

Usporedba određivanja brzine sedimentacije eritrocita na automatskom analizatoru SRS 100/II i ručno modificiranom Westergren metodom

Oroz, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:029839>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Helena Oroz

**Usporedba određivanja brzine sedimentacije
eritrocita na automatskom analizatoru SRS
100/II i ručno modificiranom Westergren
metodom**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Odjelu za hematološko-koagulacijsku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog zavoda za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Marije Grdić Rajković i suvoditeljstvom doc. dr. sc. Sandre Margetić. Za provođenje istraživanja korištena je oprema nabavljena kroz infrastrukturni znanstveni projekt „Modernizacija i proširenje znanstveno-istraživačke djelatnosti Kliničkog zavoda za kemiju pri KBC Sestre milosrdnice“ (KK.01.1.1.02-0014) Europskoga fonda za regionalni razvoj.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Mariji Grdić Rajković i komentorici doc. dr. sc. Sandri Margetić na prilici za izradu ovog rada te na stručnom vodstvu i nesebičnoj pomoći, susretljivosti, savjetima i dostupnosti koji su omogućili njegovo dovršenje. Također, zahvaljujem svim zaposlenicima Kliničkog zavoda za kemiju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice, s naglaskom na Francisku Tomić, spec. med. biokemije, koji su mi na bilo koji način pomogli prilikom izvođenja eksperimentalnog dijela.

Zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na neizmjernoj podršci, strpljenju i riječima utjehe tijekom cijelog studiranja. Zahvaljujem na svim zajedničkim trenucima, motiviranju i bodrenju, ali i slavljenju sveg lijepog što je obilježilo ovo petogodišnje putovanje, bez vas me put preko trnja ne bi doveo do zvijezda.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Sedimentacija eritrocita.....	1
1.2. Patofiziologija i klinički značaj sedimentacije eritrocita	2
1.3. Metode određivanja brzine sedimentacije eritrocita	4
1.3.1. Westergren metoda	5
1.3.2. Modificirane Westergren metode	6
1.3.3. Automatizirane metode.....	7
1.4. Verifikacija kvantitativnih metoda.....	8
2. OBRAZLOŽENJE TEME	9
3. MATERIJALI I METODE	10
3.1. Ručna modificirana Westergren metoda	10
3.2. Sed Rate Screener 100/II (SRS 100/II, Greiner Bio-One, GmbH, Austrija)	12
3.3. Usporedba metode s postojećim sustavom	13
3.3.1. Validacija spremnika s 3,2%-tnim natrijevim citratom (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR i 2,75 mL 4NC ESR).....	13
3.3.2. Usporedba ručne modificirane Westergren metode na graduiranom stalku i modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II.....	14
3.4. Provjera referentnih intervala.....	15
3.5. Statistička analiza.....	16
3.5.1. Ispitivanje ponovljivosti pomoću uzoraka.....	16
3.5.2. Izračun srednjeg odstupanja	17
3.5.3. Bland-Altmanova analiza	17
3.5.4. Passing-Bablokova regresijska analiza.....	18
4. REZULTATI.....	20
4.1. Statistička analiza rezultata razvrstanih u podskupine s obzirom na vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita, hematokrita i prosječnog volumena eritrocita	20
4.2. Rezultati validacije spremnika s 3,2%-tnim natrijevim citratom (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR i 2,75 mL 4NC ESR)	22
4.2.1. Rezultati statističke analize za spremnike volumena 1,5 mL (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR)	27
4.2.1.1. Bland-Altmanova analiza.....	27
4.2.1.2. Passing-Bablokova regresijska analiza	28
4.2.2. Rezultati statističke analize za spremnike volumena 2,75 mL (VACUETTE® Tube 2,75 mL 4NC ESR)	29

4.2.2.1. Bland-Altmanova analiza.....	29
4.2.2.2. Passing-Bablokova regresijska analiza	30
4.3. Rezultati ispitivanja ponovljivosti pomoću uzoraka	31
4.4. Rezultati usporedivosti ručne modificirane Westergren metode na graduiranom stalku i modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II.....	32
4.4.1. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta	33
4.4.1.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta.....	41
4.4.1.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta	42
4.4.2. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks.....	43
4.4.2.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks	46
4.4.2.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks	47
4.4.3. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta	48
4.4.3.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta.....	57
4.4.3.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta	58
5. RASPRAVA	59
6. ZAKLJUČAK	67
7. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA.....	68
8. LITERATURA	69
9. SAŽETAK/SUMMARY.....	72
9.1. Sažetak	72
9.2. Summary	73

1. UVOD

1.1. Sedimentacija eritrocita

Sedimentacija eritrocita proces je razdvajanja staničnog od plazmatskog dijela krvi na način da se eritrociti spuštaju na dno epruvete. Odvija se u tri faze, a započinje unutar prvih pet do deset minuta stvaranjem nakupina eritrocita u obliku novčića naslaganih jedan na drugi, tzv. *rouleaux* formacija. Nakon agregacijske faze, slijedi ključna faza koja određuje brzinu cjelokupnog procesa - sedimentacijska faza u kojoj eritrociti formiraju agregate te se izdvajaju iz otopine (Kovač, 1990). Posljednja faza, faza pakiranja, podrazumijeva pakiranje eritrocitnih agregata jedan do drugoga na dnu epruvete.

Eritrociti u svojoj membrani imaju sijalinsku kiselinu zbog koje su negativno nabijeni i međusobno se odbijaju. Odbijanje eritrocita u ravnoteži je s njihovim privlačenjem pod utjecajem van der Waalsovih elektrodinamičkih sila, čime se održava homeostaza krvi, odnosno njena homogenost. Stoga, promjene u sedimentaciji eritrocita ukazuju na promjenu ravnoteže gravitacijskih, elektrostatskih i viskoznih sila među sastojcima krvi (Kovač, 1990). U *in vitro* uvjetima, eritrociti agregiraju zbog veće gustoće u odnosu na plazmu. Nadalje, povećane koncentracije proteina velike molekularne mase, primarno proteina akutne faze (C-reaktivni protein, fibrinogen, α - i γ -globulini, antitripsin, haptoglobin, proteini komplementa, plazminogen), dovode do smanjenja ukupnog negativnog naboja membrane eritrocita (zeta potencijala, grč. ζ) čime se smanjuje odbijanje, odnosno udaljenost eritrocita i ubrzava proces sedimentacije. Budući da se dominantno radi o proteinima čije se koncentracije u plazmi povećavaju u prisutnosti upalnih procesa, određivanje brzine sedimentacije eritrocita koristi se upravo pri sumnji na njihovu prisutnost. S druge strane, proteini male molekularne mase, kao što su hemoglobin i albumin, osim ako nisu polimerizirali, neće potaknuti agregaciju eritrocita. Nadalje, polisaharidi i sintetski polimeri, ovisno o stupnju polimeriziranosti te molekularnoj masi, u različitoj mjeri mogu pozitivno utjecati na agregaciju eritrocita, povećavajući brzinu njihove sedimentacije (Armstrong i sur., 2004). Sedimentacija ovisi i o drugim čimbenicima, kao što su veličina i oblik eritrocita, ali i o njihovom broju. Na primjer, makrociti će brže sedimentirati u odnosu na mikrocite, ali i u odnosu na poikilocite budući da poikilociti, zbog neobične strukture, nisu u mogućnosti stvarati *rouleaux* formacije. Ovisnost sedimentacije eritrocita o njihovom broju obrnuto je proporcionalna, odnosno, što je veći broj eritrocita, brzina se smanjuje i obrnuto (McKenzie i sur., 2014).

1.2. Patofiziologija i klinički značaj sedimentacije eritrocita

John Hunter (1728.-1793.), britanski kirurg, prvi primjećuje promjenu sedimentacije eritrocita u prisutnosti bolesti (Tishkowski i Gupta, 2022). No, smatra se da je poljski liječnik Edmund Faustyn Biernacki (1866.-1911.) krajem 19. stoljeća otkrio njenu kliničku značajnost. Jedna je od njegovih najvažnijih spoznaja da brzina sedimentacije eritrocita ovisi o koncentraciji plazmatskog fibrinogena, odnosno da je u febrilnim bolestima, uključujući reumatsku groznicu, s visokim koncentracijama fibrinogena brzina sedimentacije povećana. Švedski hematolog Robert Sanno Fåhræus (1888.-1968.) uočio je porast brzine sedimentacije eritrocita u trudnoći te predvidio određivanje brzine sedimentacije eritrocita u svrhu dokazivanja trudnoće (Grzybowski, 2011).

Referentni intervali za brzinu sedimentacije eritrocita ovisni su o dobi i spolu. Za stanovnike Republike Hrvatske vrijede harmonizirane referentne vrijednosti Hrvatske komore medicinskih biokemičara (HKMB) iz dokumenta *Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije*, a prikazani su u Tablici 1 (Stavljenić Rukavina i Čvorišćec, ured., 2007).

Tablica 1. Referentni intervali za brzinu sedimentacije eritrocita

spol	dob	referentni interval	mjerna jedinica
muški, ženski	1 d.-7 g.	0-20	mm/3,6 ks
muški	8-14 g.	2-21	
muški	15-19 g.	2-12	
muški	20-50 g.	2-13	
muški	>50 g.	3-23	
ženski	8-19 g.	2-20	
ženski	20-50 g.	4-24	
ženski	>50 g.	5-28	

Promjena brzine sedimentacije eritrocita ukazuje na prisutnost akutne ili kronične upale i/ili tkivnog oštećenja. Zbog svoje nespecifičnosti ova se pretraga koristi u kombinaciji s drugim testovima za otkrivanje/praćenje upalne aktivnosti uzrokovane autoimunim bolestima, infekcijama ili tumorima. Brzina sedimentacije eritrocita veća je kod žena nego kod muškaraca uglavnom zbog manje koncentracije hemoglobina kod žena, odnosno zbog povećane koncentracije fibrinogena (<https://microbiologie-clinique.com/sedimentation-rate-esr.html>).

Također, starenjem, utjecajem stresa i povećanjem tjelesne temperature dolazi do njenog porasta (Tishkowski i Gupta, 2022; Kovač, 1990). Osim u trudnoći, akutnim i kroničnim infekcijama, tumorima (multipli mijelom, Hodgkinov limfom, Waldenströмова makroglobulinemija) i autoimunim bolestima (reumatoidni artritis, sistemski eritemski lupus, sistemski vaskulitis), do porasta brzine sedimentacije eritrocita može doći i kod akutnog koronarnog sindroma, osteomijelitisa, bolesti štitne žlijezde i bubrega te anemije (Tishkowski i Gupta, 2022; McKenzie i sur., 2014). I druga klinička stanja koja imaju proupalni učinak, kao što su pretilost i metabolički sindrom, mogu povećati brzinu sedimentacije eritrocita. Također, prekomjerna i kronična konzumacija alkohola ima proupalno djelovanje, tako da brzina sedimentacije može biti povećana i kod osoba s alkoholnom bolesti jetre (Alende-Castro i sur., 2019).

Osim porasta brzine sedimentacije eritrocita, postoje čimbenici koji dovode do njenog smanjenja. Povećan broj crvenih krvnih stanica u policitemiji rubri veri povećava viskoznost krvi te otežava spuštanje *rouleaux* formacija na dno epruvete i na taj način dovodi do smanjenja brzine sedimentacije (Tishkowski i Gupta, 2022). Hereditarna sferocitoza i anemija srpastih stanica također su stanja u kojima će, zbog promijenjenog oblika eritrocita i otežanog stvaranja *rouleaux* formacija, biti usporena sedimentacija. Smanjenje brzine sedimentacije eritrocita također je prisutno i u patološkim stanjima praćenima hipofibrinogenemijom, budući da je fibrinogen jedan od proteina akutne faze koji ubrzava sedimentaciju. Tjelesna aktivnost ima antiupalno djelovanje te negativno korelira s koncentracijom C-reaktivnog proteina, to jest povećanjem tjelesne aktivnosti, njegova se koncentracija smanjuje, što dovodi do smanjenja brzine sedimentacije eritrocita. Također, blaga do umjerena konzumacija alkohola povezana je sa smanjenjem koncentracije C-reaktivnog proteina pa je brzina sedimentacije eritrocita smanjena kod osoba koje konzumiraju vrlo malu količinu alkohola (Alende-Castro i sur., 2019).

Osim fizioloških i patoloških stanja koja dovode do promjene u brzini sedimentacije eritrocita, brzina se može mijenjati i pod utjecajem brojnih vanjskih i interferirajućih čimbenika. Tako, na primjer, povišena sobna temperatura ili izravna izloženost sunčevim zrakama mogu dovesti do povećanja brzine sedimentacije zbog smanjenja viskoznosti. Izloženost uzoraka vibracijama ili prisutnost mjehurića u spremniku također može povećati brzinu sedimentacije (Tishkowski i Gupta, 2022).

Budući da je promjena brzine sedimentacije eritrocita podložna raznim fiziološkim i patofiziološkim utjecajima te ne daje podatke o uzroku oštećenja ili upale tkiva, već samo upućuje na njihovu prisutnost, nedovoljno je specifičan test za postavljanje dijagnoze. Usprkos tomu, i dalje je česta pretraga u svakodnevnom radu laboratorija te se danas određuje kao jedan od dijagnostičkih kriterija reumatoidnih bolesti (reumatoidni artritis, polimialgija reumatika, temporalni arteritis) kao i za praćenje terapije i određenih upalnih poremećaja (Lapić i sur., 2019; Kratz i sur., 2017).

1.3. Metode određivanja brzine sedimentacije eritrocita

Prilikom određivanja brzine sedimentacije eritrocita, potrebno je zadovoljiti predanalitičke i analitičke zahtjeve te se upoznati s čimbenicima koji utječu na rezultate mjerenja, kako bi se osigurala pouzdanost rezultata. Na primjer, uzorak se mora analizirati unutar deklariranog razdoblja stabilnosti uzorka (stabilnost uzorka je 6 sati na sobnoj temperaturi, 20-25 °C) zbog mogućnosti promjene oblika eritrocita, što može dovesti do smanjenja brzine njihove sedimentacije. Zgrušani uzorci također nisu prikladni budući da inhibiraju stvaranje *rouleaux* formacija. Ikterični i hemolitični uzorci mijenjaju boju plazme i tako otežavaju očitavanje razine do koje su eritrociti sedimentirali (Tishkowski i Gupta, 2022).

Nekoliko je različitih metoda mjerenja brzine sedimentacije eritrocita. Najstarija, ali ujedno do danas i referentna metoda određivanja je Westergren metoda. Novije metode uključuju različite modifikacije Westergren metode. Do prije dvadesetak godina ova se pretraga izvodila isključivo ručno, a u posljednje vrijeme su, zbog višestrukih prednosti, sve zastupljenije poluautomatizirane i automatizirane metode, koje se temelje na modificiranoj Westergren metodi, ali i na nekim novijim pristupima kao što su centrifugiranje, kapilarna fotometrijsko-kinetička tehnologija i fotometrijska reologija.

Osnovne značajke automatiziranih u odnosu na ručne metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. Usporedba automatiziranih i ručnih metoda za određivanje brzine sedimentacije eritrocita

AUTOMATIZIRANE METODE	RUČNE METODE
manji biološki rizik	veći biološki rizik
manji volumen uzorka	veći volumen uzorka
kraće vrijeme analize	dulje vrijeme analize
manja mogućnost ljudske greške	veća mogućnost ljudske greške
manji utjecaj vanjskih čimbenika (temperatura, prašina)	veći utjecaj vanjskih čimbenika (temperatura, prašina)
analiza uzorka u epruveti s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) ili natrijevim citratom kao antikoagulansom	analiza uzorka u epruveti s natrijevim citratom kao antikoagulansom
upotreba zatvorenih sustava	upotreba zatvorenih i otvorenih sustava
manji trošak	veći trošak
mogućnost povezivanja u laboratorijski informatički sustav/bolnički informatički sustav	ručni unos podataka u laboratorijski informatički sustav/bolnički informatički sustav

1.3.1. Westergren metoda

1921. godine švedski internist Alf Vilhelm Albertsson Westergren (1891.-1968.) osmislio je metodu za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita. Test se još naziva i Fåhræus-Westergren (FW) test prema švedskom hematologu koji je sudjelovao u njegovom kreiranju, a danas je i dalje vrlo često korištena metoda (Tishkowski i Gupta, 2022). Prema smjernicama Međunarodnog vijeća za standardizaciju u hematologiji (engl. *International Council for Standardization in Haematology*, ICSH) i Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (engl. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI) Westergren metoda zlatni je standard (referentna metoda) za određivanje brzine sedimentacije eritrocita (Kratz i sur., 2017).

Metoda se izvodi iz uzorka venske krvi uzorkovanog u epruvetu s 3,8%-tnim natrijevim citratom kao antikoagulansom u omjeru krvi i antikoagulansa 5:1. Nakon pravilnog miješanja

uzorka, u epruvetu se postavlja graduirana, standardizirana Westergren-Katzova cjevčica. Pod utjecajem kapilarnih sila, krv se u cjevčici podiže do oznake „0“ na vrhu cjevčice. Epruvete se postave okomito na odgovarajući stalak, a tijekom 60 minuta eritrociti će, pod utjecajem gravitacijske sile, sedimentirati na dno epruvete te će iznad njih ostati tekući dio krvi, odnosno plazma. Nakon 60 minuta očitava se razlika u milimetrima između meniskusa plazme i vrha stupca sedimentiranih eritrocita, što odgovara brzini sedimentacije eritrocita koja se izražava u milimetrima po satu (mm/h) (Tishkowski i Gupta, 2022; McKenzie i sur., 2014).

1.3.2. Modificirane Westergren metode

Modificirane Westergren metode temelje se na Westergren metodi. Modifikacije metode odnose se na vrijeme trajanja analize ili vrstu spremnika (volumen, antikoagulans). Učestale su u laboratorijskoj praksi, a osmišljene su s ciljem nadilaženja ograničenja koja ima referentna metoda. Modificirane metode mjere početni korak sedimentacije eritrocita koji obuhvaća stvaranje *rouleaux* formacija pa je trajanje analize kraće. Većina ih koristi mjerenje kraće od 60 minuta, ali dobivene rezultate matematički ekstrapolira na 60 minuta. Osim toga, mogu se koristiti epruvete s EDTA antikoagulansom čime se smanjuje učinak razrjeđenja natrijevim citratom. Također, mogu se koristiti zatvoreni sustavi, tj. oni u kojima nije potrebno odčepiti epruvetu, i manji volumeni krvi. Mogu se izvoditi ručno ili na automatskim analizatorima. Iako neke studije pokazuju odličnu korelaciju između modificirane i Westergren metode te bolju preciznost modificiranih metoda u odnosu na referentnu, različito su osjetljive na određena patofiziološka stanja (Shapkaitz i sur., 2018).

1.3.3. Automatizirane metode

Automatizirane metode postaju dostupne 1990-ih godina te su danas vrlo zastupljene u laboratorijskoj praksi zbog sveprisutne potrebe za smanjenjem troškova i povećanjem sigurnosti pacijenata i zaposlenika. Automatizirani način određivanja brzine sedimentacije eritrocita omogućuje standardizaciju mjerenja – povećanjem točnosti i reproducibilnosti povećava se i pouzdanost rezultata, što je važno za donošenje odgovarajuće kliničke odluke za pacijenta (Lapić i sur., 2019; McKenzie i sur., 2014). U skladu s tim, ICSH i CLSI 2010. i 2011. godine izdaju nove preporuke prema kojima se svaka nova metoda ili uređaj prije uvođenja u kliničku rutinu mora usporediti s referentnom Westergren metodom te da su klinički značajni samo oni sustavi koji daju rezultate nakon 60 minuta ili su preračunati na 60 minuta. Nadalje, proizvođačima je preporučeno prilaganje podataka o pouzdanosti, točnosti, kalibraciji i kontrolama (Kratz i sur., 2017).

Princip mjerenja automatskih analizatora može se temeljiti na modificiranoj Westergren metodi, ali i na nekim novijim pristupima kao što su centrifugiranje, kapilarna fotometrijsko-kinetička tehnologija i fotometrijska reologija. Analizator ESR STAT PLUS (HemaTechnologies, Lebanon, NJ) koristi centrifugiranje uzorka krvi u epruveti s EDTA antikoagulansom, nakon čega nizom optičkih očitavanja sučelja eritrocit-plazma određuje brzinu sedimentacije eritrocita. Uređaj iSED (Alcor Scientific, Smithfield, SAD) radi po principu fotometrijske reologije; mjeri intenzitet transmitirane ili reflektirane svjetlosti, ovisan o veličini i broju eritrocita, u ovisnosti o vremenu tijekom sedimentacije eritrocita u uzorku (Baskurt i Uyklu, 2009). Nadalje, analizator Roller 20 LC (Alifax, Polverara, Italija) koristi kapilarnu fotometrijsko-kinetičku tehnologiju; nakon što se mali volumen uzorka krvi iz epruvete s EDTA antikoagulansom stavi u cjevčicu, ubrzava se pomoću „kruga zaustavljenog protoka“ te dolazi do sedimentacije eritrocita (Kratz i sur., 2017). Kod većine analizatora rezultati se dobiju nakon 20 do 30 minuta, ali se preračunavaju te izražavaju u mm/h. Neke metode ne mjere sve faze sedimentacije eritrocita, nego na temelju početne faze stvaranja *rouleaux* formacija izračunavaju brzinu, stoga mogu biti prisutne razlike u rezultatima u odnosu na referentnu metodu. Također, mogu imati različitu osjetljivost na interferencije, anemiju i pojedine stadije bolesti (Tashkowski, 2022; Kratz i sur., 2017; McKenzie i sur., 2014).

1.4. Verifikacija kvantitativnih metoda

Verifikacija je postupak provjere analitičkih karakteristika metode, odnosno utvrđivanje istinitosti podataka navedenih u deklaraciji proizvođača. Provodi se pri uvođenju nove metode u rutinski rad (novi analizator ili reagens), kod postojećih problema s već uvedenom metodom te kada laboratorij koristi više analitičkih sustava ili usluge drugih laboratorija. Prvi korak verifikacije podrazumijeva oblikovanje verifikacijskog protokola. Koje će se značajke metode obuhvatiti protokolom ovisi o analizatoru na kojemu se metoda provodi te njenoj kliničkoj primjeni, a odluka se donosi na temelju podataka iz literature te dostupnih smjernica i preporuka. Prema definiranom protokolu provodi se eksperimentalno ispitivanje pojedinih karakteristika metode, prikupljeni podaci statistički se obrađuju te se na temelju unaprijed odabranih kriterija prihvatljivosti donosi odluka o prikladnosti metode u okviru svakodnevne rutinske upotrebe za donošenje klinički značajnih odluka za pacijenta. Kriteriji prihvatljivosti odabiru se u skladu s posebnostima i kliničkom značajnošću pojedine metode. Može ih biti više, a izvor kriterija može biti deklaracija proizvođača, kriterij vanjske procjene kvalitete, klinički značaj, biološka varijabilnost te novija literatura.

Verifikacija uvođenja nove metode (inicijalna verifikacija) uključuje:

- a) ispitivanje preciznosti (ponovljivost, unutarlaboratorijska preciznost, povećana mjerna nesigurnost),
- b) usporedbu metode s postojećim analitičkim sustavom (samo za pretrage koje su već bile u primjeni, za nove nije primjenjivo),
- c) ispitivanje linearnosti (kada je primjenjivo),
- d) ispitivanje (ocjenu) referentnih intervala.

Za pretrage kojima je to klinički značajno, potrebno je ispitati i ponovljivost pomoću uzoraka, prijenos analita te provjeriti slijepu probu, granice detekcije i kvantifikacije.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

U Kliničkom bolničkom centru (KBC) Sestre milosrdnice koriste se spremnici VACUETTE® Tube 4NC ESR s 3,2%-tnim natrijevim citratom volumena 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita. Pri Kliničkom zavodu za kemiju brzina sedimentacije eritrocita iz tih spremnika određuje se pomoću referentne Westergren metode. Zbog ukidanja proizvodnje navedenih spremnika od strane proizvođača i zamjene postojećih spremnika novim (VACUETTE® Tube 4NC ESR s 3,2%-tnim natrijevim citratom volumena 1,5 mL i 2,75 mL), cilj je prvog dijela ovog rada provesti verifikaciju novih spremnika, a potom i uvesti modificiranu Westergren metodu koja se može izvoditi ručno pomoću graduiranog stalka, kao i automatiziranom metodom na analizatoru Sed Rate Screener 100/II (SRS 100/II, Greiner Bio-One, BmbH, Austrija). Neizbježan korak prije nego li se na Zavodu za kliničku kemiju počne koristiti samo automatizirana modificirana Westergren metoda za određivanje brzine sedimentacije eritrocita provedba je usporedbe nove metode (automatizirane modificirane Westergren metode na SRS 100/II analizatoru) s prethodno korištenom (ručnom modificiranom Westergren metodom na graduiranom stalku) metodom.

Cilj rada: usporedba automatizirane modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Austrija) sa ručnom modificiranom Westergren metodom na graduiranom stalku

Specifični ciljevi rada:

- a) validacija spremnika s 3,2%-tnim natrijevim citratom (VACUETTE® Tube 4NC ESR volumena 1,5 mL i 2,75 mL),
- b) usporedba ručne modificirane Westergren metode na graduiranom stalku i modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II,
- c) ispitivanje ponovljivosti pomoću uzoraka,
- d) donošenje odluke o uvođenju automatizirane metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita u rutinski rad laboratorija na temelju dobivenih rezultata.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Ručna modificirana Westergren metoda

Ručna modificirana Westergren metoda zahtijeva upotrebu graduiranih stalaka na koje se spremnici postavljaju u okomiti položaj. Prije postavljanja uzorka na stalak, potrebno ga je dobro homogenizirati okrećući spremnik za 180° osam do deset puta. Ovisno o veličini spremnika, koristi se stalak za spremnike volumena 1,5 mL (Slika 1a), odnosno stalak za spremnike volumena 2,75 mL (Slika 1b). Nakon postavljanja uzorka na stalak, uključuje se zaporni sat. Za spremnike volumena 1,5 mL rezultat se očitava nakon 30 minuta, a za spremnike volumena 2,75 mL nakon 60 minuta tako da se meniskus plazme postavi u razinu oznake „0“ i očitava se stupac do kojeg su eritrociti sedimentirali (Slika 2).

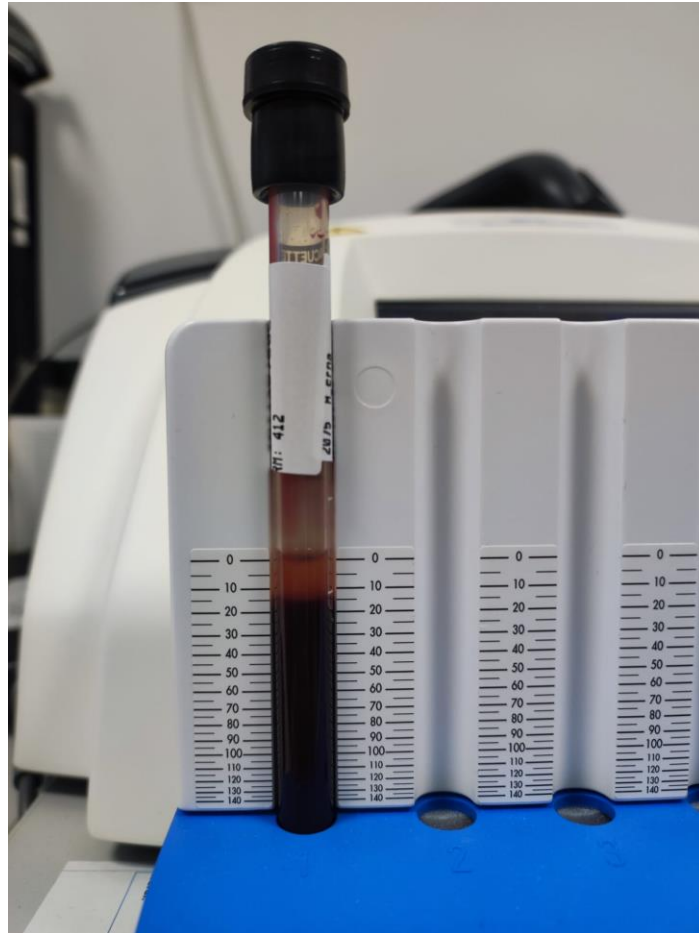


1a



1b

Slika 1a-b. 1a: Stalac za spremnike od 1,5 mL, 1b: Stalac za spremnike od 2,75 mL



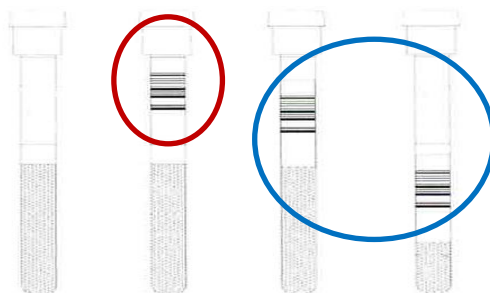
Slika 2. Očitavanje brzine sedimentacije eritrocita

3.2. Sed Rate Screener 100/II (SRS 100/II, Greiner Bio-One, GmbH, Austrija)



Slika 3. Automatizirani analitički sustav SRS 100/II (Greiner Bio-One, GmbH, Austrija)

SRS 100/II (Slika 3) automatizirani je analitički sustav za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita. Uključuje i softver G2S140BO, Vers. 1.4. U analizator se postavljaju isključivo spremnici VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR koji moraju biti pravilno obilježeni barkodom na za to predviđenom mjestu (Slika 4). Prije postavljanja u analizator, uzorke je potrebno promiješati okretanjem za 180° osam do deset puta kako bi se homogenizirali. Nakon toga, očitavaju se barkodovi spremnika te se postavljaju na odgovarajuće položaje u uređaj. Analizator omogućuje mjerenje u trajanju od 15, 30 i 60 minuta te preračunavanje rezultata na 30, 60 i 120 minuta. Istovremeno se može analizirati 100 uzoraka i tijekom rada analizatora dopušteno je uklanjati i postavljati spremnike. SRS 100/II neprestano i istovremeno skenira spremnike te neovisno prati i memorira razinu sedimentacije svakog uzorka tijekom cijele analize, a rezultat matematički preračunava na vrijeme mjerenja; tijekom 30 minuta, infracrvenim snopom zraka očitava razinu sedimentacije deset puta.



Slika 4. Pravilno (označeno crveno) i nepravilno (označeno plavo) obilježavanje spremnika

3.3. Usporedba metode s postojećim sustavom

Pri uvođenju nove metode u svakodnevni rad laboratorija kao sastavni dio njene verifikacije provodi se usporedba metoda. Smisao je usporedbe otkriti postoji li značajna razlika u relativnoj točnosti metoda analizirajući uzorke pacijenata (Bilić-Zulle, 2011). Idealno bi bilo usporediti novu metodu s referentnom. Međutim, ne koriste svi laboratoriji referentnu metodu, tako da se metoda koja se želi uvesti uspoređuje s postojećim sustavom u laboratoriju. Za usporedbu s postojećim sustavom potrebno je minimalno 20, a optimalno 40 uzoraka kojima se mora pokriti cijelo mjerno područje metode. Ako se mjerno područje pojedinih metoda razlikuje, uzorci moraju pokriti područje zajedničko objema metodama kako bi se izbjeglo veliko odstupanje zbog dilucijskog protokola ili donje granice osjetljivosti. Provodi se usporednim i, ako je moguće, istovremenim mjerenjem uzoraka na oba analitička sustava. Poželjno je usporedbu raditi sa svježim uzorcima, ali je dopušteno koristiti i prethodno pohranjene uzorke. Nakon eksperimentalnog dijela, potrebno je napraviti vizualni pregled podataka, a zatim izračun srednjeg odstupanja, Bland-Altmanovu analizu i Passing-Bablokovu regresijsku analizu.

3.3.1. Validacija spremnika s 3,2%-tnim natrijevim citratom (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR i 2,75 mL 4NC ESR)

Usporedbi automatizirane i ručne modificirane Westergren metode prethodila je usporedba spremnika od 1,5 mL i 2,75 mL (Slika 5a-b) sa spremnicima od 2 mL koji su od ranije u svakodnevnoj upotrebi. Svi spremnici sadržavali su 3,2%-tni natrijev citrat kao antikoagulans. U sklopu toga, provedena je tehnička i klinička validacija spremnika budući da se novi spremnici (1,5 mL i 2,75 mL) od postojećih (2 mL) razlikuju po obliku, volumenu uzorka, vremenu očitavanja (30 minuta za spremnike volumena 1,5 mL, 60 minuta za spremnike volumena 2,75 mL) i načinu očitavanja (bez odčepljivanja na graduiranim stalcima). Na tri odjela KBC-a Sestre milosrdnice (Zavod za kardiomiopatije, Hemato-onkološki odjel, Odjel za prijem bolesnika, predanalitiku i kontrolu kvalitete Kliničkog zavoda za kemiju) poslano je 50 spremnika volumena 1,5 mL i 50 spremnika volumena 2,75 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita namijenjenih tehničkoj i kliničkoj validaciji. Za kliničku validaciju pacijentima je bilo potrebno uzorkovati krv u dva spremnika – spremnik volumena 2 mL te, ovisno o dostupnosti, u spremnik volumena 1,5 ili 2,75 mL. Brzina sedimentacije eritrocita u spremnicima volumena 2 mL određena je referentnom Westergren metodom, a u spremnicima

volumena 1,5 mL i 2,75 mL ručnom modificiranom Westergren metodom na graduiranim stalcima. Dobiveni rezultati statistički su obrađeni Bland-Altmanovom i Passing-Bablokovom regresijskom analizom.



Slika 5a-b. 5a: Spremnik volumena 1,5 mL, 5b: Spremnik volumena 2,75 mL

3.3.2. Usporedba ručne modificirane Westergren metode na graduiranom stalku i modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II

U svrhu usporedbe ručne i automatizirane modificirane Westergren metode korišteni su ostatni uzorci pacijenata KBC-a Sestre milosrdnice, koji su zaprimljeni u sklopu njihove redovite obrade, stoga nije bilo potrebno dodatno naknadno uzorkovanje krvi pacijenata. Korišteni su uzorci u spremnicima VACUETTE® Tube 4NC ESR s 3,2%-tnim natrijevim citratom isključivo volumena 1,5 mL budući da se samo oni mogu postaviti u analizator SRS 100/II. Po primitku uzorka, potrebno je na pravilan način označiti spremnik barkodom. Nakon toga, uzorak se homogenizira miješanjem osam do deset puta te se postavlja na graduirani stalak za spremnike volumena 1,5 mL. Uključi se zaporni sat, a nakon 30 minuta očitava se brzina sedimentacije eritrocita. Isti uzorak ponovno se homogenizira te postavlja u analizator. Vrijeme mjerenja se postavi (definirano u postavkama analizatora) na 30 minuta. Po završetku mjerenja, ponovi se postupak homogenizacije (miješanje) te se isti uzorak ponovno postavlja u uređaj na mjerenje u trajanju od 15 minuta. Budući da analizator omogućuje mjerenje u trajanju od 15, 30 i 60 minuta, s rezultatima na graduiranom stalku nakon 30 minuta uspoređivani su rezultati dobiveni na analizatoru nakon 15 i nakon 30 minuta kako bi se donijela odluka o duljini mjerenja koja daje statistički i klinički prihvatljive rezultate.

3.4. Provjera referentnih intervala

Klinički zavod za kemiju KBC-a Sestre milosrdnice slijedi preporuke HKMB za uspostavu referentnih intervala za pretrage obuhvaćene Nacionalnim preporukama ili trenutno važećim dokumentima. Pregledom dostupnih preporuka HKMB i specifikacija proizvođača donosi se odluka o potrebi provođenja provjere referentnih intervala ispitivanjem uzoraka odabrane populacije pacijenata. Ukoliko se zaključi da je potrebno provesti provjeru ispitivanjem uzoraka, provjera se provodi određivanjem koncentracije analita u 20 odabranih reprezentativnih zdravih ispitanika uz poštivanje predanalitičkih i analitičkih zahtjeva metode. Nakon mjerenja provjeri se postoje li rezultati s ekstremnim odstupanjima; vrijednosti manje od vrijednosti prvog kvartila ($Q1$) – 3 x vrijednost interkvartilnog raspona (engl. *interquartile range*, IQR, $Q3-Q1$) ili vrijednosti veće od vrijednosti trećeg kvartila ($Q3$) + 3 x vrijednost interkvartilnog raspona. Ukoliko postoje takve vrijednosti, isključuju se iz skupa ispitanika te se uvode novi ispitanici. Referentni se interval prihvaća ako je unutar njega barem 18 od 20 vrijednosti. Ako je ≥ 3 vrijednosti izvan provjeravanog referentnog intervala, odabire se novih 20 ispitanika te se ispitivanje ponavlja na njima. Ako je nakon ponovljenog mjerenja barem 18 vrijednosti unutar referentnog intervala, referentni se interval prihvaća, a, ako je ≥ 3 vrijednosti u ponovljenom mjerenju izvan referentnog intervala, potrebno ga je odbaciti te odabrati novi referentni interval i za njega napraviti provjeru. Ukoliko ni tada provjera nije potvrdna, potrebno je odrediti vlastite referentne intervale.

Za potrebe ovog rada provjeru referentnih intervala nije bilo potrebno raditi. Referentni intervali za brzinu sedimentacije eritrocita na razini Republike Hrvatske harmonizirani su, stoga je, temeljem pregleda dostupnih preporuka HKMB i specifikacija proizvođača, odlučeno da provjeru referentnih intervala za ovu pretragu nije potrebno provesti.

3.5. Statistička analiza

Pohrana podataka kao i njihova priprema za statističku obradu načinjena je u programu Excel 2013, u sklopu Microsoft Office programskog paketa (Microsoft, SAD). Statističke analize načinjene su u statističkom programskom paketu Med Calc 14.8.1 za Windows (MedCalc Software).

Sve skupine podataka testirane su na normalnost raspodjele Kolmogorov Smirnovljevim testom. S obzirom da su sve skupine podataka pokazale asimetričnu raspodjelu, rezultate za pojedine skupine podataka prikazali smo medijanom i interkvartilnim rasponom, a statističku značajnost razlike između skupina brožanih podataka testirali smo neparametrijskim Wilcoxon-ovim testom koji uspoređuje medijane analiziranih skupina. Vrijednost $P < 0,05$ smatrana je statistički značajnom.

U svrhu ispitivanja usporedivosti metode s postojećim sustavom koristili smo izračun srednjeg odstupanja, Bland-Altmanovu analizu i Passing-Bablokovu regresijsku analizu.

3.5.1. Ispitivanje ponovljivosti pomoću uzoraka

Ponovljivost je bliskost slaganja rezultata dobivenih uzastopnim mjerenjem iste veličine pri istim uvjetima mjerenja. Za ispitivanje ponovljivosti pomoću uzoraka pacijenata potrebno je odabrati najmanje dva uzorka klinički značajnih koncentracijskih područja. Svaka koncentracijska razina određuje se 20 puta u jednom danu. Iz rezultata se izračuna koeficijent varijacije (CV_p) te se, usporedbom s odabranim kriterijem prihvatljivosti, odlučuje o zadovoljavajućoj ili nezadovoljavajućoj ponovljivosti.

Formule potrebne za izračun ponovljivosti su:

$$\text{Aritmetička sredina } (\bar{x}) \quad \bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_{20}}{20},$$

$$\text{Standardno odstupanje } (S_d) \quad S_d = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n-1}}, \quad n=20,$$

$$\text{Koeficijent varijacije } (CV_p) \quad CV_p = \frac{S_d}{\bar{x}} \times 100.$$

3.5.2. Izračun srednjeg odstupanja

Srednje odstupanje između metoda (bias) računa se prema formuli:

$$\text{bias} = \frac{\text{Metoda 2} - \text{Metoda 1}}{\text{Metoda 1}} \times 100\%$$

gdje je:

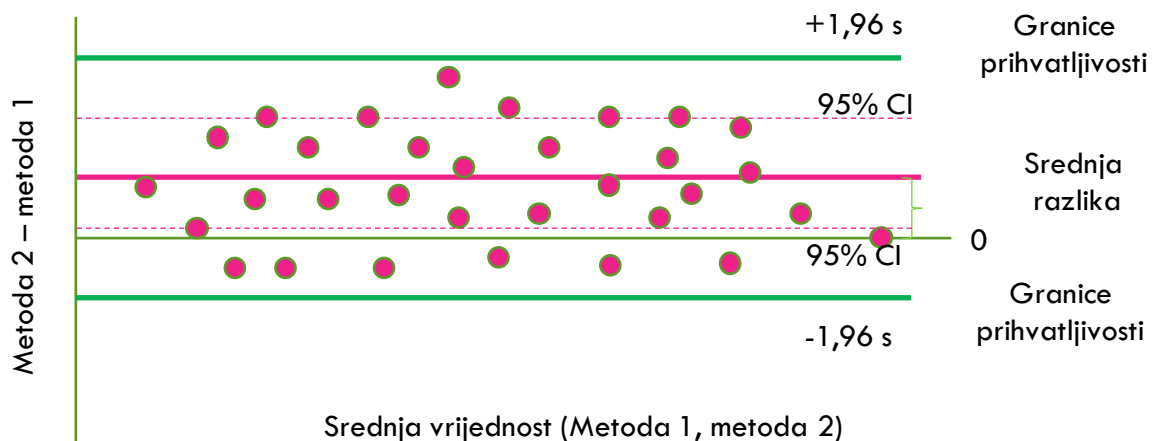
Metoda 1 – postojeća metoda (ručna modificirana Westergren metoda)

Metoda 2 – nova metoda (automatizirana modificirana Westergren metoda)

Odstupanje se računa za svaki par rezultata pojedinačno, a srednje odstupanje kao srednja vrijednost pojedinačnih odstupanja.

3.5.3. Bland-Altmanova analiza

Bland-Altmanova analiza slikovna je statistička metoda za usporedbu dviju analitičkih metoda. Za potrebe ovog rada izrađena je pomoću statističkog programa MedCalc (ver. 14.8.1), a omogućuje procjenu konstantnog i proporcionalnog odstupanja. Konstantno odstupanje predstavlja matematički otklon između metoda koji je jednak u svim koncentracijskim područjima, a proporcionalno odstupanje podrazumijeva matematički otklon između metoda koji je ovisan o veličini koncentracijskog područja. Postojanje konstantnog ili proporcionalnog odstupanja procjenjuje se granicama 95%-tnog intervala pouzdanosti (engl. *confidence interval*, CI) prikazanog uz srednju razliku (engl. *mean difference*, MD). Ukoliko se obje granice 95%-tnog intervala pouzdanosti nalaze iznad ili ispod 0, prisutno je statistički značajno odstupanje, a, ukoliko granice 95%-tnog intervala pouzdanosti obuhvaćaju 0, statistički značajno odstupanje nije prisutno. Rezultati su prikazani grafički (Slika 6), tako da se na apscisi nalazi srednja vrijednost (Metoda 1, Metoda 2), a na ordinati razlika vrijednosti Metode 2 (nove metode) i Metode 1 (postojeće metode). Ako je razlika između metoda na y-osi prikazana kao apsolutni iznos (u mjernim jedinicama), opisuje se konstantno odstupanje, a ako je izražena relativno (u postocima, %), opisuje se proporcionalno odstupanje.



Slika 6. Prikaz rezultata Bland-Altmanove analize

3.5.4. Passing-Bablokova regresijska analiza

Passing-Bablokova regresijska analiza kvantitativna je statistička metoda za usporedbu dviju analitičkih metoda, a, za ovaj rad, izrađena je u statističkom programu MedCalc (ver. 14.8.1). Da bi se analiza mogla provesti, metode moraju biti usporedive, broj uzoraka mora biti ≥ 40 te odnos dviju metoda mora biti moguće opisati jednadžbom $y = a + bx$. Passing-Bablokova regresijska analiza neparametrijska je metoda (neovisna je o vrsti raspodjele) koja nije osjetljiva na rezultate s iznimnim odstupanjem (engl. *outliers*). Omogućuje utvrđivanje statistički značajnog konstantnog ili proporcionalnog odstupanja tumačenjem rezultata prema 95%-tnim intervalima pouzdanosti. Rezultat analize opisuje jednadžba pravca:

$$y = a (95\% \text{ CI}) + b (95\% \text{ CI}) x$$

gdje je:

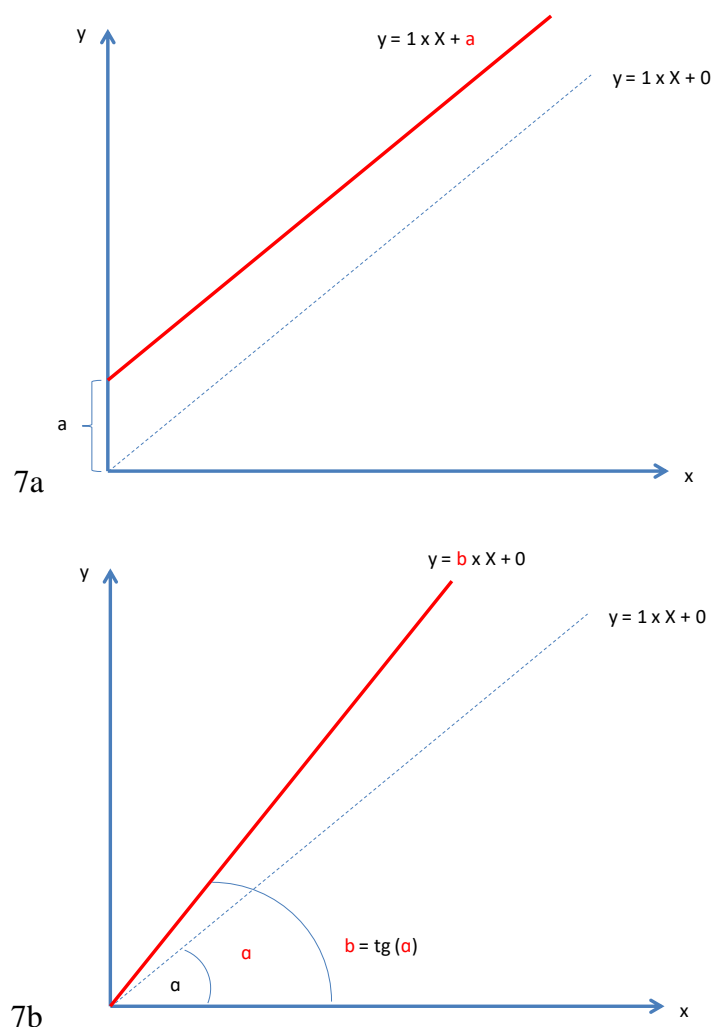
a – odsječak na osi y,

b – koeficijent smjera pravca,

95% CI – 95%-tni interval pouzdanosti.

Konstantno odstupanje odgovara odsječku na osi y (a), a proporcionalno nagibu pravca (b). Ukoliko 95%-tni interval pouzdanosti za odsječak na osi y obuhvaća 0, može se zaključiti da nije prisutno statistički značajno konstantno odstupanje (Slika 7a). Ukoliko 95%-tni interval pouzdanosti za nagib pravca obuhvaća 1, može se zaključiti da nije prisutno statistički značajno proporcionalno odstupanje (Slika 7b). Dakle, idealan je slučaj jednadžba u obliku $y = x$, što

znači da ne postoji statistički značajna razlika između dviju metoda. Ako se ipak utvrdi statistički značajno konstantno ili proporcionalno odstupanje, potrebno je vrijednost srednjeg odstupanja usporediti s unaprijed definiranim kriterijem prihvatljivosti te na temelju toga zaključiti je li statistički značajno konstantno ujedno i klinički značajno konstantno odstupanje, odnosno potrebno je vidjeti koliki broj pojedinačnih odstupanja ima vrijednost veću od definiranog kriterija prihvatljivosti za utvrđivanje prisutnosti klinički značajnog proporcionalnog odstupanja (ako više od 5% vrijednosti ima odstupanje veće od kriterija prihvatljivosti, proporcionalno je odstupanje klinički značajno) (Bilić-Zulle, 2011).



Slika 7a-b. Prikaz rezultata Passing-Bablokove regresijske analize u kojoj je prisutno konstantno (7a) i proporcionalno (7b) odstupanje

4. REZULTATI

4.1. Statistička analiza rezultata razvrstanih u podskupine s obzirom na vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita, hematokrita i prosječnog volumena eritrocita

Rezultati su podijeljeni u tri skupine s obzirom na vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita. Uočena je statistički značajna razlika u rezultatima ručne i automatizirane metode u slučaju svih analiziranih uzoraka, kao i u slučaju tri skupine s obzirom na vrijednost brzine sedimentacije eritrocita (Tablica 3).

Tablica 3. Rezultati za podskupine oblikovane prema vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita

	ručna modificirana Westergren metoda na graduiranom stalku (30 min) medijan (IQR)	modificirana Westergren metoda na SRS 100/II analizatoru (30 min) medijan (IQR)	P-vrijednost
svi analizirani uzorci N = 317	8 (4 – 33)	10 (5 – 35)	< 0,0001
uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita < 20 mm/3,6 ks N = 205	6 (5 – 10)	5 (2 – 7)	< 0,0001
uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita 20 – 40 mm/3,6 ks N = 45	30 (20 – 35)	23 (17 – 33)	0,0006
uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita > 40 mm/3,6 ks N = 67	56 (50 – 90)	49 (40 – 73)	< 0,0001

Rezultati su prikazani medijanom (interkvartilnim rasponom) te su testirani Wilcoxon-ovim testom; $P < 0,05$ smatrana je statistički značajnom.

Rezultati su razvrstani u podskupine s obzirom na vrijednosti hematokrita i srednjeg volumena eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*, MCV) te su prikazani u Tablici 4. P-vrijednost za sve podskupine iznosi $<0,05$, što razliku u rezultatima između ručne modificirane Westergren metode i modificirane Westergren metode na SRS 100/II analizatoru čini statistički značajnom.

Tablica 4. Rezultati za podskupine oblikovane prema vrijednostima hematokrita i srednjeg volumena eritrocita

	ručna metoda (30 min)	SRS 100/II (30 min)	P- vrijednost	ručna metoda (30 min)	SRS 100/II (30 min)	P- vrijednost
	uzorci s vrijednostima hematokrita $< 0,350$ N = 35			uzorci s vrijednostima hematokrita $> 0,350$ N = 251		
brzina sedimentacije eritrocita (mm/3,6 ks) medijan (IQR)	50 (36 – 55)	40 (33 – 51)	$< 0,0001$	9 (5 – 20)	7 (3 – 16)	$< 0,0001$
	uzorci s vrijednostima srednjeg volumena eritrocita < 87 fL N = 64			uzorci s vrijednostima srednjeg volumena eritrocita > 87 fL N = 158		
brzina sedimentacije eritrocita (mm/3,6 ks) medijan (IQR)	6 (5 – 14)	5 (3 – 9)	$< 0,0001$	8 (5 – 15)	6 (2 – 13)	$< 0,0001$

Rezultati su prikazani medijanom (interkvartilnim rasponom) te su testirani Wilcoxon-ovim testom; $P < 0,05$ smatrana je statistički značajnom.

4.2. Rezultati validacije spremnika s 3,2%-tnim natrijevim citratom (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR i 2,75 mL 4NC ESR)

Za potrebe verifikacijskog postupka na tri bolnička odjela poslano je 100 spremnika (50 spremnika volumena 1,5 mL, 50 spremnika volumena 2,75 mL), povratno je u laboratorij dostavljeno 97 spremnika s uzorcima (50 spremnika volumena 1,5 mL, 47 spremnika volumena 2,75 mL). 4% uzoraka bilo je zgrušano (3 spremnika volumena 1,5 mL i 1 spremnik volumena 2,75 mL) te su izuzeti iz statističke obrade podataka odrađene prema smjernicama Radne grupe za predanalitiku Europske federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (engl. *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, EFLM).

Rezultati usporedivosti spremnika volumena 1,5 mL i 2,75 mL sa spremnicima volumena 2 mL u svim analiziranim uzorcima prikazani su u Tablicama 5 i 6.

Tablica 5. Rezultati usporedivosti spremnika volumena 1,5 mL i 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita

redni broj	datum	protokol	VACUETTE®	VACUETTE®	odstupanje
			Tube 2 mL 4NC ESR (mm/3,6 ks)	Tube 1,5 mL 4NC ESR (mm/3,6 ks)	
1	20.06.2023.	TB	5	5	0,00%
2	20.06.2023.	NŠ	7	9	28,57%
3	20.06.2023.	IJ	16	15	-6,25%
4	20.06.2023.	MR	13	13	0,00%
5	20.06.2023.	JV	6	6	0,00%
6	21.06.2023.	RH	8	10	25,00%
7	21.06.2023.	AS	16	20	25,00%
8	21.06.2023.	MN	7	5	-28,57%
9	21.06.2023.	IŠ	7	8	14,29%
10	27.06.2023.	2019	5	5	0,00%
11	27.06.2023.	0188	4	3	-25,00%
12	27.06.2023.	2095	3	3	0,00%
13	27.06.2023.	2112	1	1	0,00%
14	27.06.2023.	0321	12	13	8,33%

15	27.06.2023.	2171	14	15	7,14%
16	28.06.2023.	2049	10	10	0,00%
17	28.06.2023.	2072	3	1	-66,67%
18	28.06.2023.	2077	74	80	8,11%
19	28.06.2023.	2097	9	10	11,11%
20	28.06.2023.	0281	31	25	-19,35%
21	28.06.2023.	2116	5	5	0,00%
22	28.06.2023.	2101	5	4	-20,00%
23	28.06.2023.	0288	27	zgrušano	/
24	28.06.2023.	0528	47	zgrušano	/
25	28.06.2023.	0526	50	40	-20,00%
26	29.06.2023.	0277	13	10	-23,08%
27	29.06.2023.	0346	65	55	-15,38%
28	30.06.2023.	0317	84	105	25,00%
29	03.07.2023.	2098	10	10	0,00%
30	03.07.2023.	0456	60	50	-16,67%
31	03.07.2023.	0540	56	55	-1,79%
32	03.07.2023.	0454	42	30	-28,57%
33	03.07.2023.	0526	57	45	-21,05%
34	04.07.2023.	0244	17	25	47,06%
35	04.07.2023.	0497	109	85	-22,02%
36	04.07.2023.	0768	47	55	17,02%
37	05.07.2023.	0310	2	1	-50,00%
38	05.07.2023.	0339	7	5	-28,57%
39	05.07.2023.	0325	3	25	733,33%
40	05.07.2023.	0300	60	60	0,00%
41	05.07.2023.	0525	12	zgrušano	/
42	05.07.2023.	0750	39	35	-10,26%
43	06.07.2023.	0409	5	5	0,00%
44	06.07.2023.	0424	70	70	0,00%
45	06.07.2023.	0347	37	35	-5,41%
46	06.07.2023.	0368	45	50	11,11%

47	06.07.2023.	0351	5	5	0,00%
48	06.07.2023.	0270	19	20	5,26%
49	06.07.2023.	0789	20	8	-60,00%
50	07.07.2023.	0314	16	15	-6,25%
	srednja vrijednost		25,1	24,8	14,66%

Tablica 6. Rezultati usporedivosti spremnika volumena 2,75 mL i 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita

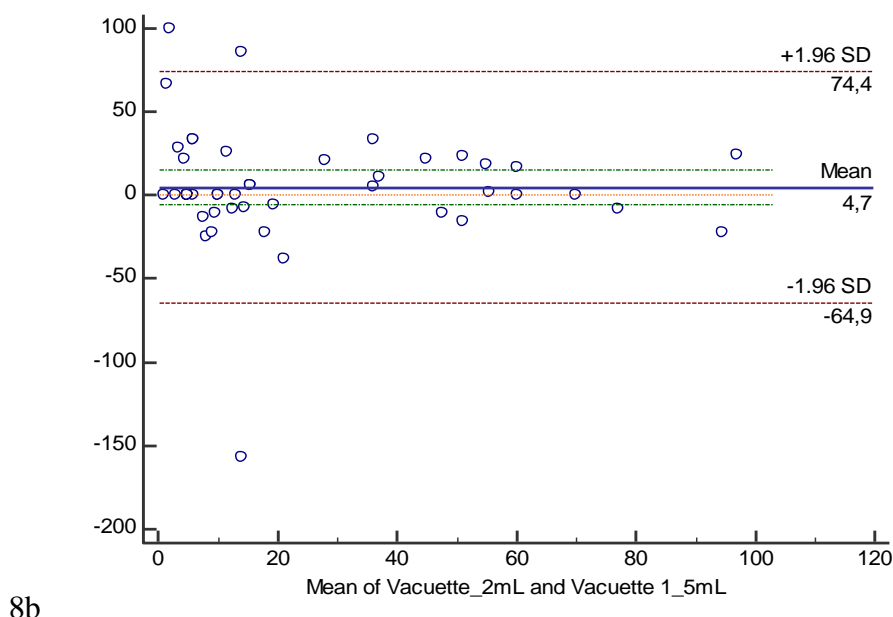
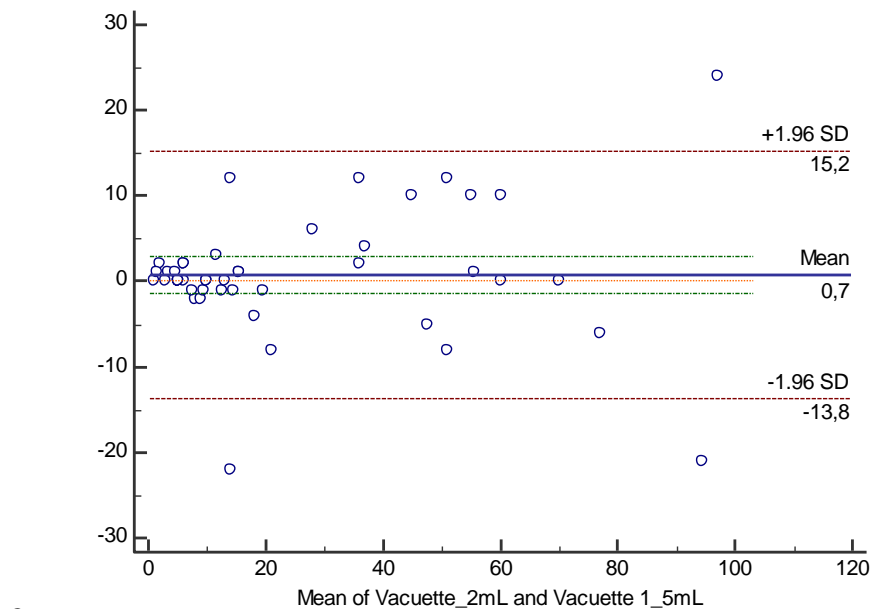
redni broj	datum	protokol	VACUETTE®	VACUETTE®	odstupanje
			Tube 2 mL 4NC ESR (mm/3,6 ks)	Tube 1,5 mL 4NC ESR (mm/3,6 ks)	
1	20.06.2023.	DR	4	6	50,00%
2	20.06.2023.	FT	20	20	0,00%
3	20.06.2023.	NČ	7	8	14,29%
4	20.06.2023.	RM	4	4	0,00%
5	20.06.2023.	GD	10	10	0,00%
6	21.06.2023.	JB	3	2	-33,33%
7	21.06.2023.	JB	3	2	-33,33%
8	27.06.2023.	2019	5	10	100,00%
9	27.06.2023.	0202	56	70	25,00%
10	27.06.2023.	0191	10	14	40,00%
11	27.06.2023.	2095	3	4	33,33%
12	27.06.2023.	2190	19	20	5,26%
13	27.06.2023.	2189	18	22	22,22%
14	27.06.2023.	2157	13	16	23,08%
15	27.06.2023.	0586	27	27	0,00%
16	27.06.2023.	0639	27	27	0,00%
17	28.06.2023.	2008	6	10	66,67%
18	28.06.2023.	0233	32	zgrušano	/
19	28.06.2023.	0308	18	18	0,00%
20	29.06.2023.	2035	8	8	0,00%
21	29.06.2023.	2032	5	10	100,00%
22	29.06.2023.	2089	13	18	38,46%
23	29.06.2023.	0283	57	50	-12,28%
24	29.06.2023.	0461	16	18	12,50%
25	29.06.2023.	0320	19	16	-15,79%
26	30.06.2023.	2024	35	46	31,43%

27	30.06.2023.	0310	118	74	-37,29%
28	30.06.2023.	0320	2	4	100,00%
29	30.06.2023.	0316	22	28	27,27%
30	30.06.2023.	0551	8	4	-50,00%
31	03.07.2023.	2034	20	26	30,00%
32	03.07.2023.	0387	9	18	100,00%
33	03.07.2023.	0357	5	10	100,00%
34	03.07.2023.	0294	18	34	88,89%
35	03.07.2023.	0314	6	10	66,67%
36	03.07.2023.	0440	6	8	33,33%
37	03.07.2023.	0554	23	22	-4,35%
38	03.07.2023.	0455	31	30	-3,23%
39	03.07.2023.	0628	22	24	9,09%
40	04.07.2023.	2096	24	14	-41,67%
41	04.07.2023.	0319	18	12	-33,33%
42	04.07.2023.	0233	14	8	-42,86%
43	04.07.2023.	0462	9	10	11,11%
44	06.07.2023.	2024	23	36	56,52%
45	06.07.2023.	0346	9	26	188,89%
46	09.07.2023.	2001	25	25	0,00%
47	10.07.2023.	0269	120	120	0,00%
	srednja vrijednost		20,6	21,7	19,55%

Srednje odstupanje ispitivanja usporedivosti za spremnike volumena 1,5 mL i 2 mL iznosi 14,7%, a za spremnike volumena 2,75 mL i 2 mL iznosi 19,6%.

4.2.1. Rezultati statističke analize za spremnike volumena 1,5 mL (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR)

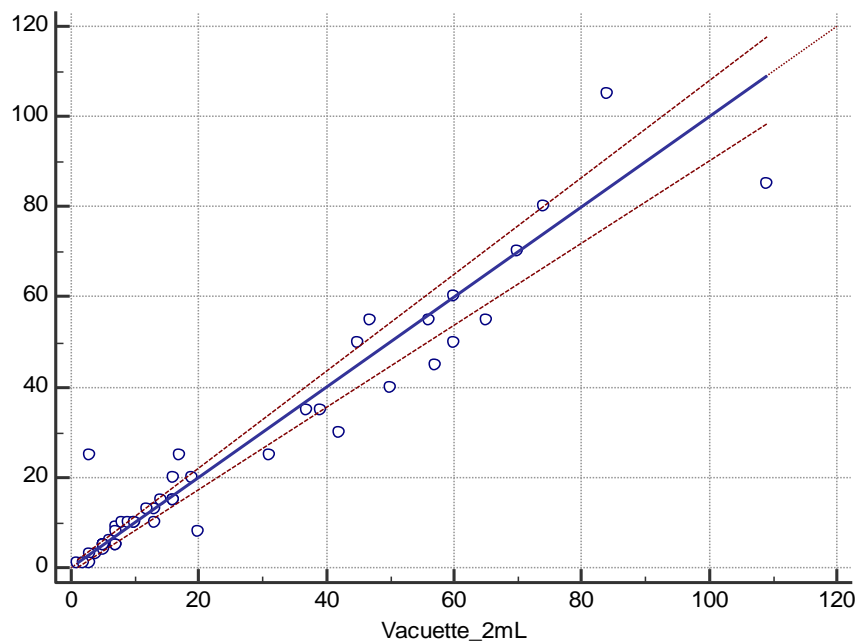
4.2.1.1. Bland-Altmanova analiza



Slika 8a-b. Bland-Altmanov grafikon – konstantno (8a) i proporcionalno (8b) odstupanje usporedivosti spremnika volumena 1,5 mL i 2 mL

Bland-Altmanovom statističkom analizom nije utvrđeno statistički značajno konstantno (Slika 8a) ni proporcionalno (Slika 8b) odstupanje pri usporedbi spremnika volumena 1,5 mL i 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita Westergren metodom.

4.2.1.2. Passing-Bablokova regresijska analiza



Slika 9. Grafički prikaz Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti spremnika volumena 1,5 mL i 2 mL

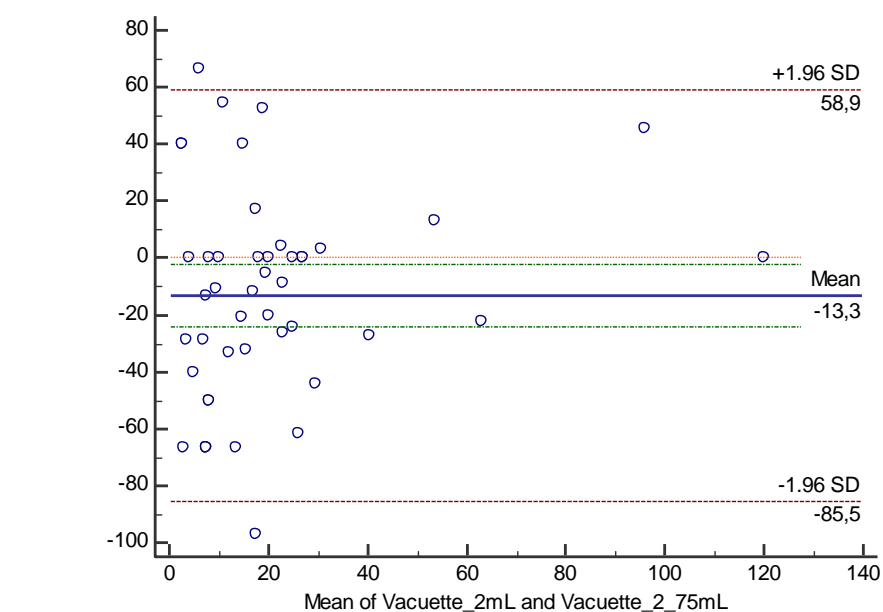
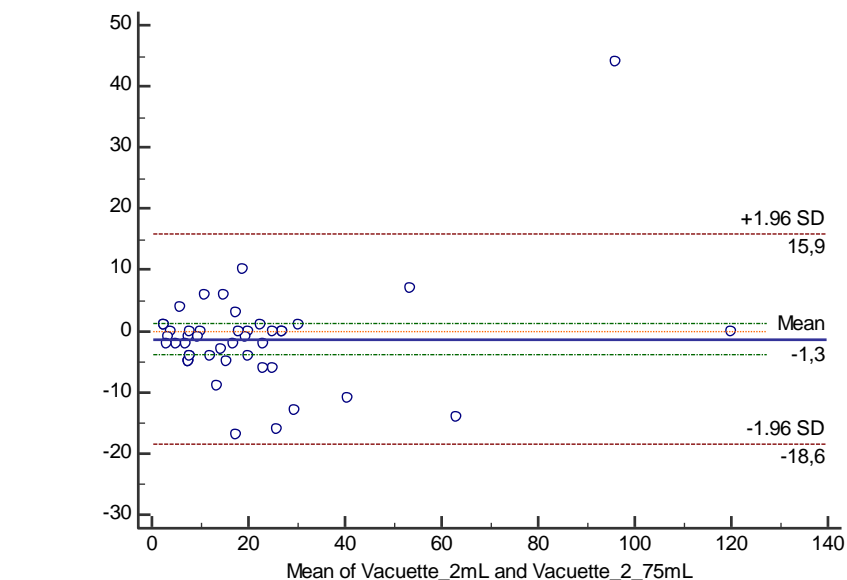
Jednadžba pravca Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti spremnika volumena 1,5 mL i 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita Westergren metodom je:

$$y = 0,000000 (-0,7692 \text{ do } 0,4545) + 1,000000 (0,9091 \text{ do } 1,0769) x.$$

Passing-Bablokovom regresijskom analizom (Slika 9) nije utvrđeno statistički značajno konstantno (odsječak na osi $y = 0,000000$, 95% CI = -0,7692 do 0,4545) ni proporcionalno odstupanje (nagib pravca = 1,000000, 95% CI = 0,9091 do 1,0769).

4.2.2. Rezultati statističke analize za spremnike volumena 2,75 mL (VACUETTE® Tube 2,75 mL 4NC ESR)

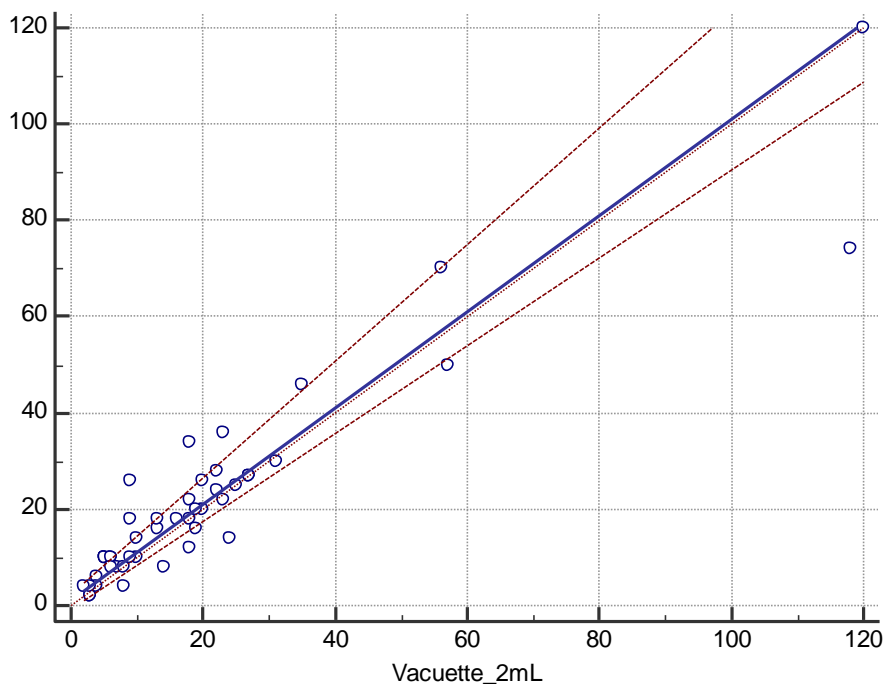
4.2.2.1. Bland-Altmanova analiza



Slika 10a-b. Bland-Altmanov grafikon – konstantno (10a) i proporcionalno (10b) odstupanje usporedivosti spremnika volumena 2,75 mL i 2 mL

Bland-Altmanovom statističkom analizom usporedivosti spremnika volumena 2,75 mL i 2 mL utvrđeno je statistički značajno proporcionalno odstupanje (Slika 10b) bez prisutnog statistički značajnog konstantnog (Slika 10a) odstupanja.

4.2.2.2. Passing-Bablokova regresijska analiza



Slika 11. Grafički prikaz Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti spremnika volumena 2,75 mL i 2 mL

Jednadžba pravca Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti spremnika volumena 2,75 mL i 2 mL za određivanje brzine sedimentacije eritrocita Westergren metodom je:

$$y = 1,000000 (-0,8684 \text{ do } 2,3478) + 1,000000 (0,9130 \text{ do } 1,2105) x.$$

Passing-Bablokovom regresijskom analizom (Slika 11) nije utvrđeno statistički značajno konstantno (odsječak na osi $y = 1,000000$, 95% CI = -0,8684 do 2,3478) ni proporcionalno odstupanje (nagib pravca = 1,000000, 95% CI = 0,9130 do 1,2105).

4.3. Rezultati ispitivanja ponovljivosti pomoću uzoraka

Ponovljivost je ispitana pomoću dvaju uzoraka pacijenata različitih vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita; jedan uzorak vrijednosti unutar referentnog intervala, drugi uzorak vrijednosti iznad gornje granice referentnog intervala. Brzina sedimentacije eritrocita mjerena je na analizatoru SRS 100/II u trajanju od 30 minuta (Tablica 7).

Ponovljivost u uzorcima pacijenata nije ispitana za automatiziranu metodu na SRS 100/II analizatoru za vrijeme mjerenja od 15 minuta, s obzirom da su rezultati usporedbe (odjeljak 4.4.3.) pokazali neprihvatljivo srednje odstupanje između mjerenja na analizatoru i ručnog određivanja brzine sedimentacije eritrocita.

Tablica 7. Rezultati ispitivanja ponovljivosti mjerenja brzine sedimentacije eritrocita na analizatoru SRS 100/II u trajanju od 30 minuta

vrsta uzorka	uzorak pacijenta 1		uzorak pacijenta 2	
datum	24.11.2023.		24.11.2023.	
protokol	2009		320	
mjerenje 1, 11 (mm/3,6 ks)	5	5	34	32
mjerenje 2, 12 (mm/3,6 ks)	6	3	34	31
mjerenje 3, 13 (mm/3,6 ks)	5	3	36	32
mjerenje 4, 14 (mm/3,6 ks)	5	4	36	30
mjerenje 5, 15 (mm/3,6 ks)	5	7	34	30
mjerenje 6, 16 (mm/3,6 ks)	6	3	33	29
mjerenje 7, 17 (mm/3,6 ks)	5	3	34	26
mjerenje 8, 18 (mm/3,6 ks)	5	4	36	25
mjerenje 9, 19 (mm/3,6 ks)	5	7	33	37

mjerenje 10, 20 (mm/3,6 ks)	5	6	34	34
--	---	---	----	----

Ponovljivost (CV_p) za uzorak pacijenta 1 iznosi 24,63%, a za uzorak pacijenta 2 iznosi 9,66%. Oba su unutar definiranog kriterija prihvatljivosti (Hrvatski centar za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini, CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/imagesupute/2024/TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf).

4.4. Rezultati usporedivosti ručne modificirane Westergren metode na graduiranom stalku i modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II

U svrhu usporedbe automatizirane i ručne modificirane Westergren metode, obrađeni su uzorci krvi uzorkovani u spremnike s 3,2%-tnim natrijevim citratom volumena 1,5 mL (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR) budući da je rad na analizatoru SRS 100/II moguć isključivo uz primjenu spremnika tog volumena. Spremnici volumena 2,75 mL nisu primjenjivi za analizu na SRS 100/II analizatoru, stoga usporedba za te spremnike nije provedena. Iz statističke obrade izuzeti su zgrušani uzorci (uzorak protokola 342).

4.4.1. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta

Analizirana su 243 uzorka, jedan uzorak bio je zgrušan te je isključen iz statističke obrade podataka. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom i automatiziranom metodom u trajanju od 30 minuta prikazani su u Tablici 8.

Tablica 8. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta

redni broj	datum	protokol	ručno mjerenje (mm/3,6 ks)	SRS 100/II nakon 30 minuta (mm/3,6 ks)	odstupanje
1	25.10.2023.	2031	7	4	-43%
2	25.10.2023.	2077	2	2	0%
3	25.10.2023.	2015	20	18	-10%
4	25.10.2023.	2086	5	2	-60%
5	25.10.2023.	2088	25	17	-32%
6	25.10.2023.	2105	15	9	-40%
7	25.10.2023.	2004	20	17	-15%
8	25.10.2023.	2013	15	11	-27%
9	25.10.2023.	2022	5	5	0%
10	25.10.2023.	2106	19	14	-26%
11	25.10.2023.	2129	25	23	-8%
12	25.10.2023.	2207	6	4	-33%
13	26.10.2023.	2116	5	5	0%
14	26.10.2023.	2130	10	7	-30%
15	26.10.2023.	2132	16	13	-19%
16	26.10.2023.	2004	17	16	-6%
17	26.10.2023.	2010	10	8	-20%
18	26.10.2023.	2008	5	4	-20%
19	26.10.2023.	2026	13	9	-31%
20	26.10.2023.	2028	5	3	-40%
21	26.10.2023.	2055	3	3	0%

22	26.10.2023.	2077	19	14	-26%
23	26.10.2023.	2090	10	7	-30%
24	26.10.2023.	2110	15	7	-53%
25	26.10.2023.	2094	12	5	-58%
26	26.10.2023.	2166	5	2	-60%
27	26.10.2023.	2195	7	6	-14%
28	26.10.2023.	2205	6	5	-17%
29	26.10.2023.	2227	4	3	-25%
30	26.10.2023.	2256	4	4	0%
31	26.10.2023.	2246	4	3	-25%
32	26.10.2023.	474	15	12	-20%
33	26.10.2023.	403	3	2	-33%
34	26.10.2023.	342	zgrušano	zgrušano	/
35	26.10.2023.	299	9	7	-22%
36	27.10.2023.	2010	8	2	-75%
37	27.10.2023.	2012	20	16	-20%
38	27.10.2023.	2017	15	13	-13%
39	27.10.2023.	2023	26	21	-19%
40	27.10.2023.	2024	8	3	-63%
41	27.10.2023.	2027	30	21	-30%
42	27.10.2023.	2050	30	23	-23%
43	27.10.2023.	2056	15	12	-20%
44	27.10.2023.	2061	15	10	-33%
45	27.10.2023.	2074	10	6	-40%
46	27.10.2023.	2076	16	10	-38%
47	27.10.2023.	2080	6	2	-67%
48	27.10.2023.	2093	10	7	-30%
49	27.10.2023.	2103	10	6	-40%
50	27.10.2023.	2144	3	2	-33%
51	27.10.2023.	2137	15	13	-13%
52	27.10.2023.	2110	4	2	-50%
53	27.10.2023.	2155	8	3	-63%

54	27.10.2023.	361	20	14	-30%
55	27.10.2023.	421	80	68	-15%
56	27.10.2023.	2230	20	12	-40%
57	28.10.2023.	145	7	8	14%
58	28.10.2023.	146	5	2	-60%
59	28.10.2023.	147	15	20	33%
60	28.10.2023.	149	7	8	14%
61	28.10.2023.	152	4	2	-50%
62	28.10.2023.	153	2	2	0%
63	28.10.2023.	154	2	2	0%
64	28.10.2023.	156	20	19	-5%
65	28.10.2023.	155	15	16	7%
66	28.10.2023.	157	3	3	0%
67	28.10.2023.	158	12	13	8%
68	28.10.2023.	159	5	3	-40%
69	28.10.2023.	161	3	1	-67%
70	28.10.2023.	162	2	1	-50%
71	28.10.2023.	163	10	11	10%
72	28.10.2023.	164	1	1	0%
73	28.10.2023.	165	5	2	-60%
74	28.10.2023.	166	7	6	-14%
75	28.10.2023.	167	3	2	-33%
76	28.10.2023.	168	5	2	-60%
77	28.10.2023.	150	5	4	-20%
78	28.10.2023.	169	5	2	-60%
79	30.10.2023.	2010	20	11	-45%
80	30.10.2023	2016	3	2	-33%
81	30.10.2023	2022	12	6	-50%
82	30.10.2023	2026	2	2	0%
83	30.10.2023	2028	5	2	-60%
84	30.10.2023	4103	5	2	-60%
85	30.10.2023	2039	6	2	-67%

86	30.10.2023	2049	10	7	-30%
87	30.10.2023	2060	15	9	-40%
88	30.10.2023	2063	12	9	-25%
89	30.10.2023	2064	15	13	-13%
90	30.10.2023	2123	13	8	-38%
91	30.10.2023	2130	5	2	-60%
92	30.10.2023	2137	9	10	11%
93	30.10.2023	2098	25	18	-28%
94	30.10.2023	2093	15	16	7%
95	30.10.2023	2154	7	6	-14%
96	30.10.2023	2153	5	4	-20%
97	30.10.2023	2166	103	86	-17%
98	30.10.2023	2173	6	6	0%
99	30.10.2023	2183	7	9	29%
100	30.10.2023	2236	7	7	0%
101	30.10.2023	2242	9	7	-22%
102	30.10.2023	563	20	25	25%
103	30.10.2023	2275	15	14	-7%
104	30.10.2023	752	12	7	-42%
105	31.10.2023.	2010	6	4	-33%
106	31.10.2023.	2066	5	4	-20%
107	31.10.2023.	2051	52	54	4%
108	31.10.2023.	2025	4	3	-25%
109	31.10.2023.	2033	7	6	-14%
110	31.10.2023.	2029	26	20	-23%
111	31.10.2023.	2022	37	32	-14%
112	31.10.2023.	2001	2	2	0%
113	31.10.2023.	2028	11	6	-45%
114	31.10.2023.	2075	6	4	-33%
115	31.10.2023.	2068	20	15	-25%
116	31.10.2023.	2106	5	4	-20%
117	31.10.2023.	2123	3	3	0%

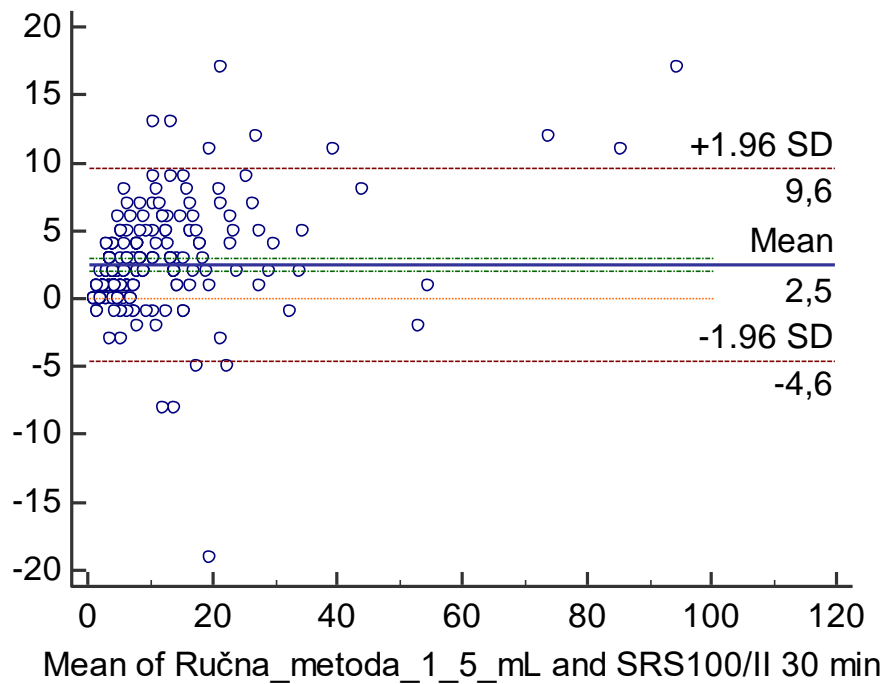
118	31.10.2023.	2131	2	2	0%
119	31.10.2023.	324	6	7	17%
120	31.10.2023.	2190	5	6	20%
121	31.10.2023.	2138	91	80	-12%
122	31.10.2023.	2209	3	2	-33%
123	31.10.2023.	2226	5	2	-60%
124	31.10.2023.	2220	5	2	-60%
125	31.10.2023.	2218	5	4	-20%
126	31.10.2023.	2201	2	2	0%
127	31.10.2023.	kont. 5401	48	40	-17%
128	02.11.2023.	2001	2	2	0%
129	02.11.2023.	2013	5	6	20%
130	02.11.2023.	2045	5	2	-60%
131	02.11.2023.	2048	2	2	0%
132	02.11.2023.	2043	20	23	15%
133	02.11.2023.	2041	10	18	80%
134	02.11.2023.	2050	2	2	0%
135	02.11.2023.	2071	15	13	-13%
136	02.11.2023.	2051	5	5	0%
137	02.11.2023.	2059	3	2	-33%
138	02.11.2023.	2052	5	4	-20%
139	02.11.2023.	2109	5	3	-40%
140	02.11.2023.	2077	8	5	-38%
141	02.11.2023.	2087	5	3	-40%
142	02.11.2023.	2146	15	13	-13%
143	02.11.2023.	2153	17	4	-76%
144	02.11.2023.	2205	6	2	-67%
145	02.11.2023.	2202	32	28	-13%
146	02.11.2023.	272	1	2	100%
147	02.11.2023.	452	6	5	-17%
148	02.11.2023.	728	18	16	-11%
149	03.11.2023.	2040	9	7	-22%

150	03.11.2023.	2038	7	7	0%
151	03.11.2023.	2046	55	54	-2%
152	03.11.2023.	2059	30	28	-7%
153	03.11.2023.	2067	8	7	-13%
154	03.11.2023.	2028	7	6	-14%
155	03.11.2023.	2127	4	7	75%
156	03.11.2023.	2128	4	4	0%
157	03.11.2023.	2111	5	5	0%
158	03.11.2023.	2114	4	2	-50%
159	03.11.2023.	2132	15	14	-7%
160	03.11.2023.	2098	2	5	150%
161	03.11.2023.	2204	10	7	-30%
162	03.11.2023.	2218	25	14	-44%
163	03.11.2023.	2236	15	6	-60%
164	03.11.2023.	451	33	21	-36%
165	03.11.2023.	356	10	2	-80%
166	03.11.2023.	474	14	7	-50%
167	03.11.2023.	404	1	2	100%
168	03.11.2023.	2266	9	6	-33%
169	04.11.2023.	168	8	7	-13%
170	04.11.2023.	170	10	8	-20%
171	04.11.2023.	181	20	7	-65%
172	04.11.2023.	190	25	21	-16%
173	04.11.2023.	186	5	4	-20%
174	04.11.2023.	185	30	25	-17%
175	04.11.2023.	169	5	4	-20%
176	04.11.2023.	196	2	1	-50%
177	04.11.2023.	194	3	2	-33%
178	04.11.2023.	193	4	2	-50%
179	04.11.2023.	198	18	9	-50%
180	04.11.2023.	177	5	3	-40%
181	04.11.2023.	172	9	4	-56%

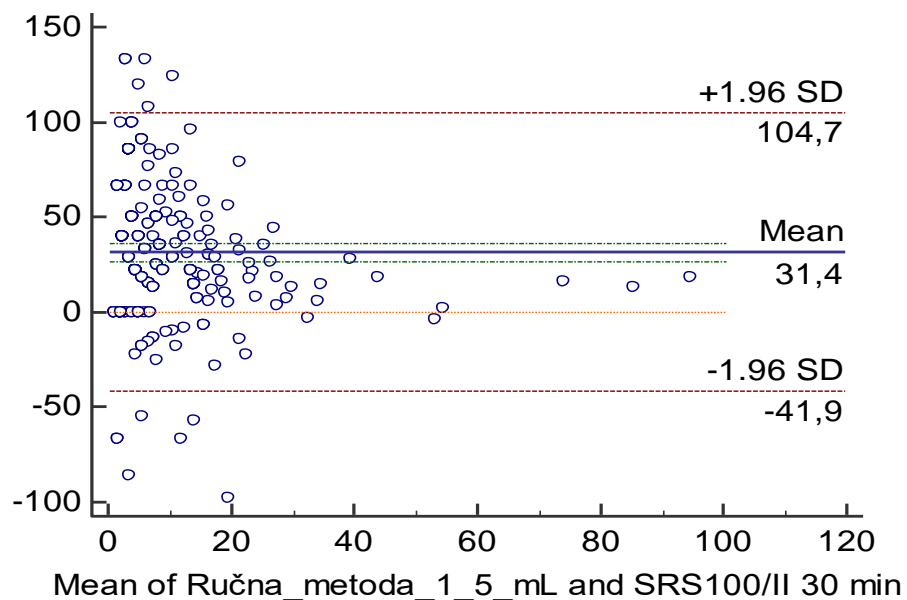
182	04.11.2023.	195	8	4	-50%
183	04.11.2023.	184	2	2	0%
184	04.11.2023.	176	18	12	-33%
185	04.11.2023.	182	10	7	-30%
186	04.11.2023.	175	7	5	-29%
187	04.11.2023.	189	5	2	-60%
188	04.11.2023.	187	3	2	-33%
189	04.11.2023.	188	5	4	-20%
190	04.11.2023.	191	1	1	0%
191	04.11.2023.	197	8	16	100%
192	06.11.2023.	2063	8	3	-63%
193	06.11.2023.	2159	10	29	190%
194	06.11.2023.	535	10	3	-70%
195	06.11.2023.	604	45	34	-24%
196	07.11.2023.	392	2	2	0%
197	07.11.2023.	2261	30	13	-57%
198	07.11.2023.	2230	8	5	-38%
199	08.11.2023.	2044	5	1	-80%
200	08.11.2023.	2023	35	33	-6%
201	08.11.2023.	2012	20	13	-35%
202	08.11.2023.	2021	15	8	-47%
203	08.11.2023.	2032	10	4	-60%
204	08.11.2023.	2005	5	1	-80%
205	08.11.2023.	2059	1	1	0%
206	08.11.2023.	2082	2	1	-50%
207	08.11.2023.	2083	6	5	-17%
208	08.11.2023.	2085	1	1	0%
209	08.11.2023.	2091	32	33	3%
210	08.11.2023.	2125	7	5	-29%
211	08.11.2023.	2103	10	8	-20%
212	08.11.2023.	2131	12	9	-25%
213	08.11.2023.	2136	6	5	-17%

214	08.11.2023.	2185	6	4	-33%
215	08.11.2023.	2206	3	2	-33%
216	08.11.2023.	477	28	27	-4%
217	08.11.2023.	449	4	5	25%
218	08.11.2023.	2223	5	2	-60%
219	08.11.2023.	2232	5	2	-60%
220	08.11.2023.	2259	12	9	-25%
221	10.11.2023.	2004	10	6	-40%
222	10.11.2023.	2036	15	13	-13%
223	10.11.2023.	2043	10	6	-40%
224	10.11.2023.	2044	10	12	20%
225	10.11.2023.	2045	17	14	-18%
226	10.11.2023.	2057	5	3	-40%
227	10.11.2023.	2059	8	7	-13%
228	10.11.2023.	2082	7	5	-29%
229	10.11.2023.	2066	5	4	-20%
230	10.11.2023.	2075	15	12	-20%
231	10.11.2023.	2064	10	6	-40%
232	10.11.2023.	2081	15	12	-20%
233	10.11.2023.	2086	2	2	0%
234	10.11.2023.	2089	5	5	0%
235	10.11.2023.	146	5	3	-40%
236	10.11.2023.	142	5	2	-60%
237	10.11.2023.	2114	15	10	-33%
238	10.11.2023.	2109	10	6	-40%
239	10.11.2023.	2184	5	4	-20%
240	10.11.2023.	2170	5	2	-60%
241	10.11.2023.	486	2	1	-50%
242	10.11.2023.	329	7	5	-29%
243	10.11.2023.	296	20	16	-20%
	srednja vrijednost		11,6	9,1	-22%

4.4.1.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta



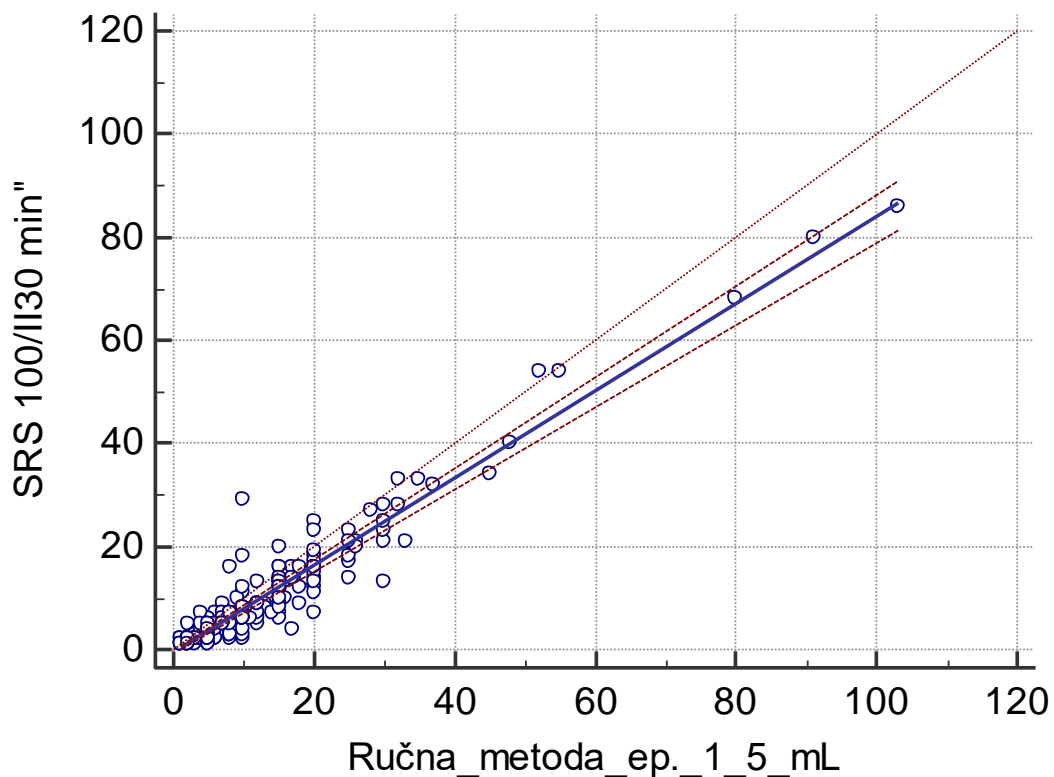
12a



12b

Slika 12. Bland-Altmanov grafik – konstantno (12a) i proporcionalno (12b) odstupanje usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 30 minuta. Bland-Altmanovom statističkom analizom podataka utvrđeno je postojanje statistički značajnog i konstantnog (Slika 12a) i proporcionalnog (Slika 12b) odstupanja.

4.4.1.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta



Slika 13. Grafički prikaz Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 30 minuta

Jednadžba pravca Passing-Bablokove regresijske analize podataka je:

$$y = -0,6154 (-0,9714 \text{ do } -0,2000) + 0,8462 (0,8000 \text{ do } 0,8857) x.$$

Passing-Bablokovom regresijskom analizom (Slika 13) utvrđeno je statistički značajno konstantno (odsječak na osi $y = -0,6154$, 95% CI = $-0,9714$ do $-0,2000$) i proporcionalno (nagib pravca = $0,8462$, 95% CI = $0,8000$ do $0,8857$) odstupanje prilikom ispitivanja usporedivosti ručne i automatizirane modificirane Westergren metode u trajanju od 30 minuta za određivanje brzine sedimentacije eritrocita.

Srednje odstupanje za mjerenje ručnom metodom i na analizatoru u trajanju od 30 minuta iznosi -22% (Tablica 5). Broj pojedinačnih odstupanja koja imaju vrijednost veću od definiranog kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25% , https://croqalm.hdmblm.hrimgesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf) iznosi $>5\%$ ($121/242$).

4.4.2. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks

Ispitivanjem usporedivosti metode s postojećim sustavom potrebno je obuhvatiti čitavo mjerno područje analita. Budući da su vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita većine prethodno ispitanih uzoraka (odlomak 4.3.1.) za mjerenje od 30 minuta unutar granica referentnog intervala, naknadno su iz ostalih uzoraka pacijenata odabrani uzorci (njih 75) s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita većima od 30 mm/3,6 ks te im je određena brzina sedimentacije eritrocita i na analizatoru SRS 100/II u svrhu ispitivanja usporedivosti. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablici 9.

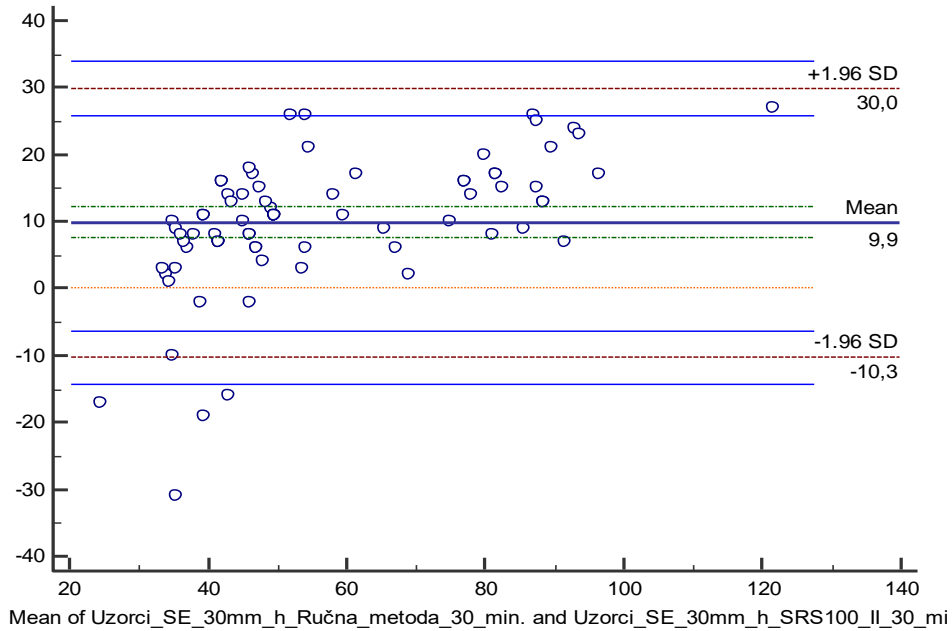
Tablica 9. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks

redni broj	datum	protokol	ručno mjerenje (mm/3,6 ks)	SRS 100/II nakon 30 minuta (mm/3,6 ks)	odstupanje
1	04.04.2024.	65	35	33	-6%
2	04.04.2024.	2088	42	34	-19%
3	04.04.2024.	2087	40	34	-15%
4	04.04.2024.	255	85	69	-19%
5	04.04.2024.	358	45	34	-24%
6	04.04.2024.	495	40	33	-18%
7	04.04.2024.	576	80	70	-13%
8	04.04.2024.	2316	50	44	-12%
9	05.04.2024.	2289	90	81	-10%
10	05.04.2024.	446	50	42	-16%
11	05.04.2024.	265	70	68	-3%
12	05.04.2024.	352	100	74	-26%
13	05.04.2024.	354	105	81	-23%
14	05.04.2024.	280	37	34	-8%
15	05.04.2024.	2172	50	36	-28%
16	08.04.2024.	313	90	73	-19%

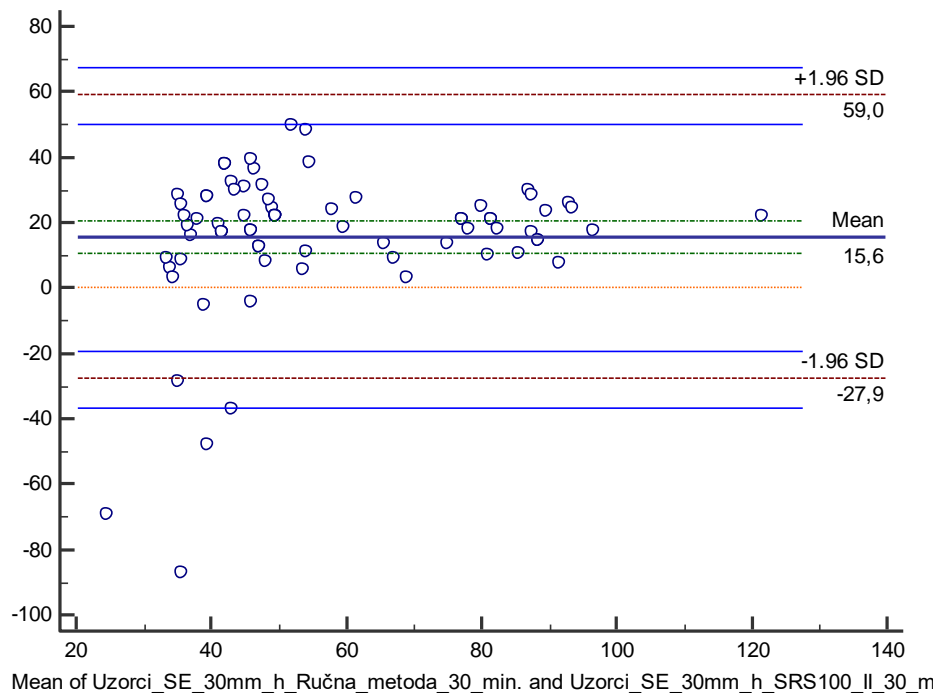
17	08.04.2024.	228	35	32	-9%
18	08.04.2024.	291	40	30	-25%
19	08.04.2024.	294	135	108	-20%
20	08.04.2024.	76	45	47	4%
21	08.04.2024.	70	90	70	-22%
22	08.04.2024.	394	105	82	-22%
23	08.04.2024.	153	20	51	155%
24	08.04.2024.	471	45	34	-24%
25	08.04.2024.	523	50	40	-20%
26	08.04.2024.	670	38	40	5%
27	08.04.2024.	534	70	61	-13%
28	09.04.2024.	126	65	44	-32%
29	09.04.2024.	7	45	38	-16%
30	09.04.2024.	15	100	79	-21%
31	09.04.2024.	322	100	75	-25%
32	09.04.2024.	236	40	31	-23%
33	09.04.2024.	535	90	73	-19%
34	09.04.2024.	518	65	54	-17%
35	09.04.2024.	391	50	46	-8%
36	09.04.2024.	300	55	52	-5%
37	10.04.2024.	657	95	88	-7%
38	10.04.2024.	283	85	77	-9%
39	10.04.2024.	475	50	44	-12%
40	10.04.2024.	490	90	75	-17%
41	10.04.2024.	605	45	38	-16%
42	10.04.2024.	538	95	82	-14%
43	10.04.2024.	652	30	49	63%
44	10.04.2024.	713	16	33	106%
45	10.04.2024.	434	30	40	33%
46	11.04.2024.	375	85	71	-16%
47	11.04.2024.	2314	55	40	-27%
48	11.04.2024.	716	40	32	-20%

49	12.04.2024.	2002	67	41	-39%
50	12.04.2024.	421	65	39	-40%
51	12.04.2024.	2137	35	51	46%
52	12.04.2024.	2176	105	88	-16%
53	12.04.2024.	494	45	37	-18%
54	12.04.2024.	553	55	38	-31%
55	12.04.2024.	535	70	64	-9%
56	12.04.2024.	505	55	44	-20%
57	12.04.2024.	2271	52	38	-27%
58	12.04.2024.	2297	50	37	-26%
59	15.04.2024.	153	55	43	-22%
60	15.04.2024.	380	95	80	-16%
61	15.04.2024.	479	45	38	-16%
62	15.04.2024.	590	55	44	-20%
63	15.04.2024.	671	50	42	-16%
64	15.04.2024.	695	55	42	-24%
65	15.04.2024.	728	35	34	-3%
66	15.04.2024.	782	95	82	-14%
67	16.04.2024.	2002	70	53	-24%
68	16.04.2024.	481	50	34	-32%
69	16.04.2024.	2078	55	44	-20%
70	16.04.2024.	417	50	34	-32%
71	16.04.2024.	2236	85	69	-19%
72	16.04.2024.	129	57	51	-11%
73	16.04.2024.	344	55	37	-33%
74	16.04.2024.	222	65	51	-22%
75	16.04.2024.	423	55	44	-20%
	srednja vrijednost		62	52	-12%

4.4.2.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks



14a

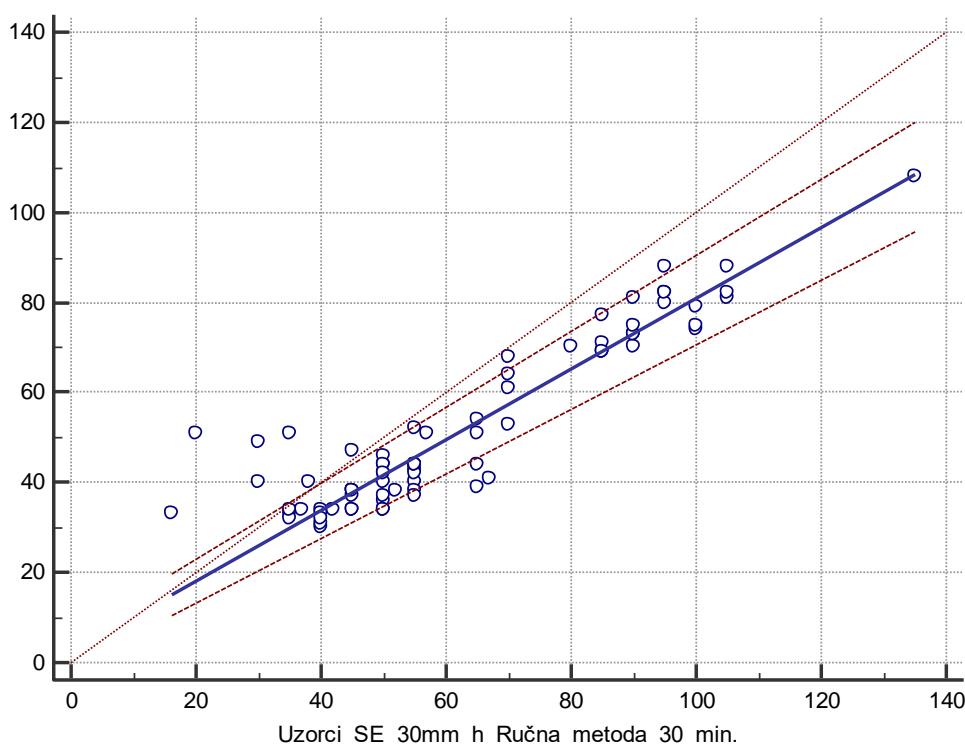


14b

Slika 14. Bland-Altmanov grafik – konstantno (14a) i proporcionalno (14b) odstupanje usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke sa vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks

Bland-Altmanovom statističkom analizom podataka utvrđeno je postojanje statistički značajnog konstantnog (Slika 14a) i proporcionalnog (Slika 14b) odstupanja za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita većima od 30 mm/3,6 ks.

4.4.2.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks



Slika 15. Grafički prikaz Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 30 minuta za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks

Passing-Bablokovom regresijskom statističkom analizom dobivena je jednadžba pravca

$$y = 2,5000 (-0,8947 \text{ do } 6,2857) + 0,7833 (0,7143 \text{ do } 0,8421) x.$$

Passing-Bablokovom regresijskom analizom nije utvrđeno statistički značajno konstantno odstupanje (odsječak na osi y = 2,5000, 95% CI = -0,8947 do 6,2857). Međutim, utvrđeno je postojanje statistički značajnog proporcionalnog odstupanja (nagib pravca = 0,7833, 95% CI = 0,7143 do 0,8421) prilikom ispitivanja usporedivosti ručne modificirane Westergren metode i

automatizirane modificirane Westergren metode na uzorcima s brzinom sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks.

Srednje odstupanje za uzorke s brzinom sedimentacije eritrocita većom od 30 mm/3,6 ks iznosi -12% (Tablica 9). Broj pojedinačnih odstupanja koja imaju vrijednost veću od unaprijed definiranog kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/imagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf) je 17/75 te iznosi >5%.

4.4.3. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom modificiranom Westergren metodom i modificiranom Westergren metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta

Analizirano je ukupno 240 uzoraka, od čega je jedan uzorak bio zgrušan, stoga nije obuhvaćen statističkom analizom podataka. Uzorak pod rednim brojem 97 (Tablica 10) također nije obuhvaćen statističkom analizom zbog nemjerljive brzine sedimentacije eritrocita na analizatoru (>140 mm/3,6 ks).

Tablica 10. Rezultati usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta

redni broj	datum	protokol	ručno mjerenje (mm/3,6 ks)	SRS 100/II nakon 15 minuta (mm/3,6 ks)	odstupanje
1	25.10.2023.	2031	7	4	-43%
2	25.10.2023.	2077	2	2	0%
3	25.10.2023.	2015	20	13	-35%
4	25.10.2023.	2086	5	2	-60%
5	25.10.2023.	2088	25	16	-36%
6	25.10.2023.	2105	15	9	-40%
7	25.10.2023.	2004	20	14	-30%
8	25.10.2023.	2013	15	13	-13%
9	25.10.2023.	2022	5	1	-80%
10	25.10.2023.	2106	19	13	-32%
11	25.10.2023.	2129	25	19	-24%

12	25.10.2023.	2207	6	5	-17%
13	26.10.2023.	2116	5	3	-40%
14	26.10.2023.	2130	10	6	-40%
15	26.10.2023.	2132	16	13	-19%
16	26.10.2023.	2004	17	11	-35%
17	26.10.2023.	2010	10	5	-50%
18	26.10.2023.	2008	5	1	-80%
19	26.10.2023.	2026	13	7	-46%
20	26.10.2023.	2028	5	2	-60%
21	26.10.2023.	2055	3	1	-67%
22	26.10.2023.	2077	19	13	-32%
23	26.10.2023.	2090	10	5	-50%
24	26.10.2023.	2110	15	13	-13%
25	26.10.2023.	2094	12	5	-58%
26	26.10.2023.	2166	5	1	-80%
27	26.10.2023.	2195	7	6	-14%
28	26.10.2023.	2205	6	3	-50%
29	26.10.2023.	2227	4	4	0%
30	26.10.2023.	2256	4	2	-50%
31	26.10.2023.	2246	4	2	-50%
32	26.10.2023.	474	15	11	-27%
33	26.10.2023.	403	3	4	33%
34	26.10.2023.	342	zgrušano	zgrušano	/
35	26.10.2023.	299	9	13	44%
36	27.10.2023.	2010	8	1	-88%
37	27.10.2023.	2012	20	11	-45%
38	27.10.2023.	2017	15	14	-7%
39	27.10.2023.	2023	26	21	-19%
40	27.10.2023.	2024	8	2	-75%
41	27.10.2023.	2027	30	21	-30%
42	27.10.2023.	2050	30	19	-37%
43	27.10.2023.	2056	15	14	-7%

44	27.10.2023.	2061	15	7	-53%
45	27.10.2023.	2074	10	5	-50%
46	27.10.2023.	2076	16	8	-50%
47	27.10.2023.	2080	6	1	-83%
48	27.10.2023.	2093	10	3	-70%
49	27.10.2023.	2103	10	5	-50%
50	27.10.2023.	2144	3	1	-67%
51	27.10.2023.	2137	15	16	7%
52	27.10.2023.	2110	4	2	-50%
53	27.10.2023.	2155	8	5	-38%
54	27.10.2023.	361	20	17	-15%
55	27.10.2023.	421	80	59	-26%
56	27.10.2023.	2230	20	11	-45%
57	28.10.2023.	145	7	14	100%
58	28.10.2023.	146	5	1	-80%
59	28.10.2023.	147	15	13	-13%
60	28.10.2023.	149	7	6	-14%
61	28.10.2023.	152	4	1	-75%
62	28.10.2023.	153	2	1	-50%
63	28.10.2023.	154	2	1	-50%
64	28.10.2023.	156	20	13	-35%
65	28.10.2023.	155	15	11	-27%
66	28.10.2023.	157	3	1	-67%
67	28.10.2023.	158	12	13	8%
68	28.10.2023.	159	5	1	-80%
69	28.10.2023.	161	3	1	-67%
70	28.10.2023.	162	2	1	-50%
71	28.10.2023.	163	10	5	-50%
72	28.10.2023.	164	1	1	0%
73	28.10.2023.	165	5	1	-80%
74	28.10.2023.	166	7	2	-71%
75	28.10.2023.	167	3	2	-33%

76	28.10.2023.	168	5	2	-60%
77	28.10.2023.	150	5	7	40%
78	28.10.2023.	169	5	1	-80%
79	30.10.2023.	2010	20	1	-95%
80	30.10.2023.	2016	3	1	-67%
81	30.10.2023.	2022	12	4	-67%
82	30.10.2023.	2026	2	1	-50%
83	30.10.2023.	2028	5	1	-80%
84	30.10.2023.	4103	5	1	-80%
85	30.10.2023.	2039	6	2	-67%
86	30.10.2023.	2049	10	5	-50%
87	30.10.2023.	2060	15	9	-40%
88	30.10.2023.	2063	12	11	-8%
89	30.10.2023.	2064	15	11	-27%
90	30.10.2023.	2123	13	7	-46%
91	30.10.2023.	2130	5	3	-40%
92	30.10.2023.	2137	9	8	-11%
93	30.10.2023.	2098	25	11	-56%
94	30.10.2023.	2093	15	10	-33%
95	30.10.2023.	2154	7	1	-86%
96	30.10.2023.	2153	5	1	-80%
97	30.10.2023.	2166	103	>140	/
98	30.10.2023.	2173	6	5	-17%
99	30.10.2023.	2183	7	5	-29%
100	30.10.2023.	2236	7	5	-29%
101	30.10.2023.	2242	9	6	-33%
102	30.10.2023.	563	20	13	-35%
103	30.10.2023.	2275	15	11	-27%
104	30.10.2023.	752	12	5	-58%
105	31.10.2023.	2010	6	2	-67%
106	31.10.2023.	2066	5	1	-80%
107	31.10.2023.	2051	52	62	19%

108	31.10.2023.	2025	4	1	-75%
109	31.10.2023.	2033	7	3	-57%
110	31.10.2023.	2029	26	17	-35%
111	31.10.2023.	2022	37	24	-35%
112	31.10.2023.	2001	2	1	-50%
113	31.10.2023.	2028	11	6	-45%
114	31.10.2023.	2075	6	5	-17%
115	31.10.2023.	2068	20	16	-20%
116	31.10.2023.	2106	5	5	0%
117	31.10.2023.	2123	3	1	-67%
118	31.10.2023.	2131	2	1	-50%
119	31.10.2023.	324	6	1	-83%
120	31.10.2023.	2190	5	2	-60%
121	31.10.2023.	2138	91	81	-11%
122	31.10.2023.	2209	3	1	-67%
123	31.10.2023.	2226	5	1	-80%
124	31.10.2023.	2220	5	1	-80%
125	31.10.2023.	2218	5	2	-60%
126	31.10.2023.	2201	2	1	-50%
127	31.10.2023.	kont. 5401	48	40	-17%
128	2.11.2023.	2001	2	1	-50%
129	2.11.2023.	2013	5	1	-80%
130	2.11.2023.	2045	5	1	-80%
131	2.11.2023.	2048	2	1	-50%
132	2.11.2023.	2043	20	13	-35%
133	2.11.2023.	2041	10	14	40%
134	2.11.2023.	2050	2	1	-50%
135	2.11.2023.	2071	15	9	-40%
136	2.11.2023.	2051	5	6	20%
137	2.11.2023.	2059	3	1	-67%
138	2.11.2023.	2052	5	4	-20%
139	2.11.2023.	2109	5	2	-60%

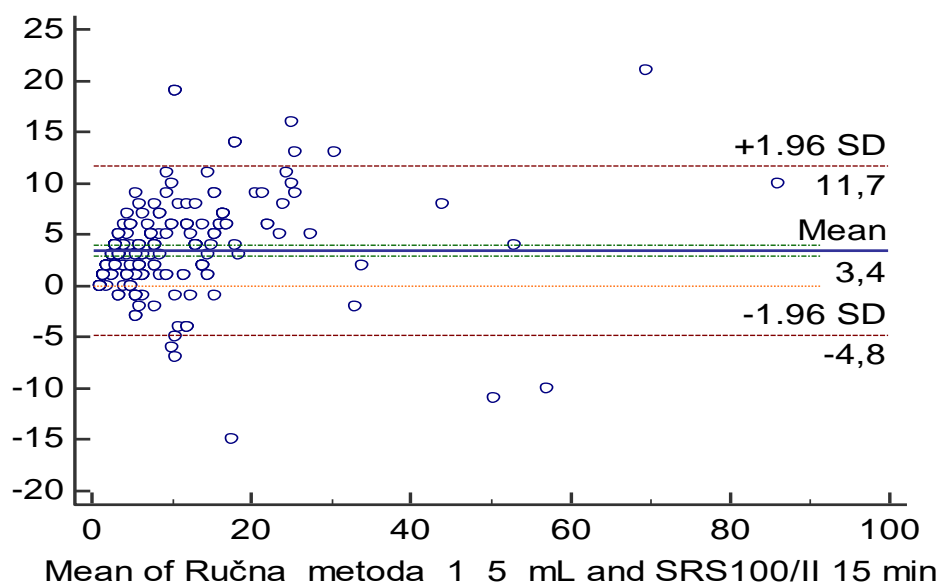
140	2.11.2023.	2077	8	4	-50%
141	2.11.2023.	2087	5	2	-60%
142	2.11.2023.	2146	15	11	-27%
143	2.11.2023.	2153	17	9	-47%
144	2.11.2023.	2205	6	1	-83%
145	2.11.2023.	2202	32	19	-41%
146	2.11.2023.	272	1	1	0%
147	2.11.2023.	452	6	7	17%
148	2.11.2023.	728	18	13	-28%
149	03.11.2023.	2040	9	7	-22%
150	03.11.2023.	2038	7	9	29%
151	03.11.2023.	2046	55	51	-7%
152	03.11.2023.	2059	30	25	-17%
153	03.11.2023.	2067	8	4	-50%
154	03.11.2023.	2028	7	6	-14%
155	03.11.2023.	2127	4	7	75%
156	03.11.2023.	2128	4	7	75%
157	03.11.2023.	2111	5	6	20%
158	03.11.2023.	2114	4	1	-75%
159	03.11.2023.	2132	15	11	-27%
160	03.11.2023.	2098	2	1	-50%
161	03.11.2023.	2204	10	9	-10%
162	03.11.2023.	2218	25	11	-56%
163	03.11.2023.	2236	15	5	-67%
164	03.11.2023.	451	33	17	-48%
165	03.11.2023.	356	10	1	-90%
166	03.11.2023.	474	14	5	-64%
167	03.11.2023.	404	1	1	0%
168	03.11.2023.	2266	9	7	-22%
169	04.11.2023.	168	8	2	-75%
170	04.11.2023.	170	10	6	-40%
171	04.11.2023.	181	20	1	-95%

172	04.11.2023.	190	25	19	-24%
173	04.11.2023.	186	5	4	-20%
174	04.11.2023.	185	30	20	-33%
175	04.11.2023.	169	5	5	0%
176	04.11.2023.	196	2	1	-50%
177	04.11.2023.	194	3	1	-67%
178	04.11.2023.	193	4	1	-75%
179	04.11.2023.	198	18	13	-28%
180	04.11.2023.	177	5	1	-80%
181	04.11.2023.	172	9	6	-33%
182	04.11.2023.	195	8	5	-38%
183	04.11.2023.	184	2	1	-50%
184	04.11.2023.	176	18	13	-28%
185	04.11.2023.	182	10	9	-10%
186	04.11.2023.	175	7	13	86%
187	04.11.2023.	189	5	1	-80%
188	04.11.2023.	187	3	4	33%
189	04.11.2023.	188	5	6	20%
190	04.11.2023.	191	1	1	0%
191	04.11.2023.	197	8	13	63%
192	06.11.2023.	2063	8	2	-75%
193	06.11.2023.	2159	10	25	150%
194	06.11.2023.	535	10	11	10%
195	06.11.2023.	604	45	56	24%
196	08.11.2023.	2044	5	1	-80%
197	08.11.2023.	2023	35	33	-6%
198	08.11.2023.	2012	20	9	-55%
199	08.11.2023.	2021	15	4	-73%
200	08.11.2023.	2032	10	2	-80%
201	08.11.2023.	2005	5	1	-80%
202	08.11.2023.	2059	1	1	0%
203	08.11.2023.	2082	2	1	-50%

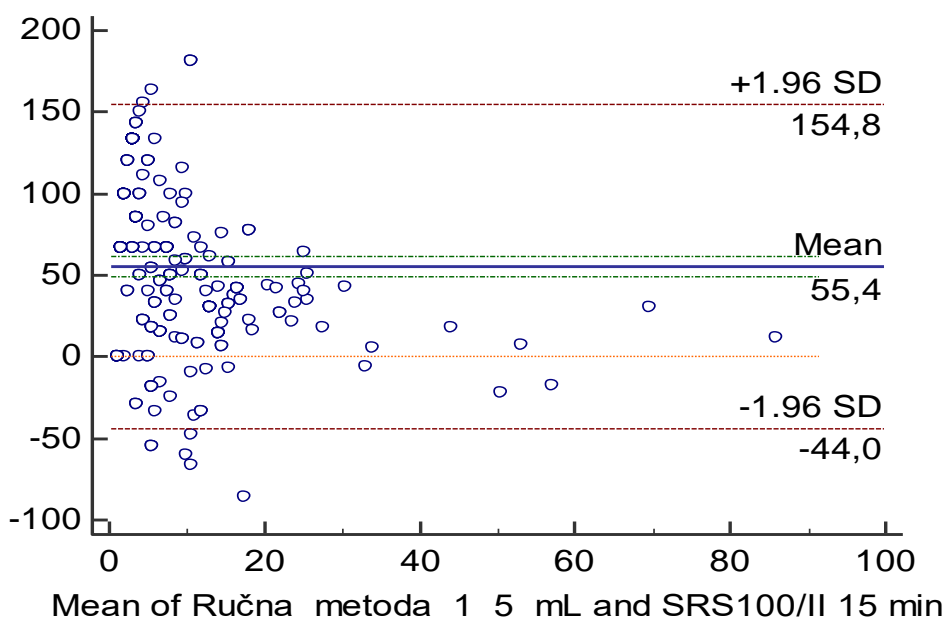
204	08.11.2023.	2083	6	4	-33%
205	08.11.2023.	2085	1	1	0%
206	08.11.2023.	2091	32	34	6%
207	08.11.2023.	2125	7	6	-14%
208	08.11.2023.	2103	10	7	-30%
209	08.11.2023.	2131	12	11	-8%
210	08.11.2023.	2136	6	5	-17%
211	08.11.2023.	2185	6	2	-67%
212	08.11.2023.	2206	3	2	-33%
213	08.11.2023.	477	28	20	-29%
214	08.11.2023.	449	4	2	-50%
215	08.11.2023.	2223	5	1	-80%
216	08.11.2023.	2232	5	2	-60%
217	08.11.2023.	2259	12	7	-42%
218	10.11.2023.	2004	10	4	-60%
219	10.11.2023.	2036	15	13	-13%
220	10.11.2023.	2043	10	6	-40%
221	10.11.2023.	2044	10	14	40%
222	10.11.2023.	2045	17	13	-24%
223	10.11.2023.	2057	5	1	-80%
224	10.11.2023.	2059	8	4	-50%
225	10.11.2023.	2082	7	4	-43%
226	10.11.2023.	2066	5	4	-20%
227	10.11.2023.	2075	15	11	-27%
228	10.11.2023.	2064	10	6	-40%
229	10.11.2023.	2081	15	11	-27%
230	10.11.2023.	2086	2	1	-50%
231	10.11.2023.	2089	5	2	-60%
232	10.11.2023.	146	5	1	-80%
233	10.11.2023.	142	5	6	20%
234	10.11.2023.	2114	15	13	-13%
235	10.11.2023.	2109	10	5	-50%

236	10.11.2023.	2184	5	2	-60%
237	10.11.2023.	2170	5	1	-80%
238	10.11.2023.	486	2	1	-50%
239	10.11.2023.	329	7	5	-29%
240	10.11.2023.	296	20	14	-30%
	srednja vrijednost		11,6	7,8	-33%

4.4.3.1. Rezultati Bland-Altmanove analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta



16a

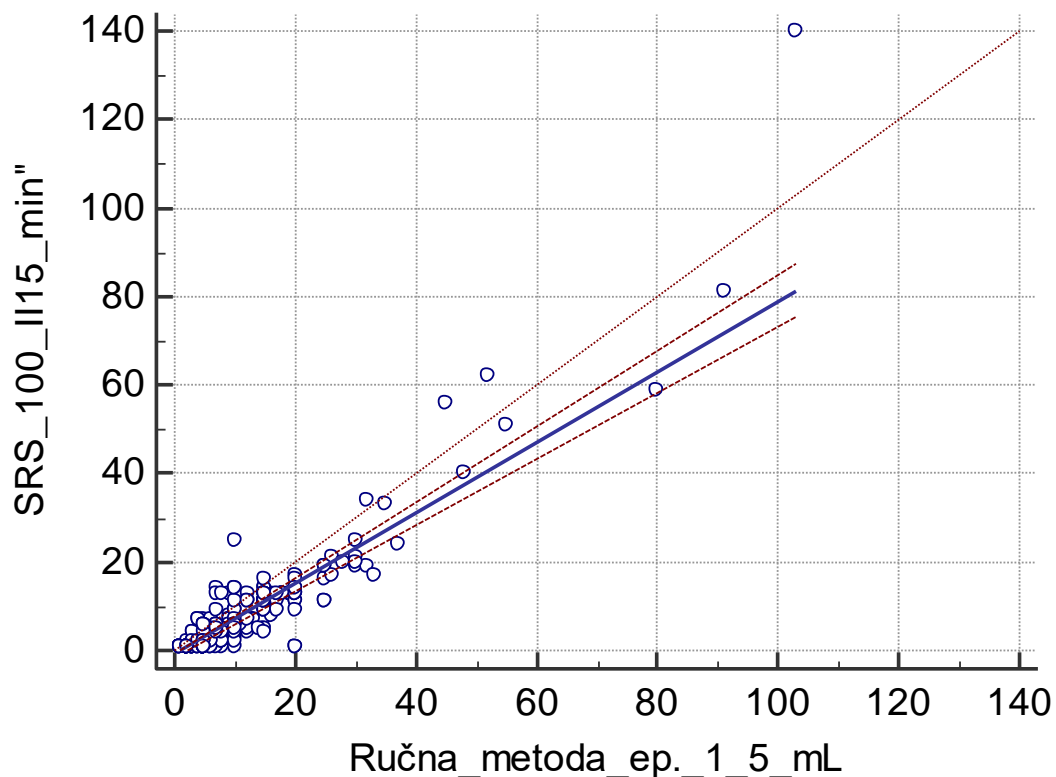


16b

Slika 16. Bland-Altmanov grafikon – konstantno (16a) i proporcionalno (16b) odstupanje usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 15 minuta

Bland-Altmanovom statističkom analizom utvrđeno je statistički značajno konstantno (Slika 16a) i statistički značajno proporcionalno (Slika 16b) odstupanje prilikom ispitivanja usporedivosti ručne modificirane Westergren metode i modificirane Westergren metode na analizatoru u trajanju od 15 minuta.

4.4.3.2. Rezultati Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti mjerenja ručnom metodom i metodom na analizatoru u trajanju od 15 minuta



Slika 17. Grafički prikaz Passing-Bablokove regresijske analize usporedivosti ručne i automatizirane metode mjerenja na analizatoru u trajanju od 15 minuta

Passing-Bablokovom regresijskom analizom usporedivosti ručne modificirane Westergren metode i modificirane Westergren metode na analizatoru u trajanju od 15 minuta (Slika 17) dobivena je jednadžba regresijskog pravca:

$$y = -1,4000 (-1,8571 \text{ do } -1,0000) + 0,8000 (0,7500 \text{ do } 0,8571) x.$$

Utvrđena je prisutnost statistički značajnog konstantnog (odsječak na osi $y = -1,4000$, 95% CI = $-1,8571$ do $-1,0000$) i statistički značajnog proporcionalnog (nagib pravca = $0,8000$, 95% CI = $0,7500$ do $0,8571$) odstupanja.

Srednje odstupanje usporedivosti mjerenja na analizatoru u trajanju od 15 minuta i ručnog mjerenja brzine sedimentacije eritrocita iznosi -33 (Tablica 10). Broj pojedinačnih odstupanja vrijednosti veće od definiranog kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/images/upute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf) iznosi $>5\%$ ($147/238$).

5. RASPRAVA

Medicinsko-biokemijska laboratorijska dijagnostika sastavni je dio medicinskih djelatnosti kojima je u središtu djelovanja dobrobit pacijenta. Kako bi se osigurala pouzdanost rezultata i sigurnost informacije koja se prosljeđuje iz laboratorija, važno je pridržavati se smjernica i preporuka krovnih organizacija, sudjelovati u programima vanjske kontrole kvalitete te težiti harmonizaciji i standardizaciji. Ovisno o potrebama laboratorija, odnosno o ustanovi i pacijentima kojima se pruža usluga, financijskom stanju, prostoru, uvjetima, kvaliteti pretrage, dostupnosti novih pretraga, uvode se nove metode i mijenjaju postojeće. Danas se sve više teži k automatizaciji i zamjeni ručnih metoda automatiziranim kako bi se smanjila izloženost zaposlenika biološkom riziku, varijabilnost rezultata te ljudska greška. Prije uvođenja nove metode, potrebno je provesti njenu validaciju i verifikaciju. Validacija je postupak ispitivanja osnovnih značajki metode (referentni intervali, preciznost, linearnost, granice slijepe probe, detekcije i kvantifikacije, analitička osjetljivost, interferencije, prijenos analita – engl. *carry over*, stabilnost uzorka i druge) koji je dužan obaviti proizvođač, a verifikacija podrazumijeva provjeru značajki metode navedenih u deklaraciji proizvođača pri čemu laboratorij sam odabire značajke metode obuhvaćene verifikacijskim protokolom uz obavezno ispitivanje preciznosti i usporedivosti (Saračević, 2013).

Određivanje brzine sedimentacije eritrocita desetljećima je prisutna pretraga u medicinsko-biokemijskim laboratorijima (Tishkowski i Gupta, 2022). Donedavno se određivala isključivo ručno izvođenom referentnom Westergren metodom, a danas se sve više zamjenjuje automatiziranim metodama koje se temelje na modifikaciji originalne Westergren metode. S obzirom na to, prema CLSI i ICSH smjernicama, prije uvođenja nove metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita, potrebno je novu metodu usporediti s referentnom Westergren metodom (Kratz i sur., 2017). U sklopu ispitivanja prikladnosti uvođenja automatizirane modificirane Westergren metode u rutinski rad, ovim je radom obuhvaćena usporedba modificirane Westergren metode na analizatoru SRS 100/II s ručnom modificiranom Westergren metodom na graduiranom stalku.

Modificirana Westergren metoda na analizatoru i na graduiranom stalku zahtjeva upotrebu novih spremnika (VACUETTE® Tube 4NC ESR) u odnosu na spremnike za Westergren metodu. U skladu s time, usporedbi dviju metoda prethodila je tehnička i klinička validacija novih spremnika volumena 1,5 mL i 2,75 mL. Udio svih promatranih indikatora kvalitete tehničke validacije zadovoljio je postavljene kriterije prihvatljivosti (udio spremnika s

nezadovoljavajućim indikatorom <1%), osim udjela zgrušanih uzoraka koji je iznosio 4%. Bland-Altmanovom i Passing-Bablokovom analizom za spremnike volumena 1,5 mL nije utvrđeno statistički značajno ni konstantno ni proporcionalno odstupanje. Srednje odstupanje za spremnike volumena 1,5 mL iznosi 14,66% te je manje od kriterija prihvatljivosti koji je preuzet iz CROQALM-a (https://croqalm.hdmbmlm.hrimagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf), stoga nije prisutno ni klinički značajno konstantno odstupanje. Za spremnike volumena 2,75 mL Bland-Altmanovom analizom utvrđeno je postojanje statistički značajnog proporcionalnog odstupanja bez statistički značajnog konstantnog odstupanja, dok je Passing-Bablokovom regresijskom analizom utvrđeno da ne postoji statistički značajno ni konstantno ni proporcionalno odstupanje. Srednje odstupanje (19,55%) manje je od kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmbmlm.hrimagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf), prema čemu ne postoji klinički značajno konstantno odstupanje među ispitivanim spremnicima. Dobiveni rezultati upućuju na prikladnost uvođenja novih spremnika u svakodnevni rad, što omogućuje sigurniji rad (nema potrebe za odčepljivanjem), analiziranje spremnika različitih volumena istom metodom te, za spremnike volumena 1,5 mL, manji volumen uzorka i kraće vrijeme analize. Uvođenjem novih spremnika, potrebno je pažljivije homogenizirati uzorak s obzirom na njihov vrlo uzak promjer (otežava homogenizaciju uzorka) te paziti na pravilno obilježavanje spremnika budući da neispravno zalijepljena barkod naljepnica može otežavati očitavanje rezultata. Brzina sedimentacije eritrocita iz novih spremnika može se određivati pomoću ručne modificirane metode na graduiranom stalku očitavanjem razine do koje su eritrociti sedimentirali nakon 30 minuta. Očitavanje razine otežano je zbog načina gradacije stalka koja nije precizna poput Westergren metode te uvelike ovisi o djelatniku koji tu razinu očitava. Kako bi se spriječile pogreške prilikom vizualnog očitavanja rezultata te kako bi se ubrzao proces analize, nastoji se uvesti automatizirana metoda na analizatoru SRS 100/II.

Analizator SRS 100/II može odrediti brzinu sedimentacije eritrocita tijekom mjerenja u trajanju od 60, 30 i 15 minuta (definirano u postavkama analizatora) isključivo u spremnicima volumena 1,5 mL, stoga su daljnji koraci provedeni samo za spremnike volumena 1,5 mL. Uvođenjem automatizirane metode, između ostalog, nastoji se skratiti trajanje analize pa je ispitivana usporedivost mjerenja analizatora nakon 30 minuta i nakon 15 minuta s ručnom modificiranom metodom u trajanju od 30 ili 60 minuta. Bland-Altmanovom i Passing-Bablokovom statističkom analizom usporedivosti metoda nakon 30 minuta utvrđeno je

statistički značajno konstantno i proporcionalno odstupanje. Srednje odstupanje (-22%) unutar je kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/imagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf), što ukazuje da statistički značajno konstantno odstupanje nije klinički značajno, dok činjenica da više od 5% pojedinačnih vrijednosti ima odstupanje veće od kriterija prihvatljivosti upućuje na prisutnost klinički značajnog proporcionalnog odstupanja. Ispitivanjem usporedivosti za uzorke s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks (trajanje analize 30 minuta), Bland-Altmanovom analizom utvrđena je prisutnost statistički značajnog i konstantnog i proporcionalnog odstupanja, dok je Passing-Bablokovom analizom utvrđena prisutnost statistički značajnog proporcionalnog bez statistički značajnog konstantnog odstupanja. Srednje odstupanje za ovu skupinu uzoraka iznosi -12% te je unutar kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/imagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf), a broj pojedinačnih vrijednosti većih od kriterija prihvatljivosti $>5\%$, što proporcionalno odstupanje čini klinički značajnim. Ispitivanjem usporedivosti automatizirane metode na analizatoru s ručnom metodom za vrijeme mjerenja od 15 minuta, statistička analiza također ukazuje na prisutnost statistički značajnog i konstantnog i proporcionalnog odstupanja uz srednje odstupanje (-33%) izvan kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/imagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf), što znači da postoji klinički značajno konstantno odstupanje. Dodatno, na klinički značajno proporcionalno odstupanje ukazuje više od 5% pojedinačnih vrijednosti s odstupanjem većim od definiranog kriterija prihvatljivosti. Zbog svega navedenog, automatizirana metoda u trajanju od 15 minuta smatra se neprihvatljivom za uvođenje u rutinski rad laboratorija te se za svakodnevni rad smatra prihvatljivom jedino automatizirana metoda s mjerenjem od 30 minuta kod koje statistički značajno konstantno odstupanje nije ujedno i klinički značajno. Uvođenju automatizirane metode s vremenom mjerenja od 30 minuta u svakodnevni rad doprinose i rezultati usporedivosti ispitane pomoću uzoraka s patološkim vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita (>30 mm/3,6 ks), koji također pokazuju prihvatljive vrijednosti, odnosno koji ne pokazuju klinički značajno konstantno odstupanje. Time je provjerena prikladnost metode i za područje brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks. Moguće je objašnjenje za neprihvatljivo vrijeme mjerenja od 15 minuta to što se proces sedimentacije eritrocita odvija u tri koraka za koja je vremenski potrebno oko 60 minuta (10 minuta stvaranje *rouleaux* formacija, 40 minuta sedimentacija i 10 minuta faza pakiranja), tako da je ekstrapolacija

rezultata nakon 15 minuta mjerenja nedovoljno pouzdana jer se u periodu od 30 minuta ipak obuhvati veći udio događaja u spremniku.

Budući da je ispitivanjem usporedivosti ručne i automatizirane modificirane metode utvrđena primjerenost uvođenja automatizirane metode u trajanju od 30 minuta, ponovljivost je ispitana uzastopnim mjerenjem brzine sedimentacije eritrocita dvaju uzoraka različitih vrijednosti u trajanju od 30 minuta. Rezultati ponovljivosti obaju uzoraka unutar su kriterija prihvatljivosti (CROQALM, 25%, https://croqalm.hdmblm.hr/images/upute/2024TABLICA_DOZVOLJENI_H_ODSTUPANJA_za_web.pdf), što ide u prilog implementaciji metode u rutinski rad, odnosno pokazuje da je metoda ponovljiva. Ponovljivost ovisi i o stabilnosti uzorka, koja u ovom radu nije ispitana s obzirom da su svi uzorci analizirani unutar deklariranog vremena stabilnosti za pretragu, tj. unutar 6 sati na 20-25 °C (Stavljenić Rukavina i Čvorišćec, ured., 2007). Međutim, Brenčić i suradnici ispitali su stabilnost uzorka te su utvrdili da, stajanjem uzorka na sobnoj temperaturi, ne dolazi do statistički značajne razlike u rezultatima na SRS 100/II analizatoru nakon 3 sata ni nakon 6 sati u odnosu na početne vrijednosti, dok se vrijednosti na iSED analizatoru (AlcorScientific, Smithfield, SAD) mijenjaju stajanjem uzorka na sobnoj temperaturi već nakon 3 sata u odnosu na početne vrijednosti i u odnosu na one izmjerene na SRS 100/II (Brenčić i sur., 2020). Lapić i suradnici ustanovili su da ne postoji statistički značajna razlika u rezultatima na Ves-Matic Cube 200 analizatoru (Diesse Diagnostica Senese, Siena, Italija) nakon cjelodnevne pohrane uzorka na 4 °C, dok se rezultati uzoraka pohranjenih na sobnoj temperaturi uvelike mijenjaju u odnosu na prvotne vrijednosti (Lapić i sur., 2019).

Uvođenjem automatizirane modificirane metode na SRS 100/II analizatoru skraćuje se vrijeme analize na 30 minuta, povećava se sigurnost rada zbog upotrebe novih spremnika koje nije potrebno odčepljivati, a kojima se također smanjuje i volumen uzorka potreban za mjerenje, smanjuju se troškovi laboratorija, a, ukoliko zbog tehničkih razloga nije moguće provesti određivanje brzine sedimentacije eritrocita na analizatoru, moguće ju je odrediti na graduiranom stalku za koji se koriste isti spremnici, stoga nije potrebno ponavljati uzorkovanje. Metoda na graduiranom stalku, ručna modificirana metoda, također osigurava rezultate nakon 30 minuta, ne iziskuje odčepljivanje spremnika ili neki drugi manualni rad, osim dobre homogenizacije koja je potrebna i za uređaj, postavljanje zapornog sata i vizualno očitavanje rezultata. Rezultati upućuju na postojanje statistički značajne razlike između ručne i automatizirane metode ($P < 0,05$) za sve tri podskupine s obzirom na brzinu sedimentacije eritrocita (< 20 , $20-40$, > 40 mm/3,6 ks). Vrijednosti očitane na graduiranom stalku za sve su

podskupine nešto veće nego na analizatoru, čemu doprinosi otežano očitavanje razine do koje su eritrociti sedimentirali, zbog načina gradacije stalka, te ovisnost rezultata o zaposleniku koji vrijednosti očitava. Naime, stalak je graduiran tako da crtice prikazuju vrijednosti sedimentacije eritrocita u razmaku od 5 mm/3,6 ks, što je nepreciznije u odnosu na Westergren metodu u kojoj je jedna crtica 1 mm. Budući da postoji razlika u rezultatima dobivenim na analizatoru i očitavanjem na graduiranom stalku, metode se ne smiju koristiti istovremeno. Nadalje, Asif i suradnici utvrdili su pozitivnu korelaciju analizatora Vacuette SRS 20/II s Westergren metodom, s nižim izmjerenim vrijednostima dobivenim na Vacuette SRS 20/II u usporedbi s Westergren metodom pri većim vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita (Asif i sur., 2012). Brenčić i suradnici usporedbom metode na iSED analizatoru i SRS 100/II Bland-Altmanovom analizom utvrdili su konstantno odstupanje s većim izmjerenim vrijednostima na iSED analizatoru (Brenčić i sur., 2022). Mogući uzrok različitih rezultata dobivenih na iSED analizatoru u odnosu na one dobivene na SRS 100/II može biti upotreba različitih antikoagulansa. iSED zahtjeva upotrebu spremnika s EDTA antikoagulansom, a SRS 100/II spremnike s citratnim antikoagulansom. Budući da je citratna krv manje viskozna od EDTA krvi, upotreba spremnika s citratnim antikoagulansom može biti uzrok većih rezultata na iSED analizatoru u odnosu na one dobivene na SRS 100/II (Brenčić i sur., 2022). Neki od sustava koji su danas često u upotrebi su i Starrsed Inlerliner (Starrsed RL, RR Mechatronics, Nizozemska), Test1 (Alifax, Polverara, Italija) i Ves-Matic Cube 200. Različite automatizirane metode razlikuju se po načelu mjerenja, spremnicima potrebnima za mjerenje, stupnju automatiziranosti i drugim značajkama. Rezultati dobiveni na tim sustavima također uglavnom pozitivno koreliraju s rezultatima dobivenima Westergren metodom, uz povremene iznimke (AlFadhli i Al-Awadhi, 2005). Međutim, određivanje korelacije nedovoljno je zadovoljavajuće, budući da dvije metode mogu snažno korelirati, ali se rezultati dobiveni tim metodama ne moraju slagati (AlFadhli i Al-Awadhi, 2005). Orkmez i suradnici uspoređivali su Starrsed Interliner s Westergren metodom. Bland-Altmanova analiza pokazala je povećanje razlike među metodama s povećanjem vrijednosti dobivenih Westergren metodom. Smatraju da je potencijalan uzrok takvim rezultatima razlika u antikoagulansima koji se koriste u dvjema metodama – citratni u Westergren metodi i EDTA u Starrsed Interliner analizatoru (Orkmez i sur., 2020). Nadalje, Patil i suradnici usporedbom automatiziranog sustava Ves-Matic Cube 80 i modificirane metode (obje metode koriste spremnike s EDTA) uočili su značajno odstupanje u rezultatima dviju metoda, osobito pri većim vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita, što se smatra klinički neprihvatljivim (Patil i sur., 2013). Slične rezultate dobili su i AlFadhli i Al-Awadhi uspoređujući SEDSystem i Westergren metodu – dvije metode koje koriste spremnike

s citratnim antikoagulansom (AlFadhli i Al-Awadhi, 2005). Modificirana metoda temelji se na Westergren metodi koja koristi spremnike s citratnim antikoagulansom. Stoga, upotrebom EDTA dolazi do razrjeđenja uzorka i odmaka od Westergren metode, što može utjecati na dobivene rezultate. Također, EDTA ubrzava stvaranje *rouleaux* formacija pa može utjecati na rezultate mjerenja uređaja koji određuju brzinu sedimentacije eritrocita na početku same reakcije, kao što to radi iSED (Brenčić i sur., 2022). SRS 100/II zahtjeva upotrebu spremnika s citratnim antikoagulansom, stoga izostaje taj učinak razrjeđenja i dodatnog manipuliranja uzorkom iz spremnika s EDTA te miješanja s citratom pa je modificirana, i ručna i automatizirana, Westergren metoda po svojim značajkama bliža referentnoj Westergren metodi. Zbog toga je također moguće korištenje istih referentnih intervala uspostavljenih na temelju Westergren metode za metodu analizatora SRS 100/II i ručnu modificiranu metodu, dok su Orkmez i suradnici utvrdili da je potrebno uspostaviti nove referentne intervale zbog velikih odstupanja među rezultatima dobivenim na Starsed Interliner analizatoru i Westergren metodom (Orkmez i sur., 2020). Čičak je ustanovila da bi, uvođenjem automatskog analizatora Roller 20 PN (Alifax, Polverara, Italija), bilo potrebno izraditi nove referentne intervale zbog njegove neusporedivosti s Westergren metodom (Čičak, 2018).

Usporedbom rezultata dobivenih mjerenjem brzine sedimentacije eritrocita na analizatoru i ručnom metodom kod pacijenata s različitim vrijednostima hematokrita i MCV-a, uočene su smanjene vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita kod uzoraka s hematokritom $>0,350$, odnosno povećane kod uzoraka s hematokritom $<0,350$. Brzina sedimentacije eritrocita u ovom ispitivanju nije bila pod značajnim utjecajem MCV-a, to jest, iako postoji statistički značajna razlika u rezultatima dobivenim ručnom i automatiziranom metodom za obje podskupine s obzirom na MCV, vrijednosti dobivene istom metodom u podskupinama ne razlikuju se u tolikoj mjeri kao za hematokrit. Statistički značajna razlika između ručnog i automatiziranog mjerenja prisutna je za sve podskupine s obzirom na vrijednosti hematokrita i MCV-a, ponovno s većim izmjerenim vrijednostima ručnom modificiranom metodom na graduiranom stalku. Brenčić i suradnici usporedbom SRS 100/II i iSED analizatora, utvrdili su postojanje statistički značajne razlike u vrijednostima za podskupine sa smanjenim i urednim MCV-om te urednim i povećanim hematokritom, dok za mjerenja u uzorcima s povećanim MCV-om i smanjenim hematokritom nema statistički značajne razlike (Brenčić i sur., 2020). Nadalje, također su utvrdili negativnu korelaciju između dvaju parametara, odnosno značajno veće vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita i na iSED i na SRS 100/II automatskom sustavu pri nižem hematokritu i srednjem volumenu eritrocita (Brenčić i sur., 2020). Bogdaycioglu i suradnici

usporedbom Ves-Matic Cube 200 i iSED automatskih sustava s Westergren metodom utvrdili su negativnu korelaciju između brzine sedimentacije eritrocita i hematokrita, što dodatno upućuje na to da SRS 100/II podliježe istim utjecajima kao i iSED i Ves-Matic Cube 200 (Bogdaycioglu i sur., 2015). Bogdaycioglu i suradnici uvidjeli su i pozitivnu korelaciju između rezultata analizatora Ves-Matic Cube 200 i iSED i broja eritrocita te koncentracije C-reaktivnog proteina (Bogdaycioglu i sur., 2015). S obzirom na to da se brzina sedimentacije eritrocita određuje kao parametar i u praćenju jačine (intenziteta) upalnog procesa u organizmu, važan je utjecaj i proteina akutne faze, do čijeg porasta u takvom stanju dolazi, na rezultate same analize. Upravo su to ispitali Brenčić i suradnici te pokazali kako je usporedbom iSED i SRS 100/II uređaja apsolutno odstupanje značajno veće u patološkom rasponu vrijednosti, zbog čega postoji mogućnost pogrešne kliničke interpretacije nalaza dobivenih na iSED analizatoru kod 14,17% pacijenata (Brenčić i sur., 2020). Potencijalni uzrok značajno većim vrijednostima leži u činjenici da fibrinogen potiče stvaranje *rouleaux* formacija, čime ubrzava proces sedimentacije, a, s obzirom na to da iSED određuje brzinu sedimentacije eritrocita na temelju stvaranja *rouleaux* formacija, rezultati će biti značajno povišeni (Brenčić i sur., 2020). S druge strane, Lapić i suradnici ispitali su učinak fibrinogena na rezultate analize uređaja Ves-Matic Cube 200 i TEST1 te na rezultate Westergren metode dodajući otopinu liofiliziranog humanog fibrinogena u uzorke zdravih pacijenata. Pokazali su najveći utjecaj fibrinogena na rezultate dobivene na Ves-Matic Cube 200 analizatoru, a najmanji na TEST1 analizatoru. Autori zaključuju da je učinak fibrinogena najizraženiji u drugoj fazi sedimentacije eritrocita te da, budući da TEST1 određuje brzinu sedimentacije na temelju prve faze, rezultati njegove analize bit će pod najmanjim utjecajem. Ispitivanje je provedeno na tek 4 zdrava uzorka, stoga na temelju dobivenog nije moguće zaključiti o rezultatima uzoraka osoba kojima je koncentracija fibrinogena promijenjena zbog patoloških zbivanja (Lapić i sur., 2019). Budući da SRS 100/II koristi drukčiji princip mjerenja, odnosno određuje razinu sedimentacije višekratnim očitavanjem (10 puta) tijekom 30 minuta ukupnog trajanja analize, za očekivati je da će taj učinak fibrinogena biti manje izražen na rezultatima.

Usporedbom automatizirane i ručne modificirane metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita utvrđena je prikladnost uvođenja automatizirane metode na SRS 100/II analizatoru u svakodnevni rad. S obzirom da je za mjerenje od 30 minuta prisutno klinički značajno proporcionalno bez klinički značajnog konstantnog odstupanja, a za mjerenje od 15 minuta i klinički značajno konstantno i proporcionalno odstupanje, u svakodnevni se rad uvodi mjerenje u trajanju od 30 minuta. Uvođenje automatizirane metode omogućuje i tehnička i klinička

validacija spremnika kojom je utvrđena prikladnost uvođenja novih spremnika (VACUETTE® Tube 1,5 mL 4NC ESR, 3,2%-tni natrijev citrat) potrebnih za analizu na SRS 100/II. Metoda je i ponovljiva, budući da rezultati ispitivanja ponovljivosti pomoću uzorka vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita unutar i iznad referentnog intervala zadovoljavaju kriterij prihvatljivosti. No, s obzirom na to da je statistički značajna razlika između mjerenja u trajanju od 30 minuta na analizatoru i ručne metode na graduiranom stalku prisutna i u podskupinama uzoraka razvrstanih prema brzini sedimentacije eritrocita te vrijednostima MCV-a i hematokrita, s većim izmjerenim vrijednostima ručnom metodom, obje se metode ne smiju koristiti istovremeno.

6. ZAKLJUČAK

Tehnička i klinička validacija spremnika VACUETTE® Tube 4NC ESR volumena 2,75 mL i 1,5 mL potvrdila je prikladnost uvođenja novih spremnika u rutinski rad laboratorija.

Ispitivanjem ponovljivosti pomoću dvaju uzoraka različitih vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita na SRS 100/II u trajanju mjerenja od 30 minuta, dobiveni su koeficijenti varijacije koji zadovoljavaju definirane kriterije prihvatljivosti, stoga se zaključuje da je metoda ponovljiva.

Bland-Altmanovom i Passing-Bablokovom statističkom analizom usporedivosti automatizirane i ručne metode u trajanju mjerenja od 30 minuta utvrđeno je statistički značajno konstantno i proporcionalno odstupanje. Ispitivanjem usporedivosti automatizirane metode s vremenom mjerenja od 15 minuta s ručnom metodom u trajanju od 30 minuta, statističkom je analizom utvrđeno statistički značajno konstantno i proporcionalno odstupanje. Za vrijeme mjerenja od 15 minuta statistički značajna odstupanja su i klinički značajna, dok za vrijeme mjerenja od 30 minuta samo je proporcionalno odstupanje klinički značajno. Prema tome, za uvođenje u svakodnevni rad laboratorija i zamjenu ručne modificirane metode prikladna je automatizirana metoda s vremenom mjerenja od 30 minuta i spremnicima volumena 1,5 mL.

Ispitivanjem usporedivosti na uzorcima s vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita >30 mm/3,6 ks s vremenom mjerenja od 30 minuta Bland-Altmanovom statističkom analizom utvrđena je prisutnost statistički značajnog konstantnog i proporcionalnog odstupanja. Passing-Bablokovom regresijskom analizom utvrđena je prisutnost statistički značajnog proporcionalnog odstupanja, koje je ujedno i klinički značajno, bez statistički značajnog konstantnog odstupanja, stoga se automatizirana metoda s vremenom mjerenja od 30 minuta smatra prihvatljivom i za uzorke s patološkim vrijednostima brzine sedimentacije eritrocita.

Uvođenjem automatizirane modificirane Westergren metode na SRS 100/II analizatoru za određivanje brzine sedimentacije eritrocita s vremenom mjerenja od 30 minuta smanjuje se biološki rizik budući da se koriste spremnici volumena 1,5 mL koje nije potrebno odčepljivati, smanjuje se mogućnost ljudske greške i utjecaj vanjskih čimbenika (temperature, prašine). Metoda je usporediva s ručnom metodom na graduiranom stalku tako da se, ukoliko dođe do kvara analizatora, brzina sedimentacije eritrocita iz istih spremnika može odrediti ručnom metodom na graduiranom stalku. Zbog većih vrijednosti dobivenih očitavanjem na graduiranom stalku, važno je da se automatizirana i ručna metoda ne koriste u isto vrijeme.

7. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

FW test - Fåhraeus-Westergren test

ICSH – Međunarodno vijeće za standardizaciju u hematologiji, engl. *International Council for Standardization in Haematology*

CLSI – Institut za kliničke i laboratorijske standarde, engl. *Clinical and Laboratory Standards Institute*

KBC – klinički bolnički centar

CI – interval pouzdanosti, engl. *confidence interval*

MD – srednja razlika, engl. *mean difference*

\bar{x} – aritmetička sredina

S_d – standardna devijacija

CV_p – koeficijent varijacije

HKMB – Hrvatska komora medicinskih biokemičara

Q1 – prvi kvartil

Q3 – treći kvartil

IQR, Q3-Q1 – interkvartilni raspon, engl. *interquartile range*

CROQALM – Hrvatski centar za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini

EFLM – Europska federacija za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, engl. *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*

MCV – srednji volumen eritrocita, engl. *mean corpuscular volume*

8. LITERATURA

Alende-Castro V, Alonso-Sampedro M, Vazquez-Temprano N, Tuñez C, Rey D, García-Iglesias C, Sopena B, Gude F, Gonzalez-Quintela A. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test. *Medicine* (Baltimore), 2019, 98(34).

AlFadhli SM, Al-Awadhi AM. Comparison of Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement by the Automated SEDIsystem™ and Conventional Westergren Method Using the Bland and Altman Statistical Method. *Med Princ Pract*, 2005, 14, 241-244.

Armstrong JK, Wenby RB, Meiselman HJ, Fisher TC. The hydrodynamic radii of macromolecules and their effect on red blood cell aggregation. *Biophys J*, 2004, 87(6), 4259-70.

Asif, N., Uppal, R., Mehmood, S., Ahmed, A., Ali, S., Afzal, M. (2012) Validation of Automated ESR Methods with Conventional Method as Gold Standard. *Journal of Islamabad Medical & Dental College* (JIMDC), 2012(2), 81-84.

Baskurt OK, Uyuklu M, Hardeman MR, Meiselman HJ. Photometric measurements of red blood cell aggregation: light transmission versus light reflectance. *J Biomed Opt*, 2009, 14(5).

Bilić-Zulle L. Comparison of methods: Passing and Bablok regression. *Biochem Med* (Zagreb), 2011, 21(1), 49-52.

Boğdaycioğlu N, Yilmaz FM, Sezer S, Oğuz E. Comparison of iSED and Ves-Matic Cube 200 Erythrocyte Sedimentation Rate Measurements With Westergren Method. *J Clin Lab Anal*, 2015, 29(5), 397-404.

Brenčić T, Juričić G, Honović L. Performance comparison of Westergren modified SRS 100/II and alternate iSED® method for erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol*, 2023, 45(1), 29-36.

Čičak, H. (2018) *Verifikacija automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita*. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet.

Grzybowski A. Who Discovered the Erythrocyte Sedimentation Rate? *J Rheumatol*, 2011, 38(7), 1521-1522.

Kovač, Z. Patofiziologija sedimentacije eritrocita. *Med Vjesn*, 2019, 22(1-2), 17-24.

Kratz A, Plebani M, Peng M, Lee YK, McCafferty R, Machin SJ; International Council for Standardization in Haematology (ICSH). ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol*, 2017, 39(5), 448-457.

Lapić I, Piva E, Spolaore F, Tosato F, Pelloso M, Plebani M. Automated measurement of the erythrocyte sedimentation rate: method validation and comparison. *Clin Chem Lab Med*, 2019, 57(9), 1364-1373.

McKenzie, S.B., Williams, J.L. (2014) *Clinical Laboratory Hematology*. Treće izdanje. New Jersey: Pearson. str. 832-833

Orkmez M, Orhan S, Bozdayi MA, Tarakcioglu M. Comparison of the StaRRsed Interliner device with Westergren method in erythrocyte sedimentation rate measurement. *Int J Lab Hematol*, 2021, 43(4), 616-622.

Patil, A., Nayak, D., Berlukar, S.V., Verma, S. (2013) Validation of the Erythrocyte Sedimentation Rate Analyzer with Modified Westergren Method. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 2(3), 284-289.

Ref. HKMB: Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije. Laboratorijska hematologija. Stavljenić Rukavina A, Čvorišćec D, (ur.). Medicinska naklada-Zagreb, 2007, str. 12.

Saračević A, Validacija i verifikacija metoda, Upravljanje kvalitetom laboratorijskog rada, Šimundić, Ana-Maria (ur.). Zagreb: Medicinska naklada, 2013. str. 7-20.

Schapkaitz E, RabuRabu S, Engelbrecht M. Differences in erythrocyte sedimentation rates using a modified Westergren method and an alternate method. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(2).

Sedimentation Rate: blood test, levels and interpretation of results, 2023, <https://microbiologie-clinique.com/sedimentation-rate-esr.html>, pristupljeno 23.11.2023.

Tablica dozvoljenih odstupanja, 2024, https://croqalm.hdmblm.hrimagesupute/2024TABLICA_DOZVOLJENIH_ODSTUPANJA_za_web.pdf, pristupljeno 23.11.2023.

Tishkowsky K, Gupta V. Erythrocyte Sedimentation Rate. [Updated 2023 Apr 23]. *StatPearls [online]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557485/> [23. studenog 2023.]

9. SAŽETAK/SUMMARY

9.1. Sažetak

Brzina sedimentacije eritrocita rutinska je metoda koja se često koristi u medicinsko-biokemijskim laboratorijima. Westergren metoda referentna je metoda, no danas se često u upotrebi nalaze automatizirane i modificirane metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita. Svrha ovog ispitivanja usporedba je automatizirane modificirane metode na SRS 100/II analizatoru (Greiner Bio-One, GmbH, Austrija) i ručne modificirane metode na graduiranom stalku. Budući da analiza na SRS 100/II analizatoru i na graduiranom stalku iziskuje nove spremnike, prije usporedbe metoda provedena je tehnička i klinička validacija spremnika VACUETTE® Tube 4NC ESR volumena 1,5 i 2,75 mL s 3,2%-tnim natrijevim citratom. Također, ispitana je i ponovljivost pomoću uzoraka, jednog unutar, a jednog iznad referentnog intervala. Utvrđena je primjerenost uvođenja obaju spremnika u rutinski rad, no, s obzirom na to da analizator koristi samo spremnike volumena 1,5 mL, usporedivost je ispitana samo na njima. SRS 100/II posjeduje mogućnost mjerenja u trajanju od 15 i 30 minuta, tako da su uspoređivani rezultati dobiveni i nakon 15 minuta i nakon 30 minuta s rezultatima dobivenim na graduiranom stalku nakon 30 minuta. Statističkom analizom utvrđeno je da za mjerenje u trajanju od 30 minuta ne postoji klinički značajno konstantno odstupanje, dok za mjerenje u trajanju od 15 minuta postoji klinički značajno konstantno odstupanje, stoga je prihvaćena metoda na SRS 100/II s mjerenjem u trajanju od 30 minuta za uvođenje u rutinski rad. Ispitivanjem ponovljivosti na toj metodi, dobiveni rezultati zadovoljavaju kriterije prihvatljivosti.

9.2. Summary

Erythrocyte sedimentation rate is a routine method commonly used in medical-biochemical laboratories. While the Westergren method is a reference method, today automated and modified methods for measuring the sedimentation rate of erythrocytes are often in use. The purpose of this examination is to compare the automated modified method on SRS 100/II analyzer (Greiner Bio-One, GmbH, Austria) and the manual modified method on the graduated stand. Since the analysis on the SRS 100/II analyser and on the graduated stand requires new test tubes, a technical and clinical validation of THE VACUETTE® tube 4NC ESR test tubes of 1.5 and 2.75 ml with 3.2% sodium citrate was performed prior to the comparison of the methods. Also, repeatability using samples, one within and one above reference interval, was tested. The appropriateness of introducing both test tubes into routine was established, however, since the analyser only uses 1,5 ml test tubes, comparability was only tested on them. The SRS 100/II has the possibility of measuring for 15 and 30 minutes, so the results obtained after both 15 minutes and 30 minutes were compared with the results obtained on the graduated stand after 30 minutes. A statistical analysis showed that there is no clinically significant constant difference for a 30 minute measurement, while a clinically significant constant difference was found for a 15 minute measurement. Therefore, a 30 minute measurement SRS 100/II method was adopted for routine implementation. By testing repeatability on this method, the results were found to meet the acceptability criteria.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Samostalni kolegij (Hematologija)
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

USPOREDBA ODREĐIVANJA BRZINE SEDIMENTACIJE ERITROCITA NA AUTOMATSKOM ANALIZATORU SRS 100/II I RUČNO MODIFICIRANOM WESTERGREN METODOM

Helena Oroz

SAŽETAK

Brzina sedimentacije eritrocita rutinska je metoda koja se često koristi u medicinsko-biokemijskim laboratorijima. Westergren metoda referentna je metoda, no danas se često u upotrebi nalaze automatizirane i modificirane metode za određivanje brzine sedimentacije. Svrha ovog ispitivanja usporedba je automatizirane modificirane metode na SRS 100/II analizatoru (Greiner Bio-One, GmbH, Austrija) i ručne modificirane metode na građiranom stalku. Budući da analiza na SRS 100/II analizatoru i na građiranom stalku iziskuje nove spremnike, prije usporedbe metoda provedena je tehnička i klinička validacija spremnika VACUETTE® Tube 4NC ESR volumena 1,5 i 2,75 mL s 3,2%-tnim natrijevim citratom. Također, ispitana je i ponovljivost pomoću uzoraka, jednog unutar, jednog iznad referentnog intervala. Utvrđena je primjerenost uvođenja obaju spremnika u rutinski rad, no, s obzirom na to da analizator koristi samo spremnike volumena 1,5 mL, usporedivost je ispitana samo na njima. SRS 100/II posjeduje mogućnost mjerenja u trajanju od 15 i 30 minuta, tako da su uspoređivani rezultati dobiveni i nakon 15 minuta i nakon 30 minuta s rezultatima dobivenim na građiranom stalku nakon 30 minuta. Statističkom analizom utvrđeno je da za mjerenje u trajanju od 30 minuta ne postoji klinički značajno konstantno odstupanje, dok za mjerenje u trajanju od 15 minuta da postoji klinički značajno konstantno odstupanje, stoga je prihvaćena metoda na SRS 100/II s mjerenjem u trajanju od 30 minuta za uvođenje u rutinski rad. Ispitivanjem ponovljivosti na toj metodi, dobiveni rezultati zadovoljavaju kriterije prihvatljivosti. Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 73 stranica, 17 grafičkih prikaza, 10 tablica i 22 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: brzina sedimentacije eritrocita, ručna i automatizirana modificirana metoda, SRS 100/II, usporedba

Mentor: **Dr. sc. Marija Grdić Rajković**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Sandra Margetić, naslovni docent, Hrvatsko katoličko sveučilište.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Marija Grdić Rajković**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Sandra Šupraha Goreta, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Dr. sc. Sandra Margetić, naslovni docent, Hrvatsko katoličko sveučilište.

Rad prihvaćen: srpanj, 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical Biochemistry
Department of Medical Biochemistry and Hematology
Independent course (Hematology)
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

COMPARISON OF ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE MEASUREMENT ON AUTOMATED SRS 100/II ANALYSER AND MANUALLY BY MODIFIED WESTERGREIN METHOD

Helena Oroz

SUMMARY

Erythrocyte sedimentation rate is a routine method commonly used in medical-biochemical laboratories. While the Westergren method is a reference method, today automated and modified methods for measuring the sedimentation rate of erythrocytes are often in use. The purpose of this examination is to compare the automated modified method on SRS 100/II analyzer (Greiner Bio-One, GmbH, Austria) and the manual modified method on the graduated stand. Since the analysis on the SRS 100/II analyser and on the graduated stand requires new test tubes, a technical and clinical validation of THE VACUETTE® tube 4NC ESR test tubes of 1.5 and 2.75 ml with 3.2% sodium citrate was performed prior to the comparison of the methods. Also, repeatability using samples was tested. The appropriateness of introducing both test tubes into routine was established, however, since the analyser only uses 1,5 ml test tubes, comparability was only tested on them. The SRS 100/II has the possibility of measuring for 15 and 30 minutes, so the results obtained after both 15 minutes and 30 minutes were compared with the results obtained on the graduated stand after 30 minutes. A statistical analysis showed that there is no clinically significant constant difference for a 30 minute measurement, while a clinically significant constant difference was found for a 15 minute measurement. Therefore, a 30 minute measurement SRS 100/II method was adopted for routine implementation. By testing repeatability on this method, the results were found to meet the acceptability criteria.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 73 pages, 17 figures, 10 tables and 22 references. Original is in Croatian language.

Keywords: erythrocyte sedimentation rate, manual and automated modified method, SRS 100/II, comparison

Mentor: **Marija Grdić Rajković, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Margetić, Ph.D. *Titular Assistant Professor*, Catholic University of Croatia

Reviewers: **Marija Grdić Rajković, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Šupraha Goreta, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Margetić, Ph.D. *Titular Assistant Professor*, Catholic University of Croatia

The thesis was accepted: July, 2024

