

## De evaluatie van een kreatinine meting in volbloed met de NOVA 16 CRT analyser

T. BRUIN<sup>1</sup>, M. NIERSEN<sup>2</sup> en G.T. SANDERS<sup>1</sup>

Het bepalen van kreatinine gebeurt tot op heden in bloedplasma. De uitslag is daardoor niet direct bekend. In ons laboratorium is een kreatinine bepaling geëvalueerd waarbij kreatinine m.b.v. een biospecifieke elektrode in volbloed wordt gemeten. Hierdoor kan de uitslag veel sneller bekend zijn, hetgeen voordelen heeft voor de behandeling van de patiënt.

Bij de evaluatie van de NOVA 16 CRT zijn de lineariteit en imprecisie van de kreatinine-elektrode onderzocht. De lineariteit gemeten tussen 0 en 1000  $\mu\text{mol/l}$ , is goed. De meting in volbloed is vervolgens vergeleken met de enzymatische meting van kreatinine in plasma die is geïmplementeerd op de Hitachi 747. De totale imprecisie van de kreatinine bepaling is 7,6% bij 303  $\mu\text{mol/l}$ , 7,0 % bij 90,6  $\mu\text{mol/l}$  en 17,8 % bij 40,2  $\mu\text{mol/l}$ . De correlatie tussen de methoden is goed ( $r = 0,97$ ), ofschoon de NOVA 16 CRT systematisch lagere waarden geeft ( $Y = -1,4 + 0,90X$ ). Na toevoeging van dopamine is bij concentraties boven 500  $\mu\text{g/l}$  een interferentie van dopamine op de meting van kreatinine op de Hitachi 747 waarneembaar. Bij de NOVA 16 CRT is deze interferentie niet aanwezig. De kreatininebepaling met een biospecifieke elektrode op de NOVA 16 CRT voldoet niet aan het criterium voor een analytische CV onder de 2,4%, zoals aanbevolen op basis van intra-individuele variatie voor een kreatinine bepaling. Echter, als citobepaling op een decentrale locatie, bijv. op een intensive care, kan deze methode in volbloed een aanwinst zijn.

*Trefwoorden: kreatinine; elektrode; volbloed; imprecisie*

Sedert enige tijd bestaat de mogelijkheid om kreatinine in volbloed te meten m.b.v. een biospecifieke kreatinine elektrode (1). Met deze analyse in volbloed kan de uitslag van een kreatinine bepaling binnen enkele minuten bekend zijn, gelijktijdig met de spoedeisende bepalingen, zoals  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , glucose en bloedgasen. Het vervolgen van het kreatininegehalte bij behandeling van patiënten met een nierfunctiestoornis of bij acute aandoeningen (post-operatief, intensive care) gebeurt tot op heden in bloedplasma. De tijd tussen monstername en uitslag ligt in dat geval minimaal rond de 45 minuten. Een verkorting van de tijd tussen monstername en analyse van 45 minuten naar 10 minuten kan grote voordelen hebben voor diagnose

en behandeling van de patiënt. Ten aanzien van het meten in volbloed wordt door de meting van kreatinine een parameter voor de nierfunctie aan het pakket toegevoegd.

De NOVA 16-CRT is ontworpen als cito-chemie-analyser waarop natrium, kalium, chloride,  $\text{CO}_2$ , glucose, ureum, kreatinine en de hematocriet bepaald kunnen worden. Het bepalingssprincipe met de biosensor-elektrode is in principe gelijk aan de enzymatische bepaling van kreatinine. Op de membraan van de elektrode zijn 3 enzymen geïmmobiliseerd; kreatinase, kreatinase en sarcosine-oxidase. Kreatinine uit het monster diffundeert door de membraan waar kreatinine wordt omgezet in waterstofperoxide, hetgeen wordt gemeten d.m.v. de platina Clark-elektrode (1). Het doel van dit onderzoek is om de analytische kwaliteit van de kreatininemeting in volbloed op de NOVA 16 CRT analyser te evalueren en om deze methode te vergelijken met een kreatininebepaling zoals die gebruikt wordt voor de meting in bloedplasma.

### MATERIAAL en METHODEN

De NOVA 16 CRT is m.b.v. evaluatieprotocollen EP-5 en EP-6 van het National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) op reproduceerbaarheid, imprecisie en lineariteit getest. Hiervoor zijn 3 plasmapools gebruikt die verschillende concentraties kreatinine bevatten (respectievelijk 40,2  $\mu\text{mol/l}$ , 90,6  $\mu\text{mol/l}$  en 303  $\mu\text{mol/l}$ ). De pools zijn in porties ingevroren. Voor de vergelijking van de kreatinine-elektrode met de enzymatische methode (CREA plus, Roche/Boehringer Mannheim) op de Hitachi 747 zijn bloedgasmonsters genomen die nog minimaal 1,5 ml bloed bevatten en die niet ouder zijn dan 1 uur. Het kreatinine wordt gemeten met de NOVA-16 analyser in volbloed monsters (170  $\mu\text{l}$ ). De rest van het bloed is gedurende 5 min bij 12.000 x g gecentrifugeerd en het plasma verzameld. De kreatinineconcentratie in plasma is vervolgens zowel met de NOVA 16 CRT als met de Hitachi-747 geanalyseerd. De data zijn bewerkt volgens een algoritme zoals beschreven door Passing en Bablok (2).

Tevens is de invloed van de hematocriet op de uitslag van de kreatininebepaling op de NOVA 16 CRT onderzocht. Verschillende hematocrietniveaus zijn nabootst door verschillende hoeveelheden plasma aan een vaste hoeveelheid erythrocyten toe te voegen. De hematocriet varieert tussen 0,26 l/l en 0,80 l/l.

De invloed van dopamine op de kreatininemeting is onderzocht door aan volbloed of plasma dopamine toe voegen in concentraties oplopend tot 10 mg/l. De kreatinine concentratie is gemeten direct na toevoegen van dopamine en na 4 uur incubatie bij kamertemperatuur.

*Afdeling Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum<sup>1</sup>, Amsterdam en Menarini Benelux, Valkenswaard<sup>2</sup>*

Correspondentie: Dr. T. Bruin, Afdeling Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum, F1-216, Postbus 22660, 1100 DD Amsterdam.

Ingekomen: 11.01.99

**Tabel 1.** De imprecisie van de kreatinine-elektrode op de NOVA 16 CRT

| Kreatinine (mmol/l) | Within run CV (%) | Run to run CV (%) | Day to day CV (%) | Totaal NOVA CV (%) | Totaal H747 CV (%) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| 40,2                | 7,3               | 8,3               | 15,9              | 17,8               | 2,9                |
| 90,6                | 4,2               | 4,9               | 5,3               | 7,0                | 2,0                |
| 303                 | 2,1               | 6,3               | 5,9               | 7,6                | 2,0                |

## RESULTATEN en DISCUSSIE

De imprecisie van de kreatinine meting op de NOVA 16 CRT is onderzocht m.b.v. 3 verschillende concentraties kreatinine. De “within-run”-, “run to run”-, “day to day”- en totale imprecisie zijn berekend uit de metingen die tweemaal daags in duplo gedurende 20 dagen zijn verricht. De variatiecoëfficiënten voor de totale imprecisie variëren tussen 7,0% voor de middelhoge concentratie en 17,8% voor de lage concentratie (zie tabel 1). De grote variatie kan deels verklaard worden door de korte levensduur van de membranen voor de elektrode. Het vervangen van de membraan introduceert een duidelijk verschil in resultaten. De interval tussen het vervangen van de membraan varieert tussen 2 en 5 dagen, maar in het algemeen als de helling van de concentratiepotentiaalcurve van de elektrode te klein wordt. Bij sommige membranen neemt deze helling zeer snel af, hetgeen vooral in het lage detectiegebied een negatieve invloed heeft op de reproduceerbaarheid. De totale imprecisie voor de enzymatische kreatininemeting op de Hitachi 747 is ook berekend en in tabel 1 vermeld. Uit de resultaten blijkt dat de imprecisie van de NOVA 16 CRT groot is en niet voldoet aan de aanbevolen maximale variatie voor een kreatininebepaling ( $VC_{\text{analytisch}} < 0.5 \times VC_{\text{intra-individueel}}$ ) (3). Voor het kreatininegehalte in bloed is de intra-individuele variatiecoëfficiënt 4,8%, zodat de  $VC_{\text{analytisch}}$  2,4% zou moeten zijn, en de VC van de NOVA bij zowel lage als hoge kreatinineconcentraties komt daar ruimschoots boven.

De hematocriet heeft een effect op de meting van kreatinine in volbloed. De kreatinine concentratie neemt geleidelijk af als de hematocriet stijgt (zie tabel 2). De verklaring voor dit fenomeen kan mogelijk gezocht worden in een verminderde diffusie van kreatinine door het membraan, veroorzaakt door de toename van het aantal erythrocyten in het monster. Een verandering van hematocriet heeft geen invloed op de natrium- en chloridemeting, immers deze directe ISE-

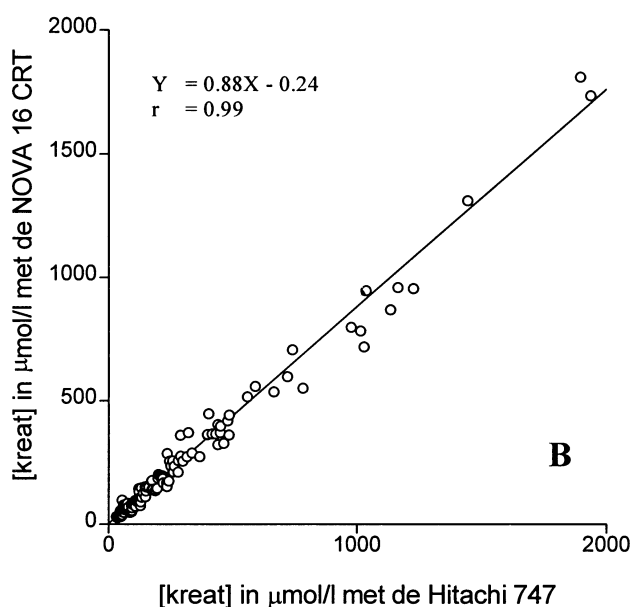
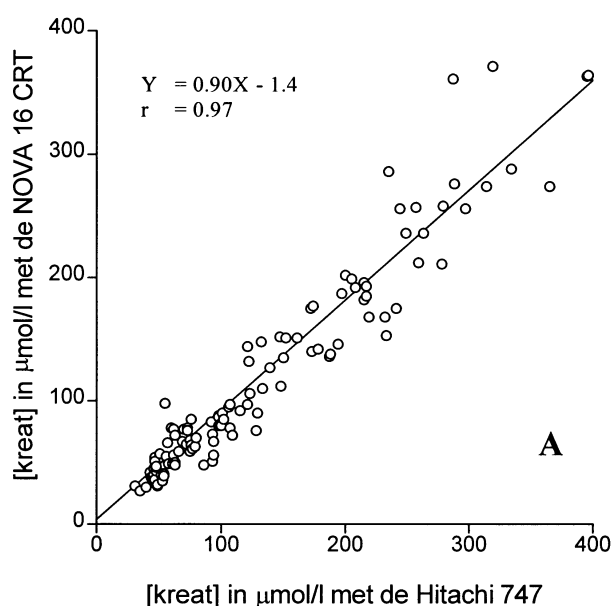
**Tabel 2.** De invloed van de hematocriet op de meting van kreatinine in volbloed

| Ht (l/l) | [kreat] (μmol/l) | [Na <sup>+</sup> ] (mmol/l) | [Cl <sup>-</sup> ] (mmol/l) |
|----------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0,26     | 76               | 140                         | 114                         |
| 0,30     | 77               | 142                         | 113                         |
| 0,42     | 75               | 140                         | 114                         |
| 0,55     | 71               | 140                         | 113                         |
| 0,66     | 69               | 140                         | 114                         |
| 0,75     | 67               | 140                         | 113                         |
| 0,80     | 65               | 139                         | 114                         |

metingen hebben geen last van het oplosmiddel-exclusie-effect (4).

De lineariteit van de kreatininemeting in volbloed is onderzocht tussen 0 en 1000 μmol/l.

De resultaten van de vergelijking tussen de routine kreatininebepaling in plasma (CREA plus) en de meting in volbloed met de NOVA 16 CRT staan weerge-

**Figuur 1.** Vergelijking van de meting van kreatinine met de NOVA 16 CRT in volbloed en de Hitachi 747 in plasma. Figuur 1 A: tot 400 μmol/l; figuur 1B: tot 2 mmol/l.

**Tabel 3.** De invloed van dopamine op de meting van kreatinine in  $\mu\text{mol/l}$ 

| Dopamine<br>mg/l | T = 0            |                |             | T = 4 uur        |                |             |
|------------------|------------------|----------------|-------------|------------------|----------------|-------------|
|                  | NOVA<br>volbloed | NOVA<br>plasma | Hitachi 747 | NOVA<br>volbloed | NOVA<br>plasma | Hitachi 747 |
| 0                | 145              | 155            | 162         | 155              | 142            | 145         |
| 0.5              | 143              | 154            | 157         | 144              | 143            | 143         |
| 1                | 143              | 155            | 141         | 140              | 148            | 144         |
| 5                | 141              | 153            | 124         | 141              | 152            | 117         |
| 10               | 146              | 153            | 92          | 142              | 151            | 99          |

geven in figuur 1. De vergelijking in volbloed is goed ( $r = 0,97$ ), alhoewel de NOVA systematisch lagere resultaten geeft ( $Y = -1,4 + 0,90X$ ) (figuur 1A). Ook bij kreatinineconcentraties tot  $2 \text{ mmol/l}$  is de correlatie goed ( $r = 0,99$ ) en de helling nagenoeg gelijk ( $Y = -0,2 + 0,88X$ ) (figuur 1B). Als de metingen met de NOVA 16 CRT in plasma worden verricht, zijn de resultaten tot  $500 \mu\text{mol/l}$  goed vergelijkbaar met die in volbloed ( $Y = 4,7 + 0,92X$ ,  $r = 0,97$ ). Bij metingen tot  $2 \text{ mmol/l}$  waren de afwijkingen wel wat groter ( $Y = 9,6 + 0,88X$ ,  $r = 0,99$ ).

Tenslotte is onderzoek verricht naar de interferentie van dopamine in de kreatininemeting. Dopamine wordt veel bij ernstig zieke patiënten met circulatiestoornissen gebruikt en kan een negatieve interferentie geven in biochemische tests waarin waterstofperoxide wordt gebruikt om een kleurreactie te geven (5). Dopamine kan door waterstofperoxide geoxideerd worden tot dopamine-o-quinon, waardoor een verbruik van waterstofperoxide ontstaat (6). Om dit te onderzoeken is dopamine in verschillende concentraties aan plasma en aan volbloed toegevoegd. De toevoeging van dopamine heeft geen invloed op de meting met de NOVA 16 CRT, terwijl in de homogene enzymatische assay op de Hitachi 747 duidelijk interferentie waarneembaar is vanaf  $500 \mu\text{g/l}$  (zie tabel 3). De concentratie dopamine die aanwezig kan zijn bij ondermeer IC-patiënten, ligt echter maximaal rond  $300 \mu\text{g/l}$ . In de praktijk zal deze interferentie dus waarschijnlijk niet optreden.

Samengevat is de meting van kreatinine in volbloed eenvoudig en snel te doen met de NOVA 16 CRT analyser. De analytische variatie van de kreatinine-elektrode is echter (nog) te groot om aan de aanbevolen variatie voor een kreatininemeting te voldoen. Wij hebben geen onderzoek gedaan naar de overige klinisch-chemische testen die op het apparaat gedaan kunnen worden, maar wij kunnen ons voorstellen dat dit instrument een plaats kan vinden op een intensive care afdeling of andere afdelingen waar men gebaat is bij een snelle uitslag van een aantal laboratoriumparameters. Voor de kreatinineconcentratie is de vraag die dan gesteld moet worden waar de prioriteiten liggen: bij een snelle maar minder betrouwbare uitslag, of bij een meer exacte uitslag die langer op zich laat wachten.

## Literatuur

1. Durst RA, Siggaard-Anderson O. Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders 1994; 178-182.
2. Passing H, Bablok WJ. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. part I. Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 709-720.
3. Fraser CG. Analytical goals for glucose analyses. Ann Clin Biochem 1986; 23: 379-389.
4. Tietz NW, Pruden EL, Siggaard-Andersen O. Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders 1994; 1362-1363.
5. Weber JA, Zanten AP van. Interferences in current methods for measurement of creatinine. Clin Chem 1991; 37: 695-700.
6. Karon BS, Daly TM, Scott MG. Mechanisms of dopamine and dobutamine interference in biochemical tests that use peroxide and peroxidase to generate chromophore. Clin Chem 1998; 44: 155-160.

## Summary

*The evaluation of a whole-blood creatinine assay on the NOVA 16 CRT analyser. Bruin T, Niers M en Sanders GT. Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 188-190.*

The determination of creatinine is until now being performed in bloodplasma. Consequently, the result is not immediately available. We evaluated a creatinine determination by a bio-specific electrode, measuring in whole blood. The fast result has advantages for treatment. Evaluating the NOVA 16 CRT we checked linearity and imprecision of the creatinine electrode. Linearity, measured between 0 and  $1000 \mu\text{mol/l}$ , is good. Next, the measurement in whole blood has been compared with an enzymatic creatinine determination in plasma. Total imprecision of the NOVA creatinine determination is 7.6 % at  $303 \mu\text{mol/l}$ , 7.0 % at  $90.6 \mu\text{mol/l}$  and 17.8 % at  $40.2 \mu\text{mol/l}$ . The correlation with the plasma method is good ( $r = 0,97$ ), although the results of the NOVA 16 CRT are systematically lower ( $Y = -1.4 + 0.90X$ ). Interference of dopamine is absent at a concentration up to  $500 \text{ mg/l}$ .

The creatinine method on the NOVA 16 CRT by use of a bio-specific electrode does not fulfill the criterium that the analytical CV should be below 2.4 %, derived from the intra-individual variation. However, as a stat determination at a decentral location, e.g. at an intensive care unit, this method may be useful.

*Key-words: creatinine; electrode; whole blood; imprecision*