

Imunokemijska metoda za kvantitativno određivanje hemoglobina u stolici

Kovačević, Marta

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:731623>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Marta Kovačević

**IMUNOKEMIJSKA METODA ZA
KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE
HEMOGLOBINA U STOLICI**

Završni rad

Osijek, 2024.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Marta Kovačević

**IMUNOKEMIJSKA METODA ZA
KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE
HEMOGLOBINA U STOLICI**

Završni rad

Osijek, 2024.

Rad je ostvaren u: Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Osijek

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Vatroslav Šerić, spec. med. biokemije

Rad ima 23 lista, 3 slike i 2 tablice.

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Vatroslavu Šeriću, spec. med. biokemije na prihvaćanju mentorstva i pomoći prilikom pisanja završnog rada.

Također zahvaljujem mag. Ivani Sarić na ustupljenom vremenu i stručnim savjetima oko laboratorijskog dijela završnog rada.

Hvala mojim roditeljima i bratu na neizmjerne podršci i ohrabrenju.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Hemoglobin	1
1.1.1. Građa hemoglobina	1
1.1.2. Biološka funkcija hemoglobina	2
1.2. Hemoglobin u stolici	2
1.3. Kolorektalni karcinom	3
1.4. Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Hrvatskoj	4
1.4.1. Nacionalni program za rano otkrivanje raka debelog crijeva.....	4
1.4.2. Testovi probira na okultno krvarenje	5
2. CILJEVI	6
3. ISPITANICI I METODE	7
3.1. Ustroj studije.....	7
3.2. Ispitanici	7
3.2.1. Prikupljanje uzoraka	7
3.3. Metode.....	8
3.3.1. Brzi imunokromatografski test – CoproHemoGnost	8
3.3.2. Analizator OC-SENSOR Ceres, Eiken Chemical	9
3.4. Statističke metode.....	10
4. REZULTATI.....	12
5. RASPRAVA.....	14
6. ZAKLJUČAK	17
7. SAŽETAK.....	18
8. SUMMARY	19

9. LITERATURA.....	20
10. ŽIVOTOPIS	23

POPIS KRATICA

2,3-BPG – 2,3-bisfosfoglicerat (engl. *2,3-bisphosphoglyceric acid*)

CEA – karcinoembrionalni antigen (engl. *carcinoembryonic antigen*)

CRC – kolorektalni karcinom (engl. *colorectal cancer*)

DZS – Državni zavod za statistiku

FOBT – test fekalnog okultnog krvarenja (engl. *fecal occult blood test*)

HbA₀ – hemoglobin A₀ (engl. *hemoglobin A₀*)

Hb – hemoglobin (engl. *hemoglobin*)

HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo

FIT – fekalni imunokemijski test (engl. *fecal immunochemical test*)

KBC – Klinički bolnički centar Osijek

1. UVOD

1.1. Hemoglobin

Hemoglobin (engl. *hemoglobin* - Hb) je globularni protein, odnosno protein sastavljen od prostetičke skupine hema i globina. Njegova molekularna masa iznosi oko 64,5 kilodaltona. U analizi pomoću difrakcije X-zraka pronađeno je da hemoglobin ima sferoidni oblik s dimenzijama molekule $55 \times 55 \times 65 \times 10^{-10}$ m. Hemoglobini raznih vrsta razlikuju se po kristalnim oblicima, topljivosti, aminokiselinskom sadržaju, afinitetu prema kisiku i apsorpcijskim spektrima. Te su razlike vezane za proteinski dio same molekule, dok je hem (feroproporfirin) u svim vrstama jednak (1).

1.1.1. Građa hemoglobina

Osnovu građe hemoglobina čine četiri hema i četiri polipeptidna lanca. Hem je ciklički tetrapireol koji se sastoji od pirolnih prstenova povezanih α -metenskim mostovima. Za tamno crvenu boju hema važan je planarni sustav konjugiranih dvostrukih veza koji apsorbira vidljivu svjetlost. Supstituenti u β -položaju hema čine metilne, vinilne i propinoatne skupine. U središtu planarnog tetrapireola nalazi se jedan ion dvovalentnog željeza. Taj je ion koordinativno vezan na imidazol proksimalnog histidina. Oksidacija dvovalentnog željeza u trovalentni oblik poništava njegovu biološku aktivnost (1, 2).

Polipeptidni lanci hemoglobina označavaju se kao α , β , γ , δ i ϵ . Čovjek je genetički sposoban sintetizirati i ugraditi takve lance u samu molekulu. Hb odrasla čovjeka sastoji se od dvaju α -lanaca i dvaju β -lanaca. Osim toga sadržava i oko 2,5 % hemoglobina A₂ koji se sastoji od dvaju α -lanaca i dvaju δ -lanaca i oko 0,5 % fetalnog hemoglobina. Lanci molekule građeni su od aminokiselina. Tako je α -lanac građen od 141 aminokiseline, a β , γ i δ od 146 aminokiselina. Sekvencija aminokiselina u pojedinim lancima dokazana je pomoću elektroforeze u jednome smjeru te kromatografije u drugome smjeru. To je takozvana *finger prints*-tehnika koju je uveo Ingram. Do promjene neke aminokiseline u polipeptidnom lancu dolazi zbog mutacije gena uzrokovane zamjenom jedne purinske ili pirimidinske baze u deoksiribonukleinskoj kiselini. Jedan od takvih slučajeva jest hemoglobin S, gdje je u β -polipeptidnom lancu u položaju 6 valin umjesto glutaminske kiseline. Tom se promjenom mijenja naboj cijele molekule, pa ga se može dokazati elektroforezom, a putuje sporije od normalnog Hb-a u električnom polju (1).

1.1.2. Biološka funkcija hemoglobina

Hb je primarni prijenosnik kisika kod ljudi. Otprilike 98 % ukupnog kisika transportiranog krvlju vezano je za hemoglobin, dok je 2 % otopljeno izravno u plazmi. Jedna molekula kisika može se vezati na atom željeza skupine hem, dajući tada svakom hemoglobinu sposobnost transporta četiriju molekula kisika. Ta sposobnost sekvencijalnog vezanja kisika na svaku podjedinicu rezultira sigmoidnim oblikom krivulje disocijacije oksihemoglobina. Razni nedostaci u sintezi ili strukturi eritrocita, hemoglobina ili globinskog polipeptidnog lanca mogu oslabiti kapacitet krvi za prijenos kisika i dovesti do stanja hipoksije. U prijenosu kisika ulogu ima 2,3-bisfosfoglicerat (engl. *2,3-bisphosphoglyceric acid* – 2,3-BPG) koji potječe iz metabolizma glukoze. Kisik se veže s hemoglobinom kod visokog tlaka O₂, u plućima i kad ne sadržava 2,3-BPG. Hb otpušta kisik pri nižem tlaku O₂ tkivima, a deoksihemoglobin čvrsto veže 2,3-BPG (1, 3). Osim prijenosa O₂ iz pluća u periferno tkivo, Hb prenosi i ugljični dioksid kao nusproizvod disanja i proton iz perifernog tkiva u pluća. Ugljični se dioksid prenosi u obliku karbamata. Karbamati mogu mijenjati svoj naboj na amino-kraju iz pozitivnog u negativni te tako uspostavljaju nabojne veze između α i β lanaca. Hemoglobinski karbamati prenose oko 15 % ugljičnog dioksida u venskoj krvi. Preostali se ugljični dioksid prenosi kao hidrogenkarbonat. On nastaje u eritrocitima procesom kataliziranim s enzimom karboanhidrazom (2).

Još jedna važna uloga Hb-a jest njegovo pufersko djelovanje. Pufersko se djelovanje očituje u regulaciji acido-bazne ravnoteže i ovisi o obliku hemoglobina, tj. je li u obliku oksihemoglobina ili je u reduciranom obliku. Oksigenacija Hb-a rezultira dodavanjem vodikovih iona u otopinu. Oksigenacijom Hb-a dolazi do promjene konformacije jer se voda u hemu mijenja s kisikom, a jako svojstvo kisika u privlačenju elektrona rezultira pomakom elektrona duž osi od imidazola. Time se oslobađa jedan proton, a imidazolska skupina postaje kiselija. Tako oksihemoglobin otpušta vodik u okoliš, a reducirani ga Hb prima i djeluje puferski u tkivima (1).

1.2. Hemoglobin u stolici

Krvarenje duž gastrointestinalnog trakta može se pojaviti na bilo kojem dijelu, od usta do anusa. Boja krvi varira ovisno o anatomskom mjestu dolaska. Svijetlo crvena boja upućuje na krvarenje u donjem dijelu debelog crijeva, rektuma ili anusa. Tamno crvena boja može ukazivati na krvarenje u gornjem dijelu debelog crijeva ili u tankome crijevu. Crna boja krvi (melena) najčešće upućuje na krvarenje u želudcu, jednjaku ili tankom crijevu. Crna boja stolice

uzrokovana je krvlju koja je nekoliko sati bila izložena želučanoj kiselini, enzimima i bakterijama koje se obično nalaze na području debelog crijeva. Ozbiljan i nagli gubitak krvi može biti popraćen brzim pulsom, nižim krvnim tlakom i smanjenim protokom urina. Promijenjena boja stolice nekad može biti uzrokovana konzumacijom određene hrane ili dodacima prehrani koji sadrže željezo i multivitamine. Krvarenje u probavnom sustavu može ukazivati na benigno stanje poput hemoroida ili teški poremećaj poput Crohnove bolesti ili karcinoma. Ako krv nije vidljiva golim okom, a detektirana je testovima sa specifičnim kemikalijama, radi se o okultnome (skrivenom) krvarenju (4, 5).

1.3. Kolorektalni karcinom

Kolorektalni karcinom (engl. *colorectal cancer* - CRC) jedan je od najčešćih karcinoma u ljudi te se podjednako pojavljuje u žena i muškaraca. Incidencija se razlikuje u pojedinim dijelovima svijeta, a nešto je viša u razvijenim zemljama za razliku od zemalja u razvoju (40 / 100 000 do 60 / 100 000). Tumor se pojavljuje duž cijelog debelog crijeva, no uočeno je povećanje učestalosti u proksimalnom dijelu. Čimbenici etiologije svrstavaju se u 3 skupine, a to su obiteljsko nasljeđe, prehrana i kronične upalne bolesti. Ostali čimbenici koji mogu povećati rizik jesu dob, osobna anamneza te način života (pušenje, alkohol, sjedilački način života i pretilost) (6, 7). U osobnu anamnezu bolesnika spadaju polipi debelog crijeva, povijest CRC-a ili rektalnog karcinoma. Od kroničnih upalnih bolesti ističu se ulcerozni kolitis i Crohnova bolest. Tumori su najčešće lokalizirani u debelom crijevu, sa ili bez metastaza u obližnjim limfnim čvorovima u trenutku dijagnoze. U ranom otkrivanju karcinoma ključne su metode probira, a najčešće se koriste testovi za traženje krvi u stolici i kolonoskopija. Takve metode mogu smanjiti učestalost smrti od CRC-a. Osim toga tumorski biljezi, kao karcinoembrionalni antigen (engl. *carcinoembryonic antigen* - CEA), mogu predvidjeti recidive i odgovor na liječenje jer oko 60 % tumora proizvodi CEA. Međutim CEA ima manju ulogu u dijagnostici zbog nedostatka osjetljivosti i specifičnosti. CRC u ranijim stadijima obično nema simptoma. Uobičajeni simptomi uključuju proljev, zatvor ili sužavanje stolice, krv u stolici (rektalno krvarenje) te grčeve i nadutost koji ne prestaju. Također se može javiti neobjašnjiv i iznenađan gubitak tjelesne težine, osjećaj stalnog umora te anemija zbog nedostatka željeza uz kronično krvarenje (8). Metoda izbora u liječenju kolorektalnog karcinoma jest kirurško liječenje. Zračenje se ne indicira u liječenju malignoma debeloga crijeva (6).

1.4. Epidemiologija kolorektalnog karcinoma u Hrvatskoj

Prema posljednjim podacima Registra za rak Republike Hrvatske, u 2020. godini CRC je dijagnosticiran kod 3396 osoba (2007 muškaraca i 1389 žena). Prema podacima baze umrlih Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ), odnosno Državnog zavoda za statistiku (DZS), u 2021. godini umrlo je 2116 ljudi od CRC-a. Prema podacima baze umrlih HZJZ-a, odnosno DZS-a, u 2021. godini umrlo je 2116 osoba od CRC-a, a to je neznajčajno više nego za trogodišnjeg pada (2018. – 2240 osoba i 2019. – 2095 osoba te u 2020. godini od iste bolesti umrlo je 2079 osoba) (9).

1.4.1. Nacionalni program za rano otkrivanje raka debelog crijeva

Program ranog otkrivanja raka debelog crijeva u Hrvatskoj u skladu je s odrednicama Nacionalne strategije razvitka zdravstva u kojoj se nalaze odrednice prevencije i ranog otkrivanja raka. Program ranog otkrivanja raka debelog crijeva mnogo pridonosi poboljšanju zdravlja populacije jer se preventivnim mjerama otkrivaju zloćudni tumori debelog crijeva u ranom i ograničenom stadiju. Program obuhvaća sveukupnu ciljanu populaciju, a svi građani moraju imati jednaku mogućnost sudjelovanja, uključujući i socijalno najugroženije. Upute i preporuke za probir odnose se na populaciju s prosječnim rizikom i bez specifičnih simptoma. Osobe s povećanim rizikom moraju se držati specifičnih pravila te započeti probir u ranijoj dobi ili s kraćim intervalima između probira. Osobe s prisutnim simptomima bolesti trebaju se podvrći uobičajenim dijagnostičkim postupcima (10). Pozivi na probir nehospitaliziranim pojedincima šalju se na kućne adrese. Uz pozivno pismo ispitanici dobivaju tri testa i upute za provedbu testa, odgovarajući anketni upitnik i edukativnu brošuru o ranom otkrivanju raka CRC-a koju je pripremio Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi. Program je započeo 2007. godine u organizaciji Ministarstva zdravstva. Svi građani od 50 – 74 godine pozivaju se u program. Prvi ciklus trajao je dulje od planiranog zbog zakonskih i financijskih problema vezanih za usklađivanje sa zakonima Europske unije. Završio je 2012. godine. Drugi ciklus bio je u rujnu 2013. godine u reorganiziranom obliku, a uključivao je edukacijsku i promotivnu kampanju te sudjelovanje obiteljskih liječnika uz medicinske sestre (11). Svakih nekoliko godina započinje novi ciklus tog programa. Očekivani ciljevi na početku provedbe programa bili su:

- a) smanjiti smrtnost od raka debelog crijeva za najmanje 15 % pet godina nakon provedbe programa
- b) postići obuhvat od najmanje 60 % pozvanih na testiranje

- c) otkriti rak u ranijem stadiju bolesti te tako poboljšati mogućnost izlječenja, kvalitetu života i preživljenje
- d) postići obuhvat rizičnih skupina stanovništva ranim otkrivanjem raka od 75 % do 2015. godine (10).

1.4.2. Testovi probira na okultno krvarenje

Svrha je probira, ili ranog otkrivanja raka debelog crijeva, smanjiti morbiditet i mortalitet. Na probir se upućuju osobe sa srednjim ili visokim rizikom za pojavu bolesti koje nemaju simptome CRC-a. Osobe sa srednjim rizikom jesu svi stariji od 50 godina koji bi trebali sudjelovati u nacionalnim programima rane detekcije CRC-a. Osobe s visokim rizikom (upalne crijevne bolesti, anamneze obiteljske polipoze ili nepolipoznog CRC-a s testiranjem trebaju početi ranije (40. godina) te se testirati češće (6). Brzi imunokemijski testovi za otkrivanje fekalne okultne krvi zamjenjuju stariju metodu temeljenu na guaiacu. Interferencije, pa tako i dio odgovarajućih priprema, ovise o korištenoj metodi (12). Testiranje fekalnog okultnog krvarenja (engl. *fecal occult blood test* - FOBT) provodi se svake druge godine. Osobe koje su podvrgnute FOBT-u treba upozoriti da negativni nalaz ne znači potpunu sigurnost da ne boluju od polipa ili CRC-a (10). Imunokemijski testovi za fekalno okultno krvarenje (engl. *fecal immunochemical test* - FIT) mogu biti kvalitativni ili kvantitativni. Kvalitativni FIT određuje rezultate kao pozitivne ili negativne na temelju vizualne interpretacije korištenjem imunokromatografije lateralnog protoka (13). To su brzi testovi posebno dizajnirani za otkrivanje ljudskog Hb-a u fekalnim uzorcima pomoću imunokemijske reakcije. Ti testovi poboljšavaju otkrivanje poremećaja donjeg dijela probavnog sustava. Ranije komercijalno dostupni testovi temeljeni na guaiacovom principu zahtijevali su posebna ograničenja u prehrani kako bi se izbjegli lažni rezultati (14). Kod kvantitativnog FIT-a fekalna koncentracija Hb-a mjeri se na automatiziranim uređajima pomoću imunoturbidimetrije (13). Kvantitativni je FIT razvijen u Finskoj kasnih 1980-ih. Predstavlja relativno novu verziju testa na fekalno okultno krvarenje koja otkriva globinski dio intaktnog ljudskog Hb-a ili produkte njegove razgradnje. Koristi antitijela specifična za sadržaj ljudskog globinskog lanca u stolici te je stoga manje vjerojatno da će na njega utjecati biljne peroksidaze, neljudski izvori hemoglobina i lijekovi. (15). Pozitivna reakcija indikacija je za daljnje dijagnostičke procedure, najčešće kolonoskopski pregled ili proktosigmoidoskopiju i irigografski pregled s dvostrukim kontrastom (10).

2. CILJEVI

Ciljevi ovog presječnog istraživanja jesu:

1. Usporediti kvalitativnu imunokemijsku s novom kvantitativnom metodom za određivanje fekalnog hemoglobina.
2. Ispitati postoji li značajna razlika u rezultatima kvalitativne imunokemijske i nove kvantitativne metode za određivanje fekalnog hemoglobina.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Ova je studija ustrojena kao presječno istraživanje s podacima prikupljenim iz bolničkog informacijskog sustava. Presječno istraživanje analizira podatke iz populacije u jednom trenutku u vremenu. Često se koristi za mjerenje prevalencije zdravstvenih ishoda, razumijevanje odrednica zdravlja i opisivanje značajki unutar populacije (16).

3.2. Ispitanici

Ovim je istraživanjem obuhvaćeno ukupno 24 nasumična uzorka stolice pacijenata s odjela za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek (KBC). Od ukupnog broja uzoraka, 9 je bilo muškaraca, a 15 žena, različitih dobnih skupina. Oni su zbog osobne i/ili obiteljske anamneze i/ili rizične životne dobi upućeni na otkrivanje skrivene (okultne) krvi, tj. fekalnog hemoglobina.

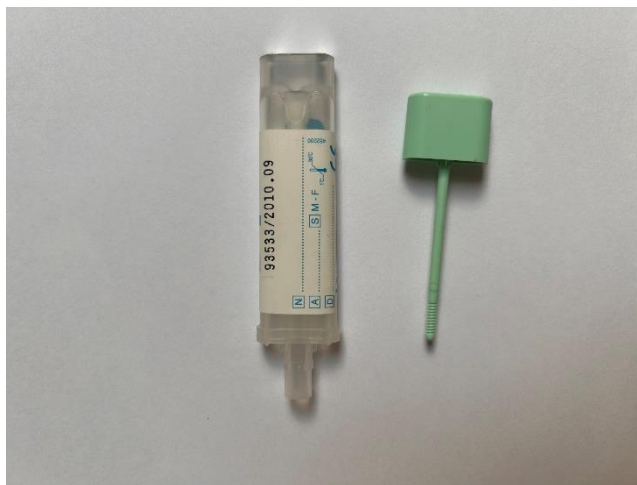
3.2.1. Prikupljanje uzoraka

Uzorci stolice pacijenata zaprimljeni su u Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek. Bilo je poželjno izbjegavati alkohol, aspirin i druge lijekove koji se uzimaju u većim količinama jer bi izazvali gastrointestinalnu iritaciju koja rezultira okultnim krvarenjem. Navedeno su pacijenti trebali prestati konzumirati 48 sati prije testiranja, a također uzorke nisu trebali uzimati tijekom ili unutar 3 dana od menstruacije, ako imaju hemeroide i krv u mokraći. Nije bila potrebna posebna restriksijska dijeta prije uzorkovanja jer se radi o FIT-ovima.

Ispitanici su za kvalitativni test prikupljali 3 uzorka u 3 uzastopna dana / 3 dana kada su imali redovnu stolicu. Tijekom svakog prikupljanja koristili su posudicu na koju je bilo potrebno označiti dan i broj uzorka (1. dan / 1. uzorak). S površine stolice su, pomoću žličice s papira razvučenog na toaletu, uzeli uzorak s više različitih mjesta te ga prebacili u posudicu do polovine. Dok nisu skupili sva 3 uzorka, posudice su morale stajati u hladnjaku na 2 – 8 °C (14).

Uzorci za kvantitativnu metodu (po 1 uzorak od svakog pacijenta) prikupljeni u zelenu tubicu sa štapićem (10 mg). Tubica sadržava dvostruke aluminijske brtve koje sprječavaju curenje uzorka i pregradu koja osigurava točan volumen. Također sadrži integrirani filter (uklanja fekalne ostatke i pročišćava uzorak), spiralne utore na štapiću koji uklanjaju višak fecesa u komori, a k tome osiguravajući točan kvantitativan rezultat i pufer za stabilizaciju

uzorka. Pacijenti su prvo prikupili uzorak na papir, a zatim pomoću aplikatora s utorima postrugali površinu stolice (od jedne strane ka drugoj) i prenijeli ga u tubicu (Slika 1). Uzorak je pravilno prikupljen ako su svi utori ispunjeni stolicom. (18).



Slika 1. Tubica i aplikator za prikupljanje uzorka za kvantitativnu analizu

Izvor: izradila autorica rada

3.3. Metode

Korištene su dvije metode probira na kolorektalni karcinom. Metodama se tražila prisutnost skrivene krvi u stolici (kvalitativno) i koncentracija Hb-a (kvantitativno). Probirne metode ne služe kao potvrda dijagnoze, već mogu uputiti na specifičniji kolonoskopski pregled. Metode probira također su neinvazivne, relativno brze i mogu zaštititi pacijenta od preuranjenih ili nepotrebnih invazivnih pretraga. Prvo su po 3 skupljena uzorka od svakog pacijenta testirana imunokromatografskom pločicom, CoproHemoGnost-om. Zatim su ponovno prikupljeni uzorci pušteni na analizator OC-SENSOR Ceres, japanske tvrtke Eiken Chemical, radi usporedbe i isključenja lažno pozitivnih ili negativnih rezultata.

3.3.1. Brzi imunokromatografski test – CoproHemoGnost

a) Princip testa: Taj brzi test radi na principu imunokromatografije lateralnog protoka. Nalazi se u kompletu koji čine CoproHemoGnost testna traka, upute za primjenu testa te tubica za razrjeđenje uzorka s puferom. Test je kvalitativan i ukazuje na prisutnost vrlo male količine krvi u stolici pojavom obojene linije na testnoj traci. Anti-hemoglobinska antitijela nalaze se imobilizirana na testnoj regiji membrane. Tijekom testiranja uzorak reagira s anti-hemoglobinskim antitijelima konjugiranim s obojenim česticama. Obojene su čestice

prethodno nanese na jastučić testa. Stvoreni kompleks uzorka i antitijela kreće se membranom kapilarnim kretanjem i reagira s reagensima na membrani (14).

b) Postupak testiranja: Označeni uzorci iz posudica svakog pojedinačnog dana prebačeni su u testne tubice s puferom za razrjeđenje te temperirani na sobnu temperaturu (15 – 30 °C). Označene su testne tubice stavljene na čistu, ravnu površinu. Svaka se tubica morala snažno protresti kako bi se stolica ravnomjerno pomiješala s puferom iz tubice koji sadrži natrijev azid. Bilo je potrebno slomiti vrh svake pojedine tubice pomoću papirnate maramice te okomito ukapati 3 kapi u jažicu za uzorak na testnoj pločici (S). Za svakog je pacijenta postupak ponovljen 3 puta, tj., s 3 uzorka. Nije smjelo doći do pojave mjehurića. Rezultati su očitani nakon 5 minuta, a nakon 10 pločica je bačena.

c) Interpretacija: Ako u uzorku ima dovoljno ljudskog Hb-a na testnom (T) području, formirat će se obojena linija. Prisutnost obojene linije uz pojavu obojene linije na kontrolnom (C) području znači pozitivan rezultat. Pojava kontrolne linije ukazuje da je dodan odgovarajući volumen uzorka i da je došlo do propuštanja membrane. Nedovoljan volumen uzorka, neispravan radni postupak ili istekao test može dovesti do izostanka kontrolne linije. Prisutnost samo kontrolne linije ukazuje na negativan rezultat (14). Srednja vrijednost rezultata svakog pacijenta uzima se kao konačna, s obzirom na to da je svaki pacijent dao po 3 uzorka stolice.

3.3.2. Analizator OC-SENSOR Ceres, Eiken Chemical

a) Princip testa: Ovaj uređaj za kvantitativno mjerenje Hb-a u stolici (Slika 2) temelji se na otkrivanju promjene intenziteta svjetlosti reakcijom lateks aglutinacije. Reakcija lateks aglutinacije označava grupiranje čestica polistirenskog lateksa osjetljivih na antigene ili antitijela uzrokovane reakcijom antigen-antitijelo. Dolazi do promjene intenziteta svjetlosti koja se raspršuje prolazeći kroz reakcijsku tekućinu u kojoj se nalaze agregati lateksa. Metoda na kojoj se taj sustav temelji naziva se „lateks turbidimetrija.“ Lateks reagensi koji se koriste sastoje se od čestica polistirenskog lateksa koje su obložene anti-humanim hemoglobin A_0 (engl. *hemoglobin A₀* - HbA₀) antitijelima. Kada se reagens pomiješa s uzorkom, anti-humana HbA₀ antitijela na česticama lateksa reagiraju s Hb-om u uzorku te nastaju agregati lateksa. Zbog agregata dolazi do zamućenja otopine i raspršenja svjetlosti na tim istim agregatima. Promjena apsorbancije svjetlosti po jedinici vremena koja je rezultat reakcije lateks aglutinacije proporcionalna je koncentraciji Hb-a u uzorku (17).

b) Postupak testiranja: Nakon provedene kalibracije i puštenih kontrolnih uzoraka (plava boja) kojima se provjerila ispravnost mjernog područja, postavljeni su OC-SENSOR FIT

3. ISPITANICI I METODE

lateks reagensi, pufer i kivete na označena mjesta u analizatoru (po brojevima). Reagensi i pufer za taj analizator gotovi su i spremni za upotrebu, samo ih je potrebno lagano preokrenuti nekoliko puta s jedne strane na drugu. Nije ih potrebno dovoditi na sobnu temperaturu. Nakon unesenih parametara u sustav, provjereno je ima li dovoljno otopine za pranje, volumen vode i odvodni spremnik. Zatim je označene tubice za uzorke trebalo lagano protresti kako bi se sjedinili s puferom za stabilizaciju te su stavljeni na stalak (zelena boja) i zatvoren je poklopac. Filtrirani uzorak ulazi u dio čaše za uzorak kada ga instrument stisne, a zatim se uzorkuje u reakcijsku kivetu. Uzorci su automatski pročišćeni zahvaljujući integriranom filteru u tubicama. Ispisani rezultati izlaze u roku od 7 minuta. Reakcija svakog uzorka uspoređuje se s izrađenom kalibracijskom krivuljom. Izračunava se koncentracija humanog hemoglobina (ng/mL). Pretvorba jedinica u OC-SENSOR sustavima vrši se prema sljedećoj jednadžbi:

$$\mu\text{g Hb/g stolice} = 0,2 \times (\text{ng Hb/mL pufera}) \quad (17, 18).$$



Slika 2. Automatski analizator OC SENSOR Ceres

Izvor: izradila autorica rada

3.4. Statističke metode

Za statističku analizu upotrijebljen je statistički program MedCalc (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium, inačica 22.019; <https://www.medcalc.org>; 2024).

3. ISPITANICI I METODE

Kategorički podaci su predstavljeni apolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom, a zbog razdiobe koja ne slijedi normalnu, i male veličine uzorka, podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje slaganje između dvije metode koristio se Kappa test (uz iskazan 95 % raspon pouzdanosti).

4. REZULTATI

U istraživanju su sudjelovala 24 pacijenta, od kojih je bilo 15 žena (63 %) i 9 muškaraca (37 %). Medijan dobi pacijenata je 73 godine (interkvartilnog raspona od 67 do 80 godina) u rasponu od 34 do 91 godina (Tablica 1).

Tablica 1. Osnovna obilježja pacijenata

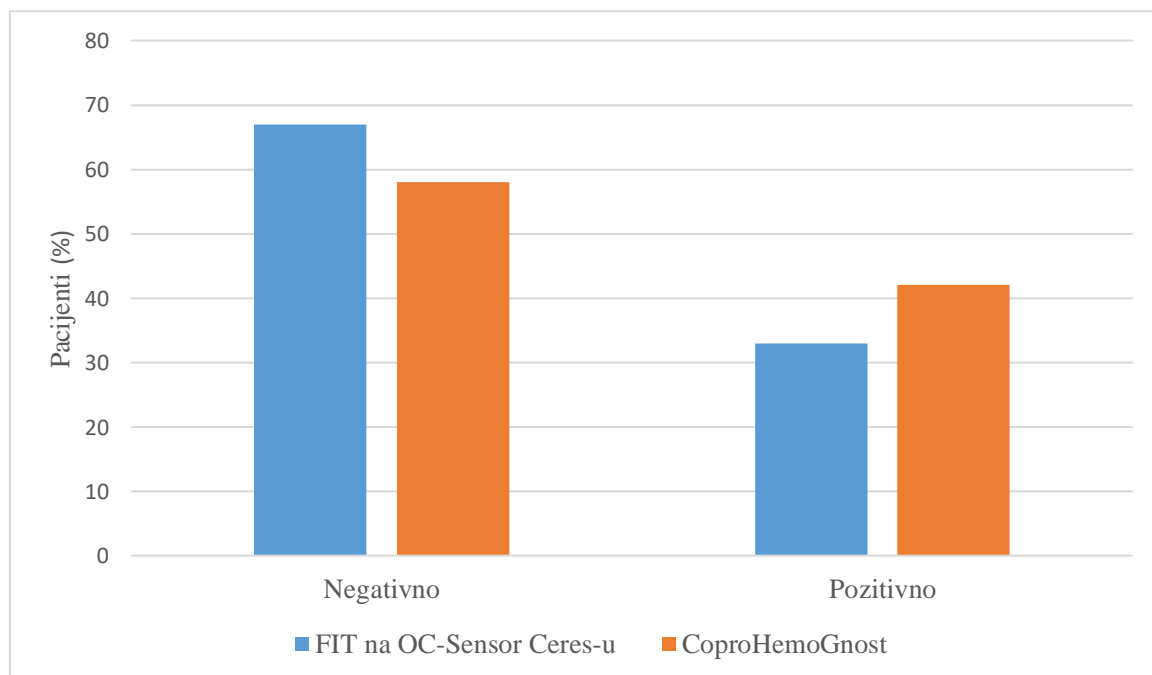
Spol [n (%)]	
Muškarci	9 (37)
Žene	15 (63)
Dob (godine)	
[Medijan (interkvartilni raspon)]	73 (67 – 80)

Analizirana su 24 fekalna uzorka dvjema metodama za određivanje hemoglobina u stolici. Medijan izmjerenih vrijednosti hemoglobina u stolici, metodom na OC-SENSOR Ceres-u je 17,5 ng/ml, u rasponu od 0 ng/ml do 731 ng/ml. S obzirom na izmjerene vrijednosti FIT metodom na OC-SENSOR Ceres-u, uočava se da je 16 (67 %) negativnih i 8 (33 %) pozitivnih osoba. Kod CoproHemoGnost metode, određivanjem hemoglobina u stolici utvrđeno je 14 (58 %) negativnih i 10 (42 %) pozitivnih osoba. Testiranjem slaganja dvije metode, uočava se da postoji dobro (κ od 0,61 do 0,80) slaganje metoda (Kappa test, $\kappa = 0,65$) (Tablica 2, Slika 3).

Tablica 2. Raspodjela pacijenata prema nalazu hemoglobina u stolici s obzirom na dvije metode

		Broj (%) pacijenata			<i>p</i> *	95% raspon pouzdanosti
		prema FIT metodi na OC-Sensor Ceres-u				
		Negativno	Pozitivno	Ukupno		
CoproHemoGnost metoda	Negativno	13	1	14 (58)	0,65	0,34 – 0,96
	Pozitivno	3	7	10 (42)		
	Ukupno	16 (67)	8 (33)	24 (100)		

*Kappa test

**Slika 3.** Raspodjela pacijenata prema određivanju hemoglobina u stolici pomoću dvije metode

5. RASPRAVA

Populacijski probir omogućuje primarnu prevenciju i rano otkrivanje CRC-a, s vrlo povoljnim učinkom na mortalitet. Dostupan je širok izbor testova probira za CRC, a najčešće se koriste testovi na okultno krvarenje u stolici (15). Ovim je istraživanjem provedena usporedba dviju imunokemijskih metoda, od kojih je jedna brzi imunokromatografski test, a druga na automatskom analizatoru OC-SENSOR Ceres. Oba testa imaju svoju dijagnostičku korisnost i povećavaju izgled za otkrivanje CRC-a u ranoj fazi, ali i postojanje drugih poremećaja vezanih za gastrointestinalni trakt. Jednostavnost prikupljanja uzorka, neinvazivnost, brzina i smanjen broj interferencija značajno doprinose laboratorijskoj obradi.

U ovome istraživanju ciljevi su bili usporediti dvije imunokemijske metode za kvalitativno i kvantitativno određivanje Hb-a u stolici te ispitati razliku u rezultatima. Rezultati kvalitativnog FIT-a vizualno se tumače kao pozitivni ili negativni. Za kvantitativni FIT, analizator OC-SENSOR Ceres objavljuje numeričke rezultate u ng/ml, a vrijednosti koje prelaze određenu granicu smatraju su pozitivnima (13). Kvalitativni CoproHemoGnost test otkrivanjem ljudskog Hb-a bez ograničenja u prehrani nadopunjen je automatskim analizatorom s vrhunskim analitičkim performansama. Kako bi se metode usporedile, ispitane su 2 skupine pacijenata (muškarci i žene), a u njima normalnost raspodjele varijabli, međusobno slaganje metoda i raspodjela Hb-a uzorcima stolice.

Od ukupno 24 ispitanika, više od polovine ispitanika ovog istraživanja činile su žene (63 %), a nešto je manje bilo muškaraca (37 %). Kao mjera središnje tendencije korišten je medijan, a kao mjera raspršenosti interkvartilni raspon. Medijan dobi pacijenata s pripadajućim interkvartilnim rasponom ukazuje na stariju populaciju (Tablica 1). Ovakav je demografski profil i očekivan jer su testovi probira na CRC uglavnom preporučeni osobama starijim od 50 godina. Također, rizik od CRC-a raste s godinama. (6, 19). Nadalje, navedene su mjere dobri pokazatelji prosječne vrijednosti i raspršenosti jer se u ovome istraživanju radi o populaciji u kojoj raspodjela varijabli ne slijedi normalnu. To može biti posljedica vrlo malog broja uzoraka (gotovo je nemoguće postići normalnu distribuciju zbog slučajnih varijacija) te postojanje ekstremnih vrijednosti. Također, nenormalnu distribuciju može pratiti heterogenost uzoraka. U ovome su istraživanju sudjelovali pacijenti s različitim gastrointestinalnim poremećajima te je Hb u njih različito raspoređen.

Medijan koncentracija Hb-a na analizatoru označava koliko se koncentracije hemoglobina razlikuju među pacijentima i kako se te vrijednosti grupiraju oko središnje

vrijednosti. S obzirom na vrijednost od 17,5 ng/ml, koncentracije Hb-a su relativno ravnomjerno raspoređene i nema velikih ekstremnih vrijednosti koje bi značajno utjecale na prosjek (21).

U kontekstu usporedbe dviju metoda, značajno je spomenuti da je kvalitativna metoda (CoproHemoGnost) pokazala nešto veći broj pozitivnih rezultata (42 %), a kvantitativna manje (33 %) pozitivnih (Slika 3). To može upućivati na pogreške prilikom prikupljanja uzorka od strane pacijenata u predanalitičkoj fazi ili laboratorijske pogreške prilikom izvođenja testa. Prisutnost krvi u uzorcima stolice može biti posljedica hemoroida, nedavne iritacije želuca, a krv u mokraći također je mogla utjecati na rezultate. Dodatno, predugo stajanje uzorka na sobnoj temperaturi, neravnomjerno raspoređena krv ili nedovoljno pomiješan uzorak s puferom mogu utjecati na varijacije u rezultatima (14). Automatski analizator OC-SENSOR Ceres pokazuje veću specifičnost kvantitativne metode te točno određena količina uzorka (10 mg) prolazi analizu. Raspon mjerenja kvantitativne metode jest do 1000 ng/ml, a u kvalitativnoj metodi od 40 – 1000 ng/ml. Međutim raspon mjerenja analizatora može varirati ovisno o prirodi uzoraka stolice i specifičnim postupcima korištenim prilikom kalibriranja, potrebnim za najveću moguću točnost i preciznost. Također granična vrijednost za CRC viša je u kvantitativnoj metodi (100 ng/ml), a kvalitativan test izbacit će pozitivan rezultat kada koncentracija Hb-a prelazi 40 ng/ml te detektira Hb na puno nižoj razini. (14, 17).

Kako bi se ispitalo slaganje između ovih dviju metoda, korišten je Kappa test. Cohenov kappa koeficijent (κ), robusna je statistika i mjera slaganja između dva zavisna kategorička uzorka. Slično koeficijentima korelacije, može varirati od -1 do +1. K od 0,65 za 95% interval pouzdanosti upućuje na dobro slaganje između ove dvije metode (uz manji stupanj neslaganja), što znači da se metode slažu u svojim rezultatima više nego što bi se očekivalo, budući da se radi o dva posve različita principa. Širi interval pouzdanosti (0,34 – 0,96) može ukazivati na veću nesigurnost mjerenja zbog malog broja uzoraka ili varijabilnosti u podacima. Važno je istaknuti da usporedni rezultati četvero pacijenata nisu sukladni. Dakle, 1 pacijent imao je negativan nalaz u CoproHemoGnost metodi, ali pozitivan na analizatoru. Također, 3 su pacijenta su imala pozitivan nalaz u CoproHemoGnost metodi, ali negativan prema metodi na analizatoru (Tablica 2). Ovakvi rezultati također upućuju na određene razlike u osjetljivosti i specifičnosti metoda. Kvalitativna metoda ne može dati brojčanu vrijednost Hb-a u stolici te je time manje precizna i subjektivnija. Kvantitativna metoda na analizatoru OC-Sensor Ceres prema proizvođaču postigla je najniži limit detekcije (6 ng/ml) i kvantitativnu osjetljivost među svim analizatorima iz iste serije. Sistem dopušta mjerenja s visokom linearnošću, od limita

kvantifikacije (20 ng/ml) do gornje granice mjerenja. Analizator također može prepoznati prozonski učinak i rezultate kontrole kvalitete (na 3 razine) može prikazati na kontrolnoj karti. Sukladno tome, ako je izmjerena vrijednost ispod gornje granice mjerenja, uzorak se prepoznaje kao unutar prozone. CoproHemoGnost ne pokazuje prozonski učinak. Tome posljedica može biti lažan rezultat koji se ne može prepoznati kao na analizatoru te test onda može pokazati odsutnost kompleksa, čak i kada je antigen u uzorku prisutan (14, 18, 22, 23).

Ming Lu i sur. proveli su slično istraživanje 2021. godine uspoređujući 3 kvalitativna s jednim kvantitativnim FIT-om. Kvantitativni FIT bio je proveden također na automatskom analizatoru OC-SENSOR Ceres-u, japanske tvrtke Eiken Chemical. Sudjelovalo je ukupno 3825 sudionika koji su bili podvrgnuti kolonoskopiji u osnovnoj fazi probira po protokolu studije. Uz njih je dio sudionika donirao uzorke stolice i valjane rezultate za sva četiri testa, ostavljajući 3144 prihvatljiva sudionika za konačnu analizu. Došli su do zaključka da postoje razlike u dijagnostičkoj učinkovitosti kvalitativnih i kvantitativnih FIT-ova tijekom korištenja pragova koje su unaprijed postavili proizvođači ili istih pragova. Međutim takva bi se heterogenost mogla prevladati prilagodbom pragova kako bi se dobile usporedive specifičnosti i stope pozitivnosti (13).

Sličnu su studiju proveli Le Wang i sur. 2019. i 2020. u gradu Haining, kada su uspoređivali kvalitativni FIT za kojeg su pacijenti prikupili 2 uzorka stolice te kvantitativni, za koji je bio potreban po 1 uzorak. Sudionici u dobi od 40 - 74 pozvani su da prođu program probira za CRC. Cilj ove studije bio je usporediti prinos probira između kvantitativnog FIT-a i kvalitativnog FIT-a za CRC. Pragovi pozitivnosti bili su 20 i 1-5 μg Hb/g stolice za kvantitativne i kvalitativne FIT-ove. Došli su do zaključka da kvantitativni FIT s jednim uzorkom za probir CRC povećava stopu otkrivanja uznapredovale neoplazije i smanjuje opterećenje kolonoskopijom, u usporedbi s kvalitativnim FIT-om s dva uzorka (24).

S obzirom na dobivene rezultate, može se reći da su obje imunokemijske metode za određivanje Hb-a u stolici opravdale svoju dijagnostičku korisnost te ne postoji značajna razlika među njima. Iste su pokazale slaganje koje postavlja temelj za njihovo usporedno korištenje. Iako manje varijabilnosti postoje te se mogu pripisati subjektivnosti kvalitativne FIT metode, nisu značajne.

6. ZAKLJUČAK

Usporedbom kvalitativne i kvantitativne imunokemijske metode za određivanje Hb-a u fekalnim uzorcima mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- 1) Usporedbom kvalitativne s kvantitativnom FIT-metodom na automatskom analizatoru nije uočena statistički značajna razlika u rezultatima.
- 2) Kappa testom uočeno je dobro slaganje kvalitativne i kvantitativne FIT-metode, s varijacijama koje nisu značajne.
- 3) Kvalitativnu FIT metodu izvrsno je nadopunio analizator s vrhunskim analitičkim performansama.
- 4) Rezultate kvalitativne FIT metode poželjno je potvrditi kvantitativnom metodom koja ima mogućnost davanja brojčanih koncentracija.

7. SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Usporediti kvalitativnu imunokemijsku s novom kvantitativnom metodom za određivanje fekalnog hemoglobina te ispitati postoji li značajna razlika u rezultatima.

USTROJ STUDIJE: presječno istraživanje

ISPITANICI I METODE: Ovim je istraživanjem obuhvaćeno 24 nasumična uzorka stolice pacijenata s odjela za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek (KBC), a analizirani su kvalitativnom CoproHemoGnost metodom i kvantitativnom metodom na analizatoru OC-SENSOR Ceres. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom, a podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Za testiranje slaganje između dvije metode koristio se Kappa test.

REZULTATI: Uočeno je dobro slaganje između dviju metoda za određivanje fekalnog hemoglobina pomoću Kappa testa uz 95% interval pouzdanosti ($\kappa = 0,65$). Također su uočena 4 rezultata koja nisu sukladna prilikom usporedbe. Koncentracije Hb-a su relativno ravnomjerno raspoređene i nema velikih ekstremnih vrijednosti.

ZAKLJUČAK: Usporedbom kvalitativne s kvantitativnom FIT-metodom na automatskom analizatoru nije uočena statistički značajna razlika u rezultatima. Metode se dobro slažu i nadopunjavaju, ali rezultate kvalitativne FIT metode poželjno je potvrditi kvantitativnom metodom koja ima mogućnost davanja brojčanih koncentracija.

KLJUČNE RIJEČI: hemoglobin, imunokemija, kvalitativna metoda, kvantitativna metoda, stolica, usporedba.

8. SUMMARY

Immunochemical method for quantitative determination of hemoglobin in stool

OBJECTIVES: This paper aims to compare the qualitative immunochemical method with the new quantitative method for determining fecal hemoglobin and to examine whether there is a statistically significant difference in the results.

STUDY DESIGN: A cross-sectional study.

PARTICIPANTS AND METHODS: This study included 24 random stool samples from patients from the Department of Gastroenterology and Hepatology of the University Hospital Center Osijek (KBC), and were analyzed using the qualitative CoproHemoGnost method and the quantitative method on the OC-SENSOR Ceres analyzer. The normality of the distribution of numerical variables was tested by the Shapiro-Wilk test, and the data were described by the median and boundaries of the interquartile range. The Kappa test was used to test the agreement between the two methods.

RESULTS: A good agreement was observed between the two methods for determining fecal hemoglobin using the Kappa test with a 95% confidence interval ($\kappa = 0.65$). There were also 4 results that were inconsistent when compared. Hb concentrations are relatively evenly distributed and there are no large extremes.

CONCLUSION: A comparison of the qualitative and quantitative FIT method on an automatic analyzer did not reveal a statistically significant difference in the results. The methods are well matched and complemented, but the results of the qualitative FIT method should be confirmed by a quantitative method that has the ability to give numerical concentrations.

KEY WORDS: hemoglobin, immunochemistry, qualitative method, quantitative method, stool, comparison.

9. LITERATURA

1. Štraus B, Petrik J. U: Čvorišćec D, Čepelak I (ur.). Štrausova medicinska biokemija. 3.izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.
2. Kennelly PJ, Rodwell VW. U: Lovrić J, Sertić J (ur.). Harperova ilustrirana biokemija. 28. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
3. Rhodes CE, Denault D, Varacallo M. Physiology, Oxygen Transport. Dostupno na adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538336/>. Datum pristupa: 12. 6. 2024.
4. Ansari P. Krvararenja iz probavnog sustava. MSD priručnik za pacijente. Dostupno na adresi: <https://hemed.hr/Default.aspx?sid=17359>. Datum pristupa: 14. 5. 2024.
5. Dunkin AM. Blood in Stool: Causes and treatment. Dostupno na adresi: <https://www.webmd.com/digestive-disorders/blood-in-stool>. Datum pristupa: 14. 5. 2024.
6. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. i sur. Klinička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2013.
7. World Health Organization. Colorectal cancer. Dostupno na adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/colorectal-cancer>. Datum pristupa: 14. 5. 2024.
8. Haraldsdottir S, Einarsdottir HM, Smaradottir A, Gunnlaugsson A, Halfdanarson TR. Colorectal cancer - Review. *Laeknabladid*. 2014;100(2):75-82.
9. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Odsjek za rano otkrivanje raka kolona. Dostupno na adresi: <https://www.hzjz.hr/odsjek-za-program-ranog-otkrivanja-raka-kolona/>. Datum pristupa: 15. 5. 2024.

10. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi. Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva. Republika Hrvatska: Zagreb; 2007.
11. Antoljak N, Šekerija M. Epidemiology and screening of colorectal cancer. Zagreb. Libri Oncologici. 2013;41(1-3):3-8.
12. Topić E, Primorac D, Janković S, Štefanović M i sur. Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi. 2. dopunjeno i izmijenjeno izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
13. Lu M, Zhang YH, Lu B, Cai J, Liu CC, Chen HD i sur. Head-to-head comparison of the test performance of self-administered qualitative vs. laboratory-based quantitative fecal immunochemical tests in detecting colorectal neoplasm. Chin Med J 2021;134(11):1335-1344.
14. BioGnost. CoproHemoGnost test pločica- upute za korištenje. Zagreb; 2020.
15. Meklin J, Syrjänen K, Eskelinen M. Fecal Occult Blood Tests in Colorectal Cancer Screening: Systematic Review and Meta-analysis of Traditional and New-generation Fecal Immunochemical Tests. Anticancer Res. 2020;40(7):3591-3604
16. Wang X, Cheng Z. Cross-Sectional Studies: Strengths, Weaknesses, and Recommendations. Chest. 2020;158(1):65-71.
17. Eiken Chemical Co., Ltd. OC-SENSOR Ceres. Operation Manual; 2023.
18. Eiken.Chemical Co., Ltd. OC-SENSOR Ceres. Dostupno na adresi: <https://www.eiken.co.jp/en/products/fit/ceres/>. Datum pristupa: 11. 7. 2024.
19. Turney S. Quartiles & Quantiles: Calculation, Definition & Interpretation. Scribbr; 2022. Dostupno na adresi: <https://www.scribbr.com/statistics/quartiles-quantiles/>. Datum pristupa: 12. 7. 2024.

20. Andrew P. King, Robert J. Eckersley. Chapter 7 - Inferential Statistics IV: Choosing a Hypothesis Test. U: Andrew P. King, Robert J. Eckersley, ur. Statistics for Biomedical Engineers and Scientists: How to Visualize and Analyze Dana. 1.izd. United Kingdom: Academic Press; 2019. str. 147-171.
21. Psychology Hub. Descriptive statistics: Measures Of Central Tendency (Mean, Median And Mode). Dostupno na adresi: <https://www.psychologyhub.co.uk/student-resources/paper-2-research-methods/descriptive-statistics-measures-of-central-tendency/>. Datum pristupa: 10.9.2024.
22. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. Biochem Med. 2012;22(3):276-82.
23. DATAtab Team. Cohen's Kappa. Dostupno na adresi: <https://datatab.net/tutorial/cohens-kappa>. Datum pristupa: 10.9.2024.
24. Wang L, Chen H, Zhu Y, Lu M, Wang Y, Chen X i sur. One-sample quantitative and two-sample qualitative faecal immunochemical tests for colorectal cancer screening: a cross-sectional study in China. BMJ Open. 2022;12(5):e059754.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Marta Kovačević

Datum i mjesto rođenja: 6. 8. 2002., Osijek, Republika Hrvatska

Adresa stanovanja: Vlašička 31, 31 000 Osijek, Republika Hrvatska

Kontakt: +385 91 597 0533

E-mail: makovacevic@mefos.hr

Obrazovanje:

2017. – 2021. II. gimnazija Osijek – jezična gimnazija

2021. – 2024. Medicinski fakultet Osijek, Sveučilišni prijediplomski studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika