenza una buona correlazione tra i due metodi ( $r = 0,91$ ) e un t test eccellente ( $P < 0,001$ ). Si è ottenuta una retta di regressione con pendenza di 0,955 e intercetta di +7,24. L'elaborazione dei dati secondo Bland-Altman per la valutazione dell'accuratezza ha mostrato un errore sistematico proporzionale rispettivamente di -4 mm per i valori medi  $\leq 20$  mm e di -8,9 mm per i valori  $> 40$  mm per assestare la media totale delle differenze a -5,89 mm con un IC totale della media delle differenze al 95% che varia tra +17,2 e -29,05 mm. Ciò indica che i valori di VES misurati dal VES-Matic Cube 80 possono variare rispetto al metodo manuale tra 17,2 mm e -29,05 mm.

M.D. Sofia · F. Coghe  
Laboratorio Analisi Ch. Cliniche e Microbiologia,  
Ospedale San Giovanni di Dio- AOU Cagliari

S. Zorco  
Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica,  
Università degli Studi di Cagliari, Cagliari

M.D. Sofia (✉)  
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia,  
Ospedale San Giovanni di Dio, AOU Cagliari,  
Via Ospedale 46  
09100 Cagliari  
Tel.: 070-6092224/2222/2219  
Fax: 070-6092224  
e-mail: mariadolo.sofia@virgilio.it

La ripetibilità del risultato nel tempo è assicurata con VES-Matic Cube 80 (valori intermedi: CV = 2,5%; DS = 0,55; 95% IC: da 0,33 a 1,57; valori alti: CV = 1,29; DS = 0,84; 95% IC da 0,5 a 2,4) mentre il metodo manuale ha mostrato una scarsa precisione (valori intermedi: CV = 28,5%; DS = 7,43; 95% IC da 4 a 21,31; valori alti: CV = 19,4%; DS = 11,10; 95% IC da 6,65 a 31,91). Anche l'imprecisione totale e proporzionale valutata con Bland-Altman ha confermato la *performance* migliore di VES-Matic.

**Conclusioni.** Con questo lavoro è stato possibile confrontare un metodo manuale con un sistema automatico. L'analisi statistica premia in modo sostanziale sia per l'accuratezza che per la precisione il VES-Matic Cube 80. La valutazione di accuratezza con l'analisi secondo Bland-Altman ha dimostrato un progressivo aumento del grado di dispersione verso i valori alti tra i risultati ottenuti con le due modalità; questa dispersione, invece, non è stata altrettanto messa chiaramente in evidenza con la regressione lineare; mentre la ripetibilità dei risultati nel tempo ha mostrato una stabilità eccellente per VES-Matic Cube 80 rispetto al metodo manuale con citrato di sodio. L'imprecisione totale e proporzionale dei *replicate tests* valutata secondo Bland-Altman dimostra che il metodo manuale non solo è più impreciso nei valori medio-alti ma è anche meno stabile nel tempo.

VES-Matic Cube 80 consente l'utilizzo di una metodologia standardizzata con un'unica provetta di sangue intero in EDTA e la determinazione della VES dalla stessa provetta per emocromo. Inoltre, il tempo di esecuzione è notevolmente ridotto: non più un'ora, ma solo 20 minuti.

I risultati ottenuti suggeriscono che l'analizzatore automatico VES-Matic Cube 80 è un sistema più accurato, preciso e affidabile rispetto al metodo manuale per la misurazione della VES nei laboratori clinici.

**Parole chiave** Velocità di Eritrosedimentazione · VES-Matic CUBE 80 · Metodo manuale

**Summary** Background. *Erythrocyte sedimentation rate (ESR), though simple and nonspecific, is still the most widely used laboratory test for monitoring the course of infection, inflammatory diseases and some types of cancer. The aim of this study was to compare the performance of the VES-Matic Cube 80, automated analyzer with the traditional manual method with sodium citrate as anticoagulant.*

**Methods.** *Both methods were applied to 357 randomly selected samples from inpatients and outpatients referred to our laboratory between February and April 2011. Correlation coefficient, linear regression, paired Student's t test and Bland-Altman method (for proportional and total accuracy) were examined to compare the*

*accuracy between the automated and the manual method. Precision was evaluated in randomly selected subsamples for the following ESR ranges (10 samples each): low ( $\leq 20$  mm), intermediate (21 to 40 mm) and high ( $> 40$  mm). In the latter case, five replications for each sample were performed with one-hour interval between measurements. Means, standard deviations (SD), 95% confidence interval (CI), coefficient of variation (CV) and Bland-Altman analysis (for proportional and total imprecision) were taken into account.*

**Results.** *Results with both methods were significantly correlated ( $r = 0.91$ ;  $P < 0.001$  on paired t test; slope = 0.955; intercept = +7.24). Bland-Altman analysis showed a systematic bias (-5.89 mm) with 95% CI of 17.2 to -29.05, indicating that ESR values measured by VES-Matic Cube 80 may be 17.2 mm above or -29.05 mm below the manual method. Results were highly replicable up to the 5<sup>th</sup> measurement with VES-Matic Cube 80 (CV = 2.5%; SD = 0.55; 95% CI = 0.33-1.57 for the intermediate ESR range; CV = 1.29; SD = 0.84; 95% CI = 0.5-2.4 for the high ESR range) but not with the manual method (CV = 28.5%; SD = 7.43; 95% CI = 4.45-21.31 for the intermediate ESR range; CV = 19.4%; SD = 11.10; 95% CI = 6.65-31.91 for the high ESR range).*

**Conclusions.** *Accuracy and precision with the VES-Matic Cube 80 were significantly better than with the manual method. Bland-Altman analysis revealed a wide degree of scattering between results obtained with the two ESR techniques, which was not clearly demonstrated using the linear regression analysis. Repeatability of results over time was significantly better with the VES-Matic. Advantages of VES-Matic Cube 80 compared to the manual method include a greatly reduced execution time (20 min compared to 60 min). Moreover, VES-Matic Cube 80 is a standardized methodology for ESR viable with a single cell blood counting tube with undiluted blood in EDTA.*

**Key Words** Erythrocyte sedimentation rate · VES-Matic CUBE 80 · Manual method

## Introduzione

La Velocità di Eritrosedimentazione (VES) è ancora oggi un parametro che, pur essendo non specifico, è ampiamente richiesto dai clinici perché ancora considerato soprattutto un affidabile marcatore di flogosi. Scopo del lavoro è stato quello di valutare la performance di VES-Matic Cube 80 e comparare i risultati con il metodo di lettura in manuale che utilizza come anticoagulante citrato di sodio.

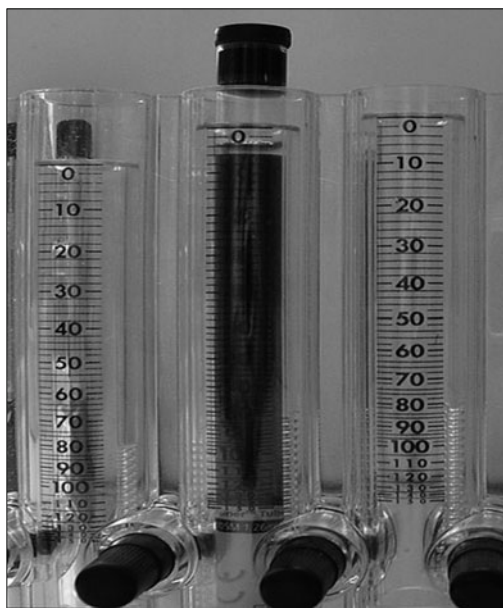
## Materiali e Metodi

Per la determinazione della VES in manuale sono state utilizzate provette BD Seditainer da 5 ml con citrato di sodio montate su supporto verticale (Fig. 1). La lettura visiva è stata effettuata sempre dallo stesso operatore dopo un'ora di sedimentazione. Range 2-120 mm/h. Per l'esecuzione sono state rispettate le raccomandazioni suggerite dal NCCLS per il metodo considerato di riferimento (metodo secondo Westergren). Queste prevedono in particolare la determinazione entro le 4 ore se il campione è a temperatura ambiente, l'agitazione del campione più volte per inversione per rompere eventuali *rouleaux* già presenti e il mantenimento verticale della colonna in luogo privo di vibrazioni.

Per la determinazione della VES in automatico è stato utilizzato l'apparecchio VES-Matic Cube 80 (DIESSE Diagnostica Senese, Siena, Italia) con lettura automatica con principio ottico, dopo 20 minuti in campioni anticoagulati con EDTA.

Presso il Laboratorio del San Giovanni di Dio - AOU Cagliari sono stati processati, da febbraio ad aprile 2011, con entrambi i metodi 357 campioni, selezionati casualmente da una popolazione sia di pazienti ospedalizzati che afferenti all'ambulatorio per esterni, annesso al Laboratorio.

Sono stati utilizzati sia campioni di sangue intero in provette con K3EDTA (BD System), sui quali è stato determinato prima l'emocromo su LH 750 (Coulter, Miami, Florida) e poi la VES su VES-Matic 80, che campioni di sangue diluito con citrato di sodio per la lettura della VES in manuale. I campioni prelevati al mattino e su paziente a digiuno sono stati testati con entrambe le modalità entro le 4 ore.



**Fig. 1** VES in manuale

Di tutti i campioni testati è stato preso in esame anche l'ematocrito come suggerito dalla letteratura [1].

I dati riportati su foglio elettronico sono stati elaborati e riportati in grafici e tabelle. È stata effettuata un'analisi sia demografica che statistica. Per l'elaborazione statistica è stato utilizzato Microsoft Office Excel 2007. Per la valutazione dell'accuratezza sono stati presi in considerazione il coefficiente di correlazione, le regressioni lineari [2-4], il t test per dati appaiati e il metodo di Bland-Altman [5-7]. La precisione dei metodi, intesa come ripetitività del risultato nel tempo, è stata valutata su 30 campioni con 5 "replicate tests" per campioni di VES  $\leq 20$  mm, tra 21-40 mm e  $>40$  mm [2, 5]. La VES è stata eseguita per 5 volte con entrambi i metodi a distanza di un'ora tra una determinazione e l'altra e il tempo intercorso dal prelievo al primo dosaggio era di circa 45 minuti.

Per la valutazione si sono presi in considerazione le medie, le deviazioni standard (DS), l'intervallo di confidenza (IC), il coefficiente di variazione (CV) e per l'imprecisione totale e proporzionale il metodo di Bland-Altman.

## Risultati

### Analisi demografica

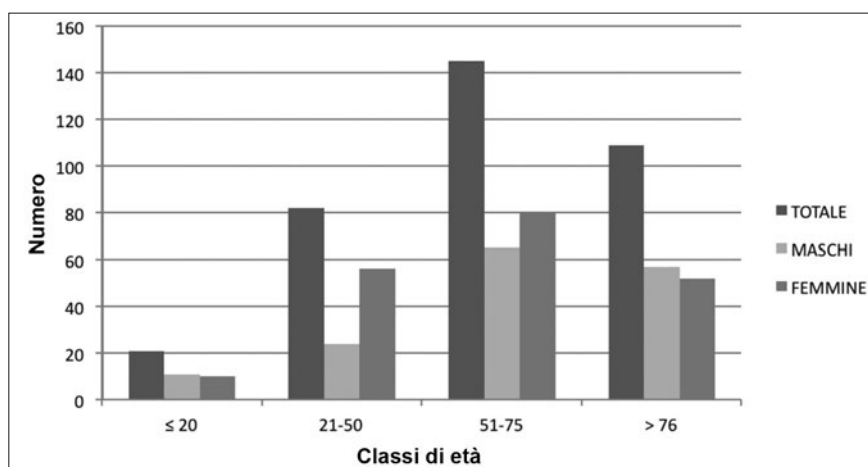
Dei 357 campioni esaminati 157 (44%) appartenevano a soggetti di sesso maschile, mentre 200 (56%) appartenevano a soggetti di sesso femminile. Il range di età era compreso tra 3 e 98 anni. I pazienti sono stati suddivisi per fasce di età e all'interno di queste per sesso (Tab. 1). La classe di età 51-75 anni è quella maggiormente rappresentata: nelle classi di età intermedie prevale il sesso femminile, al di sopra dei 76 anni prevale leggermente il sesso maschile. Il campione al di sotto dei 20 anni è esiguo. La distribuzione del campione per età rispecchia complessivamente l'età prevalentemente adulta e anziana dell'utenza che afferisce al San Giovanni di Dio (Fig. 2).

### Analisi statistica

Si sono calcolati alcuni parametri statistici relativi alle due serie di risultati ottenuti con i due metodi esaminati. I parametri analizzati sono riportati nella Tabella 2.

**Tabella 1** Suddivisione dei 357 soggetti per fasce di età e per sesso

Fasce di Età	Numero	%	Maschi	Femmine
$\leq 20$	21	6	11	10
21-50	82	23	24	58
51-75	145	41	65	80
$> 76$	109	30	57	52



**Fig. 2** Distribuzioni per classi di età e per sesso

**Tabella 2** Tabella riassuntiva dei parametri statistici relativi ai metodi esaminati

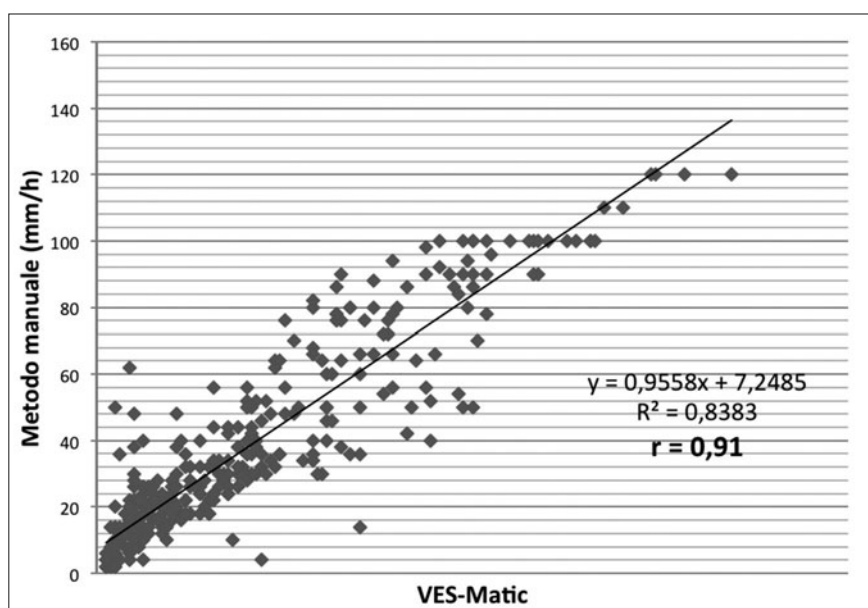
Parametri statistici	VES-Matic	Metodo manuale
Media	30,70	36,59
Deviazione Standard (DS)	28,03	29,26
Errore standard (ES)	1,48	1,55
Valore minimo	2	2
Valore massimo	135	120
Mediana	22	26
95% intervallo di confidenza (IC)	Da 27,78 a 33,61	Da 33,54 a 39,63
Numero totale (N)	357	357

### Accuratezza

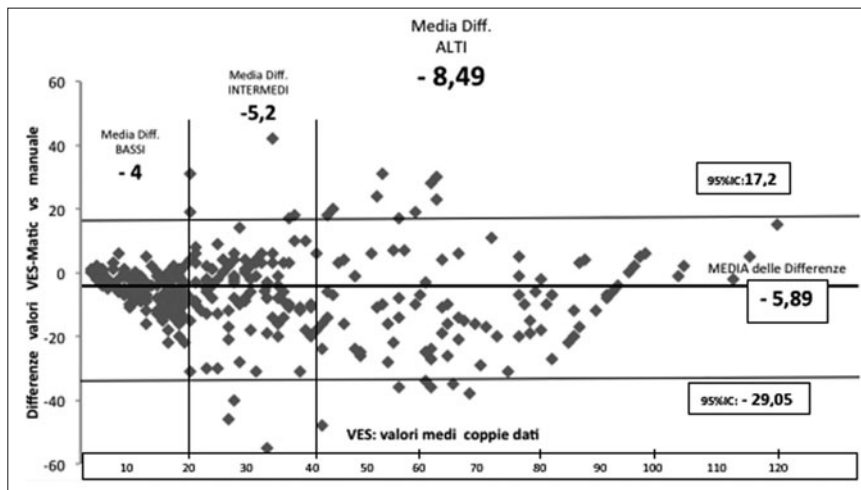
I risultati della regressione lineare sono mostrati in Figura 3. C'è una buona correlazione tra la misura della VES con VES-Matic e il metodo manuale ( $R^2 = 0,83$ ). Il coefficiente di determinazione ( $R^2$ ) esprime la "bontà" dell'equa-

zione calcolata. La regressione lineare ha una pendenza (*slope*) di 0,955 e l'intercetta è di +7,24. Il coefficiente di correlazione  $r$  è di 0,91. Il  $t$  test utilizzato per comparare due serie di risultati dello stesso parametro con metodi diversi è  $<0,001$  ( $P < 0,001$ ) e ciò esprime, secondo i criteri convenzionali, l'alta significatività statistica.

I risultati dell'elaborazione secondo il metodo Bland-Altman [2] sono riportati in Figura 4. La distribuzione si è ottenuta calcolando la media delle differenze (*bias*), e l'IC della media delle differenze. L'informazione più importante del grafico è fornita sia dal valore medio delle differenze (-5,89 mm) che dall'intervallo di confidenza della media delle differenze al 95% che varia tra +17,2 e -29,05 mm. Il test di Bland-Altman non è fondato su valori critici come per la significatività della capacità predittiva di  $R^2$  ma sul giudizio dell'esperto nella disciplina. Se la variazione della media entro l'intervallo di confidenza non è clinicamente importante i due metodi possono essere considerati intercambiabili.



**Fig. 3** VES-Matic vs metodo manuale: analisi accuratezza con regressione lineare



**Fig. 4** VES-Matic vs metodo manuale: analisi accuratezza totale e proporzionale secondo Bland-Altman. La linea centrale rappresenta la media delle differenze. La linea superiore e l'inferiore sono i limiti di accordo (IC, intervallo di confidenza al 95%). Le linee verticali suddividono i valori in 3 gruppi "bassi", "intermedi", "alti".

### Precisione

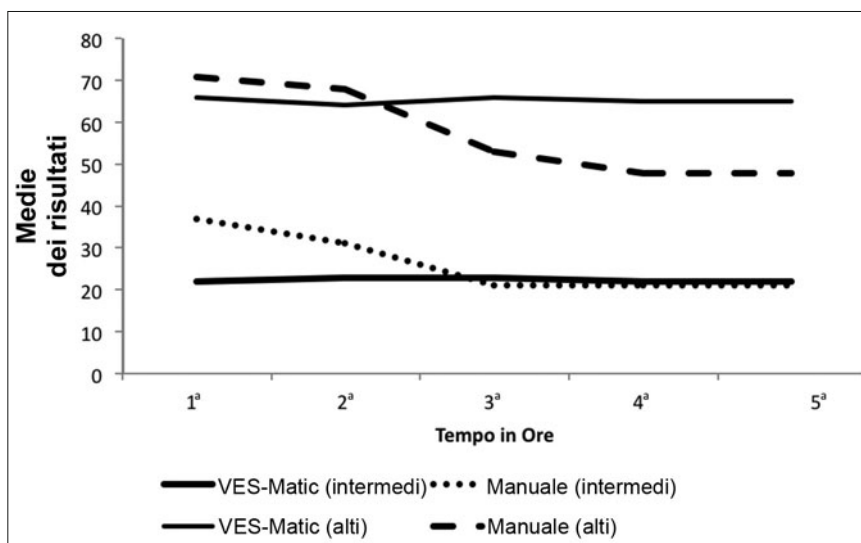
I 10 campioni con valori di VES  $\leq 20$  mm hanno confermato il risultato con entrambi i metodi. I 10 campioni con valori compresi tra 21–40 mm hanno confermato il risultato iniziale con VES-Matic sino al quinto *replicate test*, mentre con metodo manuale si è avuto un graduale decremento e, a partire dalla terza ora, si sono assestati sui valori iniziali corrispondenti di VES-Matic.

I 10 campioni con valori superiori a 40 mm con VES-Matic hanno confermato il valore iniziale sino alla quinta ora, mentre, con metodo manuale, si è avuto un decremento progressivo con stabilizzazione dei valori alla quarta ora, con risultati anche inferiori a quelli corrispondenti di VES-Matic. La riproducibilità e quindi la stabilità dei risultati nel tempo è confermata con VES-Matic mentre non lo è con il metodo manuale (Fig. 5). In Tabella 3 sono riportate le medie dei risultati alle diverse ore per gli intermedi (20–40 mm) e gli alti (>40 mm) e le relative DS, 95% IC e CV (%).

Inoltre per consentire una valutazione dell'imprecisione sia totale che proporzionale i dati analitici dei *replicate tests* sono stati elaborati secondo Bland-Altman sia nelle diverse ore di osservazione che nei tre gruppi (bassi, intermedi e alti). I risultati ottenuti sono riportati nelle Figure 6, 7 e 8 che rappresentano l'imprecisione totale e proporzionale dei 3 gruppi alla prima, terza e quinta ora. Sono stati inseriti nell'elaborazione le medie dei valori e le differenze per coppie di osservazione e per la realizzazione dei grafici sono state calcolate le medie delle differenze e i relativi IC.

### Discussione

La VES, parametro aspecifico [8], è usato per valutare lo stato di flogosi acuta e cronica in diverse patologie e per monitorare la risposta terapeutica in alcune di esse. Il metodo Westergren [9] utilizzato da più di 80 anni rimane il *gold standard* [5]. Molte variabili possono influenzare la VES e

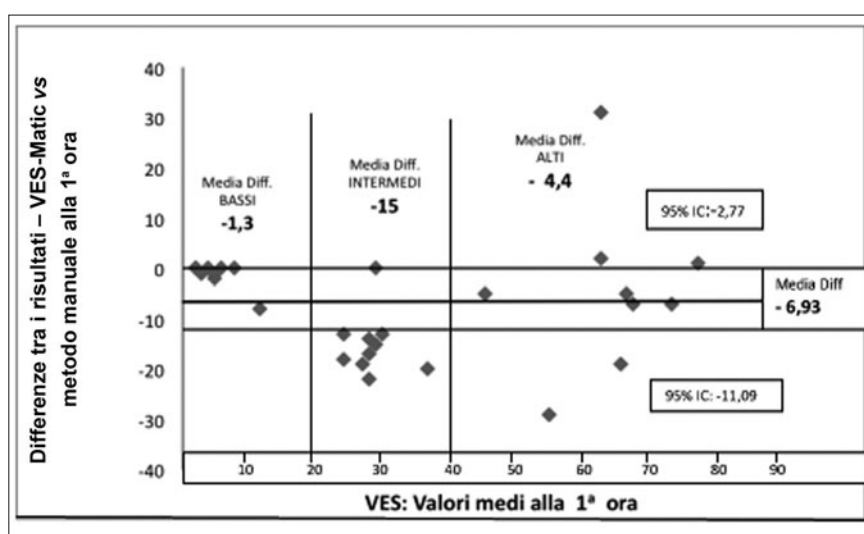
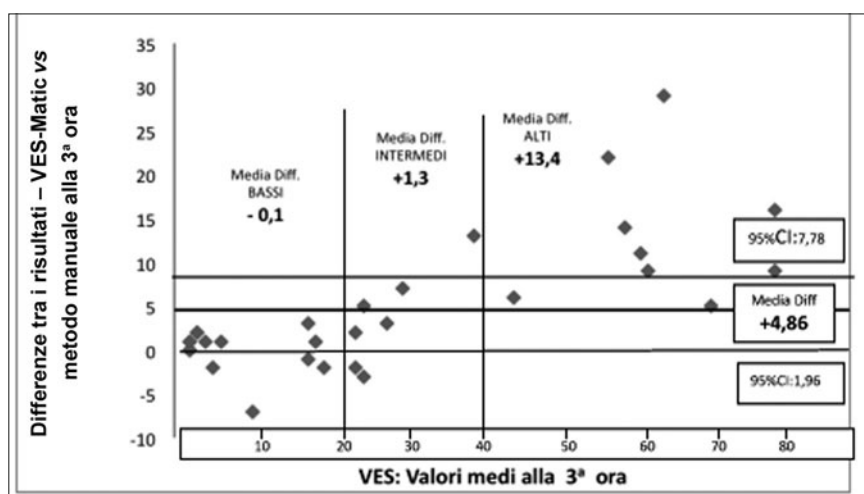


**Fig. 5** *Replicate tests* VES-Matic vs metodo manuale



**Tabella 3** Replicate tests: medie, deviazione standard (DS), intervallo di confidenza (IC) e coefficiente di variazione (CV)

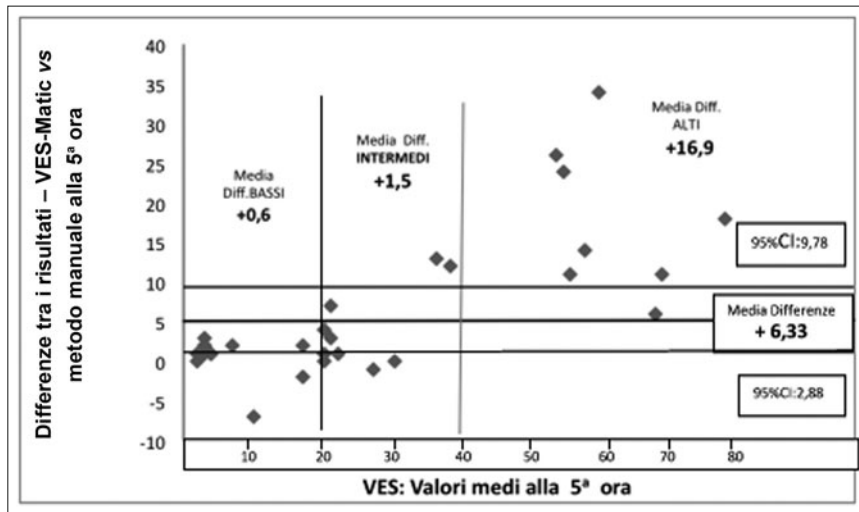
	Medie 1 <sup>a</sup> ora	Medie 2 <sup>a</sup> ora	Medie 3 <sup>a</sup> ora	Medie 4 <sup>a</sup> ora	Medie 5 <sup>a</sup> ora	Media	DS	95%IC	CV %
VES-Matic 20-40 mm	22	23	23	22	22	22	0,55	0,33 - 1,57	2,5
Manuale 20-40 mm	37	31	21	21	21	26	7,43	4,45 - 21,31	28,5
VES-Matic >40 mm	66	64	66	65	65	65	0,84	0,5 - 2,4	1,29
Manuale >40 mm	71	67	49	48	48	57	11,10	6,65 -31,91	19,4

**Fig. 6** VES-Matic vs metodo manuale: analisi dell'imprecisione totale e proporzionale dei replicate tests alla prima ora secondo Bland–Altman. La linea centrale rappresenta la media delle differenze. La linea superiore ed inferiore i limiti di accordo (IC: intervallo di confidenza al 95%). Le linee verticali suddividono i valori in 3 gruppi "bassi", "intermedi", "alti"**Fig. 7** VES-Matic vs metodo manuale: analisi dell'imprecisione totale e proporzionale dei replicate tests alla terza ora secondo Bland–Altman. La linea centrale rappresenta la media delle differenze. La linea superiore ed inferiore i limiti di accordo (IC: intervallo di confidenza al 95%). Le linee verticali suddividono i valori in 3 gruppi "bassi", "intermedi", "alti"

tra queste il sesso, l'età, l'anemia, i livelli di fibrinogeno e alcune variabili di laboratorio quali la temperatura [10].

L'analisi dei parametri statistici classici riportati in Tabella 2 relativi alla serie di risultati con i due sistemi messi a confronto, mette complessivamente in evidenza una minore variabilità per VES-Matic rispetto al metodo manuale: pertanto è più attendibile la stima dei valori statistici (medie, ecc.) VES-Matic. L'errore standard della serie VES-Matic (1,48) è più piccolo dell'errore stan-

dard del metodo manuale (1,55). L'intervallo di confidenza (IC) al 95% è più ristretto, anche se di poco, per VES-Matic con un margine di errore più contenuto. Complessivamente si rileva una buona correlazione fra i due metodi ( $r: 0,91$ ) e una significatività statistica eccellente ( $P < 0,001$ ) (1%). La retta di regressione lineare ( $y = 0,95; x = +7,24$ ) mostra una maggiore dispersione per i valori intermedi ma sostanzialmente ha un buon coefficiente di determinazione ( $R^2: 0,83$ ).



**Fig. 8** VES-Matic vs metodo manuale: analisi dell'imprecisione totale e proporzionale dei *replicate tests* alla quinta ora secondo Bland–Altman. La linea centrale rappresenta la media delle differenze. La linea superiore ed inferiore i limiti di accordo (IC: intervallo di confidenza al 95%). Le linee verticali suddividono i valori in 3 gruppi "bassi", "intermedi", "alti"

I risultati dell'elaborazione secondo il metodo Bland–Altman danno una visione più chiara della distribuzione. La media delle differenze (*bias*) mette in evidenza un errore sistematico e l'IC della media delle differenze ci dice che esiste un ventaglio troppo ampio. L'informazione più importante è fornita congiuntamente dal valore medio delle differenze (-5,89 mm) e dall'intervallo di confidenza della media delle differenze al 95% che varia tra +17,2 e -29,05 mm. L'elaborazione secondo Bland–Altman restituisce come dato complessivo della media delle differenze tra i due metodi un valore di -5,89 mm con un 95% IC compreso tra 17,2 mm e 29,05 mm, ma se si ricalcolano le medie delle differenze suddividendo i risultati in tre gruppi: bassi (valori medi  $\leq 20$  mm pari a 159 campioni su un totale di 357), intermedi (valori medi tra 21 e 40 mm per un totale di 92 campioni) e alti (valori medi  $> 40$  mm per un totale di 106 campioni) si nota che la media delle differenze tra i due metodi si amplifica con l'aumentare del valore. Si passa, infatti, da una media delle differenze di -4 mm per il gruppo che include i valori bassi a -8,49 mm per il gruppo che comprende i risultati superiori a 40 mm cioè praticamente il *bias* raddoppia. Ciò si può notare a colpo d'occhio nel grafico di Bland–Altman (Fig. 4) dove si osserva un addensamento dei dati in corrispondenza dei valori medi di VES  $\leq 20$  mm con assenza di valori oltre  $\pm 95\%$  IC. Invece, in corrispondenza dei valori intermedi (21–40 mm) si incomincia ad osservare, non solo una maggiore dispersione (media delle differenze di -5,2 mm), ma diversi risultati fuori da  $\pm 95\%$  IC, tendenza che permane anche nella fascia di valori tra 40 e 80 mm. Complessivamente si può affermare che il grafico mette in evidenza uno scostamento progressivo delle differenze tra i due metodi con l'aumentare dei valori pertanto l'accuratezza proporzionale valutata con analisi secondo Bland–Altman è migliore per i valori normali e intermedi. Queste considerazioni avrebbero anche un risvolto

clinico. Secondo gli autori, infatti, la differenza fra i due metodi sembrerebbe complessivamente poco o non influente sulle decisioni cliniche perché l'interpretazione del dato è fondato sul livello decisionale. Per stabilire se, dal punto di vista clinico, la differenza fra i due metodi è importante o meno gli autori stanno cercando di valutare quale dei due metodi correla meglio con altri parametri di infiammazione e in particolare con la proteina C reattiva (PCR) in pazienti selezionati. Si stanno valutando pazienti con diverse patologie ricoverati presso un reparto di medicina dove i clinici richiedono spesso, contestualmente all'ingresso e nel monitoraggio, entrambi i parametri. Secondo i risultati preliminari si è notato che, sui pazienti oggetto di questo lavoro, la VES eseguita con VES-Matic correla meglio con la PCR, dosata su analizzatore Olympus AU 640 con un test immuno-turbidimetrico, rispetto alla VES manuale nelle infezioni batteriche. Sono oggetto di un altro lavoro in corso di realizzazione le valutazioni su eventuali correlazioni nelle determinazioni singole, nei monitoraggi e su classi di patologie (malattie autoimmuni, tireopatie, ecc.). Per tale motivo gli autori ritengono ancora prematuro esprimere un parere definitivo soprattutto per le implicazioni che ciò potrebbe comportare dal punto di vista terapeutico.

Il *replicate test* (Fig. 5) dimostra abbastanza chiaramente che il metodo manuale non è stabile nel tempo, mentre le determinazioni eseguite in automatico con VES-Matic garantiscono la ripetitività della lettura. L'elaborazione dei tests replicati secondo Bland–Altman (Fig. 6, 7 e 8) mette in evidenza come al trascorrere delle ore si passa da una media delle differenze con valore negativo (-6,93 mm) a una media delle differenze di segno positivo (+6,33 mm). Questa inversione di tendenza avviene in modo decisivo alla terza ora. Ciò ribadisce il concetto messo in evidenza nella Figura 5 dove si può osservare, per le VES eseguite in manuale, un graduale abbassamento con tendenza alla sovrapposizione dei

valori intermedi alla terza ora e un'inversione di tendenza per il gruppo degli alti verso una stabilità dei valori eseguiti con VES-Matic. Nella Figura 5 si può inoltre notare che i valori discordanti alla prima determinazione in manuale nelle letture successive, si sono allineati a VES-Matic al terzo replicato per i valori intermedi, mentre per i risultati alti si sono addirittura assestati su valori più bassi rispetto ai corrispondenti VES-Matic. **Questa osservazione spiegherebbe, in parte, la non sovrapponibilità di alcuni dati nella curva di distribuzione.**

Inoltre, se si analizzano sempre secondo Bland-Altman le medie delle differenze nei diversi gruppi, si può evidenziare come queste sono pressoché sovrapponibili a tutte le ore nel gruppo dei valori bassi, mentre nel gruppo degli intermedi si passa da un *bias* di  $-15$  mm alla prima ora a  $+1,3$  alla terza ora e a  $+1,5$  alla quinta ora e nel gruppo dei valori alti si passa da  $-4,4$  alla prima ora a  $+13,4$  alla terza ora per arrivare a  $+16,9$  alla quinta ora. La media differenza dei valori alti alla quinta ora è il triplo della media complessiva: ciò si traduce nell'affermare che i *bias* totali sono notevolmente influenzati dai valori alti. Pertanto la valutazione dell'imprecisione proporzionale secondo Bland-Altman consente di affermare che il metodo manuale risulta nettamente più impreciso nei valori alti e che questa imprecisione penalizza fortemente il *bias* totale.

La lettura dopo un'ora della VES con il metodo manuale con provetta e supporto dedicato presenta numerose variabili, quali la presenza di operatori diversi, la diluizione del campione da parte dell'anticoagulante citrato di sodio (1:4), il posizionamento ed eventuali fonti di vibrazioni per il supporto, la temperatura, le variazioni intrinseche del campione e il tempo trascorso dal prelievo.

La lettura con VES-Matic [7, 11-17] rappresenta, invece, una proposta per automatizzare la determinazione, per ridurre il TAT e ottimizzare il flusso di lavoro. Con VES-Matic viene utilizzata la stessa provetta che si utilizza per l'emocromo, un campione non diluito e con EDTA, con la garanzia di una lettura standardizzata e con riduzione dei tempi di esecuzione (20 minuti).

In letteratura [1] si afferma che, con il metodo manuale con citrato, a causa della diluizione del campione, l'ematocrito basso influisce aumentando l'entità dell'errore sistematico. In questo lavoro si è rilevato che il 20% dei campioni raccolti hanno un ematocrito inferiore a 34. Di questo 20% solo il 18% ha valori di VES discordanti. Alla prima determinazione non è stata messa in evidenza variabilità legata all'ematocrito ma si sottolinea che non è stato possibile, su questi campioni, valutare nel tempo le eventuali variazioni.

In linea di massima i valori della VES sono più alti con il metodo manuale ma nel 14% dei campioni testati il valore VES-Matic è più alto.

Va ricordato che per confermare l'accuratezza e la precisione dei metodi è richiesto il confronto, per ciascuno di essi, col metodo di riferimento che è rappresentato a tutt'oggi, secondo ICSH, dal metodo di Westergren. Nel 2000 sono state pubblicate le raccomandazioni NCCLS/ICSH per stabilire la gerarchia dei metodi vecchi rispetto ai nuovi basando il confronto tra metodo di riferimento e metodo selezionato (o standardizzato secondo ICSH) definito come utilizzabile in *routine* e per stabilire un protocollo di valutazione e definirne i limiti di *performance*.

Il documento NCCLS include anche un elenco delle tecniche innovative. Sempre NCCLS/ICSH raccomanda l'uso di sangue intero prelevato in EDTA, di colonne di vetro (oppure plastica compatibile) di 200 mm di lunghezza e 2,55 mm di diametro, di mantenere le colonne verticali su apposito supporto e garantire una temperatura di  $18-25$  °C, mentre ribadisce che l'utilizzo del citrato di sodio come anticoagulante può portare ad errori nella diluizione del campione con conseguenti alterazioni del risultato finale (possibile formazione di aggregati se il sangue è eccedente o rapida disgregazione degli stessi se il sangue è insufficiente). L'EDTA presenta i seguenti vantaggi: riduce gli errori preanalitici di diluizione, favorisce la formazione dei *rouleaux* aumentando la stabilità cellulare, preservando la morfologia ed ovviando agli effetti non fisiologici sulle cellule, non interferisce con i meccanismi che guidano la sedimentazione e permette la conservazione del campione per oltre 24 ore se conservato a  $4$  °C.

## Conclusioni

Con questo lavoro è stato possibile confrontare un metodo manuale con un sistema automatico. L'elaborazione statistica sostanzialmente premia sia per l'accuratezza che per la precisione VES-Matic sottolineando che l'errore sistematico analizzato con il metodo di Bland-Altman non dovrebbe avere risvolti clinici. Rispetto al metodo manuale con citrato di sodio, VES-Matic Cube 80 permette l'utilizzo con metodologia standardizzata di un'unica provetta con sangue non diluito in EDTA per l'esecuzione sia della VES che dell'emocromo. Inoltre i tempi di esecuzione sono notevolmente diminuiti: non più un'ora ma soli 20 minuti.

**Conflitto di interesse** Nessuno



**Bibliografia**

1. Fabry TL (1987) Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. *Blood* 70:1572–1576
2. Happe MR, Battafarano DF, Dooley DP et al (2002) Validation of the Diesse Mini-Ves Erythrocyte sedimentation rate (ESR) analyzer using the Westergren ESR method in patients with systemic inflammatory conditions. *Am J Clin Pathol* 118: 14–17
3. Passing H, Bablok W (1983) A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. *J Clin Biochem* 21:709–720
4. Passing H, Bablok W (1984) Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part II. *J Clin Biochem* 22:4431–4455
5. Jou JM, Levis SM, Briggs C et al (2011) ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 33:125–132
6. Bland J M, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1:307–310
7. Fiorucci G, Camogliano L, Massacane R (2000) Confronto di due sistemi automatici per la misura della velocità di eritrosedimentazione: Ves-Matic e Test 1. *Biochimica Clinica* 24(3):175–179
8. Plebani M (2003) Erythrocyte sedimentation rate: innovative techniques for an obsolete test? *Clin Chem Lab Med* 41:115–116
9. Westergren A (1921) Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis. *Acta Med Scand* 54:247–282
10. Piva E, Sanzari MC, Servidio G et al (2001) Length of sedimentation reaction in undiluted blood (erythrocyte sedimentation rate): variation with sex and age and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 39:451–454
11. Curvers, J, Kooren J, Laan M et al (2010) Evaluation of the Ves-Matic Cube 200 Erythrocyte Sedimentation Method: Comparison with Westergren-Based Methods. *Am J Clin* 134(4):653–660
12. Caswell M, Stuart J (1991) Assessment of Diesse Ves-matic automated system for measuring erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Pathol* 44: 946–949
13. Mahlangu JN, Davids M (2008) Three-way comparison of methods for the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Lab Anal* 22: 346–352
14. Perovic E, Bakovic L, Valcic A (2010) Evaluation of Ves-Matic Cube 200 – an automated system for the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 32: 88–94
15. Thomas N, Karpic A (1993) An evaluation of the Diesse Diagnostica Ves-matic 20, an automated system for the determination of the erythrocyte sedimentation rate. *N Z J Med Lab Science* 47: 59–66
16. Clinical and Laboratory Standards Institute Reference and selected Procedure for erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) (2010) Test Draft Document 2010 5rs edn. H2-A5 CLSI, Villanova, PA
17. De Jonge N, Sewkaransing I, Slinger JJM (2000) Erythrocyte sedimentation rate by the Test 1 Analyzer. *Clin Chem* 46:881