

# Askorbik Asidi Ölçen veya Dirençli olan Stripler: Hangisi Tercih Edilmeli?

## *Strips Measuring Ascorbic Acid Level or Resistant: Which Should Be Preferred?*

Didem Barlak Ketik Sabahattin Muhtaroglu Hatice Saraçoglu

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya, Kayseri, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 05 Temmuz 2017

**Kabul Tarihi:** 22 Kasım 2017

### ÖZET

**Amaç:** Askorbik asidin bazı testler (glukoz, kan ve lökosit esteraz) üzerine etkisini; interferansa dirençli striplerle, askorbik asit düzeyini ölçen stripleri karşılaştırarak değerlendirmektir.

**Gereç ve Yöntem:** Ardışık 10055 hastaya ait idrar sonuçlarını retrospektif olarak inceledik. Askorbik asidi negatif olan ve farklı düzeylerde glukoz veya kan ya da lökosit esteraz içeren örneklerden idrar havuzları oluşturuldu. İdrar örneklerine son konsantrasyon 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 mg/dL olacak şekilde askorbik asit eklenerek her iki striple analiz gerçekleştirildi.

**Bulgular:** 10055 idrar örneğinin % 9.2'sinde askorbik asit pozitif olarak belirlendi. Hastaların %70'inde askorbik asit 10 mg/dL düzeyindeydi. Askorbik asidi pozitif olan idrar numunelerinin %50'sinin acil servisten geldiği ve hastaların %51'inin çocuk olduğu belirlendi. Askorbik asit interferansına dirençli striplerin; glukoz için  $\leq 100$  mg/dL'de negatif interferans göstermediği, ancak kan testinin askorbik asit interferansından etkilenmekle birlikte negatifleşmediği tespit edildi. Askorbik asidi ölçen stripler; lökosit esteraz, kan ve glukoz için sırasıyla  $>50$  mg/dL,  $\geq 10$  mg/dL ve  $\geq 25$  mg/dL askorbik asit düzeylerinde negatif interferans gösterdi.

**Sonuç:** Askorbik asidin 10 mg/dL'lik konsantrasyonu, strip kan testini etkilemek için yeterli olup, acil şartlarında vitamin C alımı kesildikten sonra test tekrarı uygun olmadığından; askorbik aside dirençli strip kullanımını tercih edilebilir. Bununla birlikte bu striplerin dirençli olduğu askorbik asit konsantrasyonlarını belirlemek gereklidir.

**Anahtar Sözcükler:** Askorbik asit; interferans; idrar strip

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the effect of ascorbic acid on some tests (glucose, blood and leukocyte esterase) by comparing strips that are resistant to its interference and those that measure ascorbic acid.

**Material and Methods:** We retrospectively investigated urine results of 10055 consecutive patients. We performed urine pools from samples that were negative for various amounts of glucose or blood or

leukocyte esterase. To each sample, different amounts of ascorbic acid were added, adjusted to give final concentrations of 10, 25, 50, 100, 200 and 400 mg/dL.

**Results:** Ascorbic acid was positive in 9.2% of 10055 urine samples, and 50% of those came from the emergency department and 51% of the patients were children. 70% of patients had 10 mg/dL ascorbic acid concentration. Resistant dipstick to ascorbic acid interference did not show negative interference for glucose when its concentration is 100 mg/dL or less. Although ascorbic acid showed interference on urine dipstick blood test, the results were not negative. Test strips that measure ascorbic acid showed negative interference when the leukocyte esterase, blood and glucose concentrations are  $>50$  mg/dL,  $\geq 10$  mg/dL ve  $\geq 25$  mg/dL, respectively.

**Conclusion:** Concentration of 10 mg/dL ascorbic acid is sufficient to interfere dipstick blood test and repeating a test is not appropriate after restriction of vitamin C consumption in emergency conditions. Therefore, resistant dipstick to ascorbic acid may be preferable. However, it is necessary to determine the ascorbic acid concentration that these strips are resistant.

**Key Words:** Ascorbic acid; interference; urine strip

## GİRİŞ

Vitamin C olarak da bilinen askorbik asit, tek başına veya multivitamin takviyesi şeklinde alınmakta ya da gıda endüstrisinde lezzet artırıcı ve koruyucu olarak kullanılmaktadır (1). Askorbik asit; kollojen, L-karnitin, epinefrin ve safra asitlerinin sentezi gibi birçok metabolik fonksiyon için gereklidir (2). Renal yolla elimine edilir. Üriner ekskresyonu, plazma konsantrasyonu yaklaşık 1.2-1.8 mg/dL düzeylerine ulaştığında başlar ve bu değer renal eşik olarak kabul edilir (3).

İdrar strip analizinde; kimyasal reaksiyonların çoğu oksidasyon reaksiyonlarına dayanır ve oksidasyonun derecesi test edilen analitin konsantrasyonu ile orantılıdır (4). Güçlü indirgeyici bir ajan olan askorbik asidin, idrar analizinde peroksidaz-redoks indikatör prensibine dayalı testlere negatif interferans gösterdiği bilindiğinden (5,6) idrar strip analizinde, askorbik asit varlığının tespit edilmesi ve düzeyinin ölçülmesi önemlidir. Bununla birlikte askorbik aside dirençli test strip'leri de geliştirilmiştir (4,7). İyodat gibi oksidantların test strip'ine eklenmesiyle askorbik asit, dehidroaskorbik aside okside edilerek interferans engellenebilmekte (7); yüksek askorbik asit konsantrasyonlarına rağmen, glukozüri ve hematüri varlığında yanlış negatif sonuçların önüne geçilebilmektedir. Oral olarak alınan 100 mg/gün gibi çok düşük vitamin C miktarının ya da tek bir bardak meyve suyunun bile idrarda 10 mg/dL

askorbik asit varlığına yol açtığı ve bu düzeylerin interferans oluşturmak için yeterli olduğu gösterilmiştir (6).

Bu çalışmanın amacı idrar analizinde askorbik asit varlığının; glukoz, kan ve lökosit esteraz üzerine etkisini incelemek, interferansa dirençli strip'lerle askorbik asit düzeyini ölçen strip'leri karşılaştırarak değerlendirmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### İdrarda askorbik asit sıklığının belirlenmesi

Merkez Laboratuvarında Nisan-Mayıs 2015 tarihlerinde analiz edilen ardışık 10055 hastaya ait tam idrar tetkiki (TİT) sonuçları retrospektif olarak incelendi. Askorbik asit pozitifliğiyle karşılaşma sıklığı, askorbik asit konsantrasyonu ve kliniklere göre dağılımı değerlendirildi.

### İnterferans çalışması

Askorbik asidi negatif olan ve farklı düzeylerde glukoz veya kan ya da lökosit esteraz içeren örneklerden, idrar havuzları oluşturuldu. Her bir analitin farklı seviyelerini içeren örnek havuzları analiz edilerek, altı ayrı tüpe aktarıldı. Bu tüplere; son konsantrasyonları sırasıyla 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 mg/dL olacak şekilde askorbik asit eklendi. Hazırlanan tüm örnekler tekrar analiz edildi.

## İdrar analizi

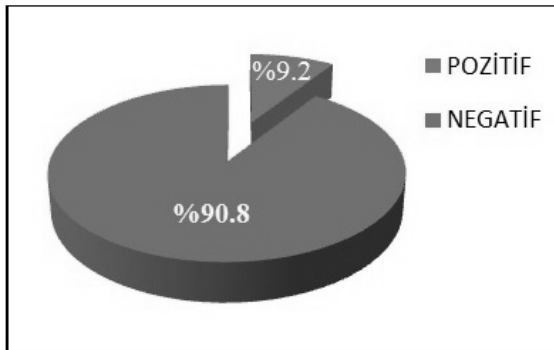
İdrar analizleri, DIRUI H-800/FUS-200 ve ROCHE cobas u 601/u 701 tam otomatik idrar analizörlerinde yarım saat içinde gerçekleştirildi. Çalışmada aynı lot numaralı stripler ve Merck marka askorbik asit kullanıldı. Her iki sribin; glukoz, kan ve lökosit esteraza ait semikantitatif renk skalası Tablo 1'de gösterildi. İdrar glukoz konsantrasyonları aynı zamanda otoanalizörde (Roche diagnostik, cobas c 702, Mannheim, Germany) heksokinaz yöntemiyle de ölçüldü. Her iki idrar sribinin bazı analitler için üretici firma tarafından belirtilen analitik sensitivitesi Tablo 2'de verilmiştir.

## BULGULAR

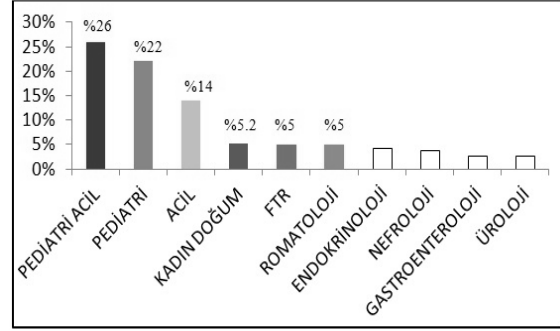
### Askorbik asit pozitiflik insidansı

10055 idrar örneğinin 922 (% 9.2)'sinde askorbik asit pozitif olarak belirlendi (Şekil 1). Hastaların %70'inde askorbik asit 10 mg/dL, % 16.7'sinde 25 mg/dL, %11'inde 50 mg/dL, %2.3'ünde 100 mg/dL ve üzerindeydi.

Askorbik asidi pozitif çıkan idrar numunelerinin %50'sinin acil servisten (çocuk ve erişkin) geldiği ve hastaların %48'inin pediatrik yaş grubunda olduğu tespit edildi (Şekil 2).



Şekil 1. Askorbik asit pozitiflik insidansı  
Figure 1. Incidence of ascorbic acid positivity



Şekil 2. Askorbik asit pozitifliğinin kliniklere göre dağılımı

Figure 2. Distribution of ascorbic acid positivity according to clinics

### Askorbik asit interferans bulguları

Askorbik asidi ölçen stripler; lökosit esteraz (70 WBC/ $\mu$ L), kan (10 RBC/ $\mu$ L) ve glukoz (100 mg/dL) için sırasıyla >50 mg/dL,  $\geq$ 10 mg/dL ve  $\geq$ 25 mg/dL askorbik asit konsantrasyonlarında negatif interferans gösterdi (Tablo 3).

Askorbik asit interferansına dirençli striplerin; lökosit esteraz için interferans göstermediği, glukoz değerinin ise ancak 400 mg/dL askorbik asit varlığında normale geldiği, kanın 100 mg/dL ve üzerinde askorbik asit düzeylerinde interferanstan etkilenmesine karşın negatifleşmediği tespit edildi (Tablo 4).

Yüksek askorbik asit düzeylerinde; H-800 stripleriyle analiz edilen ve kan için negatif sonuç veren numunenin mikroskopik analizinde eritrositlerin varlığı (7-8 RBC/HPF) dikkati çekti. 100 mg/dL askorbik asit konsantrasyonunda H-800 stripleriyle negatif olan glukoz değeri, otoanalizörde 171 mg/dL olarak ölçüldü (Tablo 5).

**Tablo 1.** H-800 ve cobas u 601 pack stripleri için semikantitatif renk skalası  
**Table 1.** Semi-quantitative color scale for the H-800 and cobas u 601 pack strips

<b>H-800</b> (askorbik asit için test bölgesi içeren)		<b>cobas u 601 pack (cobas 10 serisi)</b> (askorbik aside dirençli)	
Lökosit Esteraz	Neg. 15 70 125 500 WBC/ $\mu$ L	Lökosit esteraz	25 100 500 WBC/ $\mu$ L 1+ 2+ 3+
Kan	Neg. 10* 10 25 80 200 RBC/ $\mu$ L	Eritrosit	5-10 25 50 250 RBC/ $\mu$ L neg. 1+ 2+ 3+ 4+
Glukoz	Neg. 100 250 500 1000 mg/dL	Hb	10 25 50 250 RBC/ $\mu$ L 1+ 2+ 3+ 4+
Askorbik asit	0 10 25 50 100 mg/dL	Glukoz	50 100 300 1000 mg/dL normal 1+ 2+ 3+ 4+
10; eser miktarda *test bölgesinde yeşil noktalanmalar, intakt eritrositler		<b>Askorbik asit için test bölgesi yok</b>	

RBC, eritrosit; WBC, lökosit

**Tablo 2.** Glukoz, kan ve lökosit esterazın analitik sensitivitesi  
**Table 2.** Analytical sensitivity of glucose, blood and leukocyte esterase parameters

Analit	H-800 Sensitivite	Cobas u 601 Sensitivite
Glukoz (mg/dL)	50-100	30-40
Kan (RBC/ $\mu$ L)	10	5-10
Lökosit esteraz (WBC/ $\mu$ L)	15	20-30
Askorbik asit (mg/dL)	10	-

**Tablo 3.** Askorbik asidin, askorbik asit düzeyini ölçen striplere etkisi  
**Table 3.** Influence of ascorbic acid on strips measuring ascorbic acid

Analit	Askorbik asit düzeyini ölçen strip Askorbik asit konsantrasyonu (mg/dL)							
	Analit düzeyi	0	10	25	50	100	200	400
Kan (RBC/ $\mu$ L)	10	10	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	25	25	25	10	10	Neg	Neg	Neg
	80	80	80	25	25	25	Neg	Neg
	200	200	200	200	200	80	80	25
Glukoz (mg/dL)	100	100	100	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	250	250	250	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	500	500	500	500	500	100	100	100
Lökosit esteraz (WBC/ $\mu$ L)	70	70	70	70	70	15	15	Neg
	125	125	125	125	125	70	70	70
	500	500	500	500	500	500	500	125

Neg; Negatif

**Tablo 4.** Askorbik asidin dirençli striplere etkisi**Table 4.** Influence of ascorbic acid on ascorbic acid resistant strips

Analit	Askorbik aside dirençli strip							
	Askorbik asit konsantrasyonu (mg/dL)							
	Analit düzeyi	0	10	25	50	100	200	400
Kan (RBC/ $\mu$ L)	10	10	10	10	10	10	10	10
	25	25	25	25	25	10	10	10
	50	50	50	50	50	25	25	25
	250	250	250	250	250	250	250	250
Glukoz (mg/dL)	100	100	100	100	100	100	50	N
	300	300	300	300	300	300	300	300
	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Lökosit esteraz (WBC/ $\mu$ L)	25	25	25	25	25	25	25	25
	100	100	100	100	100	100	100	100
	500	500	500	500	500	500	500	500

N: Normal; RBC: eritrosit; WBC: lökosit

**Tablo 5.** Askorbik asit interferansının mikroskopi ve otoanalizör sonuçlarıyla doğrulanması**Table 5.** Confirmation of ascorbic acid interference by microscopy and autoanalyzer results

Analit	Askorbik asit konsantrasyonu (mg/dL)							
	DIRUI							
	0 S	0 M	100 S	100 M	200 S	200 M	400 S	400 M
Kan	25	5	Neg	3	Neg	4	Neg	5
	80	7	25	6	Neg	7	Neg	8
	200	39	80	42	80	38	25	40
Lökosit esteraz	70	9	15	7	15	9	Neg	7
	125	15	70	16	70	17	70	16
	500	20	500	22	500	22	125	25
	0 S	0 O	100 S	100 O	200 S	200 O	400 S	400 O
Glukoz (mg/dL)	100	70	Neg	64	Neg	65	Neg	64
	250	173	Neg	171	Neg	173	Neg	178
	500	1270	100	1275	100	1309	100	1301

S: Strip; M: Mikroskopi (RBC veya WBC/HPF); HPF: high- power field

O: Otoanalizör (Hekzokinaz yöntemi); Neg: Negatif

Analit	Askorbik asit konsantrasyonu (mg/dL)							
	ROCHE							
	0 S	0 M	100 S	100 M	200 S	200 M	400 S	400 M
Kan	25	5	10	4	10	6	10	4
	50	6	25	7	25	6	25	5
	250	68	250	56	250	54	250	60
Lökosit esteraz	100	19	100	17	100	17	100	18
	500	34	500	33	500	32	500	30
	0 S	0 O	100 S	100 O	200 S	200 O	400 S	400 O
Glukoz (mg/dL)	100	70	100	64	50	65	N	64
	300	557	300	568	300	568	300	566
	1000	1270	1000	1275	1000	1309	1000	1301

S: Strip; M: Mikroskopi (RBC veya WBC/HPF); HPF: high- power field); N: Normal

O: Otoanalizör (Hekzokinaz yöntemi)

## TARTIŞMA

İdrarda askorbik asit pozitifliğiyle karşılaşma sıklığı; kullanılan sribin analitik sensitivitesi-ne, o toplumda vitamin C alım sıklığına, mevsime ve idrar örneğinin verilme zamanına bağılı olarak değişkenlik gösterebilir.

Rutin 4379 idrar örneğinin incelendiği bir çalışmada, askorbik asit konsantrasyonu için pozitiflik oranı %22.8 ve ortalama konsantrasyonu 37 mg/dL (7.1-340 mg/dL) olarak belirlenmiştir (6). Başka bir çalışmada ise test edilen 676 örneğin %24'ü pozitif bulunmuş ve 500 mg/dL vitamin C'nin; 100, 250 ve 500 mg/dL glukoz ve 5 RBC/ $\mu$ L içeren örneklerde negatif sonuçlara neden olduğu tespit edilmiştir (8). Literatürde ayrıca analiz edilen 5006 örneğin %18.1'i askorbik asit açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (9). Çalışmamız literatürle karşılaştırıldığında idrar askorbik asit pozitiflik oranındaki düşüklüğün, popülasyonun vitamin takviyesi alma alışkanlığına, beslenme tarzına, analizin yapıldığı mevsime ve örnek sayısındaki farklılığa bağılı olabileceği düşünöldü.

Berg ve ark (10) tarafından 50 mg/dL glukoz içeren idrar örneklerinde, 30 mg/dL askorbik asitin yanlış negatif sonuçlara neden olduğu tespit edilmiştir. Günlük alınan askorbik asit dozu ile idrar askorbik asit konsantrasyonu arasında ilişki gözlenmiş; oral 1000 mg dozla, ortalama idrar askorbik asit değerinin 63 mg/dL (2.2-289 mg/dL); üç bardak meyve suyu alımıyla ise ortalama idrar askorbik asit değerinin 16 mg/dL (0.9-63 mg/dL) olduğu gösterilmiştir (6).

Vitamin C; romatoid artrit, kardiyovasköler hastalık, diyabet ve kanser hastalığının terminal dönemi gibi birçok kronik hastalıkta antioksidan olarak kullanılmaktadır (11). Ayrıca, destekleyici olarak alınma sıklığı giderek artmaktadır. Bu durum göz önüne alındığında, idrarda glukoz ve hemoglobin için yanlış düşük ya da yanlış negatif sonuçların, bazı toplumlar için daha fazla sorun oluşturacağı söylenebilir (5).

Önceki çalışmalar askorbik asidin, hemoglobin için strip indikatör maddeleriyle interferans oluşturduğunu göstermiştir (6,10,12). Askorbik asit, idrar test striplerinde okside indikatör maddeleri azaltarak daha az rengin oluşmasına neden olmakta (7), dolayısıyla askorbik asit interferansının temel mekanizması peroksit tükenmesi olarak tanımlanmaktadır (13).

Bu çalışmada, askorbik asit interferansını önlemek amacıyla geliştirilen dirençli test striplerinin performansı değerlendirilmiş; glukoz ve lökosit esteraz testlerinin interferanstan etkilenmediği, kan testinin ise  $\geq 100$  mg/dL askorbik asit konsantrasyonundan etkilenmekle beraber yanlış negatif sonuçlara neden olmadığı görölmüştür. Glukoz için yanlış düşük değerlere, idrar askorbik asit  $\geq 200$  mg/dL düzeylerinde rastlanılmış, 400 mg/dL'de normale geldiği gözlenmiştir. Literatüre bakıldığında glukozu etkileyebilecek bu düzeyde yüksek idrar askorbik asit değerlerini görmek pek mümkün değildir. Yine de idrar glukoz değerlerinin kan glukoz değerleriyle birlikte değerlendirilmesi yararlı olabilir.

Askorbik asit düzeyini ölçen striplerin özellikle kan ve glukoz testleri için interferansa duyarlı olduğu söylenebilir. İdrar analizinde askorbik asit düzeyini ölçen strip kullanımının yanlış negatifliği azaltmak açısından yararlı olduğu belirtilmektedir (8). İdrar örneklerinde askorbik asit düzeylerinin ölçülmesi, pozitif sonucun çıkması durumunda klinisyen uyarılıyorsa anlamlıdır. Özellikle idrar strip ve mikroskopi uyumsuzluğunda askorbik asit düzeylerini bilmek, yanlış negatif sonuçların raporlanmasını önlemek açısından önemlidir. Ancak sonuçların onaylanması ve raporlanması dikkatli bir değerlendirme gerektirdiğinden kişiler arası standardizasyonu sağlamak güç olabilir ve hatta numunenin vitamin C alımı kesilerek tekrar istenmesi gerekebilir. Hasta numunelerinin yarısının acilden geldiği ve çocuk olduğu düşünöldüğünde numunenin tekrarı güç olabilir. Hatta çocuklardan alınan idrar numunesi az miktardaysa, sadece kimyasal

analiz için yeterli olup mikroskopik analiz yapılamayabilir ve yanlış düşük ya da negatif sonuçlara neden olabilir. Ayrıca askorbik asidi pozitif bir idrarın dansitesinin düşük ve/veya pH'sının alkali olması hücrelerin parçalanmasına neden olabileceğinden sediment analizinde eritrositler görülmeyebilir ve sonuçta hem kimyasal hem de mikroskopik analizde hematüri gözden kaçabilir. Bu nedenle askorbik asit interferansına dirençli striplerin, önce negatif interferansa direnç

açısından verifikasyonu ve dirençli olduğu askorbik asit ve analit düzeylerinin belirlenmesi şartıyla kullanımının daha uygun olacağı düşüncesindeyiz. Rutin idrar analizinde her laboratuvarın askorbik asit pozitifliğiyle karşılaşma oranını ve düzeyini belirlemesi, idrar strip tercihinde önemli bir belirleyici olabilir. Tıpkı serum indeksleri gibi teste dayalı askorbik asit indeksinin geliştirilmesi doğru sonuç raporlanması açısından yarar sağlayabilir.

### KAYNAKLAR

1. Naidu KA. Vitamin C in Human Health and Disease is Still A Mystery? An Overview. *Nutr J* 2003;2:7.
2. Grosso G, Bei R, Mistretta A, Marventano S, Calabrese G, Masuelli L, et al. Effects of Vitamin C on Health: A Review of Evidence. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013;18:1017-29.
3. Pietrzik K, Golly I, Loew D. Vitamin C. In: *Handbuch Vitamine. Für Prophylaxe, Therapie und Beratung*. Munich: Urban & Fischer, Elsevier GmbH; 2008. p. 173-85.
4. Nagel D, Seiler D, Hohenberger EF, Ziegler M. Investigations of Ascorbic Acid Interference in Urine Test Strips. *Clin Lab* 2006; 52(3-4):149-53.
5. Zweig MH, Jackson A. Ascorbic Acid Interference in Reagent-strip Reactions for Assay of Urinary Glucose and Hemoglobin. *Clin Chem* 1986; 32(4): 674-7.
6. Brigden ML, Edgell D, McPherson M, Leadbeater A, Hoag G. High Incidence of Significant Urinary Ascorbic Acid Concentrations in A West Coast Population-implications for Routine Urinalysis. *Clin Chem* 1992;38(3):426-31.
7. White-Stevens RH. Interference by Ascorbic Acid in Test Systems Involving Peroxidase. I. Reversible Indicators and The Effects of Copper, Iron, and Mercury. *Clin Chem* 1982;28(4):578-88.
8. Ko DH, Jeong TD, Kim S, Chung HJ, Lee W, Chun S, et al. Influence of Vitamin C on Urine Dipstick Test Results. *Ann Clin Lab Sci* 2015;45(4):391-5.
9. Lee W, Kim Y, Chang S, Lee AJ, Jeon CH. The Influence of Vitamin C on The Urine Dipstick Tests in The Clinical Specimens: A Multicenter Study. *J Clin Lab Anal* 2016;1-6.
10. Berg B. Ascorbate Interference in The Estimation of Urinary Glucose by Test Strips. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986;24(1):89-96.
11. McGregor GP, Biesalski HK. Rationale and Impact of Vitamin C in Clinical Nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9(6):697-703.
12. White-Stevens RH, Stover LR. Interference by Ascorbic Acid in Test Systems Involving Peroxidase. II. Redox-coupled Indicator Systems. *Clin Chem* 1982;28(4):589-95.
13. Martinello F, Luiz da Silva E. Mechanism of Ascorbic Acid Interference in Biochemical Tests That Use Peroxide and Peroxidase to Generate Chromophore. *Clin Chim Acta* 2006;373:108-16.

---

#### Yazışma adresi:

Didem Barlak Ketİ

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya,  
Kayseri, Türkiye

E-mail: dbarlakketi@erciyes.edu.tr

---