

Kreatinin – srovnání metod pro stanovení hladiny v moči

D. Friedecký, R. Hušková,
P. Chrastina, P. Horník a T. Adam

Kreatinin je jedním z nejčastěji stanovovaných analytů v biochemické laboratoři. V tomto příspěvku jsou srovnány rutinně používané metody pro stanovení kreatininu v moči s technikou tandemové hmotnostní spektrometrie (TMS). Další díly tohoto miniseriálu budou zaměřeny na srovnání metod pro stanovení sérové hladiny kreatininu, a dále bude zmíněn metabolismus a některá více či méně známá klinická využití stanovení kreatininu.

Pro srovnání metod bylo použito vzorků 120 anonymních pacientů v rozmezí hladin kreatininu od 1 do 26 mmol/l. Pro enzymovou a Jaffé metodu byly vzorky použity bez úpravy, pro TMS byly vzorky naředěny standardním roztokem d3-kreatininu (1:10).

Enzymová i kinetická Jaffé metody byly provedeny na automatickém analyzátoru Hitachi 917 (soupravy a kalibrátory Roche). Enzymová metoda je založena na degradaci kreatininu a jeho reakčních produktů kreatininasou, kreatinasou a sarkosinoxidasou. Produkovaný H_2O_2 je stanoven spektrofotometricky. Jaffé metoda využívá reakci kreatininu s pikrátem v alkalickém prostředí za vzniku barevného komplexu, který je opět stanoven spektrofotometricky. Metoda TMS

byla provedena na „triple-quadrupole“ hmotnostním spektrometru API 2000 (Applied Biosystems-Sciex) pomocí přímého nástřiku bez separace.

Výsledky jsou prezentovány pomocí grafů, které poskytují lepší představu při interpretaci statistických dat. Pro srovnání naměřených dat je možno použít několik přístupů. Na níže uvedených grafech jsou aplikovány:

- porovnání dvou nezávislých výběrů pomocí krabicových grafů
- párové porovnání dvou výběrů regresní analýzou
- párové porovnání dvou výběrů pomocí Bland-Altmanových grafů

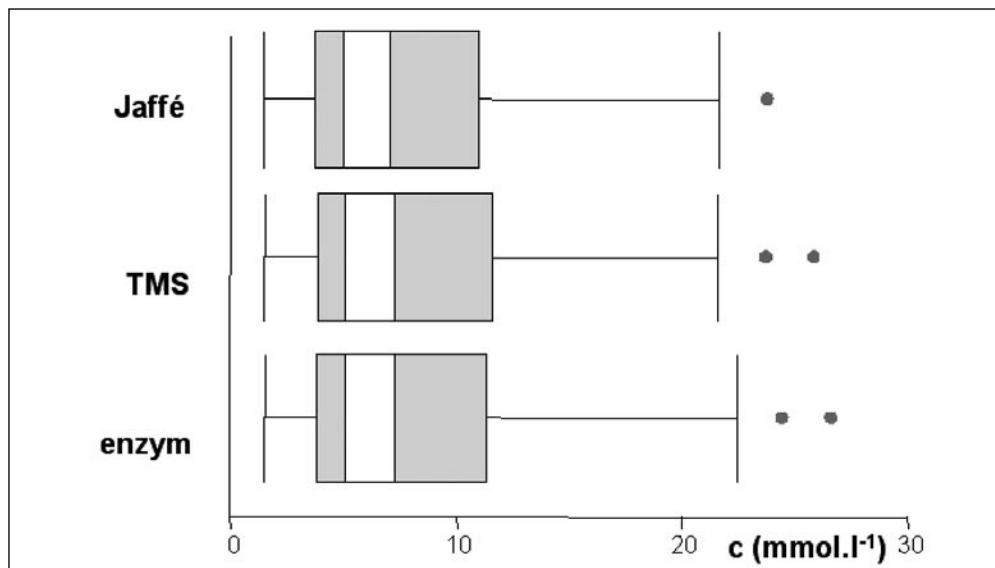
Jako srovnávací metoda byla vybrána obecně používaná a uznávaná enzymová metoda.

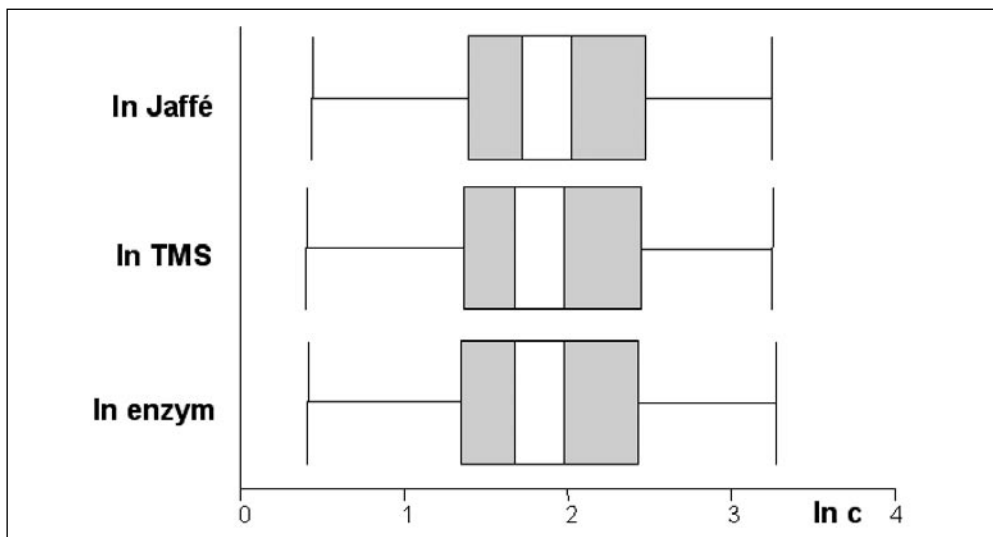
POROVNÁNÍ DVOU NEZÁVISLÝCH VÝBĚRŮ KRABICOVÝMI GRAFY

Krabicové grafy poskytují základní informace o rozdělení. Na obrázku 1 jsou data bez transformace a je vidět, že soubory nemají normální rozdělení; 25 – 75 percentil (zelený obdélník) neleží uprostřed úsečky. Červené body byly nesprávně vyhodnoceny jako odlehlé.

Po logaritmické transformaci (obrázek 2) naměřených dat získáváme normální rozdělení souborů dat u všech tří metod a žádné odlehlé body se již nevyskytují. Z grafů je patrné, že pokud se porovnají soubory dat nezávisle, pak metody dávají srovnatelné výsledky.

Obrázek 1:





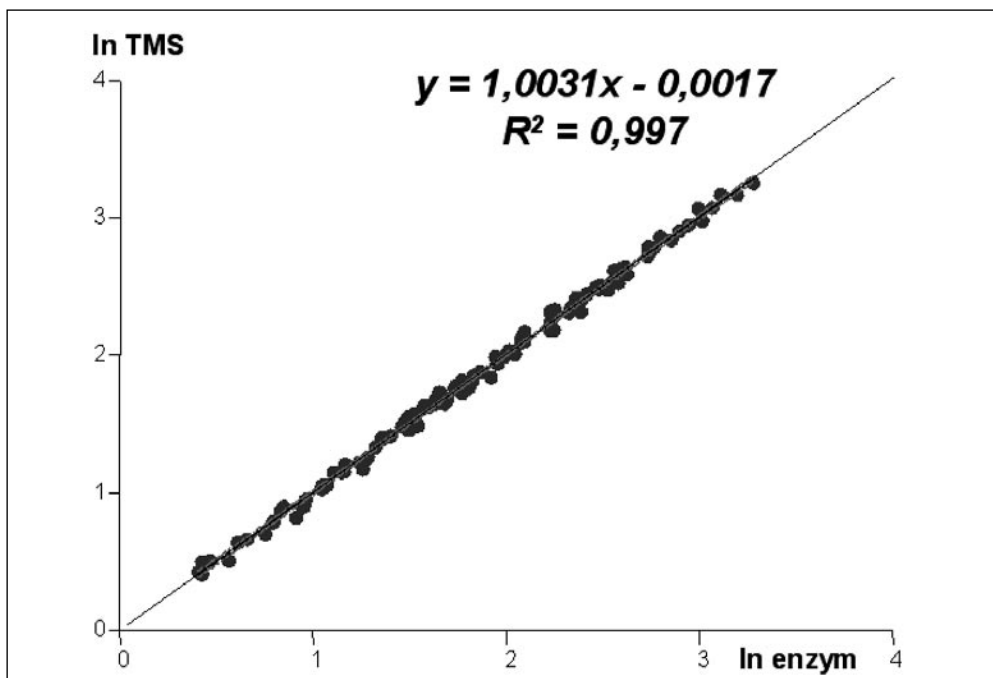
Obrázek 2:

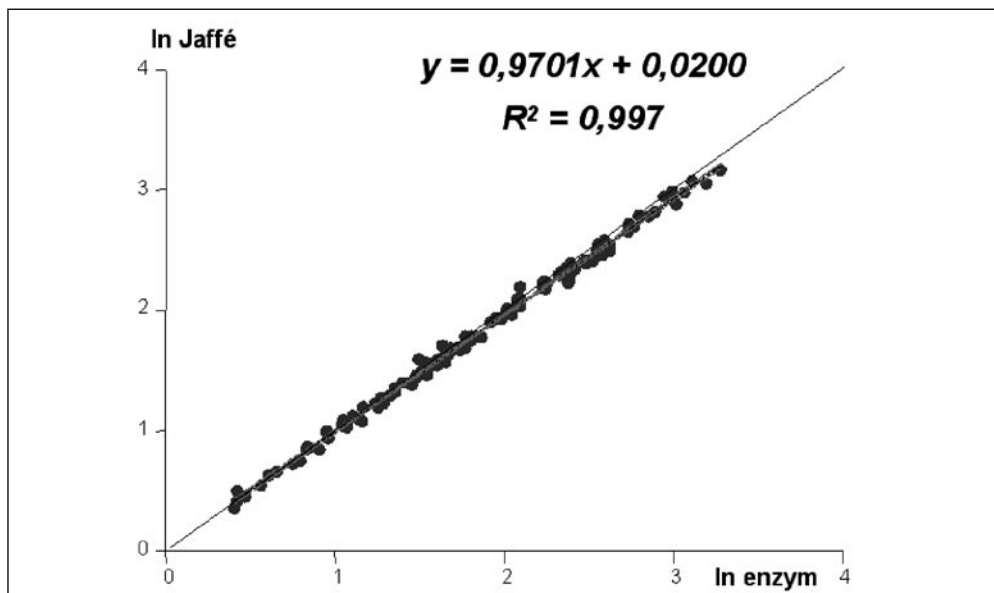
REGRESNÍ ANALÝZA

Velmi často používanou metodou pro srovnání dvou souborů naměřených dat je regresní analýza. Regrese byla provedena na logaritmických datech, která vykazují normální rozdělení a tudíž je možno aplikovat tento statistický test. Na obrázcích 3 a 4 jsou zobrazeny závislosti dat naměřených jednotlivými metodami. Závislost „ \ln TMS“ na „ \ln enzym“

vykazuje velmi dobrou korelaci, kde směrnice vykazuje trend + 0,3% ve prospěch TMS metody. Na druhou stranu závislost „ \ln Jaffé“ na „ \ln enzym“ poskytuje negativní trend - 3% pro Jaffé metodu. Tato skutečnost není z grafu na první pohled zřejmá, avšak směrnice rovnice regresní křivky toto jednoznačně kvantifikuje.

Obrázek 3:





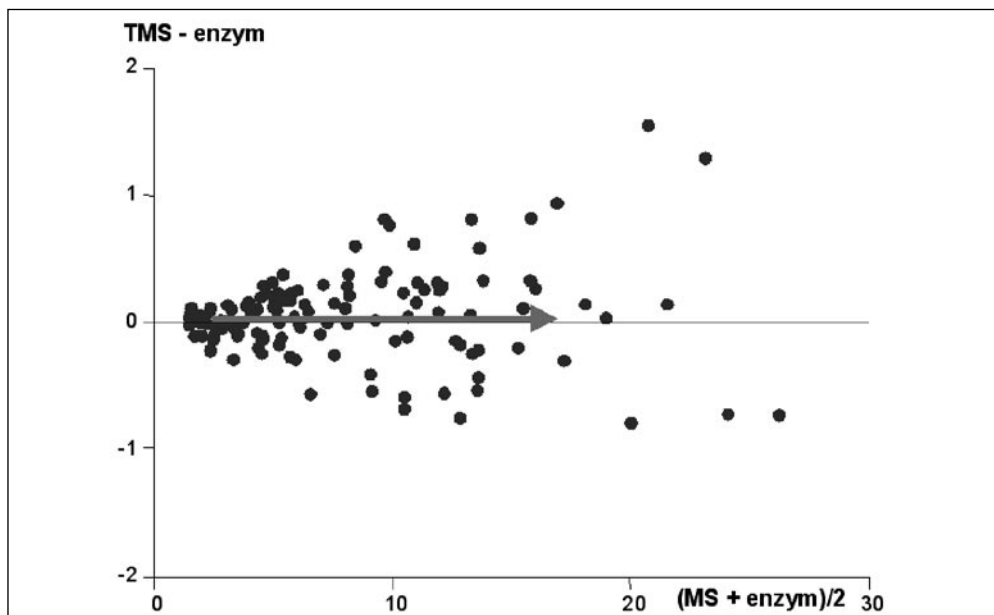
Obrázek 4:

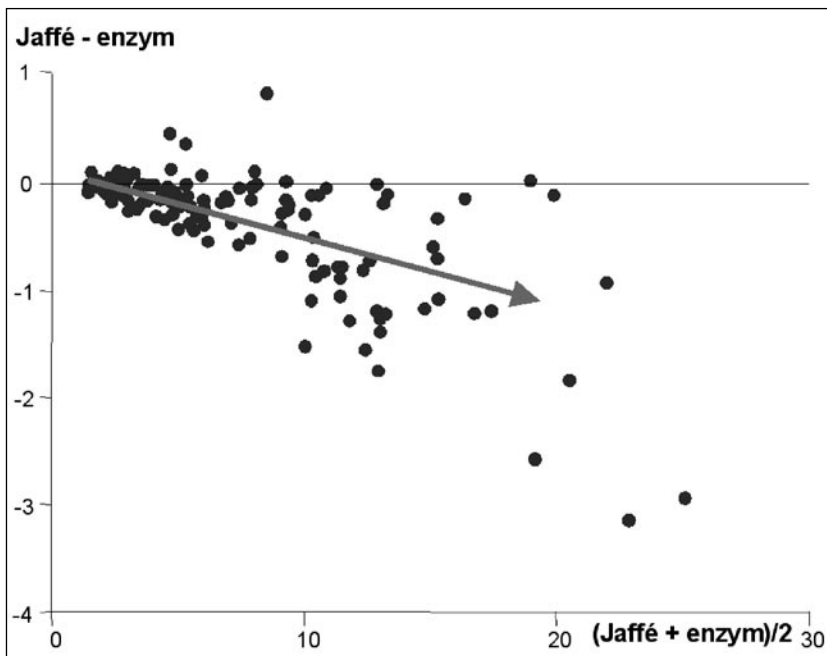
PÁROVÉ POROVNÁNÍ DVOU VÝBĚRŮ POMOCÍ BLAND-ALTMANOVÝCH GRAFŮ

Bland-Altmanův graf sleduje rozdíly mezi metodami. Graf umožňuje stanovit, zda jsou rozdíly systematického charakteru (bias, trend) a velikost rozdílu (rozptyl či směrodatná odchylka). Do grafu se vynášejí rozdíly mezi oběma metodami

v závislosti na průměrech těchto dvou metod. Na obrázcích 5 a 6 jsou znázorněna data bez transformace. Je vidět, že data vykazují heteroskedasticitu (s rostoucí koncentrací rostou diference). Vzhledem k tomu je nutné opět provést transformaci a do grafů vynést logaritmy hodnot. Avšak i tak lze na obrázku 6 sledovat výrazný negativní trend u Jaffé metody, který byl kvantifikován pomocí regresní analýzy.

Obrázek 5:





Obrázek 6:

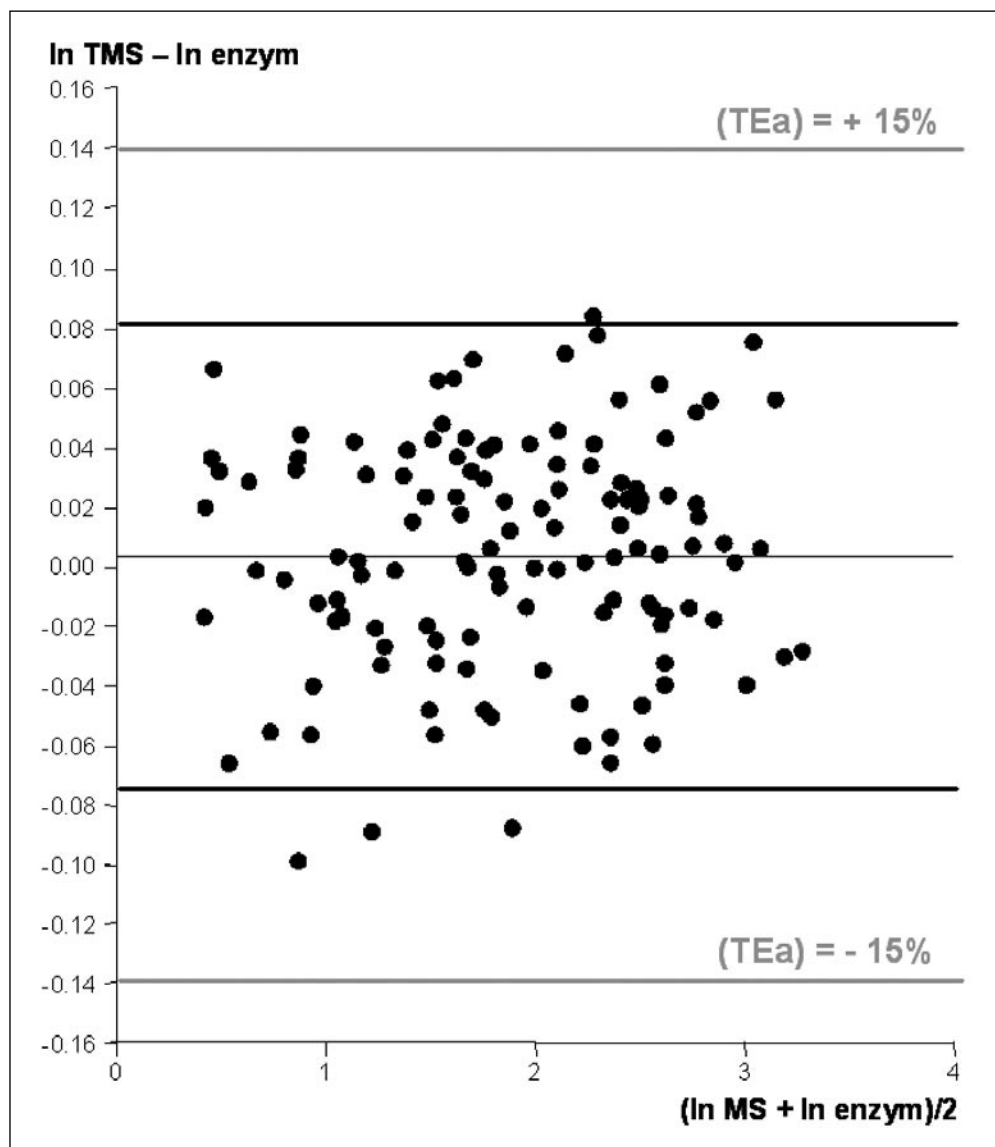
Obrázky 7 a 8 ukazují grafy s vyneseními logaritmy naměřených hodnot. Tyto hodnoty je možno statisticky zpracovat a vynést do grafu průměrné difference, limitní difference na hladině významnosti 95 % ($\pm 2s$). Z obrázků vyplývá, že TMS a enzymová metoda poskytují zcela srovnatelné výsledky. Průměrná difference je + 0,5 % a limitní difference jsou - 7,6 % a + 8,6 %

Jaffé metoda ve srovnání s enzymovou metodou vykazuje v rozdílech negativní trend, již dříve sledovaný u regresní analýzy. V tomto případě je průměrná difference významně ovlivněna a vychází - 4,4 % a limitní difference - 13,2 % a + 4,5 %. I přes tuto systematickou chybu Jaffé metoda splňuje kritéria pro celkovou přípustnou analytickou chybu dle doporučení ČSKB ($TE = \pm 15\%$). Z analytického

pohledu je chyba pravděpodobně způsobena vznikem jiných nedefinovaných komplexů kreatinin-pikrát, avšak dle těchto dat se tento jev vyskytuje proporcionálně i při nižších hladinách kreatininu v moči.

Závěrem lze tedy konstatovat, že všechny tři metody poskytují výsledky v souladu s doporučením ČSKB. Na základě výše uvedených výsledků je možno konstatovat, že TMS metoda poskytuje plně srovnatelné výsledky s enzymovou metodou. Je všeobecně známo, že Jaffé metoda je díky pomalým i rychlým pseudochromogenům nespecifická, s čímž souvisí potíže s harmonizací návaznosti měření. Dovolil bych se případně čtenáře vyzvat k zamyšlení, zda-li nelze elegantně za pomoci statistických nástrojů vylepšit Jaffé metodu?

Obrázek 7:



Obrázek 8:

