

Stanovení albuminu v séru a plasmě. Harmonizace výsledků měření a klinická doporučení u pacientů s renálními chorobami

Friedecký B.^{1,2}, Kratochvíla J.²

¹ Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

² SEKK s.r.o. Pardubice

SOUHRN

Tři rutinní metody měření albuminu v séru/plasmě jsou posouzeny na základě studií stavu jejich harmonizace, provedených v posledních několika letech. Stupeň dosažené harmonizace výsledků je neuspokojivý, zejména pak z hlediska potřeb jejich klinické interpretace. Za příklad klinické interpretace byl vybrán stav nutriční při chronické ledvinové chorobě se zahrnutím hemodialýzy, transplantací a konečné fáze onemocnění. Na nedostatečnou úroveň harmonizace lze usuzovat z vysokých hodnot bias a zejména z vysokých diferencí mezi hodnotami, dosaženými při použití různých testovacích souprav, založených sice na stejné metodě, ale produkovaných různými výrobci (až 13 %). Podle použitých pramenů se zdá být ke zlepšení úrovně harmonizace lepší použití metody BCP, než obvyklejší metody BCG. Ke kalibraci rutinních metod je sice k dispozici (už řadu let) certifikovaný, komutabilní referenční materiál ERM DA 470 k/IFCC, ale efekt na zlepšení úrovně harmonizace nebyl pozorován v žádoucí míře. I zde se jeví úspěšněji metody BCP ve srovnání s BCG metodologií. Z řady studií je zřejmé, že nejistota měření albuminu v séru je nevhodně vysoká pro účely klinické interpretace a že dílčí složka nejistoty, tvořená systematickými chybami je několikanásobně vyšší, než dílčí složka preciznosti měření. Výrobci diagnostik přistoupili k zásadnímu rozšíření svého portfolia a nabízejí většinou obě možnosti (BCG i BCP) a někteří z nich i možnosti tři, když poskytují k dispozici i imunochemické metody (Roche, Beckman, Siemens). Sami by měli přispět k prohloubení harmonizace lepší verifikací hodnot svých pracovních kalibrátorů patrně lepším využitím ERM DA 470k/IFCC. Výběr z možností zůstává na samotných rutinních laboratořích. K realizaci vyššího stupně harmonizace stanovení albuminu je zapotřebí respektovat také rozdíly mezi výsledky séra a plasmy, které rovněž vykazují závislost na metodě a na výrobci soupravy.

Klíčová slova: albumin, sérum/plasma, harmonizace, BCG, BCP, ERM DA 470 k/IFCC.

SUMMARY

Friedecký B., Kratochvíla J.: Determination of albumin in serum and plasma. Harmonization of results and clinical recommendations in patients with renal diseases.

Our presentation deals namely with degree of harmonization of results in serum/plasma albumin measurement. We describe differences between BCG and BCP methods and between serum and plasma. Data are concentrated mainly for using of albumin results in cases of chronic renal diseases including nutrition state these patients including haemodialysis, transplantation and end stage of renal disease. In this moment are present on the market usually two (BCG, BCP) or three (immunochemistry) routine method from majority of significant manufacturers. Nevertheless many studies from last 6 years show three basic drawbacks. Firstly, differences between methods, based on BCG method are very large (up to 13 g/L). Differences between methods based on BCP methods are significantly lower (cca 6 g/L). Secondly, results in serum are significantly higher, than in plasma and these results are higher in BCG method, than BCP method. Thirdly, uncertainty of albumin measurement is higher, than requirements of guidelines and recommendations for published renal diseases and main resource of these differences are systematic errors-precision of albumin measurements is low, in many cases under CV = 1.0 %.

Better harmonization level in albumin measurement should be achieved by better calibration (better traceability to ERM DA 470 k/IFCC) and by better selection of routine methods. It seems to be hopeful to prefer BCP method. There is also necessary to know and to apply that serum values are significantly higher than plasma values and this difference also depend on the used method and diagnostic kit.

Keywords: albumin, serum/plasma, harmonization, BCG, BCP, ERM DA 470k/IFCC.

Albumin v séru/plasmě, nutriční stav a renální onemocnění

Klinický význam analytické spolehlivosti stanovení albuminu plyne zejména z jeho použití jako indikátoru nutriční u pacientů s chronickými renálními onemocněními, indikátoru adekvátního průběhu hemodialýzy u pacientů, při posuzování stavu u konečné fáze renální choroby (ESRD), při plánování a predikci průběhu transplantace ledvin a u dalších onemocnění. Pravidelné stanovení koncentrace albuminu v séru je tedy obecnou součástí příslušných lékařských doporučení [1-5].

Nástroje standardizace měření albuminu v séru/plasmě

Hlavním nástrojem by měl být již řadu let dostupný certifikovaný referenční materiál ERM DA 470k/IFCC (Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) Geel, Belgium) s referenčními hodnotami získanými optimalizovanými verzemi imunochemických metod, považovanými rovněž za metody vhodné k hodnocení kvality rutinních metod stanovení albuminu [6]. Infusino a spol. se zabývali v roce 2011 otázkou kalibrace rutinních metod měření albuminu referenčním

materiálem ERM DA 470k/IFCC a došli k závěru, že přes nespornou komutabilitu materiálu jsou jeho vztahy (metrologická návaznost) k pracovním kalibrátorům výrobců nejasné, patrně neverifikované a demonstrují své pochybnosti zjištěnou hodnotou rozdílů mezi pracovními kalibrátory dvou rutinních imunochemických metod a ERM DA 470k/IFCC přibližně 8 % [7]. Jistou problematičností stupně harmonizace měření albuminu naznačuje i to, že v programu externího hodnocení kvality referenčních laboratoří RELA IFCC (http://www.dgkl-rfb.de:81/4Daction/g_search_RELA/RELA2015/00000000000000000000) není albumin hodnocen vůbec a asi není náhodné, že pilotní mezinárodní studie výsledků programu externího hodnocení kvality v evropských laboratořích, garantovaná pracovní skupinou EFLM (European federation of clinical chemistry and laboratory medicine - <https://www.eflm.eu/>) pro externí hodnocení kvality, nezahrnuly albumin mezi 17 obecných základních analytů krevního séra [8].

Bias a preciznost

Infusino a Panteghini došli při snaze vyhodnotit spolehlivost měření sérového albuminu k závěru, že nejistota měření je významně vyšší, než by vyžadovaly klinické aplikace [9,10] a že rozhodující složkou nejistoty měření není preciznost, ale právě bias. V práci z roku 2011 [9] autoři uvádějí hodnotu $b = 6,4 \%$, zatímco hodnota variačního koeficientu je jen $CV = 1,9 \%$.

Vzorky kontrolního cyklu SEKK 2016

V Tabulce 1 jsou uvedeny některé výsledky programu externího hodnocení kvality (EHK) SEKK AKS z roku 2016. Přitom u účastníků programu SEKK zcela převládají laboratoře stanovující albumin metodou BCG (vazba na barvivo bromkresolovou zeleň) a asi devítinásobně převyšují účastníky s použitím metody BCP (vazba na barvivo bromkresolový purpur). Imunochemické metody stanovení nejsou rutinně využívány. Metoda BCG poskytuje o něco vyšší výsledky měření než metoda BCP. Mezi skupinami metod různých výrobců lze pozorovat rozdíl až 7 g/l, který je příliš vysoký pro klinické potřeby doporučení, uvedených na začátku sdělení. Program EHK SEKK nemá bohužel validovanou komutabilitu pro stanovení albuminu, nicméně i v rámci tohoto omezení signalizuje potřebu zlepšit harmonizaci výsledků měření vcelku jasně.

Table 1: BCG and BCP methods in EQA programme SEKK

Participants BCG/BCP ratio	cca 0.9
Differences between means for BCG and BCP methods	-1.5 to 2.0 g/L
Differences between kits means	-2.7 to 4.1 g/L

Maximální hodnoty ve všech čtyřech kontrolních cyklech poskytuje vždy Erba Lachema (BCG), minimální pak Dimension Siemens (BCP), nebo Beckman (BCP). Stabilita hodnot bias (rozdíl průměrů skupin metod od robustního průměru všech) a jejich souvislost

s konkrétními metodami ukazuje na pravděpodobnou nedokonalost a nepropracovanost firemních kalibrací a na z toho faktu hrozící možnosti problémů při klinické interpretaci výsledků.

Program CAP USA 2003 až 2004

Výsledky EHK programu CAP (College of American Pathologists) byly získány v letech 2003 a 2004, ale publikovány až o deset let později. 2902 laboratoří použilo metod stanovení albuminu BCG a 2726 metod stanovení BCP [11]. Z pěti hodnocených kontrolních vzorků byl jeden testován na komutabilitu podle protokolu CLSI C 37-A [12] a právě jeho výsledky jsou uvedeny níže, protože nevykazují žádný významný vliv matrice.

Kalibrace byla provedena lidským albuminem s hodnotami získanými navážkami a volumetrickými postupy. Z Tabulky 2 je zřejmé, že rozdíly mezi metodami jsou zde nevýznamné, nicméně difference mezi skupinami metod různých výrobců byly podstatně vyšší u BCG metody.

V případě BCG metody byl zjištěn nápadně vysoký negativní bias u metod suché chemie Vitros, hlavní příčina nepřijatelných diferencí mezi maximem a minimem hodnot průměrů $D = 7 \text{ g/l}$. Ve skupině BCP metod byl tento rozdíl pouze $D = 2 \text{ g/l}$. Volba metody a testovací soupravy zde tedy může výrazně ovlivnit klinický dopad výsledků měření.

Table 2: Control sample with validated commutability in programme CAP

Method	BCG method (g/L)	BCP method (g/L)
Mean	40.7	40.6
Mean of producer peer groups	37.5 to 44.4	40 to 42

Bias ve studiích se vzorky s validovanou komutabilitou a průměrem jako vztažnou hodnotou

Data tří nedávno publikovaných prací z let 2012 až 2015 jasně ukazují, že rozdíly mezi jednotlivými testovacími soupravami a jejich rozptyly mezi výrobci jsou významně vyšší u metod stanovení albuminu BCG, než u BCP (Tabulka 3).

V kontextu s uvedenými výsledky lze považovat otázku australských autorů [14], zda explicitně nedoporučit účastníkům kontrolních cyklů EHK preferovat metodu BCP před BCG za logickou.

Table 3: Recent studies of bias in serum albumin measurement by using the methods BCG-BCP from global producers

Methods	Bias (%)	Origin
BCG + BCG methods	-7.4 to 5.1	Van Houcke [13]
BCG method	-3.0 to 4.2	Koerbin [14]
BCP method	-1.7 to 2.4	Koerbin [14]
BCG method	-10 to 12	Koerbin [15]
BCP method	± 6	Koerbin [15]

Rutiní metody měření a referenční materiál ERM DA 470k/IFCC [16]

Byl připraven referenční kalibrátor z materiálu ERM DA 470k/IFCC, stanovena hodnota jeho nejistoty (pro $k = 2$) a analyzován 15 metodami (9 BCG, 12 BCP a 3 imunochemicky). Výsledky ukazuje Tabulka 4. Jen u metody BCP bylo dosaženo u všech 12 testovacích souprav různých výrobců shodnosti s hodnotou ERM DA 470k $\pm U_c$. U metod BCG byly získány tři výsledky z devíti mimo toto rozmezí a u jedné ze tří imunochemických metod také.

Table 4: Recovery of routine methods to reference material ERM DA 470k/IFCC

Certified value ERM DA 470k/IFCC [CRM $\pm U_c$] 37.2 \pm 1.2 g/L		
Routine method	Inside (n)	Outside (n)
BCG	6	3
BCP	12	0
Immunochemically	2	1

Diference průměrů metod od hodnoty souprav Tina-quant 2 gen. Roche a preciznost výsledků měření

Výsledky v Tabulce 5 pocházejí z nedávné práce [16], která si zvolila rutinní metodu Roche Tina-quant (imunochemicky) za kritérium srovnatelnosti s ostatními, častěji používanými metodami v rutinních laboratořích. Výsledky znovu ukazují dvě podstatné skutečnosti. Extrémní (téměř 14 %) rozdíly mezi testovacími soupravami různých výrobců metod, založených na principu metod BCG a významně příznivější situaci při použití metod, založených na použití metod BCP. Navíc se potvrzuje dřívější poznatek, že rozhodujícím zdrojem chyb a nejistot měření sérového albuminu jsou systematické rozdíly mezi metodami, zatímco jejich preciznost zde hraje minimální roli.

Table 5: Bias methods BCG and BCP against Tina-quant Roche (Immunochemistry)

Methods	Interval of bias (%)	Interval of CV (%)
BCG method	1.3 to 13.9	0.2 to 2.0
BCP method	-5.5 to 1.2	0.3 to 2.1

Sérum vs plasma, pacienti s hemodialýzou a bez ní

Už před mnoha lety byly pozorované rozdíly mezi výsledky měření albuminu v séru a plasmě. Bias měření albuminu, posuzovaný metodou Roche Tina-quant 2 gen jako referenční, je vyšší u séra než u plasmy, a to v intervalu 0 až 4 g/l, přičemž metoda BCP vykazuje nižší rozdíly, než metoda BCG [15]. Výsledky u pacientů s hemodialýzou vykazují v průměru vyšší bias, než u ostatních pacientů a tyto rozdíly o velikosti $D = -2$ g/l jsou opět poněkud nižší při použití metody BCP, než BCG. Velikost těchto rozdílů je nižší, než rozdíly mezi metodami jednotlivých výrobců.

Velká přehledná práce o historii, současnosti a budoucnosti stanovení albuminu v séru/plasmě je v současné době připravena k publikaci [17]. Minulost

měření albuminu je popsána zajímavě, popis přítomnosti nepřináší ve srovnání s naším sdělením nic podstatného a budoucnost je jako obvykle spekulativní.

Diskuse a závěry

Zatím stále neexistuje potřebný stupeň harmonizace mezi metodami BCG a BCP tak, aby byla zajištěna klinická efektivita výsledků měření albuminu v séru/plasmě. Navíc není ani dostatečná harmonie mezi výrobci, používajícími stejné metody měření na bázi bazických barviv, přičemž intervaly diferencí mezi testovacími soupravami různých výrobců jsou podstatně vyšší u BCG, než u BCP. Rozdíly mezi testovacími soupravami jednotlivých výrobců u metody BCG mohou být způsobeny rozdílnými metodickými postupy (měření s/ i bez vlastního blanku, hodnota pomocné vlnové délky u bichromatických měření a další) a dosahují až 17 %. Přitom rozdíly mezi testovacími soupravami různých výrobců jsou u metody BCP podstatně nižší (< 5 %). Právě rozdíly mezi metodami BCG a BCP jsou však zásadní. V současnosti výrobci nabízejí dvě a někdy až tři nedostatečně harmonizované rutinní metody. Zdá se, že se málo efektivně využívá metrologické návaznosti rutinních pracovních kalibrátorů výrobců na materiály na bázi ERM DA 470 k/IFCC. Zřejmě ani není zajištěna verifikace hodnot pracovních kalibrátorů u různých výrobců a důsledkem mohou být enormní diference i v případě použití stejných metod od různých výrobců. Naskytá se otázka, zda nepreferovat BCP metody před metodami BCG, což by zejména v ČR vedlo k velkým změnám ve spektru používaných metod. Ve světě (viz výsledky CAP USA) je přibližná rovnováha mezi oběma metodami běžná. Řada výrobců (Roche, Abbott, Siemens, Beckman) nabízí možnost volby mezi BCG a BCP metodami. Někteří výrobci (Roche a Beckman) umožňují perspektivně i volbu imunochemických metod stanovení albuminu.

Při klinické interpretaci výsledků je zapotřebí brát ohled i na rozdíly mezi sérem a plasmou, které nejsou v mnoha případech zanedbatelné. Přístup EBM (evidence base medicine) a na pacienta orientované medicíny by měl v případě laboratorních testů začít maximální harmonizací jejich výsledků. Měření albuminu v séru je jedním z mnoha klasických příkladů, že tomu tak v realitě nebývá a že na počátku harmonizovaných klinických závěrů autoritativních lékařských doporučení bývá nedobře harmonizovaná analytická fáze. Velký počet výrobců na trhu, často nabízejících dvě nebo i tři různé metody měření nemá pozitivní vliv na harmonizaci výsledků měření, spíše je tomu naopak.

Literatura

1. **Clinical Practice guidelines for nutrition in chronic renal failure.** K/DOQI National Kidney Foundation. *Am. J. Kidney Dis.*, 2000, 35(Suppl 6), p. 5-140.
2. **The renal network. Clinical performance goals 2012-2013.** Přístupné na: <http://www.therenalnetwork.org/qi/resources/trn-CPMgoals2012-2013e.pdf>

3. **National Kidney Foundation.** KDOQI clinical practice guideline for hemodialysis adequacy. 2015 update. *Am. J. Kidney Dis.*, 2015, 66, p. 884-930.
4. Centers for Medicare and Medicaid Services. End stage renal disease (ESRD) 2016. Přístupné na: <https://www.cms.gov>
5. **Yang, S. W., Choi, J. Y., Kwon, O. J.** The impact of pretransplantation serum albumin levels on long-term renal graft outcomes. *Transplant. Proc.*, 2013, 45, p. 1379-1382.
6. **JCTLM database:** Laboratory medicine and in vitro diagnostics. Přístupné na: <http://www.bipm.org/jctlm>
7. **Infusino, I., Braga, F., Valente, C., Panteghini, M.** Commutability of the ERM-DA470k Reference Material for two assays measuring serum albumin using immunochemical principles. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011, 49/8, p. 1383-1384.
8. **Weykamp, C., Secchiero, S., Plebani, M., Thelen, M., Cobbaert, C., Thomas A. et al.** Analytical performance of 17 general chemistry analytes across countries and across manufacturers with INPUtS project of EQA organizers in Italy, the Netherlands, Portugal, United Kingdom and Spain. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 55/2, p. 203-211.
9. **Infusino, I., Braga, F., Mozzi, R., Valente, C., Panteghini, M.** Is the accuracy of serum albumin measurements suitable for clinical application of the test? *Clin. Chim. Acta*, 2011, 412, p. 791-792.
10. **Infusino, I., Panteghini, M.** Serum albumin: accuracy and clinical use. *Clin. Chim. Acta.*, 2013, 419, p. 5-8.
11. **Lo, S., Miller, G. W., Dumas, B. T.** Laboratory performance in albumin and total protein measurement using a commutable specimen. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2013, 137, p. 912-920.
12. **CLSI, C 37-A:** Preparation and validation of commutable human frozen serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures. *Wayne PA.* 1999.
13. **Van Houcke, S. K., Rustad, P., Stepman, H. C. M., Kristiansen, G. B. B., Stöckl, D., Roraas, T. H. et al.** Calcium, magnesium, albumin and total protein measurement in serum as assessed with 20 fresh-single donation sera. *Clin. Chem.*, 2012, 58/11, p. 1597-1603.
14. **Koerbin, G., Tate, J. R., Ryan, J., Jones, G. R. D., Sikaris, K. A., Kanowski, D. et al.** Bias assessment of general chemistry analytes using commutable samples. *Clin Biochem Rev* 2014,35:203-211.
15. **Koerbin, G.** Albumin. NSW Government/Health Pathology. Přístupné na: <http://www.aacb.asn.au>
16. **Bachmann, L. M., Yu, M., Boyd, J. C., Bruns, D. E., Miller, G. W.** State of harmonization of 24 serum albumin measurement procedures, and implications for medical decisions. *Clin. Chem.*, 2017, 63/3, p. 770-779.
17. **Kumar, D., Banerjee, D.** Methods of albumin estimation in clinical biochemistry: Past, present, and future. *Clin. Chim. Acta*, 2017, 469, p. 150-160.

Do redakce došlo 4. 5. 2017

*Adresa pro korespondenci:
RNDr. Bedřich Friedecký, Ph.D.
Střelničná 1680, 182 00 Praha 8
e-mail: friedecky@sekk.cz*