

TESTOVANIE ZHODY VÝSLEDKOV LABORATORNEHO STANOVENIA C-REAKTÍVNEHO PROTEÍNU, CYSTATINU C A INR S VÝSLEDKAMI ZÍSKANÝMI NA ANALYZÁTORE V MIESTE STAROSTLIVOSTI O PACIENTA

JANA NETRIOVÁ^{a,b}, ZDENKA KRAJČOVIČOVÁ^a,
VLADIMÍR MELUŠ^a a MIROSLAV ČERNICKÝ^c

^a Fakulta zdravotníctva, Trenčianska Univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Študentská 2, 911 50 Trenčín,

^b Oddelenie klinickej biochémie a hematológie, Nemocnica Svätého Michala, a.s., Cesta na Červený most 1, 811 05 Bratislava, ^c študent externého doktorandského štúdia Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety, Palackého č. 1, P.O. Box 104, 810 00 Bratislava
vladimir.melus@tuni.sk

Došlo 14.7.15, prijaté 2.10.15.

Kľúčové slová: laboratórna diagnostika, Passing-Bablokova regresia, C-reaktívny proteín, cystatín C

Úvod

POCT (Point Of Care Testing, testovanie v mieste starostlivosti o pacienta) predstavuje rýchle a jednoduché *in vitro* testovanie, tzn. získavanie informácií o vnútornom prostredí a metabolických pochodoch v organizme človeka priamo v mieste bezprostredného kontaktu s pacientom. Jedinečnosť týchto metód nespočíva v samotných analytických princípoch vyšetřovaných metabolitov, ale v spôsobe realizácie ich vyšetření. Vykonávajú sa mimo priestorov laboratórií, priamo v mieste starostlivosti o pacienta, s prenosnými zariadeniami a testovacími súpravami, s ktorými sa vyšetřuje vzorka, ktorá bola bezprostredne získaná od pacienta¹. Hlavným dôvodom rozšírenia POCT metód bola potreba laboratórných vyšetření aj na miestach, kde spádové laboratóriá boli veľmi ťažko dostupné alebo neboli dostupné vôbec. S technikami rýchleho stanovenia laboratórných parametrov sa môžeme stretnúť nielen na klinických oddeleniach v nemocnici – JIS a operačných sálach, ale vďaka svojej jednoduchosti uskutočnenia prenikajú aj do ambulancií. Množstvo metodík, ktoré možno stanoviť technikami POCT sa v závislosti od požiadaviek zdravotníkov neustále rozširuje. Jednoduchosť, dostupnosť a malý objem biologického materiálu zvyšuje preferencie pre dosiahnutie rýchleho výsledku. K dispozícii je aj široká paleta jednoparametrových a viacparametrových analyzátorov, z ktorých si môžu užívatelia vybrať podľa vlast-

ného uváženia². Nemožno však zabúdať, že nenahrádzajú laboratórne vyšetřenia v špecializovaných laboratóriách. K základným podmienkam pre zavedenie POCT do praxe je prístrojové zariadenie, ktoré poskytuje porovnateľné výsledky s výsledkami klinického laboratória a zabezpečenie internej a externej kontroly kvality.

V rámci prípravy POCT analýz na využitie v špecifických podmienkach hyperbarickej oxygenoterapie (HBO) sme sa v našej pilotnej štúdii zamerali na porovnanie výsledkov stanovenia koncentrácií vybraných laboratórných parametrov: cystatínu C (Cys C), C-reaktívneho proteínu (CRP) a hematologického parametra INR na POCT a laboratórných analyzátoch. Cys C je marker charakterizujúci stav obličiek, ktorý je využívaný pre odhad glomerulárnej filtrácie. Je to neglykozidovaný bázický proteín skupiny cysteínových proteáz produkovaný všetkými jadrovými bunkami a je voľne filtrovaný cez glomerulus. Jeho koncentrácia v krvnom sére nie je ovplyvnená stravou, nutričným stavom, zápalovými alebo malígnymi procesmi a na rozdiel od kreatinínu nie je závislá od svalovej hmoty, pohlavia, veku a rasy^{3,4}. CRP je úzko spätý s akútnou fázou odpovede, ktorá je hlavným patofyziologickým rysom zápalu. Počas tejto reakcie sa prelada homeostatické mechanizmy a nastolí sa nová rovnováha obranných a adaptačných procesov v organizme^{5,6}. INR je významným hematologickým parametrom predovšetkým pri monitorovaní účinnosti antikoagulačnej terapie⁷.

Cieľom našej práce bolo overenie miery zhody výsledkov laboratórných a POCT metód prostredníctvom párového testovania vzoriek pacientov pre parametre Cys C, CRP a INR s nasledovnými hypotézami:

- 1H₀ – medzi sledovanými metódami je lineárny vzťah,
- 2H₀ – medzi číselnými hodnotami oboch metód sú výrazné systematické rozdiely,
- 3H₀ – medzi číselnými hodnotami oboch metód sú výrazné proporcionálne rozdiely.

Experimentálna časť

Cys C sme kvantitatívne stanovili imunoturbidimetricky na laboratórnom analyzátoe AU 400 (Olympus Diagnostica GmbH, D) testom Cystatin C assay CYS4004 (Randox, UK) u 63 pacientov a porovnali s turbidimetrickým stanovením vykonaným testom CysC (GFR) ST0240 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A) na POCT analyzátoe Smart 700 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A).

CRP bol stanovený zo séra imunoturbidimetricky kvantitatívnym testom CRP CP8028 (Randox, UK) na analyzátoe AU 400 (Olympus Diagnostica GmbH, D) u 46 pacientov. Súčasne u týchto jedincov bolo CRP stanovené imunoturbidimetricky aj testom CRP ST0102 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A) na POCT analyzátoe Smart 700 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A).

INR bolo stanovené u 69 pacientov liečených warfarínom na analyzátoe Sysmex CA1500 (Siemens, D) reageniami rovnakého výrobcu (reagenčný kit THROMBOREL® S s ISI = 1,00, kat. č. OUHP49) a na POCT analyzátoe

Smart 700 reagentami PT INR Test ST0180 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A).

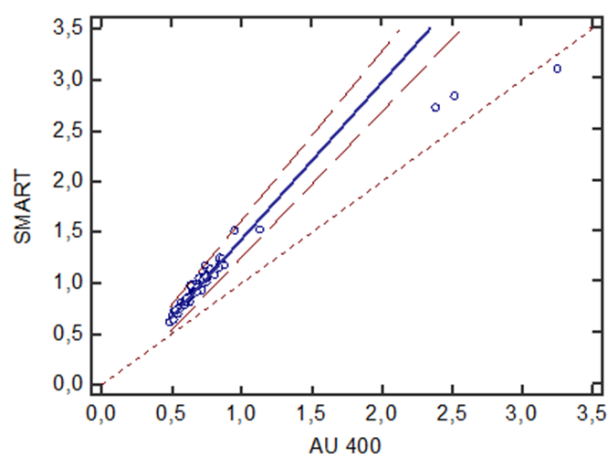
Na porovnanie metód sme zvolili neparametrickú metódu regrese podľa Passing-Babloka z dôvodu jej robustnosti voči odľahlým hodnotám⁸. Na štatistické spracovanie sme využili MS Excell 2013 s modulom XLSTAT Ver. 2015.1.02 (Addinsoft 1995-2014). Za P -hodnotu významnosti testu pre zamietnutie predpokladu linearit sme považovali hodnotu $P < 0,05$.

Výsledky a diskusia

Štatistické parametre stanovovaných parametrov Cys C, CRP a INR sú uvedené v tab. I, pričom posledný stĺpec tabuľky obsahuje prepočet lineárneho modelu závislosti medzi výsledkami stanovovania na oboch typoch analyzátorov. Z výsledkov testovania linearit (tab. II–IV) vyplýva, že u všetkých troch parametrov nemôžeme zamietnuť stanovenú hypotézu H_0 , ktorá predpokladá linearitu závislosti medzi oboma spôsobmi stanovovania parametrov ($P < 0,05$). Pri testovaní Cys C (tab. II) 95% interval spoľahlivosti (I.S.) priesečníku nezahŕňa nulu, preto zamietame hypotézu H_0 neprítomnosti systematického rozdielu medzi testovanými metódami v celom rozsahu merania. 95% I.S. smernice neobsahuje číslo 1, preto zamietame hypotézu H_0 o neprítomnosti proporcionálnej zložky systematickej chyby (tab. II, obr. 1, 2). Na rozdiel od Cys C bola v prípade CRP aj INR v oblasti 95% I.S. zahrnutá nula, preto nezamietame hypotézu H_0 neprítomnosti systematického rozdielu medzi laboratórnou a metódou POCT (tab. III, IV). V oboch prípadoch 95% I.S. smernice obsahuje číslo 1, preto nezamietame hypotézu H_0 nepri-

tomnosti proporcionálnej zložky systémovej chyby (tab. III, IV). Z uvedených výsledkov vyplýva, že vo všetkých troch prípadoch párového testovania INR, CRP a Cys C laboratórnou a POCT metódou existuje medzi výsledkami lineárny vzťah (Cys C: $P = 0,959$; CRP: $P = 0,990$; INR: $P = 0,467$). Toto zistenie pokladáme za dôležité, pretože umožňuje vzájomný vzťah oboch premenných definovať prostredníctvom lineárnej regresnej rovnice.

Pre Passing-Bablokovu analýzu sme sa rozhodli pre jej dve kľúčové výhody. Prvou je fakt, že ide



Obr. 1. Passing-Bablokova regresia Cys C; plná hrubá čiara znázorňuje regresnú priamku, jednotlivé vzorky sú vyznačené krúžkami. Prerušované čiary vyznačujú intervaly spoľahlivosti regresnej priamky

Tabuľka I
Štatistické parametre výsledkov stanovovania Cys C, CRP a INR

Parameter	Analyzátor	n	$\bar{x}$	sd	$min.$	$max.$	Lineárny model
CRP, mg l ⁻¹	AU 400	46	14,03	13,74	2,18	56,80	$y = 0,077 + 1,003 x$
	Smart	46	14,01	13,60	2,10	54,50	
Cys C, mg l ⁻¹	AU 400	63	0,77	0,46	0,49	3,25	$y = -0,114 + 1,545 x$
	Smart	63	1,02	0,47	0,61	3,11	
INR (–)	AU 400	69	2,35	0,94	1,00	5,22	$y = 0,003 + 1,020 x$
	Smart	69	2,37	0,88	1,00	4,27	

Tabuľka II
Overenie zhody stanovovania Cys C Passing-Bablokovou regresnou metódou

Parameter	Hodnota	Interval spoľahlivosti	
		–95 %	95 %
Priesečník	–0,114	–0,190	–0,044
Smernica	1,545	1,433	1,667
Test na linearitu, P -hodnota testového kritéria			0,959

Tabuľka III

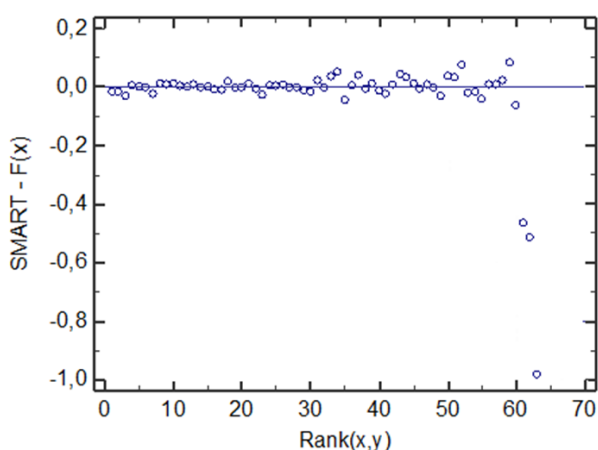
Overenie zhody stanovenia CRP Passing-Bablokovou regresnou metódou

Parameter	Hodnota	Interval spoľahlivosti	
		–95 %	95 %
Priesečník	0,077	–0,066	0,156
Smernica	1,003	0,994	1,011
Test na linearitu, <i>P</i> -hodnota testového kritéria			0,990

Tabuľka IV

Overenie zhody stanovenia INR Passing-Bablokovou regresnou metódou

Parameter	Hodnota	Interval spoľahlivosti	
		–95%	95%
Priesečník	0,003	–0,191	0,211
Smernica	1,020	0,904	1,123
Test na linearitu, <i>P</i> -hodnota testového kritéria			0,467



Obr. 2. Passing Bablokova regresia Cys C – reziduá

o neparametrickú metódu, ktorá nepredpokladá normálne rozloženie nameraných hodnôt. Druhou výhodou je necitlivosť tejto štatistickej metódy k náhodným chybám oboch porovnávaných metód. Tento predpoklad je kľúčový predovšetkým v prípade intra- a interindividuálnej variability, ktorá je normálnym atribútom živých biologických systémov.

V prípade Cys C sú medzi číselnými hodnotami oboch metód výrazné systematické a proporcionálne rozdiely, ktoré sú prirodzeným dôsledkom analyticko-chemických princípov, na ktorých pracujú. Výsledky oboch metód preto nemožno vzájomne zamieňať, avšak v prípade použitia POCT metódy na analyzátoch Smart v teréne možno predpokladať lineárny vzťah k laboratórnej metóde na laboratórnom analyzátoch AU400

podľa uvedeného vzťahu. V prípade CRP a INR možno predpokladať bližšiu zhodu, avšak napriek tomu nie je žiadúce vzájomne zamieňať výsledky laboratórnych a POCT analyzátorov.

Záver

Získané výsledky predstavujú dôležité východisko a nevyhnutnú podmienku pre ďalšie využitie POCT analyzátorov v špecifických podmienkach špecializovaných úkonov zdravotníckej starostlivosti, akou je napr. HBO, pri ktorej je dôležitá podmienka bezprostredného spracovania biologického materiálu vzoriek bez zbytočných časových strát spojených so skladovaním a transportom vzoriek, ktoré je v zdravotníctve bežným javom. Výsledky POCT sme otestovali voči laboratórnym metódam, ktoré sú zahrnuté v internej i externej kontrole kvality a musia byť nadväzné na medzinárodné štandardy.

Práca vznikla v rámci riešenia projektu „Dobudovanie technickej infraštruktúry pre rozvoj vedy a výskumu na Trenčianskej univerzite Alexandra Dubčeka prostredníctvom hyperbarickej oxygenoterapie“; ITMS kód 26210120019; operačného programu Výskum a vývoj.

Zoznam symbolov

HBO	hyperbarická oxygenoterapia
Cys C	cystatín C
CRP	C-reaktívny proteín
INR	international normalised ratio, medzinárodný normalizovaný pomer
<i>max.</i>	maximálna zistená hodnota
<i>min.</i>	minimálna zistená hodnota
<i>n</i>	počet pacientov

POCT	Point of Care Testing, testovanie v mieste starostlivosti o pacienta
P	hodnota testovacieho kritéria štatistického testu
sd	smerodajná odchýlka
$\bar{x}$	aritmetický priemer

LITERATÚRA

1. St John A, Price C. P.: Clin. Biochem. Rev. 35, 155 (2014).
2. Kruželová S., Netriová J., Hubčík J., Krajčovičová Z., Meluš V.: Zdrav. Listy 2, A4 (2014).
3. Onopiuk A., Tokarzewicz A., Gorodkiewicz E.: Adv. Clin. Chem. 68, 57 (2015).
4. Šigutová R., Hladík M., Všiansky F., Kušnierová P., Šafářčík K., Zdeněk Š.: Chem. Listy 107, 444 (2013).
5. Podracká E.: Ambulantná Terapie 6, 241 (2008).
6. Huang Y., Chen R., Wu T., Wei X., Guo A.: Br. J. Gen. Pract. 63, 787 (2013).
7. Netriová J., Meluš V., Balíková A., Wolfová J.: Zdrav. Listy 1, 60 (2013).
8. Bilić-Zulle L.: Biochem. Med. 21, 49 (2011).

J. Netriová^{a,b}, Z. Krajčovičová^a, V. Meluš^a, and M. Černický^c (^a Faculty of Healthcare, Alexander Dubček University of Trenčín, Trenčín, ^b St. Michael's Hospital, Inc., Bratislava, ^c The part-time doctoral student of St. Elizabeth University of Health and Social Sciences, Bratislava): **Testing the Compliance of Results of Laboratory Determination of C-reactive Protein, Cystatin C, and INR with those Obtained on the Point of Care Testing Analyzer**

The use of the Point of Care Test (POCT) analyzers is associated with the requirement of concordance of their results with those obtained by a "classical" way in the medical laboratory. Using the Passing – Bablok regression method, we verified the compliance of results of testing the parameters of CRP, cystatin C and INR between the AU 400 (Olympus Diagnostica GmbH, D) laboratory analyzer, the Sysmex CA1500 (Siemens, D) laboratory analyzer and the Smart 700 (Eurolyser Diagnostica GmbH, A) POCT analyzer. We found linear dependence of the results of all three tested parameters. Systematic and proportional differences were found only in the case of cystatin C (95% confidence interval for intersection = -0.190; -0.044). On the basis of given data, it can be concluded that an agreement exists between results of methodologically different examinations. For more general acceptance, however, it will be necessary to test a larger number of individuals with a broader range of diagnoses.







25. - 27. 4. 2016 | Mikulov

www.icct.cz

4. mezinárodní chemicko-technologická konference

4th International Conference on Chemical Technology



SEKRETARIÁT KONFERENCE

AMCA, spol. s r.o. | Academic and Medical Conference Agency
 Vyšehradská 320/49 | 128 00 Praha 2 | amca@amca.cz | www.icct.cz | www.amca.cz