

# Kompenzace Jaffé- ho metody stanovení kreatininu

B. Friedecký, M. Holečková

## PROČ JE NUTNÉ KOMPENZOVAT VÝSLEDKY JAFFÉHO METOD?

Nízká analytická specifickánost Jaffého metod měření kreatininu v séru/plazmě je příčinou pozitivní systematické chyby u diagnosticky kritických koncentrací do cca 130  $\mu\text{mol/l}$ . Při vyšších koncentracích cca nad 150  $\mu\text{mol/l}$  se tato pozitivní systematická chyba Jaffého metody již neobjevuje. Enzymatické metody jsou na rozdíl od metod Jaffého dostatečně specifické a systematické, kalibrační chyby s velikostí závislou na koncentraci nevykazují

Hodnoty eGFR vypočtené z výsledků Jaffého mohou být v důsledku systematických chyb falešně nižší. Aby pozitivní systematická diference Jaffého metod nevedla k závažným diagnostickým chybám, bylo nutné měření kreatininu v séru celosvětově standardizovat podle závěrů Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny (IFCC) a Národního edukačního programu pro ledvinové choroby USA (NKDEP). Příslušné informace jsou podrobněji uvedeny v Doporučení České společnosti klinické biochemie a České nefrologické společnosti o výpočtu odhadu glomerulární filtrace eGFR.

Standardizace, pravdivost a návaznost enzymatických metod se zajišťuje odvozením hodnot kalibrátorů z referenční metody ID-MS a referenčního materiálu NIST SRM 967. U Jaffého metod se hodnoty kalibrátorů rovněž odvozují z referenční metody a materiálu a navíc je ještě nezbytné provádět kompenzaci na obsah pseudokreatininu. Ani zajištění návaznosti a kompenzace výsledků nemění však nic na skutečnosti, že Jaffého metody jsou považovány za nevhodné pro analýzu vzorků v pediatrii a při dialýze.

Systematické chyby Jaffého metod se nevyskytují při měření v moči.

## SROVNÁNÍ PRAVDIVOSTI ENZYMOVÉ A JAFFÉHO METODY

Práce Greenberga a spol. (Greenberg 2012) studovala podrobněji na souboru sér několika set pacientů rozdíl ve specifické enzymatických (4 kity) a Jaffého (3 kity) metod s kompenzací. Použita byla séra zdravých jedinců, diabetiků se zvýšenými koncentracemi glukózy a HbA1c, léčených kar-

diaků, séra se zvýšenou proteinemií, sníženými koncentracemi albuminu, séra pacientů s transplantovanými ledvinami. Dále pak séra s přidávkou acetacetátu, pyruvátu acetonu, hydroxybutyrátu a séra hemolytická. Četnost výsledků s významnou hodnotou bias (diference od hodnoty referenční metody LC-MS) byla u Jaffého metod několika-násobně vyšší než u enzymatických metod. Navíc značná část systematických chyb u Jaffého metody byla v oblasti diagnosticky kritických koncentrací do cca 140  $\mu\text{mol/l}$ . V této citlivé oblasti se chyby u enzymatických metod téměř nevyskytly. Četnost a velikost systematických chyb u Jaffého metody je významně odlišná u různých diagnostik. Velmi patrný je rozdíl v kvalitě enzymových a Jaffého metod u diabetiků se zvýšenými koncentracemi pyruvátu, hydroxybutyrátu, glukózy a HbA1c. Výsledky potvrdily jednoznačnou klinickou výhodu enzymatické metody, zvláště u diabetiků. Výhodou kompenzovaných Jaffého metod je jejich finanční nenáročnost.

## JAK SE KOMPENZUJE JAFFÉHO METODA?

Nejjednodušším způsobem kompenzace Jaffého metody, používaným výrobcí diagnostik, je odečtení hodnoty „pseudokreatininu“ od výsledku měření. Odečítá se paušální hodnota, stejná pro všechny vzorky a pro celý koncentrační rozsah, obvykle rozdílná pro rozdílné kity a přístroje. Předpokládá se stabilní hodnota pseudokreatininu pro všechny vzorky, což neodpovídá skutečnosti. Jde o značnou simplifikaci postupu měření, která je však schopná udržet Jaffého metodu stále ještě ve hře.

Podle údajů expertů NKDEP mají globální výrobci v současnosti (Abbott, Beckman, Roche, Siemens, Ortho-Diagnostics) již validovanou návaznost na referenční metodu IFCC, a to nejen u enzymatické metody, ale i kompenzovaných Jaffého metod. Tak je to uvedené na stránkách [www.nkdep.nih.gov](http://www.nkdep.nih.gov) oddíl Laboratory evaluation. Jinými slovy to znamená, že tito globální výrobci by měli mít kompenzaci Jaffého metody buď již k dispozici nebo v nabídce. O situaci u malých výrobců, kteří tvoří velmi významný podíl účastníků EHK SEKK není nic uvedeno a asi ani spolehlivě známo.

Jak vypadají hodnoty, používané ke kompenzaci? V pracovním návodu Beckman Coulter se od naměřené hodnoty Jaffého metody odečítá 18  $\mu\text{mol/l}$ , u Roche 18-27  $\mu\text{mol/l}$  podle přístroje a šarže. Ve studii Norip 2000 bylo použito k odečtu hodnoty 25  $\mu\text{mol/l}$ , Wuytsová a spol. odečítala již v roce 2003 hodnotu 27  $\mu\text{mol/l}$  (Wuyts 2003). Problémem jsou diagnostika malých firem, kterými se validační

studie IFCC a NKDEP zřejmě nezabývaly, ale která jsou v ČR na rozdíl od řady jiných zemí velmi často používána. Nedávno bylo ověřeno, že kompenzace Jaffého metody u 11 nejčastěji používaných metodických skupin globálních výrobců diagnostik vedla k redukci hodnot bias u koncentrace 68  $\mu\text{mol/l}$  na bias -5,8 až 7 % (výsledky programu CLIA CAP LN 24 USA). To je velké zlepšení oproti výsledkům v roce 2005, kdy hodnoty bias u koncentrace 79,7  $\mu\text{mol/l}$  dosáhly až 34 %. (Greg Miller 2005). Z hlediska hodnot systematické chyby je tedy kompenzace účinná.

## KOMPENZACE JAFFÉHO METODY U DIAGNOSTICKÉ SOUPRAVY ROCHE

Efektivita kompenzace Jaffého metody Roche byla posouzena srovnáním výsledků patientských sér ( $n=244$ ), získaných s použitím enzymatické metody Roche a kompenzované metody Jaffé Roche na analyzátoru Modular na ÚKBD LF a FN Hradec Králové v roce 2012. Výsledky, demonstrovány v grafech 1,2 a shrnuté v tabulce 1 ukazují efektivitu kompenzace. Dobře srovnatelné jsou jak výsledky kreatininu v séru, získané oběma metodami, tak i výsledky eGFR, vypočtené podle rovnice MDRD s použitím obou metod. Nicméně přes vysokou korelaci výsledků obou metod se směrnici Passingovy Bablokovy regrese 1,01 pro kreatinin a 1,06 pro eGFR může diference mezi výsledky obou metod dosahovat hodnot 20  $\mu\text{mol/l}$  (viz graf 2 a tabulka 1). To může být zdrojem problémů, přetrvávajících u některých vzorků v programech EHK, i po kompenzaci, zejména u těch s nižší koncentrací.

## PROGRAM EHK SEKK A JAFFÉHO METODA

Pokud jsou použity v programu EHK kontrolní materiály s koncentracemi nad cca 170  $\mu\text{mol/l}$ , nejsou pozorovány žádné problémy a úspěšnost, hodnocená srovnáním s referenční metodou ID-MS vysoce překračuje hodnotu 90 %. (U cyklu AKS 1/12 to bylo 97 %). Nezáleží, zdali je použito enzymatické nebo Jaffého metody. Pokud je však použit kontrolní materiál o nižší koncentraci kreatininu, poklesne dramaticky úspěšnost, například na 61 %, jak tomu bylo v cyklu AKS4/11. Obvykle k tomu v posledních letech dochází 1x do roka (u každého čtvrtého cyklu). Neúspěšnost se týká prakticky téměř výhradně metod, založených na Jaffého reakci, zatímco enzymatické metody tyto potíže nezaznamenávají. Tabulka 2 ukazuje, že výsledky účastníků kontrolních programů SEKK u kontrolních vzorků v oblasti těsně nad horní hranici referenčních intervalů jsou

v těsné shodě s referenční ID-MS hodnotou jen u enzymatických metod. U Jaffého metody nevede v této oblasti koncentrací ani kompenzace ke shodě, která by zajistila neproblémovou úspěšnost účastníka v programu SEKK. Nicméně diference mezi Jaffého kompenzovanou hodnotou (například 130  $\mu\text{mol/l}$  u AKS 4/11) a referenční hodnotou (například 118,3  $\mu\text{mol/l}$  u AKS4/11) nepřesahuje velikost diferencí, zjištěných u nativních sér pacientů mezi enzymatickou a kompenzovanou Jaffého v Blandově Altmanově diferenčním diagramu (tabulka 1). V každém případě je v dalších cyklech EHK vhodné systematicky začít diferencovat mezi kompenzovanými a nekompenzovanými výsledky Jaffého metod, aby byla zejména oblast hraničních koncentrací kreatininu bezpečně, objektivně a se znalostí věci posuzována.

## PRAKTICKÁ DOPORUČENÍ A ZÁVĚRY

Enzymatické metody jsou bez významných systematických kalibračních chyb. Interference zvýšených koncentrací některých metabolitů a farmak se u enzymatických metod projevují až u zvýšených koncentrací kreatininu, ne u kritických koncentrací do cca 130  $\mu\text{mol/l}$ .

Kompenzace a návaznost nespécifické Jaffého metody je pro klinické použití nezbytná. Laboratoře by měly problém kompenzace Jaffého reakce podrobně prodiskutovat s výrobcí. Z dokumentace metody by mělo být jasné, zda je výsledek kompenzovaný, zda je návazný na ID-MS a jakým způsobem byla kompenzace provedena. Pokud je dána výrobce možnost volby mezi použitím kompenzované a nekompenzované metody, je třeba jednoznačně preferovat kompenzaci.

Při výpočtu eGFR je třeba zadávat zásadně vstupní koncentrace, odpovídající výsledkům s návazností (IFCC hodnoty).

U výsledků EHK, dosažených Jaffého metodou je zapotřebí uvádět, zdali jde o kompenzované výsledky nebo nikoliv.

Účinnost a efekt kompenzace je možné prověřit v samotné laboratoři občasným srovnáním s enzymatickou metodou.

Uvedený způsob kompenzace je málo exaktní a málo analyticky profesionální, ale lepší, než žádný. Je mezinárodně akceptovaný, zejména z důvodů redukce finančních nákladů.

## VÝBĚR LITERATURY

1. Greenberg N, Roberts WL, Bachmann LM a spol. Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by

enzymatic and Jaffe method principled. Clin Chem 2012,587:391-401

- Greg Miller W, Myers GL, Ashwood ER a spol. Creatinine measurement. State of Art in Accuracy and Interlaboratory harmonization. Arch Pathol Lab Med 2005,129:294-303).
- Wuyts B, Bernard D, van der Noorgate a spol. Reevaluation of formulas for prediction of creatinine clearance in adults and children using compensated creatinine method. Clin Chem 2003,49:1011-1014
- Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie k vyšetřování glomerulární filtrace. Klin Biochem Metab 2009,17 (38) :109-117
- Stanovisko ČSKB k současnému stavu standardizace stanovení kreatininu v séru/plazmě. dostupné na [www.cskb.cz](http://www.cskb.cz) 15. 3. 2012

**Tabulka 1. Enzymatická a kompenzovaná Jaffého metoda Roche**

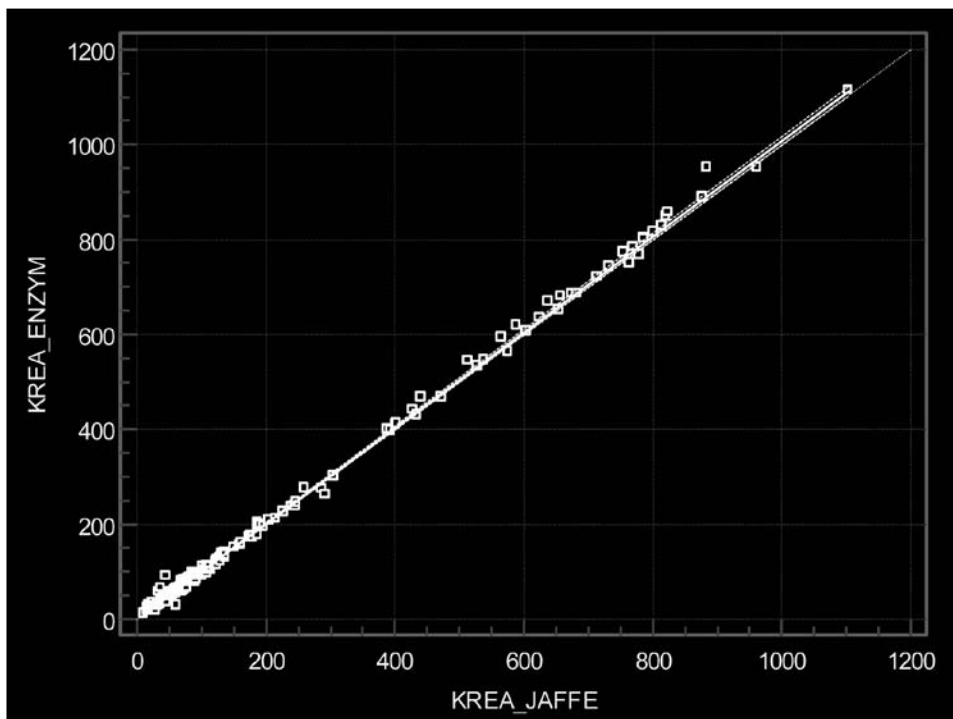
Průměry		
Kreatinin	Jaffé	172 $\mu\text{mol/l}$
	Enzymaticky	173 $\mu\text{mol/l}$
	eGFR $\pm$ SEM Jaffé muži	0,98 $\pm$ 0,06 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>
	eGFR $\pm$ SEM Enzym. muži	0,96 $\pm$ 0,06 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>
	eGFR $\pm$ SEM Jaffé ženy	0,88 $\pm$ 0,07 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>
	eGFR $\pm$ SEM Enzym. ženy	0,87 $\pm$ 0,07 ml/s/1,73 m <sup>2</sup>

Passing Bablok			
Kreatinin	$y=1,01 x -1,2$	eGFR	$y=1,06 x -0,04$

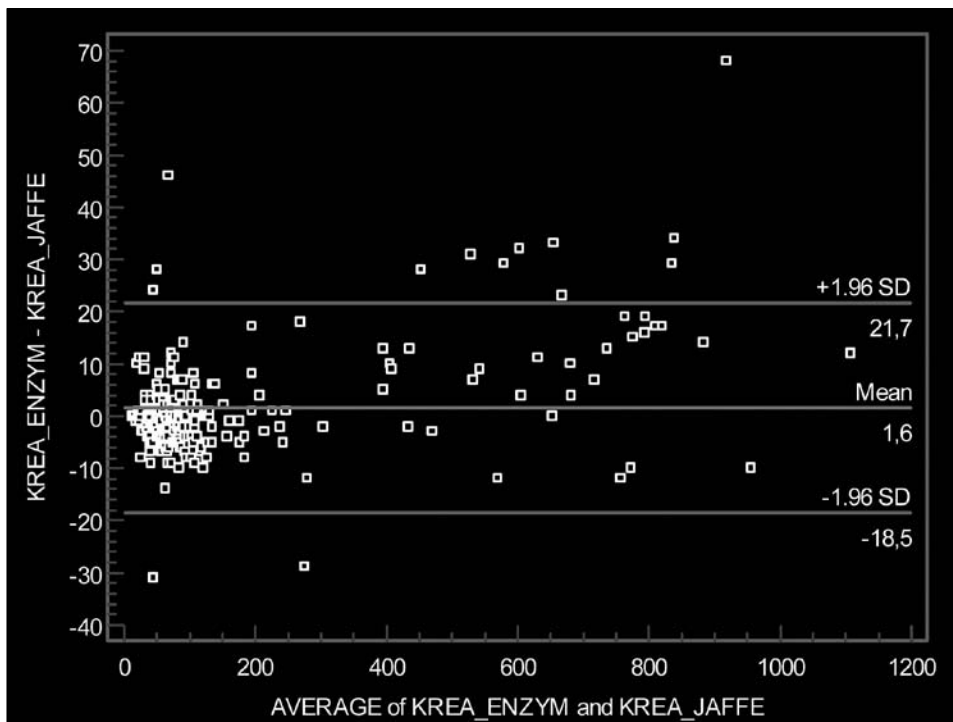
Blandův Altmanův diferenční diagram		
	kreatinin $\mu\text{mol/l}$	eGFR ml/s/1,73m <sup>2</sup>
Diference	1,6	0,04
+2 SD	22	0,19
-2SD	18,5	0,10

**Tabulka 2. Výsledky EHK SEKK v kontrolních materiálech s hodnotou těsně nad horní hranicí referenčního intervalu. Výsledky Roche považujeme za kompenzované, o výsledcích Abbott nemáme validní informaci, výsledky celého souboru Jaffé zobrazují současný, celkově nejasný stav měření a kompenzace**

	AKS 1/10	AKS4/11
RMP (ID-MS)	117	118,3
Enzymaticky	115	115
Jaffé (průměr -všechny výsledky)	134	132
Jaffé Roche (kompenzace)	132	130
Abbott (bez kompenzace?)	141	140



Graf 1. Enzymatická a kompenzovaná Jaffého metoda stanovení kreatininu v séru diagnostiky Roche. Passingova Bablokova regrese.



Graf 2. Enzymatická a kompenzovaná Jaffého metoda Roche. Blandův Altmanův diagram.