

Kompenzace Jaffého metody stanovení kreatininu

B. Friedecký, M. Holečková
SEKK Pardubice, LF a FN Hradec Králové

Proč je nutné kompenzovat výsledky Jaffého metod?

Nízká analytická specifická Jaffého metod měření kreatininu v séru/plasmě je příčinou pozitivní systematické chyby u diagnosticky kritických koncentrací do asi 130 $\mu\text{mol/l}$. Při vyšších koncentracích 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 metody 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 výsledků měření 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 metrologické návaznosti a kompenzace výsledků měření 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 rozdíly ve specifickosti enzymatických (4 kity) a Jaffého (3 kity) metod s kompenzací. Použita byla séra zdravých jedinců, diabetiků se zvýšenými koncentracemi glukózy a glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} , léčených kardiaků, séra se zvýšenou proteinemií, sníženými koncentracemi albuminu, séra pacientů s transplantovanými ledvinami. Dále pak séra s přísadkou acetacetátu, pyruvátu acetonu, hydroxybutyrátu a séra hemolytická. Četnost výsledků s významnou hodnotou bias (diference od hodnoty referenční metody LC-MS) byla u Jaffého metod několikanásobně vyšší, než u enzymatických metod. Navíc značná část systematických chyb u Jaffého metody byla v oblasti diagnosticky kritických koncentrací do asi 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 navíc odlišná u různých diagnostik. Velmi patrný je rozdíl v kvalitě enzymových a Jaffého metod u diabetiků se zvýšenými koncentracemi pyruvátu, hydroxybutyrátu, glukózy a HbA_{1c} . Výsledky potvrdily jednoznačnou klinickou výhodu enzymatické metody, zvláště u diabetiků. Výhodou kompenzovaných Jaffého metod je jejich finanční nenáročnost.

Jak se kompenzuje stanovení Jaffého metodou?

Nejjednodušším způsobem kompenzace Jaffého metody, používaným výrobcí diagnostik, je odečtení hodnoty „pseudokreatininu“. 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 metrologickou 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 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 používaná. Nedávno bylo ověřeno, že kompenzace Jaffého metody u 11 nejčastěji používaných metodických skupin globálních výrobců diagnostik vedla k redukcí 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 testovací 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 a 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 až 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, a zejména u těch vzorků 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. Až 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 k 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

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 nespecifické Jaffého metody je pro klinické použití nezbytná. Laboratoře by měly problém kompenzace Jaffého reakce podrobně prodiskutovat s výrobcem. 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 výrobcem 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).

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

Greenberg N., Roberts WL., Bachmann LM. a spol.: Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principles. 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 Noortgate M. 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/plasmě. Dostupné na www.cskb.cz 15.3.2012.

Tabulka 1. Enzymatická metoda (Roche) a kompenzovaná Jaffého metoda (Roche) při stanovení kreatininu

Metoda / Parametr	Průměrné hodnoty
Kreatinin - Jaffého metoda	172 $\mu\text{mol/l}$
Kreatinin – enzymaticky	173 $\mu\text{mol/l}$
eGFR Jaffého metoda muži	0,98 ml/s/1,73 m ²
eGFR Enzym. metoda muži	0,96 ml/s/1,73 m ²
eGFR Jaffého metoda ženy	0,88 ml/s/1,73 m ²
eGFR Enzym. metoda ženy	0,87 ml/s/1,73 m ²

Regresní rovnice dle Passing Babloka (Graf 1)

Stanovení kreatininu	eGFR
$y = 1,01 x - 1,2$	$y = 1,06 x - 0,04$

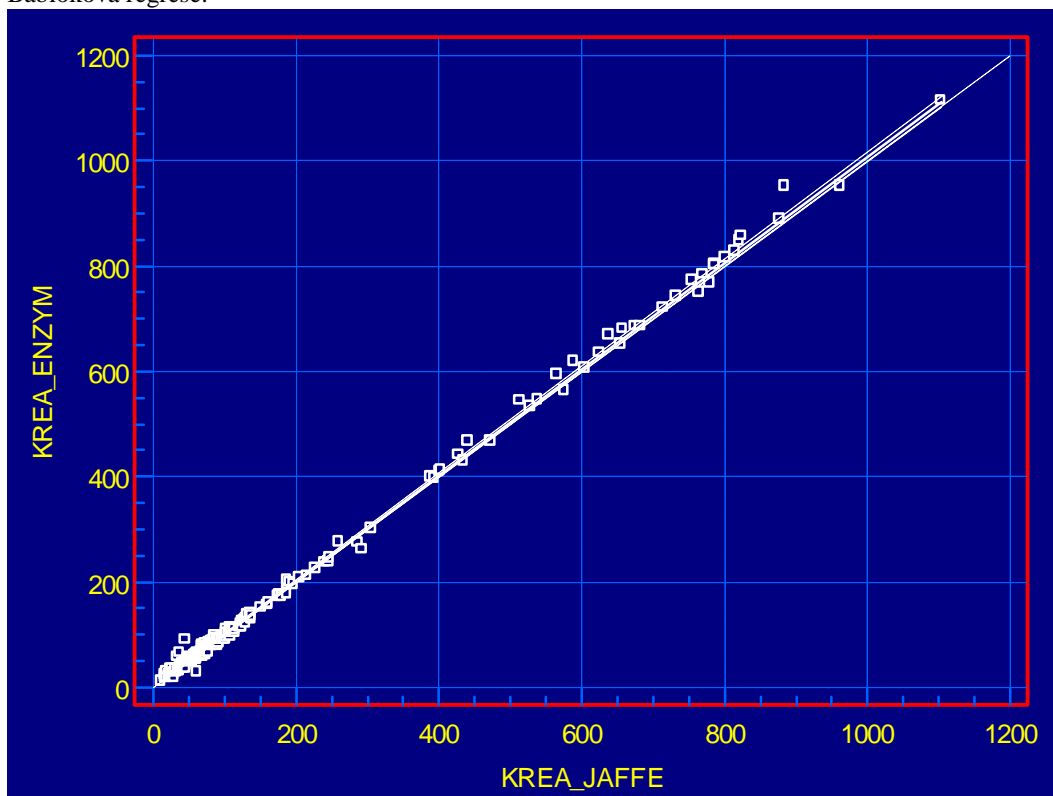
Bland Altmanův diferenční diagram (Graf 2)

Statistická data	Kreatinin [$\mu\text{mol/l}$]	eGFR [ml/s/1,73m ²]
Diference	1,6	0,04
+ 2 SD	22	0,19
- 2 SD	18,5	0,10

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

Metoda stanovení	AKS 1/10	AKS 4/10
RCV (ID MS)	117	118
Enzymaticky	115	115
Jaffé (průměr -všechny výsledky)	134	132
Jaffé Roche (kompenzace)	132	130
Jaffé Abbott (bez kompenzace?)	141	140

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



Graf 2. Enzymatická a kompenzovaná Jaffého metoda stanovení kreatininu (Roche). Blandův Altmanův graf.

