

Anna Kristine Aasvold og Julie Kaland Sund

# Deteksjonsgrenser for kvalitative urinanalyser

## Cut-off limits for qualitative urinalysis

Bacheloroppgave i bioingeniørfag

Veileder: Ragnhild Bach, Arne Åsberg og Maria Bergdal

Mai 2020



Anna Kristine Aasvold og Julie Kaland Sund

# **Deteksjonsgrenser for kvalitative urinanalyser**

## **Cut-off limits for qualitative urinalysis**

Bacheloroppgave i bioingeniørfag  
Veileder: Ragnhild Bach, Arne Åsberg og Maria Bergdal  
Mai 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Fakultet for naturvitenskap  
Institutt for bioingeniørfag



Kunnskap for en bedre verden



## FORORD

Denne bacheloroppgaven ble gitt av Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital som avsluttende oppgave ved Institutt for bioingeniørfag ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU) i Trondheim. Den ble skrevet i perioden 16. mars til 19. mai. På grunn av den pågående Covid-19-pandemien kunne imidlertid ikke det praktiske arbeidet i oppgaven gjennomføres, og oppgaven baserer seg derfor på et datamateriale gitt av avdelingen.

I forbindelse med arbeidet som har blitt gjort ønsker vi å takke våre faglige veiledere fra Avdeling for medisinsk biokjemi, Arne Åsberg og Maria Bergdal, for å ha innhentet og videreformidlet litteratur og datamateriale, og for gode svar på faglige spørsmål underveis. Vi vil også takke vår prosessveileder fra Institutt for bioingeniørfag, Ragnhild Bach, for god veiledning og støtte i skriveprosessen, og for raske svar på små og store funderinger.

Trondheim, 19.05.2020

Anna Kristine Aasvold

Anna Kristine Aasvold

Julie Kaland Sund

Julie Kaland Sund

## SAMMENDRAG

Analyse av urin ved bruk av urinstrimmel gir semi-kvantitative prøveresultater, og er gradert i nivåene 1+, 2+, 3+ og 4+. Prøveresultatene tolkes likevel ofte til å være enten positive eller negative ut fra deteksjonsgrensen. Ulike produsenter bruker ulike deteksjonsgrenser, men for urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M som ble brukt i denne oppgaven, er den definert som den analyttkonsentrasjonen som gir 90 % sannsynlighet for positivt prøveresultat ( $C_{90}$ ), en konsentrasjon som tilsvarer 120-180 mg/L. I denne oppgaven skulle analysekvaliteten til testfeltet for protein på urinstrimmelen undersøkes, og dette ble gjort ved å finne deteksjonsgrensen til testfeltet ved avlesning på to ulike reflektometre og sammenlikne de med den deteksjonsgrensen som ble oppgitt av produsenten. Det ble på denne måten undersøkt hvordan urinstrimmelen kunne avleses for å få best analysekvalitet.

Deteksjonsgrensen til testfeltet ble funnet ved å lage en responskurve, som fremstiller sannsynligheten for positivt prøvesvar som funksjon av proteinkonsentrasjonen. Dette ble gjort med utgangspunkt i et datamateriale som ble behandlet ved bruk av probit-regresjon i den statistiske programvaren MedCalc. Datamaterialet ble innhentet i en sammenlikningsstudie utført høsten 2019 på St. Olavs hospital ved seksjon prøvetaking og pasientnær analyse, og sammenliknet semi-kvantitative strimmelresultater fra avlesning på reflektometrene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100 med kvantitative resultater for protein fra de samme prøvene. I MedCalc ble de semi-kvantitative resultatene plottet mot respektive kvantitative proteinkonsentrasjoner, og to sensitivitetsnivåer ble definert.

I vurderingen av resultatene ble både responskurver og deteksjonsgrenser lagt til grunn. Ved avlesning på Roche Cobas u411 ble deteksjonsgrensen i sensitivitetsnivå 1 funnet til å være 50,60 mg/L, noe som ble vurdert som urealistisk lavt. I sensitivitetsnivå 2 ble den funnet til å være 255,3 mg/L, altså høyere enn den som er angitt av produsenten. Ved avlesning på Roche Urisys 1100 ble både deteksjonsgrensen i sensitivitetsnivå 1 og sensitivitetsnivå 2 funnet til å være høyere enn den som er angitt av produsenten, og tilsvarte henholdsvis konsentrasjonene 280,2 mg/L og 448,6 mg/L. Når det gjelder responskurvene som ble gitt ut for de ulike avlesningene, var den som tilhørte avlesning på Roche Cobas u411 i sensitivitetsnivå 2 den som beskrev best sensitivitet og presisjon. I kombinasjon med at denne avlesningen også ga den deteksjonsgrensen som lå nærmest den som ble oppgitt av produsenten, ble det konkludert med at den ga den beste analysekvaliteten i kombinasjon med urinstrimmelen.

## ABSTRACT

Urinalysis using dipsticks provides semi-quantitative test results, graded at levels 1+, 2+, 3+ and 4+. However, the test results are often interpreted to be either positive or negative based on the value of a cut-off limit. Depending on the manufacturer of the dipstick, different cut-off limits are used. For Roche Combur<sup>10</sup>Test M, which is the dipstick used in this study, the cut-off limit is defined as the analyte concentration that gives 90 % probability of positive test result ( $C_{90}$ ), a concentration that equals 120-180 mg/L. In this study the analytical performance of the dipstick's protein test pad was examined. This was done by finding the cut-off limit of the test pad after reading the dipstick on two different reflectometers and comparing the values with the cut-off limit stated by the manufacturer. By doing this it was examined how the dipstick best should be read to provide a satisfying analytical performance.

The test pad's cut-off limit was found by creating a response curve, which presents the probability of positive test result as a function of protein concentration. This was done by processing data using probit regression in the statistical software MedCalc. The data was collected in a comparative study performed in the fall of 2019 at St. Olavs hospital, and compared semi-quantitative dipstick results from readings on the reflectometers Roche Cobas u411 and Roche Urisys 1100 with quantitative protein results from the same samples. The semi-quantitative results were plotted against respective quantitative protein concentrations in MedCalc, where two sensitivity levels were defined.

When evaluating the results of the study, both response curves and cut-off limits were considered. Readings done on Roche Cobas u411 found the cut-off limit at sensitivity level 1 to be 50,60 mg/L, which was considered unrealistically low. At sensitivity level 2, it was found to be 255,3 mg/L, which was higher than the cut-off limit stated by the manufacturer. Readings done on Roche Urisys 1100 found both the cut-off limit at sensitivity level 1 and sensitivity level 2 to be higher than the cut-off limit stated by the manufacturer, corresponding to the concentrations 280,2 mg/L and 448,6 mg/L, respectively. Regarding the response curves associated with the different readings, the one associated with the reading on Roche Cobas u411 in sensitivity level 2 was the one that described the best sensitivity and precision. When combined with the fact that this reading also gave the cut-off limit closest to the one stated by the manufacturer, it was concluded that this was the reading that provided the best analytical performance in combination with the dipstick.

## INNHALDSFORTEGNELSE

<b>FORORD</b> .....	i
<b>SAMMENDRAG</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>1 INNLEDNING</b> .....	1
<b>1.1 Formålet med oppgaven</b> .....	1
<b>1.2 Protein i urin</b> .....	2
<b>1.3 Urinstrimmel-analyser</b> .....	6
<b>1.4 Kjemisk undersøkelse av protein i urin</b> .....	8
<b>1.5 Reflektometri</b> .....	11
<b>1.6 Turbidimetri</b> .....	12
<b>1.7 Spektrofotometri</b> .....	15
<b>1.8 Probit-regresjon</b> .....	17
<b>1.9 Problemstilling</b> .....	19
<b>2 MATERIALE OG METODE</b> .....	20
<b>2.1 Prøvemateriale</b> .....	20
<b>2.2 Kalibratorer, kontroller og reagenser</b> .....	20
<b>2.3 Instrumenter</b> .....	23
<b>3 RESULTATER</b> .....	31
<b>3.1 Roche Cobas u411</b> .....	32
<b>3.1.1 Albumin i sensitivitetsnivå 1</b> .....	32
<b>3.1.2 Albumin i sensitivitetsnivå 2</b> .....	34
<b>3.1.3 Totalprotein i sensitivitetsnivå 1</b> .....	35
<b>3.1.4 Totalprotein i sensitivitetsnivå 2</b> .....	37
<b>3.2 Roche Urisys 1100</b> .....	38
<b>3.2.1 Albumin i sensitivitetsnivå 1</b> .....	38
<b>3.2.2 Albumin i sensitivitetsnivå 2</b> .....	40
<b>3.2.3 Totalprotein i sensitivitetsnivå 1</b> .....	41
<b>3.2.4 Totalprotein i sensitivitetsnivå 2</b> .....	43
<b>4 DISKUSJON</b> .....	45
<b>5 REFERANSER</b> .....	49
<b>6 VEDLEGG</b> .....	51



# 1 INNLEDNING

## 1.1 Formålet med oppgaven

Høsten 2019 ble det utført en sammenlikningsstudie på St. Olavs hospital ved seksjon prøvetaking og pasientnær analyse. I denne studien ble ulike laboratorieanalyser benyttet for å sammenlikne semi-kvantitative og kvantitative verdier for albumin og totalprotein i urinprøver, og data fra disse analysene bearbeides i denne rapportens teori- og diskusjonsdel.

Laboratorieanalyser kan gi prøveresultat som er kvantitative, semi-kvantitative eller kvalitative. Kvantitative analyser gir prøveresultat langs en kontinuerlig skala, semi-kvantitative analyser gir et begrenset antall svarmuligheter langs en ikke-kontinuerlig skala, og kvalitative analyser gir to mulige prøveresultat; negativt eller positivt, også kalt binære resultat. (Bolann and Sandberg, 2003) Urinstrimler som brukes til urinanalyser er et eksempel på semi-kvantitative analyser, der prøveresultatene er gradert i nivå.

Resultatene tolkes likevel ofte ut fra en bestemt grense til å være enten positive eller negative, og denne deteksjonsgrensen kan defineres som den konsentrasjonen av en analytt som gir en viss sannsynlighet for positivt prøveresultat. Noen produsenter bruker den konsentrasjonen som gir 50 % sannsynlighet ( $C_{50}$ ), mens andre bruker den som gir 90 % sannsynlighet for positivt resultat ( $C_{90}$ ). (St. Olavs hospital, n.d.) For urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M, som brukes i denne oppgaven, brukes den konsentrasjonen som gir 90 % sannsynlighet for positivt resultat ( $C_{90}$ ) som deteksjonsgrense. Denne konsentrasjonen er et uttrykk for urinstrimmellens sensitivitet, og ligger her på 120-180 mg/L. ("Combur 10 M teststrip - Pakningsvedlegg," 2013)

Når deteksjonsgrensen er satt kan analysen fremstilles ved hjelp av en responskurve, der sannsynligheten for positivt utslag plottes langs y-aksen mot konsentrasjonen av analytten som plottes langs x-aksen. Hvert testfelt på urinstrimlene som brukes til urinanalyser har hver sin responskurve. Disse er ikke kjent, og avhenger sannsynligvis av hvilket reflektometer som brukes til avlesning av urinstrimlene. I denne oppgaven skal responskurven til testfeltet for protein, det vil si albumin, undersøkes for urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M, avlest semi-kvantitativt på reflektometrene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100. Når responskurvene til testfeltet for protein vurderes sammenliknes, som nevnt, de semi-kvantitative strimmelresultatene med kvantitative

resultater for albumin og totalprotein fra de samme prøvene, analysert på Siemens Advia Chemistry XPT. (St. Olavs hospital, n.d.). Mengden totalprotein i en urinprøve kan ikke bestemmes ved bruk av urinstrimler, da disse hovedsakelig er sensitive for albumin. Totalprotein vil imidlertid likevel bli undersøkt kvantitativt, da det ikke kan utelukkes at også andre proteiner enn albumin kan detekteres semi-kvantitativt.

Responskurvene fremstiller altså sannsynligheten for å få et positivt prøveresultat som funksjon av analyttkonsentrasjonen, og data til kurvene samles ved at urinprøver analyseres både semi-kvantitativt og kvantitativt for analytten som skal undersøkes, her protein. De kvantitative resultatene anses som fasit. Videre vil det innsamlede datamaterialet bearbeides statistisk, slik at sannsynligheten for positivt prøveresultat kan fremstilles grafisk. Probit-regresjon er en del av den statistiske bearbeidelsen, og vil forklares nærmere i ett eget avsnitt av innledningen. (St. Olavs hospital, n.d.)

## **1.2 Protein i urin**

Protein i urin (proteinuri) viser seg ved økt mengde protein i urinen, og er ofte første indikasjon på nyresykdom, men kan også forekomme ved andre patologiske tilstander. Normalt passerer rundt 70 kg proteiner gjennom nyrenes glomeruli hvert døgn, men filtrasjonsbarrieren i glomerulus slipper kun gjennom 1,5-2 g proteiner til primærurinen. (Urdal et al., 2009) I normal urin skilles det ut opp til 150 mg (1 til 14 mg/dL) hvert døgn, og disse proteinene stammer hovedsakelig fra primærurinen og nyretubuli. (Brunzel, 2018a)

I primærurinen finnes det en stor andel lavmolekylære proteiner fra blodplasma som lett kan passere filtrasjonsbarrieren i glomerulus. De lavmolekylære proteinene i blodplasma omtales som globuliner, og de har normalt lave konsentrasjoner i blodet. Mesteparten av globulinene vil også reabsorberes i nyretubuli, og derfor vil det normalt være lave konsentrasjoner av disse i urinen. Albumin har derimot høy konsentrasjon i blodet, men fordi det er et større molekyl vil det i mindre grad slippes gjennom glomerulusfilteret sammenlignet med globulinene. Proteinene som normalt finnes i urin, vil dermed bestå av cirka en tredjedel albumin og to tredjedeler globuliner. Urinen kan imidlertid også inneholde proteiner som er skilt ut ved tubulær sekresjon, derav Tamm-Horsfall protein, urokinase og sektretorisk IgA som de viktigste. (Brunzel, 2018a)

Proteinuri kan klassifiseres i tre kategorier basert på hvor i nyresystemet det foreligger en defekt. Det deles inn i prerenal proteinuri, renal proteinuri og postrenal proteinuri, hvor det ved renal proteinuri kan dreie seg om enten glomerulær proteinuri eller tubulær proteinuri, eller eventuelt en kombinasjon av begge. Ved både prerenal proteinuri og renal proteinuri vil det foreligge en økt konsentrasjon av albumin. Dette er et resultat av at det ved prerenal proteinuri vil være en økt mengde proteiner i blodplasma som blir filtrert, og ved renal proteinuri vil være filtrasjon av normal mengde protein, men derimot en redusert reabsorpsjon i nyretubuli. Den tubulære reabsorpsjonen ( $T_m$ ) i nyretubuli er en nonsektiv, kompetitiv og terskelbegrenset prosess. Dette innebærer at proteinene reabsorberes tilfeldig, og fordi prosessen er begrenset, vil det ved en forhøyet mengde protein føre til at det skilles ut mer protein i urinen. (Brunzel, 2018a)

### ***Prerenal proteinuri***

Prerenal proteinuri er et resultat av økt innhold av protein i blodplasma. Dette fører til at det blir en forhøyet mengde protein som skilles ut i glomerulusfilteret, og dermed vil det foreligge en økt konsentrasjon av lavmolekylære proteiner i urinen. Dette er imidlertid en reversibel prosess, som vil si at konsentrasjonen i urinen synker når proteininnholdet i blodet normaliseres. Prerenal proteinuri forekommer ved ulike tilstander som muskelskade, intravaskulær hemolyse, infeksjoner, inflammasjon eller myelomatose. De ulike tilstandene fører med seg en konsentrasjonsøkning av ulike proteiner i blodplasma; myoglobulin ved muskelskade, hemoglobin ved intravaskulær hemolyse, akutfaseproteiner ved inflammasjon og infeksjoner, og monoklonale frie lette kjeder, Bence Jones-protein, ved myelomatose. (Brunzel, 2018a)

### ***Renal proteinuri***

Renal proteinuri kan, som tidligere nevnt, forekomme som et resultat av en glomerulær årsak, tubulær årsak eller en kombinasjon av begge. Glomerulær proteinuri opptrer gjerne ved sykdom som fører til endring i glomerulusfilteret, slik at det blir økt utskillelse av plasmaproteiner i primærurinen. Dette vil føre til at den tubulære reabsorpsjonen ( $T_m$ ) vil overskrides, og det vil skilles ut en forhøyet mengde protein i urinen som følge av dette. Glomerulus regnes som selektiv dersom det hindrer passasje av høymolekylære proteiner, og nonsektiv dersom passasjen er fri slik at de høymolekylære proteinene kommer med i primærurinen. Endringen i glomerulusfilteret kan føre til at det ikke holder igjen negativt ladede proteiner slik som albumin, eller andre moderate molekylære proteiner som har lik ladning. (Brunzel, 2018a)

Glomerulær proteinuri er den vanligste formen for proteinuri, men er også klinisk den mest alvorlige. Det forekommer ved primære glomerulære sykdommer eller tilstander som fører til glomerulær skade. Se tabell 1 for de ulike tilstandene som kan føre til glomerulær proteinuri. Mengden protein i urinen er veldig høy, og glomerulær proteinuri kan utvikle seg til tilstanden nefrotisk syndrom, hvor innholdet av protein i urinen vil overskride 3,5 g per dag. Denne tilstanden er en komplikasjon av flere lidelser, og i tillegg til proteinuri foreligger det også hypoalbuminemi, hyperlipidemi, lipiduri og ødem generelt. (Brunzel, 2018a)

*Tabell 1: Viser tilstander som kan føre til glomerulær proteinuri, hvor den glomerulære filtrasjonsbarrieren er defekt.*

<b>Glomerulær proteinuri</b>	
Primære glomerulære sykdommer:	Glomerulonefritt
	Glomerulosklerose
	Nefrotisk syndrom
Glomerulær skade som følge av:	Poststreptokokk glomerulonefritt
	Diabetes mellitus
	Lupus erytematosus
	Amyloidose
	Sigdcelleanemi
	Transplantasjonsavstøtning
	Infeksjonssykdommer (Malaria, Hepatitt B, Endokarditt)
	Svangerskapsforgiftning (Preeklamsi)
	Kreft (Leukemi, Lymfom)
	Narkotika (Penicillamin, Litium)
	Toksiner og forgiftning (tungmetaller)
Forbigående glomerulære forandringer:	Anstrengende fysisk aktivitet
	Feber, dehydrering
	Høyt blodtrykk
	Postural (ortostatisk) proteinuri
	Postpartum
	Forfrysning

Forbigående proteinuri er en betegnelse av mange ulike tilstander som fører til en mild glomerulær proteinuri eller en kombinasjon av glomerulær- og tubulær proteinuri. Dette forekommer imidlertid ved fravær av renale sykdommer, og heller ved tilstander som medfører endringer i den glomerulære blodstrømmen og økt permeabilitet i glomerulus. Det skilles vanligvis ut mindre enn 1 g protein hver dag. Tilstander som ofte fører til denne formen for proteinuri er hard fysisk aktivitet, feber, forfrysning, store emosjonelle påkjenninger, hjertefeil og dehydrering. Forbigående proteinuri vil imidlertid forsvinne av seg selv eller ved hjelp av behandling for den aktuelle tilstanden. Postural (ortostatisk) proteinuri er en form for forbigående proteinuri, og innebærer at protein skilles ut i urinen når en person er i oppreist posisjon. Her skilles det vanligvis ut mindre enn 1,5 g protein hver dag. Tilstanden regnes som benign, men er likevel forbundet med en risiko for å utvikle vedvarende proteinuri. (Brunzel, 2018a)

Tubulær proteinuri forekommer når den normale tubulære reabsorpsjonen er endret eller hindret. Dette vil føre til at plasmaproteiner som vanligvis blir reabsorbtert vil skilles ut i urinen. Det vil si at de lavmolekylære proteinene vil dominere, men det vil også foreligge en forhøyet konsentrasjon av albumin. Albuminkonsentrasjonen er derimot lavere enn hva den er ved glomerulær proteinuri. Dersom det mistenkes at en person har tubulær proteinuri, er det derfor mest gunstig å benytte kvantitativ bestemmelse av totalprotein i urinen. (Brunzel, 2018a)

En rekke tilstander kan føre til tubulær proteinuri, se tabell 2 for en oversikt over de ulike tilstandene. Tubulær proteinuri kan opptre alene, eller, som tidligere nevnt, i sammenheng med glomerulær proteinuri. Dysfunksjon av nyretubuli kan utvikles til en tilstand kalt Fanconi syndrom. Denne tilstanden karakteriseres ved økt utskillelse av aminosyrer, protein, glukose og fosfat i urinen som følge av den defekte tubulære reabsorpsjonen. Vanlige årsaker til Fanconi syndrom kan være tungmetallforgiftning eller arvelig cystinose. (Brunzel, 2018a)

Tabell 2: Viser oversikt over tilstander som kan føre til tubulær proteinuri, hvor den tubulære reabsorpsjonen av protein er defekt.

<b>Tubulær proteinuri</b>
Interstitiell nefritt
Renal tubulær acidose
Renal tuberkulose
Fanconi syndrom
Autoimmune (systemiske) sykdommer: Sarkoidose, Lupus erytematosus, Systinose, Galaktosemi, Wilsons sykdom
Hemoglobinuri
Myoglobulinuri
Narkotika
Toksiner og forgiftning (tungmetaller)
Transplantasjonsavstøtning
Anstrengende fysisk aktivitet

### ***Postrenal proteinuri***

Postrenal proteinuri forekommer ved inflammasjon og andre postrenale årsaker. De inflammatoriske prosessene kan oppstå i ulike deler av urinveiene; i nyrebekkenet, urinlederne, blæren, prostata, urinrøret eller de ytre kjønnsorganene. Andre årsaker til postrenal proteinuri er lekkasje av proteiner fra blod som følge av blødninger eller skade. Det finnes imidlertid noen feilkilder som kan føre til falskt positivt utslag på protein, som for eksempel at urinen er kontaminert med utflod eller sædvæske. (Brunzel, 2018a)

### **1.3 Urinstrimmel-analyser**

Urinstrimler inneholder testfelt for opptil ti parametere, hvor urin kan screenes for pH, protein, glukose, ketoner, blod, bilirubin, urobilinogen, nitritt og leukocytter. Avhengig av hvilken produsent urinstrimmelen har kan også spesifikk vekt og askorbinsyre, vitamin C, bestemmes. De fire mest vanlig brukte urinstrimlene som benyttes på medisinske laboratorier er Multistix, Chemstrips, vChem Strips og Aution Sticks. De fleste

kommersielle urinstrimler består av ett eller flere testfelt, noe som gjør undersøkelsen fleksibel og kostnadsvennlig. (Brunzel, 2018b)

Urinstrimlene består altså av ulike testfelt som inneholder spesifikke reagenser for hver parameter. Ved tilsats av urin vil de kjemiske reaksjonene settes i gang, og dette fører til en fargeendring på testfeltene. Fargeendringene som foreligger kan leses av manuelt eller automatisk. Resultatene angis som konsentrasjon i mg/L, som mengde definert som lite, moderat eller mye, som positivt eller negativt, eller ved å benytte et graderingssystem i form av 1+, 2+, 3+ eller 4+. (Brunzel, 2018b)

Hver pakning med urinstrimler inneholder produsentens pakningsvedlegg, og det består av informasjon om de kjemiske prinsippene for de ulike testfeltene, reagenser, oppbevaring, bruksanvisning, sensitivitet, spesifisitet og begrensninger. For å sikre kvaliteten på urinstrimlene er det viktig at de oppbevares riktig. Urinstrimlene må beskyttes mot fuktighet, varme, lys og kjemikalier. De oppbevares i en mørk og tett beholder for å beskytte dem mot UV-lys og sollys, og den inneholder også tørkemiddel for å unngå fuktighet ved oppbevaring. Urinstrimlene skal oppbevares i originalbeholderen ved temperaturer under 30 grader, og de er egnet til bruk frem til de går ut på dato. De skal imidlertid ikke benyttes dersom de har tegn til skade, fuktighet eller kontaminering, eller dersom de ikke er oppbevart riktig. (Brunzel, 2018b)

Urinstrimmel-analyser er enkle å utføre, men det er viktig at det gjøres på riktig måte for å sikre korrekt prøveresultat. Pakningsvedleggene inneholder, som tidligere nevnt, bruksanvisning for urinstrimlene, og hvordan de ulike urinstrimlene skal leses av varierer ut fra hvilken produsent de har. Urinprøven som skal testes skal være fersk, og den må analyseres innen to timer dersom den oppbevares ved romtemperatur. Dersom den oppbevares i kjøleskap, skal den ha romtemperatur før undersøkelse for å unngå feilkilder. Urinprøven oppbevares i originalbeholderen eller overføres til et sentrifugerør før undersøkelsen. Urinstrimmelen dyppes kort ned i urinen slik at alle testfeltene dekkes med prøvemateriale, og for å fjerne overskuddsvæske dras urinstrimmelen langs kanten av beholderen eller legges på langs med kanten ned mot et absorberende papir. Dette for å unngå at reagenser fra de ulike testfeltene kontaminerer hverandre. En annen feilkilde kan være kontaminering av reagenser til urinprøven dersom urinstrimmelen dyppes langsomt i urinprøven. På denne måten kan testfeltene ødelegges eller svekkes, slik at prøveresultatet som foreligger ikke er korrekt. (Brunzel, 2018b)

Ved manuell avlesning av urinstrimler finnes det ulike tidsintervaller før fullstendig fargeendring har oppstått på testfeltene. Dette avhenger av både produsenten av urinstrimlene, men også av hvilke kjemiske prinsipper som ligger til grunn for testfeltet. De ulike tidsintervallene er definert i bruksanvisningen, og for å vurdere fargeendringen følger det med et fargekart på originalbeholderen. Prøveresultatet bestemmes ut fra de ulike graderingene på fargekartet, men på grunn av risiko for individuelle tolkninger er det viktig at urinstrimmelen leses av i umiddelbar nærhet av fargekartet i et godt opplyst rom. For å unngå denne feilkilden kan automatisk avlesning av urinstrimlene med fordel benyttes fremfor manuell avlesning. (Brunzel, 2018b)

Bruk av urinstrimler i de medisinske laboratoriene har redusert kostnader knyttet til utstyr og reagenser, men også med tanke på personell til å utføre analysene. Før de første urinstrimlene ble utviklet ble alle kjemiske undersøkelser utført hver for seg i reagensrør. Urinstrimmel-analyser har redusert både tidsbruken for analysene og mengde prøvemateriale som benyttes, og de har en mye bedre sensitivitet og spesifisitet enn testmetodene som ble benyttet tidligere. (Brunzel, 2018b)

Det benyttes kontroller for å sikre at urinstrimlene fungerer optimalt, men også for å sørge for at de medisinske laboratoriene opprettholder sine prosedyrer. Kontrollene finnes i to nivåer, en positiv og en negativ, for å undersøke om de kjemiske reaksjonene på testfeltene foregår som de skal. De forskjellige medisinske laboratoriene lager selv prosedyrer på hvor ofte urinstrimlene skal kontrolleres, basert på hvor ofte de benyttes, hva som er anbefalt av produsenten og eksisterende retningslinjer. (Brunzel, 2018b)

#### **1.4 Kjemisk undersøkelse av protein i urin**

Laboratorieundersøkelser av urin er en viktig del i utredningen av pasienter som har påvist nyresykdom, eller som mistenkes å ha nedsatt nyrefunksjon eller nyresykdom. Undersøkelser av urin utføres visuelt, mikroskopisk og kjemisk. Ved kjemisk undersøkelse av urin benyttes det semi-kvantitativ analyse som rutineundersøkelse, og dette gjøres ved bruk av urinstrimler. Urinstrimmel-analyse egner seg godt som screeningundersøkelse ved mistanke om nedsatt nyrefunksjon eller nyresykdom. Ved utredning og kontroll av tilstander med proteinuri kreves det imidlertid kvantitative analysemetoder for bestemmelse av albumin og totalprotein. (Burtis and Bruns, 2015a)



### ***Semi-kvantitativ bestemmelse av protein urin***

Urinstrimmel-analyser er altså en semi-kvantitativ test som benyttes ved screening for sykdommer i nyrene og urinveiene. Urinstrimlene er sensitive for albumin, og derfor kan det foreligge negativt resultat selv om det er tilstedeværelse av andre proteiner i urinprøven. Det første semi-kvantitative feltet i fargeskalaen gir vanligvis utslag ved en albuminkonsentrasjon rundt 300 mg/L, men noen urinstrimler kan også gi fargeomslag ved konsentrasjoner ned mot 60 mg/L. Positivt resultat kan skyldes prerenale, renale eller postrenale årsaker, som omtalt tidligere. (Brunzel, 2018c) (Urdal et al., 2009)

Ved urinstrimmel-analyser kan ulike feilkilder føre til falskt positive resultat eller falskt negative resultat. En svært alkalisk urin (pH over eller lik 9) eller en bufret urin kan føre til at testfeltets bufferkapasitet overskrides, noe som gjør at det vil foreligge et falskt positivt resultat. En annen feilkilde som kan føre til både falskt positivt og falskt negativt resultat er innhold av sterkt fargede substanser i urinen, da disse vil kunne maskere fargeendringen som er dannet på testfeltet. Dette kan for eksempel være inntak av rødbeter, eller bruk av rusmiddel som Fenazopyridin. (Brunzel, 2018c)

### ***Kvantitativ bestemmelse av albumin i urin***

Urinstrimler påviser vanligvis albumin i urin ved høye konsentrasjoner, men ikke ved lavere konsentrasjoner. Kvantitative målinger er derfor det som er best egnet til å bestemme albuminkonsentrasjon i urin. Indikasjonen for å utføre slike målinger er utredning av mistenkt nyresykdom, uavhengig av om eGFR (estimert glomerulær filtrasjonsrate) er normal eller redusert. Målinger skal også gjøres jevnlig for pasienter med diabetes, hypertensjon eller nyresvikt. Albuminkonsentrasjonen i urin viser imidlertid stor variasjon i løpet av et døgn, og standardisert metode med beregning av albumin/kreatinin-ratio i morgenurin er derfor anbefalt. Ved bruk av denne metoden utgis resultatet for albuminuri som mg albumin per mmol kreatinin, og gir et sikrere svar på grunn av at mengden kreatinin som skilles ut i urinen løpet av et døgn er nokså konstant. Kreatininkonsentrasjonen i urin sier derfor noe om hvor fortynnet urinen er, og kan derfor brukes til å vurdere graden av albuminuri. (Waldum-Grevbo, 2019) Etter beregning av albumin/kreatinin-ratio graderes klinisk relevant albuminuri på følgende måte, fremstilt i tabell 3. (Nersund, n.d.)

Tabell 3: Viser gradering av klinisk relevant albuminuri.

Gradering av albuminuri	Albuminkonsentrasjon
Moderat albuminuri	3-29 mg/mmol
Betydelig albuminuri	20-399 mg/mmol
Nefrotisk proteinuri	≥ 300 mg/mmol

Moderat albuminuri forekommer ofte tidlig i forløpet ved diabetisk nyresykdom, når sykdommen fortsatt er reversibel, betydelig albuminuri forekommer ved irreversibel nyresykdom, og nefrotisk proteinuri forekommer ved nefrotisk syndrom. Mengden albumin som skilles ut i urin er, som nevnt, imidlertid noe som varierer fra dag til dag, og albuminuri er ikke nødvendigvis noe som forbindes med nyreskade. (Nersund, n.d.)

Referanseområdet for albumin i urin er likt for kvinner og menn, men ulikt for barn. Området varierer også ut fra hvilken type urinprøve målingene utføres på, og er fremstilt i tabell 4. (Nersund, n.d.)

Tabell 4: Viser referanseområder for albumin i urin.

Referanseområder for albumin i urin	
Spoturin barn < 16 år	< 20 mg/L
Spoturin voksne	< 25 mg/L
Morgenurin	< 2,5 mg/mmol kreatinin
Natt-urin barn < 16 år	< 15 µg/minutt
Natt-urin	< 20 µg/minutt
Døgnurin	< 30 mg/døgn

Som det kan leses i tabell 4 kan resultatet for albuminuri, i tillegg til å oppgis som albumin/kreatinin-ratio, også oppgis i mg/L. De kvantitative resultatene for albuminkonsentrasjon som brukes i denne oppgaven er oppgitt på denne måten.

#### ***Kvantitativ bestemmelse av totalprotein i urin***

Kvantitative målinger av totalprotein i urin utføres ved utredning og kontroll av tilstander som for eksempel nefrotisk syndrom og preeklampsi. Måling av totalprotein kan også utføres som en hjelpevariabel ved proteinelektroforese utført med urin som prøvemateriale. Etter måling tolkes resultatene for eventuell proteinuri til å ha ulike

årsaker; prerenale, renale eller postrenale på følgende måte, fremstilt i tabell 5. (Nersund, n.d.)

*Tabell 5: Viser at proteinuri kan tolkes til å ha prerenale, renale eller postrenale årsaker ut fra konsentrasjon av totalprotein i urinen.*

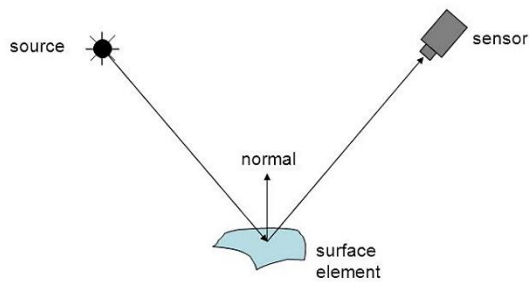
Totalproteinkonsentrasjon	Årsak til proteinuri
0,15-2 g/døgn	Prerenal
0,3-20 g/døgn	Renal, glomerulær
0,15-2 g/døgn	Renal, tubulær
0,3-1 g/døgn	Postrenal

Referanseområdet for protein i urin er likt for kvinner og menn; < 0,15 g/døgn, og verdier over dette indikerer altså proteinuri. (Nersund, n.d.)

### 1.5 Reflektometri

Reflektometri, eller reflektansfotometri, er metoden som brukes til å avlese urinstrimlene i reflektometrene. Et reflektometer består av ulike elektro-optiske komponenter; en lysdiode, et testfelt, en fotodiodedetektor, en analog-til-digital omformer og en PC. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

Metoden reflektometri benytter et prinsipp der lys fra lysdioden bestråler en reaksjonsblanding, her urin, på et testfelt med kjemikalier tilsatt, før mengden reflektert lys fra overflaten av reaksjonsblandingen detekteres og måles. Dette er illustrert i figur 1. Intensiteten til det reflekterte lyset sammenliknes med intensiteten til lys som reflekteres fra en referanseoverflate, og er avhengig av konsentrasjonen av analytten i prøven. Det foreligger imidlertid ingen lineær sammenheng mellom intensiteten til det reflekterte lyset og konsentrasjonen av analytten, og det brukes derfor matematiske logaritmer for å gjøre forholdet mellom refleksjon og konsentrasjon lineært. Kubelka-Munk-likningen eller Clapper-Williams-transformasjonen er de logaritmene som brukes mest. (Burtis and Bruns, 2015b)



*Figur 1: Viser en skjematisk fremstilling av analyseprinsippet for reflektometri.  
 (“Basic Principles of Surface Reflectance - ppt video online download,” n.d.)*

De elektro-optiske komponentene som brukes i reflektometri er grunnleggende de samme som de som brukes i absorpsjonsfotometri, og analyseprinsippene likner hverandre.

Reflektometri brukes imidlertid hovedsakelig som målemetode i tørrkjemi-instrumenter, og geometrien til komponentene er noe annerledes. I et reflektometer er lyskilden og detektoren plassert på samme side av prøven, til forskjell fra i et fotometer der de er plassert på hver sin side. (Burtis and Bruns, 2015b)

Analyseprinsippene for reflektometerne som brukes i denne oppgaven beskrives i detalj i rapportens metodedel. Det samme gjør funksjonen til de ulike elektro-optiske komponentene.

## **1.6 Turbidimetri**

De kvantitative resultatene som anses som fasitverdier i denne oppgaven er funnet etter analyse på Siemens Advia Chemistry XPT, et helautomatisert instrument som kombinerer de tre teknikkene turbidimetri, fotometri og potensiometri. (“ADVIA Chemistry XPT System,” n.d.) I denne oppgaven brukes turbidimetri til å kvantitere konsentrasjonen av albumin i urinprøver.

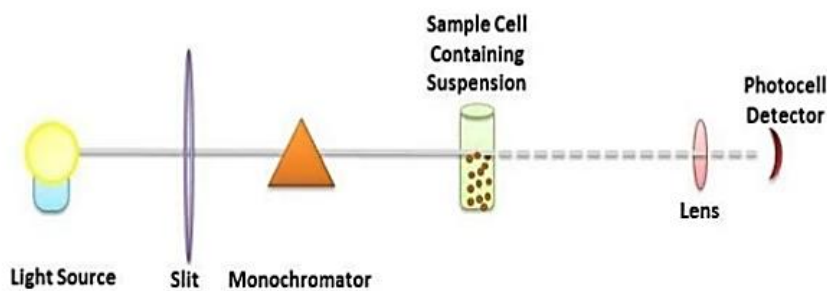
Turbidimetri er en immunologisk analytisk teknikk som brukes for å måle intensiteten til spredt lys som oppstår som følge av interaksjon mellom lys og partikler i en turbid, det vil si blakket, løsning. Teknikken er generelt mye brukt til kvantitering av serumproteiner og terapeutisk overvåking av medikamentbruk, samt kvalitativt til å vurdere om det foreligger falskt negative resultat på urinstrimmel-analyser. (Burtis and Bruns, 2015c) (Burtis and Bruns, 2015d) (Burtis and Bruns, 2015e)

Prinsippet for turbidimetri er altså at lys som sendes fra en lyskilde gjennom en løsning i en kyvette treffer partikler i løsningen, og spres i alle retninger. I et turbidimeter detekteres intensiteten til det spredte lyset i 0 ° vinkel fra lyskilden. Lyset som spres i denne retningen omtales som transmittert lys, og ved å måle dette lyset fotometrisk kan forholdet mellom innsendt lys og transmittert lys fastslås. På denne måten finnes hvor mye av det innsendte lyset som ikke blir transmittert på grunn av lysspredningen, og konsentrasjonen til løsningen som lyset går gjennom kan beregnes. Desto flere partikler som er til stede i en løsning, desto mer vil lyset spres, og desto mindre lys vil nå detektoren som er plassert i 0 ° vinkel fra lyskilden. Det er selve målingen av den svekkede lysintensiteten som kalles turbidimetri, og den defineres som i likningene 1 og 2, der  $t$  = turbiditet,  $b$  = lysveien til innsendt lys gjennom løsningen,  $I$  = intensiteten til transmittert lys og  $I_0$  = intensiteten til innsendt lys. (Burtis and Bruns, 2015c)

$$I = I_0 e^{-bt} \quad (1)$$

$$t = \frac{1}{b} \ln \frac{I_0}{I} \quad (2)$$

Konsentrasjonen av partikler, turbiditeten, i løsningen er altså det som svekker intensiteten til det innsendte lyset etter hvert som det går gjennom løsningen, og denne turbiditeten oppstår ved to tilfeller der det dannes aggregater. Det ene tilfellet er når et reagens tilsettes for å senke løseligheten til proteiner, og det andre er når et antistoff tilsettes et antigen, her proteinet, slik at immunkomplekser og presipitat oppstår in vitro. For at større aggregater skal kunne dannes må protein og antistoff være i tilnærmet likevekt. Dersom enten protein eller antistoff er i betydelig overskudd vil aggregeringen hemmes, og falskt for lave verdier kan oppstå. (Burtis and Bruns, 2015e) Intensiteten til det spredte lyset måles, som nevnt, av et turbidimeter, og ofte kan fotometre eller spektrofotometre brukes som turbidimetre. Turbidimetriske målinger kan enkelt utføres på disse, og det kreves lite optimalisering. Instrumentene består av flere optiske komponenter, og er bygd opp som fremstilt i figur 2.



Figur 2: Viser en skjematisk fremstilling av oppbygningen til instrumenter som utfører målinger på lysspredning. (saikiranyuvi, 02:31:42 UTC)

Det innsendte lyset kommer fra en lyskilde, og til dette brukes ofte kvarts-halogen-lamper, xenon-lamper eller lasere. Kvarts-halogen-lampen produserer lys i den synlige delen av det elektromagnetiske spekteret, det vil si i bølgelengdeområdet 300–700 nm. Fra lyskilden går lyset gjennom en spalte som isolerer en smal lysstråle, før det videre går gjennom en monokromator som isolerer ønsket bølgelengde. Lyset av denne bølgelengden går gjennom kyvetten med prøvemateriale, der lyset spres på grunn av partiklene i materialet. Det transmitterte lyset måles, som nevnt, i  $0^\circ$  vinkel fra lyskilden, og konsentrasjonen av partikler i løsningen kan beregnes ved hjelp av en kalibreringskurve. (Burtis and Bruns, 2015c) (Burtis and Bruns, 2015d)

Utfordringer ved målinger på spredt lys forekommer, og da hovedsakelig som antigenoverskudd og matrix-effekter. Antigenoverskudd gjør seg gjeldende i immunturbidimetriske metoder, der antigen-antistoff-reaksjoner foregår. I denne oppgaven utgjør protein antigenet. Etter hvert som turbiditeten øker når antigen tilsettes antistoff, vil signalet øke til et maksimum før det avtar. Punktet der signalet igjen avtar markerer starten av en fase med antigenoverskudd, og der vil, som nevnt, antigenoverskuddet hemme aggregeringen. I metoder som måler spredt lys må det altså finnes en måte å oppdage antigenoverskudd på, og dette gjøres i turbidimetre ved at data-algoritmer automatisk flagger antigenoverskudd. (Burtis and Bruns, 2015c)

Når det gjelder matrix-effekt, er dette noe som oppstår på grunn av at alle partikler, løsemidler og makromolekyler i serum sprer lys. Lipoproteiner og kyllomikroner i lipemisk serum er de partiklene som står for den høyeste bakgrunns-turbiditeten. Den mest effektive måten å eliminere denne påvirkningen på er å analysere en prøveblank, hvis transmisjonsverdi trekkes fra prøvens transmisjonsverdi. Større partikler, som for eksempel støv, kan også utgjøre en forstyrrende faktor, og tas hånd om ved at alle buffere

og løste antisera filtreres før analysen starter. Enkelte prøver må også sentrifugeres for å fjerne lipider og andre forstyrrende partikler. (Burtis and Bruns, 2015c) (Burtis and Bruns, 2015e)

## 1.7 Spektrofotometri

Til å kvantitere totalproteinkonsentrasjonen i urinprøvene i denne oppgaven ble spektrofotometri brukt på Siemens Advia Chemistry XPT. Spektrofotometri er en analytisk teknikk som brukes for å måle intensiteten til lys ved bestemte bølgelengder, og som benytter et prinsipp der innsendt lys fra en lyskilde passerer gjennom en kyvette som inneholder en løsning med en analytt som ønskes undersøkt. Denne analytten absorberer lys ved en bestemt bølgelengde, mens resten av det innsendte lyset vil transmitteres. Transmisjonen defineres som i likning 3, der  $T$  = transmisjon,  $I$  = intensiteten til transmittert lys og  $I_0$  = intensiteten til innsendt lys. (Burtis and Bruns, 2015f)

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3)$$

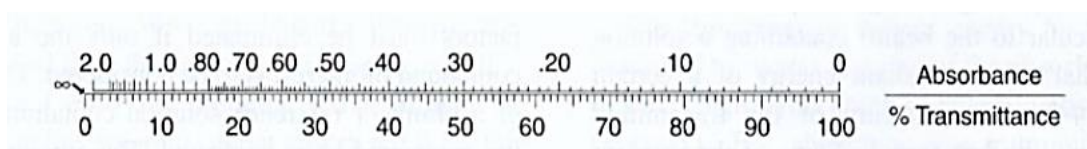
I tillegg til at noe av det innsendte lyset vil absorberes av analytten, vil det også være andre årsaker til at ikke alt lys transmitteres. Noe av lyset kan bli reflektert av kyvetteoverflaten, absorbert av kyvetteveggen eller absorbert av eventuelle interferenter i prøvematerialet. I et dobbeltstrålefotometer brukes en referansekyvette for å eliminere påvirkningen fra disse faktorene på absorbansverdien til analytten. Dette gjøres ved at absorbansen som registreres i referansekyvetten trekkes fra absorbansen som registreres i kyvetten med analytten i beregninger av analyttens konsentrasjon. (Burtis and Bruns, 2015f) I automatisert fotometri brukes imidlertid bare enkeltstrålefotometre, og i de vil påvirkningen til eventuelle interferenter elimineres på en annen måte. Dette gjøres ved bruk av bikromatisk avlesning, hvor to ulike bølgelengder benyttes; én primærbølgelengde og én sekundærbølgelengde. Primærbølgelengden er den bølgelengden der analytten har høyest absorbans, mens sekundærbølgelengden er den bølgelengden der interferenten har høyest absorbans. For å finne absorbansen som kun utgjøres av den absorberende analytten trekkes absorbansen som registreres for sekundærbølgelengden fra absorbansen som registreres for primærbølgelengden. Dette er fremstilt i likning 4, der  $\lambda_1$  = primærbølgelengde og  $\lambda_2$  = sekundærbølgelengde. Bikromatisk avlesning kan også eliminere påvirkning fra variasjoner i lampespenning. (Kjøbli, 2019)

$$A_{\text{målt}} = A_{\lambda 1} - A_{\lambda 2} \quad (4)$$

Dersom det innsendte lyset hadde gått gjennom kyvetten med prøvemateriale uten at noe lys hadde blitt absorbert ville 100 % av lysintensiteten vært bevart gjennom kyvetten. Det ville da vært et tilfelle av 100 % transmisjon. Dette vil ikke være tilfelle i de fleste analyser, og intensiteten til lyset som transmitteres gjennom kyvetten med prøvemateriale benevnes i prosent, sammenliknet med 100 % transmisjon. Sammenhengen mellom absorbans og transmisjon defineres som i likning 5, der A = absorbans og T = transmisjon. (Burtis and Bruns, 2015f)

$$A = - \log T \quad (5)$$

Figur 3 viser videre at skalaene for henholdsvis absorbans og prosent transmisjon følgelig ikke er proporsjonale.



Figur 3: Viser sammenhengen mellom skalaen for henholdsvis absorbans og prosent transmisjon. (Bach, 2018)

Absorbans kan også defineres ut fra Beers lov, som sier følgende:

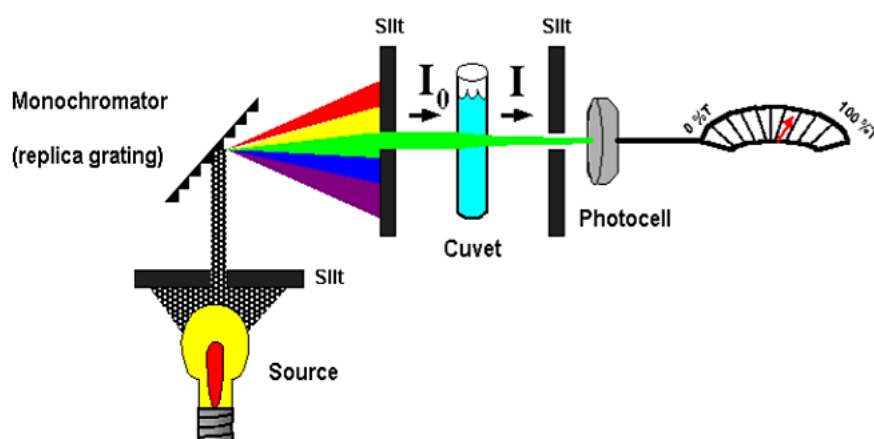
$$A = a \cdot b \cdot c$$

Her er A = absorbans, a = proporsjonalitetskonstanten molar absorptivitet, b = lysvei oppgitt i cm og c = konsentrasjon av absorberende analytt, ofte oppgitt i g/L. Altså er absorbansen i en prøveløsning direkte proporsjonal med konsentrasjonen av analytten som ønskes undersøkt i prøveløsningen, da både den molare absorptiviteten og lysveien er konstante verdier i den enkelte analyse. I virkeligheten gjelder den direkte proporsjonale sammenhengen bare for konsentrasjons- og absorpsjonsverdier opp til et visst nivå. Opp til dette nivået er kurven som fremstiller sammenhengen mellom konsentrasjon og absorbans lineær, og så lenge målte verdier for analytten havner innenfor dette området kan svar gis ut. Havner analytten utenfor området er ikke svaret nødvendigvis til å stole på. (Burtis and Bruns, 2015f)

Moderne instrumenter for spektrofotometriske målinger isolerer en enkelt bølgelengde fra lyskilden som brukes til undersøkelse av analytten i kyvetten. Valgt bølgelengde er



primærbølglengden, og ligger altså rundt analyttens absorpsjonsmaksimum, og i tillegg ligger en annen isolert bølgelengde, sekundærbølglengden, rundt eventuelle interfererende stoffers absorpsjonsmaksimum. Instrumenter som bruker filter til å isolere bølgelengdeområdet kalles filterfotometre, mens instrumenter som bruker prismer eller gitter kalles spektrofotometre. Et enkeltstrålefotometer er en type spektrofotometer, og består hovedsakelig av komponentene som er vist i figur 4.



Figur 4: Viser en skjematisk fremstilling av oppbygningen til et enkeltstrålespektrofotometer. (“Automatisert fotometri,” 2018)

Lyskilden, ofte en tungsten-lampe, sender ut lys med bølgelengder i hele det elektromagnetiske spekteret, som videre går gjennom en spalte som isolerer en smal lysstråle, og en monokromator som isolerer ønsket bølgelengde. Deretter går lyset gjennom kuvetten som inneholder en løsning med den absorberende analytten som ønskes undersøkt, og lys av den bestemte bølgelengden absorberes. Hvor stor absorpsjonen er avhenger av analyttens natur og konsentrasjon. Lyset som ikke absorberes passerer videre gjennom kuvetten, og detekteres av en detektor. Detektoren konverterer lys-energien til elektrisk energi, og signalet kan fremstilles digitalt. (Burtis and Bruns, 2015f)

### 1.8 Probit-regresjon

Probit-regresjon er et statistisk verktøy som brukes til å fremstille sannsynligheten for positivt prøveresultat som funksjon av analyttkonsentrasjon, her proteinkonsentrasjon. I urintrimmel-analyser graderes positive resultater for protein som 1+, 2+, 3+ eller 4+, ut fra hvor stor den bakenforliggende proteinkonsentrasjonen er. Hver gradering

representerer et konsentrasjonsnivå, og for hvert av disse kan andelen positive prøveresultater beregnes. Sannsynligheten for positivt prøveresultat bestemmes ut fra en viss grense, og den konsentrasjonen som gir 50 % sannsynlighet for positive prøveresultat ( $C_{50}$ ) anses som omslagspunkt. Dette punktet vil utgjøre et skille mellom negative og positive prøveresultater. Med utgangspunkt i dette kan det forklares at konsentrasjoner under den konsentrasjonen som gir 5 % sannsynlighet for positive prøveresultat ( $C_5$ ) vil gi negative prøveresultat, og konsentrasjoner over den konsentrasjonen som gir 95 % sannsynlighet for positive prøveresultat ( $C_{95}$ ) vil gi positive prøveresultat. (Åsberg et al., 2016)

Ved å bruke probit-regresjon kan et funksjonsuttrykk som beskriver sannsynligheten for å få positivt prøveresultat som funksjon av proteinkonsentrasjon bestemmes, og det er presentert i likning 6. Der er  $p$  = sannsynligheten for positivt resultat og  $\Phi(\beta_0 + \beta_1 * x)$  = den kumulative sannsynlighetsfunksjonen av standard normalfordeling. (Åsberg et al., 2016)

$$p = \Phi(\beta_0 + \beta_1 * x) \quad (6)$$

Videre kan funksjonsuttrykket i likning 6 også presenteres som i likning 7. (Åsberg et al., 2016)

$$\text{probit}(p) = \Phi^{-1}(p) = \beta_0 + \beta_1 * x \quad (7)$$

Med det blir  $z = \beta_0 + \beta_1 * x$ .  $z$  er da en lineær prediksjonsfunksjon hvis verdi anslår probit ( $p$ ).  $\beta_0$  og  $\beta_1$  er parametere som estimeres med maksimal sannsynlighet, og gir dermed henholdsvis estimatene  $b_0$  og  $b_1$ . Sannsynligheten for positivt resultat er så gitt ved standard normalfordeling, der en  $z$ -verdi på -1,6449 tilsvarer en sannsynlighet på 0,05, en  $z$ -verdi på 0 tilsvarer en sannsynlighet på 0,5 og en  $z$ -verdi på 1,6449 tilsvarer en sannsynlighet på 0,95, for å nevne noen.  $C_{50}$  er den proteinkonsentrasjonen som gir 50 % sannsynlighet for positivt resultat, det vil si en sannsynlighet på 0,5 for positivt resultat. Dette tilsvarer  $z$ -verdien 0, og av det fremkommer likningene 8 og 9. (Åsberg et al., 2016)

$$0 = b_0 + b_1 * C_{50} \quad (8)$$

$$C_{50} = -b_0/b_1 \quad (9)$$

Generelt vil det være slik at det ved en sannsynlighet  $p$  for positivt resultat, foreligger en proteinkonsentrasjon som kan beskrives som  $(z_p - b_0)/b_1$ , der  $z_p$  er  $z$ -verdien til

sannsynligheten  $p$ . Hvis det kontinuerlige målesignalet som ligger bak de binære resultatene er normalfordelt ved en bestemt proteinkonsentrasjon kan videre standardavviket til det kontinuerlige målesignalet estimeres som  $1/b_1$ . (Åsberg et al., 2016)

I tillegg til å beskrive sannsynligheten for positivt prøveresultat og å finne deteksjonsgrensen, brukes altså probit-regresjon også til å anslå standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat, samt til å anslå sannsynligheten for å få et spesifikt semi-kvantitativt prøveresultat på urinstrimmelen. Dette er beregninger som sier noe om det analytiske ytelsesnivået til kvalitative og semi-kvantitative tester, og probit-regresjon og responskurver er derfor et nyttig verktøy i analysearbeid. (Åsberg et al., 2016)

Sannsynligheten for å få et spesifikt semi-kvantitativt prøveresultat på urinstrimmelen og andelen positive prøveresultat for hvert konsentrasjonsnivå er ikke noe som anslås i denne oppgaven. I stedet vurderes alle prøveresultatene, som nevnt, ut fra deteksjonsgrensen enten til å være positive eller til å være negative.

## **1.9 Problemstilling**

Denne oppgaven er gitt av Avdeling for medisinsk biokjemi ved St. Olavs hospital, og har som formål å undersøke responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Dette gjøres med utgangspunkt i et datamateriale fra en sammenlikningsstudie utført høsten 2019, der semi-kvantitative resultater for protein funnet på reflektometrene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100 ble sammenliknet med kvantitative resultater for albumin og totalprotein funnet på Siemens Advia Chemistry XPT. Ved å bearbeide datamaterialet statistisk skal sannsynligheten for positivt prøveresultat som funksjon av proteinkonsentrasjonen fremstilles i en responskurve. Det analytiske ytelsesnivået til urinstrimmelen vil slik kunne vurderes ved å finne den konsentrasjonen som gir omslag til positivt prøveresultat, samt den konsentrasjonen som gir 90 % sannsynlighet for positivt prøveresultat.

Med utgangspunkt i oppgavens formål har vi satt opp følgende problemstilling: *«Hvor god er analysekvaliteten til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M sammenliknet med det som er angitt av produsenten, vurdert ut fra de resultatene urinstrimmelen gir ved avlesning på to ulike reflektometre?»*

## 2 MATERIALE OG METODE

### 2.1 Prøvemateriale

I sammenlikningsstudien som denne oppgaven baserer seg på, ble urinprøvene analysert på tre ulike måter. Ved bruk av urinstrimler ble de analysert semi-kvantitativt for bestemmelse av protein i urin, ved bruk av automatisert turbidimetri ble de analysert kvantitativt for bestemmelse av albumin i urin, og ved bruk av automatisert fotometri ble de analysert kvantitativt for bestemmelse av totalprotein i urin. Urinprøvene som ble analysert var av typen spoturin, og med det menes en tilfeldig midtstråle-urinprøve. Når det gjelder innsamling og oppbevaring av urinprøvene som ble analysert, var det visse retningslinjer som måtte følges for å få et mest mulig pålitelig resultat. Holdbarheten til urinprøvene var 14 dager ved 4 °C, eller opp til 5 måneder ved -70 °C. Før analysering måtte prøvene blandes ordentlig, samt også sentrifugeres før kvantitativ bestemmelse av albumin og totalprotein. Prøvematerialet skulle ikke inneholde blod eller partikler, og det trengte ikke å tilsettes konserveringsmidler. Det skulle være så ferskt som mulig, og det skulle også være fritt for fibrin og bobler. (Nersund, n.d.) (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Microalbumin\_2 (μALB\_2),” n.d.) (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Total Protein\_2 (Urine) (UPRo\_2),” n.d.)

### 2.2 Kalibratorer, kontroller og reagenser

I sammenlikningsstudien ble tre ulike instrumenter brukt; Roche Cobas u411, Roche Urisys 1100 og Simens Advia Chemistry XPT. Ved bruk av disse ble ulike kalibratorer, kontroller og reagenser benyttet, og de som er aktuelle for studien og denne oppgaven er listet opp i tabellene 6, 7 og 8.

### **Kalibratorer**

Tabell 6: Viser informasjon om kalibratorene som ble benyttet ved bruk av instrumentene Roche Cobas u411, Roche Urisys 1100 og Simens Advia Chemistry XPT. ("Combur 10 M teststrip - Pakningsvedlegg," 2013) (Aakvik, n.d.) (Nersund, n.d.) ("SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Microalbumin\_2 ( $\mu$ ALB\_2)," n.d.) ("SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Total Protein\_2 (Urine) (UPRo\_2)," n.d.)

Analyse	Produktnavn	Produsent	Holdbarhet	Kalibreringsintervall
Urinstriemel-analyse på Roche Cobas u411	Control-Test M kalibreringsstriemel	Roche	Ikke oppgitt	Ved nytt lotnummer på urinstrimler
Urinstriemel-analyse på Roche Urisys 1100	Control-Test M kalibreringsstriemel	Roche	30.04.23	Ukentlig
Mikroalbumin på Siemens Advia Chemistry XPT	ADVIA Chemistry Microalbumin_2 Calibrators	Siemens	14 dager i kjøleskap	Ved nytt lotnummer på reagens eller ved behov
Totalprotein på Siemens Advia Chemistry XPT	ADVIA Chemistry Urine Total Protein Calibrator	Siemens	21 dager i kjøleskap	Ved nytt lotnummer på reagens eller ved behov

### **Kontroller**

Tabell 7: Viser informasjon om kontrollene som ble benyttet ved bruk av instrumentene Roche Cobas u411, Roche Urisys 1100 og Siemens Advia Chemistry XPT. (Aakvik, n.d.) (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Microalbumin\_2 (μALB\_2),” n.d.) (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Total Protein\_2 (Urine) (UPRo\_2),” n.d.)

Analyse	Produktnavn	Produsent	Holdbarhet	Kontrollintervall
Urinstrimmel-analyse på Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100	Liquicheck Urinalysis Control, level 1 og level 2	Bio-Rad	31.03.21	Ukentlig
Mikroalbumin på Siemens Advia Chemistry XPT	Seronorm Urine, level 1 og level 2	SERO	28 dager i kjøleskap	Én gang per døgn
Totalprotein på Siemens Advia Chemistry XPT	Liquicheck Spinal Fluid Control, level 1 og level 2	Bio-Rad	30 dager i kjøleskap	Én gang per døgn

### **Reagenser**

Tabell 8: Viser informasjon om reagensene som ble benyttet ved bruk av instrumentet Siemens Advia Chemistry XPT. (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Microalbumin\_2 (μALB\_2),” n.d.) (“SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Total Protein\_2 (Urine) (UPRo\_2),” n.d.)

Analyse	Produktnavn	Produsent	Holdbarhet
Mikroalbumin på Siemens Advia Chemistry XPT	ADVIA Chemistry Microalbumin_2 (μALB_2) Reagenser	Siemens	I uåpnet tilstand: Til utløpsdato I åpnet tilstand: 45 dager
Totalprotein på Siemens Advia Chemistry XPT	ADVIA Chemistry Total Protein_2 (Urine) (Upro_2) Reagens	Siemens	I uåpnet tilstand: Til utløpsdato I åpnet tilstand: 60 dager

Reagensene som ble benyttet ved bruk av instrumentene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100 ligger i urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M, og er ikke oppført i tabellen. De omtales i avsnittet til urinstrimmelen i kapittel 2.3.

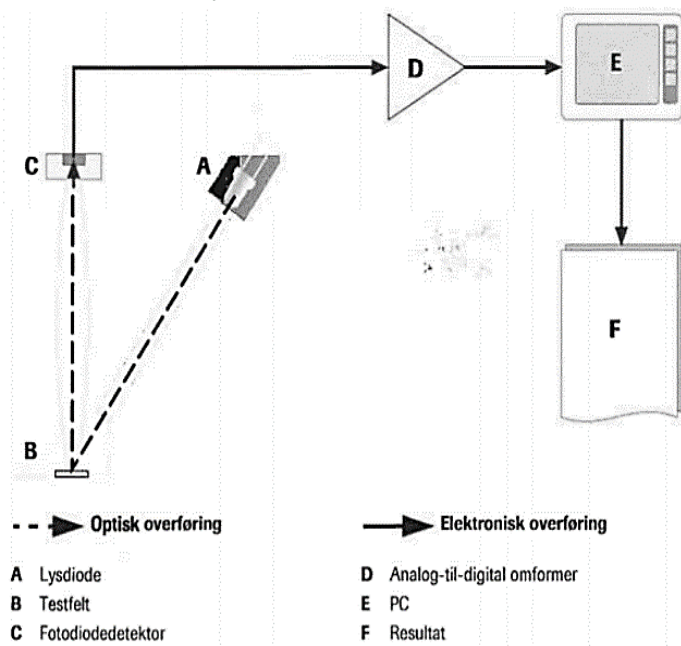
### 2.3 Instrumenter

Bruk av automatiske urinstrimmelavlesere er med på å standardisere avlesningsforholdene for urinstrimler, og vil dermed bidra til å unngå feilkilder som kan oppstå ved manuell avlesning. I denne oppgaven ble de to automatiske urinstrimmelavleserne Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100 brukt, to reflektometre som er bygd opp på omtrent samme måte, og baserer seg på omtrent de samme analyseprinsippene. Den største forskjellen mellom de to er inkubasjonstiden før avlesning, og at de har ulike PC-moduler. Generelt er også Roche Cobas u411 et større laboratorieinstrument med PC-del som kan lagre resultater, mens Roche Urisys 1100 er et mindre og enklere instrument.

Veien fra reflektert lys til ferdige semi-kvantitative prøveresultater i de to reflektometrene er beskrevet i de følgende avsnittene, og omfatter analyseprinsipper, hvordan detekterte signaler bearbeides og hvordan målte verdier behandles.

#### ***Roche Cobas u411***

Roche Combur<sup>10</sup>Test M teststrimmel har elleve testfelt som det gjøres målinger på ved hjelp av reflektert lys som måles elektro-optisk. I Roche Cobas u411 skjer dette ved at forskjellige lysdioder med lysrør bestråler overflaten til testfeltene på strimmelen med lys av bestemte bølgelengder. Når lyset treffer testfeltet blir det reflektert, og intensiteten til det reflekterte lyset avhenger av fargen som har oppstått på testfeltet i kontakt med urinen. En fotodiodedetektor er plassert rett over testfeltene, og detekterer lyset som reflekteres. Fotodiodedetektoren overfører så et analogt elektrisk signal til en analog-til-digital omformer, og det analoge signalet blir gjort om til en digital verdi, som så konverteres til et semi-kvantitativt prøveresultat i PC'en. Analyseprinsippet som er beskrevet er illustrert i figur 5. ("Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0," n.d.)



Figur 5: Viser analyseprinsippet for Roche Cobas u411. (“Urisys 1100 - Operator’s manual V 7.0,” n.d.)

Bølgelengdene til lyset som sendes fra lysdiodene er optimalisert ut fra fargeutviklingen som oppstår på de ulike testfeltene, og for måling av protein brukes bølgelengden 620 nm. Lyset treffer alle de elleve testfeltene på teststrimmelen, og reflekteres til fotodiodedetektoren via en linse. Hvert enkelt av de elleve testfeltene har hver sin linse og fotodiode, og refleksjonen fra hvert testfelt blir på denne måten vurdert hver for seg. Parameterne som undersøkes på de elleve testfeltene er spesifikk vekt, pH, leukocytter, nitritt, protein, glukose, ketoner, urobilinogen, bilirubin, erytrocytter og farge. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.) Testeltet for farge består ikke av reagenser, og måler ingen analytt. Dets funksjon er kun å kompensere for urinens egenfarge ved undersøkelse av de ti øvrige parameterne. (“Combur 10 M teststrip - Pakningsvedlegg,” 2013) Parameteren spesifikk vekt gis ikke ut ved avdeling for medisinsk biokjemi på St. Olavs hospital. (Aakvik, n.d.)

Før måling av teststrimmelen plasserer fotometeret seg i sin utgangsposisjon over en referanseteststrimmel, og hver gang en teststrimmel plasseres på instrumentet og føres til måleposisjon, vil det først foretas en måling av denne referanseteststrimmelen. Deretter, etter cirka 60 sekunder inkubasjon, plasserer fotometeret seg over teststrimmelen og utfører målinger på hvert enkelt testfelt, som fortløpende blir truffet av lys med optimalisert(e) bølgelengde(r). Denne målingen av referanseteststrimmel ved hver måling



av teststrimmel fungerer som en kvalitetssikring av målesystemet, da måleresultatene fra teststrimmelen kontinuerlig kan sammenliknes med måleresultatene fra referanseteststrimmelen. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

Lys fra rommet er et forhold som kan påvirke målingen av teststrimmelen i reflektometeret. Denne påvirkningen ekskluderes ved at en «mørk verdi» tas med i beregningene som gjøres ved hver måling av referanseteststrimmelen og teststrimmelen. Den «mørke verdien» måles når lysdiodene er slått av, og vil derfor kun bestå av interfererende lys fra omgivelsene. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

Når det reflekterte lyset skal overføres til digitale verdier av den analog-til-digitale omformerer blir fotodiodens signaler bearbeidet elektronisk. De digitale verdiene kan brukes av PC'en for å beregne resultatet, og disse foreligger for hvert enkelt testfelt etter at de målte verdiene for referanseteststrimmelen og teststrimmelen har blitt behandlet av fotometeret og justert med den «mørke verdien». (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

Kalibrering av målesystemet gjøres for å kunne måle absolutt refleksjon, og dette gjøres ved å bruke en referanseteststrimmel, Control-Test M kalibreringsstrimmel, med kjente refleksjonsverdier. Det opprettes slik en «hvit balanse» ved å utlikne de målte verdiene for referanseteststrimmelen og teststrimmelen mot de kjente verdiene til referanseteststrimmelen som ble brukt til kalibrering. (“Combur 10 M teststrip - Pakningsvedlegg,” 2013) (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

I tillegg til lys fra rommet, kan også egenfarge på urinen påvirke målingen av teststrimmelen i reflektometeret. Egenfargen kan interferere med fargeendringen som skal skje på de ulike testfeltene, og ekskluderes ved å måle et kompenseringfelt på teststrimmelen ved beregning av resultat. Urinens egenfarge bestemmes da ved å vurdere verdiene for refleksjon fra kompensasjonsfeltet for de(n) optimaliserte bølgelengde(n). Ved å gjøre dette kan falske positive resultater unngås ved sterkt farget urin. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

Når beregnede refleksjonsverdier brukes til bestemmelse av konsentrasjonen for de ulike parameterne på teststrimmelen brukes en klassifikasjonstabell, også kalt områdetabell. Denne klassifiserer refleksjonsverdiene i konsentrasjonsområder. Hvert konsentrasjonsområde er definert av en grenseverdi, en refleksjonsverdi. Beregnede refleksjonsverdier fra hvert testfelt blir sammenliknet med disse grenseverdiene, og blir

på denne måten tildelt et konsentrasjonsområde. Hvert testfelt får altså et konsentrasjonsområde, og den målte refleksjonsverdien blir konvertert til et semi-kvantitativt resultat. Konsentrasjonsområdene for protein og farge vises i tabell 9. (“Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0,” n.d.)

*Tabell 9: Viser konsentrasjonsområdene som er tildelt testfeltet for protein og testfeltet for farge.*

Analyseparameter	Område (konvensjonelt)	Område (SI)	Område (arbitrært)
Proteiner	Negativ	Negativ	Negativ
	25 mg/dL	0,25 g/L	1+
	75 mg/dL	0,75 g/L	2+
	150 mg/dL	1,50 g/L	3+
	500 mg/dL	5,00 g/L	4+
Farge	Svakt gul	Svakt gul	Svakt gul
	Gul	Gul	Gul
	Gulbrun	Gulbrun	Gulbrun
	Brun	Brun	Brun
	Oransje	Oransje	Oransje
	Rød	Rød	Rød
	Grønn	Grønn	Grønn
	Andre	Andre	Andre

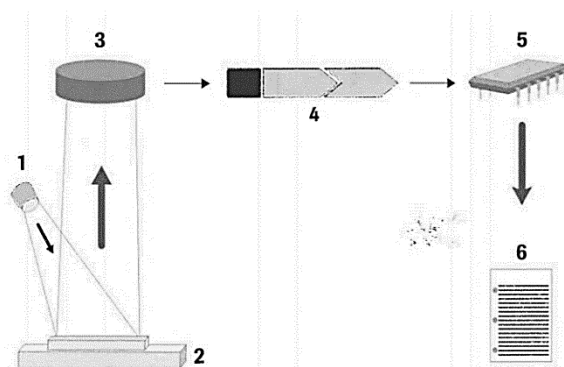
### ***Roche Urisys 1100***

I Roche Urisys 1100 skjer den elektro-optiske målingen av det reflekterte lyset, som nevnt, på så å si samme måte som i Roche Cobas u411. Målingen starter ved at teststrimmelen legges i en teststrimmelholder, og føres inn i instrumentet ved hjelp av en motor. Den plasseres i måleposisjon under en stasjonær avlesningsenhet, som etter 55-65 sekunders inkubasjon, først leser av et referansefelt på teststrimmelholderen, og deretter hvert enkelt testfelt på teststrimmelen. Første felt avleses etter 55 sekunder og siste felt avleses etter 65 sekunder. Avlesningsenheten inneholder en lysdiode som sender lys med bestemte bølgelengder til overflaten på alle testfeltene på teststrimmelen. Lyset reflekteres når det treffer testfeltet, og intensiteten avhenger også her av fargen som har oppstått på testfeltet i kontakt med urinen. Det reflekterte lyset detekteres av

fotodiodedetektoren, en fototransistor, som sender et analogt elektrisk signal til en analog-til-digital omformer. Det analoge signalet blir gjort digitalt, før det i en mikroprosessor konverteres til en relativ refleksjonsverdi ved å referere til kjente verdier fra en kalibreringsstandard. (“Urisys 1100 - Operator’s manual V 7.0,” n.d.)

Dersom Roche Urisys 1100 brukes som urinstrimmelavleser ved avdelinger på St. Olavs hospital brukes kun teststrimmelholder merket C5, da denne tilhører Roche Combur<sup>10</sup>Test M teststrimler. (Aakvik, n.d.)

Analyseprinsippet som er beskrevet er illustrert i figur 6.



Figur 6: Viser analyseprinsippet for Roche Urisys 1100.

- |                      |   |
|----------------------|---|
| 1) Lysdiode          | 4) Analog-til-digital omformer  |
| 2) Testfelt          | 5) Mikroprosessor   |
| 3) Fotodiodedetektor | 6) Semi-kvantitativt resultat (“Urisys 1100 - Operator’s manual V 7.0,” n.d.) |

Sterkt alkalisk urin er her et forhold som kan påvirke målingen av teststrimmelen i reflektometeret. Ved analysering av slik urin vil det gjøres korrigeringer på testfeltet for spesifikk vekt. (“Urisys 1100 - Operator’s manual V 7.0,” n.d.)

Det siste som gjøres i målingen av teststrimler på Roche Urisys 1100 er at de målte refleksjonsverdiene vurderes ut fra definerte konsentrasjonsområder, og konverteres til et semi-kvantitativt resultat. Konsentrasjonsområdet for protein er det samme som ved avlesning på Roche Cobas u411, og vises i tabell 10. (“Urisys 1100 - Operator’s manual V 7.0,” n.d.)

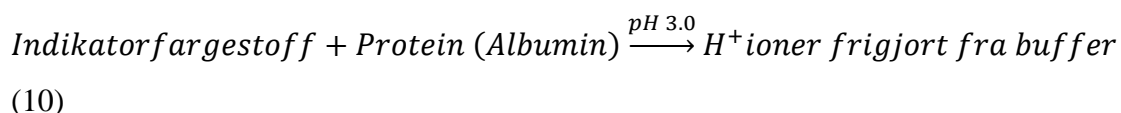
Tabell 10: Viser konsentrasjonsområdet som er tildelt testfeltet for protein.

Analyseparameter	Område (konvensjonelt)	Område (SI)	Område (arbitrært)
Proteiner	Negativ	Negativ	Negativ
	25 mg/dL	0,25 g/L	1+
	75 mg/dL	0,75 g/L	2+
	150 mg/dL	1,5 g/L	3+
	500 mg/dL	5,0 g/L	4+

### **Roche Combur<sup>10</sup>Test M**

Roche Combur<sup>10</sup>Test M er, som nevnt, den urinstrimmelen som ble brukt i denne oppgaven. Den er ikke ett instrument i seg selv, men en sentral komponent i den reflektometriske avlesningen av urinstrimlene i reflektometrene. Urinstrimmelen består av testfelt for ti parametere, og på disse skjer ulike kjemiske reaksjoner som er med på å semi-kvantitere konsentrasjonen av de ulike parameterne. Testfeltet for protein er det som er av interesse i denne oppgaven, og analyseprinsippet for semi-kvantitering av protein på dette feltet er følgelig det som vil bli beskrevet i avsnittet under.

Testfeltet for protein består av indikatorfargestoffer og en buffer med pH 3,0. Bufferen sørger for at pH holdes konstant, og indikatorfargestoffene vil føre til fargeendring ved tilstedeværelse av protein i prøven. Dette skjer ved at H<sup>+</sup>-ioner (hydrogenioner) i bufferen frigjøres, og proteinene vil fungere som hydrogenreseptor. Fargeendringen som dannes på testfeltet vil avhenge av mengden frigjorte H<sup>+</sup>-ioner fra bufferen, og dette avhenger igjen av proteinkonsentrasjonen i prøven. Det vil si at intensiteten til fargeendringen har direkte sammenheng med analytten i prøven, altså konsentrasjonen av protein. Reaksjonen som skjer på testfeltet er vist i likning 10. (Brunzel, 2018c)



### **Siemens Advia Chemistry XPT**

Siemens Advia Chemistry XPT er et helautomatisert klinisk kjemi-instrument som brukes til in vitro-diagnostikk. Instrumentet har høy produktivitet, og kan på det meste analysere 2400 prøver per time. Prøvemateriale som kan undersøkes er serum, plasma, urin, fullblod og spinalvæske, og teknologi som utnyttes er fotometri, turbidimetri eller

ioneselektive elektroder. I denne oppgaven ble Siemens Advia Chemistry XPT brukt til å analysere urinprøver, og kvantitere konsentrasjonen av albumin og totalprotein i dem. Det ble benyttet to ulike metoder for å analysere albumin og totalprotein i urinprøvene. Albumin ble analysert turbidimetrisk, mens totalprotein ble analysert spektrofotometrisk. De generelle analyseprinsippene for turbidimetri og spektrofotometri, samt funksjonene til komponenter i generelle turbidimetre og spektrofotometre er beskrevet i rapportens innledning. De spesifikke metodene som ble benyttet til turbidimetrisk og spektrofotometrisk analyse i Siemens Advia Chemistry XPT er derimot beskrevet i avsnittene under. (“ADVIA Chemistry XPT System,” n.d.)

### *Albumin*

Analyseprinsippet for kvantitativ måling av albumin, mikroalbumin, i urin på Siemens Advia Chemistry XPT baserer seg på polyetylen glykol-forbedret immunturbidimetri. Dette innebærer at albumin som er til stede i urinprøven reagerer med et spesifikt albumin-antistoff som gir en blakket, turbid, løsning. Denne oppståtte turbiditeten måles fotometrisk ved 340 nm, og er proporsjonal med albumin-konsentrasjonen i urinprøven. Det benyttes to reagenser i metoden; R1 (reagens 1) og R2 (reagens 2), og de inneholder det som trengs for at reaksjonen skal kunne skje når de kommer i kontakt med prøven. R1 inneholder polyetylen glykol og  $\text{NaN}_3$  (0,09 %), og R2 inneholder anti-humant albumin (geit) og  $\text{NaN}_3$  (0,09 %). R1 tilsettes i volum 80  $\mu\text{L}$  og R2 tilsettes i volum 10  $\mu\text{L}$ . Den immunturbidimetriske reaksjonen skjer ved 37 °C, og registreres ved endepunktsavlesning, altså ved bruk av to absorbansavlesninger; ett i analysens første avlesningspunkt og ett i analysens siste. Absorbansøkningen finnes etter likning 11. (Nersund, n.d.)

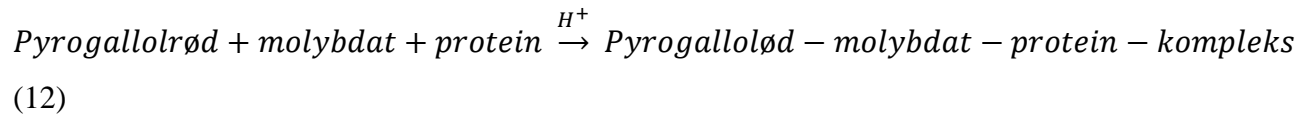
$$\Delta\text{Abs} = \text{Abs}_{\text{Siste}} - \text{Abs}_{\text{Første}} \quad (11)$$

Etter at absorbansendringen er målt bestemmes konsentrasjonen ved hjelp av en 6-punkts kalibreringskurve som lages ved å analysere kalibratorer med kjente konsentrasjoner. Absorbansverdiene til disse kalibratorene utgjør grunnlaget for kalibreringskurven som prøvene leses av mot. Metodens måleområde og avlesningsområde er det samme; 8-446,6 mg/L. (Nersund, n.d.)

### *Totalprotein*

Analyseprinsippet for kvantitativ måling av totalprotein i urin på Siemens Advia Chemistry XPT baserer seg på en pyrogallolrød-molybdat-metode. Dette innebærer at

pyrogallol-molybdat bindes til aminogrupper på proteinene som er basiske i surt miljø. Denne bindingen fører til en absorbansendring som måles spektrofotometrisk ved 596/694 nm, og er proporsjonal med totalproteinkonsentrasjonen i prøven over et visst tidsrom. Reaksjonen som er beskrevet over vises i likning 12. (Nersund, n.d.)



Det benyttes ett reagens i metoden; R1 (reagens 1), og det inneholder det som trengs for at reaksjonen skal kunne skje når det kommer i kontakt med prøven. Reagenset tilsettes i volum 80 µL, og inneholder pyrogallolrød (79,8 µmol/L), natriummolybdat (91 µmol/L), buffer, surfaktanter og konserveringsmiddel. Reaksjonen skjer ved 37 °C, og registreres også ved endepunktsavlesning. (Nersund, n.d.)

Etter at absorbansendringen er målt bestemmes konsentrasjonen ved hjelp av en 2-punkts kalibreringskurve. Metodens måleområde er 0,03-5,00 g/L, mens avlesningsområdet, eller lineært område, er 0,011-1,25 g/L. (Nersund, n.d.)

### 3 RESULTATER

Målet med denne oppgaven var å undersøke responskurven til testfeltet for protein for urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Dette ble gjort med utgangspunkt i et datamateriale fra en sammenlikningsstudie utført høsten 2019 på St. Olavs hospital ved seksjon prøvetaking og pasientnær analyse. Studien sammenliknet semi-kvantitative strimmelresultater fra avlesning på reflektometrene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100 med kvantitative resultater for albumin og totalprotein fra de samme prøvene, analysert på Siemens Advia Chemistry XPT. Datamaterialet ble behandlet ved bruk av probit-regresjon i en gratis prøveversjon av den statistiske programvaren MedCalc (versjon 19.2.1).

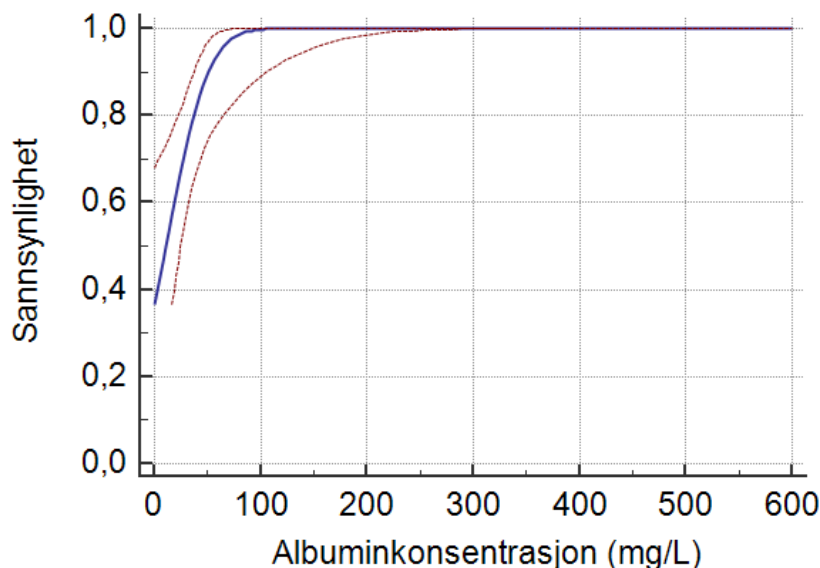
De semi-kvantitative resultatene angis enten som negative, eller som positive ved å benytte et graderingssystem i form av 1+, 2+, 3+ eller 4+. De kvantitative resultatene for albumin angis i mg/L og de kvantitative resultatene for totalprotein angis i g/L. I MedCalc ble de semi-kvantitative resultatene gjort om til binære signaler, og to sensitivitetsnivå ble definert. Dette for å gjøre det mer sikkert at deteksjonsområdet oppgitt av produsenten ble dekket. I sensitivitetsnivå 1 ble det semi-kvantitative resultatet negativ kodet som 0, det vil si negativt, mens resultatene 1+, 2+, 3+ og 4+ ble kodet som 1, det vil si positivt. I sensitivitetsnivå 2 ble resultatene negativ og 1+ kodet som 0, altså negativt, mens resultatene 2+, 3+ og 4+ kodet som 1, altså positivt. De binære signalene ble definert som respons, og ble plottet mot respektive albumin- og totalproteinkonsentrasjoner. Probit-regresjon ble deretter gjennomført, og det ble gitt ut en responskurve som viser sannsynligheten for positivt prøvesvar som funksjon av proteinkonsentrasjon. I tillegg ble også tilhørende regresjonsdata til responskurven gitt ut.

Responskurvene for urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M samt relevant regresjonsdata presenteres i avsnittene under, som er delt inn etter avlesning på Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100, og etter resultater for henholdsvis albuminkonsentrasjon og totalproteinkonsentrasjon undersøkt i to sensitivitetsnivå.

### 3.1 Roche Cobas u411

#### 3.1.1 Albumin i sensitivitetsnivå 1

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for albuminkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 7.



Figur 7: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 11 og 12, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming. Med utgangspunkt i funksjonsuttrykket  $z = \beta_0 + \beta_1 * x$  kan koeffisientene i tabell 11 forklares.  $\beta_1$  tilsvarer koeffisienten til albumin,  $\beta_0$  tilsvarer koeffisienten til konstanten, og  $x$  tilsvarer albuminkonsentrasjonen som gir en viss sannsynlighet for positivt prøveresultat. Koeffisientene gir altså informasjon til å modellere en  $z$ -verdi, som igjen sier noe om sannsynligheten for å få positivt prøveresultat. Koeffisienten til albumin brukes også til å beregne standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat i  $C_{50}$ . Dette sier noe om spredningen i det reflektometriske signalet, og gis ut med samme benevnelse som det kvantitative resultatet. Standardavviket er også oppført i tabell 11.



Tabell 11: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.

Variabel	Koeffisient	Standardavvik
Albumin ( $\beta_1$ )	0,03214	31,11
Konstant ( $\beta_0$ )	-0,3448	

For videre beskrivelse av kurven velges de tre punktene  $C_5$ ,  $C_{50}$  og  $C_{95}$  fra responskurven ut, og disse er presentert i tabell 12. 95 % konfidensintervall for de tre punktene er også presentert, og sier noe om usikkerheten til konsentrasjonsverdiene. I tillegg tas punktet  $C_{90}$  med, da dette er satt som deteksjonsgrense for urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Deteksjonsgrensen som er oppgitt av produsenten ligger på 120-180 mg/L.

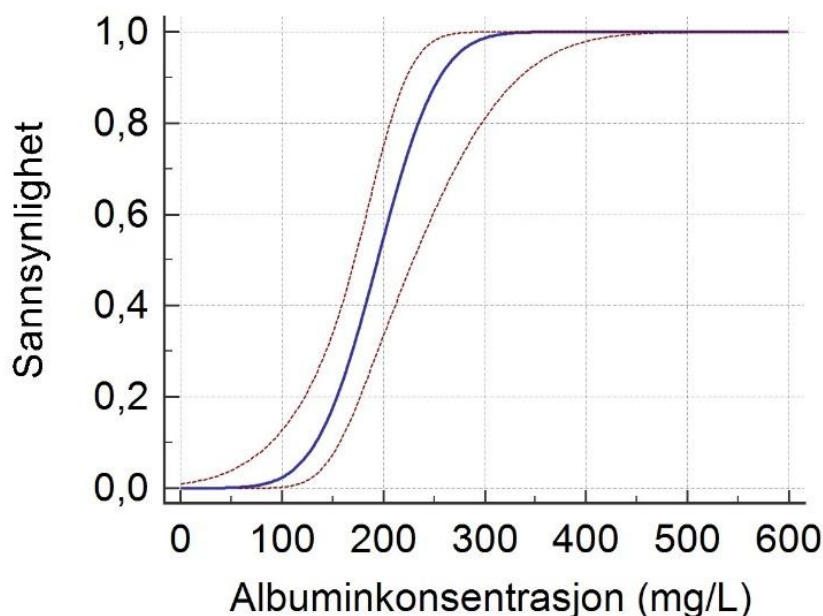
Tabell 12: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .

Sannsynlighet	Konsentrasjon (mg/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	-40,45	-217,7	-9,146
0,5 ( $C_{50}$ )	10,73	-44,19	24,66
0,90 ( $C_{90}$ )	50,60	36,68	105,3
0,95 ( $C_{95}$ )	61,90	45,14	142,7

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 10,73 mg/L. Punktet  $C_{90}$  tilsvarer konsentrasjonen 50,60 mg/L, noe som vil si at deteksjonsgrensen er lavere enn den som er angitt av produsenten.

### 3.1.2 Albumin i sensitivitetsnivå 2

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for albuminkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 8.



Figur 8: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 13 og 14, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

Tabell 13: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.

Variabel	Koeffisient	Standardavvik
Albumin ( $\beta_1$ )	0,02097	47,69
Konstant ( $\beta_0$ )	-4,074	

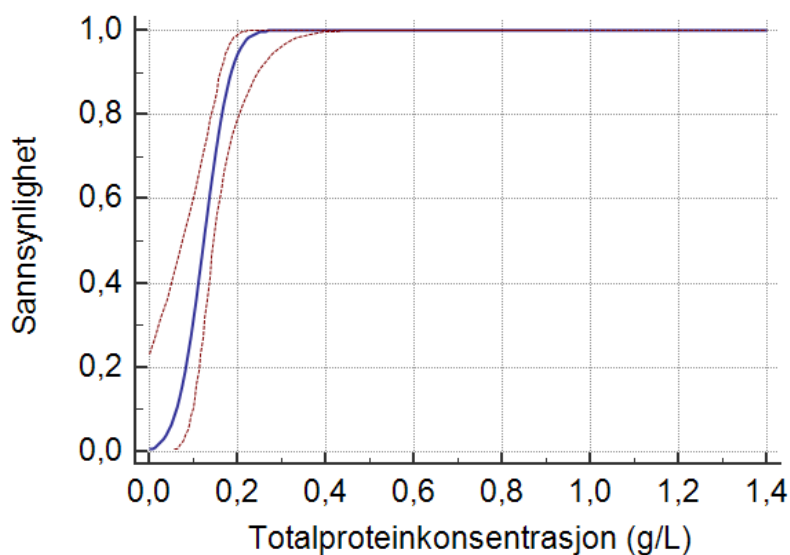
Tabell 14: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .

Sannsynlighet	Konsentrasjon (mg/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	115,8	59,39	142,1
0,5 ( $C_{50}$ )	194,2	171,7	229,4
0,90 ( $C_{90}$ )	255,3	222,5	334,1
0,95 ( $C_{95}$ )	272,7	235,3	365,4

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 194,2 mg/L. Punktet  $C_{90}$  tilsvarer konsentrasjonen 255,3 mg/L, noe som vil si at deteksjonsgrensen er høyere enn den som er angitt av produsenten.

### 3.1.3 Totalprotein i sensitivitetsnivå 1

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for totalproteinkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 9.



Figur 9: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup> Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 15 og 16, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

*Tabell 15: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.*

Variabel	Koeffisient	Standardavvik
<b>Totalprotein (<math>\beta_1</math>)</b>	20,61	0,04852
<b>Konstant (<math>\beta_0</math>)</b>	-2,538	

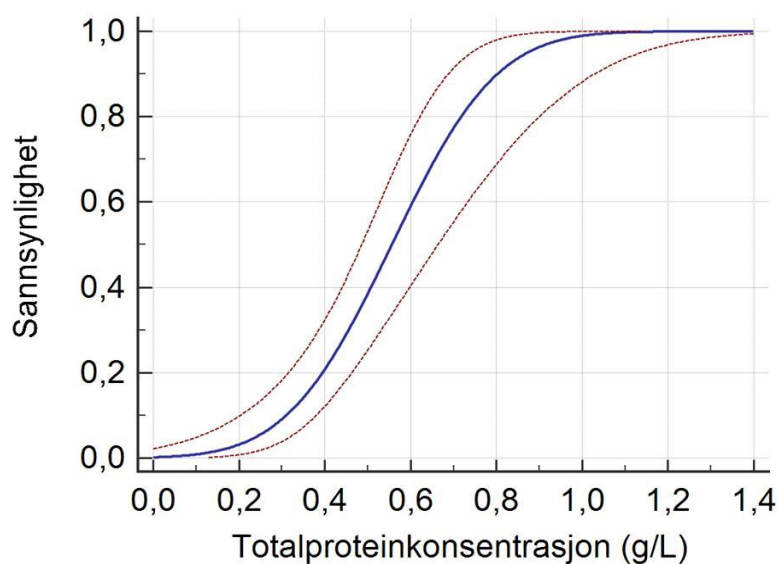
*Tabell 16: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .*

Sannsynlighet	Konsentrasjon (g/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	0,04331	-0,1044	0,08600
0,5 ( $C_{50}$ )	0,1231	0,0749	0,1460
0,90 ( $C_{90}$ )	0,1853	0,1613	0,2460
0,95 ( $C_{95}$ )	0,2029	0,1753	0,2848

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 0,1231 g/L = 123,1 mg/L. Punktet  $C_{90}$ , deteksjonsgrensen, tilsvarer konsentrasjonen 0,1853 g/L = 185,3 mg/L.

### 3.1.4 Totalprotein i sensitivetsnivå 2

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for totalproteinkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 10.



Figur 10: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 17 og 18, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

Tabell 17: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.

Variabel	Koeffisient	Standardavvik
Totalprotein ( $\beta_1$ )	5,206	0,1921
Konstant ( $\beta_0$ )	-2,893	

Tabell 18: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .

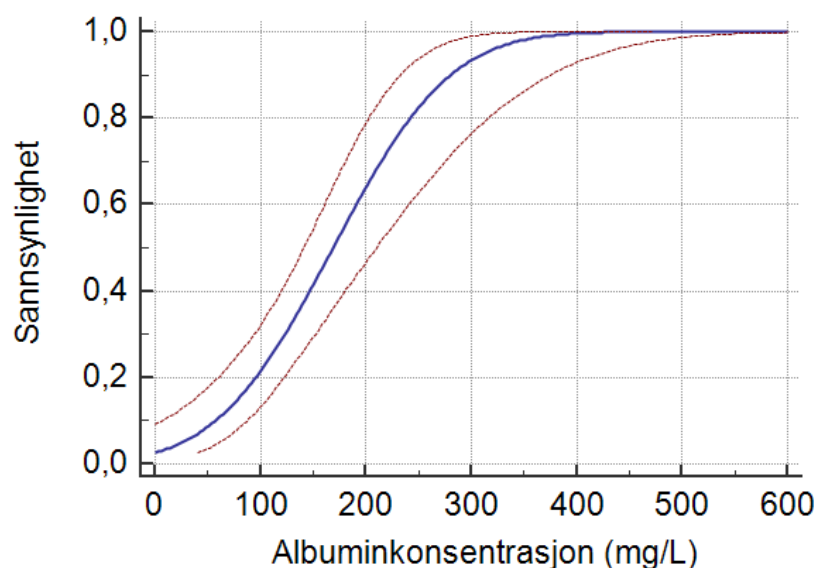
Sannsynlighet	Konsentrasjon (g/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	0,2397	0,1030	0,3185
0,5 ( $C_{50}$ )	0,5557	0,4856	0,6634
0,90 ( $C_{90}$ )	0,8019	0,6873	1,028
0,95 ( $C_{95}$ )	0,8716	0,7409	1,135

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 0,5557 g/L = 555,7 mg/L. Punktet  $C_{90}$ , deteksjonsgrensen, tilsvarer konsentrasjonen 0,8019 g/L = 801,9 mg/L.

### 3.2 Roche Urisys 1100

#### 3.2.1 Albumin i sensitivitetsnivå 1

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for albuminkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 11.



Figur 11: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 19 og 20, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

*Tabell 19: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.*

Variabel	Koeffisient	Standardavvik til koeffisienter
Albumin ( $\beta_1$ )	0,01148	87,11
Konstant ( $\beta_0$ )	-1,935	

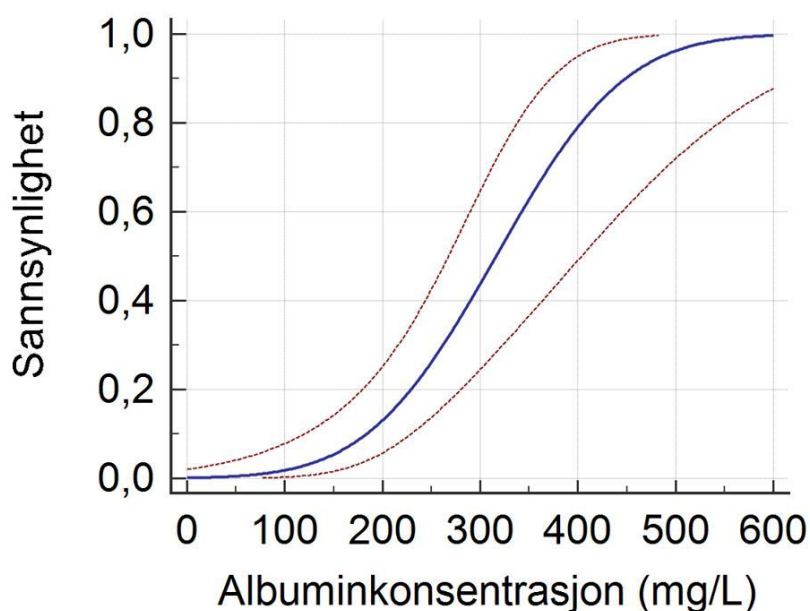
*Tabell 20: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .*

Sannsynlighet	Konsentrasjon (mg/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	25,29	-39,84	60,74
0,5 ( $C_{50}$ )	168,6	140,9	209,7
0,90 ( $C_{90}$ )	280,2	232,6	374,7
0,95 ( $C_{95}$ )	311,9	256,8	423,3

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 168,6 mg/L. Punktet  $C_{90}$  tilsvarer konsentrasjonen 280,2 mg/L, noe som vil si at deteksjonsgrensen er høyere enn den som er angitt av produsenten.

### 3.2.2 Albumin i sensitivitetsnivå 2

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for albuminkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 12.



Figur 12: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 21 og 22, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

Tabell 21: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.

Variabel	Koeffisient	Standardavvik til koeffisienter
Albumin ( $\beta_1$ )	0,009667	103,4
Konstant ( $\beta_0$ )	-3,055	



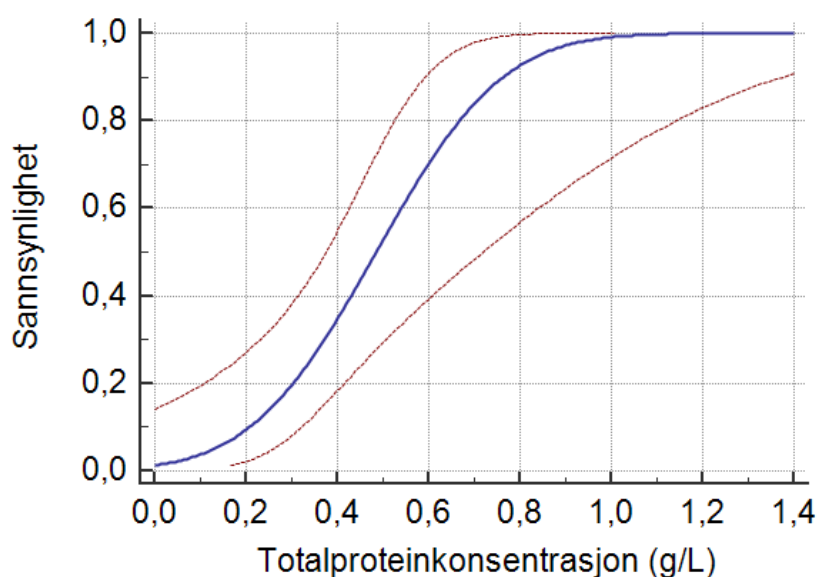
Tabell 22: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .

Sannsynlighet	Konsentrasjon (mg/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	145,9	64,18	193,5
0,5 ( $C_{50}$ )	316,1	267,2	403,4
0,90 ( $C_{90}$ )	448,6	372,2	620,1
0,95 ( $C_{95}$ )	486,2	400,1	683,4

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 316,1 mg/L. Punktet  $C_{90}$  tilsvarer konsentrasjonen 448,6 mg/L, noe som vil si at deteksjonsgrensen er høyere enn den som er angitt av produsenten.

### 3.2.3 Totalprotein i sensitivitetsnivå 1

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for totalproteinkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 13.



Figur 13: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup> Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 23 og 24, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

*Tabell 23: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.*

Variabel	Koeffisient	Standardavvik til koeffisienter
Totalprotein ( $\beta_1$ )	4,613	0,2168
Konstant ( $\beta_0$ )	-2,235	

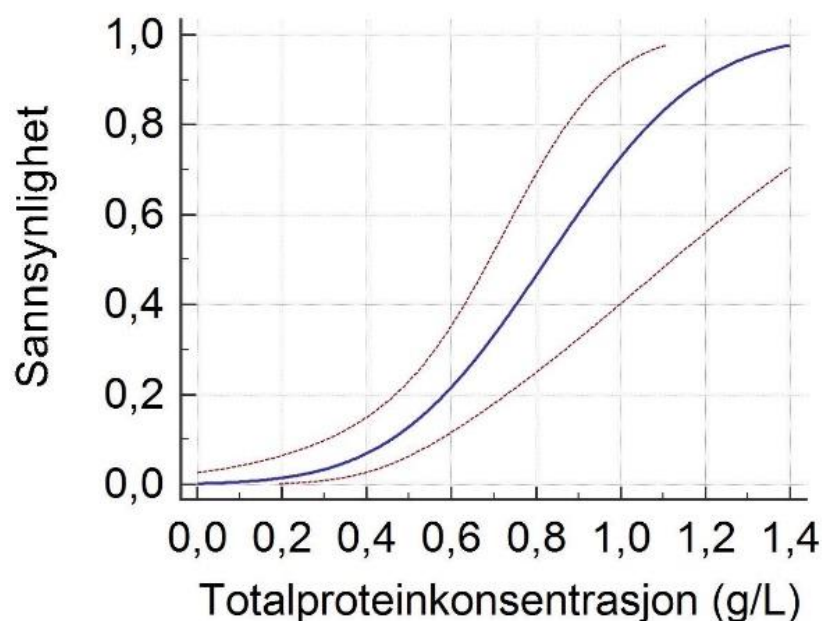
*Tabell 24: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .*

Sannsynlighet	Konsentrasjon (g/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	0,1279	-0,2841	0,2584
0,5 ( $C_{50}$ )	0,4845	0,3745	0,7188
0,90 ( $C_{90}$ )	0,7623	0,5918	1,373
0,95 ( $C_{95}$ )	0,8411	0,6450	1,567

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 0,4845 g/L = 484,5 mg/L. Punktet  $C_{90}$ , deteksjonsgrensen, tilsvarer konsentrasjonen 0,7623 g/L = 762,3 mg/L.

### 3.2.4 Totalprotein i sensitivetsnivå 2

Ved undersøkelse av responskurven til testfeltet for protein med utgangspunkt i kvantitative resultater for totalproteinkonsentrasjon, funnet på Siemens Advia Chemistry XPT, ble følgende responskurve gitt ut, vist i figur 14.



Figur 14: Viser responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M. Den blå kurven er selve responskurven, og de brune kurvene markerer 95 % konfidensintervall for ethvert punkt på kurven.

Regresjonsdata som tilhører responskurven er presentert i tabellene 25 og 26, og gir detaljert informasjon om kurvens utforming på samme måte som beskrevet for tabellene 11 og 12.

Tabell 25: Viser verdi til koeffisienter og standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat.

Variabel	Koeffisient	Standardavvik til koeffisienter
Totalprotein ( $\beta_1$ )	3,483	0,2871
Konstant ( $\beta_0$ )	-2,873	

Tabell 26: Viser konsentrasjonsverdi og 95 % konfidensintervall for henholdsvis  $C_5$ ,  $C_{50}$ ,  $C_{90}$  og  $C_{95}$ .

Sannsynlighet	Konsentrasjon (g/L)	95 % Konfidensintervall	
0,05 ( $C_5$ )	0,3528	0,1409	0,4688
0,5 ( $C_{50}$ )	0,8251	0,6899	1,122
0,90 ( $C_{90}$ )	1,193	0,9626	1,787
0,95 ( $C_{95}$ )	1,297	1,037	1,979

Responskurven og regresjonsdata viser at omslagspunktet  $C_{50}$  tilsvarer konsentrasjonen 0,8251 g/L = 825,1 mg/L. Punktet  $C_{90}$ , deteksjonsgrensen, tilsvarer konsentrasjonen 1,193 g/L = 1193 mg/L.

## 4 DISKUSJON

Problemstillingen som ble formulert for denne oppgaven er følgende: «*Hvor god er analysekvaliteten til testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M sammenliknet med det som er angitt av produsenten, vurdert ut fra de resultatene urinstrimmelen gir ved avlesning på to ulike reflektometre?*» Dette skulle undersøkes ved å se på responskurven til testfeltet for protein på urinstrimmelen som ble avlest semi-kvantitativt på reflektometrene Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100. Responskurven med tilhørende regresjonsdata gir informasjon om blant annet urinstrimmelenes deteksjonsgrense og omslagspunkt.

Deteksjonsgrensen som er funnet sammenliknes med den som er oppgitt av produsenten, som her er 120-180 mg/L, og ut fra den kan det undersøkes hvordan urinstrimmelen best kan avleses. Dette med tanke på hvilket sensitivitetsnivå som velges og hvilket reflektometer som brukes til avlesning. Når dette er undersøkt kan også omslagspunktet til urinstrimmelen presenteres, avlest på responskurven som representerer den mest egnede avlesningen av urinstrimmelen. Ved vurdering av responskurven legges det til grunn at en responskurve som beskriver god sensitivitet og presisjon skal ha sigmoid form, og bratt stigning rundt omslagspunktet. Er kurven imidlertid mer kursiv og slak, kan det tyde på at avlesningen den representerer har dårligere presisjon og analytisk kvalitet. Standardavviket til det kontinuerlige målesignalet bak binært resultat i omslagspunktet, punktet  $C_{50}$ , vurderes også for å si noe om spredningen i det reflektometriske signalet.

Responskurvene som er funnet i oppgaven er gitt ut for albumin og totalprotein hver for seg, men det må understrekes at albuminanalysen er noe annet enn totalproteinanalysen. Urinstrimmelen er hovedsakelig sensitiv for albumin, og brukes ikke til å bestemme totalproteinkonsentrasjon. Det kan likevel ikke utelukkes at også andre proteiner enn albumin kan detekteres semi-kvantitativt, og dette er grunnen til at også totalprotein blir undersøkt. Deteksjonsgrensen som oppgis av produsenten gjelder imidlertid kun for albumin, og ved avlesning av totalprotein må altså resultatene vurderes annerledes enn ved avlesning av albumin.

Ved avlesning av albumin på Roche Cobas u411 blir deteksjonsgrensen funnet til å være 50,60 mg/L i sensitivitetsnivå 1 og 255,3 mg/L i sensitivitetsnivå 2. Deteksjonsgrensen

funnet i sensitivitetsnivå 1 er svært lav, og kan tilsynelatende tilsie god sensitivitet og analytisk kvalitet. Det er imidlertid ikke mulig at instrumentet detekterer verdier som er så langt under det som er satt som deteksjonsgrense av produsenten og dette vises i tilhørende responskurve i figur 7. Responskurven er ikke sigmoid, fremstiller ikke sannsynligheten for å få positivt prøveresultat ved de laveste albuminkonsentrasjonene og ligger urealistisk lavt langs akse for albuminkonsentrasjon. Deteksjonsgrensen funnet i sensitivitetsnivå 2 er langt høyere enn den som er funnet i sensitivitetsnivå 1, og tilsier med det dårligere sensitivitet. Den er også langt høyere enn den som er oppgitt av produsenten, men vurdert ut fra responskurven vist i figur 8 gir den et mer realistisk resultat. Denne responskurven er sigmoid, har bratt stigning rundt omslagspunktet og viser sannsynligheten for å få positivt prøveresultat ved alle oppførte verdier for albuminkonsentrasjon. For avlesning på Roche Cobas u411 vurderes altså avlesningen i sensitivitetsnivå 2 til å være den beste. Omslagspunktet som finnes i sensitivitetsnivå 2 tilsvarer konsentrasjonen 194,2 mg/L, og har et standardavvik på 47,69 mg/L.

Ved avlesning av albumin på Roche Urisys 1100 blir deteksjonsgrensen funnet til å være 280,2 mg/L i sensitivitetsnivå 1 og 448,6 mg/L i sensitivitetsnivå 2. Begge funnene er langt høyere enn den som er oppgitt av produsenten, og tilsier dårligere sensitivitet. Responskurven funnet i sensitivitetsnivå 1, vist i figur 11, begynner stigningen ved lave verdier for albuminkonsentrasjon, og har en slak stigning. Dette viser at også presisjonen er dårlig. Det samme gjelder for responskurven funnet i sensitivitetsnivå 2, vist i figur 12. Der begynner imidlertid stigningen ved høyere verdier for albuminkonsentrasjon, noe som gir den en mer sigmoid form, og den har en noe brattere stigning. Omslagspunktet som finnes i sensitivitetsnivå 1 tilsvarer konsentrasjonen 168,6 mg/L, og har et standardavvik på 87,11 mg/L. Omslagspunktet som finnes i sensitivitetsnivå 2 tilsvarer konsentrasjonen 316,1 mg/L, og har et standardavvik på 103,4 mg/L. Både omslagspunktet og standardavviket er altså lavere i sensitivitetsnivå 1, og basert på dette kan avlesningen i dette nivået vurderes til å ha bedre presisjon enn avlesningen i sensitivitetsnivå 2. Vurdert ut fra responskurvens utforming vil likevel avlesningen i sensitivitetsnivå 2 samlet sett anses som bedre.

Ved avlesning av totalprotein sammenliknes altså ikke deteksjonsgrensene som finnes med den som er oppgitt av produsenten, og resultatene diskuteres kun med utgangspunkt i hvor høye konsentrasjonene som deteksjonsgrensene og omslagspunktene tilsvarer er. Ved avlesning av totalprotein på Roche Cobas u411 i sensitivitetsnivå 1 ble

deteksjonsgrensen funnet til å være  $0,1853 \text{ g/L} = 185,3 \text{ mg/L}$ , og i sensitivitetsnivå 2 ble den funnet til å være  $0,8019 \text{ g/L} = 801,9 \text{ mg/L}$ . Ved avlesning av totalprotein på Roche Urisys 1100 i sensitivitetsnivå 1 ble den funnet til å være  $0,7623 \text{ g/L} = 762,3 \text{ mg/L}$ , og i sensitivitetsnivå 2 ble den funnet til å være  $1,193 \text{ g/L} = 1193 \text{ mg/L}$ . Responskurvene som representerer avlesningene av totalprotein på Roche Cobas u411 vises i figurene 9 og 10, og er mer sigmoide og har brattere stigning rundt omslagspunktet enn responskurvene som representerer avlesningene på Roche Urisys 1100, og vises i figurene 13 og 14. Kurvene for Roche Cobas u411 ligger også lavere langs aksene for totalproteinkonsentrasjon, i motsetning til kurvene for Roche Urisys 1100, som ligger slakere og mer utstrakt. I sensitivitetsnivå 1 ligger responskurven som representerer avlesningen på Roche Cobas u411 urealistisk lavt langs aksene for totalproteinkonsentrasjon. Omslagspunktet som ble funnet ved avlesning av totalprotein på Roche Cobas u411 i sensitivitetsnivå 1 tilsvarer konsentrasjonen  $0,1231 \text{ g/L} = 123,1 \text{ mg/L}$ , og i sensitivitetsnivå 2 tilsvarer det konsentrasjonen  $0,5557 \text{ g/L} = 555,7 \text{ mg/L}$ . Omslagspunktet som ble funnet ved avlesning av totalprotein på Roche Urisys 1100 i sensitivitetsnivå 1 tilsvarer konsentrasjonen  $0,4845 \text{ g/L} = 484,5 \text{ mg/L}$ , og i sensitivitetsnivå 2 tilsvarer det  $0,8251 \text{ g/L} = 825,1 \text{ mg/L}$ .

Alle deteksjonsgrensene og omslagspunktene funnet ved avlesning av totalprotein, både på Roche Cobas u411 og Roche Urisys 1100, tilsvarer høyere konsentrasjoner enn de som er funnet ved avlesning av albumin. Dette forklares ved at den kvantitative analysen av totalprotein i tillegg til albumin, også detekterer andre proteiner. I forbindelse med dette kan en usikkerhet ved urinstrimmelen diskuteres. Selv om urinstrimmelen hovedsakelig er sensitiv for albumin, må det ved vurdering av de semi-kvantitative resultatene den utgir også tas hensyn til totalproteinkonsentrasjon. Dette fordi det ikke kan utelukkes at også urinstrimmelen detekterer andre proteiner enn albumin. Dersom totalproteinkonsentrasjonen er svært høy kan det tenkes at det kan føre til positivt resultat på urinstrimmelen, uten at albuminkonsentrasjonen nødvendigvis er betydelig forhøyet.

På bakgrunn av det som er diskutert, vil konklusjonen for denne oppgaven være at testfeltet for protein på urinstrimmelen Roche Combur<sup>10</sup>Test M best avleses på Roche Cobas u411 i sensitivitetsnivå 2. Sammenliknet med de øvrige avlesningene vil omslagspunktet ved denne avlesningen tilsvare en lavere albuminkonsentrasjon, og omslagspunktets standardavvik er mindre. Deteksjonsgrensen samsvarer også best med den som er oppgitt av produsenten. Responskurvene som gis ut fra avlesning på Roche

Cobas u411 er også generelt brattere rundt omslagspunktet og mindre utstrakte enn responskurvene som gis ut fra avlesning på Roche Urisys 1100, både når kurvene for albumin sammenliknes med hverandre og når kurvene for totalprotein sammenliknes med hverandre. Dette viser at reflektometeret Roche Cobas u411 er mer presist enn reflektometeret Roche Urisys 1100, og gir dermed en bedre avlesning.

Avlesningen på Roche Cobas u411 i sensitivitetsnivå 2 vil altså være den mest sensitive og presise, og den som gir den beste analysekvaliteten i kombinasjon med urinstrimmelen.

I arbeidet med denne oppgaven ble to sensitivitetsnivå definert og benyttet i undersøkelsen av den analytiske kvaliteten til testfeltet for protein. Dette ga noe sammenlikningsgrunnlag, men for å gjøre vurderingene mer sikre kan analysekvaliteten undersøkes ved flere slike nivå. Videre kan også analysekvaliteten til flere testfelt undersøkes, slik at urinstrimmelens deteksjonsevne beskrives på en mer helhetlig måte. Dette skulle i utgangspunktet gjøres i denne oppgaven, da testfeltene for blod og glukose egentlig også skulle undersøkes i tillegg til testfeltet for protein. På grunn av Covid-19-pandemien ble oppgaven imidlertid redusert, og omfatter derfor kun testfeltet for protein.



## 5 REFERANSER

- Aakvik, I., n.d. Medisinsk biokjemi - Pasientnær analysering - Urinstrimmelundersøkelse (urinstix) på Urisys 1100.
- ADVIA Chemistry XPT System [WWW Document], n.d. URL <https://www.siemens-healthineers.com/no/laboratory-diagnostics/clinical-chemistry/systems/advia-chemistry-xpt-system> (accessed 4.15.20).
- Åsberg, A., Johnsen, H., Mikkelsen, G., Hov, G.G., 2016. Using probit regression to disclose the analytical performance of qualitative and semi-quantitative tests. *Automatisert fotometri*, 2018.
- Bach, R., 2018. Noen momenter om fotometri med henblikk på praktisk anvendelse.
- Basic Principles of Surface Reflectance - ppt video online download [WWW Document], n.d. URL <https://slideplayer.com/slide/4490649/> (accessed 5.5.20).
- Bolann, B.J., Sandberg, S., 2003. Evaluering av nye laboratorieanalyser. *Tidsskrift for Den norske legeforening*.
- Brunzel, N.A., 2018a. *Fundamentals of urine & body fluid analysis*. Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 91–94.
- Brunzel, N.A., 2018b. *Fundamentals of urine & body fluid analysis*. Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 86–89.
- Brunzel, N.A., 2018c. *Fundamentals of urine & body fluid analysis*. Elsevier, St. Louis, Missouri, p. 95.
- Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015a. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, pp. 663–664.
- Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015b. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, pp. 138, 261.
- Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015c. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, pp. 147–149.
- Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015d. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, pp. 260, 261.

Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015e. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, p. 295.

Burtis, C.A., Bruns, D.E., 2015f. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Elsevier Saunders, 3251 Riverport Lane, St. Louis, Missouri 63043, pp. 131–138.

Cobas u411 - Brukermanual Versjon 2.0, n.d.

Combur 10 M teststrip - Pakningsvedlegg, 2013.

Kjøbli, E., 2019. Automasjon og kvantitering. PNA.

Nersund, R., n.d. Albumin i urin, mikroalbumin, Advia Chemistry XPT. AMB.

Nersund, R., n.d. Protein, total i urin (Protein/kreatinin-ratio), Advia Chemistry XPT. AMB.

saikiranyuvi, 02:31:42 UTC. Nephelometry and turbidimetry.

SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Microalbumin\_2 ( $\mu$ ALB\_2), n.d.

SIEMENS ADVIA Chemistry XPT Systems, Total Protein\_2 (Urine) (UPRo\_2), n.d.

St. Olavs hospital, A. for medisinsk biokjemi, n.d. Deteksjonsgrenser for kvalitative urin-analyser.

Urdal, P., Brun, A., Åsberg, A., 2009. Brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 4. utgave. ed. Akademisk Fagforlag AS.

Urisys 1100 - Operator's manual V 7.0, n.d.

Waldum-Grevbo, B., 2019. albumin-kreatinin-ratio. Store medisinske leksikon.

## 6 VEDLEGG

Vedlegg 1: Rådata fra en sammenlikningsstudie utført på St. Olavs hospital ved seksjon prøvetaking og pasientnær analyse.

Prøve- nummer	Protein på Roche Cobas u411	Protein på Roche Urisys 1100	Albumin på Siemens Advia Chemistry XPT (mg/L)	Totalprotein på Siemens Advia Chemistry XPT (g/L)
260036	1+	Neg	89	0,18
260037	1+	Neg	96	0,22
260038	1+	Neg	29	0,33
260039	1+	Neg	92	0,27
260040	1+	Neg	30	0,32
260041	1+	Neg	26	0,22
261277	Neg	Neg	10	0,08
261278	2+	1+	326	0,73
161279	1+	Neg	132	0,29
261280	1+	Neg	15	0,14
261281	1+	Neg	100	0,23
261282	1+	Neg	15	0,32
261490	neg	Neg	31	0,16
262571	1+	Neg	61	0,15
262572	2+	1+	167	0,47
262573	2+	1+	205	0,49
262574	2+	1+	233	0,74
262575	1+	Neg	27	0,27
262576	1+	Neg	68	0,16
262577	2+	2+	441	0,69
262578	1+	Neg	33	0,35
262579	1+	Neg	22	0,12
264068	1+	Neg	110	0,3
264069	1+	1+	84	0,56
264070	1+	Neg	18	0,76

264071	1+	Neg	43	0,14
264072	Neg	Neg	14	0,11
264073	2+	2+	375	0,67
264074	2+	1+	323	1,04
264075	1+	Neg	84	0,18
264076	1+	Neg	30	0,21
264077	1+	Neg	129	0,47
264078	1+	Neg	42	0,46
264079	2+	2+	356	0,91
264418	1+	Neg	104	0,34
264419	2+	3+	99	0,59
264420	Neg	Neg	12	0,19
264421	1+	Neg	172	0,21
264422	2+	3+	549	0,77
264423	2+	1+	343	0,46
264424	2+	1+	222	0,46
264425	1+	Neg	65	0,18
264426	1+	Neg	71	0,57
264427	neg	Neg	20	0,13
265862	1+	Neg	167	0,18
265863	1+	Neg	154	0,16
265864	2+	Neg	238	0,28
265865	1+	Neg	112	0,24
265866	2+	1+	214	0,56
265867	1+	Neg	154	0,17
265868	1+	Neg	197	0,22
265869	1+	Neg	94	0,09
265870	1+	Neg	42	0,17
265871	1+	Neg	191	0,2
265872	2+	1+	282	0,36
265873	Neg	Neg	39	0,1
265874	1+	1+	78	0,39

265875	1+	Neg	70	0,21
265876	1+	1+	208	0,52
265877	1+	Neg	33	0,21
265878	2+	3+	440	1,37
265879	1+	Neg	28	0,24
268917	1+	1+	64	0,24
268918	1+	Neg	125	0,75
268919	1+	Neg	71	0,23
268920	Neg	Neg	23	0,08
268921	1+	Neg	63	0,33
268922	2+	3+	235	0,67
268923	1+	1+	140	0,24
268924	1+	Neg	132	0,31
268925	1+	Neg	13	0,14
268926	2+	2+	152	0,31
268927	1+	Neg	97	0,21
268928	2+	1+	174	0,45
268929	1+	Neg	35	0,31
268930	1+	1+	85	0,75
268931	2+	3+	432	0,96
268932	Neg	Neg	53	0,19
268933	1+	Neg	212	0,36
268934	2+	1+	230	0,45
268935	1+	Neg	18	0,13
269266	1+	Neg	112	0,24
271145	Neg	Neg	45	0,13
271146	2+	2+	345	0,61
271147	1+	1+	160	0,31
271148	2+	1+	295	0,66
271149	1+	Neg	177	0,25
271150	1+	Neg	13	0,23
271151	1+	Neg	50	0,4

271152		1+	197	0,54
271153	1+	1+	36	0,45
271154	1+	1+	21	0,56
271155	1+	Neg	58	0,14
271156	1+	Neg	87	0,16
271157		Neg	123	0,31
271159	1+	Neg	37	0,15
271160	1+	Neg	75	0,36
271161	1+	1+	177	0,36
271162	1+	Neg	123	0,35
271163	Neg	Neg	11	0,1
271164	1+	1+	147	0,46
271165	Neg	Neg	12	0,11
271166		Neg	42	0,99
271167	1+	Neg	124	0,33
271168	2+	2+	370	0,64

