

Kreatinin a odhad glomerulární filtrace

Friedecký B.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové
SEKK s. r. o. Pardubice

SOUHRN

K diagnostice chronické choroby ledvin je v současnosti doporučováno stanovení odhadu glomerulární filtrace (eGFR). Příslušná doporučení vznikla z iniciativy nefrologů v rámci činnosti Národního edukačního programu pro ledvinové choroby NKDEP USA. K stanovení eGFR se doporučuje používat výpočtu podle vztahu MDRD (Modification of Diet in Renal Disease). Překážkou dosažení spolehlivých a srovnatelných hodnot eGFR je nedostatečná srovnatelnost výsledků různých metod měření sérového kreatininu. Klíčovým problémem je vysoká a u různých měřicích systémů různá hodnota pozitivního bias u hodnot kreatininu v rozmezí referenčního intervalu a hodnot mírně zvýšených nad jeho horním referenčním limitem (do 133 $\mu\text{mol/l}$). Tento fakt byl opakovaně potvrzen velkými a sofistikovanými mezilaboratorními studii národními i mezinárodními. Důsledkem této skutečnosti je velká závislost hodnot eGFR na použitých metodách měření sérového kreatininu.

Návrh řešení spočívá v recalibraci diagnostických kitů pomocí referenční metody ID-MS a ve zlepšení výsledků analýz v oblastech nízkých a lehce zvýšených koncentrací kreatininu. Předpokládá se nezbytnost spolupráce klinických laboratoří, referenčních pracovišť, organizátorů EHK a v neposlední řadě také výrobců IVD. Cílem procesu je dosažení přesnosti měření $\leq 5\%$ a nejistoty $\leq 10\%$ pro koncentrace blízké 88 $\mu\text{mol/l}$.

Dalším cílem je dosáhnout obecného používání formule MDRD. Tato změna musí být provázena revizí příslušných referenčních intervalů.

Pro organizátory programů EHK vyplývá z doporučení NKDEP aspoň občasně používání nativních kontrolních materiálů o koncentracích do 133 $\mu\text{mol/l}$ s cílovými hodnotami, certifikovanými referenční metodou ID-MS.

Klíčová slova: odhad glomerulární filtrace, bias, sérový kreatinin, doporučení NKDEP, recalibrace.

SUMMARY

Friedecký B.: Serum creatinine and estimation of glomerular filtration rate

Calculation of the estimate glomerular filtration rate (eGFR) by using the MDRD (Modification of Diet Renal Disease) equation is recently recommended for diagnosis of chronic kidney disease. National Kidney Disease Education Program summarizes these recommendations. The lack of comparability among different methods for creatinine measurement is main problem for effective implementation the MDRD formula into clinical laboratories. Significant and different bias in serum creatinine measurements was several times confirmed by large interlaboratory comparison studies. The largest bias values are typical for the crucial concentrations for eGFR calculation. It means for concentrations lower than 133 $\mu\text{mol/l}$. Recalibration of all routine methods of creatinine measurement by means of ID-MS reference method is proposed as solution for this problem. Cooperation of clinical laboratories, EQA providers and IVD manufacturers is necessary. Reaching the precision $\leq 5\%$ and total error (measurement uncertainty) $\leq 10\%$ at creatinine concentration about 88 $\mu\text{mol/l}$ is recommended as the aim of process. Organizers of EQA programs should be used time from time native, commutable control materials for trueness verification.

Key words: eGFR, bias, recalibration, NKDEP, serum creatinine.

Program NKDEP zlepšování kvality měření sérového kreatininu

Původním cílem programu NKDEP bylo zlepšit diagnostiku chronických ledvinových onemocnění populace USA. Program NKDEP (National Kidney Disease Education Program) formulovali američtí nefrologové. Komplexní soubor informací o něm je od podzimu 2006 přístupný na adrese <http://www.nkdep.nih.gov> a informace, doporučení a návrhy, týkající se klinických laboratoří jsou v oddílu „Laboratory professionals/Creatinine standardization program“.

Dva rozhodující předpoklady, z nichž program zlepšování kvality měření kreatininu vychází jsou [1, 2]:

- Základním nástrojem pro diagnózu chronické ledvinové choroby je výpočet odhadu glomerulární filtrace

eGRF (estimate glomerular filtration rate). K výpočtu se doporučuje používat rovnice MDRD (Modification of Diet in Renal Disease [3]. Za rozhodovací diagnostický limit se považuje hodnota 1,00 ml/s/ (1,73 m²) [60ml/min/ (1,73 m²)].

- Zásadní podmínkou validity hodnoty eGFR je správnost stanovení sérového kreatininu v oblastech referenčního intervalu a u mírně zvýšených koncentrací.

Klíčové pro výpočet eGFR a následně pro diagnostiku chronických ledvinových chorob jsou koncentrace kreatininu v séru pod 133 $\mu\text{mol/l}$. Jejich stanovení je zatíženo vysokými hodnotami pozitivního bias. Program NKDEP proto předpokládá důslednou recalibraci rutinních metod měření na referenční metodu ID-MS (izotopová diluce-hmotnostní spektrometrie).

Návaznost výsledků měření kreatininu v séru

Návaznost, hlavní předpoklad dosažení pravdivosti a srovnatelnosti výsledků [4], se zajišťuje použitím referenčních materiálů a referenčních metod (postupů) měření.

Primární referenční materiál

- SRM-NIST 914a
Certifikát je dostupný na <http://www.nist.gov>. Čistota substance $99,7 \pm 0,3$ %.

Certifikované referenční materiály

- SRM-NIST 909b
Lyofilizované lidské krevní sérum s dvěma hodnotami určenými referenční ID-MS metodou. Certifikát je dostupný na adrese www.nist.gov. Rozšířené nejistoty měření jsou kolem 1 %
- SRM-NIST 967
Nový, od konce roku 2006 existující referenční materiál s validovanou komutabilitou pro běžné rutinní metody měření. Jde o zmrazenou směs nativních lidských sér s dvěma koncentracemi 71 $\mu\text{mol/l}$ a 354 $\mu\text{mol/l}$. Koncentrace byly stanoveny referenční metodou ID-MS. Relativní rozšířená kombinovaná nejistota certifikovaných hodnot je 1,0–1,1 %.

Referenční metoda

Princip: ID-GCMS.

Pracovní rozsah: 15–500 (15–1000 $\mu\text{mol/l}$).

Rozšířená analytická kombinovaná nejistota 0,5–2,0 %.

Výsledky velkých mezilaboratorních porovnávání

IMEP-17 [5]

Experiment byl proveden v roce 2002. Jako kontrolní/referenční materiály byly použity dvě směsi zmrazených nativních lidských sér s certifikovanými hodnotami kreatininu. Účastnilo se 1022 účastníků ze 35 zemí pěti kontinentů včetně 30 českých klinických laboratoří. Certifikace hodnot byla provedena referenční metodou ID-MS. Pro certifikovanou hodnotu 74,6 $\mu\text{mol/l}$ byla v převážném počtu laboratoří zjištěna hodnota bias v intervalu +10 až +15 %. Pro certifikovanou hodnotu 168,8 $\mu\text{mol/l}$ byla však průměrná hodnota bias pod 1 %. Naprostá většina (aspoň 80 %) účastníků používala v té době Jaffého reakci.

NORIP 2000 [6]

Pokus, jehož cílem bylo ustanovení referenčních intervalů pro skandinávskou populaci byl proveden v roce 2003 ve 102 skandinávských laboratořích. V experimentu bylo počítáno s apriorní přítomností bias a výsledky rutinních měření účastníků byly proto harmonizovány přepočtem na centrálně poskytnutý kalibrátor s referenčními hodnotami ID-MS. 70 % účastníků použilo některé z modifikací Jaffého metody.

CAP-College of American Pathologists [7]

Experiment byl v roce 2004 proveden v 5624 klinických laboratořích s použitím kontrolního vzorku zmrazené směsi nativních sér o certifikované hodnotě 79,7 $\mu\text{mol/l}$, získané referenční metodou ID-MS. Celková analytická rozšířená nejistota certifikované hodnoty byla 1,5 %. Při hodnocení byli účastníci rozděleni do 50 skupin podle použitých kombinací přístrojů a kitů. Ty pocházely od 10 výrobců diagnostik. 73 % účastníků použilo Jaffého metodu a 60 % z 50 podskupin vykazovalo signifikantní bias. Za hlavní příčinu bias byla označena kalibrace, zatímco difference v použitých přístrojích a metodách hrály menší roli. Enzymatické metody vykazovaly lepší dispoziční k redukci hodnoty bias na přijatelnou míru.

Hlavním „producentem“ bias enzymatických metod byly kity Ortho (11–22 %), zatímco ostatní (např. enzymatické kity Roche) byly schopné docílit bias v intervalu 0–2 %. Při Jaffého reakci se bias pohyboval v intervalu -6,7 až 34,4 %. Jednoznačně převažovala měření s pozitivní hodnotou bias. Někteří účastníci využívali neuzavřenosti určitých automatických analyzátorů pro použití kitů jiných výrobců, což v těchto případech znemožnilo jednoznačné vyhledání příčin a zdrojů bias.

Homogenita měřících systémů v ČR

Problém využívání otevřenosti některých automatických analyzátorů pro kity jiných výrobců je typický pro český program EHK. Data, získaná z kontrolního cyklu AKS4/06 SEKK tuto skutečnost jasně ukazují. Používá se řada reagentů výrobců, kteří nedisponují ani přístrojem, ani kalibrátorem a existuje řada laboratoří, které tyto kity využívají na otevřených analytických kanálech instrumentace jiného výrobce (typicky Abbott a Bayer).

Table 1. Homogeneity of measurement systems in serum creatinine.

	Kit	Equipment	Calibrator
Abbott	8	20	9
Dialab	11	0	5
Bayer	8	33	5
Beckman	12	14	12
Pliva	35	0	39
Olympus	49	80	50
Roche	88	138	158
DOT	23	0	0
Dade	18	18	19

EQA program SEKK-AKS 4/06.

Expressed in %. Number of labs.

Zajištění vyššího stupně homogenity měřících systémů v laboratořích ČR patří mezi nezbytné podmínky zlepšování kvality měření kreatininu a výpočtu eGFR.

Dosažení tohoto cíle rovněž předpokládá kooperaci České společnosti klinické biochemie, České nefrologické společnosti a české asociace dodavatelů laboratorních diagnostik CZEDMA a větší respekt k mezinárodním doporučením (zde NKDEP).

Kalibrátory

Výsledky experimentu CAP ukázaly, že hlavním zdrojem nejistoty měření je kalibrace. Výsledky dodatečné studie NORIP, která sledovala vliv pracovních, v laboratořích rutinně používaných kalibrátorů (předneseno P. Rustadem na konferenci EQALM na podzim 2005 a do okamžiku psaní tohoto článku nepublikované):

- potvrdily difference kalibračních hodnot u různých výrobců;
- ukázaly, že kalibrační harmonizace bude mnohem lépe proveditelná u enzymatických než Jaffého metod;
- doložily, že mezi kvalitně vyrobeným lyofilizovaným kontrolním sérem a nativním materiálem nejsou významné rozdíly v komutabilitě.

Fakt, že lze produkovat lyofilizované referenční materiály s komutabilitou srovnatelnou s nativními biologickými materiály, má rozhodující význam pro zajištění možnosti technického provedení recalibrace na hodnoty referenčních metod ID-MS. Pracovní kalibrátory výrobců IVD jsou totiž převážně vyráběny a dodávány v lyofilizované formě, takže jejich komutabilita má klíčový význam pro úspěch recalibračního programu.

Prakticky nezmiňovaný je v programu zlepšování problém proporcionální chyby stanovení kreatininu. Tento podíl systematické chyby zůstane nekorigován i po provedení recalibrace. Souvisí s nízkou analytickou specifičností Jaffého metody, která zůstává v použití absolutní většiny klinických laboratoří. Z toho hlediska jsou nadějnější, ale nepoměrně dražší enzymatické metody stanovení. Zda bude rozdíl finančních nákladů vyrovnán zvýšenou efektivitou diagnostického procesu není zřejmé.

Stav metrologické návaznosti

Hlavní překážkou efektivního odhadu ledvinových funkcí pomocí eGFR je přetrvávající nedostatek standardizace měření S-kreatininu. Návaznost není realizována, výsledky získané měřením v různých laboratořích jsou špatně srovnatelné a v důsledku toho jsou nedostatečně srovnatelné i hodnoty eGFR, i když jsou kalkulované s použitím identické rovnice [8].

Návaznost není realizována, navzdory Směrnici IVD 98/79 ES, přestože je kladena jako povinnost a podmínka uvedení výrobku na trh. Způsob realizace návaznosti je dán normou ISO 17511, nástroje jsou k dispozici (referenční materiály i referenční metody). Problém není v chybění nástrojů, ale v jejich nedostatečném využívání.

Doporučení pracovní skupiny NKDEP pro zlepšení kvality měření S-kreatininu

Experti IFCC a NKDEP publikovali doporučení, která by měla vést ke zlepšení kvality měření sérového kreatininu a následnému zvýšení validity výpočtu eGFR. Doporučení byla publikována [1] a jsou též dostupná na <http://www.nkdep.nih.gov/labprofessionals>.

Výrobcům diagnostik /IVD jsou určeny body:

- Rekalibrovat metody na hodnoty ID-GCMS.
- Optimalizovat postup měření pro koncentrace kolem 88 $\mu\text{mol/l}$.

Klinickým laboratořím se doporučuje:

- Dosáhnout bias pro hodnotu 88 $\mu\text{mol/l}$ pod 5,0 %.
- Dosáhnout celkové chyby (nejistoty měření) nižší než 10 %.
- Výsledky měření kreatininu zaokrouhlovat na nejbližší celá čísla.
- K posouzení stavu ledvinových funkcí používat zásadně odhadu hodnoty glomerulární filtrace (eGFR).
- K výpočtu eGFR dávat jednoznačně přednost vztahu MDRD.
- Výsledky eGFR nad 1,0 ml/s/1,73 m² [60 ml/min/(1,73 m²)] se nedoporučuje vyčíslovat, ale vyjadřovat formou příslušné nerovnosti.
- Zvýšení homogenity měřicích systémů, tedy používání reagentů, přístrojů a kalibrátorů stejného výrobce.

Pro organizátory EHK jsou určena tato doporučení:

- V programech EHK používat čas od času nativní séra s plnou komutabilitou, které umožňují neproblémové porovnání pravdivosti v laboratořích účastníků.
- V programech EHK a ve spolupráci s výrobcí hodnotit účastníky po zařazení do korektních podskupin, které by umožnily porovnávat kvalitu IVD a sledovat její stabilitu.
- Častěji používat v programech EHK pro výpočet eGFR kontrolní materiály o koncentracích blízkých kritickým.

Ovlivnění hodnot eGFR výsledky měření sérového kreatininu

Ve studii Lamba et al. [9] byla jako reference pro výpočty eGFR použita metoda stanovení glomerulární filtrace ⁵¹Cr-EDTA. Cílem sdělení bylo vyhodnotit míru ovlivnění výpočtu eGFR volbou metody měření sérového kreatininu. Ke stanovení kreatininu použity metody ID-LCMS, Roche enzymaticky, Roche Jaffé, Ortho enzymaticky. K výpočtu eGFR bylo použito rovnic MDRD a Cockcroft-Gault. Rovnice MDRD poskytovala signifikantně nižší, Cockcroft-Gault signifikantně vyšší výsledky vůči referenci a ovlivnění výsledků použitím různých diagnostických kitů pro měření kreatininu byla významná ve všech případech.

Saleema et al. našli v podstatě souhlasné výsledky s prací Lamba et al. [9] pro Jaffého metodu (Aeroset Abbott) a referenční metodu GFR⁹⁹Tc DTPA (diethylen-triamin-pentaoctová kyselina). Současně potvrdili, že při

hodnotách nad 1,00 ml/s/1,73 m² se validita MDRD prudce snižuje. Do této hodnoty poskytuje MDRD výsledky bližší referenci než Cockcroft-Gault. McKillop et al. [11] testovali vliv použití tří diagnostických kitů ke stanovení sérového kreatininu na výsledky eGFR získané výpočtem MDRD a znovu ukázali, že za současného stavu diferencí mezi měřením kreatininu jsou i výsledky eGFR významně rozdílné.

Kanadská studie [12] ukázala, že výsledky získané pomocí formule MDRD vykazují významně vyšší shodu s kreatininovou clearancí než výsledky odhadnuté rovnicí podle Cockcrofta a Gaulta.

Měla by se při rutinních měřeních kreatininu automaticky poskytovat hodnota eGFR?

NKDPEP doporučuje laboratorům, aby při každém měření kreatininu v séru vypočetly a poskytly klinickým lékařům automaticky hodnotu eGFR s použitím rovnice MDRD.

Podle názoru Raineyiho [13] nemá takový screening chronického ledvinového onemocnění dostatečně spolehlivé podklady k tomu, aby byl skutečně užitečný. Spíše to povede ke zvýšení počtu falešně pozitivních diagnostických klasifikací s obvyklými následky: ekonomickými pro společnost a psychickými pro falešně klasifikované pacienty. Levey et al. [14] odmítají takový názor. Jejich podpora stanovisku NKDEP o automatickém poskytování výsledků eGFR je založena na víře, že přínos časného zachytu choroby pomocí eGFR rozhodně převáží nad nedostatky, danými problémy s falešně pozitivní diagnostickou klasifikací. Užitečnost automatického počítání eGFR je dokládána jasnou závislostí zvyšování morbidity, kardiovaskulárních stavů a mortality na snížených hodnotách eGFR. Také je poukázáno na to, že ekonomické náklady na výpočet dat eGFR jsou nepatrné.

Literatura

1. 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.
2. Thomas, L., Huber, A. R. Renal function-estimation of glomerular filtration rate. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44, p. 1295–1302.
3. Levey, A. S., Bosch, J. P., Lewis, J. B., Greene, T., Rogers, N. et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Ann. Intern. Med.*, 1999, 130, p. 461–470.
4. Eurachem/CITAC 2003 Traceability in chemical measurements. Dostupné na: <http://www.eurachem.org>.
5. IMEP-17 Trace and Minor Constituents in Human Serum. Report to Participants. IRMM. Geel. Belgium. June 2003.
6. 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.
7. Greg Miller, W., Myers, G. L., Ashwood, E., Killeen, A. A., Wang, E., Thienpont, L., Siekman, L. Creatinine measurement. State of art in accuracy and interlaboratory harmonization. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2005, 1289, p. 297–304.
8. Panteghini, M., Myers, G. L., Greg Miller, W., Greenberg, N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44, p. 1287–1292.
9. Lamb, E. J., Wood, J., Stowe, H. J., O' Riordan, S. E., Web, M. C., Dalton, R. N. Susceptibility of glomerular filtration rate estimations to variations in creatinine methodology: a study in older patients. *Ann. Clin. Biochem.*, 2005, 42, p. 11–18.
10. Saleem, M., Florkowski, C. M., George, P. M., Woltersdorf, W. W. Comparison of two prediction equations with radionuclide glomerular filtration rate: validation in routine use. *Ann. Clin. Biochem.*, 2006, 43, p. 309–313.
11. Mc Killop, D. J., Cairns, B., Duly, E., van Drimmelen, M., Ryan, M. The effect of serum creatinine method choice on estimated glomerular filtration rate determined by the abbreviated MDRD formula. *Ann. Clin. Biochem.*, 2006, 43.
12. Planet, G. Comparison of creatinine clearance estimates with routine measured clearance. *Clinical Biochemistry*, 2007, 40, p. 124–127.
13. Rainey, P. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate-jumping the gun? *Clin. Chem.*, 2006, 52, p. 2184–2187.
14. Levey, A. S., Stevens, L. A., Hostetter, T. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate-just what the doctor ordered. *Clin. Chem.*, 2006, 51, p. 2188–2193.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.

Do redakce došlo 23. 3. 2007.

Adresa pro korespondenci:
RNDr Bedřich Friedecký, Ph.D.
ÚKBD LF UK a FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: friedecky@sekk.cz