

Verifikacija automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita

Čičak, Helena

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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:163:426972>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

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



Helena Čičak

**Verifikacija automatskih analizatora
Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine
sedimentacije eritrocita**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Klinička biokemija organa i organskih sustava 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen je na Kliničkom zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Sv. Duh u Zagrebu, pod vodstvom nasl. izv. prof. dr. sc. Ana-Marije Šimundić.

Zahvaljujem najdražoj i uvijek nasmižanoj mentorici nasl. izv. prof. dr. sc. Ana-Mariji Šimundić na svim savjetima, strpljenju za sve moje upite i velikoj potpori tijekom izrade ovog rada.

Također se zahvaljujem na svim djelatnicima Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice "Sveti Duh" koji su mi nesebično pomagali u izradi eksperimentalnog dijela diplomskoga rada.

Veliko hvala svim prijateljicama i prijateljima na pruženoj podršci i motivaciji tijekom studiranja.

Ovaj rad posvećujem mami Suzani, seki Petri, dedi Đuri, baki Ivanki, i posebno hvala tati Zlatku i baki Agati koji me čuvaju i prate s nekog boljeg mjesta.

Hvala Vam od srca!

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	Određivanja brzine sedimentacije eritrocita	1
1.2.	Westergrenova metoda određivanja brzine eritrocita	2
1.3.	Modificirana Westergrenova metoda	4
1.4.	Automatizirane metode	4
1.5.	Načela rada automatskog analizatora Roller 20 PN	7
1.6.	Načela rada automatskog analizatora iSED.....	8
2.	OBRAZLOŽENJE TEME.....	10
3.	MATERIJALI I METODE.....	11
3.1.	Uzorci.....	11
3.2.	Protokol ispitivanja	11
3.3.	Ispitivanje preciznosti za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED	11
3.4.	Ispitivanje točnosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED u usporedbi s Westergren metodom	13
3.5.	Metode određivanja	14
3.6.	Statistička obrada.....	15
4.	REZULTATI	19
4.1.	Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED.....	19
4.1.1.	Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru Roller 20 PN...	19
4.1.2.	Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru iSED	20
4.1.3.	Ispitivanje preciznosti u seriji za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED	21
4.1.4.	Ispitivanje preciznosti s uzorcima krvi bolesnika na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED	22
4.2.	Ispitivanje usporedivosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED s Westergren metodom	26
4.2.1.	Ispitivanje usporedivosti automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom.....	26
4.2.2.	Ispitivanje usporedivosti automatskog analizatora iSED s Westergren metodom	30
4.3.	Ispitivanje usporedivosti automatskih analizatora Roller 20 PN s iSED.....	35
5.	RASPRAVA.....	37
6.	ZAKLJUČAK	41
7.	LITERATURA.....	42
8.	SAŽETAK/SUMMARY	44
9.	TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA NA HRVATSKOM JEZIKU/ NA ENGLESKOM JEZIKU	

1. UVOD

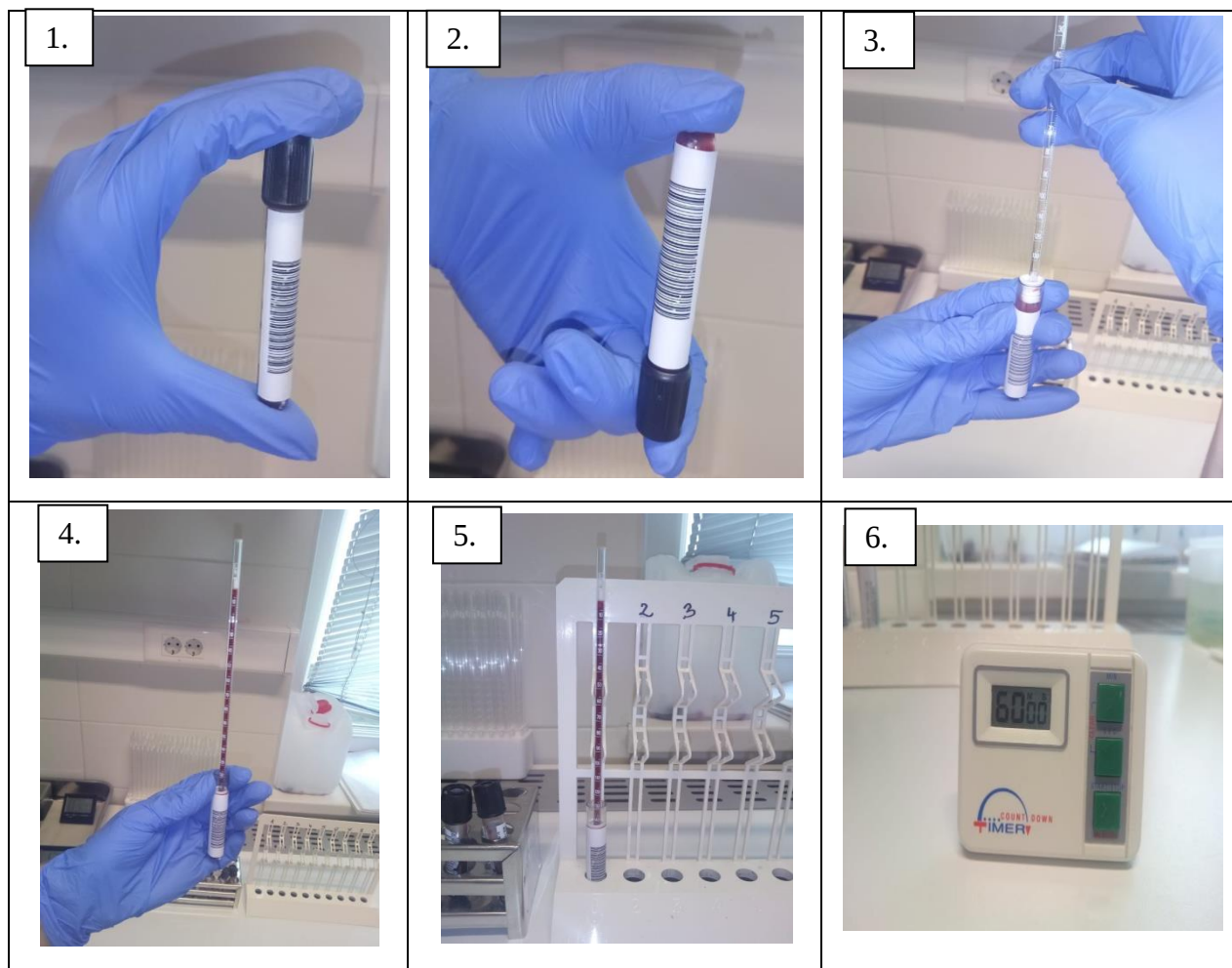
Sedimentacija eritrocita (SE) je nespecifična, no vrlo jednostavna pretraga koja se koristi u otkrivanju i praćenju upalnih, malignih i autoimunih bolesti. Sedimentacija eritrocita započinje agregacijom eritrocita, tijekom koje iz homogeno promiješane krvi dolazi do stvaranja Rouleaux formacija što se može opaziti golim okom kao djelomično granuliranu krv na pojedinim mjestima. Eritrociti u krvi zbog sijalinske kiseline na membrani, su negativno nabijeni i međusobno se odbijaju ali se i međusobno privlače zbog van der Waalsovih sila koje spadaju u elektrodinamičke sile. Ravnoteža između tih dviju sila je temelj održavanja homogenosti krvi (tj. ravnoteža između agregacije i odbijanja eritrocita). U agregaciji eritrocita važnu ulogu ima veličina molekula prisutnih u krvi. Velike molekule izduženog oblika, kao što je primjerice fibrinogen, ili oligomeri malih molekula (primjerice albumina) mogu premostiti dva eritrocita i na taj način potaknuti agregaciju eritrocita u krvi (Armstrong, 2004). Pozitivno nabijene makromolekule reagiraju sa sijalinskom kiselinom na membrani eritrocita te zajedno tvore agregate (Fabry, 1987). Nastali agregati pod utjecajem gravitacijske sile sedimentiraju na dno epruvete. Čimbenici koji utječu na sedimentaciju eritrocita jesu površinski naboj molekula prisutnih u krvi te prisutnost sila između eritrocita. Brzina sedimentacije eritrocita povišena je u raznim patološkim i fiziološkim stanjima kao što su: artritis, upalne bolesti crijeva, maligne bolesti, trudnoća, menstruacija, starija životna dob i druge. U upalnim stanjima dolazi do povećanog stvaranja reaktanata akutne faze u koje uključujemo i fibrinogen i koji utječe na brzinu sedimentacije eritrocita. U malignim bolestima kao što je multipli mijelom, dolazi do prekomjernog stvaranja paraproteina koji su pozitivno nabijeni i također dolazi do povećanja brzine sedimentacije eritrocita.

1.1. Određivanje brzine sedimentacije eritrocita

Metode za određivanje brzine sedimentacije eritrocita su Westergrenova metoda, modificirana Westergrenova metoda i automatizirane metode. Westergrenovom metodom se brzina sedimentacije eritrocita očitava ručno, a automatizirane metode se temelje na određivanju početka agregacije eritrocita te se dobiveni rezultati transformiraju u Westergrenove vrijednosti. Modificirana Westergrenova metoda se može izvoditi ručno ili je temelj metodologije automatskih analizatora.

1.2. Westergrenova metoda određivanja brzine eritrocita

Westergrenova metoda je zlatni standard mjerenja sedimentacije eritrocita. Uzorak za određivanje sedimentacije eritrocita Westergrenovom metodom je krv uzeta u epruvetu s natrijevim citratom kao antikoagulansom u omjeru (1:5). Krv se prije mjerenja treba lagano promiješati kako bi se homogenizirala te se u epruvetu stavi standardizirana Westergren-Katzova cjevčica koja pomoću kapilarnih sila aspirira krv do oznake "0". Brzina sedimentacije eritrocita očita se nakon sat vremena, a jednaka je razlici meniskusa plazme i razine do koje su se eritrociti sedimentirali (Slika 1.). Brzina sedimentacije eritrocita se iskazuju u milimetrima po satu (mm/h). Tijekom sedimentacije eritrocita, Westergren-Katzova cjevčica mora biti položena vertikalno jer kod odstupanja kutova više od 2° , može doći do ubrzanja sedimentacije eritrocita i uzrokovati lažno povišenu brzinu sedimentacije eritrocita. Vibracije mogu umjetno ubrzati sedimentaciju eritrocita pa je mjerenje potrebno provesti na mirnoj radnoj površini. Westergren-Katzova cjevčice ne smiju biti izložene direktnoj sunčevoj svjetlosti, budući da sunčeva svjetlost može dovesti do razlika u temperaturama uzoraka krvi u cjevčicama i na taj način utjecati na rezultat. Westergren-Katzova cjevčica može biti staklena ili plastična, ne smije imati savinuća po cijeloj dužini, treba biti prozirna i nebojena, s glatkim unutarnjim stjenkama bez vidljivih oštećenja (<https://jcp.bmj.com>).



Slika 1. Slikovni prikazi izvedbe Westergrenove metode za određivanje sedimentacije eritrocita u uzorcima krvi bolesnika (Helena Čičak)

1.3. Modificirana Westergrenova metoda

Modificirana Westergrenova metoda se može izvoditi ručno ili je temelj određivanja brzine sedimentacije eritrocita automatskim analizatorom. Ručna modificirana Westergrenova metoda koristi krv koja je izvađena u epruvetu koja sadrži citratni antikoagulans. Nakon uzorkovanja epruveta se postavlja na stalak s označenom skalom brzine sedimentacije eritrocita u milimetrima. Brzina sedimentacije eritrocita se očita iz epruvete na stalku pomoću skale s vrijednostima na staklu. Analizatori temeljeni na modificiranoj Westergrenovoj metodi također analiziraju krv izvađenu u epruvetu s citratnim antikoagulansom iz koje analizator očita brzinu sedimentacije eritrocita nakon određenog vremena. Modificiranom Westergrenovom metodom skraćuje se vrijeme trajanja pretrage te se smanjuje izloženost analitičara mogućim infektivnim agensima iz krvi. Dobiveni rezultati brzine sedimentacije eritrocita modificiranom Westergrenovom metodom se matematički transformiraju u Westergrenove vrijednosti.

1.4. Automatizirane metode

Odnedavno su na tržištu dostupni brojni automatski analizatori za mjerenje sedimentacije eritrocita. Mjerenje sedimentacije eritrocita automatiziranom metodom ima nekoliko prednosti. Za mjerenje sedimentacije automatskim analizatorom potrebna je krv izvađena na EDTA kao antikoagulans, što je povoljno za bolesnika jer se time smanjuje potreban volumen krvi potreban za analize. Također, smanjuje se pogreška dilucije citratnog antikoagulansa ili nedovoljno miješanje uzorka prije analize, na što je potrebno paziti kod izvođenja Westergrenove metode te se tako smanjuje mogućnost ljudske pogreške. Smanjuje se mogućnost mogućeg krivog očitavanja ili krivog prijepisa dobivenih rezultata Westergrenovom metodom, te postoji mogućnost direktnog prijenosa dobivenih rezultata automatiziranom metodom na računalo. Automatskim analizatorom moguće je dobiti rezultat analize za 10 minuta dok je za rezultate dobivene Westergrenom potrebno čekati sat vremena, te se samim time smanjuje i vrijeme trajanja pretrage. Smanjuje se izloženost laboratorijskog osoblja mogućim infektivnim agensima iz krvi i povećava se ekonomičnost rada laboratorija (Kratz, 2017).

Jedna od metoda kojom se koriste automatski analizatori koji određuju brzinu sedimentacije eritrocita temelji se na fotometrijskoj reologiji. Fotometrijska reologija je metoda koja mjeri intenzitet transmitirane ili reflektirane svjetlosti tijekom agregacije eritrocita u ovisnosti o vremenu. Intenzitet svjetlosti ovisi o veličini i broju eritrocita u uzorku. Na početku mjerenja eritrociti trebaju biti dispergirani. Nakon prestanka dispergirajućih sila, eritrociti počinju agregirati. Veličina agregata eritrocita počinje se povećavati, a broj raspršenih eritrocita se smanjuje. Zbog toga se intenzitet svjetlosti koja prolazi kroz uzorak povećava dok se intenzitet reflektirane svjetlosti smanjuje. Dobiveni rezultat se matematičkim transformacijama prevede u vrijednosti koje se mogu uspoređivati s brzinom sedimentacije eritrocita dobivenih Westergrenovom metodom (Baskurt, 2009).

U tablici su navedene razlike i općenite značajke do sada poznatih analizatora u odnosu na Westergren metodu (Tablica 1.), (tablica je izmijenjena i preuzeta iz literaturnog navoda A.Kratz i sur. 2017).

Tablica 1. Popis automatskih analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita i metodologija

Automatski analizator	Metodologija
Excyte M (Vital Diagnostics Inc., Smithfield, SAD)	Uzorci su pomiješani s citratnim diluentom. Očitavanje sedimentacije eritrocita nakon 30 minuta te je matematičkim transformacijama prevedena u rezultat koji se može usporediti s Westergrenovom metodom.
Microtest 1, Test 1 i Roller 20 LC (Alifax, Polverara, Italija)	Kapilarna fotometrijsko-kinetička tehnologija. Uzorak se zaustavlja u cjevčici gdje započinje stvaranje agregata eritrocita. Rezultati se matematički transformiraju u Westergrenove vrijednosti.
Sediplast ESR (Polymedco, Cortlandt Manor, NY)	Ručna i modificirana Westergrenova metoda.
iSED	Brzina sedimentacije eritrocita mjeri se metodom fotometrijske reologije. Rezultati se matematički transformiraju u Westergrenove vrijednosti.
Sedisystem (Becton Dickinson, Meylan Cedex, Francuska)	Uzorci se homogeniziraju te analizator očitava početnu i konačnu razinu sedimentacije eritrocita. Matematičkim transformacijama se vrijednosti pretvaraju kako bi se mogle usporediti s Westergrenovom vrijednostima.
Seditainer (Becton Dickinson Vacutainer Systems, Oxford, UK)	Vakumske epruvete s antikoagulansom koje se koriste za izvođenje modificirane Westergrenove metode.
Starrsed (Mechatronic Manufacturing BV, Zwaag, Nizozemska)	Koristi punu krv koja se razrijedi s citratnim diluentom. Potpuno automatiziran i zatvoren sustav. Mjerenje sedimentacije eritrocita traje 30 minuta te se vrijednosti transformiraju u vrijednosti koje se mogu usporediti s Westergrenovom metodom.
Ves-mMatic Cube 200 (Diesse Diagnostica Senese, Siena, Italija)	Koristi uzorke krvi uzete na EDTA antikoagulans. Dobiveni rezultati se pretvaraju u Westergrenove jedinice.

1.5. Načelo rada automatskog analizatora Roller 20 PN

Roller 20 PN metoda mjerenja sedimentacije eritrocita se temelji na fotometrijskoj analizi. Načelo analize je opisano kao fotometrijska kapilarna zaustavljena fleksibilna kinetička analiza. Krv izvađena u epruvetu s K₂EDTA antikoagulansom, stavlja se na predviđena mjesta u rotoru unutar automatiziranog analizatora. Homogenizirana krv se aspirira u kapilaru pomoću peristaltičke pumpe. U kapilari se zaustavi na 20 sekundi te se za to vrijeme događa agregacija eritrocita. Za vrijeme agregacije eritrocita, kapilara se osvijetli svjetlošću određene valne duljine. Koristeći peristaltičku pumpu, prethodno promiješana EDTA krv je aspirirana te naglo zaustavljena u kapilari tijekom 20 sekundi (koja omogućava agregaciju eritrocita) te je osvijetljena svjetlošću određene valne duljine. Tijekom agregacije eritrocita povećava se veličina agregata eritrocita odnosno smanjuje se broj pojedinačnih eritrocita i zbog toga se povećava količina svjetlosti koja prolazi kroz uzorak. Stoga je intenzitet transmisijske svjetlosti izmjeren mikrofotometrom tijekom 20 sekundi proporcionalan količini agregata eritrocita. Nakon toga se intenzitet svjetlosti matematičkim transformacijama prevodi u vrijednosti koje se mogu uspoređivati s vrijednostima dobivenim Westergrenovom metodom. Navedeni automatski analizatori Roller 20 PN i iSED se međusobno razlikuju po određenim značajkama (Tablica 2.) (<http://www.alifax.com>, 2017; <http://Alcor Scientific.com>, 2017).



Slika 2. Prikaz automatskog analizatora Roller 20 PN za određivanje brzine sedimentacije eritrocita (Helena Čičak)

1.6. Načelo rada automatskog analizatora iSED

iSED funkcioniše kao fotometrijski reoskop. Metoda se temelji na mikrofluidnom sustavu i vizualizaciji cijelog procesa agregacije povezujući ga s odgovarajućim optičkim signalom. Mjerenje sedimentacije eritrocita započinje stavljanjem uzoraka pune krvi izvađene na K₂EDTA antikoagulans na predviđena mjesta na unutarnjem rotoru. Uzorci se tako miješaju i dolazi do disagregacije eritrocita. Nakon prestanka miješanja, eritrociti počinju agregirati. Prolaskom svjetlosti kroz uzorak, fotodetektorom se mjeri promjena intenziteta transmitirane i reflektirane svjetlosti u ovisnosti u vremenu. Promjena intenziteta svjetlosti upućuje na veličinu agregata koji je nastao u određenom vremenu. Dobiveni rezultat se matematičkim transformacijama prevede u vrijednosti koje se mogu uspoređivati vrijednostima dobivenim Westergrenovom metodom (Isiksacan, 2016).



Slika 3. Prikaz automatskog analizatora iSED za određivanje brzine sedimentacije eritrocita (Helena Čičak)

Tablica 2. Značajke automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita

Značajka	Roller 20	iSED
Dostupna mjesta	20	20
Vrsta uzorka	Puna krv izvađena uz K ₂ EDTA kao antikoagulans	Puna krv izvađena uz K ₂ EDTA kao antikoagulans
Volumen uzorka	175 µL	100 µL
Mjerno područje	2-120 mm/H	1-130 mm/h
Printer	unutarnji	unutarnji
Kontrole	Latex kontrole	Humani materijal
Unutarnje miješanje	da	da
Unutarnje pranje	da	da
Dimenzije (cm)	24 x 38 x 45	36 x 27 x 34
Težina analizatora (kg)	16	13,6

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Mjerenje sedimentacije eritrocita u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Sveti Duh se provodi Westergren metodom. Cilj ovog diplomskog je verifikacija dva automatska analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita: Roller 20 PN i iSED. Postupci koji su provedeni tijekom verifikacije jesu:

- 1) Ispitivanje preciznosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED:
 - a) u seriji
 - b) iz dana u dan
- 2) Ispitivanje točnosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED u usporedbi s Westergrenovom metodom
- 3) Ispitivanje međusobne usporedivosti automatskih analizatora Roller 20 PN s iSED

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorci

Istraživanje je provedeno u Kliničkoj bolnici Sveti Duh na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku u vremenskom periodu od rujna do prosinca 2017. godine. Uzorci koji su korišteni u ovom istraživanju su uzorci bolesnika koji su zaprimani u okviru njihove redovite obrade, tijekom njihovog boravka na Klinikama i Zavodima, Kliničke bolnice Sveti Duh.

U ovom istraživanju su korišteni ostatni uzorci krvi. Uključeni su svi uzorci bolesnika kojima su istovremeno bile zatražene određivanje brzine sedimentacije eritrocita i kompletna krvna slika i za koje su u laboratorij istovremeno dopremljene dvije epruvete: jedna s 3,8% natrijevim citratom (Kima, Piove di Sacco, Italija) volumena 1,6 mL i druga s K₂EDTA (Kima, Piove di Sacco, Italija) volumena 3 mL. Uzorci su analizirani u vremenskom periodu od najviše 4 sata nakon zaprimanja.

3.2. Protokol ispitivanja

Protokol ispitivanja temelji se na CLSI H02-A5 smjernicama (CLSI, 2005).

3.3. Ispitivanje preciznosti za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED

Ispitivanje preciznosti za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED se provodila na kontrolnim uzorcima čije su značajke prikazane u tablicama (Tablica 2., Tablica 3.). Sedimentacija eritrocita određena je u sve tri razine kontrolnih uzoraka za Roller 20 PN (Razina 2, Razina 3 i Razina 4) i u dvije razine za iSED (Razina 1 i Razina 2).

Tablica 3. Značajke i deklarirane brzine sedimentacije eritrocita kontrolnih uzoraka koji su korišteni za ispitivanje preciznosti

	Roller 20 PN	iSED
Naziv kontrole	Latex kontrolni uzorci (Alifax, Polverara, Italija)	Seditrol quality kontrolni uzorci (Alcor Scientific, Smithfield, SAD)
Kataloški broj	SI 305.300-A	DSCO6
Broj serije	Lot N. 1828 C	Lot #27
Razina 1	nema	2-16 mm/h
Razina 2	6-11 mm/h	38-90 mm/h
Razina 3	15-22 mm/h	nema
Razina 4	56-74 mm/h	nema

a) preciznost iz dana u dan

Svi kontrolni uzorci u svim razinama su analizirani pet dana za redom u triplicatu na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED.

b) preciznost između serija

Svi kontrolni uzorci za oba analizatora su analizirani u 5 točaka (30 min, 60 min, 90 min, 120 min i 150 min) te u svakoj točki su sve razine kontrolnog uzorka analizirane u triplicatu. U daljnjoj analizi je korištena srednja vrijednost od tri mjerenja.

c) preciznost u seriji

Brzina sedimentacije eritrocita u istom uzorku krvi je određena uzastopno dvadeset puta na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED.

Kriteriji prihvatljivosti koji su korišteni za procjenu rezultata za preciznost preuzeti su iz rezultata vanjske kontrole kvalitete i deklaracija proizvođača i navedeni su u tablici (Tablica 4.).

Tablica 4. Kriteriji za preciznost za oba automatska analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita

Alifax, Polverara, Italija		
	Preciznost u seriji, KV%	Preciznost iz dana u dan, KV%
Razina 2	5,7%	5,1%
Razina 3	5,7%	5,1%
Razina 4	5,7%	5,1%
AlcorScientific, Smithfield, SAD		
Razina 1	19,4%	/
Razina 2	7,1%	/

3.4. Ispitivanje točnosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED u usporedbi s Westergren metodom

Usporedivost je ispitana mjerenjem brzine sedimentacije eritrocita u istom uzorku Westergrenovom metodom i na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED. Razmak između dva mjerenja bio je manji od 15 minuta. Svaki uzorak na automatskim analizatorima je puštan u triplikatu. U daljnjoj analizi je korištena srednja vrijednost od tri mjerenja.

3.5. Metode određivanja

3.5.1. Westergren metoda

U uzorak krvi, okomito je postavljena Westergren-Katzova cjevčica u kojoj se krv podiže kapilarnim silama do oznake 0. Uzorci se postavljaju na stalak i nakon 60 minuta se ručno očitava vrijednost do koje su eritrociti sedimentirali.

3.5.2. Roller 20 PN

Uzorci krvi bolesnika se postavljaju na unutarnji rotor automatskog analizatora Roller 20 PN te se pokrene analiza sedimentacije eritrocita. Nakon što završi analiza, uzorci se izvade iz unutarnjeg rotora i odlože se na stalak. Na analizatoru se svakodnevno provodila kontrola kvalitete u tri razine (Razina 2, Razina 3 i Razina 4) i preporučeni postupci redovitog dnevnog i periodičkog održavanja.

3.5.3. iSED

Uzorci krvi bolesnika se kontinuirano stavljaju na unutarnji rotor u automatskom analizatoru. Po završetku analize, automatski analizator izbaci uzorke na kojima je provedena analiza te se na taj način oslobodi mjesto za stavljanje novih uzoraka. Na analizatoru se svakodnevno provodila kontrola kvalitete u obje razine (Razina 1 i Razina 2) i preporučeni postupci redovitog dnevnog i periodičkog održavanja.

3.6. Statistička obrada

Za statističku obradu korišten je MedCalc statistički softver (14.8.1, Ostend, Belgija) i Microsoft Office Excel 2010.

Dobiveni podaci su obrađeni Bland i Altman analizom i Passing-Bablok regresijom.

Preciznost iz dana u dan računa se prema niže navedenom postupku i formulama (CLSI, 2005):

Za mjerenja u triplikatu koja su se provodila 5 uzastopnim dana za redom prvo je izračunata aritmetička sredina ($\bar{x}$) niza od tri mjerenja prema formuli:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5}$$

U formuli simbol $\bar{x}$ predstavlja aritmetičku sredinu, dok $x_1, x_2, \dots, x_5$ predstavljaju dobivene uzastopne brzine sedimentacije eritrocita u seriji.

Uz aritmetičku sredinu, za niz od tri mjerenja izračuna se i standardna devijacija (S_d) prema niže navedenoj formuli:

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Simbol n predstavlja broj replikata u jednom danu ($n=3$); x predstavlja pojedinačno mjerenje; $\bar{x}$ predstavlja aritmetičku sredinu

Izračunatim standardnim devijacijama za 5 dana se izračuna skupno standardno odstupanje za 5 dana (S_r) prema formuli:

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{d1}^2 + S_{d2}^2 + S_{d3}^2 + S_{d4}^2 + S_{d5}^2}{D}}$$

U formuli simboli $S_{d1}, S_{d2}, S_{d3}, S_{d4}, S_{d5}$ predstavljaju standardne devijacije jednog dana; D predstavlja ukupan broj dana ($D=5$).

Iz izračunatog standardnog odstupanja za 5 dana se izračuna ponovljivostodnosno preciznost u seriji (KV%). Ponovljivost se izvodi pod istim uvjetima odnosno izvodi ga isti analitičar na istom uzorku i istom mjernom sustavu pod istim radnim uvjetima u kratkom vremenskom periodu (Gašljević, 2010). Ponovljivost se računa po formuli:

$$KV\% = \frac{S_r}{\bar{x}} * 100$$

Simbol KV% označuje koeficijent varijacije preciznosti u seriji izražene u postotku; S_r predstavlja skupno standardno odstupanje za 5 dana.

Formula za računanje srednje vrijednosti svih rezultata ($\bar{X}$):

$$\bar{X} = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3 + \bar{x}_4 + \bar{x}_5}{D}$$

Simboli $\bar{x}_1 + \bar{x}_2 + \bar{x}_3 + \bar{x}_4 + \bar{x}_5$ označuju srednje vrijednosti mjerenja svih pet dana; D označava ukupan broj dana.

Standardno odstupanje između serija (S_b) se računa prema formuli::

$$S_b = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D (\bar{x}_d - \bar{X})^2}{D-1}}$$

Simbol $\bar{x}_d$ označava srednju vrijednost mjerenja u jednom danu; $\bar{X}$ označava srednju vrijednost svih rezultata; D označava ukupan broj dana.

Iz izračunatog standardnog odstupanja između serija se izračuna međupreciznost odnosno preciznost iz dana u dan (KV%). Međupreciznost je preciznost koja se postiže unutar istog laboratorija u duljem vremenskom periodu uz očekivane promjene (razni analitičari, različita oprema, različiti kalibratori) (Gašljević, 2010). Računa se prema formuli:

$$KV\% = \frac{S_b}{\bar{x}} * 100$$

Simbol KV% označava koeficijent varijacije preciznosti iz dana u dan izražene u postotku; $\bar{x}$ predstavlja aritmetičku sredinu; S_b predstavlja standardno odstupanje između serija.

Formula za računanje unutar-laboratorijskog odstupanja:

$$S_t = \sqrt{\frac{n-1}{n} * S_r^2 + S_b^2}$$

Simbol n označava broj replikata u jednom danu; S_r označava skupno standardno odstupanje za 5 dana; S_b predstavlja standardno odstupanje između serija.

Iz izračunatog unutar-laboratorijskog odstupanja izračuna se koeficijent varijacije unutar-laboratorijskog odstupanja prema formuli:

$$KV\% = \frac{S_t}{\bar{x}} * 100$$

Simbol $KV\%$ označava koeficijent varijacije unutar-laboratorijskog odstupanja izražene u postotku; $\bar{x}$ predstavlja aritmetičku sredinu; S_t predstavlja unutar-laboratorijsko odstupanje.

Preciznost u seriji se računa prema istim, prije u tekstu navedenim formulama za aritmetičku sredinu ($\bar{x}$), standardnu devijaciju (S_d) i izražava se koeficijentom varijacije preciznosti u seriji.

Dobiveni podaci za oba automatska analizatora (Roller 20 PN i iSED) su obrađeni na ukupnom broju uzorka (dalje u tekstu: ukupna populacija uzoraka). Podaci su i podijeljeni na dvije skupine: uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita < 20 mm/h i uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h. Također, na temelju dobivenih rezultata Westergrenovom metodom i automatskim analizatorom (Roller 20 PN ili iSED) uzorci su podijeljeni u jednu od četiri kategorije: stvarno negativni (SN), stvarno pozitivni (SP), lažno negativni (LN), i lažno pozitivni (LP). Vrijednosti referentnih intervala po dobi i spolu prikazani su u tablici (Tablica 5.) (Stavljenić Rukavina i Čvorišćec, ured., 2007). U kategoriju SN svrstane su dobivene brzine sedimentacije eritrocita unutar referentnog intervala koje su dobivene i automatskim analizatorom Roller 20 PN ili iSED i Westergrenovom metodom, dok u kategoriju SP su svrstane dobivene brzine eritrocita iznad gornje granice referentnog intervala koje su dobivene automatskim analizatorom i Westergrenovom metodom. U kategoriju LN su svrstane brzine sedimentacije eritrocita dobivene automatskim analizatorom te se nalaze unutar referentnog intervala, ali Westergrenovom metodom su dobivene brzine sedimentacije eritrocita koje se nalaze iznad gornje granice referentnog intervala.

U kategoriju LP dobivene brzine sedimentacije eritrocita dobivene automatskim analizatorom koje se nalaze iznad referentnog intervala, no Westergrenovom metodom su dobivene brzine eritrocita se nalaze unutar referentnog intervala (Tablica 6.).

Tablica 5. Prikaz vrijednosti referentnih intervala sedimentacije eritrocita po dobi i spolu

Spol	Dob (godine)	Brzina sedimentacije eritrocita (mm/h)
Muški	20 - 50	2-13
	>50	3-23
Ženski	20 - 50	4-24
	>50	5-28

Tablica 6. Raspodjela dobivenih rezultata mjerenja brzine sedimentacije eritrocita uz gornju granicu referentnog intervala, kao graničnu vrijednost

Westergren metoda				
Automatski analizator		>RI	Unutar RI	Ukupno
	>RI	SP	LP	FP+SP
	Unutar RI	LN	SN	SN+LN
	Ukupno	LN+SP	SN+LP	

Osjetljivost i specifičnost se računa prema slijedećim formulama:

$$\text{Osjetljivost} = \frac{SP}{SP+LN}$$

$$\text{Specifičnost} = \frac{SN}{SN+LP}$$

U ovom radu izračun osjetljivosti i specifičnosti je učinjen pomoću tablice (Dag Stat) s unaprijed pripremljenim formulama za izračun mjera dijagnostičke točnosti, koja je autorsko djelo Andrew Mackinnona (Australija) i dostupna na mrežnoj stranici:

www.biostats.com.au/DAG_Stat (Mackinnon, 2000).

4. REZULTATI

4.1. Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED

4.1.1. Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru Roller 20 PN

Dobiveni rezultati analize kontrolnih uzoraka u sve tri razine (Razina 2, Razina 3, Razina 4) ispitivanja preciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru Roller 20 PN su prikazani tablično (Tablica 7.). Kontrolni uzorak Razina 2 nije zadovoljio kriterij deklariran od strane proizvođača niti za ponovljivost niti za međupreciznost, dok Razina 3 nije zadovoljila kriterije samo za ponovljivost. Kontrolni uzorak 4 je zadovoljio kriterije za ponovljivost i međupreciznost te je kontrolni uzorak Razine 3 zadovoljio kriterij za međupreciznost.

Tablica 7. Prikaz dobivenih rezultata ispitivanja preciznosti iz dana u dan na kontrolnim uzorcima za automatskom analizatoru Roller 20 PN

Kontrolni uzorak	Roller 20 PN		Kriteriji prihvatljivosti definirani od strane proizvođača	
	Ponovljivost (KV%)	Međupreciznost (KV%)	Ponovljivost (KV%)	Međupreciznost (KV%)
Razina 2	8,77%	5,20%	5,7%	5,1%
Razina 3	7,33%	3,27%	5,7%	5,1%
Razina 4	5,70%	2,63%	5,7%	5,1%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

4.1.2. Ispitivanje preciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru iSED

Dobiveni rezultati analize kontrolnih uzoraka u obje razine (Razina 1 i Razina 2) ispitivanja nepreciznosti iz dana u dan na automatskom analizatoru su prikazani u sljedećim tablicama: za Razinu 1 i Razinu 2 (Tablica 8.) i za Razinu 2. Kontrolni uzorak Razine 1 nije zadovoljio kriterij za ponovljivost dok kontrolni uzorak Razine 2 je unutar granica prihvatljivosti. Kriteriji za međupreciznost nisu definirani od strane proizvođača.

Tablica 8. Prikaz dobivenih rezultata ispitivanja preciznosti iz dana u dan na kontrolnim uzorcima za automatski analizator iSED

	iSED		Kriteriji definirani od strane proizvođača	
Kontrolni uzorak	Ponovljivost (KV%)	Međupreciznost (KV%)	Ponovljivost (KV%)	Međupreciznost (KV%)
Razina 1	28,69%	2,87%	19,4%	/
Razina 2	5,27%	7,84%	7,1%	/
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

4.1.3. Ispitivanje preciznosti u seriji za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED

Dobiveni rezultati analize ispitivanja preciznosti u seriji za oba automatska analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita su prikazana kao srednja vrijednost ($\bar{x}$), standardno odstupanje (S_d) i ponovljivost (KV%). Prikazane su u tablici vrijednosti preciznosti u seriji za sve tri razine kontrolnih uzoraka za Roller 20 PN (Tablica 9.) i za obje razine kontrolnih uzoraka za iSED (Tablica 10.).

Tablica 9. Prikaz dobivenih rezultata za ispitivanje preciznosti u seriji za sve tri razine kontrolnih uzoraka za automatski analizator Roller 20 PN

Kontrolni uzorak	Srednja vrijednost (mm/h)	Standardno odstupanje (S_d)	Ponovljivost (preciznost u seriji) KV%	Kriteriji definirani od strane proizvođača za ponovljivost (KV%)
Razina 2	10,13	0,30	2,93%	5,7%
Razina 3	21,37	0,67	3,12%	5,7%
Razina 4	71,8	1,65	2,29%	5,7%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

Tablica 10. Prikaz dobivenih rezultata ispitivanja preciznosti u seriji s obje razine kontrolnih uzoraka na automatskom analizatoru iSED

Kontrolni uzorak	Srednja vrijednost (mm/h)	Standardno odstupanje (S_d)	Ponovljivost (preciznost u seriji) KV%	Kriteriji definirani od strane proizvođača za ponovljivost (KV%)
Razina 1	8,8	2,46	27,90%	19,4%
Razina 2	64,87	3,20	4,49%	7,1%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

4.1.4. Ispitivanje preciznosti s uzorcima krvi bolesnika na automatskim analizatorima Roller 20 PN i iSED

Dobiveni rezultati ispitivanja preciznosti u seriji na uzorcima krvi bolesnika s različitim brzinama sedimentacije eritrocita na automatskom analizatoru Roller 20 PN su prikazani u tablici (Tablica 11.). Raspon brzine sedimentacije eritrocita u uzorcima krvi bolesnika jest 12-93 mm/h. Dobiveni rezultati prikazani su kao srednja vrijednost ($\bar{x}$), standardno odstupanje (S_d) i preciznost u seriji (ponovljivost, KV%). Preciznost u seriji na automatskom analizatoru Roller 20 PN je ispitana na 6 uzoraka krvi bolesnika.

Tablica 11. Ispitivanje preciznosti u seriji na uzorcima krvi bolesnika na automatskom analizatoru Roller 20 PN

Broj uzorka	Srednja vrijednost (mm/h)	Standardno odstupanje (S_d)	Ponovljivost (preciznost u seriji) KV%	Kriteriji definirani od strane proizvođača za ponovljivost (KV%)
1	16,05	2,53	15,74%	5,7%
2	21,7	2,20	10,15%	5,7%
3	27,00	1,12	4,16%	5,7%
4	40,25	1,62	4,02%	5,7%
5	80,75	13,02	16,12%	5,7%
6	90,35	2,01	2,22%	5,7%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

Preciznost u seriji na automatskom analizatoru iSED ispitana je na 7 uzoraka krvi bolesnika. Raspon brzina sedimentacije eritrocita u ispitivanim uzorcima bio je 5-104 mm/h. Dobiveni rezultati na uzorcima krvi bolesnika prikazani su u tablici (Tablica 12.) kao srednja vrijednost ($\bar{x}$), standardno odstupanje (S_d) i ponovljivost u seriji (KV%). Za vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita u području 17-37 mm/h nisu definirani kriteriji od strane proizvođača za ponovljivost (KV%).

Tablica 12. Prikaz rezultata preciznosti u seriji za uzorke krvi bolesnika na automatskom analizatoru iSED

Broj uzorka	Srednja vrijednost (mm/h)	Standardno odstupanje (S_d)	Ponovljivost (preciznost u seriji) KV%	Kriteriji definirani od strane proizvođača za ponovljivost (KV%)
1	7,95	1,36	17,06%	19,4%
2	13,5	1,67	12,37%	19,4%
3	16,6	2,56	15,44%	19,4%
4	23,5	3,07	13,06%	/
5	29,7	3,59	12,07%	/
6	72	7,73	10,73%	7,1%
7	90,4	9,32	10,31%	7,1%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

U tabličnom prikazu (Tablica 13.) su prikazane dobivene vrijednosti koeficijenta varijacije (KV%) za preciznost u seriji i preciznost iz dana u dan za kontrolne uzorke i uzorke krvi bolesnika na oba automatska analizatora.

Tablica 13. Dobiveni rezultati za ispitivanje preciznosti u seriji na kontrolnim uzorcima za automatske analizatore Roller 20 PN i iSED za mjerenje sedimentacije eritrocita

	Dobivene vrijednosti		Kriterij proizvođača	
Roller 20 PN				
	Preciznost u seriji KV%	Preciznost iz dana u dan KV%	Preciznost u seriji KV%	Preciznost iz dana u dan KV%
Razina 2	2,93%	5,20%	5,7%	5,1%
Razina 3	3,12%	3,27%	5,7%	5,1%
Razina 4	2,29%	2,63%	5,7%	5,1%
iSED				
Razina 1	27,90%	2,87%	19,4%	/
Razina 2	4,94%	7,84%	7,1%	/
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača				

Tablica 14. Dobiveni rezultati ispitivanja preciznosti u seriji za uzorke krvi bolesnika za oba automatska analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita

Broj uzorka	Srednja vrijednost, $\bar{x}$ (mm/h)	Ponovljivost u serij (KV%)	Kriteriji definirani od strane proizvođača za ponovljivost (KV%)
Roller 20 PN			
1	16	15,74%	5,7%
2	22	10,15%	5,7%
3	27	4,14%	5,7%
4	40	4,02%	5,7%
5	81	16,12%	5,7%
6	90	2,22%	5,7%
iSED			
1	8	17,06%	19,4%
2	14	12,37%	19,4%
3	17	15,44%	19,4%
4	24	13,06%	/
5	30	12,07%	/
6	72	10,73%	7,1%
7	90	10,31%	7,1%
Crvena - nisu zadovoljeni kriteriji proizvođača; Zelena - zadovoljeni su kriteriji proizvođača			

4.2. Ispitivanje usporedivosti automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED s Westergren metodom

4.2.1. Ispitivanje usporedivosti automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom

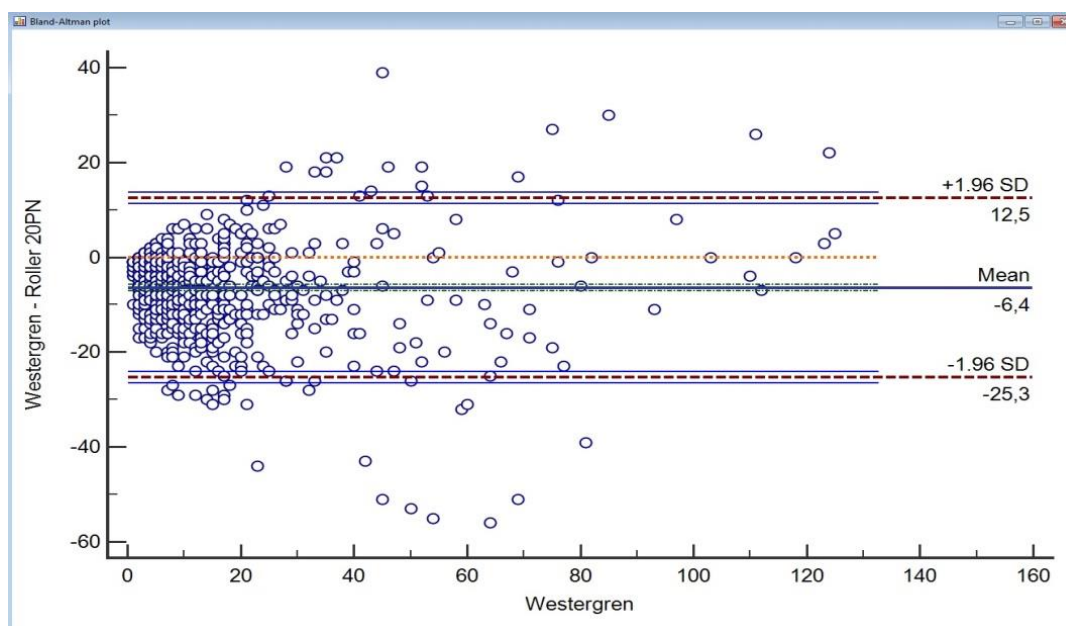
U ovo je istraživanje, tijekom razdoblja od rujna do prosinca 2017. godine ukupno uključeno 752 bolesnika. U skupini bolesnika koji su imali brzinu sedimentacije eritrocita <20 mm/h bilo je ukupno 585 ispitanika, dok je u skupini bolesnika s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h bilo ukupno 167 ispitanika.

Ukupna populacija uzoraka

Analiza usporedivosti između rezultata mjerenja dobivenih Westergren metodom i Roller 20 PN pokazala je da postoji statistički značajna razlika ($-6,4$ mm/h) između niza usporednih mjerenja. Passing-Bablok regresija pokazala je konstantno (odsječak = $1,0811$; $95\%CI = 0,4737$ do $1,4681$) i proporcionalno odstupanje (nagib = $1,4595$; $95\%CI = 1,3830$ do $1,5263$) između rezultata mjerenja dobivenih Westergren metodom i Roller 20 PN analizatorom.

Jednadžba pravca Passing-Bablok regresije je: $y = 1,0811$ ($95\%CI = 0,4737$ do $1,4681$) + $1,4595$ ($95\%CI = 1,4595$ do $1,1830$) x .

Cusum test za linearnost je pokazao kako dobiveni podaci nisu linearno raspodijeljeni te se nisu mogli obraditi Passing-Bablok regresijom ($P < 0,01$). Rezultati procjene usporedivosti metoda prikazani su Bland i Altman grafičkim prikazom (Slika 4.)



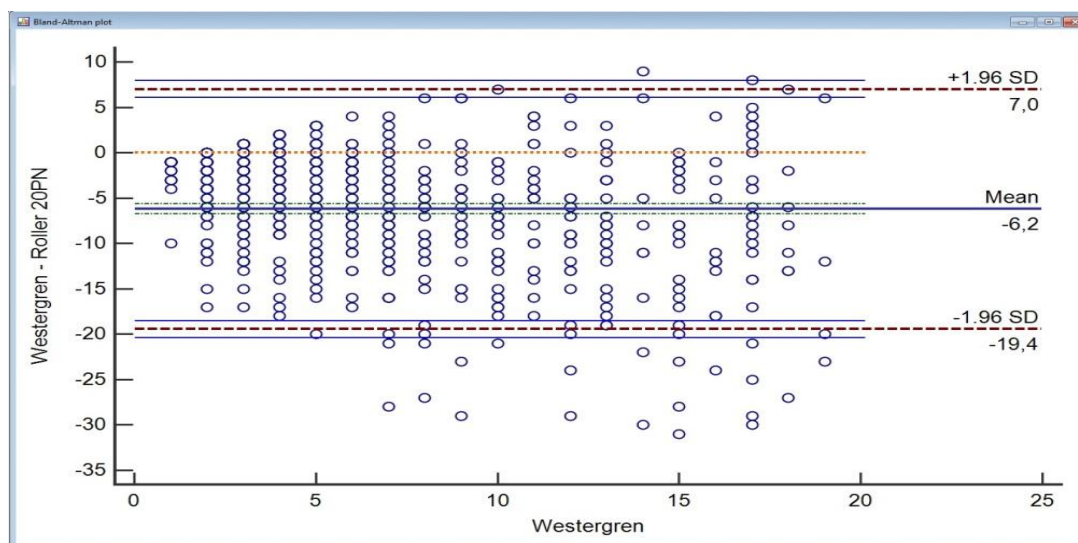
Slika 4. Bland i Altman grafički prikaz ukupne populacije uzoraka za usporedbu automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom.

Grupa uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita < 20 mm/h

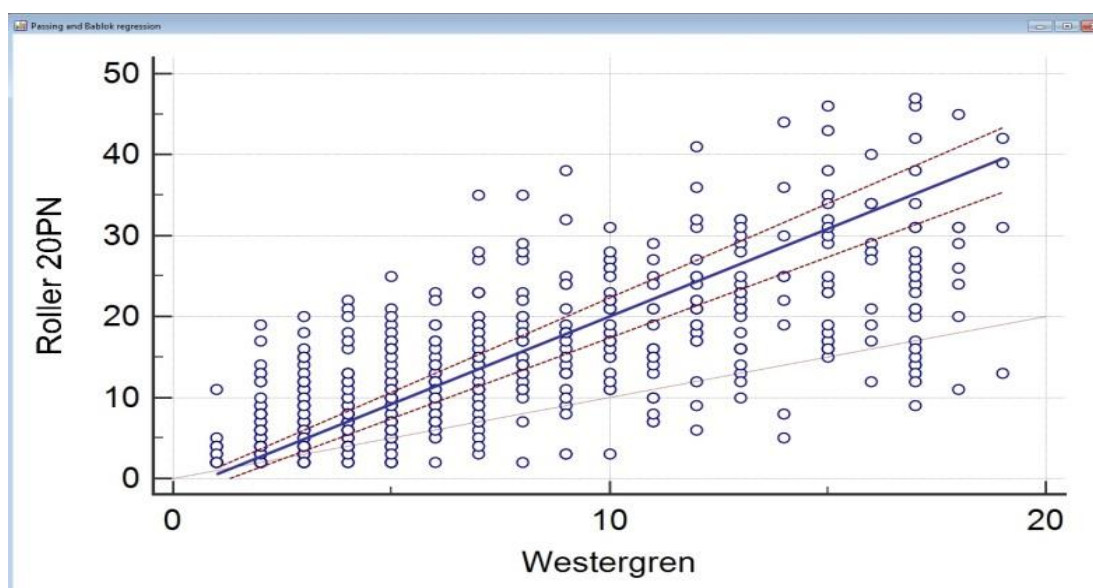
Dobiveni rezultati mjerenja Westergren metodom i automatskim analizatorom Roller 20 PN su analizirani Bland i Altman analizom (Slika 5). Analiza usporedivosti pokazala je postojanje statistički značajne razlike ($-6,2$ mm/h) između usporednih mjerenja.

Passing-Bablok regresija pokazala je konstantno i proporcionalno odstupanje (Slika 6). Jednadžba pravca Passing-Bablok regresije je: $y = -1,6667$ (95%CI= $-2,6667$ do $-1,0000$) + $2,1667$ (95%CI= $2,0000$ do $2,3333$)x.

Cusum test za linearnost je pokazao da su dobiveni podaci linearno raspodijeljeni ($P=0,09$) te je stoga učinjena Passing-Bablok analiza.



Slika 5. Bland i Altman grafički prikaz grupe uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita <20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom.

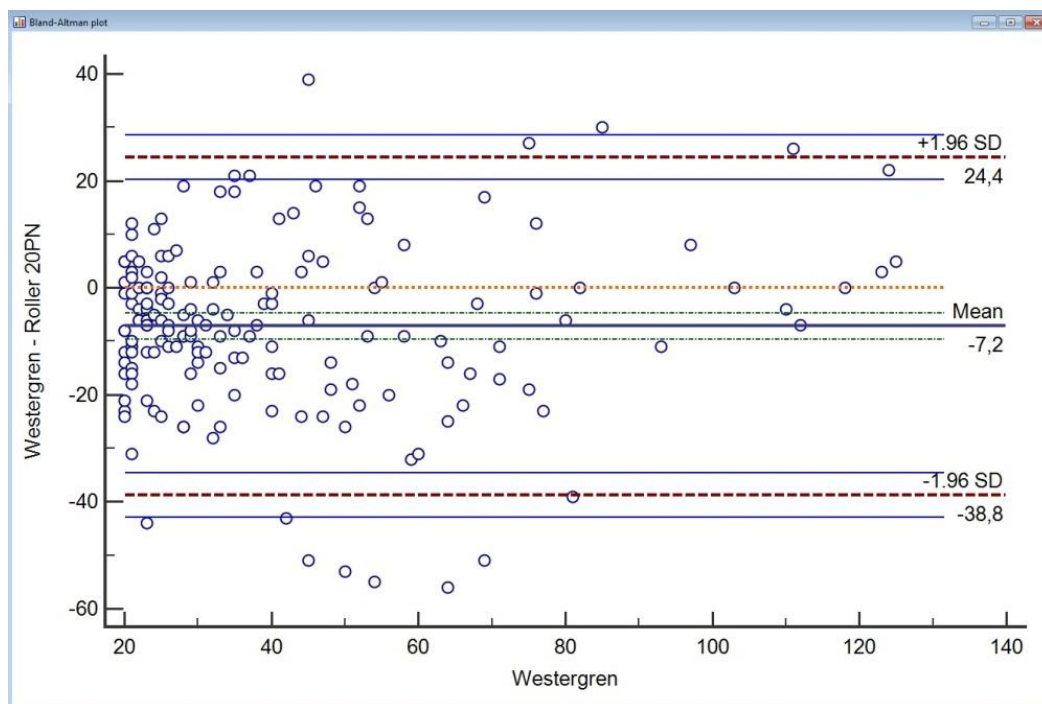


Slika 6. Passing-Bablokova regresija za grupu uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita <20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom.

Grupa uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h

Grupa uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h, statistički je obrađena Bland i Altman analizom koja je pokazala postojanje statistički značajne razlike (-7,2 mm/h) između usporednih mjerenja (Slika 7).

Cusum testom za linearnost je pokazano kako podaci nisu linearno raspodijeljeni te se ne mogu obraditi Passing-Bablok regresijom ($P < 0,01$).



Slika 7. Bland i Altman grafički prikaz grupe uzoraka brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren

Tablica 15. Rezultati ispitivanja točnosti za automatski analizator Roller 20 PN

Westergren metoda				
Roller 20 PN		>RI	Unutar RI	Ukupno
	>RI	102	101	203
	Unutar RI	10	539	549
	Ukupno	112	640	752

Iz rezultata ispitivanja točnosti za automatski analizator Roller 20 PN (Tablica 15.) izračunata je osjetljivost i specifičnost.

$$\text{Osjetljivost} = \frac{TP}{TP+FN} = 0,98 \text{ (95\%CI= 0,97 do 0,99)}$$

$$\text{Specifičnost} = \frac{TN}{TN+FP} = 0,50 \text{ (95\%CI= 0,43 do 0,57)}$$

Od ukupno 725 dobivenih rezultata sedimentacije eritrocita, lažno pozitivnih dobivenih vrijednosti je 13,43% dok je lažno negativnih 1,33%

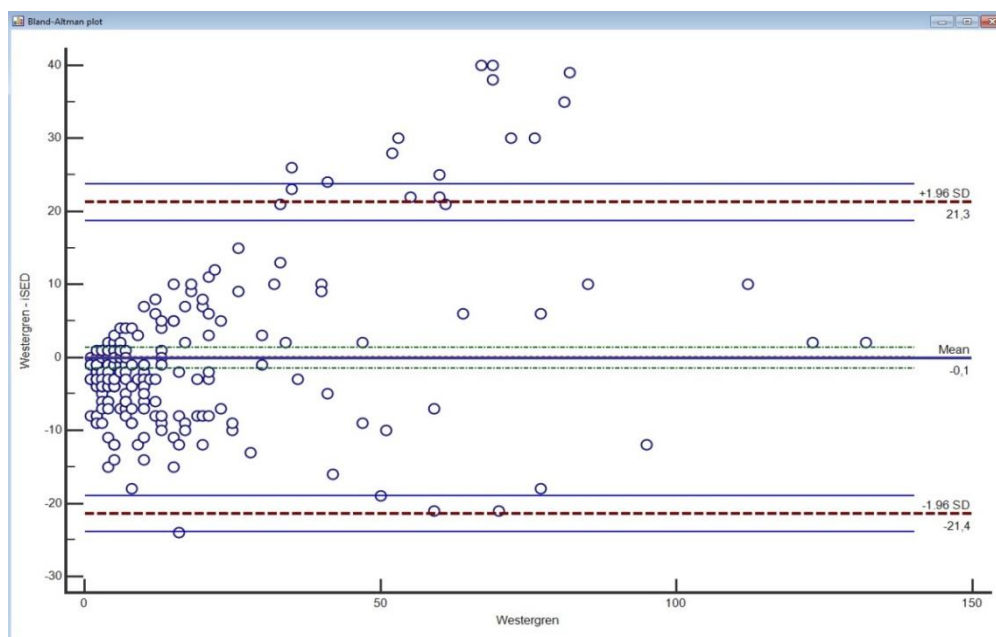
4.2.2. Ispitivanje usporedivosti automatskog analizatora iSED s Westergren metodom

U ovom istraživanju u vremenskom periodu od listopada do prosinca 2017. godine analizirano je 213 uzoraka krvi bolesnika na automatskom analizatoru iSED. U skupini bolesnika s brzinom sedimentacije eritrocita < 20 mm/h bilo je ukupno 153 ispitanika, dok u skupini s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h bilo je 60 ispitanika.

Ukupna populacija uzoraka

Analiza usporedivosti dobivenih rezultata Westergrenovom metodom i automatskim analizatorom iSED nije pokazala statistički značajnu razliku (-0,1 mm/h).

Cusum testom za linearnost je pokazano kako podaci nisu linearno raspodijeljeni te nisu analizirani Passing-Bablok regresijom ($P=0,02$).



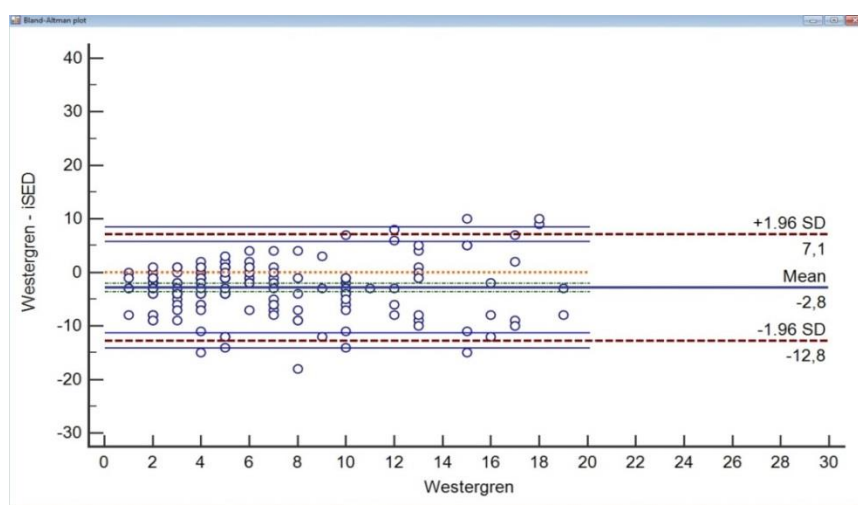
Slika 8. Bland i Altman grafički prikaz ukupne populacije za usporedbu automatskog analizatora iSED s Westergren metodom.

Grupa uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita <20 mm/h

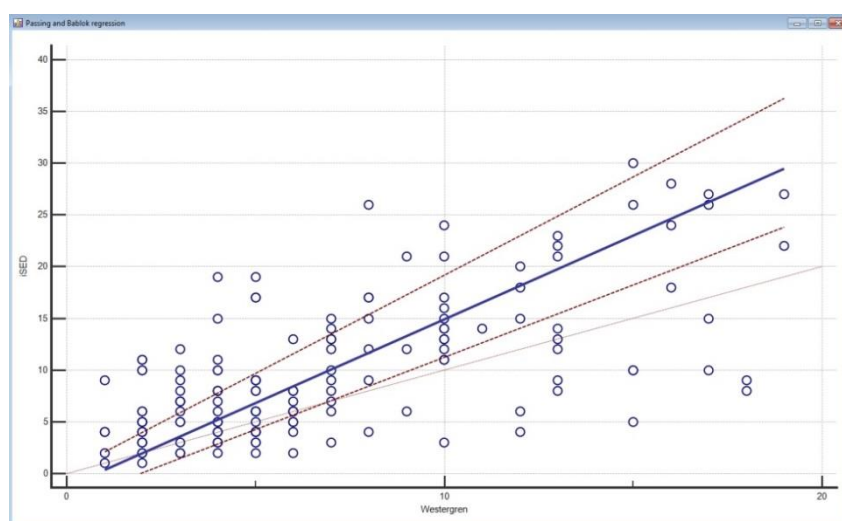
Bland i Altman analizom podataka dobivenih Westergrenovom metodom i automatskim analizatorom iSED pokazano je kako postoji statistički značajna razlika (-2,8 mm/h) (Slika 9.)

Cusum testom za linearnost ($P=0,43$) je pokazano da su podaci bili linearno raspodijeljeni te su uz Bland i Altman analizu, analizirani i Passing-Bablok regresijom.

Passing-Bablok regresijom pokazana je prisutnost samo proporcionalnog odstupanja (Slika 10). Jednadžba pravca Passing-Bablok regresije je: $y = -1,2308 (95\%CI = -2,8000 \text{ do } 0,2000) + 1,6154 (95\%CI = 1,4000 \text{ do } 1,9000)x$.



Slika 9. Bland i Altman grafički prikaz grupe uzoraka brzinom sedimentacije eritrocita <20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora iSED s Westergren metodom.



Slika 10. Passing-Bablokova regresija za grupu uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita <20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora iSED s Westergren metodom.

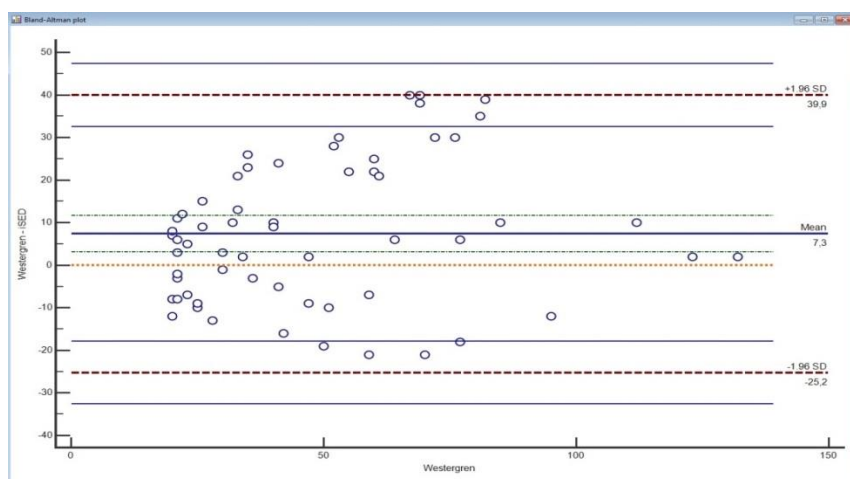
Grupa uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h

Dobiveni rezultati mjerenja Westergrenovom metodom i automatskim analizatorom iSED su analizirani Bland i Altman analizom. Dobiveno je kako postoji statistički značajna razlika koja iznosi 7,3 mm/h (Slika 11.).

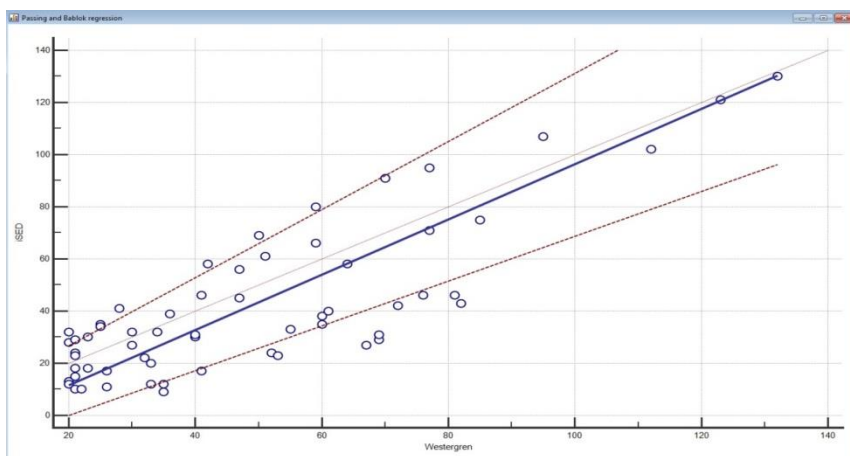
Cusum testom linearnosti je pokazao da su podaci bili linearno raspodijeljeni ($P=0,37$). Passing-Bablok regresijom pokazano je kako nije prisutno niti konstantno niti proporcionalno odstupanje (

Slika 12.). Jednadžba pravca dobivena Passing-Bablok regresijom jest: $y = -9,5000$ ($95\%CI = -17,3462$ do $0,5859$) + $1,0588$ ($95\%CI = 0,8594$ do $1,3077$) x .

Bland i Altman prikaz



Slika 11. Bland i Altman grafički prikaz grupe uzoraka brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora iSED s Westergren metodom.



Slika 12. Passing-Bablokova regresija za grupu uzoraka s brzinom sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h za usporedbu automatskog analizatora iSED s Westergrenovom metodom.

Tablica 16. Rezultati ispitivanja točnosti za automatski analizator iSED

		Westergren metoda		
iSED		>RI	Unutar RI	Ukupno
	>RI	37	10	47
	Unutar RI	9	156	165
	Ukupno	46	166	212

Iz rezultata ispitivanja točnosti za automatski analizator Roller 20 PN (Tablica 15) izračunata je osjetljivost i specifičnost.

$$\text{Osjetljivost} = \frac{TP}{TP+FN} = 0,95 \text{ (95\%CI= 0,90 do 0,97)}$$

$$\text{Specifičnost} = \frac{TN}{TN+FP} = 0,79 \text{ (95\%CI= 0,64 do 0,89)}$$

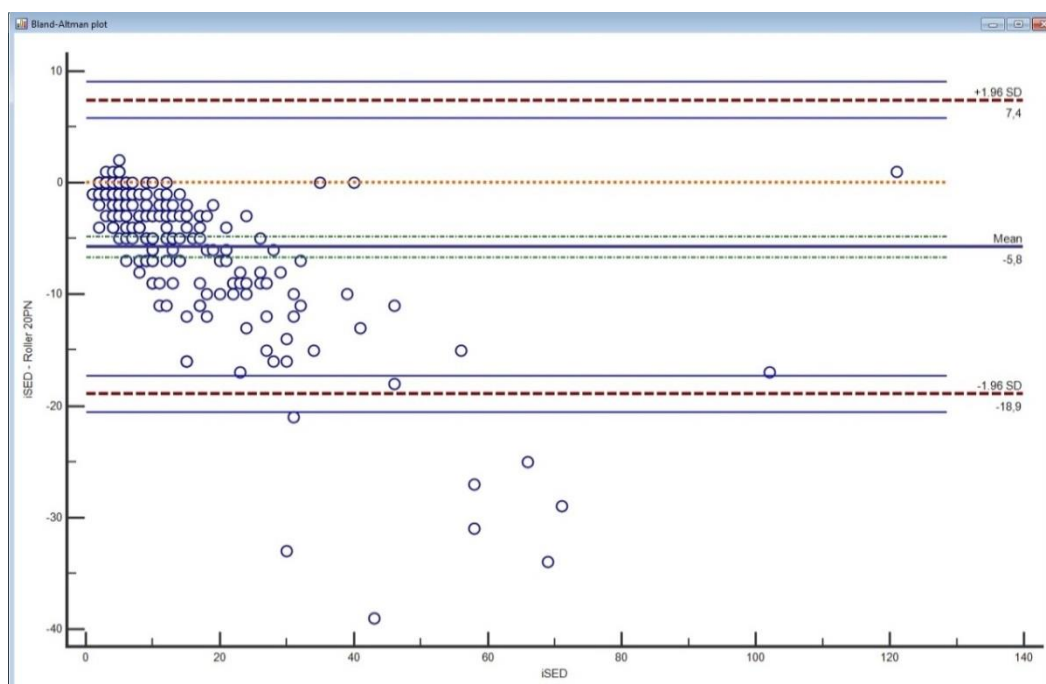
Od ukupno 212 dobivenih rezultata sedimentacije eritrocita na automatskom analizatoru iSED, dobivenih lažno pozitivnih rezultata iznosi 4,72%, dok lažno negativnih iznosi 4,25%.

4.3. Ispitivanje usporedivosti automatskih analizatora Roller 20 PN s iSED

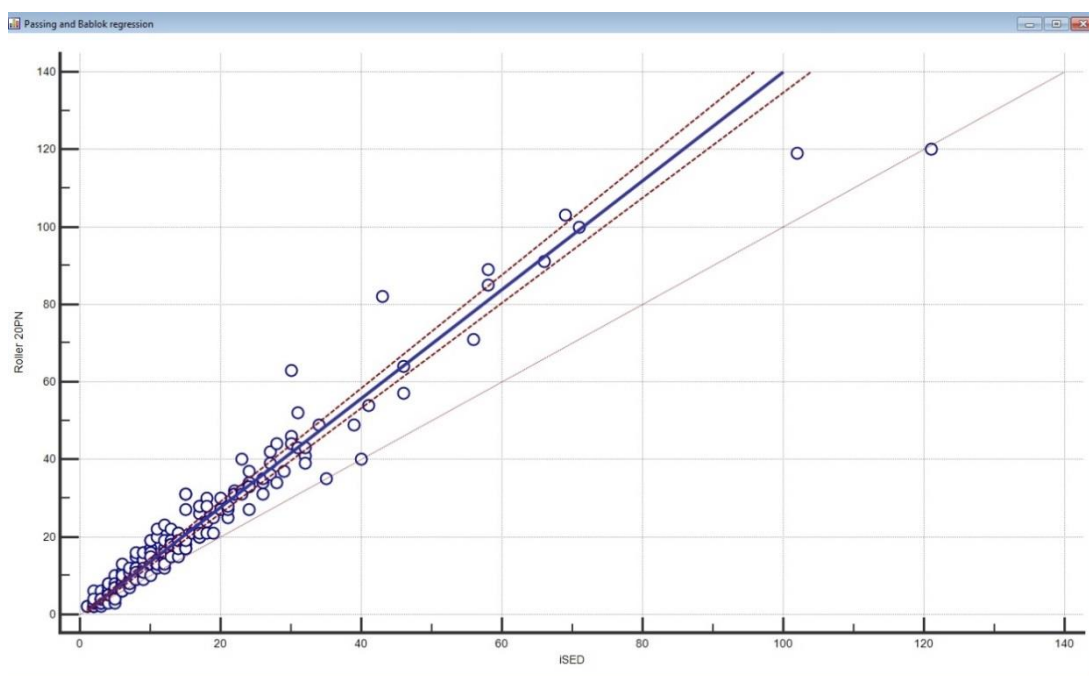
U ovo istraživanje uključeno je 196 ispitanika te je trajalo od listopada do prosinca 2017. godine. Bland i Altman analiza dobivenih podataka pokazala je kako postoji statistički značajna razlika koja iznosi -5,8 mm/h (Slika 13.). Uočeno je proporcionalno odstupanje prema Bland i Altman analizi kod usporedbe automatskih analizatora Roller i iSED.

Cusum test pokazao je da ne postoji statistički značajno odstupanje od linearnosti između dviju metoda ($P=0,69$). Passing-Bablok regresija pokazala je prisutnost konstantnog i proporcionalnog odstupanja (Slika 14.). Jednadžba pravca Passing-Bablok regresije je: $y = 0,4336$ (95%CI= 0,9231 do 0,07143) + $1,4056$ (95%CI= 1,3571 do 1,4615)x.

Ukupna populacija uzoraka



Slika 13. Bland i Altman grafički prikaz ukupne populacije uzoraka za usporedbu automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED.



Slika 14. Passing-Bablok regresija za ukupnu populaciju uzoraka za usporedbu automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED

5. RASPRAVA

Cilj ove studije je bio verifikacija dva automatska analizatora Roller 20 PN i iSED. Dobivenim podacima preciznosti na kontrolnim uzorcima utvrđeno je kako Roller 20 PN zadovoljio većinu kriterija koje je deklarirao proizvođač. Ispitivanjem preciznosti na kontrolnim uzorcima za automatski analizator iSED utvrđeno je kako djelomično zadovoljio kriterije koje je deklarirao proizvođač. Roller 20 PN je pokazao bolju ponovljivost, odnosno manje vrijednosti koeficijenta varijacije za uzorke krvi bolesnika u odnosu na iSED pogotovo kod brzine sedimentacije eritrocita > 20 mm/h koje su klinički značajnije. Izvedba analize automatskih analizatora je u skladu s CLSI H02-A5 smjernicama u kojima je navedeno kako su za verifikaciju metoda potrebni uzorci s brzinom sedimentacije eritrocita u intervalu 15-105 mm/h. U ovo istraživanje uključeni su i uzorci kojima je brzina sedimentacije eritrocita niža od 15 mm/h te zbog toga dobivene veće vrijednosti koeficijenta varijacije za preciznost od onih koje je deklarirao proizvođač.

Izračunatim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti metoda, možemo zaključiti kako je iSED pokazao bolju specifičnost za razliku od Roller 20 PN te je za oba automatska analizatora dobivena visoka osjetljivost ($>95\%$). Takva visoka osjetljivost znači da će oba analizatora dobro prepoznavati bolesnike s povišenom brzinom sedimentacije, tj. da će kod bolesnika s povećanom brzinom sedimentacije eritrocita (Westergrenovom metodom) i oba automatska analizatora dati pozitivan rezultat. S druge strane, nešto niža specifičnost automatskog analizatora Roller 20 PN znači da taj analizator neće dobro prepoznavati osobe koje imaju vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita unutar referentnog intervala, tj. da će kod osoba koje nemaju povećanu brzinu sedimentacije eritrocita (Westergrenovom metodom) rezultat dobiven mjerenjem na automatskom analizatoru u izvjesnom broju bolesnika biti lažno povišen.

Ispitivanjem točnosti, temeljem dobivenih podataka možemo zaključiti kako Roller 20 PN nije usporediv s Westergrenovom metodom u cijelom području brzine sedimentacije eritrocita dok je iSED usporediv s Westergrenovom metodom samo u područjima brzine sedimentacije eritrocita većim od 20 mm/h. Kako slijedi iz tih rezultata, uvođenjem u rutinski rad automatskog analizatora Roller 20 PN, bit će svakako potrebno izraditi nove referentne intervale za brzinu sedimentacije eritrocita, dok uvođenje automatskog analizatora iSED u svakodnevnu praksu, ne zahtijeva prethodnu izradu novih referentnih intervala za brzinu sedimentacije eritrocita budući da je metoda usporediva s Westergrenovom metodom za

mjerenje brzine sedimentacije eritrocita u intervalu vrijednosti koje su klinički značajne. Usporedbom dvaju automatskih analizatora, Bland i Altman analiza pokazala je kako Roller 20 PN mjeri više brzine sedimentacije eritrocita od iSED te da dva analizatora nisu međusobno usporediva.

Pregledom dostupne literature nisu pronađeni radovi koji su proveli usporedbu oba automatska analizatora s Westergrenovom metodom.

Također, pregledom dostupne literature, nisu pronađeni radovi koji opisuju usporedbu automatskog analizatora Roller 20 PN s Westergren metodom, no pronađeni su radovi koji se bavi usporedbom automatskog analizatora TEST1 s Westergrenovom metodom. Automatski analizator TEST1 zasniva se na istoj metodologiji mjerenja sedimentacije eritrocita kao i Roller 20 PN ali se ubraja u stariju generaciju automatskih analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita. U radovima (Plebani i sur, 1998; Giavarina i sur., 1999) koji uspoređuju TEST1 s Westergrenovom metodom, Bland i Altman analizaje pokazala prisutnost negativne srednje razlike koja se odnosi za cijelu populaciju analiziranih uzoraka, što je sukladno dobivenim rezultatima u ovom istraživanju. U drugom literaturnom radu (Sönmez i sur.,2014) koji se također bavi usporedbom automatskog analizatora TEST1 s Westergren metodom dobiveni rezultati analizirani su Passing-Bablok regresijom te je utvrđeno kako ne postoji niti konstantno niti proporcionalno odstupanje za cijeli raspon brzina sedimentacija eritrocita, dok se u ovom istraživanju utvrdilo postojanje i konstantnog i proporcionalnog odstupanja za cijelu populaciju uzoraka. Broj analiziranih uzoraka u radu (Sönmez i sur.,2014) je manji od 100, dok u ovom istraživanju je obrađeno više od 700 uzoraka te neslaganje u dobivenim rezultatima može biti zbog nejednakog broja analiziranih uzoraka. U radovima (Plebani i sur., 1998; Cha i sur., 2010) dobiveni rezultati za preciznost iz dana u dan za tri razine kontrolnih uzoraka i ponovljivost za uzorke krvi bolesnika su slični dobivenim rezultatima u ovom istraživanju. Bland i Altman analiza je pokazala pozitivno konstantno odstupanje u cijelom području vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita u odnosu na Westergrenovu metodu, što je različito od dobivenih rezultata u ovom istraživanju. U radu (Cha i sur, 2010) je ispitivanje točnosti TEST1 provedeno na istim uzorcima krvi koji su transportirani u tri različite bolnice te zbog toga može doći do predanalitičkih pogrešaka koje utječu na dobivene rezultate brzine sedimentacije eritrocita. Možemo zaključiti kako su preciznosti automatskih analizatora tvrtke Alifax zadovoljavajuće, no nisu usporedivi s Westergrenovom metodom te je potrebno provesti daljnja ispitivanja o točnosti automatskih analizatora.

U dostupnoj literaturi (Bogdaycioglu, 2014.) koja se bavi usporedbom automatskog analizatora iSED s Westergrenovom metodom, dobiveni rezultati za preciznost u seriji za uzorke bolesnika su sukladni dobivenim rezultatima u ovom istraživanju. Bland i Altman analiza pokazala je da iSED metoda ima pozitivno konstantno odstupanje u cijelom području vrijednosti brzine sedimentacije eritrocita u odnosu na Westergrenovu metodu, dok u ovom istraživanju nije pronađeno značajno odstupanje za ukupnu populaciju uzoraka. Neslaganje rezultata može biti zbog nejednakog broja analiziranih uzoraka za usporedbu ili pokrivanje različite širine intervala brzine sedimentacije eritrocita. U ovom radu je obrađen veći broj uzoraka te je pokriven širi interval brzine sedimentacije eritrocita. U radu (Bogdaycioglu, 2014), Passing-Bablok regresijom na ukupnoj populaciji uzoraka ustanovljeno je samo konstantno odstupanje što odgovara dobivenim rezultatima u ovom radu. Također, u radu (Bogdaycioglu, 2014) je ispitana usporedivost analizatora (Ves-Matic Cube 200 (Tablica 1.)) koji mjeri brzinu sedimentacije eritrocita na temelju modificirane Westergrenove metode s Westergrenovom metodom. Dobiveni rezultati su pokazali kako je analizator Ves-Matic Cube 200 usporediv s Westergrenovom metodom. U radu (Curvers i sur. 2010) je ispitana usporedivost analizatora temeljenih na modificiranoj Westergrenovoj metodi te je pokazano kako nisu usporedivi s Westergrenovom metodom. Temeljem dobivenih rezultata iz radova (Curvers i sur. 2010; Bogdaycioglu, 2014) možemo zaključiti kako analizatori temeljeni na modificiranoj Westergrenovoj metodi i automatizirane metode tvrtke Alifax za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita nisu usporedivi s Westergrenovom metodom. Daljnja ispitivanja usporedivosti automatskih analizatora s Westergrenovom metodom je potrebno provesti na većem broju uzoraka zbog dobivanja reprezentativnijih podataka.

Moguće je da su odstupanja dobivenih vrijednosti za brzine sedimentacije eritrocita automatiziranim metodama i Westergrenovom metodom koja smo uočili u našem i drugim radovima posljedica utjecaja niza vanjskih čimbenika na Westergrenovu metodu (naprimjer temperatura okoline, prisutnost vibracija, nedovoljna dilucija antikoagulansom te nepravilno miješanje uzorka prije same analize). Također moguće je da su opažena odstupanja nastupila uslijed prisutnosti određenih interferirajućih tvari u uzorku pune krvi bolesnika.

Ovo istraživanje ima i izvjesne nedostatke. Zbog nedostupnosti svih potrebnih podataka i uvida u zdravstveni karton bolesnika, nije bilo moguće prikupiti sve podatke vezane uz bolesnike, kako bi se mogao analizirati utjecaj određenih parametra ili prisutnost određenih bolesti na brzinu sedimentacije eritrocita dobivene automatiziranom i Westergrenovom metodom.

Tako nažalost, zbog nekih organizacijskih razloga nismo uspjeli ispitati utjecaj vrijednosti hematokrita (Hct), prosječnog volumena eritrocita (MCV), vrijednosti hemoglobina te utjecaj različitih oblika eritrocita na sedimentaciju eritrocita. Moguće je da su neke od spomenutih značajki utjecale na naše rezultate. Ujedno, nismo načinili analizu prema spolu, dobi i komorbiditeta. Moguće je da su i te varijable imale svoj doprinos u našim rezultatima.

Prilikom uvođenja automatiziranog analizatora za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita najznačajnije je skraćanje trajanja pretrage što uvelike koristi u kliničkom odlučivanju ili praćenju bolesti te smanjenje potrebnog volumena uzorka krvi za izvođenje pretrage što je značajno za bolesnike kojima se češće vadi krv te koji imaju oštećene i nedostupne krvne žile. Za laboratorijsko osoblje ovakvi zatvoreni sustavi automatskih analizatora su povoljni zbog smanjenja izloženosti potencijalnim infektivnim agensima u uzorcima krvi te smanjenja manipulacije uzorkom krvi tijekom analize.

6. ZAKLJUČAK

Provedbom verifikacije dva automatska analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita ispitane su analitičke značajke koje je utvrdio proizvođač. Temeljem dobivenih podataka koeficijenta varijacije (KV%) za preciznost, automatski analizator Roller 20 PN je većinom zadovoljio kriterije koje je deklarirao proizvođač, no nije usporediv s Westergrenovom metodom niti u području brzine sedimentacije eritrocita većih ili manjih od 20 mm/h. Dobiveni podaci koeficijenta varijacije za preciznost prikazali su kako je automatski analizator iSED djelomično zadovoljio kriterije koje je deklarirao proizvođač. Automatski analizator iSED nije usporediv u području sedimentacije eritrocita < 20 mm/h no usporediv je u području sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h. Westergrenova metoda podložna je brojnim vanjskim čimbenicima koji značajno utječu na brzinu sedimentacije eritrocita. Uvođenjem automatskih analizatora koji su zatvoreni sustavi te je njihova izvedba analize temeljena na CLSI smjernicama upravo iz razloga kako bi se što više smanjio utjecaj vanjskih čimbenika na mjerenje sedimentacije eritrocita.

7. LITERATURA

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, 4259-4270.

Baskurt OK, Uyuklu M, Hardeman MR, Meiselman JH, photometric measurements of red blood cell aggregation: light transmission versus light reflectance. *J Biomed Opt*, 2009, 14(5), 44-54.

Bogdaycioglu N, Yilmaz FM, Sezer S, Oguz 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.

Cha CH, Park CJ, Cha YJ, Kim HK, Kim DH, Honghoon i sur., erythrocyte sedimentation rate measurements by TEST1 better reflect inflammation than do those by the Westergren method in patients whit malignancy, autoimmune disease, or infection. *Am J Clin Pathol*, 2009, 131, 189-194.

Clinical and Laboratory Standards Institute. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline – Second Edition, CLSI document EP15-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2005.

Curvers J, Kooren J, Laan M, van Lierop E, Van de Kerkhof D, Scharnhorst V, Herruer M, Evaluation of the Ves-Matic Cube 200 erythrocyte sedimentation method: comparison with Westergren-based methods. *Am J Clin Pathol*, 2010, 134, 653-660.

Fabry TL, Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation blood. *Blood J*, 1987, 70(5), 1572-1576.

Gašljević V, Validacija i mjerna nesigurnost. *Biochem Med*, 2010, 20(1), 57-63.

Giavarina D, Dall'Olio G, Soffiati G, Method comparison of automated systems for the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol*, 1999, 112, 721-724.

iSED brošura, Alcor Scientific, Smithfield, SAD; http://Alcor_Scientific.com/wp-content/uploads/2016/11/112-09-054-07.2014-US-iSED-Sell-Sheet_1.pdf

Pristupljeno: 23.5.2018.

Isiksacan Z, Erel O, Blbuken C, A portable microfluidic system for rapid measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Lab Chip*, 2016, 16, 4682-4690.

Kratz A, Plebani M, Peng M, Lee YK, McCafferty R, Macin SJ, ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hem.* 2017, 39, 448-457.

Mackinnon A. A spreadsheet for the calculation of comprehensive statistics for the assessment of diagnostic tests and inter-rater agreement. *Comput Biol Med*, 2000, 30(3), 127-134.

Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E, The TEST1 Automated System A New Method for Measuring the Erythrocyte Sedimentation Rate. *Am J Clin Pathol*, 1998, 110, 334-340.

Reference method for the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test on human blood. *J.clin.Path.*, 1973, 26, 301-302. <https://jcp.bmj.com/content/26/4/301> Pristupljeno: 8.7.2018.

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

Roller 20 PN brošura, Alifax, Polverara, Italija <http://www.alifax.com/assets/Uploads/ESR-Bro001-ESR-family-instruments-29-06-2017-EN.pdf> Pristupljeno: 23.5.2018.

Sönmez C, Guntas G, Öztürk Kaymak A, Akkaya N, Akın KO, Comparison of erythrocyte sedimentation rate results of Test and automatic Westergren device with reference Westergren method. *Gazi Med J*, 2014, 25, 52-54.

8. SAŽETAK/ SUMMARY

8.1. Sažetak

Westergrenova metoda podložna je brojnim vanjskim čimbenicima koji utječu na dobivene brzine sedimentacije eritrocita dok su automatski analizatori zatvoreni sustavi gdje je utjecaj vanjskih čimbenika značajno smanjen pri određivanju brzine sedimentacije eritrocita. Odnedavno dostupni na tržištu, automatski analizatori za mjerenje sedimentacije eritrocita koriste krv uzetu na EDTA antikoagulans. Time se smanjuje vrijeme pretrage, volumen potrebne krvi za analizu što je povoljno za bolesnika te se smanjuju troškovi. Prije uvođenja automatskog analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita u rutinski rad, potrebno je ispitati analitičke značajke analizatora koje je deklarirao proizvođač. Cilj ovog istraživanja bio je verifikacija automatskog analizatora Roller 20 PN (Alifax, Polverara, Italija) i automatskog analizatora iSED (AlcorScientific, Smithfield, SAD) za automatsko mjerenje sedimentacije eritrocita. Verifikacija oba automatska analizatora je uključila ispitivanje preciznosti iz dana u dan te ispitivanje preciznosti u seriji i usporedbu s Westergrenovom metodom. Ispitivanje preciznosti iz dana u dan je provedena na kontrolnim uzorcima u tri razine za automatski analizator Roller 20 PN te u dvije razine za iSED. Ispitivanje preciznosti u seriji je provedena na kontrolnim uzorcima i uzorcima krvi bolesnika. Uzorci koji su korišteni u ovom istraživanju su ostatni uzorci krvi bolesnika iz Kliničke bolnice Sveti Duh. Za usporedbu su analizirani isti uzorci na automatskim analizatorima i Westergrenovom metodom. Dobiveni rezultati verifikacije pokazali su kako oba automatska analizatora za ispitivanje preciznosti ne zadovoljavaju u potpunosti kriterije koje je deklarirao proizvođač. Passing-Bablok regresijom utvrđeno je kako automatski analizator Roller 20 PN nije usporediv u cijelom području brzine sedimentacije eritrocita s Westergrenovom metodom dok automatski analizator iSED nije usporediv u području nižih brzina sedimentacije eritrocita ali je usporediv u području viših brzina sedimentacije eritrocita. Oba automatska analizatora u području brzina sedimentacije eritrocita < 20 mm/h mjere niže brzine sedimentacija eritrocita, a u području brzina sedimentacija eritrocita ≥ 20 mm/h mjere veće brzine sedimentacije eritrocita.

8.2. Summary

Westergren method suffers from numerous external factors that affect the obtained erythrocyte sedimentation rates while auto analyzers are closed systems where the influence of external factors is significantly reduced when determining the erythrocyte sedimentation rate. Recently available in the market, auto analyzers for erythrocyte sedimentation rate measurements use EDTA blood. This reduces the turn-around-time, the volume of blood needed for analysis, which is beneficial to the patient, and reduces the cost. Before introducing the automatic analyzer to measure erythrocyte sedimentation rate in routine, it is necessary to examine the analytical performance of the analyzer declared by the manufacturer. The aim of this study was to verify automatic analyzer Roller 20 PN (Alifax, Polverara, Italy) and automatic analyzer iSED (Alcor Scientific, Smithfield, USA) for automatic measurement of erythrocyte sedimentation rate. Verification of both automatic analyzers included day-to-day precision and series precision testing and comparison with the Westergren method. Day-to-day precision testing was performed on three level control samples for Roller 20 PN automatic analyzer and two levels for iSED. The intra-run precision was determined with control samples and patient blood samples. Samples used in this study are the leftover blood samples from patients in the Clinical Hospital of Sveti Duh. Agreement was analyzed by running samples simultaneously on automatic analyzers Roller 20 PN and iSED and the Westergren method. The results of the verification showed that precision for both automatic analyzers do not fully meet the criteria stated by the manufacturer. Passing-Bablok regression showed that automatic roller 20 PN analyzer was not comparable across the entire measurement range of erythrocyte sedimentation rate with the Westergren method while the iSED auto-analyzer was not comparable in the lower measurement range but was comparable in the higher range of erythrocyte sedimentation measurement. Both auto analyzers in the range of < 20 mm/h measure lower erythrocyte sedimentation rate, and in the range ≥ 20 mm/h measure higher rates of erythrocyte sedimentation rate.

Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

Verifikacija automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita

Helena Čičak

SAŽETAK

Westergrenova metoda podložna je brojnim vanjskim čimbenicima koji utječu na dobivene brzine sedimentacije eritrocita dok su automatski analizatori zatvoreni sustavi gdje je utjecaj vanjskih čimbenika značajno smanjen pri određivanju brzine sedimentacije eritrocita. Odnedavno dostupni na tržištu, automatski analizatori za mjerenje sedimentacije eritrocita koriste krv uzetu na EDTA antikoagulans. Time se smanjuje vrijeme pretrage, volumen potrebne krvi za analizu što je povoljno za bolesnika te se smanjuju troškovi. Prije uvođenja automatskog analizatora za mjerenje sedimentacije eritrocita u rutinski rad, potrebno je ispitati analitičke značajke analizatora koje je deklarirao proizvođač. Cilj ovog istraživanja bio je verifikacija automatskog analizatora Roller 20 PN (Alifax, Polverara, Italija) i automatskog analizatora iSED (AlcorScientific, Smithfield, SAD) za automatsko mjerenje sedimentacije eritrocita. Verifikacija oba automatska analizatora je uključila ispitivanje preciznosti iz dana u dan te ispitivanje preciznosti u seriji i usporedbu s Westergrenovom metodom. Ispitivanje preciznosti iz dana u dan je provedena na kontrolnim uzorcima u tri razine za automatski analizator Roller 20 PN te u dvije razine za iSED. Ispitivanje preciznosti u seriji je provedena na kontrolnim uzorcima i uzorcima krvi bolesnika. Uzorci koji su korišteni u ovom istraživanju su ostatni uzorci krvi bolesnika iz Kliničke bolnice Sveti Duh. Za usporedbu su analizirani isti uzorci na automatskim analizatorima i Westergrenovom metodom. Dobiveni rezultati verifikacije pokazali su kako oba automatska analizatora za ispitivanje preciznosti ne zadovoljavaju u potpunosti kriterije koje je deklarirao proizvođač. Passing-Bablok regresijom utvrđeno je kako automatski analizator Roller 20 PN nije usporediv u cijelom području brzine sedimentacije eritrocita s Westergrenovom metodom dok automatski analizator iSED nije usporediv u području nižih brzina sedimentacije eritrocita ali je usporediv u području viših brzina sedimentacije eritrocita. Oba automatska analizatora u području brzina sedimentacije eritrocita < 20 mm/h mjere niže brzine sedimentacije eritrocita, a u području brzina sedimentacije eritrocita ≥ 20 mm/h mjere veće brzine sedimentacije eritrocita. Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 45 str., 14 grafičkih prikaza, 16 tablica i 18 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: sedimentacija eritrocita, Westergrenova metoda, automatski analizatori, Roller 20 PN, iSED

Mentor: **Dr. sc. Ana-Maria Šimundić**, naslovni izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ana-Maria Šimundić**, naslovni izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Doc. dr. sc. Marija Grdić Rajković, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Doc. dr. sc. Petra Turčić, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: Srpanj 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical biochemistry
Department of medical biochemistry and hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Verification of automated analyzers Roller 20 PN and iSED for measuring erythrocyte sedimentation rate

Helena Čičak

SUMMARY

Westergren method suffers from numerous external factors that affect the obtained erythrocyte sedimentation rates while auto analyzers are closed systems where the influence of external factors is significantly reduced when determining the erythrocyte sedimentation rate. Recently available in the market, auto analyzers for erythrocyte sedimentation rate measurements use EDTA blood. This reduces the turn-around-time, the volume of blood needed for analysis, which is beneficial to the patient, and reduces the cost. Before introducing the automatic analyzer to measure erythrocyte sedimentation rate in routine, it is necessary to examine the analytical performance of the analyzer declared by the manufacturer. The aim of this study was to verify automatic analyzer Roller 20 PN (Alifax, Polverara, Italy) and automatic analyzer iSED (Alcor Scientific, Smithfield, USA) for automatic measurement of erythrocyte sedimentation rate. Verification of both automatic analyzers included day-to-day precision and series precision testing and comparison with the Westergren method. Day-to-day precision testing was performed on three level control samples for Roller 20 PN automatic analyzer and two levels for iSED. The intra-run precision was determined with control samples and patient blood samples. Samples used in this study are the leftover blood samples from patients in the Clinical Hospital of Sveti Duh. Agreement was analyzed by running samples simultaneously on automatic analyzers Roller 20 PN and iSED and the Westergren method. The results of the verification showed that precision for both automatic analyzers do not fully meet the criteria stated by the manufacturer. Passing-Bablok regression showed that automatic roller 20 PN analyzer was not comparable across the entire measurement range of erythrocyte sedimentation rate with the Westergren method while the iSED auto-analyzer was not comparable in the lower measurement range but was comparable in the higher range of erythrocyte sedimentation measurement. Both auto analyzers in the range of < 20 mm/h measure lower erythrocyte sedimentation rate, and in the range ≥ 20 mm/h measure higher rates of erythrocyte sedimentation rate.

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

Thesis includes: 45 pages, 14 figures, 16 tables and 18 references. Original is in Croatian language.

Keywords: erythrocyte sedimentation rate, Westergren method, automated analyzers, Roller 20 PN, iSED

Mentor: **Ana-Maria Šimundić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Ana-Maria Šimundić, Ph.D.** Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Marija Grdić Rajković, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Petra Turčić, Ph.D. Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July, 2018

