Standardizacija kvalitativne analize mokraće u Republici Hrvatskoj

Špoljarić, Valentina

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:163:591893

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Valentina Špoljarić

Standardizacija kvalitativne analize mokraće u Republici Hrvatskoj

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

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

Zahvaljujem se svojoj dragoj mentorici nasl.izv.prof.dr.sc. Ana-Mariji Šimundić na uloženom trudu i vremenu te svim savjetima i pomoći oko izrade diplomskog rada. Hvala i ostalim djelatnicima Zavoda za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu KB „Sveti duh“ na savjetima i pomoći.

Najveće hvala mojim roditeljima i bratu na neprekidnoj podršci i ljubavi tijekom studija.

Hvala i svim prijateljima koji su uljepšali i olakšali sve trenutke zajedničkog studiranja.

SADRŽAJ

1 UVOD....1
1.1 Kvalitativna analiza mokraće....1
1.1 Kemijska analiza test trakama....2
1.1.1 pH....3
1.1.2 Relativna volumna masa....4
1.1.3 Proteini....4
1.1.4 Glukoza....5
1.1.5 Ketoni....5
1.1.6 Krv....6
1.1.7 Nitriti....6
1.1.8 Leukocitna esteraza....7
1.1.9 Urobilinogen....7
1.1.10 Bilirubin....8
1.1.11 Askorbinska kiselina....8
1.2 Dijagnostička točnost....8
1.3 Vanjska procjena kontrole kvalitete....9
1.4 Standardizacija i harmonizacija....10
2 OBRAZLOŽENJE TEME....13
3 MATERIJALI I METODE....14
3.1 Ispitanici....14
3.2 Analiza mokraće....14
3.3 Usporedba koncentracijskih raspona i pridruženih kategorija definiranih prema proizvođačima....15
3.4 Provedba ankete o kvalitativnoj analizi mokraće u rh....16
3.5 Usporedivost test traka....16
3.6 Točnost test traka....18

3.7 Reproducibilnost test traka.....19
3.8 Obrada rezultata.....19
4 REZULTATI 21
4.1 Usporedba koncentracijskih raspona i pridruženih kategorija definiranih prema proizvođačima 21
4.2. Kvalitativna analiza mokraće u RH 24
4.3. Usporedivost i točnost test traka 29
5 RASPRAVA 47
6 ZAKLJUČCI.....51
7 LITERATURA.....52
8 SAŽETAK/ SUMMARY 54
8.1 Sažetak 54
8.2 Summary 55
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

1 UVOD

Bubrezi imaju mnogobrojne funkcije u organizmu. Jedna od njihovih funkcija je stvaranje mokraće. Izlučivanjem mokraće, iz krvi se uklanjaju produkti metabolizma i otpadne tvari te se regulira volumen krvi i osmolarnost plazme. Nastajanje mokraće odvija se u dvije faze. Najprije se procesom ultrafiltracije krvne plazme u glomerulima bubrega stvara primarna mokraća. Stvoreni glomerularni filtrat prolazi kroz tubule bubrega gdje se reapsorpcijom i sekrecijom stvara konačna mokraća. (Guyton i Hall, 2006)

Promjenom metaboličkih procesa, cirkulacijskih poremećaja te promjena u funkciji urogenitalnog sustava i jetre, mijenja se i kemijski sastav mokraće što se očituje povećanim ili smanjenim izlučivanjem pojedinih tvari te pojavom tvari koje se normalno ne izlučuju mokraćom. Do promjena u sastavu mokraće dolazi znatno prije nego što se pojave značajne promjene u sastavu krvi što je važno pri otkivanju bolesti mokraćnog trakta, dijabetesa te bolesti bubrega. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

1.1 KVALITATIVNA ANALIZA MOKRAĆE

U svakodnevnom radu, laboratorijska obrada mokraće obuhvaća fizikalni pregled mokraće, kemijsku analizu te mikroskopske obradbe sedimenta mokraće. (Čepelak i Štraus, 2004)

Pri fizikalnom pregledu uočava se boja, izgled i miris mokraće te se mjeri relativna volumna masa (specifična težina) i pH. Kemijskom analizom mokraće test trakama, uzorci mokraće rutinski se testiraju. Ukoliko je jedan od parametara test trake pozitivan, u tom se uzorku dalje radi mikroskopski pregled mokraćnog sedimenta. Mikroskopski pregled mokraćnog sedimenta slijedi nakon što je kemijskim pregledom nađen neki od parametara: proteini, leukociti, eritrociti ili nitriti. Pronalazak cilindara, dismorfičnih eritrocita, bakterija ili bubrežnih stanica pomoći će u potvrđivanju bubrežnog oštećenja i infekcije mokraćnog sustava. (Čepelak i Štraus, 2004)

Prema ECLM European Urinalysis Guidelines opisani su standardizirani postupci cjelokupne kvalitativne analize mokraće od sakupljanja uzorka, transporta te spremanja uzorka. Uzorak izbora je srednji mlaz prve jutarnje mokraće nakon noćnog sna, toalete vanjskog

spolovila, prije doručka i drugih aktivnosti, pri čemu vrijeme od posljednjeg pražnjenja mjehura treba biti najmanje 4h, a najviše 8h. nije preporučljivo raditi analizu kod žena neposredno prije, za vrijeme ili neposredno nakon menstruacije kao ni kod žena koje imaju vaginalni iscjedak. Uzorak mokraće treba skupljati u čistu posudu sa širokim grlom za jednokratnu upotrebu. Ako se uzorak prenosi do mjesta obrade, posuda mora biti dobro zatvorena. Analizu uzorka mokraće poželjno je napraviti unutar 2h, te najkasnije do 4h od zaprimanja uzorka kako bi se izbjegli lažni rezultati. Zbog duljeg stajanja uzorka, može doći do degradacije leukocita i eritrocita, proliferacije bakterija, bakterijske degradacije glukoze te oksidacije bilirubina i urobilinogena. (European Urinalysis Group, 2000)

Pouzdana analiza mokraće može biti napravljena samo iz uzorka mokraće koji je prikladno prikupljen, transportiran i spremljen.

1.2 KEMIJSKA ANALIZA TEST TRAKAMA

Kemijska analiza test trakama obuhvaća određivanje pH i relativne volumne mase te ispitivanje prisutnosti eritrocita, leukocita, proteina, glukoze, bilirubina, urobilinogena, ketona i nitrita u mokraći. Ti sastojci se inače ne nalaze u mokraći i njihovo prisustvo u mokraći upućuje na bolest mokraćnog trakta, metabolički poremećaj, kolestazu ili hemolitičku bolest. Tijekom bolesti ili disfunkcije organa, dolazi do promjena u sastavu mokraće prije nego što se pojave značajne promjene u sastavu krvi. Test trake za analizu mokraće koriste se za mjerenje određenih sastojaka u mokraći koji su značajni u dijagnostici dijabetesa, urogenitalnih i bubrežnih bolesti, jetrenih bolesti, hemolitičkih bolesti te metaboličkih i kiselinsko-bazičnih poremećaja. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

Test trake za analizu mokraće sastoje se od plastičnih traka na kojima se nalaze testna polja. Svako testno polje impregnirano je različitim reagensima te ukazuje na određeni analit u mokraći. Testna traka sadržava više testnih polja omogućujući istovremeno određivanje različitih parametara. Svako testno polje zapravo predstavlja određeni koncentracijski raspon te promjena boje na svakom testnom polju ovisi o koncentraciji analita u uzorku mokraće. Intenzitet boje omogućuje semikvantitativnu evaluaciju rezultata. (Compendium of urinalysis, 2011)

Ovisno o vrsti test trake, može se testirati jedan ili više parametara: glukoza, bilirubin, urobilinogen, ketoni, specifična težina, krv, pH, proteini, nitriti, leukociti, askorbinska kiselina,

kreatinin, albumin i kalcij. Većina test traka za analizu mokraće ima 10 parametara, neke imaju samo 2, a neke 11 pa čak i 13 testnih polja.

Prije upotrebe, potrebno je detaljno pročitati upute proizvođača koje se nalaze uz svako pakiranje test traka. Postupci se mogu razlikovati kod različitih proizvođača stoga je važno slijediti upute proizvođača.

Rezultati test traka mogu se očitati vizualno ili automatski analizatorom. Vizualno očitanje rezultata temelji se na usporedbi promjene boje na test traci sa skalom boja koju proizvođač osigurava uz pakiranje test traka. Rezultat se očitava sa kutije test traka kao koncentracija i/ili arbitrarno. Automatski analizator rezultate očitava test trake na principu refleksne fotometrije mjereći svjetlost koja se reflektira od testno polje. Automatski analizatori očitavaju intenzitet promjene boje na polju trake objektivno i u točno određenom vremenskom intervalu pa je eliminirana pogreška interpretacije boje i razlike u reakcijskom vremenu. Automatski analizatori su postavljeni da čitaju reakcijsku plohu u određenom vremenu prema uputama proizvođača, stoga je greška pogrešnog očitavanja svedena na minimum. Uvođenje automatskog analizatora test traka na temelju refleksne fotometrije je pomoglo u rješavanju problema subjektivnog vizualnog očitanja test traka i omogućilo postizanje bolje standardizacije. (Compendium of urinalysis, 2011)

1.2.1 pH

Zadaća bubrega je regulacija kiselinsko-bazične ravnoteže. Tu zadaću bubrezi ostvaruju kroz svoju sposobnost izlučivanja kiselina nastalih metaboličkim procesima. Kisela ili bazična mokraća upućuje na mogući poremećaj kiselinsko-bazične ravnoteže. Dugotrajno alkalni pH upućuje na infekciju mokraćnog sustava. Također, povišena pH vrijednost analitički je značajna jer s pri povišenim vrijednostima pH eritrociti i leukociti brže liziraju što može objasniti negativni nalaz sedimenta mokraće i pozitivnu test traku na leukocite i/ili eritrocite. Vrijednost pH u uzorku mokraće zdravih pacijenata varira između 5 i 6. (Sikirica, 2018)

Testno polje za određivanje pH (negativni logaritam koncentracije vodikovih iona) impregnirano je sa smjesom dva indikatora, metilno crvenilo i bromtimol plavilo. Promjenom boje testnog polja od narančaste, žute do zeleno-plave mjeri se pH u rasponu 4.5-9.0. Važno je da se promjena boje očita odmah kako bi se spriječilo pogrešno tumačenje rezultata zbog

mogućeg prelaska reagensa iz susjednih testnih polja u pH područje. (Sikirica, 2018; Štraus i Čvorišćec, 2009)

1.2.2 Relativna volumna masa

Relativna volumna masa (specifična težina) upućuje na sposobnost bubrega da koncentrira mokraću. Značajno snižene vrijednosti prisutne su kod dijabetes insipidusa te zatajenja bubrega, dok su značajno povišene vrijednosti prisutne kod srčanog zatajenja, hepatorenalnog sindroma te dehidratacije. Normalne vrijednosti kreću se u rasponu 1.015 do 1.025. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

Test se temelji na promjeni boje reagensa iz plavo-zelene u žuto-zelenu, ovisno o koncentraciji iona u uzorku. Test omogućuje određivanje specifične težine u rasponu od 1.000 do 1.030. (Sikirica, 2018)

1.2.3 Proteini

Niskomolekularni proteini filtriraju se u glomerulu, ali se iz primarne mokraće najvećim dijelom reapsorbiraju u tubulima. Tako se u mokraći zdrave osobe izlučuje 150 mg proteina u danu. Ekskrecija veće koncentracije proteina od 150 mg proteina u danu definira se kao proteinurija. Proteinurija najčešće ukazuje na oštećenje bubrega i može se pojaviti puno prije drugih kliničkih simptoma. Kod osoba sa zdravim bubrezima, proteinurija se pojavljuje kao posljedica tjelesnih opterećenja, trudnoće, povišene temperature, poremećaja rada srca ili visokog tlaka. Takve vrste proteinurije, benigne ili funkcionalne proteinurije, su prolazne i nestaju kad se ukloni uzrok njihova nastanka. Patološke proteinurije, ovisno o mjestu nastanka, mogu biti proteinurije zbog suviška, glomerularne, tubularne te poslijebubrežne proteinurije. Proteinurija zbog suviška posljedica je predbubrežnih uzroka poput izlučivanja lakih lanaca imunoglobulina ili intravaskularne hemolize. Glomerularnu proteinuriju karakterizira pojava proteina u mokraći iz seruma zbog povećane propusnosti glomerula. Ovaj oblik proteinurije pojavljuje se kod glomerulonefritisa, nefrotičkog sindroma te glomeruloskleroze. U tubularnoj proteinuriji pojavljuju se proteini male molekulske mase poput beta2-mikroglobulina, lizozima, poliklonskih lakih lanaca imunoglobulina, alfa1-mikroglobulina). Tubularna proteinurija karakteristična je za Fanconijev sindrom, odbacivanje transplantata te tubularne infekcije.

Poslijebubrežne proteinurije uzrokuju bolesti urogenitalnog trakta nakon što mokraća prođe bubrege. (Štraus i Čvorišćec, 2009; Sikirica, 2018)

Test detekcije proteina temelji se na tzv. proteinskoj grešci indikatora. Proteini se preko aminoskupine vežu na anionske skupine indikatora, što rezultira promjenom boje indikatora. Indikator mijenja boju od žute do zeleno-plave, ovisno o vrsti indikatora. Test trake primarno detektiraju albumine, a manje su osjetljive na globuline. (Sikirica, 2018)

1.2.4 Glukoza

Prisutnost značajnih količina glukoze u mokraći naziva se glukozurija. Količina glukoze koja se pojavljuje u mokraći ovisi o razini glukoze u krvi, brzini glomerularne filtracije i stupnju tubularne reapsorpcije. Normalno se sva glukoza iz glomerularnog filtrata reapsorbira u tubulima bubrega te se neće pojavljivati u mokraći dok razina glukoze u krvi nije 10 mmol/L, što predstavlja bubrežni prag za glukozu. Kada koncentracija glukoze prijeđe 10 mmol/L, filtrirana glukoza se više ne može reapsorbirati u tubulima. To se najčešće događa kod starijih ili kod osoba sa šećernom bolesti. (Mundt i Shanahan, 2011)

Određivanje glukoze temelji se na enzimskoj reakciji u dva koraka. Glukoza oksidaza katalizira stvaranje glukonske kiseline i vodikovog peroksida. Nastali vodikov peroksid oksidira kromogen u prisutnosti peroksidaze, što rezultira promjenom boje od zelene do sivo-plave. (Sikirica, 2018)

1.2.5 Ketoni

Ketoni se stvaraju tijekom metabolizma masnih kiselina. Jedan od produkata razgradnje masnih kiselina je acetilCoA. Nastali acetilCoA ulazi u Krebsov ciklus u organizmu ako je metabolizam masti i ugljikohidrata u ravnoteži. Prvi korak u Krebsovom ciklusu je reakcija acetilCoA i oksaloacetata pri čemu nastaje citrat. Pri nedostatku ugljikohidrata, sav dostupan oksaloacetat će se koristiti za stvaranje glukoze te neće biti dostupnog oksaloacetata za stvaranje citrata sa acetilCoA. AcetilCoA ne može ući u Krebsov ciklus te se preusmjerava za stvaranje ketona. Ketoni u mokraći su obično prisutni kod pacijenata sa nekontroliranim

dijabetesom, ali i kod komatoznih stanja te gladovanja, povraćanja i febrilnih stanja. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

Određivanje ketona temelji se na Legalovoj reakciji. Testno polje za ketone sadrži reagens natrijev nitroprusid i glicin koji u alkalnom mediju sa acetooctenom kiselinom stvara ljubičasto obojenje proporcionalno koncentraciji ketona. Važno je da je uzorak mokraće svjež jer se stajanjem acetooctena kiselina dekarboksilira u aceton koji ne reagira sa testnom trakom. (Sikirica, 2018)

1.2.6 Krv

Mokraća zdravih osoba ne sadržava krv, osim u žena za vrijeme menstruacije. Pojava krvi u mokraći, hematurija, znak je bolesti. Razlikujemo makrohematuriju i mikrohematuriju. Makrohematurija se zapaža makroskopski po crveno, crveno-smeđoj boji, dok se mikrohematurija opaža tek mikroskopskim pregledom mokraćnog sedimenta i pronalaskom tri ili više eritrocita u vidnom polju. Uzroci hematurije općenito mogu biti mokraćni kamenci, infektivne bolesti ili upalne bolesti bubrega poput glomerulonefritisa, pijelonefritisa te intersticijalnog nefritisa. Za razliku od hematurije, pojava kada se mokraćom izlučuje samo hemoglobin, naziva se hemoglobinurija. Hemoglobinurija bez hematurije pojavljuje se u stanjima pojačanog raspadanja eritrocita kod hemolitičkih anemija, ali i kod transfuzije inkompatibilne krvi te kao noćna i paroksizmalna hemglobinurija. (Mundt i Shanahan, 2011)

Dokazivanje krvi temelji se na pseudoperoksidativnom djelovanju hemoglobina (ili mioglobina) koji katalizira oksidaciju indikatora. Testno polje sadrži peroksid i kromogen te peroksidno djelovanje hemoglobina ili mioglobina izaziva promjenu boje u zelenu. Homogeno zeleno obojenje testnog polja upućuje na prisutnost slobodnog hemoglobina ili liziranih eritrocita, dok će intaktni eritrociti biti lizirani na testnom polju i oslobođeni hemoglobin će stvoriti zelene točkice na žutoj podlozi. (Sikirica, 2018)

1.2.7 Nitriti

Nitrati se izlučuju bubrezima u mokraću, međutim nitriti normalno nisu prisutni u mokraći. Prisutnost nitrita u mokraći je jedan od najvažnijih znakova bakterijske infekcije

mokraćnog sustava. Testna traka će detektirati nitrite ukoliko se u mokraćnom traktu nalaze bakterije koje reduciraju nitrate u nitrite zbog prisutnosti enzima nitrat reduktaze. Takve bakterije su gram negativne E. coli, Proteus bacili, Klebsiela te Pseudomonas. Međutim, negativan rezultat ne isključuje infekciju zbog moguće prisutnosti bakterija koje ne reduciraju nitrate poput Enterococcus spp. i Staphylococcus spp. Stoga je za potvrdu infekcije potreban mikroskopski pregled sedimenta mokraće. (Mundt i Shanahan, 2011)

Testno polje za nitrite temelji se na sposobnosti bakterija da reduciraju nitrate, normalno prisutne u mokraći u nitrite koji se ne nalaze u mokraći. Nitriti u kiselim uvjetima reagiraju sa aromatskim aminima te stvaraju diazonijeve soli koje u reakciji sa tetrahidrobenzokinolinima stvaraju ružičaste azo spojeve. Test ne mjeri stupanj bakteriurije i bilo koja promjena boje na testnom polju predstavlja klinički značajnu pristutnost bakerija u mokraći stoga se rezultat izražava samo kao pozitivan ili negativan. (Sikirica, 2018; Mundt i Shanahan, 2011)

1.2.8 Leukocitna esteraza

Prisutnost leukocita u mokraći povezana je sa infekcijama mokraćnog trakta, ali i neinfektivnim bolestima bubrega. Leukocitna esteraza je nespecifična i bit će pozitivna u pacijenata sa infekcijom klamidijom, uretritisom, tuberkulozom, tumorima mokraćnog mjehura, virusnim infekcijama, nefrolitijazom te uporabom kortikosteroida. (Sikirica, 2018)

Leukociti se detektiraju na temelju aktivnosti enzima indoksilesteraze (iz granulocita i makrofaga) koja katalizira hidrolizu indoksil estera na aromatski spoj i kiselinu. Nastali aromatski spoj u reakciji sa diazonijevom soli stvara ljubičasto obojenje. (Sikirica, 2018)

1.2.9 Urobilinogen

Urobilinogen nastaje redukcijom bilirubina djelovanjem anaerobne crijevne flore te se reapsorbira u cirkulaciju i djelomično izlučuje mokraćom. Detekcija značajnije količine urobilinogena u mokraći moguća je zbog dva razloga: poremećaja funkcije jetre zbog bolesti jetre ili povećane razgradnje hemoglobina zbog hemolitičke bolesti. Urobilinogen se izlučuje mokraćom u povećanim količinama kada je u enterohepatičkoj cirkulaciji žućnih pigmenata, funkciijski kapacitet jetre oštećen ili preopterećen. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

Test određivanja urobilinogena temelji se na Erlichovoj reakciji. Diazonijeva sol i urobilinogenu kiselom mediju stvaraju ružičasto do crveno obojenje, ovisno o koncentraciji urobilinogena. (Sikirica, 2018)

1.2.10 Bilirubin

U patološkim procesima, poput ekstrahepatičke ili intrahepatičke opstrukcije te nekroze jetrenih stanica, znatno je povećana koncentracija konjugiranog bilirubina u plazmi. posljedično tome, bit će povećano i njegovo izlučivanje mokraćom. (Štraus i Čvorišćec, 2009)

Određivanje bilirubina temelji se na stvaranju kompleksa bilirubina i diazonijeve soli u kiselom mediju. Proporcionalno koncentraciji bilirubina, razvija se ružičasto obojenje. (Sikirica, 2018)

1.2.11 Askorbinska kiselina

Testno polje za askorbinsku kiselinu osigurava detekciju moguće interferencije askorbinske kiseline pri određivanju glukoze i hemoglobina te sprječava lažno negativne rezultate. Temelji se na tome da u prisutnosti askorbinske kiseline dolazi do promjene boje iz sive u narančastu. (Compendium of urinalysis, 2011)

1.3 DIJAGNOSTIČKA TOČNOST

Kemijski pregled mokraće test trakama neinvazivan je, brz i jeftin test probira pri isključivanju bolesti ili postavljanju dijagnoze. To je jedan od razloga zašto se liječnici početno odluče na test trake, a ne koristiti se tzv. „zlatnim standardom". Kako bi test koji se koristi bio pouzdan te kako bi se izbjegli lažno pozitivni i lažno negativni rezultati, test mora imati odgovarajuću dijagnostičku točnost, tj. odgovarajuću osjetljivost i specifičnost.

Dijagnostička točnost neke pretrage opisuje koliko dobro neki test razlikuje dva stanja (zdravlje i bolest). Kod idealnog bi dijagnostičkog postupka, granična vrijednost u potpunosti razdvajala zdrave i bolesne. Što znači da bi sve osobe sa vrijednostima ispod granične

vrijednosti bili zdravi, a osobe sa vrijednostima iznad granične vrijednosti bili bolesti. Međutim, takav idealan dijagnostički postupak gotovo ne postoji. Dakle, iako snižene vrijednosti nalazimo kod zdravih osoba, moguće je da i neki bolesni imaju snižene vrijednosti. Takve vrijednosti su zapravo lažno snižene, odnosno lažno negativne. Nasuprot tome, moguće je i da zdravi ispitanici imaju lažno povišene rezultate, odnosno lažno pozitivne. Prema tome, granična vrijednost dijeli ispitivanu populaciju na četiri podskupine ovisno o vrijednosti nekog parametra: stvarno pozitivni, stvarno negativni, lažno pozitivni i lažno negativni. (Šimundić, 2008)

Tablica 1. Tablica 2x2. Stupci prikazuju skupine ispitanika podijeljene prema referentnoj metodi (bolesni i zdravi), dok redovi prikazuju kategorije prema ispitivanoj pretrazi (pozitivni i negativni).

	bolesni	**zdravi**
pozitivni	SP	LP
negativni	LN	SN
	SP+LN	LP+SN

(SP- stvarno pozitivni; LP- lažno pozitivni; LN- lažno negativni; SN- stvarno negativni)

Pri računanju osjetljivosti i specifičnosti dijagnostičkog postupka koristimo 2x2 tablicu. Osjetljivost je sposobnost dijagnostičke pretrage da osobe s određenom bolešću razvrsta kao pozitivne (ovisno o određenoj graničnoj vrijednosti). Osjetljivost opisuje vjerojatnost da će neka osoba s ciljanim poremećajem na ispitivanju biti pozitivna. Specifičnost je sposobnost dijagnostičke pretrage da razvrsta osobe bez oboljenja kao negativne (ispod ili iznad granične vrijednosti). Specifičnost opisuje vjerojatnost da će pojedinac bez ciljanog poremećaja po ispitivanju biti negativan. (Raslich i sur, 2007)

1.4 VANJSKA PROCJENA KONTROLE KVALITETE

Vanjska procjena kvalitete je sustav za provjeru laboratorijskih rezultata mjerenja od strane vanjskih službi, koji uključuje usporedbu laboratorijskih rezultata sa drugim laboratorijima, gdje je glavni cilj utvrditi međulaboratorijsku usporedivost. Program vanjske procjene kvalitete rada medicinsko-biokemijskih laboratorija u Republici Hrvatskoj provodi Centar za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini (CROQALM) HDMBLM (Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu). (www.hdmblm.hr)

U području kvalitativne analize mokraće, vanjska procjena kvalitete rada provodi se od 1997. godine tri puta godišnje. Naizmjenično se provodila jednom kemijska analiza mokraće test-trakom, a sljedeći put mikroskopski pregled sedimenta mokraće. Za procjenu kvalitete kemijske analize mokraće test-trakom koristile su se sintetski dobivene tekuće ili liofilizirane mokraće u dvije razine, normalna i patološka. (Flegar-Meštrić Z, 2004)

Od 2018. godine, u sva tri ciklusa provode se i kemijska analiza mokraće i mikroskopski pregled sedimenta. Za procjenu kvalitete kemijske analize mokraće test-trakom koristi se tekući komercijalni kontrolni uzorak mokraće humanog porijekla. (croqalm.hdmblm.hr)

Budući da različiti proizvođači imaju različite osjetljivosti i koncentracijske raspone, dobiveni polukvantitativni rezultati na rednoj ljestvici se razvrstavaju u koncentracijske raspone. Nakon toga se određuju očekivani i prihvatljivi rezultati kemijske analize mokraće test trakom. Očekivani rezultat je koncentracijski raspon čija je učestalost najčešća, a prihvatljivi rezultati su viši i niži koncentracijski rasponi do najučestalijeg koncentracijskog raspona. (Flegar-Meštrić Z, 2004)

Vanjska procjena kvalitete je osnova za harmonizaciju laboratorijskih nalaza i poboljšanje kvalitete rada medicinsko-biokemijskog laboratorija.

1.5 STANDARDIZACIJA I HARMONIZACIJA

Budući da se većina kliničkih odluka pri postavljanju dijagnoze i liječenju pacijenta temelji na laboratorijskim nalazima, važno je da su izdani laboratorijski nalazi točni i reproducibilni. Važni koraci u osiguravanju točnih i reproducibilnih nalaza su procesi harmonizacije i standardizacije.

Harmonizacija je definirana kao proces kojim se osigurava postizanje ponovljivih rezultata i iste interpretacije nalaza izdanih u različitim laboratorijima iz istog uzorka kako bi se proizvela dosljedna klinička interpretacija nalaza bez obzira na laboratorij u kojem je analiza napravljena. Neharmonizirani rezultati te posljedična interpretacija rezultata dovode do mogućeg postavljanja pogrešne dijagnoze i upitnog ishoda za pacijenta. Da bi se osigurali harmonizirani rezultati, proces harmonizacije, osim analitičke faze, treba obuhvaćati i predanalitičku i postanalitičku fazu. (Plebani, 2013)

Pojam standardizacija se koristi kada je analit koji će se mjeriti jasno definiran i kada je slaganje rezultata ispitivanja postignuto uspostavljanjem sljedivosti prema referentnom

mjernom postupku ili referentnom materijalu čiste tvari koji se može definirati korištenjem međunarodnog sustava mjernih jedinica.

Prema Harmonizaciji laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije (Hrvatska komora medicinskih biokemičara), nalaz za pojedini parametar testne trake se izdaje u arbitrarnim jedinicama kao kategorije "negativno", "1/+", "2/++" ili "3/+++".

Prema tablici harmonizacije za Kvalitativnu analizu mokraće preporučene su metode/postupci te referentni intervali za pojedini parametar testne trake. Međutim, nisu definirani koncentracijski rasponi (intervali) prema kojima bi se trebali rezultati test trake svrstati u kategorije (negativno/1+/2+/3+) te pojedini laboratoriji proizvoljno pridružuju koncentracijske raspone pojedinoj kategoriji.

Tablica 2. Harmonizacija laboratorijskih nalaza za kvalitativnu analizu mokraće. Prikaz preporučenih metoda i/ili postupaka te referentnih intervala za novorođenčad, djecu i odrasle za sve parametre test trake

Pretraga/analit	**Preporučena metoda i/ili postupak I**	**Preporučena metoda i/ili postupak II**	**Jedinice**		**Referentni interval**		
FIZIKALNO- KEMIJSKI PREGLED (test-traka)			Arbitrarne	SI	Dob/ spol (m, ž)	Interval	
Izgled	Vizualni pregled				novorođenčad, djeca, odrasli	bistar	
Boja	Reflektometrija	Vizualno			novorođenčad, djeca, odrasli	svijetlo žuta	
						Arbitrarne jedinice	SI
pH	Reflektometrija	Vizualno		pH jedinice	novorođenčad djeca odrasli		5,0-7,0 4,5-8,0 5,0-9,0
Relativna volumna masa*	Reflektometrija	Vizualno		kg/L	novorođenčad djeca odrasli		1,001-1,021 1,002-1,006 1,002-1,030
Glukoza	Reflektometrija	Vizualno	norm. do 3/+++	mmol/L	novorođenčad, djeca, odrasli	norm	<0.8
Bilirubin	Reflektometrija	Vizualno		μmol/L		0/neg	0

			0/neg. do 3/+++		novorođenčad, djeca, odrasli		
Ketoni	Reflektometrija	Vizualno	0/neg. do 3/+++	mmol/L	novorođenčad, djeca, odrasli	0/neg	<0,5
Eritrociti/hemoglobin	Reflektometrija	Vizualno	0/neg. do 3/+++	Erc x 10^6/L	novorođenčad, djeca, odrasli	0/neg	<10
Proteini	Reflektometrija	Vizualno	0/neg. do 3/+++	g/L	novorođenčad djeca, odrasli	0/neg 0/neg	<0,3 <0,2
Urobilinogen	Reflektometrija	Vizualno	norm. do 3/+++	μmol/L	novorođenčad, djeca, odrasli	norm	<17
Nitriti	Reflektometrija	Vizualno	0/neg. do 2/++	μmol/L	novorođenčad, djeca, odrasli	0/neg	0
Leukocitna esteraza	Reflektometrija	Vizualno	0/neg. do 3/+++	Lkc x 10^6/L	novorođenčad, djeca odrasli	0/neg 0//neg	<25 <10

*Relativna gustoća, specifična težina

Kako procesi standardizacije i harmonizacije doprinose poboljšanju ukupne kontrole kvalitete laboratorija i značajno povećavaju razinu zdravstvene zaštite pacijenta, važno je konstantno poticati ove procese kroz aktivno uključivanje proizvođača, provoditelja ukupne kontrole kvalitete te laboratorijskih stručnjaka.

2 OBRAZLOŽENJE TEME

U laboratorijima diljem RH koriste se različite vrste test traka za kvalitativnu analizu mokraće od različitih proizvođača. Svaka test traka ima različiti broj testnih polja za svaki parametar, različite raspone koncentracija, a time i različite granice osjetljivosti definirane od strane proizvođača. Također, budući da prema Harmonizaciji laboratorijskih nalaza nisu definirani koncentracijski rasponi pojedinih kategorija test traka, laboratoriji samostalno određuju koje testno polje, odnosno raspon koncentracije, pridružuju pojedinoj kategoriji koju izdaju na nalazu. Zbog svega navedenog, smatramo da postoji mogućnost da bi isti uzorak mokraće analiziran u različitim laboratorijima različitim test trakama diljem Hrvatske mogao rezultirati izdavanjem različitih nalaza.

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati stvarno stanje kvalitativne analize mokraće u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj, postoji li mogućnost izdavanja različitih nalaza iz istog uzorka mokraće u različitim laboratorijima te ukoliko postoji, predložiti kako riješiti taj problem.

Specifični ciljevi ovog istraživanja su bili ispitati 1) koje se sve test trake za analizu mokraće koriste u Republici Hrvatskoj, 2) na koji način se analiziraju test trake za mokraću (vizualno ili na automatskom analizatoru), 3) na koji način su laboratoriji u Republici Hrvatskoj dodijelili kategorije nalaza prema harmonizaciji (0/neg do 3+) pojedinim poljima na test trakama za mokraću, 4) međusobnu usporedivost 12 najčešće korištenih vrsta test traka u laboratorijima u Republici Hrvatskoj na stvarnim uzorcima mokraće 5) točnost test traka za glukozu i proteine za 12 test traka koje se koriste u RH usporedbom s biokemijskim analizatorom, 6) usporediti izdavanje nalaza kemijske analize mokraće test trakama među proizvođačima: koje kategorije su proizvođači preporučili (prema deklaraciji o proizvodu) za pojedini koncentracijski raspon za 12 različitih vrsta test traka za sve parametre test trake

3 MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Kliničke bolnice “Sveti Duh”, Zagreb tijekom ožujka, travnja i svibnja 2017.

3.1 ISPITANICI

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 75 nasumičnih patoloških uzoraka mokraće pristiglih iz laboratorija za ambulantne pacijente i različitih bolničkih odijela u Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KB "Sveti duh". Vrste uzoraka koje su analizirane su prva jutarnja mokraća te 24-satna mokraća. Uzorci mokraće skupljani su u čiste čašice za prikupljanje mokraće. Uzorci su najprije analizirani na kemijskom analizatoru mokraće iChemVelocity (IRIS Diagnostics, Chatsworth, USA) te su prema tome odabrani prikladni uzorci. Cilj je bio obuhvatiti što različitije vrijednosti svih parametara test traka te su odabrani uzorci mokraće koji su imali jedan ili više parametara test trake pozitivne (1+/2+/3+). Uzorci mokraće koji su na kemijskom analizatoru mokraće iChemVelocity imali sve parametre test trake negativne, isključeni su iz daljnje analize. Nakon što je pojedini uzorak mokraće testiran test trakom, ostatak uzorka alikvotiran je u 3 epruvete za analizu na biokemijskim analizatorima. Do analize uzorci su bili pohranjeni u hladnjaku na 4°C. Prilikom transporta do KBC Zagreb i Klinike za dječje bolesti, Zagreb uzorci su bili pohranjeni u tamnim spremnicima na ledu.

3.2 ANALIZA MOKRAĆE

Svaki uzorak mokraće, njih 75, testiran je sa 12 različitih vrsta test traka. (Tablica 3.) U analizi i očitavanju test traka sudjelovala su 3 promatrača kako bi se izbjegla moguća pogreška zbog subjektivnog očitavanja test trake jednog promatrača.

Tablica 3. 12 test traka korištenih u kemijskoj analizi mokraće

Test traka	Proizvođač
1. Combur 10 Test M	Roche
2. ChoiceLine 10	Roche
3. Combur 10 Test UX	Roche
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon
7. Combiscreen 10SL	Analyticon
8. Combina 13	Human
9. COMBINA 11 S	Human
10.COMBINA 10M	Human
11.Urignost	BioGnost Ltd.
12.Multistix 10SG	Siemens

U epruvetu sa mokraćom stavljena je test traka u blago vodoravnom položaju te odmah uklonjen višak mokraće tako da je test traka povučena o rub epruvete sa uzorkom. Test traka je ostavljena na papirnatom ubrusu u vodoravnom položaju te očitana nakon određenog vremena ovisno o vrsti test trake. Nakon određenog vremena, svako testno polje za pojedini parametar uspoređeno je sa priloženom skalom boja na bočici. Promatrači su zapisivali rezultate u svoje tablice koje su kasnije na temelju dogovora spojene u jednu tablicu srednjih vrijednosti. Vrijednosti koje su se kod promatrača razlikovale u dva ili više testna polja, izbačene su iz daljnje obrade.

3.3 USPOREDBA KONCENTRACIJSKIH RASPONA I PRIDRUŽENIH KATEGORIJA DEFINIRANIH PREMA PROIZVOĐAČIMA

U medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj koriste se različite vrste test traka za kvalitativnu analizu mokraće od različitih proizvođača. Svaki proizvođač definira svoje koncentracijske raspone te pridruženu kategoriju za pojedini parametar test trake. Prema deklaraciji o proizvodu koje proizvođači prilažu uz svaku kutiju test traka, napravljene su tablice usporedbe izdavanja kategorije preporučene prema proizvođaču za sve parametre test trake. Uspoređeni su koncentracijski rasponi za svako testno polje te pridružene kategorije za sve parametre test trake koje su preporučene prema proizvođaču. Svako testno polje (koncentraciju) pridruženo je kategoriji koju je proizvođač predložio. Test trake kod kojih je proizvođač definirao samo kategorije, a ne i koncentracije pojedinih testnih polja, isključene su

iz usporedbe. Cilj usporedbe bio je ispitati postoji li i u kojoj mjeri razlika između koncentracijskih raspona i pridruženih kategorija preporučenih od strane različitih proizvođača test traka.

3.4 PROVEDBA ANKETE O KVALITATIVNOJ ANALIZI MOKRAĆE U RH

U suradnji sa Hrvatskim centrom za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini, pripremljeni su upitnik i obrasci o test trakama za kvalitativnu analizu mokraće koji su poslani svim medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj. Upitnik o test trakama sadržavao je osnovne informacije o medicinsko-biokemijskom laboratoriju te informacije o test trakama za analizu mokraće i automatskom analizatoru koji laboratorij koristi. U drugom dijelu ankete, voditelji laboratorija u tablicu su upisivali vrijednosti (koncentracije ili arbitrarne jedinice) za sve parametre svojih test traka (bilirubin, urbilinogen, ketoni, glukoza, proteini, krv, pH, nitriti, leukociti, specifična težina te askorbinska kiselina) u rubriku kategorije, dok su u rubriku rangiranje upisivali arbitrarne jedinice prema tome kako su oni podijelili pojedina polja prema harmonizaciji (0/neg do 3+). Laboratoriji koji koriste više od jedne vrste test traka, ispunili su onoliko obrazaca koliko vrsta test traka koriste. Nakon što su zaprimljeni ispunjeni upitnici i obrasci, statistički su obrađeni. Ankete koje su bile neispravno ispunjene, isključene su iz daljnje obrade.

3.5 USPOREDIVOST TEST TRAKA

Usporedivost rezultata 12 test traka za mokraću za svih 10 parametara test trake ispitivana je na 75 uzoraka mokraće. Svaki uzorak mokraće testiran je sa svakom vrstom test traka te rezultati upisivani u tablice. Rezultati su statistički obrađeni kappa testom kako bi se ispitalo slaganje pojedine test trake sa referentnom trakom. Prema podacima Hrvatskog centra za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini (CROQALM), najčešće korištena test traka za kvalitativnu analizu mokraće u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj je Combur 10 Test M, Roche te je stoga odabrana kao referentna traka.

Budući da različite vrste test traka za analizu mokraće imaju različiti broj testnih polja i različitu osjetljivost, rezultate koncentracija očitane za pojedine test trake pridružene su kategorijama (0/1+/2+/3+) kako bi rezultati bili uspoređeni. Kategorije su definirane prema dogovoru pazeći pri tome da svaka kategorija (0/1+/2+/3+) ima najmanje deset rezultata kako bi kasnije podaci mogli biti statistički obrađeni kappa testom. Kategorije za koje nije prikupljeno 10 uzoraka, pridružene su susjednoj kategoriji.

Slaganje između rezultata 11 test traka sa rezultatima referentne test trake (Combur 10 Test M), određeno je pomoću kappa (κ) koeficijenta za svih 10 parametara test traka. Kao prihvatljivu vrijednost kappa koeficijenta odabrane su vrijednosti veće od 0,8.

Testno polje za nitrite određuje samo prisutnost nitrita, stoga su nitriti podijeljeni u samo dvije kategorije (negativna/ pozitivna).

Budući da nije prikupljen dovoljan broj pozitivnih uzoraka mokraće na bilirubin i urobilinogen svake kategorije (1+/2+/3+), uzorci su podijeljeni u dvije kategorije kao negativne (0) ili pozitivne (1).

Vrijednosti pH podijeljene su u tri kategorije: pH 5, pH 6 i pH≥7. Vrijednosti pH 7, 8 i 9 stavljene su u istu kategoriju jer nije prikupljen dovoljan broj uzoraka sa vrijednostima pH 8 i 9.

Budući da je vrlo mali broj uzoraka mokraće imao vrijednosti specifične težine 1,000 kg/L i 1,005 kg/L, te vrijednosti pridružene su vrijednosti 1,010 kg/L koja je definirana kao kategoriju ≤1,010kg/L.

Tablica 4. Kategorije (0/1+/2+/3+) pridružene pojedinoj koncentraciji testnog polja za proteine (g/L), glukozu (mmol/L), leukocite (Leu/µL), ketone (mmol/L) i eritrocite (Erc/µmol)

Parametar	0	1+	2+	3+	Mjerna jed.
Proteini	N	0,3	1	5	g/L
Glukoza	N	5,6	17	56	mmol/L
Leukociti	N	25	70	500	Leu/µL
Ketoni	N	1,5	5	10	mmol/L
Eritrociti	N	25	50	200	Erc/µmol

3.6 TOČNOST TEST TRAKA

Točnost test traka ispitivana je za koncentracije glukoze i proteina u mokraći. Koncentracija proteina i glukoze u 75 uzoraka mokraće izmjerena je na tri različita biokemijska analizatora: AU400, Beckman Coulter, SAD (Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KB "Sveti duh") , Architect plus c4100, Abbott, USA (Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku "Dječja bolnica Zagreb") i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, Switzerland (KBC Zagreb). Koncentracija glukoze i proteina određena je na tri biokemijska analizatora, a ne samo na biokemijskom analizatoru na Zavodu na kojem je istraživanje provedeno, kako bi se osigurali pouzdani rezultati.

Prema referentnoj test traci definirani su koncentracijski rasponi za pojedine kategorije koji su uspoređivani sa koncentracijama dobivenim na biokemijskim analizatorima.

Tablica 5. Kategorije (0/1+/2+/3+) pridružene pojedinoj koncentraciji testnog polja za proteine (g/L) i glukozu (mmol/L)

Parametar	0	1+	2+	3+	Mjerna jedinica
Proteini	N	0,3	1	5	g/L
Glukoza	N	5,6	17	56	mmol/L

Nakon toga, za svaku test traku izračunate su osjetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrijednost.

Osjetljivost je definirana kao broj stvarno pozitivnih (SP) podijeljen s ukupnim brojem bolesnika (stvarno pozitivni i lažno negativni).

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

Specifičnost je definirana kao broj stvarno negativnih (SN) podijeljen s ukupnim brojem zdravih ispitanika (lažno pozitivni i stvarno negativni).

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

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) predstavlja broj stvarno pozitivnih podijeljen sa ukupnim brojem pozitivnih testova (stvarno pozitivni i lažno pozitivni)

$$PPV = \frac{SP}{SP+LP}$$

Negativna prediktivna vrijednost (NPV) predstavlja broj stvarno negativnih ispitanika podijeljen sa ukupnim brojem negativnih testova (stvarno negativni i lažno negativni).

$$NPV = \frac{SN}{SN+LN}$$

3.7 REPRODUCIBILNOST TEST TRAKA

Svaka vrsta test trake analizirana je 20 puta u istom uzorku mokraće kako bi se ispitala reproducibilnost, odnosno da li su rezultati dobiveni test trakom ponovljivi. Prihvatljiv kriterij odstupanja bio je 90% odnosno 18/20.

3.8 OBRADA REZULTATA

Pri statističkoj obradi rezultata korišten je MedCalc statistički softver (verzija 10.0.2.0., Ostend, Belgija).

Za usporedbu biokemijskih analizatora korištena je Passing-Bablok regresija koja je prikazana točkastim dijagramom izmjerenih vrijednosti, pravcem regresije s pripadajućim intervalima pouzdanosti te idealnim pravcem (y=x). Podaci dobiveni Passing-Bablok regresijom govore nam o postojanju odsječka i nagiba pravca regresije s 95%-tnim intervalom pouzdanosti, odnosno omogućuju identifikaciju konstantne i/ili proporcionalne pogreške između metoda. (Giavarina, 2015)

Za usporedbu rezultata mjerenja biokemijskih analizatora korištena je i Bland-Altman analiza. Rezultat analize prikazan je grafom koji prikazuje odnos razlike između dva mjerenja (analizatora) i srednje vrijednosti dva mjerenja (analizatora). Srednja razlika (mean) između dva mjerenja prikazuje se na Bland-Altmanovom grafu uz odgovarajuće intervale pouzdanosti. Na temelju dobivenih rezultata doneseni su zaključci o postojanju konstantne i/ili proporcionalne razlike u izmjerenim vrijednostima između biokemijskim analizatorima. (Giavarina, 2015)

Ako više metoda ili više osoba procjenjuje iste podatke, želimo utvrditi stupanj slaganja između podataka, odnosno jesu li takvi podaci međusobno usporedivi. Najčešće korišteni test za ispitivanje povezanosti između skupina kvalitativnih podataka je kappa koeficijent. Vrijednosti kappa koeficijenta protežu se u rasponu od -1 do +1. Veći kappa koeficijent pokazuje bolje slaganje između dvije skupine. Vrijednost +1 upućuje na savršeno slaganje rezultata kada obje metode (obje osobe) za svako mjerenje daju isti rezultat. Kappa koeficijent manji od 0,6 upućuje na nezadovoljavajuće slaganje među ispitivačima ili metodama. (McHugh, 2012)

Vrijednost kappa koeficijenta	Stupanj slaganja	Postotak podudarnih rezultata
0 - 0,20	Nema slaganja	0 - 4 %
0,21 - 0,40	Minimalno	4 - 15 %
0,41 - 0,59	Slabo	15 - 35 %
0,60 - 0,79	Umjereno	35 - 63 %
0,80 - 0,90	Snažno	64 - 81 %
0,90 - 1,00	Izvrsno	82 - 100 %

Slika 1. Interpretacija vrijednosti kappa koeficijenta

(Prema: McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. Biochem Med (Zagreb) 2012;22(3);276-82.)

4 REZULTATI

4.1 USPOREDBA KONCENTRACIJSKIH RASPONA I PRIDRUŽENIH KATEGORIJA DEFINIRANIH PREMA PROIZVOĐAČIMA

Prema deklaraciji o proizvodu koju proizvođači prilažu uz svako pakovanje test traka, napravljene su tablice izdavanja nalaza za svaki parametar ako se slijede upute proizvođača, svakom testnom polju (koncentraciji) pridružena je kategorija predložena od strane proizvođača.

Tablica 4. Predložene kategorije (0/1+/2+/3+/4+) pojedinog proizvođača test trake za pojedinu koncentraciju testnog polja za proteine (g/L)

Test traka	Proizvođač	neg	trace	0,15	0,3	1	3	5	10	20
1. Combur 10 Test M	Roche	0			1	2		3		
2. ChoiceLine 10	Roche	0		1	1	2	2		3	
3. Combur 10 Test UX	Roche	0			1	2		3		
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.	0			1	2	3		3	
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.	0			1	2	3		3	
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon	0	1		1	2		3		
7. Combiscreen 10SL	Analyticon	0	1		1	2		3		
8. Combina 13	Human	0			1	2	2			3
9. COMBINA 11 S	Human	0			1	2		3		
10.COMBINA 10M	Human	0			1	2		3		
11. Urignost	BioGnost Ltd.	0		1	1	2	3			3
12.Multistix 10SG	Siemens	0	0		1	2	3			4

Tablica 5. Predložene kategorije (0/1+/2+/3+/4+) pojedinog proizvođača test trake za pojedinu koncentraciju testnog polja za glukozu (mmol/L)

Test traka	Proizvođač	neg	2,8	5,6	8,3	14	17	28	56	110
1. Combur 10 Test M	Roche	0	1	2			3		4	
2. ChoiceLine 10	Roche	0		1			2		3	
3. Combur 10 Test UX	Roche	0	1	2			3		4	
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.	0	1	2			3		4	
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.	0	1	2			3		4	
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon	0	1	2		2		3	3	
7. Combiscreen 10SL	Analyticon	0	1	2		2		3	3	
8. Combina 13	Human	0	1	1		2		2	3	
9. COMBINA 11 S	Human	0	1		2			2	3	
10.COMBINA 10M	Human	0	1	2			2		3	
11. Urignost	BioGnost Ltd.	0		1		1		2	3	4
12.Multistix 10SG	Siemens	0		trace		1		2	3	4

Tablica 5. Predložene kategorije (0/1+/2+/3+) pojedinog proizvođača test trake za pojedinu koncentraciju testnog polja za leukocite (Leu/µmol)

Test traka	Proizvođač	neg	10-25	70	75	125	500
1. Combur 10 Test M	Roche	0	1		2		3
2. ChoiceLine 10	Roche	0	1		2	3	3
3. Combur 10 Test UX	Roche	0	1		2		3
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.	0	1		2		3
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.	0	1		2		3
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon	0	1		2		3
7. Combiscreen 10SL	Analyticon	0	1		2		3
8. Combina 13	Human	0	1		2	2	3
9. COMBINA 11 S	Human	0	1		2		3
10.COMBINA 10M	Human	0	1		2		3
11. Urignost	BioGnost Ltd.	0	1		1	2	3
12.Multistix 10SG	Siemens	0	trace	1		2	3

Tablica 6. Predložene kategorije (0/1+/2+/3+/4+) pojedinog proizvođača test trake za pojedinu koncentraciju tesnog polja za krv (Erc/µmol)

Test traka	Proizvođač	neg	5-10	25	50	80	200	250	300
1. Combur 10 Test M	Roche	0	1	2	3			4	
2. ChoiceLine 10	Roche	0	1	2	2			3	
3. Combur 10 Test UX	Roche	0	1	2	3			4	
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.	0	1		2			3	
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.	0	1		2			3	
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon	0	1		2				3
7. Combiscreen 10SL	Analyticon	0	1		2				3
8. Combina 13	Human	0	1	1		2	3		
9. COMBINA 11 S	Human	0	1		2				3
10.COMBINA 10M	Human	0	1		2			3	
11. Urignost	BioGnost Ltd.	0							
12.Multistix 10SG	Siemens	0	trace	1		2	3		

Tablica 7. Predložene kategorije (0/1+/2+/3+/4+) pojedinog proizvođača test trake za pojedinu koncentraciju tesnog polja za ketone (mmol/L)

Test traka	Proizvođač	neg	0,5	1	1,5	4	5	8	10	15
1. Combur 10 Test M	Roche	0								
2. ChoiceLine 10	Roche	0	1		2		3			3
3. Combur 10 Test UX	Roche	0		1			2			3
4. ComboStik 10M	DFI Co., Ltd.	0			1	2			3	
5. ComboStik 11M	DFI Co., Ltd.	0			1	2			3	
6. Combiscreen 11SYS	Analyticon	0								
7. Combiscreen 10SL	Analyticon	0								
8. Combina 13	Human	0	1		2	2		3		3
9. COMBINA 11 S	Human	0								
10.COMBINA 10M	Human	0			1		2			3
11. Urignost	BioGnost Ltd.	0	1		1	2		3		3
12.Multistix 10SG	Siemens	0	trace		1	2		3		4

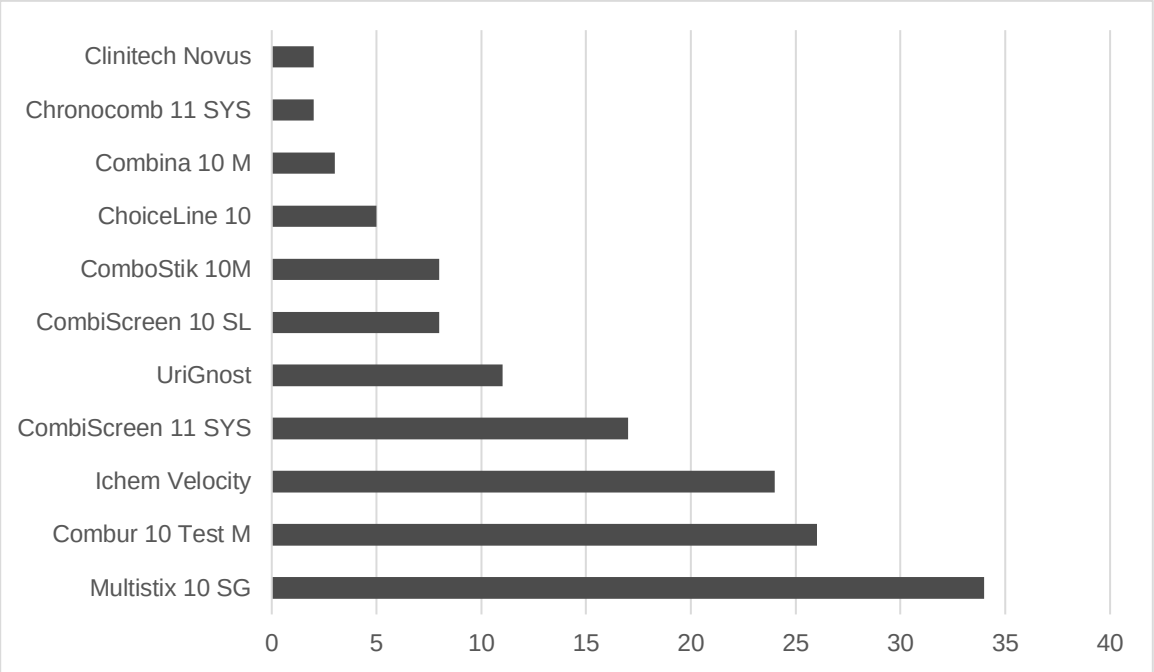
Sivo zatamnjene test trake izražavaju rezultat samo kao kategorije, stoga su isključene iz usporedbe

4.2. KVALITATIVNA ANALIZA MOKRAĆE U RH

Rezultati anketa

Od 195 medicinsko-biokemijska laboratorija u Republici Hrvatskoj kojima su poslani upitnici, zaprimljen je odgovor od 129 (66%) medicinsko-biokemijska laboratorija. Pristigle ankete statistički su obrađene.

U 129 laboratorija koristi se 20 različitih vrsta test traka. Neki od laboratorija, uz glavne test trake, koriste još i drugu vrstu test traka kao zamjenske. Slika 2. prikazuje najčešće korištene test traka za kvalitativnu analizu mokraće u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj. Od ostalih test traka, Chronocomb 11 SYS, Clinitech Novus, Cobas U, Combina 13, Combur 10 Test UX, Keto-Diastix, LabStrip U11 Plus, Medi tape, Medi-test Uryxxon 10 te Urin-10 koriste se u samo jednom laboratoriju u Republici Hrvatskoj.



Slika 2. Najčešće korištene test trake u Republici Hrvatskoj. Os x predstavlja broj laboratorija koji koriste pojedinu vrstu test trake

Tablica 8. Prikaz koliko dugo laboratoriji u Republici Hrvatskoj koriste trenutne test trake za kvalitativnu analizu mokraće

Koliko dugo laboratorij koristi trenutne test trake	N (%)
≥5 godina	62 (52%)
3-4 godine	27 (22%)
≤2 godine	31 (26%)

N-broj laboratorija

Od 31 laboratorija koji su test trake za kvalitativnu analizu mokraće promijenili u zadnje dvije godine, svega 9 (29%) laboratorija usporedilo je prijašnje test trake sa novim test trakama.

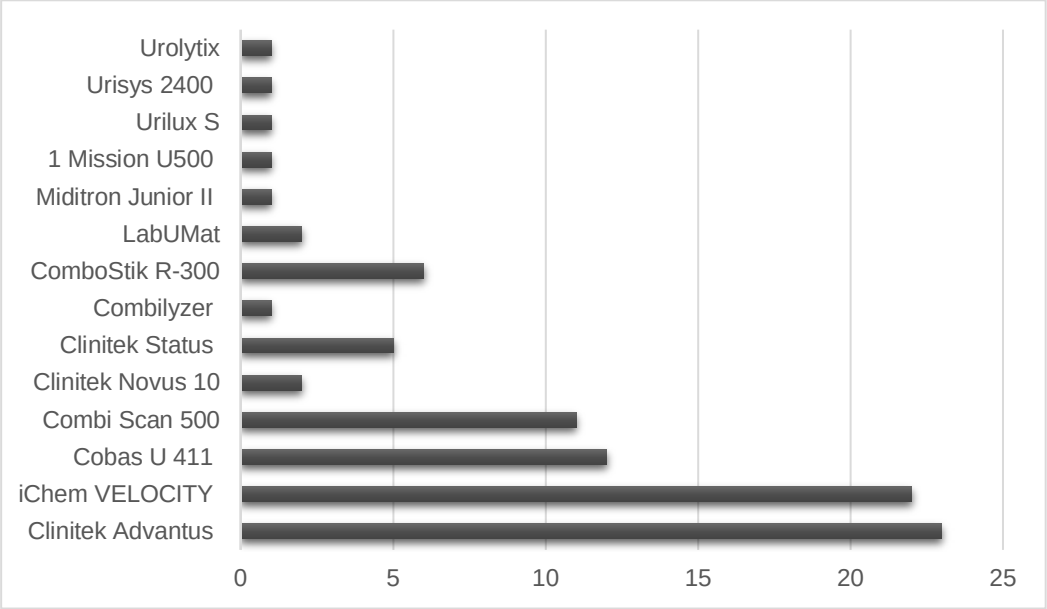
Tablica 9. Prikaz načina na koji laboratoriji u Republici Hrvatskoj očitavaju test trake

Način očitanja test traka	N (%)
Automatskim analizatorom	84 (65%)
Vizualno	36 (28%)
Nije definirano	9 (7%)

N-broj laboratorija

Laboratoriji koji test trake očitavaju vizualno uglavnom imaju manji broj uzoraka u danu, prosječno 40 (minimalno 5, maksimalno 100).

Najčešće korišteni automatski analizatori za očitavanje test trake prikazani su grafički. (Slika 3.) 4 laboratorija nisu definirala koji analizator koriste.



Slika 3. Najčešće korišteni automatski analizatori za očitavanje test traka za analizu mokraće u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj. Os x predstavlja broj laboratorija koji koriste pojedini automatski analizator.

Kategorizacija izdavanja nalaza za kvalitativnu analizu mokraće u Republici Hrvatskoj

Svaka tablica prikazuje raspon koncentracija za pojedini parametar koji su laboratoriji pridružili pojedinoj kategoriji.

Tablica 10. Prikaz raspona koncentracija glukoze (mmol/L) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

	N	1,4	2,8	3,9	5,6	8,3	11	15	17	28	30	56	60	110	111
N	x														
trace	x	x	x	x	x										
1+			x	x	x	x	x	x							
2+				x	x	x	x	x	x	x	x	x			
3+							x	x	x	x	x	x	x	x	x
4+										x	x	x	x	x	x

Tablica 11. Prikaz raspona koncentracija proteina (g/L) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

	N	trace	0,1	0,15	0,25	0,3	0,5	0,75	1	1,5	3	5	6	10	20
N	x	x	x												
trace		x	x	x	x	x									
1+		x	x	x	x	x	x	x	x						
2+						x	x	x	x	x	x				
3+									x	x	x	x	x	x	x
4+												x	x	x	x

Tablica 12. Prikaz raspona koncentracija leukocita (Leu/µmol) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

	neg	10-25	15	25	70	75	125	250	500
N	x								
trace		x	x	x					
1+		x	x	x	x	x			
2+					x	x	x	x	
3+							x	x	x
4+									x

Tablica 13. Prikaz raspona koncentracija krvi (Erc/µmol) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

	N	5-10	10	25	50	80	150	200	250	300
N	x									
trace		x	x							
1+		x	x	x						
2+				x	x	x				
3+					x	x	x	x	x	x
4+							x	x	x	x

Tablica 14. Prikaz raspona koncentracija krvi (mg/dL) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu. Analizator iChem Velocity, Iris Diagnostics izražava krv kao hemoglobin pa je za njega napravljena posebna tablica.

	N	0,3	1	5	10
N	x	x			
trace		x			
1+		x	x		
2+			x	x	
3+				x	x
4+					x

Tablica 15. Prikaz raspona koncentracija urobilinogena (µmol/L) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

	N	17	34	51	66	70	100	131	140	200
N	x	x	x							
trace		x	x							
1+		x	x	x	x	x				
2+			x	x	x	x	x	x	x	
3+				x	x	x	x	x	x	x
4+							x	x	x	x

Tablica 16. Prikaz raspona koncentracija ketona (mmol/L) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu za pojedinu kategoriju

	N	0,5	1	1,5	2	2,5	4	6	8	10	15	30
N	x											
trace	x	x	x									
1+		x	x	x	x	x						
2+				x	x	x	x	x	x	x		
3+							x	x	x	x	x	x
4+								x	x	x	x	x

Tablica 17. Prikaz raspona koncentracija bilirubina (µmol/L) i pridruženih kategorija koju laboratoriji u Republici Hrvatskoj izdaju na nalazu

Trakica	N	8,5	17	35	50	70	100	103
N	x	x	x					
trace		x	x					
1+		x	x	x	x	x	x	
2+			x	x	x	x	x	
3+				x	x	x	x	x
4+					x	x	x	x

4.3. USPOREDIVOST I TOČNOST TEST TRAKA

4.3.1. Reproducibilnost

Kao što je opisano u prethodnom poglavlju, ispitana je reproducibilnost svih 12 test traka te su u nastavku prikazani sumarni rezultati. Prihvatljiv kriterij odstupanja bio je 18/20.

Tablica 18. Reproducibilnost 12 test traka za svih 10 parametara

Test traka	Proizvođač	SG	pH	Leu	Nit	Pro	Glu	Ket	Bil	Ubg	Erc
1. Combur 10 Test M	**Roche**	20/20	19/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
2. ChoiceLine 10	**Roche**	19/20	17/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	20/20	20/20	19/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	20/20	20/20	19/20	20/20	20/20	18/20	20/20	20/20	20/20	20/20
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	16/20	20/20	20/20	20/20	19/20	18/20	15/20	20/20	20/20	20/20
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	20/20	16/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
8. Combina 13	**Human**	19/20	11/20	20/20	20/20	19/20	20/20	20/20	19/20	20/20	18/20
9. COMBINA 11 S	**Human**	17/20	20/20	19/20	20/20	19/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
10.COMBINA 10M	**Human**	20/20	20/20	18/20	20/20	19/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20
11.UriGnost	**BioGnost Ltd.**	19/20	20/20	15/20	20/20	20/20	20/20	20/20	18/20	20/20	20/20
12.Multistix 10SG	**Siemens**	20/20	17/20	20/20	20/20	20/20	20/20	20/20	13/20	20/20	20/20

SG-specifična težina, Leu-leukociti, Nit-nitriti, Pro-proteini, Glu-glukoza, Ket-ketoni, Bil-bilirubin, Ubg-urobilinogen, Erc-eritrociti

Crveno označena polja ne zadovoljavaju reproducibilnost za pojedini parametar

4.3.1. Usporedivost

Kao što je opisano u prethodnom poglavlju "Materijali i metode", ispitana je usporedivost 12 test traka za kvalitativnu analizu mokraće. Slaganje pojedine test trake sa referentnom test trakom ispitano je kappa testom te je interpretirana vrijednost kappa koeficijenta. Vrijednosti kappa koeficijenta veće od 0,8 opisuju snažno slaganje između rezultata test traka sa referentnom test trakom, dok vrijednosti kappa koeficijenta veće od 0,9 opisuju izvrsno slaganje rezultata sa referentnom test trakom. Vrijednosti kappa koeficijenta manje od 0,6 opisuju nezadovoljavajuće slaganje rezultata.

Tablica 19. Kappa koeficijent i 95% intervali pouzdanosti (95% CI) slaganja rezultata referentne test trake Combur 10 Test M sa ostalim trakama za proteine, leukocite, glukozu, nitrite i krv.

		Proteini		Leukociti		Glukoza		Nitriti		Krv	
Test traka	**Proizvođač**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**
1. Combur 10 Test M	**Roche**	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
2. ChoiceLine 10	**Roche**	0,886	0,821 - 0,951	0,846	0,760 - 0,933	0,9	0,838 - 0,961	0,966	0,901 - 1.000	0,812	0,729 - 0,895
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	0,93	0,876 - 0,983	0,88	0,805 - 0,954	0,989	0,966 - 1,000	0,966	0,901 - 1.000	0,965	0,927 - 1,000
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	0,872	0,801 - 0,943	0,716	0,612 - 0,821	0,884	0,817 - 0,950	0,966	0,901 - 1.000	0,802	0,718 - 0,886
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	0,872	0,800 - 0,944	0,736	0,637 - 0,836	0,858	0,787 - 0,928	0,966	0,901 - 1.000	0,759	0,671 - 0,847
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	0,874	0,805 - 0,943	0,655	0,551 - 0,759	0,906	0,846 - 0,967	1	1,000 - 1,000	0,852	0,775 - 0,930
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	0,874	0,803 - 0,944	0,646	0,541 - 0,750	0,942	0,892 - 0,992	1	1,000 - 1,000	0,843	0,764 - 0,922
8. Combina 13	**Human**	0,791	0,703 - 0,880	0,638	0,522 - 0,755	0,796	0,708 - 0,885	0,966	0,901 - 1.000	0,62	0,505 - 0,735
9. COMBINA 11 S	**Human**	0,809	0,721 - 0,896	0,634	0,527 - 0,741	0,908	0,848 - 0,968	0,966	0,901 - 1.000	0,804	0,723 - 0,886
10.COMBINA 10M	**Human**	0,87	0,798 - 0,942	0,681	0,570 - 0,793	0,91	0,851 - 0,969	1	1,000- 1.000	0,864	0,792 - 0,936
11. Urignost	**BioGnost Ltd.**	0,869	0,798 - 0,940	0,667	0,556 - 0,778	0,789	0,699 - 0,880	0,966	0,901 - 1.000	/	/
12.Multistix 10SG	**Siemens**	0,873	0,802 - 0,944	0,575	0,461 - 0,688	0,804	0,713 - 0,894	0,966	0,901 - 1.000	0,776	0,674 - 0,877

Test traka Urignost krv izražava samo arbitrarnim jedinicama, isključena je iz ove usporedbe za krv

Zeleno označena polja označavaju snažno ili izvrsno slaganje rezultata

Tablica 20. Kappa koeficijent i 95% intervali pouzdanosti (95% CI) slaganja rezultata referentne test trake Combur 10 Test M sa ostalim trakama za pH, bilirubin, urobilinogen, specifičnu težinu i ketone.

		pH		Bilirubin		Urobilinogen		Specifična težina		Ketoni	
Test traka	**Proizvođač**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**	**kappa**	**95% CI**
1. Combur 10 Test M	**Roche**	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
2. ChoiceLine 10	**Roche**	0,738	0,624 - 0,852	/	/	0,885	0,728 - 1,000	0,892	0,828 - 0,956	0,412	0,248 - 0,577
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	0,952	0,900 - 1,000	/	/	0,893	0,748 - 1,000	0,895	0,830 - 0,960	0,616	0,452 - 0,780
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	0,399	0,288 - 0,509	/	/	0,486	0,272 - 0,701	0,357	0,265 - 0,449	0,818	0,687 - 0,949
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	0,426	0,311 - 0,541	/	/	0,442	0,233 - 0,650	0,366	0,278 - 0,455	0,787	0,655 - 0,919
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	0,785	0,680 - 0,889	0,507	0,244 - 0,769	0,761	0,562 - 0,959	0,667	0,584 - 0,750	0,83	0,686 - 0,974
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	0,749	0,639 - 0,859	0,474	0,209 - 0,738	0,722	0,515 - 0,930	0,661	0,575 - 0,748	0,874	0,764 - 0,984
8. Combina 13	**Human**	0,459	0,328 - 0,590	0,154	0,0611 - 0,247	0,343	0,175 - 0,512	0,409	0,309 - 0,510	0,82	0,682 - 0,957
9. COMBINA 11 S	**Human**	0,785	0,680 - 0,889	0,413	0,149 - 0,677	0,802	0,615 - 0,988	0,608	0,520 - 0,697	0,808	0,661 - 0,956
10.COMBINA 10M	**Human**	0,529	0,395 - 0,662	/	/	0,392	0,211 - 0,573	0,442	0,356 - 0,527	0,809	0,672 - 0,946
11.Urignost	**BioGnost Ltd.**	0,734	0,621 - 0,847	0,311	0,0842 - 0,538	0,834	0,651 - 1,000	0,446	0,356 - 0,536	0,735	0,585 - 0,885
12.Multistix 10SG	**Siemens**	0,484	0,350 - 0,617	/	/	0,885	0,728 - 1,000	0,534	0,439 - 0,628	/	/

Test trake ChoiceLine 10, Combur 10 Test UX, ComboStik 10M, ComboStik 11M, COMBINA 10M i Multistix 10SG bilirubin izražavaju samo kao arbitrarne jedinice, isključene su iz usporedbe za bilirubin.

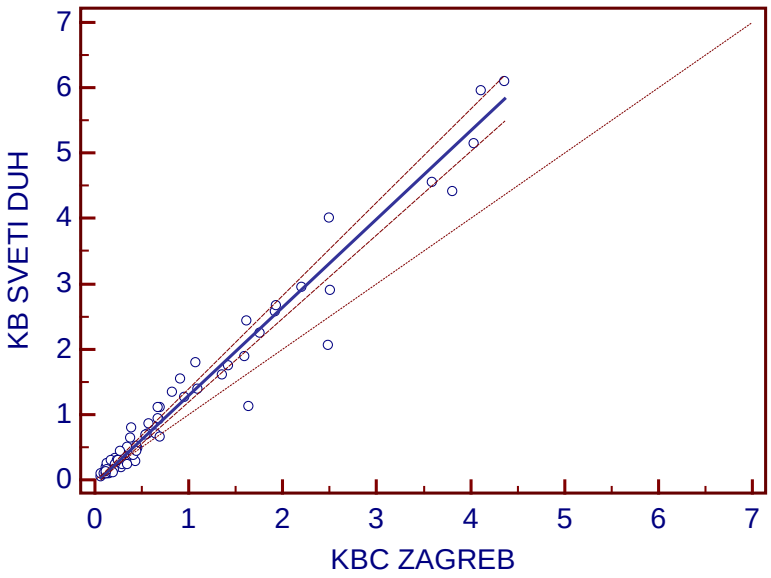
Test traka Combur 10 Test M ketone izražava samo kao arbitrarne jedinice pa je slaganje rezultata test traka ispitano u odnosu na drugu najčešću test traku, Multistix 10SG

Zeleno označena polja označavaju snažno ili izvrsno slaganje rezultata.

4.3.3. Točnost

Kao što je prethodno opisano, točnost (osjetljivost i specifičnost) test traka ispitana je za određivanje proteina i glukoze u usporedbi sa vrijednostima dobivenima na tri biokemijska analizatora.

Točnost test traka za određivanje proteina



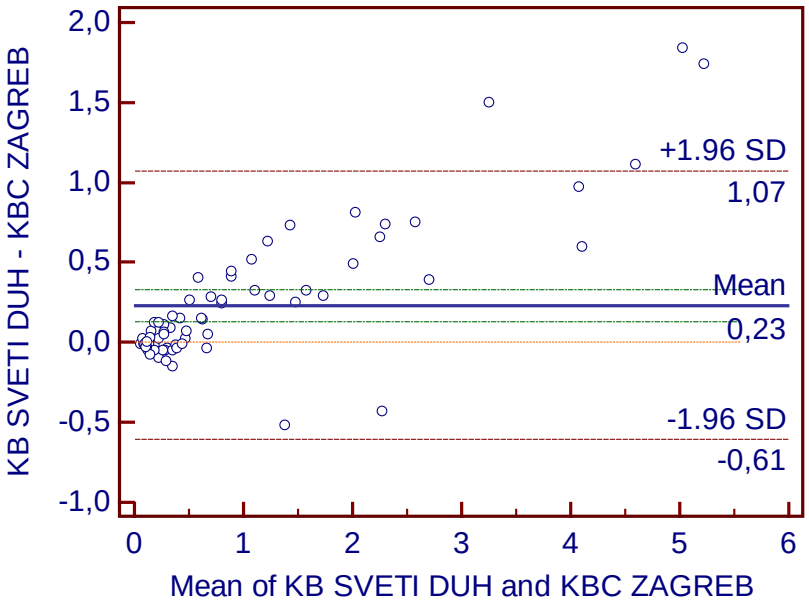
Slika 4. Passing Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb, a na osi y vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh.

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = -0,0504348 (-0,08260 do -0,02799) + 1,347826 (1,2784 do 1,4254) x

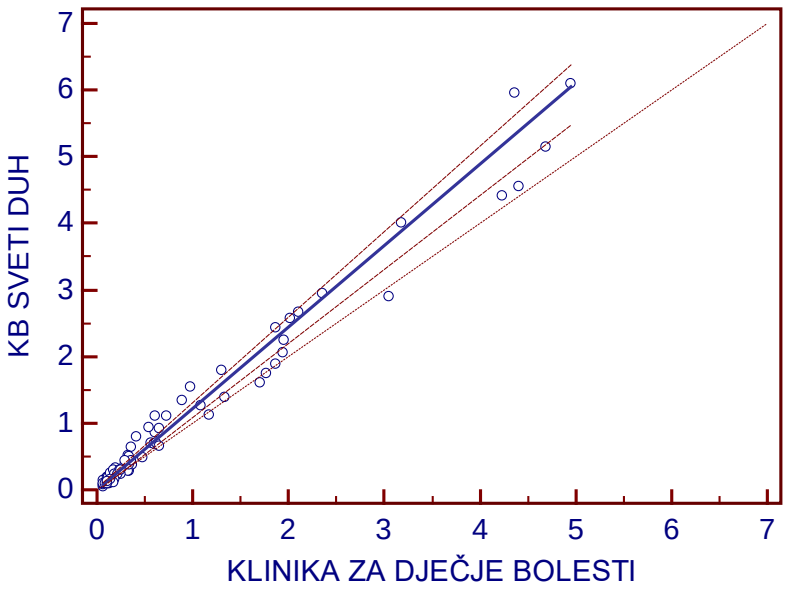
Odsječak na osi x iznosi -0,0504348 (-0,08260 do -0,02799) g/L. Kako odsječak ne obuhvaća nulu, već su obje granice intervala manje od nule, može se zaključiti da postoji statistički značajno konstantno odstupanje između metoda. Koeficijent smjera iznosi: 1,347826 (1,2784 do 1,4254) g/L. Kako interval pouzdanosti ne obuhvaća 1, već su obje granice intervala veće od 1, zaključuj se da postoji proporcionalno odstupanje između metoda.

Prisutna je statistički značajna konstantna i proporcionalna razlika u vrijednostima proteina izmjerenih na analizatorima Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb i AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh.



Slika 5. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja proteina (g/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja proteina (g/L) na analizatorima AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između ovih dviju analizatora pozitivna, tj. da je u većini slučajeva vrijednost proteina dobivena analizatorom AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh veća od vrijednosti proteina dobivene analizatorom Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb. Srednja razlika (mean) je također veća od nula. Budući da interval pouzdanosti ne obuhvaća nulu, postoji statistički značajna razlika u izmjerenim vrijednostima proteina na analizatorima AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh u odnosu na Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb.



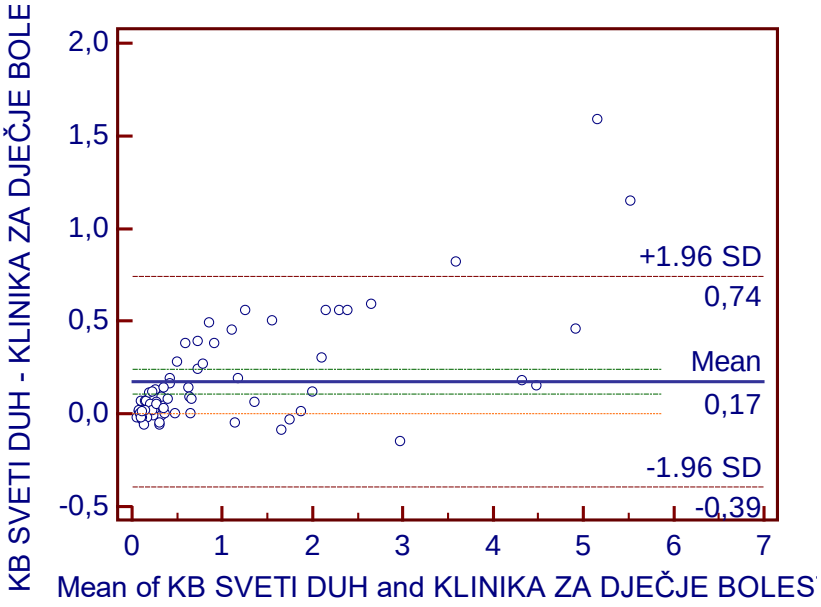
Slika 6. Passing Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti, a na osi y vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh.

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = -0,00842287 (-0,03127 to 0,02219) + 1,222681 (1,1125 to 1,2843) x

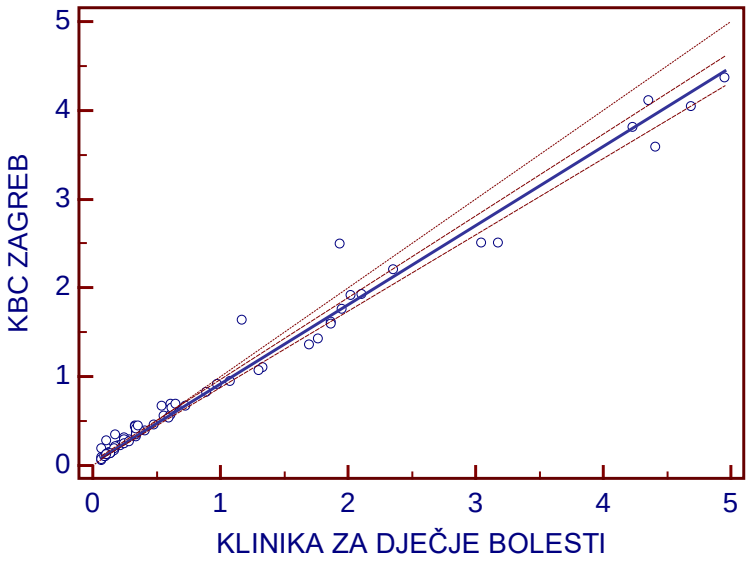
Odsječak na osi x iznosi -0,00842287 (-0,03127 to 0,02219). Budući da odsječak obuhvaća nulu, ne postoji statistički značajno konstantno odstupanje između metoda. Koeficijent smjera iznosi: 1,222681 (1,1125 to 1,2843). Kako interval pouzdanosti ne obuhvaća 1, zaključujemo da postoji proporcionalno odstupanje između metoda.

Nema značajne konstantne razlike, ali prisutna je proporcionalna razlika u vrijednostima proteina izmjerenih na analizatorima Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti i AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh.



Slika 7. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja proteina (g/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja proteina (g/L) na analizatorima AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između ovih dviju analizatora pozitivna, tj. da je u većini slučajeva vrijednost proteina dobivena analizatorom AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh veća od vrijednosti proteina dobivene analizatorom Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti. Srednja razlika (mean) je također veća od nula. Budući da interval pouzdanosti ne obuhvaća nulu, postoji statistički značajna razlika u izmjerenim vrijednostima proteina na analizatorima AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh u odnosu na Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti.



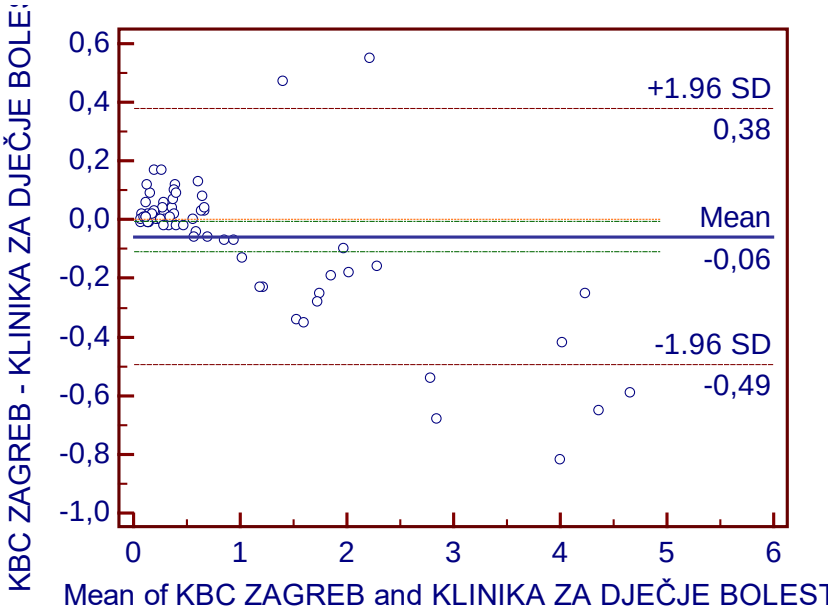
Slika 8. Passing Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti, a na osi y vrijednosti proteina (g/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = 0,0271429 (0,01846 do 0,04442) + 0,892857 (0,8605 do 0,9231)x

Odsječak na osi x iznosi: 0,0271429 (0,01846 do 0,04442). Odsječak na osi x ne obuhvaća nulu, prisutno je konstantno odstupanje između metoda. Koeficijent smjera iznosi: 0,892857 (0,8605 do 0,9231). Interval pouzdanosti za koeficijent smjera ne obuhvaća 1, prisutno je i proporcionalno odstupanje.

Značajna konstantna razlika i proporcionalna razlika u vrijednostima proteina izmjerenih na analizatorima Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb.



Slika 9. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja proteina(g/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja proteina(g/L) na analizatorima Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između dva analizatora pri niskim koncentracijama (do 1 g/L) blizu nuli što znači da su analizatori u niskom mjernom području približno podudarni. U višem mjernom području (>1 g/L), većina razlika između dva analizatora je negativna, odnosno vrijednost dobivena analizatorom Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb je manja od vrijednosti dobivene analizatorom Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti. Interval pouzdanosti ne obuhvaća nulu, stoga postoji statistički značajna razlika u izmjerenim vrijednostima proteina na analizatoru Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb u odnosu na analizator Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti.

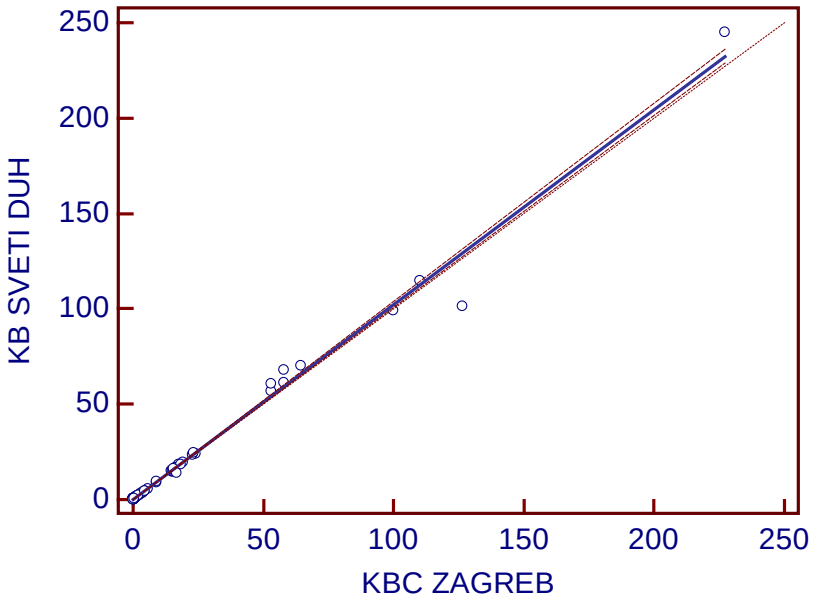
Metode za određivanje proteina razlikuju se između biokemijskih analizatora AU400 Beckman Coulter te Architect plus c4100 i Cobas 6000 c501. Određivanje proteina na biokemijskom analizatoru AU400 Beckman Coulter temelji se na kolorimetrijskoj metodi sa pirogalol crvenilo/ molibdatom. Određivanje proteina na druga dva biokemijska analizatora, Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 501, Roche Diagnostics temelji se na turbidimetrijskoj metodi sa benzetonijevim kloridom.

Tablica 21. Osjetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrijednost test traka za proteine u usporedbi sa biokemijskim analizatorom AU400 Beckman Coulter

Test traka	Proizvođač	OSJETLJIVOST	SPECIFIČNOST	PPV	NPV
1. Combur 10 Test M	**Roche**	69,77%	75,00%	78,95%	64,86%
2. ChoiceLine 10	**Roche**	69,23%	69,44%	71,05%	67,57%
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	66,67%	66,67%	68,42%	64,86%
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	60,00%	71,43%	70,59%	60,98%
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	60,00%	71,43%	70,59%	60,98%
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	61,54%	69,44%	68,57%	62,50%
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	60,00%	71,43%	70,59%	60,98%
8. Combina 13	**Human**	43,59%	72,22%	62,96%	54,17%
9. COMBINA 11 S	**Human**	75,00%	45,71%	61,22%	61,54%
10.COMBINA 10M	**Human**	70,00%	62,86%	68,29%	64,71%
11.Urignost	**BioGnost Ltd.**	70,73%	70,59%	74,36%	66,67%
12.Multistix 10SG	**Siemens**	67,50%	74,29%	75,00%	66,67%

Tablica 22. Osjetljivost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrijednost test traka za proteine u usporedbi sa biokemijskim analizatorima Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics (njihova srednja vrijednost).

Test traka	Proizvođač	OSJETLJIVOST	SPECIFIČNOST	PPV	NPV
1. Combur 10 Test M	**Roche**	87,18%	72,22%	77,27%	83,87%
2. ChoiceLine 10	**Roche**	81,82%	64,29%	64,29%	81,82%
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	85,71%	65,00%	68,18%	83,87%
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	77,78%	69,23%	70,00%	77,14%
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	77,78%	69,23%	70,00%	77,14%
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	75,76%	66,67%	64,10%	77,78%
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	73,53%	68,29%	65,79%	75,68%
8. Combina 13	**Human**	55,88%	70,73%	61,29%	65,91%
9. COMBINA 11 S	**Human**	85,29%	46,34%	56,86%	79,17%
10.COMBINA 10M	**Human**	91,67%	66,67%	71,74%	89,66%
11.Urignost	**BioGnost Ltd.**	86,11%	66,67%	70,45%	83,87%
12.Multistix 10SG	**Siemens**	80,00%	67,50%	68,29%	79,41%



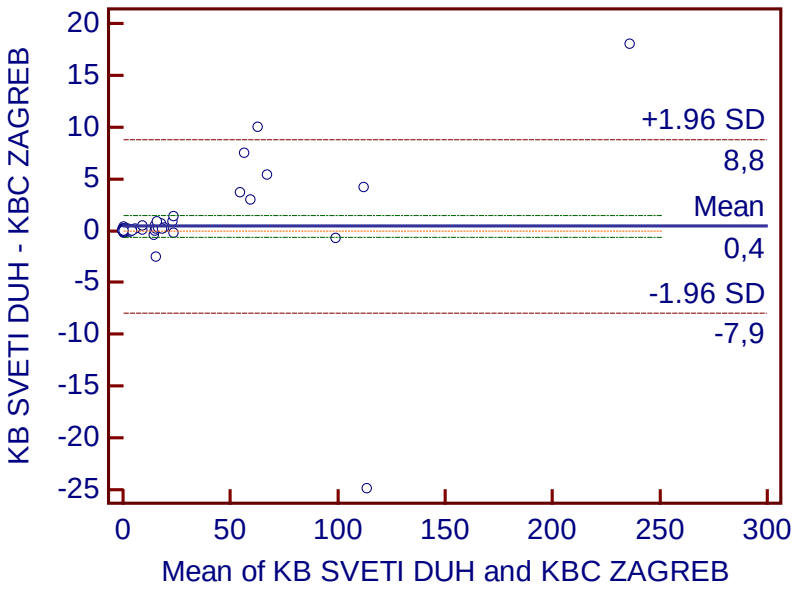
Slika 10. Passing Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb, a na osi y vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = -0,0127932 (-0,07662 do 0,008564) + 1,023023 (1,0076 do 1,0389) x

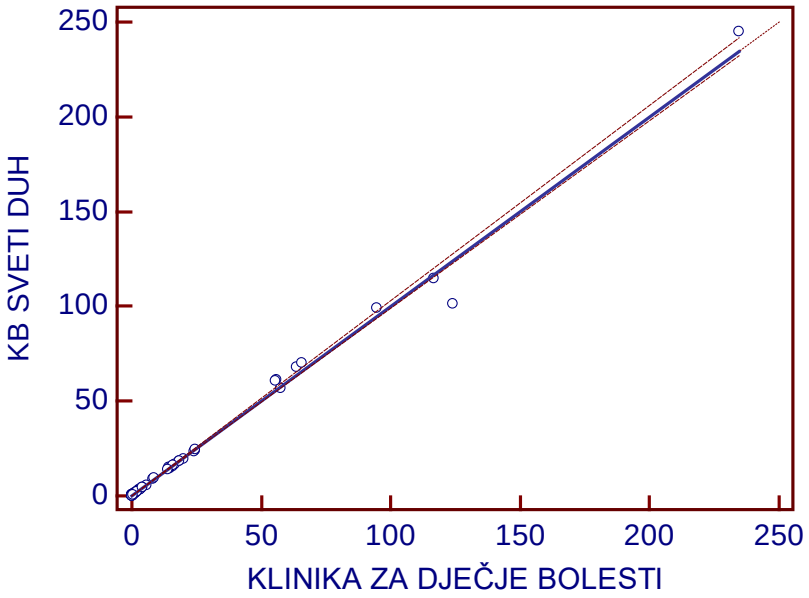
Odsječak na osi x iznosi: -0,0127932 (-0,07662 do 0,008564). Budući da interval pouzdanosti obuhvaća nulu, nije prisutno konstantno odstupanje. Koeficijent smjera iznosi: 1,023023 (1,0076 do 1,0389). Kako interval pouzdanosti ne obuhvaća 1, prisutno je proporcionalno odstupanje.

Ne postoji značajna konstantna razlika, ali postoji proporcionalna razlika u vrijednostima glukoze izmjerenih na analizatorima Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb i AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh.



Slika 11. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja glukoze (mmol/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja glukoze (mmol/L) na analizatorima AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između dva analizatora približna nuli što znači da su analizatori približno podudarni. Interval pouzdanosti obuhvaća nulu pa prema tome ne postoji statistički značajno konstantno odstupanje između analizatora AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb.



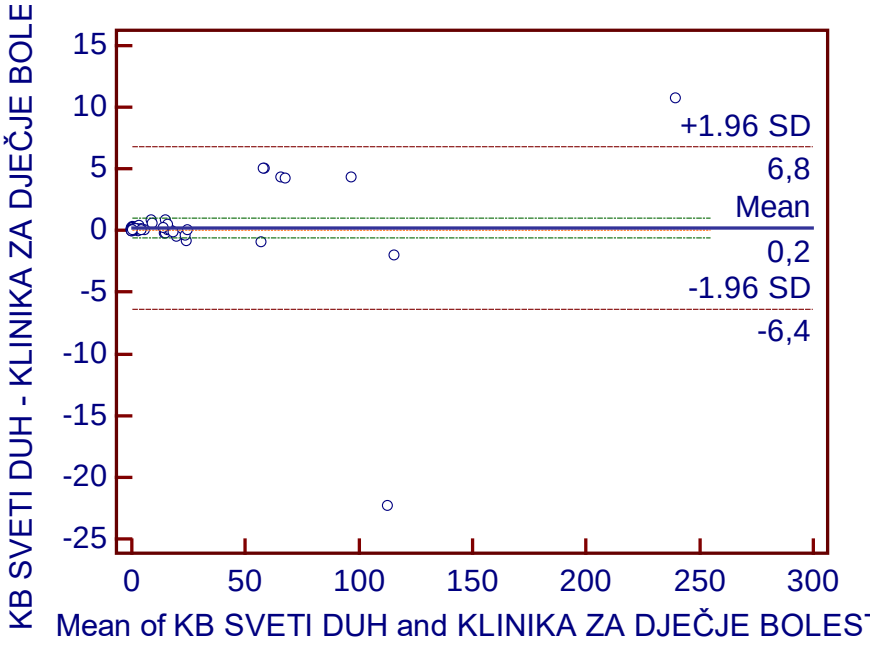
Slika 12. Passing Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti, a na osi y vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = 0,108585 (0,04522 do 0,1339) + 1,000949 (0,9896 do 1,0319) x

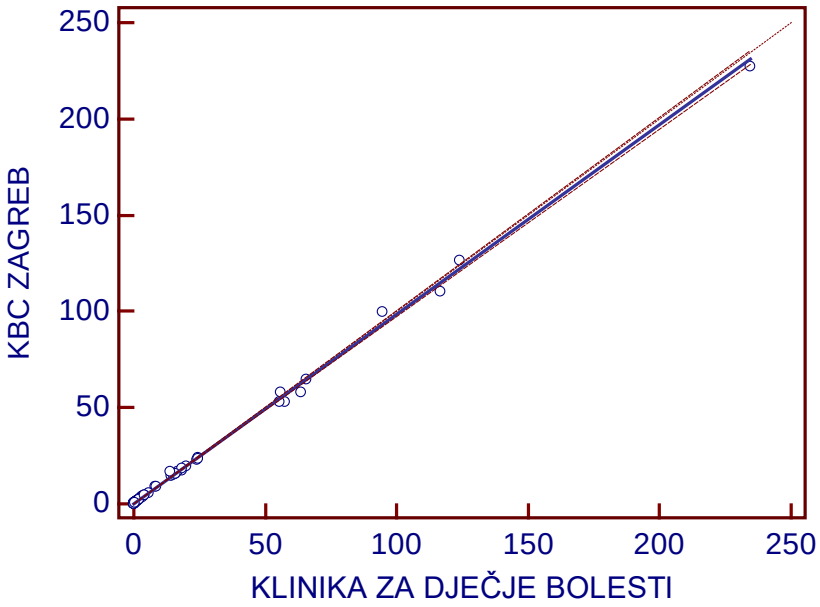
Vrijednost odsječka na osi x iznosi: 0,108585 (0,04522 do 0,1339). Kako su obje granice intervala veće od 0, možemo zaključiti da je prisutno statistički značajno konstantno odstupanje. Koeficijent smjera iznosi: 1,000949 (0,9896 do 1,0319). Budući da interval pouzdanosti obuhvaća 1, nije prisutno statistički značajno proporcionalno odstupanje.

Prisutna statistički značajna konstantna razlika, ali nije prisutno proporcionalno odstupanje u vrijednostima glukoze izmjerenih na analizatorima Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti i AU400 Beckman Coulter, KB Sveti duh.



Slika 13. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja glukoze (mmol/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja glukoze (mmol/L) na analizatorima AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između dva analizatora približna nuli što znači da su analizatori približno podudarni. Interval pouzdanosti obuhvaća nulu pa prema tome ne postoji statistički značajno konstantno odstupanje između analizatora AU400, Beckman Coulter, KB Sveti duh i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti



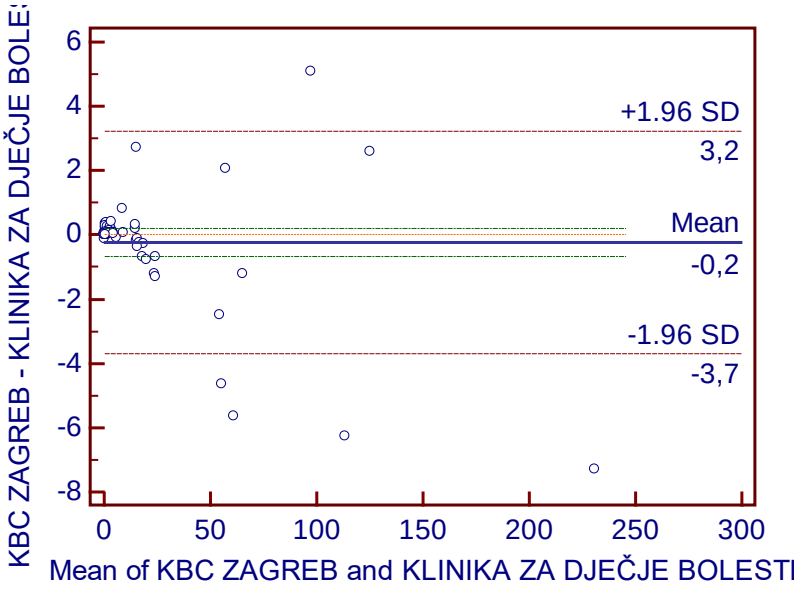
Slika 14. Passing-Bablok regresijska analiza. Na osi x prikazane su vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti, a na osi y vrijednosti glukoze (mmol/L) dobivene na biokemijskom analizatoru Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb

Za rezultat Passing-Bablok regresijske analize dobivena je jednadžba pravca:

y = 0,0646143 (0,04929 do 0,09946) + 0,985115 (0,9744 do 1,0048) x

Odsječak na osi x iznosi: 0,0646143 (0,04929 do 0,09946). Budući da odsječak ne obuhvaća nulu, možemo zaključiti da postoji statistički značajno konstantno odstupanje između metoda. Vrijednost koeficijenta smjera iznosi 0,985115 (0,9744 do 1,0048). Interval pouzdanosti obuhvaća 1, prema tome ne postoji statistički značajno proporcionalno odstupanje.

Prisutna statistički značajna konstantna razlika, ali nije prisutno proporcionalno odstupanje u vrijednostima glukoze izmjerenih na analizatorima Architect plus c4100, Abbott, Klinika za dječje bolesti i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb.



Slika 15. Bland-Altmanov graf. Na x osi prikazana je srednja vrijednost mjerenja glukoze (mmol/L) na oba analizatora, na y osi prikazane su razlike između dvaju mjerenja glukoze (mmol/L) na analizatorima Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti

Iz grafa je vidljivo da je većina razlika između dva analizatora približna nuli što znači da su analizatori približno podudarni. Interval pouzdanosti obuhvaća nulu pa prema tome ne postoji statistički značajno konstantno odstupanje između analizatora Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, KBC Zagreb i Architect plus c4100, Abbott, Klinike za dječje bolesti

Tablica 23. Osjetljivost i specifičnost test traka za glukozu u usporedbi sa biokemijskim analizatorima AU400 Beckman Coulter, Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics (njihova srednja vrijednost).

Test traka	Proizvođač	OSJETLJIVOST	SPECIFIČNOST	PPV	NPV
1. Combur 10 Test M	**Roche**	96,30%	70,83%	65,00%	97,14%
2. ChoiceLine 10	**Roche**	94,74%	64,29%	47,37%	97,30%
3. Combur 10 Test UX	**Roche**	96,43%	74,47%	69,23%	97,22%
4. ComboStik 10M	**DFI Co., Ltd.**	88,00%	72,00%	61,11%	92,31%
5. ComboStik 11M	**DFI Co., Ltd.**	84,00%	72,00%	60,00%	90,00%
6. Combiscreen 11SYS	**Analyticon**	92,59%	75,00%	67,57%	94,74%
7. Combiscreen 10SL	**Analyticon**	96,43%	76,60%	71,05%	97,30%
8. Combina 13	**Human**	74,19%	88,64%	82,14%	82,98%
9. COMBINA 11 S	**Human**	90,00%	80,00%	75,00%	92,31%
10.COMBINA 10M	**Human**	96,30%	77,08%	70,27%	97,37%
11.Urignost	**BioGnost Ltd.**	70,97%	93,18%	88,00%	82,00%
12.Multistix 10SG	**Siemens**	80,65%	93,18%	89,29%	87,23%

5

5 RASPRAVA

Kemijska analiza mokraće test trakom, kao važan dio svakodnevnog laboratorijskog rada, zahtjeva usporedive rezultate analize bez obzira u kojem laboratoriju u Republici Hrvatskoj je uzorak mokraće analiziran. Na razlike pri izdavanju nalaza kemijske analize mokraće test trakom mogu utjecati različite vrste test traka budući da se granice osjetljivosti te koncentracijski rasponi razlikuju među pojedinim test trakama. Također, laboratoriji sami definiraju koncentracijske raspone pojedine kategorije (0/1+/2+/3+) test trake koja se izdaje na nalazu što može utjecati na izdavanje nalaza. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati stanje kvalitativne analize mokraće i izdavanja nalaza u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj.

Rezultati usporedbe koncentracijskih raspona i pridruženih kategorija definiranih prema proizvođaču prikazani su za pojedini parametar test trake. Za proteine su kategorije dodijeljene od proizvođača prilično slične, osim što se različite vrste test traka razlikuju u osjetljivosti i broju testnih polja. Prema većini proizvođača koncentracije proteina manje od 1 g/L definirane su kao 1+, koncentracije 1 – 3 g/L kao 2+, a koncentracije veće od 5 g/L kao 3+. Za glukozu postoje preklapanja među kategorijama preporučenih od različitih proizvođača. Ovisno o vrsti test trake, kategorija 1+ za glukozu obuhvaća koncentracijski raspon od 2,8 mmol/L do 14 mmol/L, kategorija 2+ obuhvaća koncentracijski raspon od 5,6 mmol/L do 28 mmol/L, dok kategorija 3+ obuhvaća koncentracije veće od 17 mmol/L. Neki proizvođači su definirali i kategoriju 4+ (56 mmol/L i 110 mol/L) koja se prema harmonizaciji laboratorijskih nalaza za kvalitativnu analizu mokraće ne preporuča za izdavanje na nalazu. Kategorije za leukocite slično su dodijeljene od proizvođača jer većina test traka za leukocite ima samo četiri testna polja (0/1+/2+/3+). Koncentracije leukocita manje od 75 Leu/µmol definirane su kao kategorija 1+, koncentracije veće od 75 Leu/µmol , a manje od 500 Leu/µmol kao kategorija 2+, a koncentracije veće od 500 Leu/µmol kao 3+. Test trake za određivanje krvi imaju različitu osjetljivost i različiti broj testnih polja, stoga se razlikuju i kategorije koje su proizvođači preporučili. Kategorija 1+ predstavlja koncentracije eritrocita manje od 25 Erc/µmol, kategorija 2+ koncentracije 25 do 80 Erc/µmol te kategorija 3+ koncentracije veće od 50 Erc/µmol. Neki proizvođači definirali su i kategoriju 4+ koja nije preporučena prema harmonizaciji. Za ketone, koncentracije manje od 1,5 mmol/L predstavljaju 1+ prema većini proizvođača. Koncentracije veće od 1,5 mmol/L, a manje od 5 mmol/L predstavljaju kategoriju 2+, dok koncentracije veće od 5 mmol/L predstavljaju kategoriju 3+. Rezultati pokazuju da testiranjem uzorka mokraće

različitom test trakom te slijedeći upute proizvođača za pridruživanje pojedinih koncentracijskih raspona kategorijama, postoji mogućnost izdavanja različitih nalaza ovisno o vrsti test trake koja je korištena.

Prema rezultatima provedene ankete, pri kemijskoj analizi mokraće u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Republici Hrvatskoj koristi se 20 različitih vrsta test traka koje se analiziraju uglavnom automatskim analizatorima, a manje vizualno. U drugom dijelu anketa, laboratoriji su definirali koje kategorije pridružuju pojedinim koncentracijskim rasponima za sve parametre test trake. Prema rezultatima, ovisno u kojem laboratoriju je nalaz izdan, kategorija 1+ za glukozu može biti od 2,8 mmol/L do 15 mmol/L, kategorija 2+ od 3,9 mmol/L do 56 mmol/L, a kategorija 3+ od 11 mmol/L do 111 mmol/L. Dakle, postoji preklapanje između kategorije 1+ sa 2+, kategorije 2+ sa 3+. Ovisno u kojem je laboratoriju uzorak mokraće testiran, koncentracija glukoze 11-15 mmol/L može biti izdana kao 1+, 2+ ili 3+. Nadalje, kategorija 1+ za proteine može biti od 0,1 g/L do 1 g/L, kategorija 2+ od 0,3 g/L do 3 g/L, a kategorija 3+ od 1 g/L do 20 g/L. Za izdavanje nalaza proteina prisutno je preklapanje između kategorija te koncentracija 1 g/L može biti izdana na nalazu kao 1+, 2+ ili 3+. Za leukocite, kategorija 1+ 10-75 Leu/µmol, kategorija 2+ 70-250 Leu/µmol, a kategorija 3+ 125-500 Leu/µmol. Postoji preklapanje kategorija 1+ sa 2+ te kategorije 2+ sa 3+. Za krv su napravljene dvije tablice: posebno za test trake koje krv izražavaju kao Erc/µmol te za test trake koje krv izražavaju kao hemoglobin (mg/dL), odnosno samo iChemVelocity, Iris Diagnostics. U oba slučaja prisutno je preklapanje između kategorija 1+ i 2+ te kategorija 2+ i 3+. Za urobilinogen, kategorija 1+ obuhvaća koncentracijski raspon od 17 – 70 µmol/L, kategorija 2+ 34 – 140 µmol/L, a kategorija 3+ koncentracije veće od 51 µmol/L. prema tome, ovisno u kojem laboratoriju je izdan nalaz, koncentracije od 51 µmol/L do 70 µmol/L mogu biti izdane kao 1+, 2+ ili 3+. Kod ketona, kategorija 1+ može obuhvaćati koncentracijski raspon 0,5 do 2,5 mmol/L, kategorija 2+ 1,5 do 10 mmol/L, a kategorija 3+ 4 do 30 mmol/L. Za bilirubin, kategorija 1+ obuhvaća koncentracijski raspon od 8,5 do 100 µmol/L, 2+ od 17 do 100 µmol/L, a kategorija 3+ od 35 do 103 µmol/L. Prema tome, koncentracijski raspon između 35 i 100 µmol/L, može biti izdan kao kategorija 1+, 2+ ili 3+. Uz to, pojedini laboratoriji za sve parametre izdaju i kategorije "trace" i 4+ na nalazu koje nisu preporučene prema Harmonizaciji.

Ispitana je reproducibilnost 12 vrsta test traka za analizu mokraće. Reproducibilnost je zadovoljavajuća za sve parametre test traka Combur 10 Test M, Combur 10 Test UX, ComboStik 10M, ComboStik 11M i Combina 10M. Najviše test traka nisu reproducibilne pri određivanju pH: ChoiceLine 10 (17/20), CombiScreen 10SL (16/20), Combina 13 (11/20) i

Multistix 10SG (17/20). Test trake Combiscreen 11SYS (16/20) i Combina 11 S (17/20) nisu reproducibilne pri određivanju specifične težine. Test trake Combiscreen 11SYS nisu reproducibilne pri određivanju ketona (15/20), Biognost pri određivanju leukocita (15/20) te Multistix 10SG pri određivanju bilirubina (13/20).

Usporedivost 12 najčešće korištenih test traka ispitana je u odnosu na referentnu test traku, Combur Test M (Roche). Slaganje pojedine test trake sa referentnom test trakom ispitano je kappa testom te je interpretirana vrijednost kappa koeficijenta. Vrijednost kappa koeficijenta za usporedbu test traka za nitrite veći je od 0,9 što opisuje gotovo savršeno slaganje između rezultata. Izvrsno slaganje rezultata može se objasniti time što se nitriti test trakama izražavaju samo kao pozitivni ili negativni. Za parametre proteine, glukozu i eritrocite slaganje između rezultata test traka sa referentnom test trakom je snažno ili čak izvrsno. Za leukocite, vrijednost kappa koeficijenta upućuje na umjereno slaganje rezultata. Za pH, vrijednost kappa koeficijenta upućuje na slabo ili umjereno slaganje rezultata test traka u odnosu na referentnu test traku. Vrijednosti kappa koeficijenta za slaganje rezultata test trakica za bilirubin upućuju na slabo ili minimalno slaganje rezultata sa referentnom test trakom. Kappa koeficijent za slaganje rezultata za urobilinogen upućuje na snažno slaganje rezultata za pet test traka u usporedbi sa referentnom test trakom, dok za preostalih šest test traka upućuje na umjereno ili slabo slaganje između rezultata. Vrijednost kappa koeficijenta za specifičnu težinu upućuje na snažno slaganje dviju test traka sa referentnom test trakom, dok za sve ostale test trake slaganje je umjereno ili slabo. Za ketone, vrijednost kappa koeficijenta upućuje na snažno slaganje šest test traka sa referentnom test trakom, a za preostale test trake slaganje je umjereno ili slabo.

Prema usporedbi biokemijskih analizatora za određivanje proteina Passing-Bablok regresijom i Bland-Altman analizom, vrijednosti proteina dobivene na biokemijskom analizatoru AU400, Beckman Coulter veće su od vrijednosti proteina dobivenih analizatorima Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics. Budući da se metode za određivanje proteina razlikuju između analizatora, rezultati test traka uspoređeni su posebno sa vrijednostima proteina dobivenima analizatorom AU400, Beckman Coulter te posebno sa srednjom vrijednosti proteina dobivenima na analizatorima Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics. Prema rezultatima osjetljivosti i specifičnosti test traka za proteine u usporedbi sa biokemijskim analizatorom AU400 Beckman Coulter, niti jedne test trake nemaju zadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost. Prema rezultatima osjetljivosti i specifičnosti test traka za proteine u usporedbi sa srednjom vrijednosti biokemijskih analizatora Architect plus c4100, Abbott i Cobas 6000 c501, Roche Diagnostics, niti jedna test traka nema

zadovoljavajuću specifičnost, dok zadovoljavajuću osjetlijvost ima sedam test traka. Usporedbom biokemijskih analizatora za određivanje glukoze, Passing-Bablok regresijom i Bland-Altman analizom za vrijednosti glukoze, nije zabilježeno statistički značajno odstupanje biokemijskih analizatora. Rezultati test traka uspoređeni su sa srednjom vrijednosti glukoze sva tri biokemijska analizatora. Zadovoljavajuću osjetljivost ima deset test traka, dok zadovoljavajuću specifičnost imaju samo 4 test trake.

Pregledom dostupne literature, nije pronađeno slično istraživanje kvalitativne analize mokraće te usporedivosti i točnosti test traka različitih proizvođača.

Ovim istraživanjem potvrđena je početna pretpostavka nestandardizirane kvalitativne analize mokraće u Republici Hrvatskoj te neusklađenosti među proizvođačima test traka za analizu mokraće što za posljedicu ima moguće izdavanje različitih nalaza kvalitativne analize iz istog uzorka mokraće ovisno u kojem laboratoriju se uzorak analizira.

6 ZAKLJUČCI

- Zbog različitog broja testnih polja i različite osjetljivost test traka različitih proizvođača, različito i pridruživanje kategorija koje se izdaju na nalazu pojedinim koncentracijama- testiranjem uzorka mokraće različitom vrstom test trake te slijedeći upute proizvođača za pridruživanje pojedinih koncentracijskih raspona kategorijama, postoji mogućnost izdavanja različitih nalaza ovisno o vrsti test trake koja je korištena.
- Postoje velika preklapanja između kategorija 1+, 2+ i 3+ za sve parametre koje laboratoriji sami definiraju za pojedini parametar što za posljedicu ima neusporedive rezultate kvalitativne analize mokraće u laboratorijima diljem Republike Hrvatske.
- Reproducibilnost test traka zadovoljavajuća za sve parametre osim za određivanje pH.
- Usporedivost test traka u odnosu na referentne test trake Combur Test M zadovoljavajuća je za nitrite, proteine, glukozu i eritrocite. Za sve ostale parametre test trake usporedivost nije zadovoljavajuća.
- Potrebno predložiti uniformnu kategorizaciju koje bi se pridržavali svi laboratoriji u Republici Hrvatskoj za izdavanje nalaza kvalitativne analize mokraće.
- Povećati informativnost nalaza kvalitativne analize mokraće te uz kategoriju izdati i koncentracije pojedinih parametara.

7 LITERATURA

1. American Association for Clinical Chemistry, The need to harmonize clinical laboratory test results, July 2015
2. CLSI Urinalysis, Approved Guidelines, 2009
3. Čepelak I, Štraus B. Medicinsko-biokemijske smjernice, Zagreb, Medicinska naklada, 2004
4. Compendium of urinalysis, Urine test strips and microscopy, Roche, Cobas
5. Čvorišćec D, Flegar-Meštrić Z, Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije, Zagreb, 2004.
6. Dinamika ciklusa, 2018., http://croqalm.hdmblm.hr, pristupljeno 7.3.2018.
7. European Urinalysis Group, ECLM European Urinalysis Guidelines, Scand J Clin Lab Invest 2000; 60, 1-96
8. Flegar-Meštrić Z, Vučić Lovrenčić M. Preglednik medicinsko biokemijskih pretraga, Zagreb, Medicinska naklada, 2018
9. Flegar Meštrić Z. Tečaj trajnog usavršavanja medicinskih biokemičara, Kliničko-biokemijska korelacija rezultata kvalitativne analize mokraće, Zagreb, Medicinska naklada, 2004.
10. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. Biochem Med 2015;25(2),141-51
11. Guyton AC, Hall JE. Urine formation by the Kidneys. U: Textbook of Medical Physiology, Philadelphia, Elsevier Inc, 2006, str. 307-343
12. McHugh ML. Interrater reliability: the Kappa statistic, Biochem Medica, 2012, 22, 276-82
13. Mundt LA, Shanahan K. Graff's Textbook of Routine Urinalysis and Body Fluids Chemical Analysis of Urine, Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, 2011, 36-51
14. Plebani M. Harmonization in laboratory medicine: the complete picture. Clin Chem Lab Med 2013; 51(4), 741–751
15. Raslich MA, Markert RJ, Stutes SA. Odabir i tumačenje dijagnostičkih pretraga. Biochemia Medica 2007,17(2):151-61
16. Sikirica M. Obradba mokraće. U: Topić E, Primorac D i sur. Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi, Zagreb, Medicinska naklada, 2018., str. 139-154

17. Šimundić AM, Tečaj trajnog usavršavanja medicinskih biokemičara, Osnove biostatistike u svakodnevnoj praksi, Zagreb, Medicinska naklada, 2008., str. 66-74
18. Štraus B, Čvorišćec D. Funkcija bubrega. U: Štraus B, Čvorišćec D. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 472-497
19. Thomas L. Clinical laboratory diagnosis of kidney and urinary tract disorder. U: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results, Frankfurt/Main, TH-Books, 1998, str. 362-364

8 SAŽETAK / SUMMARY

8.1 SAŽETAK

U laboratorijima u Republici Hrvatskoj koriste se različite vrste test traka za kemijsku analizu mokraće od različitih proizvođača. Prema harmonizaciji laboratorijskih nalaza za kvalitativnu analizu mokraće ne postoje definirane kategorije za pojedini koncentracijski raspon, stoga laboratoriji proizvoljno dodjeljuju kategorije. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati stanje kemijske analize mokraće test trakama u Republici Hrvatskoj te postoji li mogućnost izdavanja različitih rezultata kemijske analize iz istog uzorka u različitim laboratorijima.

Istraživanje je provedeno na Zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu KB Sv. Duh, Zagreb. Poslana je anketa o kemijskoj analizi test trakama svim medicinsko-biokemijskim laboratorijima u RH. Ispitane su reproducibilnost, usporedivost te točnost za 12 najčešćih test traka na 75 uzoraka mokraće. Slaganje između rezultata test traka za svih 10 parametara ispitano je kappa testom u odnosu na referentnu test traku Combur 10 Test M, Roche. Točnost (specifičnost i osjetljivost) test traka za proteine i glukozu uspoređena je sa vrijednostima dobivenima na tri biokemijska analizatora: AU400 (Beckman Coulter, SAD), Cobas 6000 c501 (Roche Diagnostics, Švicarska) i Architect plus c4100 (Abbott, SAD). Usporedba analizatora ispitana je Passing-Bablok regresijom i Bland-Altman analizom. Prema deklaraciji prilaženoj uz pakiranje test traka, napravljena je usporedba koncentracijskih raspona za sve parametre i pridruženih kategorija (0/1+/2+/3+) definiranih prema proizvođačima.

Prema anketama, laboratoriji u Republici Hrvatskoj ne pridržavaju se harmonizacije prilikom izdavanja nalaza kemijske analize mokraće. Prisutno je preklapanje između kategorija koje laboratoriji sami definiraju i neusklađenost među proizvođačima test traka koji istim koncentracijskim rasponima dodjeljuju različite kategorije. Reproducibilnost test traka zadovoljavajuća je za sve parametre osim za pH. Najbolje slaganje rezultata između test traka je za proteine i nitrite, dok je najlošije slaganje rezultata za bilirubin, specifičnu težinu i pH. Niti jedne test trake nemaju zadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost za proteine (AU400). U usporedbi sa analizatorima Cobas i Architect, niti jedne test trake nemaju zadovoljavajuću osjetljivost za proteine, a 7 test traka ima zadovoljavajuću specifičnost. Zadovoljavajuću osjetljivost za glukozu ima 10 test traka, dok zadovoljavajuću specifičnost imaju 4 test trake.

Na temelju svega navedenog, zaključujemo da su rezultati kemijske analize mokraće u laboratorijima diljem Republike Hrvatske neusporedivi. Testiranjem istog uzorka mokraće u različitim laboratorijima postoji mogućnost izdavanja različitih nalaza kemijske analize.

8.2 SUMMARY

Laboratories in Croatia use different brands of urine dipsticks from different manufacturers for urinalysis. There is no defined categories for each range of concentration according to laboratory test result harmonization for urinalysis, so each laboratory has to define it by themselves. The aim of this study was to examine urinalysis in Croatia and if there is a possibility to issue different urinalysis result in different laboratories because of the reasons above.

This study was conducted at the Department of medical laboratory diagnostics, Clinical hospital Sveti Duh, Zagreb. The qualitative urinalysis poll was sent to all laboratories in Croatia. The reproducibility, comparability and accuracy of 12 the most used brands of dipsticks were examined on 75 urine samples. The comparability between dipstick results for 10 parameters was tested by kappa test in regards to reference dipstick Combur 10 Test M, Roche. Accuracy (specificity and sensitivity) of dipsticks for proteins and glucose was compared with the values obtained by three analyzers: AU400 (Beckman Coulter, USA), Cobas 6000 c501 (Roche Diagnostics, Switzerland) and Architect plus c4100 (Abbott, USA). Analyzers were compared by Passing-Bablok regression and Bland-Altman analysis. According to declaration provided with every package of dipsticks, concentration ranges for each test spot and categories (0/1+/2+/3+) that manufacturer suggested, were compared between manufacturers.

According to the conducted pool, laboratories in Croatia do not follow harmonization while reporting the urinalysis results and there is overlap between categories defined by different laboratories. There is an inconsistency between dipstick manufacturers who categorize the same concentration ranges in different categories. Reproducibility of dipsticks was acceptable for all parameters except for pH. The best agreement of results between dipsticks was for proteins and nitrites, while the worst agreement was for bilirubin, specific gravity and pH. None of the dipsticks had acceptable sensitivity and specificity for proteins (AU400). When compared with analyzers Cobas and Architect, none of dipsticks had acceptable sensitivity for proteins and seven dipsticks had acceptable specificity for proteins. For glucose, 10 dipsticks had acceptable sensitivity, while acceptable specificity had just four dipsticks.

To conclude, results of qualitative urinalysis in laboratories all around Croatia are not comparable. There is a possibility that testing the same urine sample in different laboratories in Croatia will result with different test result.

Temeljna dokumentacijska kartica

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

Diplomski rad

STANDARDIZACIJA KVALITATIVNE ANALIZE MOKRAĆE U REPUBLICI HRVATSKOJ

Valentina Špoljarić

SAŽETAK

U laboratorijima u Republici Hrvatskoj koriste se različite vrste test traka za kemijsku analizu mokraće od različitih proizvođača. Prema harmonizaciji laboratorijskih nalaza za kvalitativnu analizu mokraće ne postoje definirane kategorije za pojedini koncentracijski raspon, stoga laboratoriji proizvoljno dodjeljuju kategorije. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati stanje kemijske analize mokraće test trakama u Republici Hrvatskoj te postoji li mogućnost izdavanja različitih rezultata kemijske analize iz istog uzorka u različitim laboratorijima. Poslana je anketa o kemijskoj analizi test trakama svim medicinsko-biokemijskim laboratorijima u RH. Ispitane su reproducibilnost, usporedivost te točnost za 12 najčešćih test traka na 75 uzoraka mokraće. Prema deklaraciji prilaženoj uz pakiranje test traka, napravljena je usporedba koncentracijskih raspona za sve parametre i pridruženih kategorija (0/1+/2+/3+) definiranih prema proizvođačima. Prema anketama, laboratoriji u Republici Hrvatskoj ne pridržavaju se harmonizacije prilikom izdavanja nalaza kemijske analize mokraće. Prisutno je preklapanje između kategorija koje laboratoriji sami definiraju i neusklađenost među proizvođačima test traka koji istim koncentracijskim rasponima dodjeljuju različite kategorije. Reproducibilnost test traka zadovoljavajuća je za sve parametre osim za pH. Najbolje slaganje rezultata između test traka je za proteine i nitrite, dok je najlošije slaganje rezultata za bilirubin, specifičnu težinu i pH. Niti jedne test trake nemaju zadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost za proteine (AU400). U usporedbi sa analizatorima Cobas i Architect, niti jedne test trake nemaju zadovoljavajuću osjetljivost za proteine, a 7 test traka ima zadovoljavajuću specifičnost. Zadovoljavajuću osjetljivost za glukozu ima 10 test traka, dok zadovoljavajuću specifičnost imaju 4 test trake. Na temelju svega navedenog, zaključujemo da su rezultati kemijske analize mokraće u laboratorijima diljem Republike Hrvatske neusporedivi. Testiranjem istog uzorka mokraće u različitim laboratorijima postoji mogućnost izdavanja različitih nalaza kemijske analize.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 55 stranica, 15 grafičkih prikaza, 23 tablice i 19 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: analiza urina, test trake, standardizacija, usporedivost, točnost

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

Rad prihvaćen: travanj 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Clinical Chemistry and Hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

STANDARDIZATION OF QUALITATIVE URINALYSIS IN CROATIA

Valentina Špoljarić

SUMMARY

Laboratories in Croatia use different brands of urine dipsticks from different manufacturers for urinalysis. There is no defined categories for each range of concentration according to laboratory test result harmonization for urinalysis, so each laboratory has to define it by themselves. The aim of this study was to examine urinalysis in Croatia and if there is a possibility to issue different urinalysis result in different laboratories because of the reasons above. The qualitative urinalysis poll was sent to all laboratories in Croatia. The reproducibility, comparability and accuracy of 12 the most used brands of dipsticks were examined on 75 urine samples. According to declaration provided with every package of dipsticks, concentration ranges for each test spot and categories (0/1+/2+/3+) that manufacturer suggested, were compared between manufacturers. According to the conducted pool, laboratories in Croatia do not follow harmonization while reporting the urinalysis results and there is overlap between categories defined by different laboratories. There is an inconsistency between dipstick manufacturers who categorize the same concentration ranges in different categories. Reproducibility of dipsticks was acceptable for all parameters except for pH. The best agreement of results between dipsticks was for proteins and nitrites, while the worst agreement was for bilirubin, specific gravity and pH. None of the dipsticks had acceptable sensitivity and specificity for proteins (AU400). When compared with analyzers Cobas and Architect, none of dipsticks had acceptable sensitivity for proteins and seven dipsticks had acceptable specificity for proteins. For glucose, 10 dipsticks had acceptable sensitivity, while acceptable specificity had just four dipsticks. To conclude, results of qualitative urinalysis in laboratories all around Croatia are not comparable. There is a possibility that testing the same urine sample in different laboratories in Croatia will result with different test result.

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

Thesis includes: 55 pages, 15 figures, 23 tables and 19 references. Original is in Croatian language.

Keywords: urinalysis, dipstick, standardization, accuracy, comparability

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

Reviewers: **Ana-Maria Šimundić**, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Nada Vrkić, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Šupraha Goreta, **Ph.D.***Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: April 2018.