

Srovnání metod pro stanovení hladiny kreatininu v séru

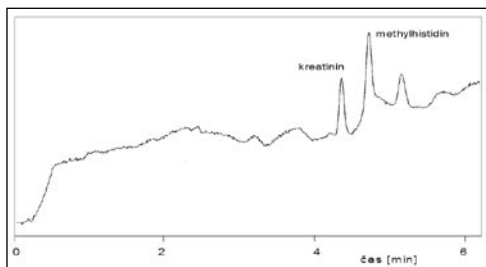
D. Friedecký, R. Calábková, J. Barbořík, D. Novotný, P. Schneiderka

V minulém příspěvku byly prezentovány a statisticky srovnány metody pro stanovení kreatininu v moči. Nyní je příspěvek zaměřen na srovnání metod pro stanovení sérových hladin. Bylo vybráno 45 vzorků anonymních pacientů v dětském věku. Tento soubor byl zvolen záměrně vzhledem ke všobecně známému faktu, že u dětí jsou významně nižší hladiny ve srovnání s dospělou populací. Cílem práce tedy bylo zjistit, zda použité metody stanovení poskytují srovnatelné výsledky.

Pro stanovení byly použity rutinně používaná Jaffé metoda a enzymová metoda. Jako třetí byla využita kapilární elektroforéza. Vzorky sér nebyly před analýzou upraveny. Enzymová i Jaffé kinetická metoda byly provedeny na automatickém analyzátoru Roche Modular SWA (soupravy a kalibrátory Roche).

Kapilárně elektroforetické stanovení (hpce) bylo provedeno na Beckman P/ACE 5510 ve spojení s detektorem diodové pole. Pro separaci byl použit pufr o složení: 200 mmol/l kys. fosforečná + NaOH, pH = 1,8. Napětí: 8 kV, kapilára: 20/27cm/50um (efektivní/celková délka / vnitřní průměr). Pro přesnější kvantifikaci byl aplikován součet vlnových délek 190 - 200 nm. Limit detekce byl 3 umol/l. Separace trvala 5 minut (obrázek 1). Výpočet byl proveden na standard kreatininu (Sigma Aldrich) rozpuštěného ve vodě o koncentracích 10 a 100 umol.l⁻¹.

Obr. 1: Separace séra kapilární elektroforézou



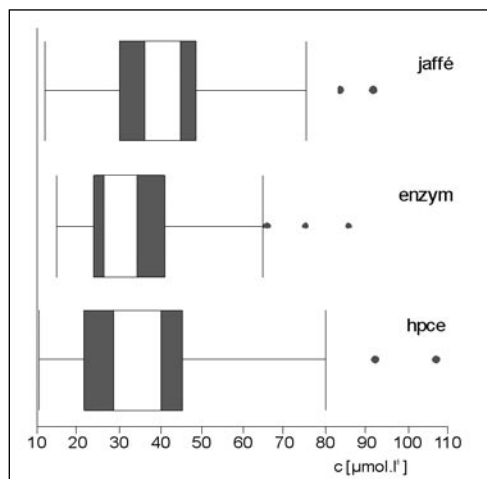
Pro statistické zhodnocení byl vybrán soubor 45 sér, čili asi třetinový počet ve srovnání s předchozí studií. Výsledky jsou opět prezentovány pomocí grafů. Nebyla zvolena srovnávací metoda, tudíž byly srovnány všechny tři metody vůči sobě.

POROVNÁNÍ NEZÁVISLÝCH VÝBĚRŮ KRABICOVÝMI GRAFY

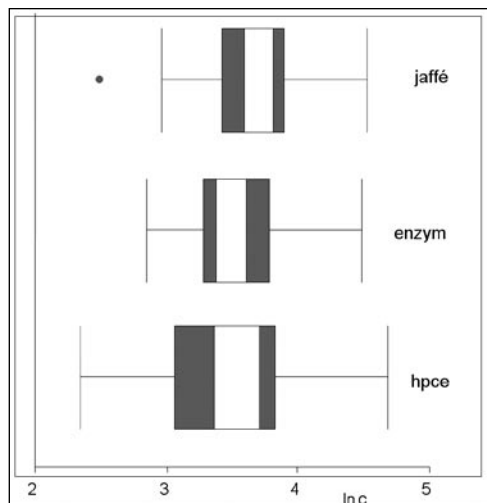
Na obrázku 2 a 3 jsou zobrazena data formou krabicevých grafů. Je vidět, že netransformovaná data nemají normální rozdělení. I když se jedná o poměrně úzké rozmezí hodnot, přesto i na tyto soubory je třeba použít logaritmickou transformaci dat, abychom získali normální rozdělení.

Po logaritmické transformaci naměřených dat získáváme normální rozdělení souborů dat u všech tří metod. Z logaritmických grafů je patrné, že pokud se porovnají soubory dat nezávisle, Jaffé a enzymová metoda vykazují podobné rozptyly, ale různé mediány. Naopak hpce metoda má větší rozptyl a medián shodný s enzymovou metodou.

Obrázek 2:



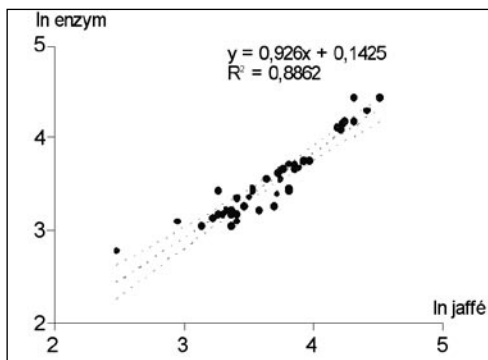
Obrázek 3:



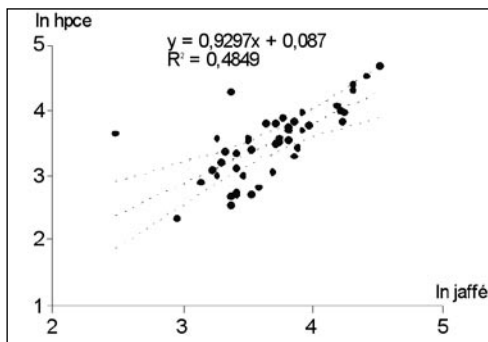
REGRESNÍ ANALÝZA

Vzhledem k nenormálnímu rozdělení naměřených dat byla regresní analýza provedena na logaritmických datech. Na obrázcích 4, 5 a 6 jsou zobrazeny závislosti dat naměřených jednotlivými metodami. Závislost „ln enzym“ na „ln jaffé“ vykazuje poměrně dobrou korelaci, kde směrnice vykazuje trend + 7% ve prospěch enzymové metody. V případě závislosti „ln hpce“ na „ln enzym“ a „ln jaffé“ se dle korelačního koeficientu nedá tvrdit o dobré korelaci. Avšak při bližším prozkoumání je z těchto dvou grafů (5, 6) vidět, že je zde obdobný trend, kdy hpce dává u nižších hladin nižší výsledky ve srovnání s ostatními metodami.

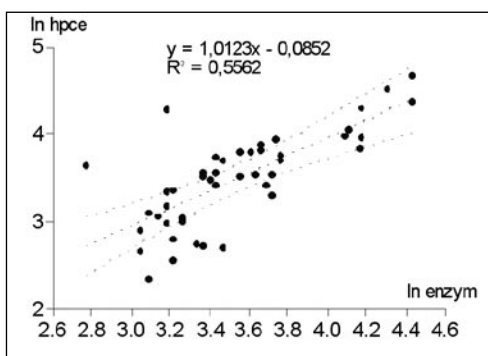
Obrázek 4:



Obrázek 5:



Obrázek 6:

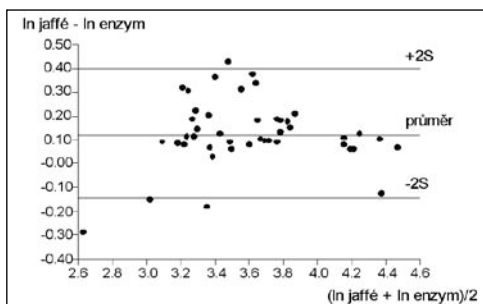


PÁROVÉ POROVNÁNÍ DVOU VÝBĚRŮ POMOCÍ BLAND-ALTMANOVÝCH GRAFŮ

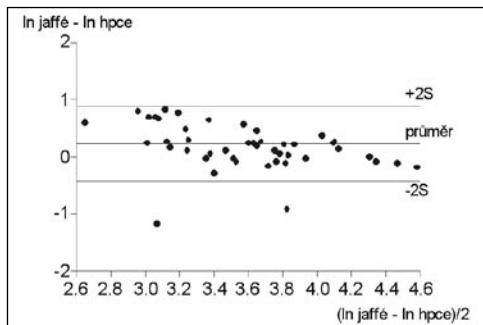
Jako poslední hodnotící test byl zvolen Bland-Altmanův graf, který nejlépe zobrazuje možné trendy. Při analýze dat bez transformace je zřejmé, že údaje nevykazují heteroskedasticitu, což je dáno úzkým rozsahem naměřených dat. Enzymová metoda ve srovnání s Jaffé metodou vykazuje pozitivní průměrnou diferenci a rozptýly jsou poměrně úzké, což potvrzuje výše uvedený fakt (obrázky nejsou uvedeny, k dispozici u autora).

Pokud se data zlogaritmují, pak se zvláště u srovnání hpce a enzymové metody objevuje pozitivní trend u nízkých hladin kreatininů (cca 20-30 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) - viz obrázky 7, 8 a 9.

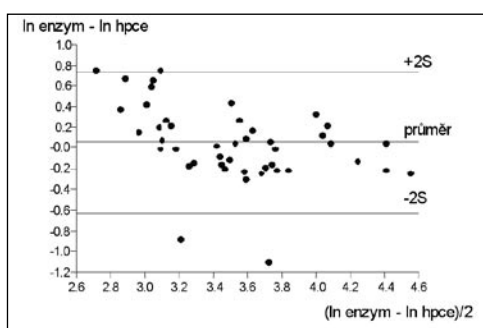
Obrázek 7:



Obrázek 8:



Obrázek 9:



ZÁVĚR

Interpretace a závěr z výše uvedených dat není zdaleka tak jednoduchý, jako u minulé studie stanovení kreatininu v moči. Nezanedbatelným faktem je skutečnost, že se hladiny pohybovaly blízko mezi stanovitelnosti, zejména pro Jaffé metodu. Zde je třeba připomenout, že soubor 45 vzorků sér je sice dostatečný pro statistické nástroje, avšak pro zhodnocení závislosti je na spodní hranici akceptovatelnosti. Při srovnání všech tří metod byla zřejmá závislost mezi Jaffé a enzymovou metodou s malou průměrnou diferencí, což by mělo být logické vzhledem k tomu, že oba kity byly od jedné firmy.

Srovnání s hpce metodou není tak jednoznačné. Zde se vyskytuje u nižších hladin odchylka hpce metody od ostatních metod – u enzymové je tento trend významnější.

Je tedy otázkou, zdali enzymová a Jaffé metoda dávají u nízkých hladin falešně pozitivní výsledky, nebo naopak hpce metoda falešně negativní výsledky. Nutno dodat, že Jaffé metoda vykazuje systematickou proporcionální chybu vůči referenční ID-LC-MS metodě, přičemž nadhodnocuje nízké koncentrace a podhodnocuje koncentrace vyšší (vysoké). V každém případě by stálo za úvahu tento trend objasnit.