مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۸، شماره ۲، تابستان ۹۷، صفحات ۱۶۲ تا ۱۶۹

Original Article

ارزیابی عملکرد کیت‌های متداول اندازه‌گیری کراتی‌نین در سرم و ادرار:آیا نتایج حاصل از این روش‌ها برای استفاده بالینی مناسب هستند؟

فرشته عتابی[۱]، رضا محمدی[۱و۲]

[۱]استادیار، گروه بیوشیمی و فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] دبیر بورد بیوشیمی برنامه ارزیابی خارجی کیفیت، انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *در حال حاضر اندازه‌گیری مقدار کراتی‌نین سرم و ادرار معمول‌ترین روش ارزیابی عملکرد کلیه است. بدین منظور، روش ژافه بیشترین کاربرد را دارد. اختلاف نتایج حاصل از اندازه‌گیری کراتی‌نین یک نمونه ممکن است ناشی از کیفیت پایین روش اندازه‌گیری، کالیبراسیون نامناسب روش و یا استفاده نامناسب آزمایشگاه از روش اندازه‌گیری باشد. در این مطالعه و براساس آمار EQAP ، عملکرد کیت‌هایی مورد ارزیابی قرار گرفت که بیشترین کاربرد را در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ایران داشتند.*

روش بررسی: *برای ارزیابی عملکرد روش‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین پنج کیت متداول مورد استفاده در ایران، شامل پارس آزمون، پیشتاز طب، آدیت، من و بیونیک، از نظر عدم‌دقت، قابلیت‌های آشکارسازی، خطی‌بودن و مقایسه نتایج ، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از نظر آماری با استفاده از درصد ضریب تغییرات، آزمون t جفت‌شده و رگرسیون خطی و از نظر بالینی بر اساس خطای کل مجاز بررسی شدند.*

یافته‌ها: *عدم‌دقت و قابلیت‌های آشکارسازی کیت‌ها قابل‌قبول بودند، ولی نتایج خطی‌بودن روش‌ها در دامنه اندازه‌گیری ارائه‌شده توسط تولیدکنندگان را نشان ندادند. به علاوه، در تمامی موارد از نظر آماری و در اکثر موارد از نظر بالینی، اختلاف معنی‌داری بین نتایج هر کیت با میانگین کل نتایج به عنوان میزان هدف وجود داشت.*

نتیجه‌گیری: *براساس نتایج حاصل از این مطالعه که برای اولین بار در ایران انجام شده است، لازم است روش‌های ژافه اندازه‌گیری کراتی‌نین با روش‌های آنزیمی جایگزین شوند. به‌علاوه همسان‌سازی و استانداردسازی این روش‌ها در مقایسه با یک روش مرجع لازم است.*

واژگان کلیدی: *کراتی‌نین، روش ژافه، ارزیابی روش، بیماری مزمن کلیه.*

مقدمه

بیماری مزمن کلیه (CKD) یکی از معضلات اصلی هر جامعه‌ای است که سلامت عمومی را به خطر می‌اندازد (۱). این بیماری با کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی (GFR) مشخص می‌شود و کاهش قابل‌توجه GFR همراه با کاهش دفع ادراری و افزایش مقادیر سرمی کراتی‌نین است (۲). لذا به شکل گسترده‌ای از اندازه‌گیری مقادیر کراتی‌نین سرم و ادرار برای ارزیابی میزان GFR استفاده می‌شود (۳).

در حال حاضر، روش‌های معمول اندازه‌گیری کراتی‌نین متکی بر واکنش ژافه هستند که طی آن کراتی‌نین موجود در نمونه با پیکرات قلیایی واکنش می‌کند. این روش اندازه‌گیری کراتی‌نین، تحت تأثیر عوامل مداخله‌گر متعددی شامل پروتئین‌ها، گلوکز، استواستات، پیرووات و اسید آسکوربیک قرار می‌گیرد (۴, ۵). واکنش ژافه همچنین در معرض سایر تداخلات پیچیده ناشی از بیلی‌روبین و برخی داروها قرار دارد (۴). علی‌رغم حساسیت و ویژگی پایین، به عنوان روش معمول اندازه‌گیری کراتی‌نین در سرتاسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاکنون تولیدکنندگان

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، رضا محمدی
(**email**: r.mohammadi.bio@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۶/۸/۱۰
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۲/۱۴

کیت‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین، با ارایه روش‌های تغییریافته ژافه (نظیر کینتیک، جبران‌شده و بلانک اسیدی) تلاش‌های زیادی برای حذف اثر عوامل مداخله‌گر انجام داده‌اند (۴) که تا حدودی مؤثر بوده است، ولی به‌طور کامل سبب حذف عوامل مداخله‌گر نشده است (۲). با توجه به تنوع روش‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین متکی بر واکنش ژافه، اغلب اختلافاتی بین نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کراتی‌نین یک نمونه با استفاده از این روش‌های متفاوت حاصل می گردد. لذا برای رسیدن به نتایج قابل‌قبول و یکسان لازم است همانسان‌سازی این روش‌ها صورت گیرد (۶). مطالعه مقایسه روش‌ها، راهکاری برای شناسایی اختلافات بین روش‌ها و مقدمه‌ای برای همسان‌سازی آنها است (۷, ۸).

در ایران کیت‌ها و روش‌های مختلف و متعددی برای اندازه‌گیری کراتی‌نین سرم و ادرار وجود دارند. نتایج برنامه ارزیابی کیفیت خارجی (EQAP) که از سال ۱۳۸۷ توسط انجمن علمی دکترای علوم آزمایشگاهی و تحت نظارت آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در حال انجام می‌باشد و در حال حاضر بیش از ۱۸۰۰ آزمایشگاه کشور سالیانه سه مرتبه در این برنامه شرکت می‌کنند، نشان می‌دهد که در برخی موارد نتایج حاصل از این کیت‌ها با یکدیگر اختلاف قابل‌توجهی دارند. در اغلب موارد این اختلاف از نظر کاربرد بالینی حائز اهمیت است و استفاده بالینی نتایج آزمایش را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این اختلاف ممکن است ناشی از عملکرد نامناسب کیت‌های اندازه‌گیری و یا عملکرد نامناسب آزمایشگاه‌های تشخیص طبی باشد. عملکرد آزمایشگاه‌های تشخیص طبی را می‌توان براساس نتایج EQAP آزمایشگاه‌های شرکت‌کننده در این برنامه و میزان خطای مجاز آزمایش مورد ارزیابی قرار داد که به دلیل گستردگی نتایج و آنالیزها در این مقاله به آن پرداخته نمی‌شود. ارزیابی عملکرد کیت‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین از طریق مطالعه مقایسه روش‌ها امکان‌پذیر می‌باشد(۷) که به شکل جامعی در این مقاله مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه و براساس آمار EQAP ، عملکرد کیت‌هایی مورد ارزیابی قرار گرفت که بیشترین کاربرد را در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ایران داشتند. این کیت‌ها شامل پارس آزمون، بیونیک، من، پیشتاز طب و آدیت بودند.

مواد و روشها

نحوه انجام آزمایش

کیت‌های پارس‌آزمون، پیشتاز طب، من، آدیت و بیونیک بر روی دستگاه هیتاچی ۹۱۲ با استفاده از کالیبراتور پیشنهادی تولیدکننده کیت‌های مربوطه نصب شدند. برای اطمینان از صحت کالیبراسیون دستگاه، قبل ازانجام آزمایش بر روی نمونه‌ها، در هر دور کاری تصدیق کالیبراسیون صورت گرفت. همچنین برای اطمینان از صحت عملکرد روش، در هر دور کاری از نمونه های کنترل در محدوده (نرمال) طبیعی و بالا استفاده شد.

میزان خطای مجاز

برای ارزیابی بالینی عملکرد قابل‌قبول روش‌های اندازه‌گیری از میزان خطای کل مجاز (TEa) تعیین‌شده توسط سازمان‌ها و یا مراجع بین‌المللی استفاده می‌شود. CLIA یکی از این مراجع است که میزان خطای کل مجاز روش اندازه گیری کراتی‌نین را ۱۵٪ تعیین کرده است و در این مقاله از آن استفاده شده است.

تعیین دقت درون-دور

دو نمونه کنترل طبیعی و با غلظت بالا به تعداد ۲۰ بار با هر کیت اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از روابط زیر میزان میانگین، انحراف معیار (SD) و درصد ضریب تغییرات (CV%) آنها محاسبه شد:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n} \quad ; \quad SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad ; \quad \%CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

میزان CV% به‌دست آمده با یک چهارم میزان خطای کل مجاز (TEa%) مقایسه شد.

تعیین حد آشکارسازی

برای ارزیابی قابلیت‌های آشکارسازی کیت‌ها، چهار پارامتر زیر برای هر کیت تعیین شد:

۱. حد بلانک (LoB) به عنوان میزان خوانش نمونه فاقد آنالیت:

$$LoB = Mean_B + 1/65 \text{ SD of Blank}$$

۲. حد آشکارسازی (LoD) به عنوان میزان خوانش نمونه دارای حداقل آنالیت و نه لزوماً با میزان خطای کل مجاز تعیین‌شده ۱۵٪:

$$LoD = LoB + 1/65 \text{ SD of blank}$$

۳. حساسیت عملکردی به عنوان حداقل میزان آنالیتی که آن را می‌توان با درصد ضریب تغییرات ۲۰ ٪ اندازه‌گیری کرد:

$$\%CV = \frac{SD}{FS} \times 100 \Rightarrow FS = \frac{SD}{\%CV} \times 100 \Rightarrow FS = \frac{SD}{20} \times 100$$

۴. حد تعیین‌مقدار (LoQ) به عنوان کمترین میزان آنالیتی که می‌توان آن را با خطای کل مجاز (TEa) ۱۵ ٪ قابل‌قبول اندازه‌گیری کرد:

$$LoQ = \frac{2\ SD}{\%\ TE_a} \times 100$$

آزمون خطی‌بودن

برای بررسی خطی‌بودن دامنه پیشنهادی قابل‌گزارش تولیدکننده روش، پنج نمونه ادرار رقیق‌شده و هر کدام پنج بار مورد آزمایش قرار گرفتند. درصد میزان انحراف (Dev%) از میزان هدف مورد انتظار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$Dev\% = \left(\frac{\text{Observed Value}}{\text{Target Value}} - 1\right) \times 100$$

میزان هدف نمونه اول براساس میزان اندازه‌گیری‌شده و میزان هدف نمونه‌های دیگر براساس فاکتور رقت محاسبه شدند.

میزان انحراف به دست آمده با میزان خطای مجاز تغییریافته (mTEa%) حاصل از ۵ بارآزمایش و میزان خطای کل مجاز ۱۵٪ پیشنهادی توسط CLIA مقایسه شد.

$$mTEa\% = \frac{2+\sqrt{n}}{3\times\sqrt{n}} \times TEa\%$$

$$mTEa\% = \frac{2+\sqrt{5}}{3\times\sqrt{5}} \times \%15 = \%9.5$$

مطالعه مقایسه روش‌ها

براساس معیارهای CLIA لازم است برای مطالعه مقایسه روش‌ها از ۴۰ تا ۱۰۰ نمونه بیمار با مقادیر آنالیت پایین، طبیعی و بالا استفاده شود. طی ماه‌های بهمن و اسفند سال ۱۳۹۴ با همکاری آزمایشگاه بیمارستان شریعتی و آزمایشگاه مسعود تهران، ۱۰۰ نمونه سرم و ادرار تازه جمع‌آوری‌شده با رعایت زنجیره سرد به‌صورت روزانه به آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک رصد منتقل شد. نمونه‌های ارسالی در ۲۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه‌ها نگهداری شدند. قبل از انجام آزمایش، این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق قرار داده شدند تا به‌خوبی مایع شوند.

هر کدام از نمونه‌های سرم به‌طور مستقیم و نمونه‌های ادرار بعد از تهیه رقت ۱ به ۵۰ به‌صورت دوتایی با هر کدام از پنج کیت مورد بررسی، اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری میزان کراتی‌نین هر نمونه با پنج کیت اشاره‌شده به‌طور همزمان در یک دور کاری و به‌صورت دوتایی انجام شد. برای آنالیزهای بعدی، از میانگین نتایج آزمایش‌های دوتایی بر روی هر نمونه استفاده شد. در صورتی که اختلاف دو نتیجه بیش از ۵٪ میانگین آنها بود، آزمایش برای بار سوم تکرار و از میانگین دو نتیجه نزدیکتر استفاده شد. همانند روش مورد استفاده در برنامه ارزیابی کیفیت خارجی (EQAP) (۹, ۱۰)، از میانگین نتایج به‌دست‌آمده برای هر نمونه با کیت‌های مختلف، به عنوان میزان هدف کراتی‌نین آن نمونه استفاده شد و سپس میانگین نتایج هر کیت با مقدار هدف مقایسه شد. برای این مقایسه، از آزمون t جفت‌شده، رگرسیون خطی، رگرسیون دمینگ و خطای کل مجاز استفاده شد. مقادیر شیب خط و تلاقی yای که در معادلات خط با ستاره مشخص شده‌اند، به ترتیب احتمال وجود خطای نظام‌مند نسبی و نظام‌مند ثابت را نشان می‌دهند.

یافته‌ها

مطالعه عدم‌دقت

جدول ۱ محاسبات مربوط به انجام ۲۰ بار آزمایش بر روی دو نمونه دارای غلظت طبیعی و غلظت بالا را برای پنج کیت مورد بررسی نشان می‌دهد. از آنجایی که CV% به‌دست‌آمده کمتر از ۳/۷۵ (یک چهارم خطای کل مجاز CLIA برای روش اندازه‌گیری کراتی‌نین) است، عدم دقت روش‌ها در غلظت‌های طبیعی و بالای کراتی‌نین سرم قابل‌قبول می‌باشد.

مطالعه قابلیت‌های آشکارسازی و خطی‌بودن

در جدول ۲ محاسبات مربوط به انجام ۲۰ بار آزمایش بر روی نمونه‌های بلانک و دارای حداقل آنالیت در جهت تعیین مقادیر LoB، LoD، FS و LoQ فهرست شده است. همچنین نتایج حاصل از مطالعه خطی‌بودن روش اندازه‌گیری به همراه دامنه قابل‌اندازه‌گیری ادعاشده توسط تولیدکننده کیت دراین جدول آورده شده است.

مطالعه مقایسه روش‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین سرم

دامنه مقادیر و میانگین مقادیر پنج کیت به همراه مقادیر مربوط به کل در جدول ۳ خلاصه شده‌اند. در این جدول همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین هر کدام از کیت‌ها با میانگین کل به طریق آماری با آزمون t جفت شده و به طریق بالینی با خطای کل مجاز ۱۵٪ آوره شده است.

در نمودار ۱ نمودارهای مربوط به آنالیز رگرسیون خطی نتایج کراتی‌نین سرم پنج کیت در مقایسه با میانگین کل نشان داده شده است. در مورد چهار کیت پارس آزمون، پیشتاز طب، آدیت و من به دلیل وجود ضریب همبستگی (r) بیش از ۰/۹۷۵ ، معادله خط قابل‌اعتماد است. در مورد نتایج کیت بیونیک این میزان کمتر بوده و به همین دلیل نتایج معادله خط حاصل از رگرسیون خطی نامعتبر بود و بنابراین از آنالیز رگرسیون دمینگ استفاده شد که نتایج آن در نمودار ۱ آورده شده است. مقادیر شیب خط و تلاقی yای که در معادلات خط با ستاره مشخص شده‌اند، به ترتیب احتمال وجود خطای نظام‌مند نسبی و نظام‌مند ثابت را نشان می‌دهند.

جدول ۱. نتایج حاصل از ۲۰ بار آزمایش بر روی نمونه با غلظت طبیعی و بالا

پارامتر آماری	پارس آزمون		پیشتاز طب		آدیت		من		بیونیک	
	طبیعی	بالا	طبیعی	بالا	طبیعی	بالا	طبیعی	بالا	طبیعی	بالا
میانگین (mg/dL)	۰/۸۸	۲/۵۱	۰/۷۳	۲/۸۵	۱/۰۶	۲/۷۸	۰/۸۲	۲/۳۱	۰/۹۸	۲/۶۳
انحراف معیار (mg/dL)	۰/۰۰۶	۰/۰۲۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۶	۰/۰۱۳	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰	۰/۰۳۱	۰/۰۱۷	۰/۰۲۶
ضریب تغییرات (CV%)	۰/۷	۱/۰	۱/۹	۰/۶	۱/۲	۰/۹	۱/۲	۱/۳	۱/۷	۱/۰

جدول ۲. نتایج حاصل از مطالعه قابلیت‌های آشکارسازی و حد بالای خطی‌بودن روش در مقایسه با دامنه اندازه‌گیری ادعاشده کیت

کیت	دامنه اندازه‌گیری ادعاشده (mg/dL)	قابلیت‌های آشکارسازی (mg/dL)				خطی‌بودن روش تا غلظت	
		LoB	LoD	FS	LoQ	۸ mg/dL	۱۶ mg/dL
پارس آزمون	۰/۲ تا ۸/۰	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۱۸	خیر	خیر
پیشتاز طب	۰/۱ تا ۱۰/۰	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۱۶	بلی	خیر
آدیت	صفر تا ۳۱/۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۶	۰/۳۲	بلی	بلی
من	۰/۳ تا ۱۵/۰	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۲۱	خیر	خیر
بیونیک	۰/۱ تا ۸/۰	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۲۴	بلی	انجام نشد

جدول ۳. نتایج حاصل از مقایسه آماری (آزمون t جفت‌شده) و بالینی (خطای کل مجاز ۱۵ ٪) میانگین حاصل از اندازه‌گیری کراتی‌نین نمونه‌های سرم هر کیت با میانگین کل در مطالعه مقایسه روش‌ها

کیت	دامنه مقادیر (mg/dL)	میانگین مقادیر (mg/dL)	مقایسه آماری (آزمون t جفت‌شده)	مقایسه بالینی (خطای کل مجاز ۱۵٪)
پارس آزمون	۰/۴۶ تا ۵/۷۳	۱/۳۰	اختلاف معنی‌دار	اختلاف معنی‌دار
پیشتاز طب	۰/۷۳ تا ۶/۲۰	۱/۳۱	اختلاف معنی‌دار	اختلاف معنی‌دار
آدیت	۰/۸۹ تا ۵/۹۳	۱/۵۱	اختلاف معنی‌دار	اختلاف معنی‌دار
من	۰/۶۹ تا ۶/۰۰	۱/۲۸	اختلاف معنی‌دار	اختلاف معنی‌دار
بیونیک	۱/۰۷ تا ۳/۴۸	۱/۵۳	اختلاف معنی دار	اختلاف معنی دار
کل	۰/۸۵ تا ۵/۴۷	۱/۳۹	-	-

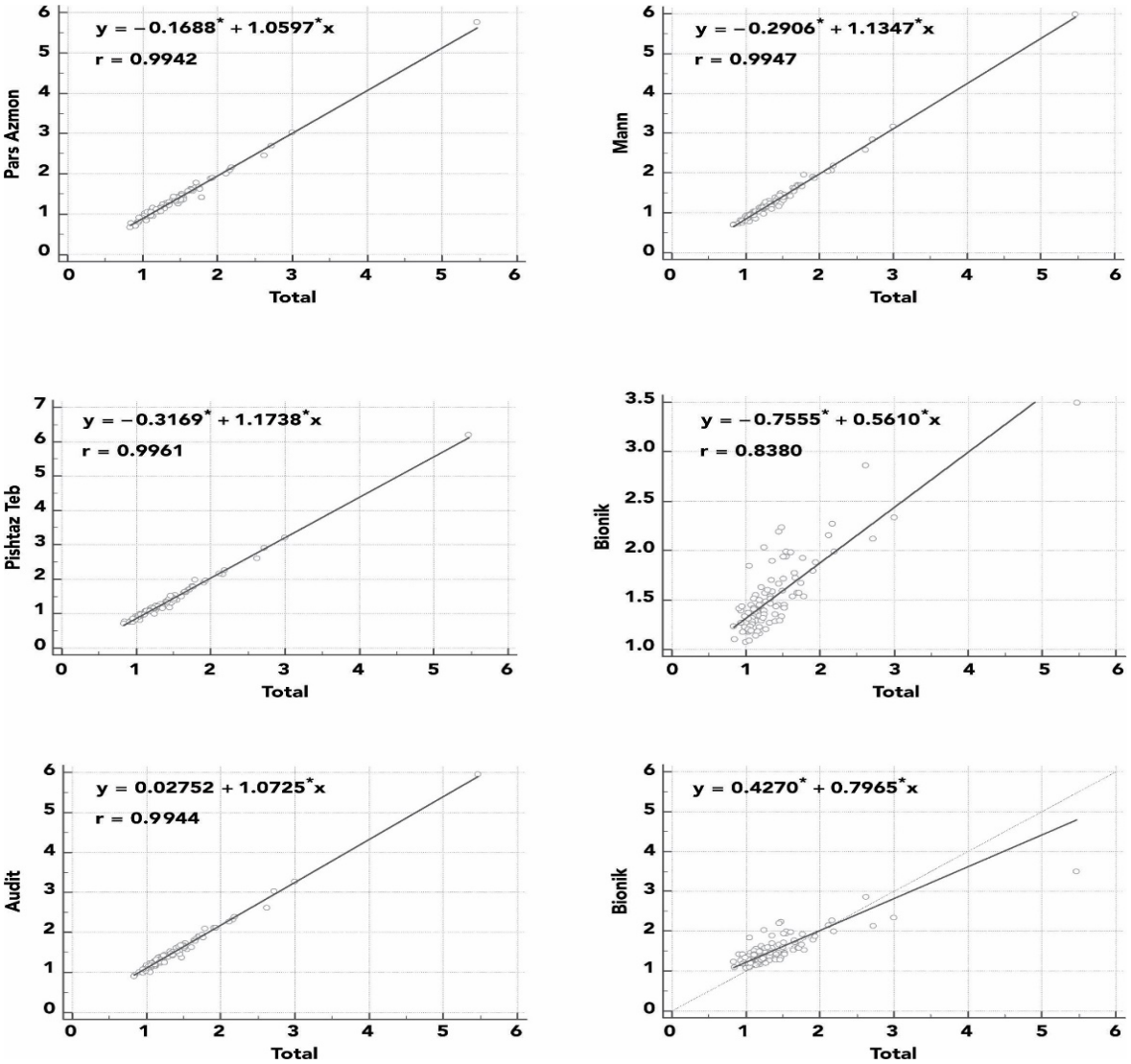
جدول ۴. نتایج حاصل از مقایسه آماری (آزمون t جفت‌شده) و بالینی (خطای کل مجاز ۱۵ ٪) میانگین حاصل از اندازه‌گیری کراتی‌نین نمونه‌های ادرار هر کیت با میانگین کل در مطالعه مقایسه روش‌ها

کیت	دامنه مقادیر (mg/dL)	میانگین مقادیر (mg/dL)	مقایسه آماری (آزمون t جفت‌شده)	مقایسه بالینی (خطای کل مجاز ۱۵٪)
پارس آزمون	۰/۵۴ تا ۵/۵۶	۱/۹۳	اختلاف معنی‌دار	اختلاف غیرمعنی‌دار
پیشتاز طب	۰/۵۶ تا ۵/۵۱	۲/۱۴	اختلاف معنی‌دار	اختلاف معنی‌دار
آدیت	۰/۵۲ تا ۵/۱۰	۱/۸۹	اختلاف معنی‌دار	اختلاف غیرمعنی‌دار
من	۰/۵۱ تا ۵/۱۸	۱/۹۵	اختلاف معنی‌دار	اختلاف غیرمعنی‌دار
بیونیک	۰/۲۰ تا ۲/۵۱	۱/۹۴	اختلاف معنی دار	اختلاف معنی دار
کل	۰/۵۳ تا ۵/۳۴	۱/۹۸	-	-

مطالعه مقایسه روش‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین ادرار

دامنه مقادیر و میانگین مقادیر پنج کیت به همراه مقادیر مربوط به کل در جدول ۴ خلاصه شده‌اند. در این جدول همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین هر کدام از کیت‌ها با میانگین کل به طریق آماری با آزمون t جفت‌شده و به طریق بالینی با خطای کل مجاز ۱۵٪ آورده شده است.

در نمودار ۲ نمودارهای مربوط به آنالیز رگرسیون خطی نتایج کراتی‌نین سرم پنج کیت در مقایسه با میانگین کل نشان داده شده است. در هر پنج کیت پارس آزمون، پیشتاز طب، آدیت و من به دلیل وجود ضریب همبستگی (r) بیش از ۰/۹۷۵، معادله خط قابل‌اعتماد است. مقادیر شیب خط و تلاقی yای



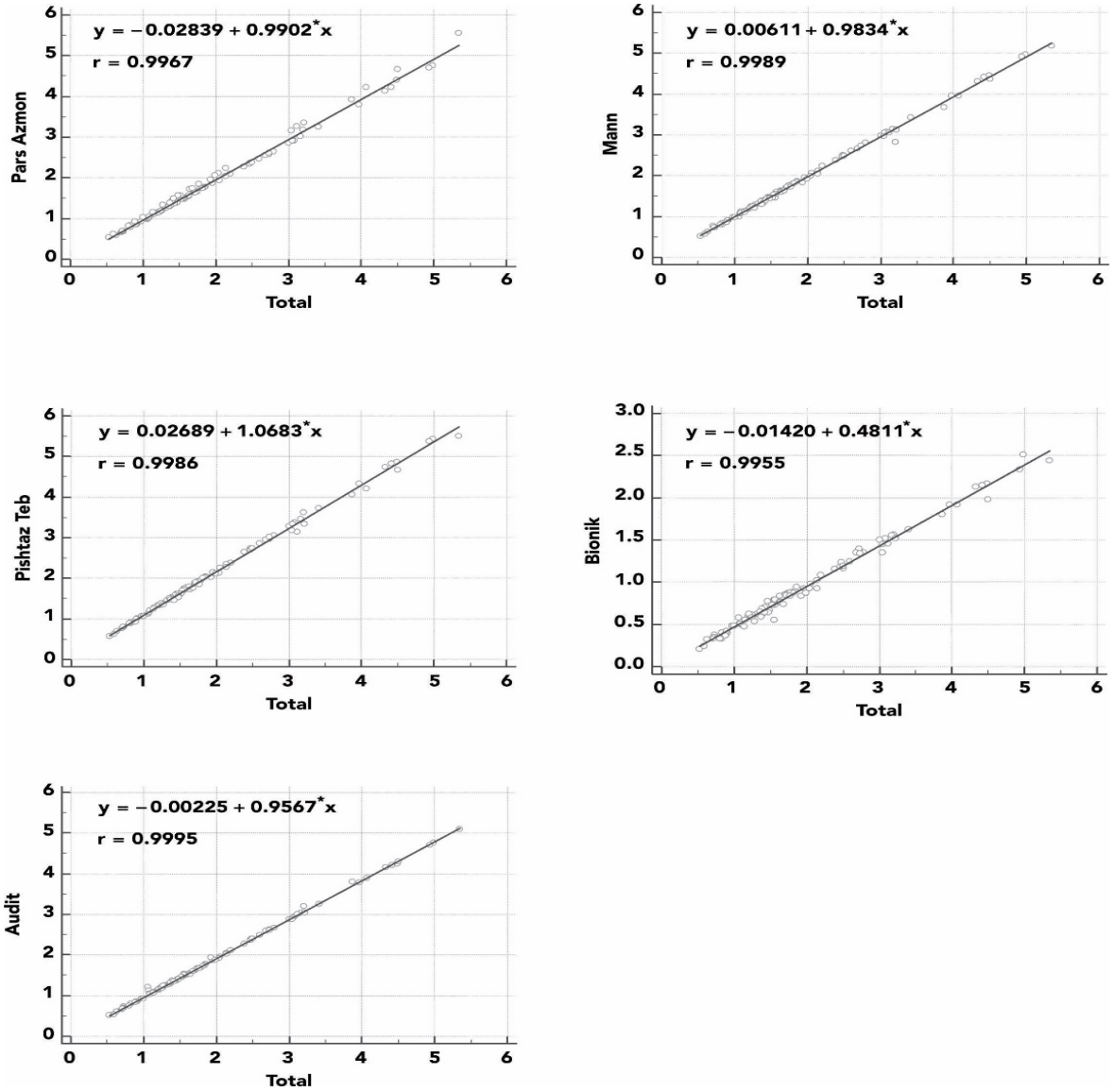
نمودار ۱. آنالیز رگرسیون خطی نتایج کراتی‌نین سرم کیت‌های پارس آزمون، پیشتاز طب، آدیت، من و بیونیک در مقایسه با نتایج کل به همراه آنالیز رگرسیون دمینگ نتایج کراتی‌نین کیت بیونیک در مقایسه با نتایج کل (پایین سمت راست). در معادله خط، ستاره‌ها وجود خطای نظام‌مند ثابت (عدد ثابت یا محل تلاقی با y) معنی‌دار و خطای نظام‌مند نسبی (ضریب x یا شیب خط) معنی‌دار را نشان می‌دهند.

که در معادلات خط با ستاره مشخص‌شده‌اند، به ترتیب احتمال وجود خطای نظام‌مند نسبی و نظام‌مند ثابت را نشان می‌دهند.

بحث

نتایج مربوط به مطالعه عدم دقت کیت‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین نشان دادند که عدم‌دقت در هر دو دامنه مقادیر طبیعی و بالا قابل‌قبول می‌باشد. مقادیر CV% بدست‌آمده (حداکثر ۱/۷٪) به مراتب کمتر از مقادیر CV% گزارش‌شده (حدود ۵/۵٪) است (۴). همچنین مطالعه قابلیت‌های آشکارسازی کیت‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین نشان دادند که قابلیت آشکارسازی این کیت‌ها مناسب است. در مطالعه دامنه خطی‌بودن روش، به غیر از نتایج مربوط به دو کیت آدیت و بیونیک که در دامنه ادعاشده عملکرد قابل‌قبولی داشتند، عملکرد سه کیت پارس آزمون، پیشتاز طب و من، به‌خصوص در مقادیر بالا، نامناسب بود و مقادیر را بیش از میزان واقعی نشان دادند.

میانگین نتایج هر پنج کیت در مورد نمونه‌های سرم از هر دو نظر آماری و بالینی و در مورد نمونه‌های ادرار از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نسبت به میانگین کل نشان دادند؛ گرچه از نظر بالینی، فقط کیت‌های پیشتاز طب و بیونیک این



نمودار ۲. آنالیز رگرسیون خطی نتایج کراتی‌نین ادرار کیت‌های پارس آزمون، پیشتاز طب، آدیت، من و بیونیک در مقایسه با نتایج کل. در معادله خط، ستاره‌ها وجود خطای نظام‌مند ثابت (عدد ثابت یا محل تلاقی با y) معنی‌دار و خطای نظام‌مند نسبی (ضریب x یا شیب خط) معنی‌دار را نشان می‌دهند.

اختلاف را نشان دادند. و همین موضوع در مورد نمونه‌های ادرار برای کیت‌های پیشتاز طب و بیونیک مشاهده شد. اختلاف نتایج نمونه‌های ادرار با کیت بیونیک در مقایسه با سایر کیت‌ها بسیار زیاد (تقریباً نصف مقادیر سایر کیت‌ها) بود، گرچه این موضوع در مورد نمونه‌های سرم مشاهده نشد. لذا احتمالاً این اختلاف قابل‌توجه مربوط به ماتریکس (زمینه) متفاوت نمونه ادرار در مقایسه با نمونه سرم می‌باشد که ممکن است کیت بیونیک به‌خوبی با آن سازگار نباشد. معادلات رگرسیون موارد وجود خطای نظام‌مند نسبی، نظام‌مند ثابت و یا هر دو را نشان دادند.

این مطالعه اولین مطالعه ارزیابی کیت‌های مختلف اندازه‌گیری کراتی‌نین سرم با این گستردگی در ایران است. در سطح جهان مطالعات متعددی در این خصوص صورت گرفته است که از نظر نحوه انجام اختلافاتی با مطالعه ما داشته‌اند. هرچند، تقریباً در تمامی موارد مشکلات تکنیکی اندازه‌گیری کراتی‌نین به روش ژافه و ضرورت جایگزینی این روش‌ها با روش‌های

آنزیمی اندازه‌گیری کراتی‌نین نشان داده شده است (۵, ۱۱, ۱۲).

در سال ۲۰۱۷، T. Kume و همکارانش با استفاده از دستگاه اتوآنالیزور آرشیتکت c16000 دو روش ژافه و آنزیمی از نظر حد آشکارسازی (LoD)، حد تعیین‌مقدار (LoQ)، خطی‌بودن، دقت درون-دور و بین-دور، و مقایسه نتایج مربوط به نمونه‌های سرم و ادرار را انجام دادند(۱۳). در این مطالعه، میزان LoD برای نمونه سرمی با هر دو روش برابر mg/dL ۰/۱ و برای نمونه ادرار با روش‌های ژافه و آنزیمی به ترتیب برابر ۰/۲۵ و mg/dL ۰/۰۷ به دست آمد. از این نظر، نتایج بدست‌آمده در مطالعه ما مناسب‌تر (حداکثر mg/dL ۰/۰۴) بود. برخلاف مطالعه ما، هر دو روش تا mg/dL ۶۵ برای نمونه سرم و mg/dL ۲۶۰ برای نمونه ادرار خطی بودند. همانند مطالعه ما (به استثناء یک مورد مربوط به نتایج کراتی‌نین سرم روش بیونیک)، ضریب همبستگی نتایج مطالعه مقایسه روش‌ها بالا و بیش از ۰/۹۹ بود که همبسگی قابل‌قبول بین نتایج هر روش با میانگین نتایج کل را نشان می‌دهد. از طرف دیگر، در مقادیر روش ژافه، بخصوص در مقادیر پایین، بیش از روش آنزیمی بود. براین اساس این محققین نتیجه گرفتند که روش آنزیمی برای اندازه‌گیری مقادیر کم کراتی‌نین در نمونه سرم و ادرار مناسب‌تر از روش ژافه است (۱۳).

در سال ۲۰۱۵ مطالعه‌ای توسط L. Hoste و همکارانش بر روی ۲۶ دستگاه اندازه‌گیری کراتی‌نین انجام شد که متکی بر روش‌های ژافه و آنزیمی بودند (۵). در این مطالعه میزان CV%، تورش (bias) و خطای کل روش‌های مورد بررسی تعیین شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان خطا در مقادیر پایین کراتی‌نین قابل‌قبول نیست، ولی این میزان در مقادیر بالا کاهش می‌یابد. با این حال آنها ضرورت تحقیقات بیشتر برای ارتقاء همسان‌سازی روش‌های اندازه‌گیری کراتی‌نین و پیشگیری ار تفسیر اشتباه وضعیت بالینی بیمار را مطرح کردند (۵).

در سال ۲۰۱۲، N. Greenberg و همکارانش نتایج حاصل از مطالعه خصوصیات ۷ روش تجارتی اندازه‌گیری کراتی‌نین، شامل ۳ روش متکی بر واکنش ژافه و ۴ روش متکی بر روش آنزیمی، را گزارش کردند (۱۱). براساس این گزارش، هر دو روش متکی بر واکنش ژافه و آنزیمی خطای قابل‌توجهی را نسبت به روش مرجع رقیق‌سازی کروماتوگرافی گازی/ایزوتوپی/اسپکترومتری جرمی (ID-GC/MS) نشان دادند، ولی این خطا در مورد روش‌های متکی بر واکنش ژافه به مراتب بیشتر از روش‌های متکی بر واکنش آنزیمی بود (۱۱).

در یک مطالعه بین‌المللی که توسط گروه کاری استانداردسازی کراتی‌نین کنفدراسیون جوامع اروپایی شیمی بالینی انجام شد، تفاوت معنی‌داری بین نتایج اندازه‌گیری کراتی‌نین به روش ژافه نسبت به مقادیر هدف بدست آمد. در این بررسی درصد ضریب تغییرات بین-آزمایشگاهی از ۴/۳۷٪ تا ۸/۷۴٪ متفاوت بود. در این مطالعه بهترین نتایج با روش آنزیمی حاصل شد(۱۲).

کسب نتایج بهتر با استفاده از روش‌های آنزیمی در مقایسه با روش ژافه طی مطالعات متعدد دیگری نشان داده شده است. در سال ۲۰۱۲، L. Drion تغییرپذیری کمتر نتایج اندازه‌گیری کراتی‌نین سرم به روش آنزیمی را نسبت به روش ژافه را گزارش نمودند و استفاده از روش‌های آنزیمی برای مرحله‌بندی صحیح‌تر CKD را مناسب‌تر دانستند (۱۴). اخیراً P. Preeti و همکارانش نتایج حاصل از اندازه‌گیری کراتی‌نین در نمونه‌های سرم ایکتریک و همولیتیک را با استفاده از دو روش ژافه و آنزیمی مقایسه کردند که همراه با نتایج مناسب‌تر روش آنزیمی بوده است (۱۵).

با توجه به اهمیت فوق‌العاده نتایج آزمایش کراتی‌نین در غربالگری و پایش بیماری مزمن کلیه، استفاده از روش‌های دارای کمترین خطای اندازه‌گیری ضروری است. علی‌رغم تلاش‌های انجام‌شده برای ارتقاء کیفیت روش‌های متکی بر واکنش ژافه، این روش‌ها فاقد کارایی لازم هستند و لازم است توسط روش‌های آنزیمی اندازه‌گیری کراتی‌نین جایگزین شوند. از طرف دیگر، برای همسان‌سازی و استانداردسازی روش‌های اندازه‌گیری آزمایشگاه‌های مختلف لازم است این روش‌ها به‌طور پیوسته و در مقایسه با یک روش مرجع مورد ارزیابی قرار گیرند.

REFERENCES

1. Raghul M, Kannapiran M, Rao AM. Evaluation and applicability of predictive equations of the glomerular filtration rate in chronic kidney disease. Saudi J Kidney Dis Transpl 2012;23:827.

2. Krishnegowda A, Padmarajaiah N, Anantharaman S, Honnur K. Spectrophotometric assay of creatinine in human serum sample. Arab J Chem 2013.

3. Diamandopoulos A, Goudas P, Arvanitis A. Comparison of estimated creatinine clearance among five formulae (Cockroft–Gault, Jelliffe, Sanaka, simplified 4-variable MDRD and DAF) and the 24hours-urine-collection creatinine clearance. Hippokratia 2010;14:98.

4. Delanaye P, Cavalier E, Pottel H. Serum Creatinine: Not So Simple! Nephron 2017;136:302-8.

5. Hoste L, Deiteren K, Pottel H, Callewaert N, Martens F. Routine serum creatinine measurements: how well do we perform? BMC Nephrol 2015;16:21.

6. Killeen AA, Ashwood ER, Ventura CB, Styer P. Recent trends in performance and current state of creatinine assays. Arch Pathol Lab Med 2013;137:496-502.

7. Lumsden J. Laboratory test method validation. Rev Med Vet (Toulouse) 2000;151:623-30.

8. Stöckl D, Van Uytfanghe K, Van Aelst S, Thienpont LM. A statistical basis for harmonization of thyroid stimulating hormone immunoassays using a robust factor analysis model. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) 2014;52:965-72.

9. Mohammadi R, Norozi V. HbA1c Measurement: Comparison of Results of Five Commonly Used Kits in Iran. BPJ 2016;9:125-31.

10. Mohammadi R, Norozi V. HbA1c External Quality Assessment: Commutable vs Noncommutable Samples. BPJ 2016;9:163-8.

11. Greenberg N, Roberts WL, Bachmann LM, Wright EC, Dalton RN, Zakowski JJ, et al. Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principles. Clin Chem 2012;58:391-401.

12. Delanghe JR, Cobbaert C, Galteau M-M, Harmoinen A, Jansen R, Kruse R, 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;46:1319-25.

13. Küme T, Sağlam B, Ergon C, Sisman AR. Evaluation and comparison of Abbott Jaffe and enzymatic creatinine methods: Could the old method meet the new requirements? J Clin Lab Anal 2017;32.

14. Drion I, Cobbaert C, Groenier KH, Weykamp C, Bilo HJ, Wetzels JF, et al. Clinical evaluation of analytical variations in serum creatinine measurements: why laboratories should abandon Jaffe techniques. BMC Nephrol 2012;13:133.

15. Preeti P, Suresh JN. Estimation of Serum Creatinine by Routine Jaffé's Method and by Dry Chemistry in Icteric and Hemolytic Serum Samples. IJMRHS 2017;6:68-75.