

# Stanovisko ČSKB k současnému stavu standardizace stanovení kreatininu v séru/plazmě

Friedecký B., Zima T., Sedlák P.

## Stav standardizace

Standardizace měření sérového kreatininu je založena na metrologické návaznosti hodnot pracovních kalibrátorů rutinních metod na referenční metodu ID-LC/MS nebo ID-GC/MS a na certifikovaný a komutabilní referenční materiál NIST SRM 967. Trvalým problémem procesu standardizace rutinního měření sérového kreatininu je přetrvávající používání nespecifických metod na bázi Jaffého reakce zřejmě v důsledku vyšší finanční náročnosti dostatečně specifické enzymatické metody stanovení kreatininu. V červnu 2011 bylo uveřejněno sdělení pracovní skupiny EFCC (Evropská federace klinické chemie a laboratorní medicíny), konstatující velmi pomalý proces standardizace stanovení kreatininu, zjevně zpomalený současnými ekonomickými problémy, a diskutující další postup standardizačního procesu [1]. Uvádíme stanovisko, výboru ČSKB k tomuto problému.

## Systematická chyba Jaffého metody

V oblasti nízkých koncentrací kreatininu do asi 130 - 140  $\mu\text{mol/l}$  je opakovaně zjišťován pozitivní bias Jaffého metody stanovení kreatininu v rozmezí 15 % až 25 % v důsledku její nedostatečné analytické specifčnosti. V roce 2002 byla při vyhodnocování celosvětové studie IMEP-17 zjištěna u Jaffého reakce hodnota bias  $b = +14\%$  pro referenční hodnotu 75  $\mu\text{mol/l}$  kreatininu při použití komutabilních vzorků. V experimentu CAP, publikovaném o tři roky později, se při použití materiálu o referenční hodnotě kreatininu 80  $\mu\text{mol/l}$  a s maticí tvořenou směsí patientských sér bias pro 50 různých modifikací Jaffého metody pohyboval v intervalu  $-7\%$  až  $+37\%$  [2]. Průměrná kalibrační chyba pro hodnoty kreatininu do 104  $\mu\text{mol/l}$ , stanovená vzorky kontrolních sér, byla u Jaffého reakce  $+16,5\%$  [3], tedy prakticky stejná, jako u sér pacientů. V roce 2006 byl publikován pracovníky NKDEP (National Kidney Disease Education Program) plán zlepšení stanovení kreatininu v séru zajištěním metrologické návaznosti na referenční metodu ID-MS [4]. Jeho cílem bylo eliminovat (nebo aspoň významně redukovat) bias Jaffého metody. V roce 2008 byly pomocí směsí patientských sér o nízké, střední a vysoké koncentraci verifikovány testovací kity globálních výrobců pro stanovení kreatininu Jaffého metodou opět s významně pozitivní hodnotou bias v oblasti koncentrací do 130  $\mu\text{mol/l}$ , nevýznamnou hodnotou bias pro koncentrace kreatininu asi 153 až 300  $\mu\text{mol/l}$  a lehce negativním bias pro koncentrace nad 300  $\mu\text{mol/l}$  [5].

Problém pozitivních systematických chyb u sérových koncentrací kreatininu v oblasti hodnot referenčních intervalů a hodnot mírně zvýšených trvá přes letité úsilí o jeho řešení stále. Preciznost měření nepředstavuje u sérového kreatininu analytický problém. Tím je, jak plyne z výše uvedených dat, právě hodnota bias. Problémy s nespecifičností Jaffého metody byly v dobách manuálních analýz částečně zastřené deproteinací vzorků. Po přechodu na přímá automatizovaná měření bez deproteinace se projeví naplno v celém rozsahu.

## Hodnoty eGFR

Největší problém s nespecifičností Jaffého metod stanovení kreatininu v séru/plazmě vzniká při výpočtu eGFR (odhadu glomerulární filtrace). Bias  $+20\ \mu\text{mol/l}$  kreatininu při koncentracích do asi 140  $\mu\text{mol/l}$ , běžný u metod založených na Jaffého reakci, snižuje hodnotu eGFR pod rozhodovací limit (a učiní ji falešně patologickou) asi u poloviny pacientů [6]. Enzymatické metody problém systematické kalibrační chyby nevykazují.

V současné době se k výpočtu eGFR používají tři uznávané postupy: MDRD, Lund-Malmö, CKD EPI.

Výpočet eGFR podle rovnice Cockcrofta-Gaulta je autory EFCC [1] považována za zastaralý. Tento závěr je ve shodě s doporučením České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie z roku 2009.

Výpočet eGFR všemi uvedenými postupy předpokládá metrologickou návaznost rutinních metod na výše uvedenou referenci. To fakticky znamená buď použití enzymatické metody, nebo vhodnou kompenzaci Jaffého metody.

## Kompenzace Jaffého metody

Jednou z možností kompenzace je odečet hodnoty nespecifických chromogenů.

Postup, použitý výrobcem Roche, odečítá cca 21  $\mu\text{mol/l}$  jako kompenzaci. V literatuře je opakovaně uváděno, že difference mezi Jaffého metodou a metodou enzymatickou jsou u kritických koncentrací do 130 až 150  $\mu\text{mol/l}$  v průměru 26 až 27  $\mu\text{mol/l}$  [1,7]. Difference mezi Jaffého metodou a metodou enzymovou v cyklech EHK SEKK (s referenčními hodnotami 95 až 118  $\mu\text{mol/l}$ ) byly v intervalu 14 až 19  $\mu\text{mol/l}$ . Rozdíly mezi metodami Jaffé a enzymatickými, zjištěné při verifikaci pravdivosti komerčních kitů v roce 2008 [5], činily podle druhu kitu 12 až 22 %.

Postup kompenzace by měl být nejprve řešen výrobci IVD. Rozhodujícím nástrojem kompenzace Jaffého metody se zdá být její recalibrace na referenční metodu ID-MS. Recentní publikace [8] popisuje recalibraci Jaffého metody s použitím systémů Beckman Coulter pomocí kalibrace na referenční metodu ID-MS, kdy se podle údajů autorů podařilo dosáhnout u kritických koncentrací kreatininu nejistoty eGFR nižší než 10 %.

## Analytické požadavky

Dosažení nejistoty eGFR (MDRD) pod klinicky požadovanou hodnotu 10 % [4] lze zajistit pouze při měření kreatininu v intervalu 80 až 133  $\mu\text{mol/l}$  s precizností CV  $\leq 2,2\%$  a s hodnotou bias  $b < 4,4 \mu\text{mol/l}$ . Ani kompenzace Jaffého metody pomocí kalibrace metrologicky návazné na referenční materiál NIST SRM 967 nemusí nutně znamenat dobrou srovnatelnost hodnoty eGFR s hodnotou vypočtenou na podkladě enzymatické metody [9].

## Shrnutí

Pro měření koncentrací kreatininu do 130 až 140  $\mu\text{mol/l}$  a pro výpočet hodnoty eGFR je nejlepším řešením použití enzymatické metody. Bezproblémové použití Jaffého metody je omezené na:

- vzorky s koncentrací nad cca 140  $\mu\text{mol/l}$ , bez ikteru a u pacientů nad 18 let věku
- vzorky moči

Výsledky Jaffého metody mají být kompenzované na přítomnost nespecifických chromogenů.

Pro pediatrické vzorky představuje enzymatická metoda jediné řešení. V současnosti je doporučen výpočet eGFR u dětí pomocí poslední verze Schwartzovy rovnice uvedené na stránkách <http://www.ifcc.org> pod odkazem NKDEP.

Rovněž u vyšetření dialyzátu pro vzorky pacientů na peritoneální dialýze představuje enzymatická metoda jediné řešení.

## Literatura

1. **Delanghe JR, Cobbaert C, Harmoinen A, Jansen R, Laitinen P, Panteghini M.** Focusing on the clinical impact of standardization of creatinine measurements: a report by EFCC working group on creatinine standardization. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011, 49:977-982.
2. **Miller WG, Myers GL, Ashwood ER, Kilean AA, Wang E, Thienpont LM, Siekmann L.** Creatinine measurement. State of the art in accuracy and interlaboratory harmonization. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2005, 129:297-304.
3. **Komenda P, Bealieu M, Seccombe D, Levin A.** Regional implementation of creatinine measurement standardization. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008, 19:164-169.
4. **Myers GL, Miller WG, Corresh J, Fleming J, Greenberg N, et al.** Recommendations for improving serum creatinine measurement: A Report from the laboratory working group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin. Chem.*, 2006, 52/1:5-18.
5. **Delanghe JR, Cobbaert Ch, Galteau MM, Harmoinen H, et al.** Trueness verification of actual creatinine assays in the European market demonstrates a disappointing variability that needs substantial improvement. An international study in the framework of the EC4 creatinine standardization working group. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008, 46/9:1319-1325.
6. **Klee GG, Schryver PG, Saenger AK, Larson TS.** Effect of analytic variations in creatinine measurements on the classification of renal disease using estimated glomerular filtration rate. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2007, 45/6:737-741.
7. **Cerriotti F, Boyd JC, Klein G, Henny J, Queraltó J, et al.** Reference intervals for serum creatinine concentrations. Assessment of variable data for global application. *Clin. Chem.*, 2008, 54:559-566.
8. **Wuyts B, Bernard D, Van den Noortgate N, Van de Walle J, Van Vlem B, et al.** Reevaluation of formulas for predicting creatinine clearance in adults and children using compensated creatinine method. *Clin. Chem.*, 2003, 49/6:1011-1014.
9. **Fillée C, Vranken G, Othmane M et al.** Results of the recalibration of creatinine measurement with the modular Beckman Coulter Jaffe creatinine method. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011, 29, - E-publication.

Datum vydání: 1. 1. 2012