

Liší se kreatinin v patientských vzorcích od kreatininu v EHK?

R. Bullawa

ÚVOD: CO NEPŘEHLÉDNOUT PŘI POSUZOVÁNÍ KVALITY STANOVENÍ KREATININU

Na kvalitu metody kreatinin (princip Jaffé nebo enzymaticky) se můžeme dívat z perspektivy reálných patientských vzorků a/nebo kontrol všeobecně (interních, externích), popř. referenčních materiálů. Patientské sérum je nativní. Kontroly, pokud to nejsou patientská séra, mají také svou kvalitu. Odvíjí se od míry podobnosti s nativním lidským vzorkem. Technologie zpracování a přidaná aditiva v procesu výroby určují jejich kvalitu - tj. vhodnost pro kontrolní účely. U rutinních metod v laboratoři je někdy rozhodující matrice. Např. lyofilizované materiály stejného druhu (i výrobce) na různých koncentračních úrovních nemusí vykazovat stejnou míru komutability/podobnosti s lidským vzorkem téže úrovně.

Platí to i v případě stanovení kreatininu, kdy lyofilizovaná matrice použita u referenčního materiálu NIST SRM 909b byla na základě nových poznatků z klinických studií (publikace z let 2000 - 2006) nahrazena nativní lidskou (zmražené sérum). Kromě přídavku kreatininu do vyšší hladiny, bez aditiv a konzervantů s cílem zabezpečit maximální komutabilitu, a tím přenositelnost referenčních hodnot (ID-LC/MS) na rutinní metody pro stanovení kreatininu (Jaffé, enzymatická metoda). V roce 2007 byl uveden do praxe nový referenční materiál NIST SRM 967.

Tab. 1

Č. vzorku	Pac. vzorky (91 - 933 $\mu\text{mol/l}$)		Co je směrodatné? ← ? →	Kontrolní materiál na odp. konc. hladině (120 - 708 $\mu\text{mol/l}$)	
	Metoda CREA _{JAFFÉ} (ID-LC/MS, NIST 967a) $\mu\text{mol/l}$	Metoda CREA _{ENZ} (NIST 967a) $\mu\text{mol/l}$		Diference na pacientech (%)	BIAS EQA SEKK Jaffé/Enz
39.	91	88	3,4	?! AKS B1/11	INST61
5.	94	96	-2,1		
33.	107	109	-1,8	37,6* / -5,1 %	INST61
37.	118	118	0,0		
15.	119	121	-1,7		5,4 / -2,1 %

KREATININ: NOVÁ ÉRA

Národní edukační program pro ledvinové choroby v USA (NDKEP) ve spolupráci s IFCC a EC4 inicioval program standardizace kreatininu za účelem pomoci výrobcům IVD a klinickým laboratorům snížit mezilaboratorní variabilitu kalibrací tohoto analytu, a tím také umožnit přesnější odhad glomerulární filtrace (eGFR). Klíčovým nástrojem se stal nový referenční materiál NIST SRM 967.

Máme dvě rutinní metody (Jaffé, enzymatickou). Máme ale různé výrobce těchto metod, kteří mají různý přístup ke standardizaci kreatininu. V případě Jaffé metody to mohou být různé kompenzace. Např. matematické (známé jako číselné odečty od výsledků), kalibrační nebo blankové. Může se ale jednat i o metodu Jaffé s přímým měřením bez jakýchkoliv úprav/kompenzací.

Dále máme lyofilizované kontroly, ve kterých nalezneme hodnoty/atesty pro metody Jaffé a enzymaticky s nebo bez návaznosti na NIST SRM 967. Uváděné atesty pro kreatinin Jaffé/Enzym se od sebe mohou lišit až o cca 39 %. V materiálech pro externí hodnocení kvality (EHK) nově nalezneme i hodnoty RMV. Jsou stanoveny referenční metodou, kterou neovlivňuje jejich lyofilizovaná matrice. Hodnota je stanovena vždy s nejvyšší mírou exaktnosti. Ale materiál nemusí vykazovat komutabilitu stejně vysoké úrovně pro rutinní metody (Jaffé/Enzymaticky), jak tomu bylo i v případě lyofilizovaného certifikovaného referenčního materiálu NIST SRM 909b.

A taky máme v laboratořích patientské vzorky.

Co dělat?

Lyofilizovat patientské vzorky, nebo brát ohled na různost v kvalitě/komutabilitě kontrol? Pro ilustraci tohoto stavu přikládám přehled měření kreatininu metodou Jaffé (bez výše uváděných úprav) a enzymaticky v rozmezí hodnot 91 - 933 $\mu\text{mol/l}$ na pacientech a kontrolách EHK SEKK, INSTAND.

Č. vzorku	Pac. vzorky (91 – 933 $\mu\text{mol/l}$)		Co je směrodatné? ← ? →	Kontrolní materiál na odp. konc. hladině (120 – 708 $\mu\text{mol/l}$)	
	Metoda CREA _{JAFFÉ} (ID-LC/MS, NIST 967a) $\mu\text{mol/l}$	Metoda CREA _{ENZ} (NIST 967a) $\mu\text{mol/l}$	Diference na pacientech (%)	BIAS EQA SEKK Jaffé/Enz	BIAS EQA INSTAND Jaffé/Enz
28.	127	129	-1,6		
27.	133	136	-2,2		
30.	134	137	-2,2	AKS A4/09	
34.	158	165	-4,2	19,0*/0,1 %	
23.	164	168	-2,3	AKS A2/10	
18.	199	196	1,5	17,2*/-1,1 %	
17.	226	221	2,3	AKS A4/10	
36.	243	228	6,5	17,7*/-0,6 %	INST52
31.	281	267	5,2	AKS B2/10	13,7/5,5 %
29.	338	324	4,3	5,7 /3,2 %	INST51
25.	546	539	1,3	AKS B4/10	11,4/3,3 %
24.	610	591	3,2	-0,8 /3,3 %	INST62
20.	858	836	2,6		7,1/8,7 %
22.	904	882	2,5		
21.	933	943	-1,1		

* Hodnota mimo toleranční limit SEKK (15%)

AKS1/11 vzorek B

CREA_{Jaffé} nalezeno: Vzorek B = 161 $\mu\text{mol/L}$ /bias 37.6 % (!!!) → ale na pac. séru bias: -2%

CREA_{ENZ} nalezeno: Vzorek B = 111 $\mu\text{mol/L}$

Tab. 2 Analýza kontrolních materiálů SEKK, INSTAND

	AKS2/10 vz A	AKS2/10 vz B	AKS4/10 vz A	AKS4/10 vz B	AKS1/11 vz A	AKS1/11 vz B	INST61	INST62
Atest RMV	169,8	447,5	268,5	487,0	343,7	117,0	119,5	708,0
	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
KrJaffe	200	462	313	479	383	161	125	778
	196	476	316	487	376	162	124	733
	201	482	318	484	376	160	130	763
MEAN	199	473	316	483	378	161	126	758
BIAS	17,2 %	5,7 %	17,7 %	-0,8 %	10,0 %	37,6 %	5,4 %	7,1 %
KrEnz	170	462	264	496	346	109	118	762
	166	461	268	504	349	112	118	759
	167	464	268	510	348	113	116	788
MEAN	168	462	267	503	348	111	117	770
BIAS	-1,1 %	3,2 %	-0,6 %	3,3 %	1,3 %	-5,1 %	-2,1 %	8,7 %

INSTAND: toleranční limit < 20 %, cílová hodnota stanovena ref. metodou ID-LC/MS

Metody Jaffé i Enzymatická → 100% úspěšnost od r. 2009

SEKK: toleranční limit < 15 %, atest RMV (zdroj: opis z protokolu Referenzinstitut für Bioanalytik DGKL Bonn, Německo)

V EHK SEKK se mezimetodické rozdíly metod Jaffé /Enzymaticky projevují i nad 130 $\mu\text{mol/l}$ (viz cyklus SEKK AKS4/10, vzorek A, difference cca 18 % na hladině 269 $\mu\text{mol/l}$).

EHK SEKK VS DGKL

Porovnáním RMV hodnot z certifikátu pro analyty odpovídá Vzorek B zařazený v SEKK AKS01/11 (leden 2011) kontrolnímu vzorku B z cyklu DGKL KS7/10, Proben B (září 2010)

V případě kreatininu je cílová hodnota stejná; RMV= 117 $\mu\text{mol/l}$.



Survey for clinical chemistry analytes in serum KS7/10

Survey directors:

Prof. Dr. K. Kleesiek, Prof. Dr. Dr. K. P. Kohse, Prof. Dr. M. Neumaier

Organization:

Dr. W.-J. Geilenkeuser, Dr. R. Kruse

Reference laboratories:

Prof. Dr. G. Schumann, Medizinische Hochschule Hannover

Dr. A. Keßler, Universitätsklinikum Bonn

Comments on the evaluation

Target values

Because of the larger deviation of the results from the given target values resp. clearly increased scattering the maximum allowable deviation was increased for the following analytes:

cholesterol

creatinine, sample B

chloride

CK

GLDH, sample B

Doplňující popis - Kreatinin Vzorek B:

Všechny metody: n=620

Jaffé metoda n=487 laboratoří

cílová hodnota RMV = 117 µmol/l

median (Jaffé) = 142 µmol/l (n=487)

median (Enzym) = 115 µmol/l

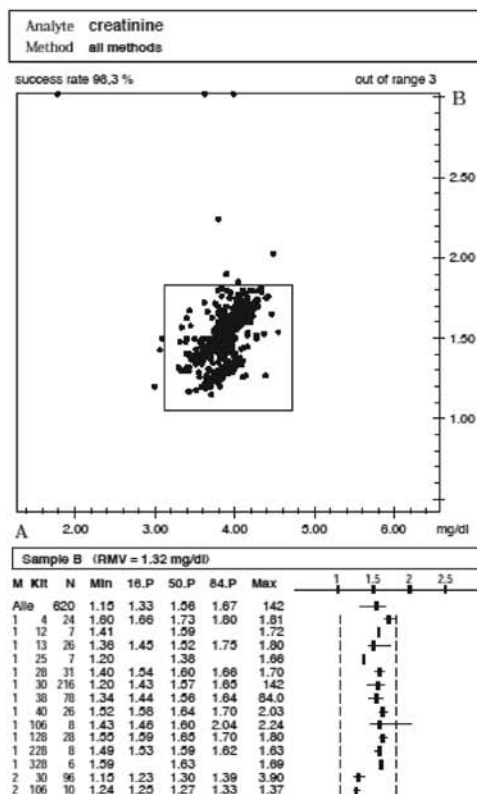
standardní toleranční limit: ± 20%

ve vzorku B aktuálně rozšířen horní

toleranční limit z 20% na 39% tj do 162 µmol/l

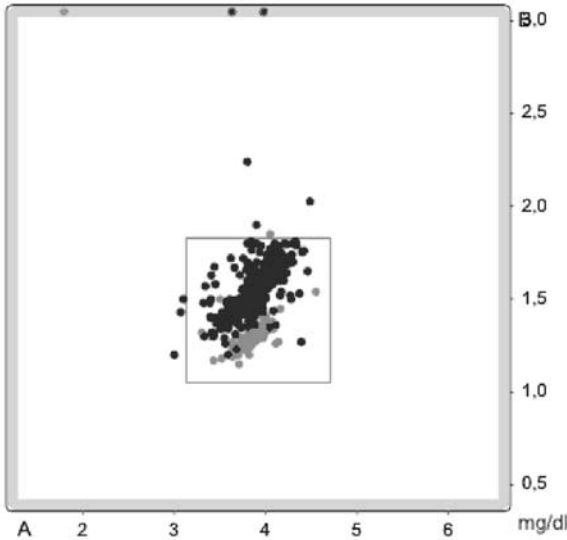
(důvod viz angl. text)

Úspěšnost: 98.3%



creatinine
 Jaffe-Reaktion
 Split 1

R f B



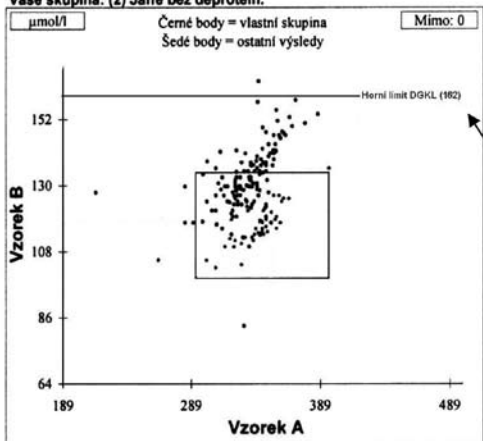
selected participants	487	
target value	3.92	1.32
limits	3.13 - 4.71	1.05 - 1.83
mean value	3.924	1.571
standard deviation	0.208	0.12
coefficient of variation	5.308	7.652

7 creatinine	[mg/dl]	RMV	LL	UL	n	16.P	50.P	84.P	A	B
(1) Jaffe reaction		A 3.92 B 1.32	3.13 1.05	4.71 1.83	487	3.73 1.44	3.96 1.60	4.10 1.68		
(2) enzymatic with color reaction		A 3.92 B 1.32	3.13 1.05	4.71 1.83	127	3.69 1.24	3.87 1.30	4.00 1.43		
(3) other		A 3.92 B 1.32	3.13 1.05	4.71 1.83	6		3.97 1.70			

Stejná kontrola – jiný cyklus EHK

SEKK - Výpis z vyhodnocení cyklu AKS1/11

Vaše výsledky [μmol/l]: A = B =
Vaše skupina: (2) Jaffé bez deprotein.



Doplňující popis - Kreatinin Vzorek B:

Všechny metody: n=177 laboratoří
Jaffé metoda n=133

cílová hodnota RMV = 117 μmol/l
(zdroj: opis z protokolu Referenzinstitut
für Bioanalytik DGKL Bonn, Německo)
standardní toleranční limit: ± 15%
tj do 134.5 μmol/l

Úspěšnost: 65%

Na obrázku vyznačen horní toleranční
limit aplikovaný DGKL

(19) Kreatinin [μmol/l]	TV: RMV	A		B		C		D		E		F		G	
		15*	343,7	292,1	395,3	335,6	25 (0)	17,0	5,06	336	177	115	65*		
		15*	117,0	99,45	134,6	128,7	24 (0)	12,1	9,39	129					
		Skupiny													
(2) Jaffé bez deprotein.	A		343,7			334,0	16 (0)	17,2	5,10	325				133	
	B		117,0			132,6	18 (0)	10,2	7,66	132					
(3) Enzymové stanovení	A		343,7			340,6	6 (0)	15,4	4,52	343				43	
	B		117,0			116,7	7 (0)	6,52	5,59	116					
Ostatní	A		343,7			337,2	0 (0)							1	
	B		117,0			127,1	0 (0)								

K ZAMYŠLENÍ:

- Limit pro úspěšnost metody kreatinin je v ČR stanoven na ±15 %. V cyklu DGKL a také IN-STAND je limit standardně ±20 %.
- Kontrolní materiál, který prošel v září 2010 cyklem v Německu (DGKL), z důvodu vyšší diskrepance metod Jaffé/Enzymaticky byl vyhodnocen s upraveným tolerančním limitem (rozšířen horní limit z 20 % na 39 %). Úspěšnost laboratoří byla 98,3 %. U nás stejný materiál se stejnou cílovou RMV hodnotou je vyhodnocen s limitem 15 %. Úspěšnost laboratoří je 65 %. Je to v souladu s výsledky měření na patientských vzorcích?
- Není neprávem zpochybnována kvalitní práce v laboratořích?

- Proč by měla být metoda Jaffé u nás zatracována, když 80 % německých laboratoří (cca 500 ze 700) používá k diagnostice metodu Jaffé?
- Metody Jaffé a enzymatická se na patientských vzorcích jeví jako ekvivalentní. Výjma nákladů na stanovení. Stejný obraz vyplývá i z německých mezilaboratorních kontrolních cyklů.
- Proč pohrbit metodu, která je z ekonomické stránky pro laboratoře výhodnější než metoda enzymatická?
- Zdá se, že v současnosti je trendem v rámci zdravotnictví hledat spíš taková řešení, která jsou sofistikovaná a nákladná. Co je levnější a jednoduché, jako by ani řešením nebylo.

Pozn.: Prezentovaná data Jaffé/Enzymaticky byla naměřena dg. soupravami BLW Diagnostics.