

EFEITO DA CALIBRAÇÃO DA CREATININA SOBRE A ESTIMATIVA DA TAXA DE FILTRAÇÃO GLOMERULAR PELA EQUAÇÃO MDRD*EFFECT OF CREATININE ASSAY CALIBRATION ON GLOMERULAR FILTRATION RATE PREDICTION BY MDRD EQUATION*Débora Spessatto¹, Sandra Pinho Silveiro^{1,2}, Joíza Lins Camargo^{1,3}**RESUMO**

Introdução: A avaliação da função renal deve ser realizada através da estimativa da taxa de filtração glomerular (TFG) com a equação do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD), a qual inclui a idade, gênero, etnia e creatinina. No entanto, a medida da creatinina requer rastreabilidade com método padrão (equiparação) para sua calibração. **Objetivo:** Verificar o impacto da calibração da creatinina na TFG calculada pela fórmula do MDRD. **Métodos:** Foram analisadas 140 amostras de soro com creatinina <2,0 mg/dl pela reação de Jaffé com Creatinina Modular P (Roche ®; método A; calibrado) e pela Creatinina Advia 1650 (Bayer ®; método B; não calibrado). Os resultados obtidos foram comparados entre si e alinhados por fórmula de conversão. A TFG foi estimada através da fórmula do MDRD. **Resultados:** O método B teve resultados mais altos que o método A (1,03 ± 0,29 vs. 0,86 ± 0,32 mg/dl, P<0,001). Esta diferença diminuiu quando os resultados do método B foram alinhados ao método A através da equação $y=1,07x -0,249$, sendo os valores do método alinhado por regressão de $0,9 \pm 0,31$ mg/dl. O método não calibrado identificou 10% mais de casos de doença renal renal crônica (falso positivos). Essa discordância desaparece após o alinhamento. **Conclusão:** A calibração dos métodos de creatinina tem um impacto importante nos resultados finais de creatinina e TFG. O alinhamento de resultados não padronizados através de fórmulas de conversão pode ser uma alternativa para harmonizar os resultados de creatinina sérica enquanto programas internacionais de padronização não estiverem ainda totalmente implantados.

Unitermos: Taxa de filtração glomerular; TFG; creatinina sérica; *Modification of Diet in Renal Disease*; MDRD

ABSTRACT

Background: The evaluation of renal function should be performed with glomerular filtration rate (GFR) estimation employing the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equation, which includes age, gender, ethnicity and serum creatinine. However, creatinine methods require traceability with standardized methods. **Objective:** To analyse the impact of creatinine calibration on MDRD calculated GFR. **Methods:** 140 samples of plasma with creatinine values <2.0 mg/dl were analysed by Jaffé's reaction with Creatinina Modular P (Roche ®; method A; reference) and Creatinina Advia 1650 (Bayer ®; method B; non-standardized). The results with the different methods were compared and aligned with standardized method through a conversion formula. MDRD GFR was estimated. **Results:** Values were higher for method B (1.03 ± 0.29 vs. 0.86 ± 0.32 mg/dl, P<0.001). This difference declined when methods were aligned with the equation $y=1.07x -0.249$, and the aligned values were 0.9 ± 0.31 mg/dl. Non-traceable creatinine methods misclassified chronic kidney disease in 10% more (false positive). This disagreement disappeared after the regression alignment. **Conclusion:** Creatinine method calibration has a large impact over the final results of serum creatinine and GFR. The alignment of the non-standardized results through conversion formulas is a reasonable alternative to harmonize serum creatinine results while waiting for the full implementation of international standardization programs.

Keywords: Glomerular filtration rate; GFR; serum creatinine; *Modification of Diet in Renal Disease*; MDRD

Rev HCPA 2008;28(3):142-6

A avaliação da taxa de filtração glomerular (TFG) representa a melhor maneira de mensurar a função renal e deve ser usada no diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica (DRC) (1). A *National Kidney Foundation* (NKF), junto com o *National Kidney Disease Education Program* (NKDEP), definem DRC como dano renal ou uma TFG <60 ml/min/1,73 m² por no mínimo três meses (2). Recomendam ainda a classificação dos

estágios da gravidade da DRC baseada nos níveis de TFG: estágio 1 (>90 ml/min/1,73 m²), estágio 2 (60-89 ml/min/1,73 m²), estágio 3 (30-59 ml/min/1,73 m²), estágio 4 (15-29 ml/min/1,73 m²) e estágio 5 (<15 ml/min/1,73 m²) (3).

Os fatores de risco mais importantes para DRC incluem idade maior que 60 anos, hipertensão, diabetes melito, doença cardiovascular e história familiar de DRC. Esses indivíduos devem

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

2. Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

3. Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

E-mail: sandrasilveiro@terra.com.br

ter a função renal sistematicamente avaliada pela TFG (2).

Vários métodos para determinar a TFG têm sido descritos, tais como as depurações de inulina, ¹²⁵I-Iotalamato, ⁵¹Cr-EDTA e ioexol, que são laboriosos e complexos e, assim, não utilizados habitualmente na rotina (1). A creatinina sérica é o método mais empregado, mas apresenta limitações analíticas importantes, como a interferência de substâncias exógenas e endógenas na sua medida, além de apresentar baixa sensibilidade para detectar flutuações na função renal. Além disso, sofre influências decorrentes do gênero, idade e etnia, ocasionadas por variações da massa muscular e não por mudanças na função renal propriamente dita (4). Portanto, as diretrizes de nefrologia recomendam que ela seja incluída em fórmulas que levem em conta esses fatores. A equação desenvolvida pelo estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD), para adultos, é expressa como: TFG MDRD original (ml/min/1,73 m²) = 186 x (creatinina sérica)^{-1,154} x (idade)^{-0,203} x (0,742 se mulheres) x (1,210 se afro-descendente) (2). Vários estudos têm questionado o desempenho dessa equação e as diferenças na calibração da creatinina são um fator importante para uma performance não satisfatória.

A reação de Jaffé é a reação clássica para a determinação da creatinina, e é comumente usada nos laboratórios clínicos. No entanto, a não-especificidade da reação de Jaffé é bem relatada, e com esse método, a creatinina sérica pode ser superestimada em até 15-25% (4). Portanto, devido às variações interlaboratoriais e as diferenças nos métodos de medida da creatinina, esse analito requer rastreabilidade com método de referência para sua calibração, a fim de ser utilizado no cálculo da TFG. Falhas nesse processo podem gerar viés sistemático na TFG estimada. O NKDEP iniciou um programa de padronização da medida da creatinina para melhorar a qualidade dos resultados (5). O *National Institute of Standards and Technology* (NIST) disponibiliza material calibrado pelo método de referência de diluição isotópica seguida por espectrometria de massa (ID-MS) para a calibração da creatinina, sendo esse então considerado material rastreável (*traceable*).

Recentemente, a equação do estudo MDRD foi re-expressa baseada na utilização de valores de creatinina padronizados, sendo a nova equação MDRD: TFG MDRD re-expressa (ml/min/1,73 m²) = 175 x (creatinina sérica)^{-1,154} x (idade)^{-0,203} x (0,742 se mulheres) x (1,210 se afro-descendente) (6). A conscientização e adequação dos laboratórios clínicos para a padronização dos métodos de determinação da creatinina sérica são cruciais para a estimativa adequada da TFG e para aumentar a acurácia do diagnóstico da DRG.

O objetivo deste estudo foi verificar o impacto da calibração da creatinina na TFG calculada pelas fórmulas do MDRD em pacientes com função renal preservada ou com redução moderada.

MÉTODOS

Amostras

Foram analisadas 140 amostras de soro de pacientes atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), que deram entrada na Unidade de Bioquímica e Imunoensaios do Serviço de Patologia Clínica para dosagem de creatinina sérica. Para a inclusão das amostras foram selecionados pacientes maiores de 18 anos, de ambos os sexos, com creatinina sérica menor do que 2,0 mg/dl.

Métodos

A creatinina foi dosada por dois métodos utilizando a técnica da reação de Jaffé: Creatinina Modular P (Roche ®; método A, calibrado) e Creatinina Advia 1650 (Bayer ®; método B, não calibrado). O reagente proveniente da Roche Diagnostics ® é padronizado através do método de referência, ID-MS, recomendado pelo NKDEP (11) e foi utilizado como método comparativo, fornecendo resultados de creatinina padronizados.

Comparação dos métodos e alinhamento dos resultados não padronizado

Para alinharmos os resultados não-padronizados de creatinina, obtidos pelo método B, com resultados rastreáveis para método de referência ID-MS (método A), foi determinada uma fórmula de conversão, através de regressão Deming obtida pela comparação dos métodos A e B. Este alinhamento dos resultados de creatinina foi considerado, neste estudo, como Método C.

Estimativa da TFG pelas equações do MDRD

As TFGs foram calculadas para cada paciente utilizando as equações do MDRD, descritas anteriormente. Os valores de creatinina obtidos pelos métodos A e C foram empregados na equação MDRD padronizada (TFG MDRD re-expressa: TFG_{MDRDr}) e valores do método B na equação não-padronizada (TFG MDRD original: TFG_{MDRD0}).

Verificação da concordância nos estágios da classificação da doença renal

Conforme os valores de TFG obtidos pelos diferentes métodos, os pacientes foram classificados nos estágios da doença renal (4,13). A concordância dos métodos A, B e C na determinação destes estágios da doença renal foi avaliada.

Análise Estatística

Os dados das variáveis contínuas foram apresentados como média ± desvio padrão. A análise das diferenças entre os métodos A, B e C foi feita através dos gráficos de Bland – Altman e do teste t de Student pareado. Para a obtenção da

fórmula para alinhar os valores de creatinina não-padronizada, foram realizadas correlação de Pearson e regressão Deming entre os métodos A e B. A concordância diagnóstica dos métodos na classificação da gravidade da doença renal foi analisada pela estatística Kappa, onde kappa= 0 indica total discordância e kappa= 1 indica total concordância. O nível de 5% de significância foi utilizado. As análises foram realizadas usando o programa estatístico SPSS 14.0.

RESULTADOS

As 140 amostras de soro foram obtidas de um grupo com idade de 55 ± 17 anos, sendo 52% do sexo feminino, 12 da raça negra e 2 mistos. Os resultados de creatinina sérica e da TFG obtidos pelo método A, B e C estão descritos na Tabela 1. O método B apresentou uma excelente correlação com o método de referência adotado, o método A ($r = 0,956$; Figura 1). No entanto, houve uma diferença significativa (média das diferenças = $-0,17 \pm 0,09$ mg/dl) entre os resultados de creatinina obtidos pelo método A e B ($0,86 \pm 0,32$ vs. $1,03 \pm 0,29$ mg/dl, respectivamente; $P < 0,001$). Através da

regressão Deming, obtivemos uma fórmula de conversão ou alinhamento, expressa como $y = 1,07x - 0,249$, onde $y =$ método A (rastreadável) e $x =$ método B (não-rastreadável) (Figura 1), a partir da qual os valores de creatinina foram alinhados ao método padronizado, representados pelo método C ($0,90 \pm 0,31$ mg/dl). Não houve diferença entre os resultados obtidos pelo método A e C ($P > 0,05$).

A TFG calculada com as equações do MDRD apresentou valores mais altos para o método A ($93,9 \pm 47,0$ ml/min/1,73m²) e para o método C ($92,8 \pm 51,7$ ml/min/1,73m²), enquanto que para o método B observamos valores significativamente mais baixos ($75,0 \pm 27,5$ ml/min/1,73m²; $P < 0,001$). Quando avaliamos a concordância diagnóstica dos métodos B e C com o critério de referência adotado (método A), considerando os diferentes estágios da doença renal, observou-se uma concordância de 87% (kappa = 0,668) entre os métodos A e B. Quando o método C foi avaliado, houve uma concordância de 96% (kappa = 0,863) com o método A. Quando avaliada pela estatística Kappa, a concordância do método C foi considerada excelente, enquanto que a concordância do método B foi apenas moderada (Tabela 2).

Tabela 1 - Valores de creatinina e TFG estimada para os diferentes métodos de determinação de creatinina (n=140).

	Método		
	Padronizado (A)	Não padronizado (B)	Alinhado (C)
Creatinina (mg/dl)	$0,86 \pm 0,32$	$1,03 \pm 0,29^*$	$0,90 \pm 0,31$
TFG MDRD (ml/min/1,73 m²)	$93,9 \pm 47,0$	$75,0 \pm 27,5^*$	$92,8 \pm 51,7$

* $P < 0,001$

Tabela 2 - Classificação nos diferentes estágios da doença renal através da TFG estimada pela equação MDRD com os diferentes métodos de determinação da creatinina (n = 140).

TFG <60 ml/min/1,73m ²	
Padronizado (A)	30 (21%)
Não Padronizado (B)	42 (30%)
Alinhado (C)	26 (18,5%)

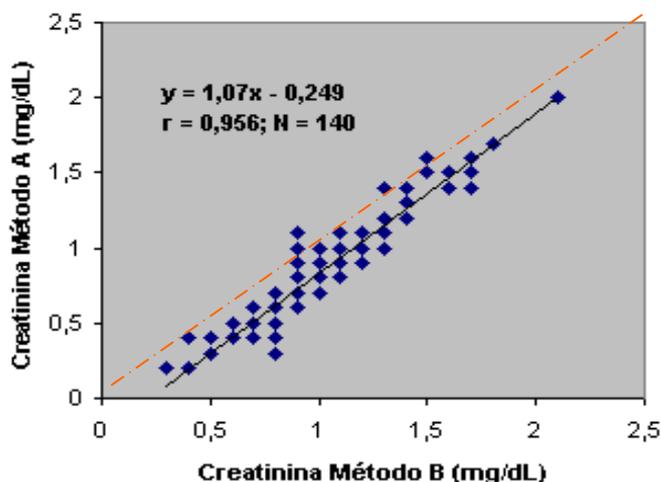


Figura 1 - Correlação e regressão dos métodos A e B para determinação da creatinina sérica. A linha pontilhada representa a linha de igualdade, onde $Y = X$.

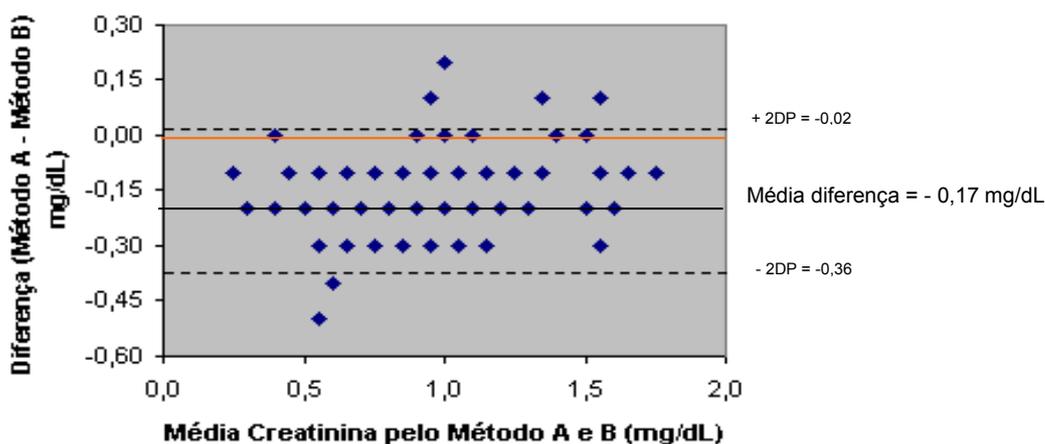


Figura 2 - Limites de concordância (média \pm 2 DP) do método A (calibrado) e B (não calibrado).

DISCUSSÃO

Neste estudo observou-se uma superestimativa de cerca de 20% no valor da creatinina sérica utilizando-se método Jaffé não rastreável (método B), quando comparado ao método A, que é o método Jaffé rastreável, calibrado com método de referência. A reação de Jaffé é a reação clássica para a determinação da creatinina, e é comumente usada nos laboratórios clínicos. O método consiste em uma reação da creatinina com o ácido pícrico em solução alcalina,

formando um composto amarelo intenso. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração de creatinina da amostra. A não-especificidade da reação de Jaffé é bem relatada, e com esse método, a creatinina sérica, é superestimada em até 15-25% devido a presença de constituintes interferentes na reação, principalmente proteínas séricas. Essa interferência é proporcionalmente maior nas faixas de normalidade ou de pequena elevação da creatinina em relação a níveis mais elevados, onde a interferência não é tão significativa (7). Entre as

substâncias que afetam analiticamente os níveis de creatinina, encontramos fatores e drogas com interferências positivas (falso aumento) como glicose, ascorbato, ácido úrico, acetoacetato, piruvato, cetoácidos ou cefalosporinas (4). Por outro lado, concentrações elevadas de bilirrubina, reduzem substancialmente o valor da creatinina. Estes achados, também se refletem na comparação dos resultados das TFG calculadas pela fórmula do MDRD. Observou-se uma subestimativa de 20% na TFG calculada com creatininas dosadas pelo método não padronizado B quando comparado à TFG estimada pelo método padronizado A ($75,0 \pm 27,5$ vs. $93,9 \pm 47,0$ ml/min/1,73 m²). Esses achados também têm sido descritos por outros autores, o que tem gerado a preocupação e busca de padronização internacional dos métodos de creatinina (8). Essa diferença nos valores calculados de TFG pode inclusive influenciar a classificação do indivíduos dentro das categorias propostas pelas diretrizes de nefrologia para estadiamento de doença renal (3). Assim, com o método A, 21% dos pacientes apresentaram TFG estimada <60ml/min/1,73 m², classificando-se no estágio 3 pela NKF (3) e no método B, 30% dos pacientes passam a situar-se neste estágio. Portanto, 15 pacientes (11%), dos 140 pacientes estudados, mudam de estágio conforme a classificação da doença renal. O NKDEP atualmente recomenda que os laboratórios clínicos utilizem métodos de ensaios de creatinina que sejam calibrados pelo método de referência, a espectrometria de massa, para que haja uma padronização destes resultados, tornando a estimativa da TFG pela equação do MDRD mais acurada e reprodutível. Também é recomendado que os resultados de TFG calculada sejam expressos nos laudos sempre que for solicitada a dosagem de creatinina sérica (9,10). Iniciativas internacionais pretendem garantir a calibração dos ensaios de creatinina a partir dos próprios fornecedores, através de material calibrado pelo método de referência (ID-MS) pelo NIST. Enquanto este programa de calibração internacional não estiver totalmente implantado, os laboratórios clínicos podem alinhar os resultados de creatinina sérica, obtidos por métodos não padronizados, através de fórmulas de conversão, como a utilizada neste estudo, para garantir a harmonização dos resultados de creatinina sérica. Esses cuidados são fundamentais, já que tem sido observado que ainda que se empreguem métodos calibrados de creatinina ocorre uma substancial subestimativa da TFG, sugerindo ajustes adicionais à fórmula (11,12).

Em conclusão, este estudo mostra que a calibração do ensaio da creatinina altera significativamente os resultados finais de creatinina sérica, e que este impacto é bastante significativo nos valores baixos do analito (até 2,0 mg/dl), espelhando-se nos cálculos de TFG com fórmulas.

No HCPA, desde o ano de 2005 já vem sendo empregado método de Jaffé com kit calibrado.

REFERÊNCIAS

1. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function - measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med.* 2006; 354(23):2473-83.
2. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification. *Ann Intern Med.* 2003; 139:137-47.
3. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rssert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from kidney disease:Improving Global Out-comes (KDIGO). *Kidney Int.* 2005; 67:2089-100.
4. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* 1992; 38: 1933-53.
5. Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang Y, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the Modification of Diet in Renal Disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006;145:247-55.
6. Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek JW, Lent FV. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem.* 2007; 53:4 766-72.
7. Prigent A: Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Sem Nucl Med.* 2008;38:32-46.
8. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T 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; 52:1 5-18.
9. Levey AS, Stevens LA, Hostetter T: Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate - Just what the doctor ordered. *Clin Chem.* 2006; 52: 2188-93.
10. Panteghini M, Myers G L, Miller W G, Greenberg N: The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin Chem.* 2006; 44:1287-92.
11. Soares AA. Desempenho da taxa de filtração glomerular estimada pelas fórmulas do estudo MDRD e equação quadrática Mayo em adultos saudáveis [dissertação]. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
12. Vassalotti JA, Stevens LA, Levey AS. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis.* 2007; 50:169-80.

Recebido: 08/11/2008

Aceito:02/12/2008