

Program zlepšování kvality měření sérového kreatininu

Friedecký B.

SEKK, spol. s r. o., Pardubice

SOUHRN

Práce informuje o doporučení pracovní skupiny pro zlepšování kvality měření kreatininu, působící pod záštitou IFCC v rámci Národního edukačního programu ledvinových chorob v USA. Problémem stanovení kreatininu je neexistence návaznosti výsledků měření na referenční metodu IDMS, důsledkem je pak nejen nízká úroveň srovnatelnosti měření, ale zejména velké problémy s odhadem hodnot glomerulární filtrace. Pracovní skupina založila své sdělení na centních mezilaboratorních porovnáváních a navrhla řadu doporučení pro klinické laboratoře, uživatele jejich služeb, výrobce IVD a organizátory externího hodnocení kvality. Součástí předložené publikace je nejen tlumočení názorů pracovní skupiny, ale i úvahy o možnostech a limitech cílů, kterých má být dosaženo.

Klíčová slova: návaznost, bias, kreatinin, GFR, doporučení.

SUMMARY

Friedecký B.: Programme for improvement of serum creatinine measurement

The communication deals with recommendation of the Working group for improving the quality measurement of serum creatinine created within the framework of National Kidney Disease Education Program (NKDEP) USA. The main problem of creatinine determination is lack of traceability of measurement results to reference method IDMS demonstrated by results of large interlaboratory comparison studies. Big problems with estimation of GFR consequently follow. The introduced working group proposes number of recommendations for the improvement of situation addressed to laboratories, IVD manufacturers and EQA organisers.

Key words: traceability, bias, creatinine, GFR, recommendation.

V poslední době bylo provedeno několik experimentů mezilaboratorních porovnávání výsledků měření kreatininu, které potvrdily známou skutečnost, že výsledky měření jsou nedostatečně porovnatelné. Pokud se tato skutečnost soustavně prokazovala z roku na rok v programech externích hodnocení kvality na celém světě, nebyly z ní vyvozovány relevantní závěry. Často jen z důvodů pohodlného vysvětlení pomocí matriční nepřiměřenosti (nekomutability) kontrolních vzorků, aniž by příčiny špatné srovnatelnosti byly předmětem důkladnějšího a hlubšího zkoumání. Pravděpodobnou změnou postoje k problému je zakotvení pojmu návaznosti výsledků měření v myslí laboratorních pracovníků a v normativních dokumentech (Směrnice IVD 98/79 ES a další). Inspirátory oživeného zájmu o dávno známé skutečnosti, zájmu, který by měl směřovat k zlepšení stavu klinického hodnocení pacientů, jsou nefrologové.

Tři studie s použitím nativních sér 2002–2005 – design

Všechny tři studie použily jako kontrolní materiály směsi nativních lidských sér, v nichž byla hodnota kreatininu stanovena certifikovanou hodnotou, získanou v akreditovaných referenčních laboratořích referenční metodou ID-GC/MS. Podle současného konsenzu jsou materiály tohoto typu považovány za nedotčené matričovými vlivy – plně komutabilní.

Studie CAP (College of American Pathologists), provedená v říjnu 2003 a publikovaná v dubnu 2005 [1], použila jeden vzorek směsného nativního lidského séra o certifikované hodnotě 79,7 $\mu\text{mol/l}$. Účastnilo se jí 5624 laboratoří, které použily měřicí přístroje deseti vý-

robců. Podle toho, jak byly kombinovány přístroje s kity reagensů, byli účastníci rozděleni do 50 skupin.

Studie IMEP-17 (The International Measurement Evaluation Programme), organizovaná IRMM (Institutem pro referenční materiály a měření Evropské unie), použila dva nativní kontrolní materiály. Vzorek 1 měl certifikovanou koncentraci 74,6 $\mu\text{mol/l}$, u vzorku 2 byla 168,8 mol/l . Laboratoře použily převážně Jaffého metodu (cca 90 % účastníků), ostatní pak enzymatická měření. Účastnilo se 1022 laboratoří z celého světa.

Studie NORIP 2000 (Nordic Reference Interval Project) byla provedena ve 102 skandinávských laboratořích. Z nich 31,5 % použilo enzymatické metody. Certifikovaná hodnota nativního kalibrátoru byla 70,6 $\mu\text{mol/l}$ a kontrolního vzorku 73,9 $\mu\text{mol/l}$. Každý účastník měřil kontrolní vzorky v triplikátu, kalibrátor v sérii 10 měření. Výsledky byly *ex post* centrálně přepočteny organizátory experimentu. Součástí skandinávského projektu byla rozsahem menší studie, která měla za cíl identifikovat a kvantifikovat případné diference mezi jednotlivými výrobky IVD. Této menší studii se účastnilo 39 skandinávských laboratoří, kterým byly rozeslány dva vzorky. První nativní o certifikované koncentraci 73,9 $\mu\text{mol/l}$, druhý lyofilizovaný o certifikované koncentraci 356 $\mu\text{mol/l}$ (obě certifikované hodnoty byly získány metodou IDMS).

Výsledky a závěry tří studií s použitím nativních sér 2002–2005

Výsledky všech uvedených studií lze shrnout do několika bodů. Stanovení kreatininu vykazuje systematickou proporcionalní složku nejistoty (pozitivní bias u nižších, negativní bias u vyšších koncentrací), reflek-

tující nízkou analytickou specificitu stanovení. Toto konstatování, notoricky známé u Jaffého metody, platí kupodivu z velké části i pro metody enzymatické. Navíc se významně projevují i systematické kalibrační složky nejistoty, demonstrovány významně rozdílnými hodnotami bias u systémů měření různých výrobců, ale i u skupin, v rámci produkce jednoho výrobce (tab. 1).

Table 1. Intervals of relative bias for individual groups in creatinine study CAP (selected data)

Group	Bias interval (%)
All participants	-6.7 to 34.4
Roche	-2.2 to 17.7
Dade	4.4 to 6.7
Ortho (enzymatic)	11.1 to 13.3
All enzymatic measurements	0-13.3

Ve studii IMEP-17 [2] byla zjištěna průměrná hodnota bias pro vzorek 1 o certifikované hodnotě +14 %, zatímco u vzorku 2, s certifikovanou hodnotou 168,8, byl průměrný bias účastníků menší než 1 %.

Studie NORIP se zásadně odlišovala unifikovanou kalibrací, na kterou byly výsledky účastníků centrálně přepočteny. K dosažení konzistentní hodnoty referenčního intervalu bylo nutné u Jaffého metod posunout kalibraci o 20–30 $\mu\text{mol/l}$ k nižším hodnotám.

Další experiment pak verifikoval možnost dosažení nízké hodnoty bias, kalkulované jako 0,375 celková biologická variabilita (4,7% – srovnej s požadavky IFCC, viz níže). 54 % výsledků však bylo nad tuto požadovanou hodnotu, což opět potvrzuje přítomnost kalibračních diferencí u různých výrobců IVD.

Výsledky všech studií lze popsat následujícími závěry:

- Hodnoty bias indikují neexistenci návaznosti výsledků rutinních měření v řadě případů.
- Velmi často je příčinou nejen malá analytická specificita metod, ale i difference mezi kalibracemi různých výrobců.
- Situaci lze zlepšit důslednou rekalicací na referenční metodu ID-GC-MS.
- Zda lze docílit požadované hodnoty bias pod 5 % není zatím možné s jistotou tvrdit.
- Důsledkem rekalicace Jaffého metody je posun kalibrace o 20–30 $\mu\text{mol/l}$ k nižším hodnotám.
- Výsledkem je pak referenční interval, obecně platný i ve větším geografickém regionu, nezávislý na použitém kitu nebo metodě.
- Nejproblematictější je situace u měření koncentrací uvnitř referenčního intervalu a blízko jeho horní hranice.
- Enzymové metody nepřispívají ke zlepšení situace zásadním způsobem.

Klinické důsledky omezené návaznosti výsledků měření kreatininu

Nejvýznamnějším klinickým důsledkem nesrovnatelnosti, pocházejícím z nedostatečné návaznosti výsledků měření, je dopad na spolehlivost určení hodnot glomerulární filtrace (GFR). Nesrovnatelnost – neexistující návaznost – výrazně, až nepříjemně zvyšuje ne-

jistotu určení nebo odhadu hodnot GFR. Autoři studie CAP [1] uvádějí, že bias 8,0 $\mu\text{mol/l}$ snižuje hodnotu GF, vypočtené podle vztahu MORD, o 10 % a při započtení průměrné hodnoty přesnosti měření kreatininu je nutné počítat s jejím snížením až o 20 %. Jiná recentní studie, provedená se souborem 23 mužů a 18 žen ve věku 68 ± 19 let, použila tři měřicí systémy (Abbott Aeroset, Beckman LX 20 a Roche Modular P-800), které využívají Jaffého kinetické metody [4], zjistila, že mediány hodnot GFR se v závislosti na použité metodě pohybovaly v intervalu 45,4–50,0 ml/min/1,73m². Lamb et al. [5] zjistili také významné rozdíly v hodnotách odhadnuté GFR, způsobené použitím různých metod stanovení sérového kreatininu jak při použití Cocroftova-Gaultova vzorce, tak i při použití rovnice MDRD. Podstatné je, že nepozorovali žádný pozitivní vliv enzymatických metod vůči Jaffého metodě. Navíc Cocroftův odhad podhodnocoval výsledky GFR, zatímco MDRD výpočet je nadhodnocoval vůči „referenční“ metodě stanovení GFR metodou ⁵¹Cr-EDTA.

Současný stav měření kreatininu a odhadu GFR dovoluje údajně spolehlivou diagnostiku chronické renální choroby až od koncentrací kreatininu 133 $\mu\text{mol/l}$ [6].

Doporučení pracovní laboratorní skupiny NKDEP ke zlepšení kvality měření kreatininu v séru

Doporučení jsou shrnuta v práci Myerse et al. [6], která se zabývá současným stavem stanovení sérového kreatininu. Konstatuje, že navzdory existujícím významným zdrojům referenčních materiálů a metod i navzdory požadavkům kladeným na výrobce Směrnicí IVD, je stav stanovení velmi neuspokojivý. Zatímco nejsou problémy s přesností měření, existují velmi významné problémy v oblasti kalibrace měření. Důsledkem je špatný stav návaznosti výsledků měření, vysoké hodnoty bias a vysoká nejistota hodnot GFR, které jsou kriticky závislé na použité metodě, tedy na výrobcích IVD používaných v konkrétní laboratoři. Uvádíme souhrn nejdůležitějších doporučení, jejichž cílem je situaci významně zlepšit.

Společné doporučení pro klinické laboratoře a IVD výrobce:

- Používejte k odhadu GFR postupu MORD.
- Rekalibrujte své IVD výrobky tak, aby byly návazné k referenční metodě ID-GC/MS.
- Výsledky GFR nad 60 ml/min/1,73 m² vydávejte jako > 60 ml/min/m², nikoliv jako přesná čísla.
- Výsledky GFR vydávejte jako celá čísla.
- Výsledky kreatininu $\geq 100 \mu\text{mol/l}$ vydávejte na celá čísla.
- Po provedení rekalicace vámi používaného IVD na metodu ID-GC/MS dosáhnete hodnoty bias < 5 % pro všechny koncentrace $\geq 88,4 \mu\text{mol/l}$.
- Cílem je vytvořit podmínky pro dosažení bias u odhadu GFR < 10 %.

Doporučení pro výrobce IVD a dodavatele LIS:

- Výrobci by se měli soustředit na optimální podmínky pro stanovení koncentrace kolem hodnoty 88,4 $\mu\text{mol/l}$.
- Měli by dosáhnout vyšší přesnosti měření pro koncentrace < 88,4 $\mu\text{mol/l}$, aby bylo možné docílit při-

patelné nejistoty pro hodnoty GFR < 60 ml/min/1,73m², tedy zejména k účelům vyšetření pediatrických pacientů.

- Měli by poskytovat více informací o analytické nespecifičnosti svých stanovení kreatininu.
- Producenti LIS by měli upravit své programy výpočtu GFR pro použití MORD.

Výzva organizátorům a poskytovatelům EHK

V dopise, který zaslali koncem května 2006 představitelé IFCC, NKDEP (National Kidney Disease Education Program) a EC4 (European Communities Confederation of Clinical Chemistry) organizátorům programů EHK, se žádá o spolupráci s nimi, jako klíčovými partnery při programu zlepšování kvality měření kreatininu. Představa o aktivitách organizátorů EHK je následující:

- Komunikace s výrobcí a sledování postupu zlepšování návaznosti na ID-GC/MS u výrobků IVD (zde je vhodné pole působnosti normy EN 14136 [7]).
- Systematické podrobné vyhodnocování a komentování výsledků kontrolních cyklů.
- Průběžné informování účastníků o situaci a poradenská a edukační činnost v této oblasti.
- Občasné používání kontrolních vzorků nativních lidských sér nebo vzorků s verifikovanou matriční přiměřeností.

Komentář ke komutabilitě vzorků

Pozorným prostudováním grafu 1 v práci [1] je možné dojít k závěru, že pokud považujeme za nekomutabilitu kontrolních materiálů jejich rozdílnou výpovědní hodnotu o bias ve srovnání se vzorky nativních sér, pak „nekomutabilní“ jsou „pouze“ všechny skupiny účastníků používající produkty IVD Roche a Beckman. Při studii NORIP byla nekomutabilita kontrolních vzorků eliminována předem použitím nativního materiálů jak ke kalibraci, tak i ke stanovení bias. Další dílčí studie NORIP [8] může pak mluvit nikoliv o nekomutabilitě kontrolních vzorků (mají nativní charakter), ale spíše IVD kalibrátorů (jsou lyofilizované). 54 % hodnot bias nad požadovanou hodnotu 4,7 % u nativního kontrolního materiálu a prakticky stejný počet – 55 % hodnot nad 4,7 % u lyofilizátu analyzovaného paralelně také nehovoří příliš o jednoznačné roli maticových vlivů na bias a o jednoduchosti jevů, shrvaných pod pojem komutabilita [8].

Komentář k výsledkům EHK

Základní představu o výsledcích EHK při měření kreatininu jsme získali z programů SEKK-Česká republika (www.sekk.cz) a DGKLSpolková republika Německo (www.dgkl-rfb.de).

Výsledky Jaffého metody kineticky v programech SEKK dominují a v programu DGKL tvoří absolutní většinu. Reprodukovatelnost měření se v programu SEKK pohybovala od hodnoty 3,8 % k hodnotě 7,2 %. Tato vyšší hodnota byla spojena s mimořádně vysokou hodnotou bias u vzorku s referenční hodnotou 80,1 μmol/l (+27,6 %). U vzorku cyklu AKS2/06 bylo možné pozorovat velkou závislost hodnoty bias u vzorku s koncen-

trací uvnitř referenčního intervalu (94,8 μmol/l) na použitém IVD (rozpětí bias 1,1–16% podle kitů a 0,6–16,1% podle kalibrátorů). To lze interpretovat tak, že rekalibrace měření skutečně zlepšila situaci podle představ IFCC a NKDEP a že je v některých případech již aspoň částečně provedena.

Poněkud jinou představu získáme inspekci výsledků DGKL. Zde je bias u vzorků s koncentracemi 89,3–96,4 μmol/l ve velmi úzkém intervalu poměrně nízkých hodnot 4,0–4,5 %, tedy v intervalu, požadovaném (pod 5 %). Enzymové metody poskytují bias v intervalu cca 0 až –3 %, tedy rovněž v rozporu s výsledky studií, používajících nativní kontrolní materiály.

Výsledky EHK pro evropské referenční laboratoře RELA (www.dgkl-rfb.de) ukazují mezilaboratorní diference pro metodu IDMS, která má být východiskem celého programu zlepšování 2,8–3,7 %, tedy jen o málo lepší než výsledky rutinní EHK DGKL.

Komentář k perspektivě úspěšnosti doporučení

Situaci lze stručně popsat tak, že na velmi specifickou metodu je zapotřebí navázat metody o často až kriticky nízké analytické specifičnosti. Vliv interferentů se projevuje proporcionalitou hodnoty bias. Současné rutinní metody mívají obvykle bias pozitivní a konstantní (Ortho), negativní a proporcionalní jsou s nárůstem bias u rostoucích koncentrací kreatininu, kde negativní bias narůstá s rostoucí koncentrací (enzymatické metody „v roztoku“) a proporcionalní, kde snížené koncentrace vykazují pozitivní bias, střední koncentrace mají trend k nesignifikantním hodnotám bias a zvýšené koncentrace k negativním hodnotám bias (Jaffého metoda). Odpovídajícím způsobem budou na změny reagovat výpočty GFR [1, 5].

Pokud se podaří eliminovat nebo aspoň významně redukovat kalibrační diference mezi metodami a kity IVD, bude získaný efekt různý u různých metod a kitů, patrně povede ke zlepšení u koncentrací, typických pro hodnoty referenčních intervalů a zvýšených mírně nad ně. Těžko si však lze představit zlepšení bias pro celý pracovní rozsah měření.

Literatura

1. **Greg Miller, W., Myers, G. L., Ashwood, E. R., Killeen, A. A., Wang, E. et al.** Creatinine measurement. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2005, 129, p. 297–304.
2. **IMEP-17.** Report to Participants. IRMM, Geel, Belgium 2003.
3. **Rustad, P., Felding, P., Franzson, L., Kairisto, V., Lahti, A. et al.** The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2004, 64, p. 271–284.
4. **McKillop, D. J., Caims, B., Duly, E., van Daimmelia, M., Ryan, M.** The effect of serum creatinine method choice on estimated glomerular filtration rate determined by the abbreviated formula MDRD. *Ann. Clin. Biochem.*, 2006, 43, p. 220–222.
5. **Lamb, E. J., Wood, J., Stowe, H. J., O’Riordan, S. E., Webb, M. C., Neil Dalton, R.** Susceptibility of glomerular filtration rate estimations to variations in creatinine methodology: a study in older patients. *Ann. Clin. Biochem.*, 2005, 42, p. 11–18.

6. **Myers, G. L., Greg Miller, W., Coresh, 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, p. 5–18.
7. ČSN EN 14136: 2004. Použití programů externího hodnocení jakosti při posuzování účinnosti diagnostických vyšetřovacích postupů in vitro.
8. **Rustad, P.** Assessment of trueness before introduction of new common nordic reference intervals. *EQALM Congress*, 2005, October 10, Roma.

Do redakce došlo 12. 6. 2006.

Adresa pro korespondenci:
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
SEKK, spol. s r. o.
Bartolomějská 90
530 02 Pardubice
e-mail: friedecky@sekk.cz

Tematický plán kurzů Katedry klinické biochemie IPVZ pro období leden – červen 2007 (část 5)

211013 Kurz – Novinky v řešení NIS a přehled současných NIS

Určeno pro informatiky zdravotnických zařízení, management nemocnic, pracovníky zodpovědné za výběr informačních systémů, uživatele NIS a tvůrce zdravotnických IS.

Program: Stručný přehled všech NIS, podrobné předvedení všech významných NIS, aktuální informace, srovnání jednotlivých NIS, orientace na trhu. Zaměření na prezentaci aktuálních novinek a zajímavých řešení.

Vedoucí: Ing. M. Zámečník

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 900,- Kč

Termín konání: 27.–28. 3. 2007

211014 Kurz – Datový standard verze 4, webové služby, NČLP a laboratorní příručky

Určeno pro informatiky zdravotnických zařízení, laboratorní pracovníky a pro tvůrce i správce LIS a NIS.

Program: Praktické informace k Datovému standardu MZ ČR, komunikace mezi zdravotnickými IS, praktické seznámení s nástroji webových služeb umožňujících realizaci upgrade DS a číselníků, konstrukce položek NČLP, tvorba LČLP, vytváření laboratorních příruček v hypertextovém tvaru, aktuální problematika.

Vedoucí: ing. M. Zámečník

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 800,- Kč

Termín konání: 29. 3. 2007

211015 Kurz – Biochemické a cytomorfoloické vyšetřování mozkomíšního moku

Určeno pro lékaře a jiné odborné zdravotní pracovníky laboratorního komplementu, dětské lékaře, infekcionisty, intenzivisty a neurology.

Program: Základy biochemického vyšetření likvoru, neuroimunochemické vyšetření likvoru, úvod do cytologie likvoru, cytologie intermeningeálního krvácení, hnisavých a nehnisavých zánětů, tumorózního postižení CNS a mening. Výběrový kurz v rámci specializační přípravy lékařů a biochemiků-analytiků.

Vedoucí: prof. MUDr. M. Engliš, DrSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 800,- Kč

Termín konání: 4. 4. 2007

211016 Kurz – Kriticky nemocný – laboratorní diagnostika a monitorování

Určeno pro pracovníky oboru klinické biochemie a intenzivisty.

Program: Parametry společně indikované k vyšetření u všech kritických stavů a parametry zaměřené na orgánové systémy. Časová osa požadavků na laboratorní vyšetření a interpretaci výsledků v závislosti na dynamickém vývoji stavu. Prognostický význam biochemických parametrů ve vazbě na různé klinické stavy. Genetická dispozice ke vzniku a vývoji kritických stavů. Trendy od vědy k praxi v klinické biochemii kritických stavů (TLR, HSP, IL-pro a protizánětlivé). Forenzní význam biochemických vyšetření. Význam a přínos klinické farmakologie. Akutní intoxikace dnešní doby. Výběrový kurz v rámci specializační přípravy lékařů a biochemiků-analytiků.

Vedoucí: prof. MUDr. A. Kazda, DrSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 1000,- Kč

Termín konání: 11.–12. 4. 2007

211017 Kurz – Hodnocení diagnostické efektivity laboratorních vyšetření

Určeno pro lékaře a jiné odborné zdravotnické pracovníky laboratorního komplementu.

Program: Tvorba referenčních rozmezí, volba rozhodovacích hodnot, senzitivita, specifita, apriorní a posteriorní pravděpodobnost, standardní ROC analýza, plauzibilita dat, biologická a analytická variabilita, kritické diference, varovné hodnoty, delta-check, poměr šancí, hazard ratio aj. Interaktivní kurz: přihlášení dostanou s předstihem vybrané materiály, které budou předmětem přednášek. Výběrový kurz v rámci specializační přípravy lékařů a biochemiků-analytiků.

Vedoucí: prof. MUDr. M. Engliš, DrSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Kurzovné: 500,- Kč

Termín konání: 25. 4. 2007

(pokračování na s. 180)