

# **Metoder til vurdering af nyrefunktion og proteinuri**

**Juni 2009**

## Indholdsfortegnelse

Indholdsfortegnelse .....	2
Indledning .....	4
Overordnede rekommandationer til vurdering af nyrefunktion .....	5
Kronisk nyreinsufficiens .....	5
Akut nyreinsufficiens .....	5
Kliniske konsekvenser af eGFR .....	6
Alment om bestemmelse af nyrefunktion .....	7
Nyrenes funktioner .....	7
Bestemmelse af GFR .....	7
Referenceområde for GFR .....	7
Rekommandationer .....	8
Nyreinsufficiens .....	9
De enkelte metoder til bestemmelse af nyrefunktion .....	10
Bestemmelse af nyrefunktion med eksogene markører .....	10
Princip .....	10
Markører .....	10
Plasmaclearance .....	10
Beregninger .....	10
Besvarelse .....	11
Fejlkilder .....	11
Kliniske indikationer .....	11
Rekommandationer .....	12
Bestemmelse af nyrefunktion baseret på kreatinin .....	13
Rationalet bag anvendelse af kreatininmålinger til vurdering af nyrefunktion .....	13
Kreatininclearance som mål for GFR .....	13
Fejlkilder ved anvendelse af kreatininclearance som mål for GFR .....	13
P-kreatinin som mål for GFR .....	14
Fejlkilde ved anvendelse af P-kreatinin som mål for GFR: .....	14
Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR) .....	15
Formler til beregning af eGFR .....	15
MDRD-formlen .....	15
MDRD-formlens anvendelse .....	16
Børn .....	17
Analysemetoder til bestemmelse af P-kreatinin og U-kreatinin .....	17
Kemisk analyseprincip .....	17
Enzymatisk analyseprincip .....	17
HPLC .....	18
Standardisering .....	18
Bias og imprecision .....	18
Referenceintervaller .....	19
P-kreatinin .....	19
Kreatininclearance .....	19
Rekommandationer .....	19
Bestemmelse af nyrefunktion baseret på cystatin C .....	20
Rationalet bag anvendelse af cystatin C målinger til vurdering af nyrefunktion .....	20
Cystatin C som markør for nyrefunktionen .....	20

Analysemetoder til bestemmelse af cystatin C .....	20
Standardisering.....	21
Biologisk variation.....	21
Referenceintervaller .....	21
Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR) .....	22
Fejlkilder ved anvendelse af P-cystatin C som mål for GFR.....	22
Rekommandationer .....	23
Bestemmelse af nyrefunktion baseret på karbamid .....	24
Plasma karbamid.....	24
Målt renal clearance af karbamid.....	24
Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR) .....	24
Rekommandationer .....	24
Afsluttende kommentarer til vurdering af nyrefunktion .....	25
Overordnede rekommandationer til vurdering af proteinuri/albuminuri .....	26
Alment om proteinuri/albuminuri .....	27
Fysiologi.....	27
Klinisk betydning.....	27
Proteinuri eller albuminuri .....	28
Referenceområde for proteinuri/albuminuri .....	28
Døgnurin eller spoturin .....	28
Kontrol af nyresygdom .....	30
Rekommandationer .....	30
Metoder til bestemmelse af proteinuri/albuminuri.....	31
Point of care test (POCT).....	31
Stix .....	31
<i>U-albumin</i> .....	31
<i>U-protein</i> .....	31
Testudstyr.....	31
<i>U-albumin og U-kreatinin</i> .....	31
Laboratoriemetoder .....	32
<i>U-albumin</i> .....	32
<i>U-protein</i> .....	32
Kvalitetskrav .....	32
<i>U-albumin</i> .....	32
<i>Vurdering</i> .....	32
Prøvemateriale .....	33
Holdbarhed.....	33
Fejlkilder .....	33
Rekommandationer .....	33
Algoritme til screening for albuminuri .....	34
Afsluttende kommentarer til vurdering af proteinuri .....	35
Referenceliste.....	36

## Indledning

Denne rapport er udarbejdet på foranledning af Dansk Selskab for Klinisk Biokemi og Dansk Nefrologisk Selskab, som har ønsket udarbejdelse af guidelines til vurdering af:

- Nyrefunktion
- Proteinuri/albuminuri, herunder mikroalbuminuri

Rapporten er opdelt i to afsnit svarende til de to hovedområder. Det har været formålet, at beskrive fordele og ulemper ved de foreliggende metoder til bestemmelse af nyrefunktion og proteinuri, samt at udarbejde anbefalinger til metodernes kliniske anvendelse. De to hovedafsnit er opdelt i flere underafsnit, som alle afsluttes med en række rekommandationer om det beskrevne område. Begge hovedafsnit indledes med et sæt overordnede rekommandationer for hovedafsnittet, baseret på underafsnittenes rekommandationer. Nyrefunktionsafsnittets indledende rekommandationer indeholder også et forslag til kliniske konsekvenser af rekommandationerne. Vurdering af nyrefunktion ved akut nyreinsufficiens er kort omtalt, men arbejdets hovedvægt ligger på vurdering af nyrefunktion ved kronisk nyreinsufficiens. De to selskaber ser gerne en harmonisering på landsplan af rekommandationer indenfor de to hovedområder.

Arbejdsgruppen har på baggrund af det opstillede kommissorium besluttet:

- Der opstilles kun anbefalinger for voksne, men børn kan omtales.
- Søgestrategien har primært været reviews og guidelines, da gennemgang af samtlige relevante originalarbejder ikke har været muligt indenfor de tidsmæssige rammer.

Arbejdsgruppen har bestået af:

Reservelæge, dr.med. Henrik Birn, Nyremedicinsk afd. C, Århus Universitetshospital, Skejby  
Overlæge dr.med. Søren Ladefoged, Klinisk Biokemisk afd., Århus Universitetshospital, Århus Sygehus

Overlæge ph.d. Else Randers, Medicinsk afd., Regionshospitalet Viborg

Ledende overlæge, dr.med. Michael Rehling, Afdelingen for Klinisk Fysiologi og Nuklearmedicin, Århus Universitetshospital, Skejby

Kemiker, cand. pharm, Birgitte Reinholdt, Klinisk Biokemisk afd., Vejle Sygehus - en del af Sygehus Lillebælt

Overlæge, dr.med. Peter Rossing, Steno Diabetes Center

\*Overlæge, dr.med. Ulrik Gerdes, Klinisk Biokemisk Laboratorium, Århus Universitetshospital, Risskov

Overlæge, ph.d. Lars Juhl Petersen, Nefrologisk afd. B, Herlev Hospital (Formand for arbejdsgruppen)

\*Ulrik Gerdes har kun haft mulighed for at deltage i gruppens indledende arbejde.

## Overordnede rekommandationer til vurdering af nyrefunktion

### *Kronisk nyreinsufficiens*

- Laboratorierne bør altid rapportere en estimeret GFR (eGFR) sammen med et P-kreatinin svar på patienter > 18 år.
- eGFR bør beregnes med den forkortede 4-variable MDRD formel uden racekorrektion (forudsætter stabilt P-kreatinin).
- eGFR skal rapporteres som den numeriske værdi ved  $eGFR < \text{end } 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , ved værdier over 90 som ” $GFR \geq 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ”.
- Rapportering af eGFR anbefales ledsaget af en aktionsgrænse ( $\geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) frem for et referenceinterval.
- Bestemmelse af P-kreatinin skal foretages med en analysemetode, som er sporbar til en anerkendte referencemetode (isotop dilution mass spectometry, IDMS).
- P-kreatinin skal analyseres med enzymatisk metode eller en metode som er korrigeret for interfererende substanser f.eks. ved kalibrering med plasmabaseret kreatininfri 0-punktskalibrator.
- Laboratorierne skal overholde internationale retningslinier for analytisk imprecision og bias for P-kreatinin.
- Ved behov for bestemmelse af GFR med højeste præcision anbefales anvendelse af plasma clearance af  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  eller  $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ .
- Der kan endnu ikke anbefales brug af eGFR bestemt ud fra P-cystatin C til klinisk arbejde.
- P-karbamid kan ikke anbefales som markør for GFR.

### *Akut nyreinsufficiens*

- Der anvendes surrogat parametre som
  - Døgnurinvolumen
  - Ændringer i døgnurinvolumen
  - P-kreatinin og P-karbamid niveau
  - Ændringer i P-kreatinin og P-karbamid
  - U-kreatinin
- Der anbefales bestemmelse af kreatininclearance i døgnurin, hvis patienten har blærekateter
- Der er ikke indikation for bestemmelse af GFR med høj præcision

## Kliniske konsekvenser af eGFR

- **eGFR  $\geq$  60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>**
  - Henvisning til nefrolog er kun påkrævet, hvis særlige hensyn taler herfor f.eks. proteinuri  $>$  1 gr/døgn eller kombination af proteinuri og hæmaturi
  - Mikroalbuminuri
    - Diabetes, henvises til endokrinolog.
    - Ikke-diabetes, ingen henvisning, da der ikke foreligger dokumenteret behandlingseffekt. Der anbefales dog god kontrol af kardiovaskulære risikofaktorer i almen praksis, da denne patientgruppe har dokumenteret forøget kardiovaskulær risiko.
  - Hæmaturi, bør initialt henvises til urologisk udredning.
  - Patienter uden tegn på nyreskade<sup>1</sup> betragtes som nyreraske.
- **eGFR 50-59 ml/min/1,73m<sup>2</sup>**
  - Ved nyopdaget reduceret eGFR gentages undersøgelsen inden for ca. 2 uger mhp verifikation af reduceret eGFR
  - Verificeret eGFR i intervallet 50-59 ml/min/1,73m<sup>2</sup>
    - Gentag eGFR minimum tre gange over mindst tre måneder for at vurdere progression
    - eGFR gentages herefter mindst årligt
    - Der henvises til nefrolog ved en af følgende tilstande:
      - Ved fald i eGFR  $>$  5 ml/min/1,73m<sup>2</sup>/12 måneder
      - Proteinuri  $>$  1 gr/døgn eller kombination af proteinuri og hæmaturi
  - Mikroalbuminuri og hæmaturi håndteres som ved eGFR  $\geq$  60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>
- **eGFR 40-49 ml/min/1,73m<sup>2</sup>**
  - Alder  $<$  70 år henvises til nefrolog.
  - Alder  $\geq$  70 år:
    - eGFR verificeres som ved eGFR 50-59 ml/min/1,73m<sup>2</sup>
    - Der henvises til nefrolog ved en af nedenstående tilstande:
      - Ved fald i eGFR  $>$  5 ml/min/1,73m<sup>2</sup>/12 måneder.
      - Proteinuri  $>$  1 gr/døgn eller kombination af proteinuri og hæmaturi.
      - Ved behov for behandling af nefrogen anæmi (normochrom, normocytær anæmi).
      - Ved behov for behandling af sekundær hyperparathyreoidisme (hyperfosfatæmi, hypocalcæmi og stigende PTH).
      - Ved behov for behandling af metabolisk acidose (faldende P-bikarbonat og pH).
- **eGFR  $<$  40 ml/min/1,73m<sup>2</sup>**
  - Alle henvises til nefrolog.

---

<sup>1</sup> Ved nyreskade forstås tilstedeværelse af en eller flere af følgende forhold: Persisterende albuminuri (inklusive mikroalbuminuri), persisterende proteinuri, persisterende hæmaturi, verificerede strukturelle forandringer i nyrerne eller biopsiverificeret kronisk nyresygdom.

## **Alment om bestemmelse af nyrefunktion**

### ***Nyrernes funktioner***

Nyrefunktion er et vidt begreb, idet nyrernes funktioner er mangeartede.

Nyrerne har afgørende betydning for regulation af væskefasernes osmolalitet og volumen, elektrolytbalancen og for syre-base balancen. De er desuden hovedansvarlige for fjernelse af metaboliske slutprodukter, og de er samtidig et endokrint organ, som producerer hormoner af betydning for eksempelvis blodtryk, hæmoglobin-niveau og calcium-fosfat-stofskifte.

De fleste funktioner er ekskretoriske og knyttet til nyrernes evne til at filtrere plasmavand. Nyrernes glomerulære filtrations hastighed eller rate (GFR) anses derfor for den vigtigste enkeltparameter for nyrernes forskellige funktioner. GFR bestemmes, som det antal ml plasma, der filtreres per minut i glomeruli.

Den ekskretoriske nyrefunktion beror ikke blot på den glomerulære filtration, men også på den tubulære sekretion og reabsorption. I glomerulus dannes ultrafiltratet ved filtration over glomerulusmembranen. Hovedparten af ultrafiltratets vand reabsorberes i tubuli og samlerør. Nogle filtrerede stoffer reabsorberes ligeledes fra tubuli til blodbanen (f.eks. glucose, albumin og karbamid), hvorimod andre aktivt secernerer fra tubuli til urinen (f.eks. kalium og hydrogenioner). Graden af tubulær sekretion og reabsorption vurderes ikke i klinisk arbejde.

### ***Bestemmelse af GFR***

Inulin anses som den bedste markør til bestemmelse af GFR og den renale clearance som ”guldstandard” for GFR [1]. Bestemmelse af renal clearance af inulin er tidsrøvende og omkostningsfuldt at gennemføre og anvendes derfor ikke i klinisk praksis. Klinisk bruges såvel endogene som eksogent tilførte markører til bestemmelse af GFR. Ved GFR vil vi forstå et estimat for nyrefunktion korrigeret til renal clearance af inulin.

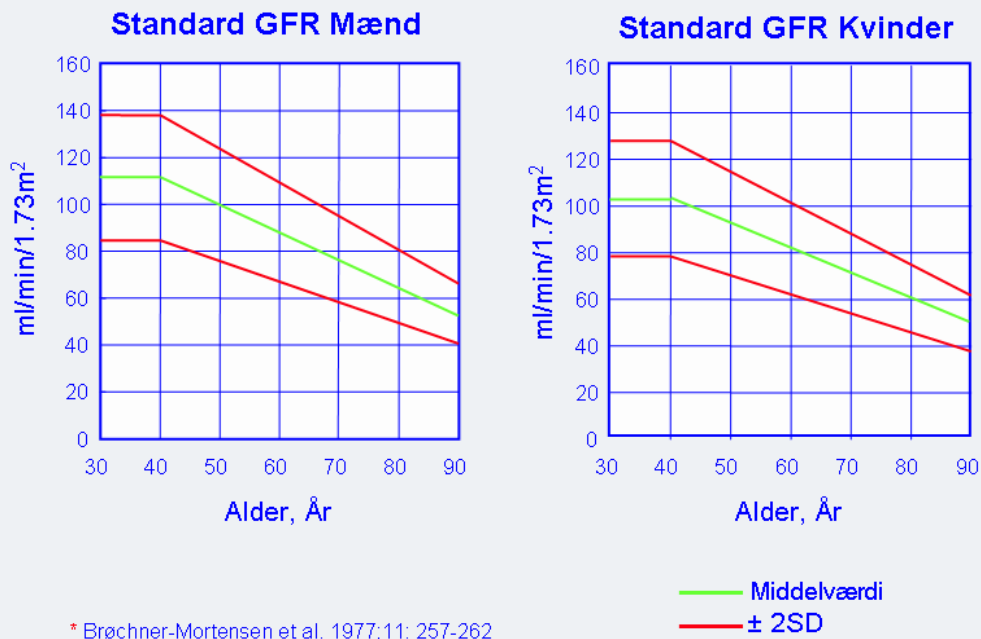
GFR udviser fysiologisk variation over døgnet med lavere værdier om natten. Også andre forhold så som fysisk aktivitet kan påvirke GFR. Bestemmelse af GFR bør derfor så vidt muligt udføres under standardiserede forhold for derved at reducere den fysiologiske variation og dermed dag-til-dag variationen.

### ***Referenceområde for GFR***

Nyrerne renser ekstracellulærvolumen (ECV). Desto større patienten og dermed ECV er, desto højere GFR er der behov for. For at vurdere om GFR er normal, må der derfor korrigeres for forskel i patienters størrelse. Dette gøres ved at korrigere GFR til en standard patient med en legemsoverflade på  $1,73\text{m}^2$ .

Der korrigeres desuden ofte for alder og køn, idet det antages at GFR falder med ca. 1 ml/min/år efter 40 års alderen, og at mænd har lidt højere GFR end kvinder med samme alder og legemsoverflade (Figur 1).

## GFR reference-interval



Figur 1. Referenceområde for GFR [2].

### Rekommandationer

- GFR anvendes som mål for nyrenes ekskretoriske funktion.
- GFR anbefales korrigeret svarende til renal clearance af inulin.
- Målt GFR sammenholdes med et referenceområde, korrigeret for køn, alder og overflade.
- Bestemmelse af nyrefunktion foretages om muligt under standardiserede forhold for at reducere den fysiologiske variation og dermed dag-til-dag variationen.



## Nyreinsufficiens

Klinisk skelnes mellem akutte og kroniske nyresygdomme, som er to meget forskellige sygdomstilstande med forskellige behov for vurdering af nyrefunktion.

*Kronisk nyreinsufficiens* er ofte karakteriseret ved et kontinuerligt tab af nyrefunktion over tid. Gentagne bestemmelser af GFR er derfor en vigtig parameter til at monitorere behandlingen, samt til at forudsige tidspunkt for terminal uræmi med behov for dialyse og/eller nyretransplantation. Tilsvarende bruges gentagne bestemmelser af albuminuri/proteinuri til vurdering af sygdom og renoprotektiv behandling. Kronisk nyreinsufficiens (CKD) inddeles i følgende stadier [3]:

Stadium		GFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )
1	Nyreskade med normal eller forhøjet GFR*	≥ 90
2	Nyreskade med let nedsat nyrefunktion*	60-89
3	Moderat nedsat nyrefunktion	30-59
4	Svært nedsat nyrefunktion	15-29
5	Terminal nyreinsufficiens	<15

\*Ved nyreskade forstås tilstedeværelse af en eller flere af nedenstående forhold:

- Persisterende albuminuri (inklusive mikroalbuminuri)
- Persisterende proteinuri
- Persisterende hæmaturi
- Verificerede strukturelle forandringer i nyrerne
- Biopsiverificeret kronisk nyresygdom

Det bemærkes at der ikke tages hensyn til at GFR falder med stigende alder i denne stadietopdeling. Stadietopdelingen medfører, at en stor del af befolkningen over 70 år bliver klassificeret som havende stadium 3 nyreinsufficiens, uden at være i risiko for terminal nyreinsufficiens. Det skal understreges at patienter med GFR 60-89 ml/min/1,73m<sup>2</sup> uden tegn på nyreskade ikke har kronisk nyreinsufficiens.

Ved *akut nyreinsufficiens* sker der ofte hurtige ændringer i nyrefunktion og nyrenes funktion vurderes i daglig praksis ud fra surrogatparametre som

- Døgnurinvolumen
- Ændringer i døgnurinvolumen
- P-kreatinin og P-karbamid niveau
- Ændringer i P-kreatinin og P-karbamid
- Kreatininclearance og ændringer heri
- U-kreatinin

Tilsvarende parametre bruges klinisk til vurdering af nyrefunktion i dagene efter gennemført nyretransplantation.

## De enkelte metoder til bestemmelse af nyrefunktion

### Bestemmelse af nyrefunktion med eksogene markører

#### *Princip*

GFR kan bestemmes meget pålideligt ved anvendelse af eksogene markører, som indgives i patienten med det ene formål at bestemme nyrenes funktion.

Anvendes eksogene markører kan nyrenes funktion bestemmes ved stoffets renale clearance på samme måde som for endogene markører, det vil sige ved forholdet mellem udskilleleshastighed i urinen og plasma koncentration. Det hyppigste er imidlertid at anvende en teknik, hvor stoffet indgives som en enkelt injektion (bolus) og GFR bestemmes ved stoffets plasmaclearance, som forholdet mellem indgiven mængde og arealet under plasmakoncentrationskurven fra injektion til tiden uendelig. Anvendelse af denne teknik forudsætter, at det pågældende stof ikke udskilles andre steder i kroppen [4].

#### *Markører*

De vigtigste eksogene markører er stoffer, som er mærkede med en radioaktiv isotop. Koncentrationen af radioaktivitet i blodet bestemmes ved simpel tælling i en gammataæller. Herved undgås klinisk kemiske analyser. Det er også muligt at anvende Iohexol eller andre røntgenkontraststoffer, som udskilles alene ved glomerulær filtration [5]. Koncentrationen kan bestemmes med simpelt apparatur dedikeret dette formål. Denne metode anvendes i Sverige, men synes i øvrigt ikke at have større udbredelse globalt. I Danmark anvendes næsten udelukkende radioaktivt mærkede stoffer. De vigtigste er  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  og  $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ . Sidstnævnte har den fordel, at det samtidigt kan anvendes til renografi med gammakamera [6].

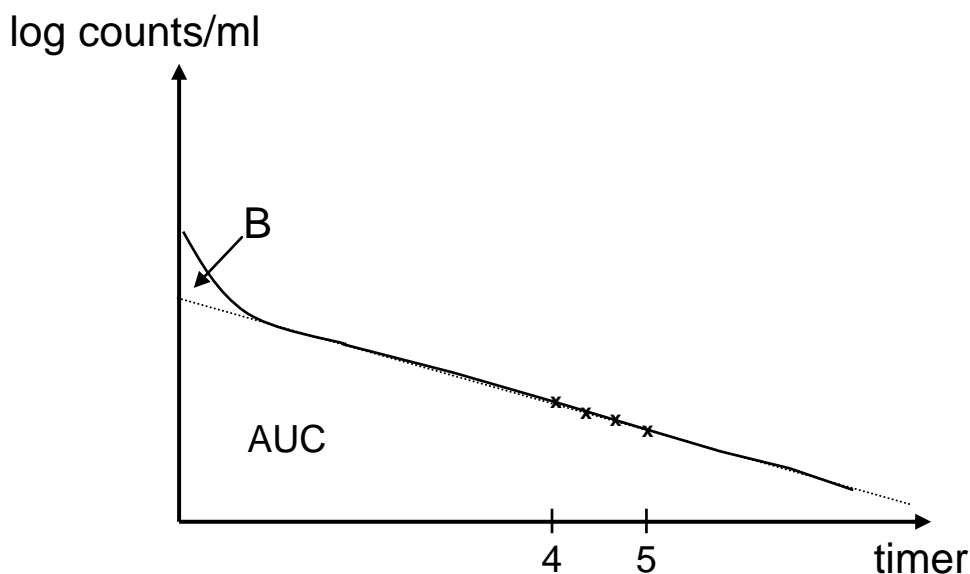
#### *Plasmaclearance*

##### **Udførelse**

Den væsentligste fordel ved plasmaclearanceteknikken er, at den alene hviler på blodprøver. Herved elimineres usikkerheden ved urinopsamling. Til gengæld skal det totale areal under plasmakoncentrationskurven bestemmes fra injektion til uendelig. Det gøres på basis af enkelte blodprøver taget i tidsrummet fra 3-4, 3-5 eller 5-24 timer efter injektion, jo lavere GFR desto senere blodprøvetagning. Ved svært nedsat nyrefunktion falder koncentrationen meget langsomt, hvorfor arealet under kurven bliver stort og en relativ stor andel er beliggende 5 timer efter injektionen. Hos patienter med forventet GFR under 15 ml/min suppleres derfor med en blodprøve efter 24 timer [7].

##### **Beregninger**

Plasmaclearance beregnes ved forholdet mellem indgiven dosis og areal under hele plasmakurven. Arealet bestemmes ud fra den antagelse at koncentration falder monoeksponentielt. Der korrigeres efterfølgende for denne simplificerede antagelse (figur 2). Den således beregnede plasmaclearance af  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  vil afvige fra en samtidigt målt renal clearance af inulin. Dels synes der at foregå en lille konstant clearance af stoffet andre steder end i nyrene svarende til 3,7 ml/min, dels er den renale clearance ca. 10 % lavere end den renale clearance af inulin. Begge forhold kan der korrigeres for.



**Figur 2.** Plasmaforsvindingskurve efter enkelt injektion af  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA. Arealet under kurven (AUC) fra injektion til uendelig bestemt på grundlag af blodprøver udtaget 4 til 5 timer efter injektion. Som følge af opblanding falder koncentrationen hurtigere initialt hvorfor arealet undervurderes ganske lidt svarende til arealet B. Dette korrigeres der for.

### Besvarelse

Resultatet af GFR-bestemmelsen angives i ml/min korrigeret til en standard legemsoverflade på  $1.73\text{m}^2$  og afgives i relation til et referenceområde [2]. Man bør være opmærksom på, at GFR falder med alderen og at kvinder har lavere GFR end mænd (figur 1). Dag-til-dag variationen afhænger af nyrefunktionsniveauet. Ved GFR over 30 ml/min skal forskellen mellem to bestemmelser være mindst 12% for med 95% sandsynlighed at afspejle en ændring i patientens nyrefunktion.

Bestemmelse af GFR ved plasmaclearance af  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA eller  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA udføres på alle nuklearmedicinske afdelinger i landet. Der er dog ikke konsensus om, hvorvidt det afgivne svar skal være korrigeret for ekstrarenal clearance af traceren og for den lavere clearance sammenlignet med inulin. Arbejdsgruppen anbefaler, at der korrigeres for begge dele, således at resultatet svarer til renal clearance af inulin. Resultatet bør opgives både som absolut værdi i ml/min og som korrigeret til  $1,73\text{m}^2$ . Sidstnævnte bør relateres til et referenceområde.

### Fejlkilder

Et ekspanderet ekstracellulærvolumen vil føre til en overvurdering af GFR, idet udskillelse til dette rum vil blive opfattet som renal clearance. Den henvisende læge bør derfor sikre, at patienter ikke har perifere ødemer eller ascites [8].

### Kliniske indikationer

Metoden anvendes når der er behov for et meget pålideligt måleresultat. Det kan være aktuelt ved:

- *Toksiske farmaka:* Før behandling med toksiske stoffer som udskilles renalt. Afgørende hos onkologiske patienter, som behandles med nefrotoksiske cytostatika. GFR monitoreres og behandlingsdosis justeres efter GFR.
- *Nyredonation:* Kontrol af nyrefunktion hos potentiel nyredonor.

- *Kirurgi:* Kan være nyttig før og efter kirurgiske indgreb på nyrer og urinveje dels for at prædiktere fald i GFR og efterfølgende kontrollere dette. Forudsætter supplerende renografi.
- *Forskning:* Ved forskning hvor GFR er det primære mål for udkommet.
- *Upålidelighed af estimeret GFR (eGFR):* I tilfælde hvor man ville nøjes med eGFR, men hvor denne er behæftet med større usikkerhed end sædvanligt (se afsnit ”MDRD-formlens anvendelse” i sektionen ”Bestemmelse af nyrefunktion baseret på kreatinin”).

### ***Rekommandationer***

- Plasmaclearance af  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA eller  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA anvendes, når der er behov for den største pålidelighed.
- Patienten må ikke have perifere ødemer eller ascites.
- Blodprøvetagning skal planlægges ud fra det forventede niveau af GFR.
- GFR anbefales korrigeret svarende til renal clearance af inulin.
- GFR anbefales opgivet i såvel ml/min som  $\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$  relateret til et referenceområde.

## Bestemmelse af nyrefunktion baseret på kreatinin

### *Rationalet bag anvendelse af kreatininmålinger til vurdering af nyrefunktion*

Rationalet for anvendelse af kreatininmålinger til vurdering af nyrefunktion bygger på nogle antagelser, som i vekslende grad er opfyldt. Indledningsvist anføres antagelserne, hvorefter det diskuteres hvorvidt disse i praksis er opfyldt.

Kreatin syntetiseres i nyrer, lever og pankreas. Kreatin transporteres herfra via blodbanen til andre organer herunder muskler og hjerne, hvor det under medvirken af kreatinkinase fosforyleres til fosfokreatin, der anvendes som energikilde i vævet. En lille del af kreatinen i muskelvævet (1-2% pr dag) omdannes spontant og irreversibelt til kreatinin. Den mængde kreatinin, der produceres pr tidsenhed er således relateret til muskelmassen og dermed konstant hos den enkelte. Kreatinin filtreres frit i nyrenes glomeruli og undergår normalt ikke tubulær sekretion eller reabsorption i større omfang.

Da kreatinin således produceres spontant i kroppen, frigøres til ekstracellulærfasen ved en konstant hastighed med deraf følgende konstant koncentration i blodbanen samtidig med, at det filtreres frit i nyrene, kan kreatininclearance anvendes som mål for GFR. Fordelen ved at anvende en endogen markør er, at det er en simpel procedure: Der kræves ikke injektion af eksogen markør, og der skal kun tages én blodprøve.

### *Kreatininclearance som mål for GFR*

I praksis bestemmes kreatininclearance ved opsamling af urin i en defineret tidsperiode typisk 24 timer. Urinvolumen og kreatininkoncentrationen i urinen bestemmes. I urinopsamlingsperioden tages en blodprøve til bestemmelse af P-kreatinin koncentrationen. Kreatininclearance bestemmes som forholdet mellem udskilleleshastigheden og plasmakoncentration:

$$\text{Kreatininclearance} = \frac{U_{\text{kreatinin}} \cdot V_u}{P_{\text{kreatinin}}}$$

$U_{\text{kreatinin}}$  er kreatininkoncentration i urinen,  $V_u$  er urinproduktion pr tidsenhed og  $P_{\text{kreatinin}}$  er kreatininkoncentrationen i plasma..

### **Fejlkilder ved anvendelse af kreatininclearance som mål for GFR**

Siden Popper og Mandel i 1937 udviklede anvendelsen af endogen kreatininclearance til vurdering af GFR har metoden været meget anvendt i daglig klinik på trods af de store usikkerheder, der er forbundet med bestemmelsen og tolkningen. Usikkerhederne knytter sig til opsamling af urinproduktionen og kreatinins varierende sekretion fra nyrenes tubuli.

- Bestemmelse af kreatininclearance kræver opsamling af døgnurin. Daglig praksis og flere studier har vist, at der i mange tilfælde er så store usikkerheder forbundet med opsamling af døgnurin, at det invaliderer undersøgelsen [9-11].
- Under normale forhold reabsorberes kreatinin ikke i betydelige mængder i tubuli. Derimod secernerer en mindre mængde fra tubuli (7-10%). Dette resulterer i, at kreatininclearance normalt overstiger GFR bestemt ved inulinclearance med en faktor 1,1-1,2 ved GFR over 80-90 ml/min. Ved faldende GFR og dermed stigende P-kreatinin vil der i stigende grad ske

sekretion af kreatinin i tubuli således, at man kan se kreatininclearance værdier på op til det dobbelte af inulinclearance [12]

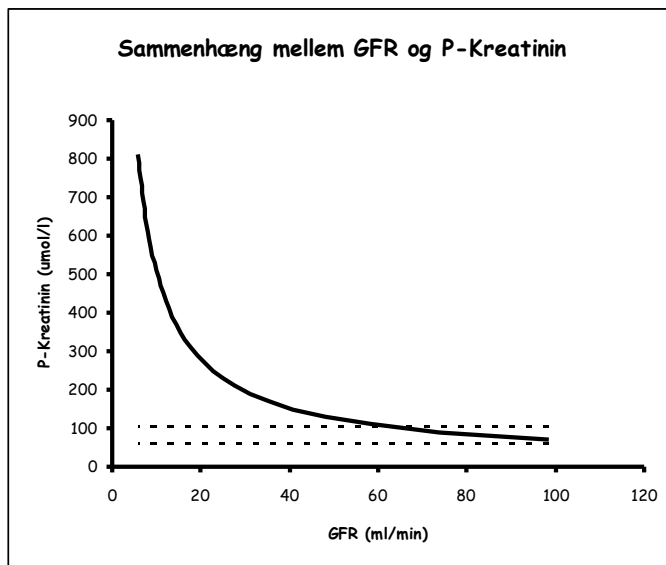
- Den tubulære sekretion af kreatinin hæmmes af visse medikamina f.eks. cimetidin, trimetoprim og cisplatin. Behandling med cimetidin hindrer den tubulære sekretion af kreatinin, hvilket medfører at forskellen mellem kreatininclearance og inulinclearance under denne behandling elimineres. Dette har været anvendt for at forbedre kreatininclearance undersøgelsen, men har dog aldrig vundet større udbredelse [13].

### ***P-kreatinin som mål for GFR***

Præcis opsamling af døgnurin er vanskelig i klinisk praksis, og mange undersøgelser har vist, at dette ofte invaliderer en præcis bestemmelse af kreatininclearance [9;14]. Ofte anvendes derfor alene sammenholdt P-kreatinin med et referenceinterval til vurdering af nyrefunktionen. Ved denne fremgangsmåde er det en forudsætning, at man kan vurdere patientens kreatininproduktion og ekstrarenale kreatininelimination samtidig med, at der tages hensyn til at alle krav til den ideelle GFR-markør nævnt i afsnittet om kreatininclearance ikke er opfyldt. Inddragelse af kreatininproduktionen bliver i et vist omfang imødegået ved at sammenholde P-kreatininværdien med kønsmatched referenceintervaller, idet man herved forsøger at korrigere for varierende muskelmasse mellem køn. P-kreatinin holder sig ofte konstant hele voksenlivet igennem på trods af den fysiologisk faldende muskelmasse og deraf følgende faldende kreatininproduktion. Det skyldes at man normalt ser en samtidig faldende GFR med alderen (figur 1) [15;16].

### **Fejlkilde ved anvendelse af P-kreatinin som mål for GFR:**

- Den reciproke sammenhæng mellem P-kreatinin og kreatininclearance (figur 3) gør det vanskeligt intuitivt at omsætte en ændring i P-kreatinin til en ændring i kreatininclearance: En mindre stigning i P-kreatinin inden for referenceintervallet hos den enkelte patient kan afspejle betydelige ændringer i GFR, men fejltolkes som stabil/normal nyrefunktion.
- P-kreatinin værdierne bliver ofte vurderet i forhold til referenceintervaller, der ikke er alders matchede.
- Ved normale plasmakoncentrationer af kreatinin passerer der kun en ubetydelig mængde kreatinin over tarmvæggen. Ved stigende koncentration bliver denne mængde betydelig og inducerer kreatinaseaktivitet i tarmens bakterieflora. Det er estimeret at mellem 16% og 66% af den dannede kreatinin hos uræmiske patienter udskilles ekstrarenalt via tarmen hvilket fører til en betydelige overestimering af GFR [17].
- Indtagelse af kødholdige måltider, især kød behandlet ved høje temperaturer i længere tid, vil medføre stigning i P-kreatinin og dermed en underestimering af GFR.
- Kreatinindannelsen falder under stigende P-kreatinin-koncentration. Mekanismen bag dette er ukendt [18-20]. Faldet i kreatinindannelse medfører en overestimering af GFR.
- Patienter med nedsat muskelmasse f.eks. pga. rheumatoid arthritis, længerevarende kortisolbehandling, lammelser, amputation eller malnutrition vil have en lavere kreatinindannelse end svarende til køn og alder. Denne lave kreatinindannelse vil medføre en overestimering af GFR.



**Figur 3.** Sammenhæng mellem GFR og plasma kreatinin. Området mellem de stiplede linier repræsenterer referenceintervaller for P-kreatinin.

### *Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR)*

Inden for de senere år har flere videnskabelige selskaber og organisationer i USA, Australien og Europa anbefalet beregning af en estimeret GFR (eGFR) på basis af P-kreatinin ved brug af empirisk udviklede formler til vurdering af nyrefunktion i den daglige klinik, idet det er almindeligt accepteret, at det er et bedre mål for nyrefunktion end P-kreatinin alene.

### **Formler til beregning af eGFR**

Der er publiceret mere end 46 formler og nomogrammer til estimering af GFR baseret på P-kreatinin suppleret med andre patientvariable (for oversigt se CARI Guidelines, 2005) [21]. Disse formlers hovedformål er at omsætte den inverse sammenhæng mellem P-kreatinin og GFR til en håndterbar værdi og samtidig korrigere for alders- og kønsbetingede forskelle i muskelmassen. I Danmark er den mest anvendte fremgangsmåde nok anvendelsen af Kampmanns nomogram kendt fra bl.a. Lægemiddelfortegnelsen [22]. De bedst validerede metoder til estimering af GFR er Cockcroft-Gault formelen fra 1976, der estimerer kreatininclearance uden overfladekorrektion (ml/min) [23] og den simplificerede 4 variabel Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formel fra 1999, der estimerer GFR med overfladekorrektion (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) [24].

### **MDRD-formlen**

1628 patienter fra Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) studiet fik bestemt GFR ved iothalamate clearance målinger og på baggrund af disse udviklede man en formel til estimering af overflade korrigeret GFR baseret på P-kreatinin, P-karbamid, P-albumin, race, køn og alder [25]. Denne 6-variabel formel kunne forklare ca. 90% af variationen i GFR i den undersøgte gruppe. Patienterne der indgik i MDRD-studiet var voksne med kronisk nyresygdom af varierende genese og nedsat nyrefunktion (GFR < 80 ml/min). Der indgik ikke patienter med normal nyrefunktion, og kun få patienter med diabetes. 6-variabels formelen er efterfølgende blevet valideret i mere end 16 studier inkluderende i alt 5069 personer og er fundet bedre end Cockcroft-Gault formelen i de fleste studier.

Da variation i albumin og karbamid fandtes kun at bidrage lidt til variation i eGFR udvikledes en simplificeret 4-variabel formel uden disse to variable. Den simplificerede MDRD-formel er blevet valideret i 13 studier omfattende 8654 personer.

Kreatinin blev i MDRD-studiet primært bestemt ved en modificeret Jaffé metode. Ved sammenligning af denne metode med en metode standardiseret i forhold til referencemetoden for P-kreatinin blev MDRD-formlen siden justeret så den passer til en standardiseret kreatinin bestemmelse [26]:

$$eGFR \text{ (ml/min/1,73m}^2\text{)} = 175 \times (\text{standardiseret Kreatinin}/88,4)^{-1,154} \times (\text{alder})^{-0,203} \times (0,742 \text{ hvis kvinde}) \times (1,21 \text{ hvis afroamerikanere})$$

(kreatinin i  $\mu\text{mol/l}$ , alder i år)

### **MDRD-formlens anvendelse**

I de amerikanske National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative (NKF K/DOQI) guidelines fra 2002 [27] anbefales udbredt brug af eGFR beregnet på basis af MDRD formelen til vurdering af nyrefunktion. Siden har andre organisationer gjort det samme [28;29].

Talrige studier har efterfølgende appliceret MDRD-formlen på grupper, der afviger fra den oprindelige patientpopulation, som havde nedsat nyrefunktion ( $GFR < 80 \text{ ml/min}$ ) og der er påvist betydelige begrænsninger i formlens anvendelse [30]. Vurderingen af de publicerede studier mht. MDRD formlens præcision og akkuratse vanskeligøres dog i betydelig grad af den manglende standardisering af de analysemetoder til bestemmelse af kreatinin, der indgår i studierne.

Tilstande hvor eGFR kan være upålidelig:

- Patienter med afvigende muskelmasse i forhold til køn og alder (amputerede, lammelser, muskelsygdomme, bodybuildere)
- Patienter med lav bodymass index ( $< 18,5 \text{ kg/m}^2$ )
- Patienter med høj/lav alder
- Patienter med højt/lavt indtag af kød (veganere, vegetarer)
- Patienter, der indtager kreatin som kosttilskud
- Patienter med hurtigt ændrende nyrefunktion
- Gravide
- Patienter af ikke kaukasiske herkomst

Den kliniske bedømmelse af patienten er derfor meget vigtig i forbindelse med vurdering af en eGFR.

Der arbejdes på at udvikle en formel, som gælder mere generelt, evt. ved en kombination med cystatin C. Som anført er formlerne udviklet på baggrund af tværnsnitsstudier, men det er vigtigt, at ændringer over tid i GFR hos den enkelte patient kan påvises med formlerne, hvilket ofte ikke undersøges og kan være et problem [31].

Det er vist, at automatisk rapportering af eGFR sammen med P-kreatinin frem for P-kreatinin alene øger detektionsraten af kronisk nyreinsufficiens [32]. Der findes dog ikke randomiserede kontrollerede undersøgelser, der viser, at dette nedsætter morbiditet eller mortalitet f.eks. i form af færre tilfælde af terminal nyreinsufficiens.



## Børn

Hos børn anbefales i K/DOQI guidelines formler udledt af Schwartz eller Counahan-Barratt. Disse formler er dog i flere studier fundet upræcise [33].

Schwartz formlen [34]:

$$eGFR \text{ (ml/min/1,73m}^2\text{)} = k \times \text{højde} / (\text{P-Kreatinin}/88,4)$$

(kreatinin i  $\mu\text{mol/l}$ , højde i cm, k varierer med alder og køn fra 0,33 til 0,70)

Der er i andre populationer udviklet andre formler, men ingen der har vundet generel udbredelse.

### *Analysemetoder til bestemmelse af P-kreatinin og U-kreatinin*

Rutinemetoder til bestemmelse af P-kreatinin og U-kreatinin baserer sig stort set alle på enten et kemisk eller et enzymatisk analyseprincip.

### **Kemisk analyseprincip**

Den traditionelle metode til bestemmelse af kreatinin er baseret på en reaktion beskrevet af Jaffé i 1886, hvor kreatinin reagerer med pikrinsyre i en basisk buffer under dannelse af et orange-rødt farvekompleks proportionalt med kreatinindholdet. Analysemetoden er ikke specifik for kreatinin. De talrige varianter af metoden overestimerer P-kreatinin med op til 30  $\mu\text{mol/l}$  pga. tilstedeværelsen af interfererende pseudokromogener (non-kreatinin kromogener) i plasma (se note), der hos raske hovedsagligt består af proteiner [35-37]. Denne overestimering er af størst betydning ved kreatininværdier i området under 150  $\mu\text{mol/l}$ . Herudover ses interferens fra en lang række stoffer som hovedsagligt bidrager til interferens ved sygdomstilstande f.eks. ketonstoffer (positiv interferens; overestimering af P-kreatinin med 40  $\mu\text{mol/l}$  ved middelsvær ketoacidose), glukose (positiv interferens; P-glukose på 30 mmol/l medfører op til 12% overestimering af P-kreatinin), dopamin (negativ interferens), dobutamin (negativ interferens), bilirubiner (negativ interferens) og cisplatin (positiv interferens).

For at mindske graden af interferens er de kommercielt tilgængelige Jaffe-metoder udviklet i talrige modifikationer med forskellige kalibreringsprincipper, reaktionstemperaturer, reagenskoncentrationer, aflæsningstidspunkter, anvendte bølgelængder, hjælpereagenser og måleprincipper (rate eller endpoint). Dette medfører, at der kan være betydelige forskelle i omfanget af interferens mellem de forskellige analysemetoder.

Note: Jaffe-metoden er traditionelt blevet kalibreret ved 2-3 punkts kalibrering med en vandig 0-kalibrator sat til kreatininværdier 0  $\mu\text{mol/l}$ . Det medfører, at man ved måling på en plasmaprøve med kreatinindhold tæt på 0 vil finde kreatininværdier på op til 30  $\mu\text{mol/l}$  afhængig af analysemetoden pga. den positive interferens fra non-kreatinin kromogener i plasma. Afhængig af metoden til fastsættelse af kalibratorværdier for de øvrige kalibratore vil afvigelsen på op til 30  $\mu\text{mol/l}$  i forskelligt omfang gå igen ved højere værdier af kreatinin i plasma.

### **Enzymatisk analyseprincip**

Det eneste alternativ til Jaffe-metoden, der har vundet indpas i rutinediagnostik, er enzymbaseret analysemetode, som findes i flere varianter. Alle metoder involverer en flertrinsreaktion, hvor det første trin specifikt omdanner kreatinin og det sidste leder til en proportional farveændring, der kan måles fotometrisk. Disse analysemetoder er generelt meget specifikke for kreatinin. Interferens fra bilirubin og askorbinsyre er et potentielt problem ved nogle metoder, men dette er i de kommercielt tilgængelige analysemetoder ofte løst ved tilsætning af hjælpereagenser. Enzymbaserede metoder

rummer således ikke problemet med positiv interferens ved lave kreatininværdier. For at få sammenlignelige værdier mellem Jaffe- og enzymbaserede-metoder har nogle diagnostika-leverandører valgt at kalibrere deres enzymmetoder, så de giver værdier sammenlignelige med en traditionel Jaffe metode med deraf følgende overestimering i det lave område, andre har valgt at kalibrere enzymmetoder så de giver værdier sammenlignelige med ID-MS referencemetoden (se nedenfor).

## **HPLC**

Analysemetoder baseret på HPLC kan udføres med høj analytisk specificitet, men egner sig ikke til rutinediagnostik.

## **Standardisering**

Der ses en betydelig variation i P-kreatinin ved sammenligning mellem laboratorier [38;39]. En nødvendig forudsætning for at anvende en given formel til beregning af estimeret GFR er, at kreatininværdien, der indgår i beregningen, er bestemt med en metode, der giver samme værdier som den metode formelen er baseret på. Ligeledes skal et analyseresultat, der holdes op mod et referenceinterval eller en klinisk beslutningsgrænse bestemmes med en metode, der giver samme værdier som den metode referenceintervallet eller beslutningsgrænsen er baseret på.

The National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Laboratory Working Group har derfor i samarbejde med International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), European Communities Confederation of Clinical Chemistry (EC4) og diagnostika-producenterne udarbejdet et standardiseringsprogram, der skal nedsætte mellem-laboratorie-variationen af kreatinin analyserne [40].

Bestemmelse af kreatinin koncentrationer i plasma og urin kan udføres med høj præcision og specificitet ved hjælp af ID-MS teknik (isotope dilution mass spectrometry). The International Federation of Clinical Chemistry Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine har derfor godkendt en ID-MS metode som referencemetode til bestemmelse af den sande kreatininkoncentration i plasma.

Målet er at gøre alle analysemetoder, der bruges til rutinebrug, sporbare til referencemetoden. Det gennemføres ved at kalibratorværdierne på rutinemetoderne inkl. 0-kalibratoren tilskrives værdier, således at patientprøver målt ved referencemetoden giver samme værdier som prøver målt ved den pågældende rutinemetode.

## **Bias og imprecision**

De to hovedbidrag til måleusikkerhed er bias (akkuratesse) og imprecision (reproducerbarhed).

Bias er systematiske forskelle mellem målemetoder typisk pga. forskelle i kalibrering jf. forholdene beskrevet ovenfor. Imprecision er tilfældige analytiske forskelle der f.eks. kan skyldes fluktuation i fotometermålinger og afpipetteringer.

National Kidney Disease Education Program (NKDEP) Laboratory Working Group har foreslået, at krav til bias og imprecision for P-kreatinin i området fra 88,4-133  $\mu\text{mol/l}$  skal være af en størrelse, der sikrer, at den relative fejl på beregning af estimeret GFR er mindre end 10% [41]. En metode, der overholder dette krav, kan f.eks. have en analytisk imprecision med  $SD < 7,1 \mu\text{mol/l}$  og en analytisk bias sammenlignet med ID-MS referencemetoden på maksimalt 4,4  $\mu\text{mol/l}$  ved en P-kreatinin koncentration på 88,4  $\mu\text{mol/l}$ .

## **Referenceintervaller**

### **P-kreatinin**

Referenceintervaller der anvendes på P-kreatinin skal være tilpasset analysemetoden. Typiske referenceintervaller anvendt på den ikke modificerede Jaffe-metode har for kvinder været 44-115  $\mu\text{mol/l}$  og for mænd 62-133  $\mu\text{mol/l}$  [42]. Efterhånden som metoderne til bestemmelse af P-kreatinin bliver mere ensartede og standardiserede vil de tilhørende referenceintervaller blive mindre metodeafhængige og niveauet vil være 10-25  $\mu\text{mol/l}$  lavere end de traditionelt anvendte.

I det nordiske referenceinterval projekt [15] indgik fastsættelse af referenceinterval for P-kreatinin sporbart til ID-MS referencemetoden. Referencepopulationen bestod af voksne mellem 18 og 70 år (kvinder 45-90  $\mu\text{mol/l}$ , mænd 60-105  $\mu\text{mol/l}$ ).

### **Kreatininclearance**

70-150 ml/min [43].

### **Rekommandationer**

- Bestemmelse af P-kreatinin skal foretages med en analysemetode, som er sporbar til en anerkendte referencemetode (isotop dilution mass spectrometry, IDMS).
- P-kreatinin skal analyseres med enzymatisk metode eller en metode som er korrigeret for interfererende substanser f.eks. ved kalibrering med plasmabaseret kreatininfri 0-punktskalibrator.
- Laboratorierne skal overholde internationale retningslinier for analytisk imprecision og bias for P-kreatinin.
- Hvis P-kreatinin-svar ledsages af et referenceinterval skal dette være alders (børn)- og kønskorriget og baseret på data, der er sporbare til referencemetoden for kreatinin.
- Referenceintervaller for kreatininclearance bestemmelse skal være baseret på data sporbare til referencemetoden til bestemmelse af kreatinin i plasma og urin.
- Kreatininclearance bestemmelse anbefales kun gennemført på patienter, hvor der kan gennemføres en sikker urinopsamling f.eks. intensivpatienter med blærekateter.
- eGFR giver normalt et bedre mål for GFR end kreatininclearance
- Laboratorierne bør altid rapportere en eGFR sammen med et P-kreatinin svar på patienter > 18 år.
- eGFR bør beregnes med den forkortede 4-variable MDRD formel uden racekorrektion.
- eGFR skal rapporteres som den numeriske værdi ved  $e\text{GFR} < \text{end } 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ , ved værdier over 90 som ” $\text{GFR} \geq 90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ”.
- Rapportering af eGFR anbefales ledsaget af en aktionsgrænse ( $\geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) frem for et referenceinterval.

## Bestemmelse af nyrefunktion baseret på cystatin C

### *Rationalet bag anvendelse af cystatin C målinger til vurdering af nyrefunktion*

Cystatin C er en proteinase inhibitor, der består af en non-glykosyleret polypeptid kæde med 120 aminosyrer med en molekylvægt på 13.4 kDa [44]. Cystatin C produceres i alle kerneholdige celler med konstant hastighed, idet genet, der styrer produktionen af cystatin C, er et "house-keeping" gen [45]. På grund af den lave molekylvægt filtreres cystatin C frit i glomeruli, hvorefter det reabsorberes og kataboliseres i nyrenes proximale tubuli [46;47]. På grund af disse egenskaber opfylder cystatin C mange af kriterierne for en endogen markør for GFR [48]. Plasma koncentrationen af cystatin C afhænger primært af GFR, og kan derfor anvendes som markør for GFR [49].

Koncentrationen af plasma cystatin C er høj ved fødslen, og falder indenfor de første levemåneder [50]. Omkring 1 års alderen er koncentrationen af cystatin C konstant indtil omkring 60 års alderen, hvorefter cystatin C gradvist stiger, hvilket formentlig afspejler det fysiologiske tab af nyrefunktionen [51-53].

Cystatin C er uafhængig af muskelmassen [54] og er fundet at være uafhængig af køn i langt de fleste studier [55-57].

### *Cystatin C som markør for nyrefunktionen*

I 2002 viste en metaanalyse baseret på 54 studier, at P-cystatin C var en bedre markør for nyrefunktionen end P-kreatinin, hvor forfatterne primært forklarede forskellen med, at P-cystatin C var uafhængig af muskelmassen [58].

Hos patienter med moderat nedsat nyrefunktion er P-cystatin C især en bedre markør for nyrefunktionen, idet selv små GFR ændringer afspejles i ændrede P-cystatin C værdier i modsætning til P-kreatinin [59-61].

Ældre mennesker har ofte en reduceret muskelmasse og P-cystatin C, der er uafhængig af muskelmassen, er en god markør for nyrefunktionen hos denne gruppe af patienter [62]. P-cystatin C stiger signifikant med alderen, hvilket nyligt er vist i et stort epidemiologisk studie, hvor 25 % af personer ældre end 70 år havde eGFR baseret på P-kreatinin  $< 60 \text{ ml/ml/1,73 m}^2$  i modsætning til P-cystatin C, hvor 50 % af værdierne var forhøjede [63]. P-cystatin C kan ligeledes anvendes som markør for nyrefunktionen hos øvrige patienter med reduceret muskelmasse herunder patienter med paraplegi [64], levercirrhose [65] samt hjerteinsufficiens [66].

P-cystatin C kan anvendes som markør for nyrefunktionen hos børn, og i modsætning til P-kreatinin skal der ikke foretages korrektion for vægt, alder og køn [67;68].

P-cystatin C er en lovende markør for GFR som supplement til eller erstatning for P-kreatinin dog med forbehold for de anførte fejlkilder. P-cystatin C er specielt en interessant markør for GFR hos patienter med let reduceret nyrefunktion, hos børn samt hos patienter med reduceret muskelmasse herunder ældre patienter.

### *Analysemetoder til bestemmelse af cystatin C*

Der findes aktuelt 3 kommercielt tilgængelige analyser til bestemmelse af cystatin C, der alle er hurtige, fuldautomatiske og anvendelige i daglig klinisk praksis. Alle 3 analyser er baseret på immunoassayes.

- Partikel koblet turbidimetrisk immunoassay

- 1) DAKO Cystatin C PET kit (PETIA 1) [69]  
Intra-assay variationscoefficient (CV) < 3 % og inter-assay CV < 5 % indenfor den analytiske range. Ingen interferens med rheumatoid factor, bilirubin eller hæmoglobin, men triglycerid koncentrationer > 10 mmol/l medførte nedsat recovery af cystatin C [70].
  - 2) Cystatin C immunoassay, Gentian (PETIA 2) [71]  
Intra-assay CV på 1.7 % ved 0.77 mg/l og 1.1 % ved 1.25 mg/l, og inter-assay CV på 1.4 %. Ingen interferens med hæmoglobin, Intralipid og bilirubin [71]
- Partikel koblet nefelometrisk immunoassay
- 3) N Latex Cystatin C, Dade Behring (PENIA) [72]  
Intra-assay CV < 3.3 % og inter-assay CV < 4.5 % i måleområdet 0.23-7.25 mg/l. Ingen interferens med hæmoglobin, bilirubin, triglycerider, rheumatoid samt myeloma faktor [73].

Cystatin C bestemmes normalt i serum, men kan også bestemmes i plasma.

### **Standardisering**

Der findes på nuværende tidspunkt ingen international standardisering af cystatin C metoden, hvorfor de 3 analyser ikke umiddelbart kan sammenlignes. Der er nedsat en arbejdsgruppe af International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) med henblik på standardisering af cystatin C metoden.

### **Biologisk variation**

Den intra-individuelle variation ( $CV_I$ ) af cystatin C hos raske personer bestemt ved PENIA er i flere studier fundet at være af samme størrelsesorden som kreatinin bestemt ved en enzymatisk metode [74;75].  $CV_I$  blev bestemt til henholdsvis 6.1 % og 4.55 % for P-cystatin C og P-kreatinin, hvilket vil sige at begge metoder er lige gode til at følge nyrefunktionen med [74]. I et tidligere studie, hvor P-cystatin C blev bestemt ved PETIA 1, blev det konkluderet, at P-cystatin C var en bedre screeningsmarkør for nyrefunktionen sammenlignet med P-kreatinin, men at P-kreatinin var bedre end P-cystatin C til at følge nyrefunktionen med hos den enkelte person [76].

### **Referenceintervaller**

På grund af den manglende standardisering skal der anvendes metodeafhængige reference intervaller for den enkelte analysemetode. Der er ikke udarbejdet separate reference intervaller for PETIA 2, men PETIA 2 er sammenlignet med PENIA, og der er fundet god overensstemmelse mellem analyserne, hvorfor reference intervaller for PENIA kan anvendes for PETIA 2. Samtlige referenceintervaller er uafhængige af køn.

- Reference intervaller for PETIA 1:
 

Børn (1-16 år):	0.63-1.33 mg/l [77]
Voksne (20-65 år):	0.54-1.21 mg/l [78]
- Reference intervaller for PENIA:
 

Børn (1-15 år):	0.51-0.95 mg/l [79]
-----------------	---------------------

Voksne (20-65 år):	0.51-1.02 mg/l [80]
Voksne (60-79 år):	0.93-2.68 mg/l [81]
Voksne (> 80 år):	1.07-3.35 mg/l [82]

### ***Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR)***

eGFR kan beregnes ud fra plasma cystatin C koncentrationer, idet der skal tages hensyn til, hvilken analysemetode, der er anvendt til bestemmelse af P-cystatin C, på grund af den manglende internationale standardisering af cystatin C [83].

Formler for eGFR ud fra cystatin C:

- **PETIA 1**

Børn og voksne:

$$eGFR = 84,69 \cdot (P\text{-cystatin C})^{-1,680} \cdot 1,384 \text{ (alder } < 14 \text{ år) ml/min/1,73 m}^2 \text{ [84]}$$

Formlen er beregnet ud fra 536 personer i alderen 0,3-93 år med iohexol clearance som reference metode. Der korrigeres for præpubertal faktor ved alder mindre end 14 år.

- **PETIA 2**

Voksne:

$$eGFR = 100/(P\text{-cystatin C}) - 14 \text{ ml/min/1,73 m}^2 \text{ [56]}$$

Formlen er beregnet ud fra 393 voksne med iohexol clearance som reference metode.

- **PENIA**

Voksne:

$$eGFR = 80,35/(P\text{-cystatin C}) - 4,32 \text{ ml/min/1,73 m}^2 \text{ [85]}$$

Formlen er beregnet ud fra 123 voksne med [<sup>125</sup>I]iothalamate som reference metode.

Børn:

$$eGFR = 91,62 \cdot (P\text{-cystatin C})^{-1,123} \text{ ml/min/1,73 m}^2 \text{ [86]}$$

Formlen er beregnet ud fra 536 børn i alderen 1-18 år med <sup>99m</sup>Tc-DTPA clearance (enkelt injektion teknik) som reference metode.

Senest er der fremkommet data for eGFR baseret på såvel P-kreatinin som P-cystatin C data, og disse beregninger giver et bedre estimat for GFR sammenlignet med estimatet for den enkelte analyse [87;88].

### **Fejlkilder ved anvendelse af P-cystatin C som mål for GFR**

- Der er usikkerhed om den ekstrarenale udskillelse af cystatin C. Den er i et enkelt arbejde bestemt til 22.3 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (sieving koefficient 1), og fundet uafhængig af GFR [56].
- Koncentrationen af P-cystatin C påvirkes af thyroidea funktionen, idet der hos patienter med hyperthyroidisme er påvist forhøjede P-cystatin C værdier, og hos patienter med hypothyroidisme nedsatte P-cystatin C værdier, før relevant medicinsk behandling blev påbegyndt [89].
- Glukokortikoidbehandling øger koncentrationen af P-cystatin C, og øgningen er dosisrelateret [90].

- I et studie er der rapporteret, at stor vægt og højde, cigaret rygning samt høje CRP værdier resulterede i øgede P-cystatin C værdier efter korrektion for kreatininclearance [91].

### ***Rekommandationer***

- Rutinemæssig anvendelse af P-cystatin C som markør for GFR kan endnu ikke anbefales på grund af den manglende internationale standardisering af cystatin C metoden, hvor metodeafhængige referenceintervaller og formler for eGFR skal anvendes. Desuden er der på nuværende tidspunkt ikke enighed om, hvilke cystatin C baserede formler, der beskriver eGFR bedst, og samtlige formler til bestemmelse af eGFR ud fra P-cystatin C er baseret på relativt små patientmaterialer.
- P-cystatin C anbefales i forskningsmæssige sammenhænge som markør for GFR med henblik på senere anvendelse i klinikken.

## **Bestemmelse af nyrefunktion baseret på karbamid**

### ***Plasma karbamid***

Karbamid filtreres i nyrerne, men undergår en betydelig tubulær reabsorption.

Plasmakoncentrationen af karbamid er afhængig af mange forskellige kliniske parametre f.eks.

- Katabolisme
- Gastrointestinal blødning
- Infektion
- Steroidbehandling
- Fødeindtag
- Leverfunktion
- Hydreringsgrad
- Nyrefunktion

P-karbamid er således en tvivlsom markør for nyrefunktionen. I mangel af bedre betragter mange nefrologer P-karbamid som en markør for den uræmiske intoksikation. Der foreligger dog ingen evidens for at P-karbamid er en valid markør for uræmisk intoksikation.

### ***Målt renal clearance af karbamid***

Den renale clearance af karbamid underestimerer GFR betydeligt pga. den tubulære reabsorption af karbamid. Målt renal clearance af karbamid kan ikke anbefales til vurdering af GFR.

Det skal dog anføres, at clearance af karbamid over dialysefiltre og peritonealmembran anvendes som mål for effektivitet af dialyse og bruges til justering af dialyseudosis.

### ***Estimeret glomerulær filtrations rate (eGFR)***

Gennemsnittet af renal clearance af karbamid og kreatinin har været brugt som estimat for GFR.

Baggrunden herfor er, at karbamidclearance underestimerer GFR og kreatininclearance overestimerer GFR. For GFR-værdier under 15 ml/min vil metoden ofte give et pålideligt resultat, men den bygger på en antagelse om at to fejl, som går i hver sin retning ophæver hinanden.

Metoden anbefales stadigvæk i best practise guidelines fra European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association [92]. Metoden kan ikke anbefales, da den baseres på to fejlskøn.

P-karbamid indgår i veldokumenterede formler til estimering af GFR, dog sammen med P-kreatinin og andre parametre (se afsnittet ”MDRD-formlen” i sektionen ”Bestemmelse af nyrefunktion baseret på kreatinin”).

### ***Rekommandationer***

- P-karbamid kan ikke anbefales som markør for GFR
- Renal clearance af karbamid kan ikke anbefales som markør for GFR
- Clearance af karbamid anvendes til vurdering af dialyseeffektivitet og dosering af dialyse
- P-karbamid anvendes som et led i vurderingen af den uræmiske intoksikation



## **Afsluttende kommentarer til vurdering af nyrefunktion**

Indførelse af de foreslåede rekommandationer skal ledsages af anbefalinger om beslutningsgrænser for værdier af eGFR. Studier har estimeret at ca. 13 % af befolkningen har kronisk nyresygdom indenfor området stadium 1-5 [93] og 5-8 % har stadium 3-5 [94]. Hovedparten af patienter med nyreinsufficiens er ældre og vil ikke være i risiko for terminalt nyresvigt, men er i risiko for hjertekarsygdomme. En stor del af patienter med stadium 1 nyresygdom vil have monosymptomatisk mikroalbuminuri. Der er kun dokumenteret effekt af behandling af mikroalbuminuri hos patienter med diabetes, hvorimod det hos andre patienter alene er en risikofaktor.

Det vurderes, at eGFR giver den enkelte læge en bedre vurdering af patientens nyrefunktion end P-kreatinin alene. Det er vigtigt, at indførelse af en ny parameter som eGFR, ledsages af en vejledning i kliniske konsekvenser af resultatet. Stort set alle læger håndterer svar på P-kreatinin og vil gradvist også kunne håndtere svar på eGFR. Store patientgrupper med nedsat nyrefunktion vil blive afsløret ved indførelse af eGFR. I et område af England har et projekt med eGFR medført op til syv gange flere henvisninger til nefrologisk specialafdeling [95]. Indførelse af eGFR uden samtidig vejledning til kliniske konsekvenser af eGFR vil indebære en stor risiko for overbelastning af de nefrologiske afdelinger. På den baggrund er der opstillet forslag til kliniske konsekvenser af eGFR-svar. Det anbefales, at der udarbejdes mere detaljerede nationale rekommandationer for behandling af kronisk nyresygdom.

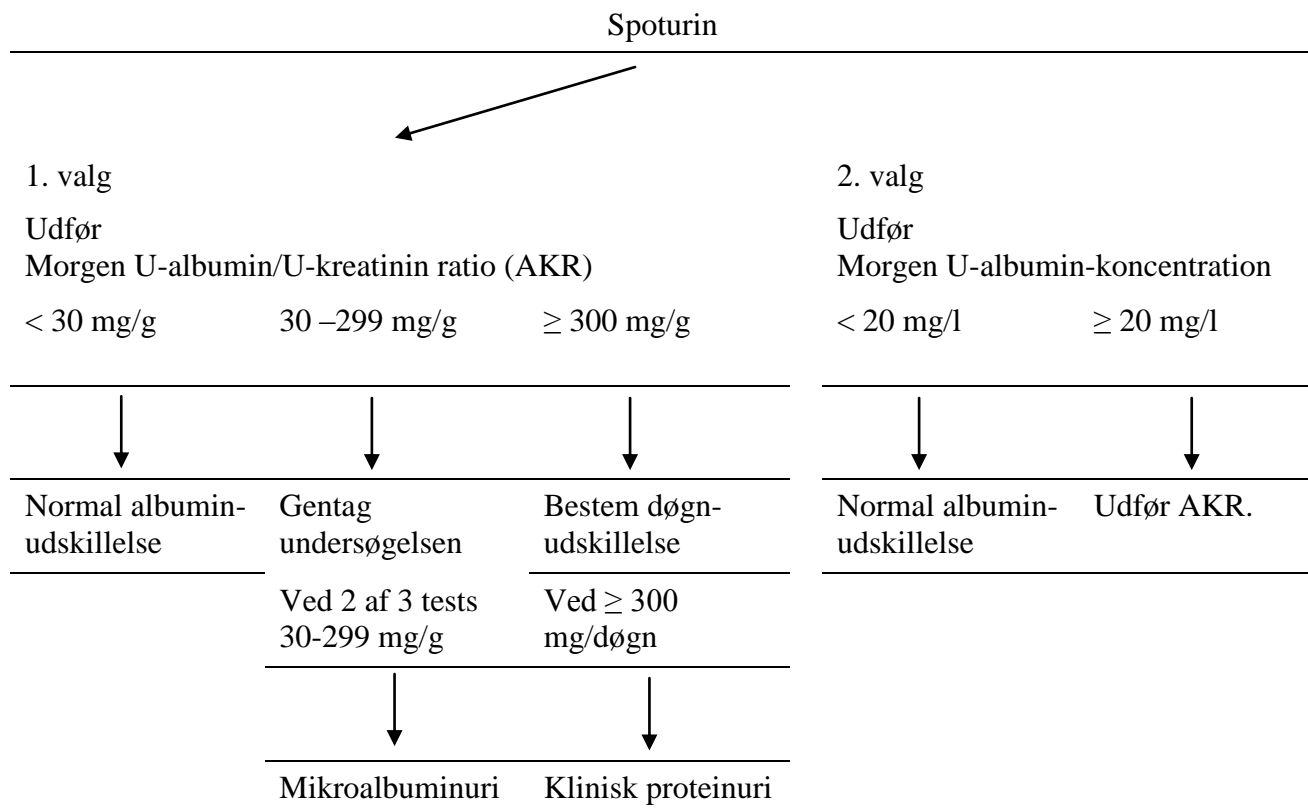
Anbefaling af eGFR baseret på MDRD-formlen er i overensstemmelse med adskillelige publicerede guidelines fra andre lande [29;96-98].

## Overordnede rekommandationer til vurdering af proteinuri/albuminuri

- Bestemmelse af albumin i urinen bør anvendes som den primære analyse ved screening for og monitorering af proteinuri.
- Der anbefales for nuværende ikke brugen af køns- og alderskorrigerede referenceintervaller. Følgende definitioner og enheder anbefales:

	Døgnurin	Spoturin	Albumin/kreatinin-ratio
Normal albumin-udskillelse	< 30 mg/døgn	< 20 mg/l	< 30 mg/g
Mikroalbuminuri	30-299 mg/døgn	20-199 mg/l	30-299mg/g
Klinisk proteinuri	≥ 300 mg/døgn	≥ 200 mg/l	≥ 300 mg/g

- Til screening anbefales følgende algoritme



- Ved monitorering af sygdom og behandling bør albumin/kreatinin ratio foretrækkes frem for albumin koncentration.
- Ved klinisk proteinuri (makroalbuminuri) bør udskillelsen kvantiteres ved døgnurin.
- Ved klinisk proteinuri bør der parallelt med U-albumin tilbydes mulighed for måling af U-protein, total.
- Kvantitative metoder er teknisk tilfredsstillende til påvisning af albuminuri og albumin/kreatinin-ratio bestemmelse.

## Alment om proteinuri/albuminuri

### *Fysiologi*

Ved proteinuri forstås udskillelsen af abnorme mængder protein i urinen. Selvom visse proteiner secernerer i tubuli, er den renale udskillelse af protein væsentligst betinget af balancen mellem glomerulær filtration efterfulgt af tubulær reabsorption af protein.

Man skelner mellem:

- *Glomerulær proteinuri*, primært betinget af øget glomerulær filtration af proteiner som led i en hyperfiltrationstilstand eller som følge af ændringer i den glomerulære filtrationsbarriere, karakteriseret ved øget udskillelse af større proteinmolekyler.
- *Tubulær proteinuri*, betinget af nedsat tubulær reabsorption. Sidstnævnte er karakteriseret ved isoleret, øget udskillelse af relativt lavmolekylære proteiner.

Albumin er det dominerende plasmaprotein og typisk det dominerende protein ved proteinuri. Den glomerulære filtration af albumin er under normale omstændigheder i størrelsesordenen 4-5 g/døgn mens udskillelsen i urinen normalt ikke overstiger 20 mg/døgn som følge af reabsorption og nedbrydning i nyrens proximale tubulus. Det er nyligt hævdet, at den glomerulære filtration af albumin er langt større end hidtil antaget, i størrelsesordenen >200 g/døgn, og at tilstande med selv svær albuminuri, inkl. nefrotisk syndrom, kan forklares alene ved en defekt tubulær reabsorption af intakt albumin. Endnu er dette dog ikke tilstrækkeligt dokumenteret og den kliniske betydning helt uafklaret. Ved HPLC har man kunnet påvise ikke-immunreaktive albuminfragmenter, der således ikke detekteres ved klassiske antistof-afhængige metoder, og det er på den baggrund hævdet, at total-udskillelsen af albumin hos raske er væsentligt højere. Den kliniske betydning heraf er dog fortsat uvis.

I det følgende anvendes følgende definitioner

- Proteinuri betegner udskillelsen af abnorme mængder protein i urinen.
- Albuminuri betegner udskillelsen af abnorme mængder albumin i urinen.
- Klinisk proteinuri betegner udskillelsen af  $\geq 300$  mg albumin i urinen pr døgn og er identisk med begrebet makroalbuminuri, som anvendes i diabetologien.
- Mikroalbuminuri betegner let forhøjet udskillelse af albumin i urinen (se tabel i afsnittet rekommandationer).

### *Klinisk betydning*

Tilstedeværelse og kvantitering af proteinuri er afgørende for diagnostik og behandlingsvalg samt vurdering af behandlingsrespons, progression og prognose ved nyresygdomme samt ved en række graviditetsassocierede sygdomme (præeklampsi m.v.). Påvisning af mikroalbuminuri er betydende for valg af behandlingsstrategi ved diabetes. Mikroalbuminuri og albuminuri er associeret med endothelial dysfunktion og en risikofaktor for død og kardiovaskulær sygdom [99;100] og indgår således ved estimering af den kardiovaskulære risikoprofil ikke kun ved diabetes, men også f.eks. ved hypertension.

De aktuelle problemer i forbindelse med bestemmelse og fortolkning af protein- og albuminuri knytter sig til:

- Betydelig døgnvariation og dag-til-dag variation i den normale urin-proteinudskillelse.

- Betydelig variation i den rapporterede korrelation mellem forskellige estimater, og dermed usikkerhed om bedste opsamlingsmetode (morgenurin/spoturin/nat- eller døgnurin).
- Forskelle og usikkerheder i eksisterende definitioner og interventions-grænseværdier.

Nærværende rekommandationer sigter primært mod patienter med nefrologiske, diabetologiske eller kardio-vaskulære problemstillinger, men kan formodentligt med fordel anvendes også i andre populationer.

### ***Proteinuri eller albuminuri***

Historisk har man oprindeligt bestemt total protein i urinen (proteinuri) og senere specifikt albumin (albuminuri). Analysen af total protein lader sig ikke standardisere og de anvendte metoder har forskellig følsomhed for de proteiner, der forekommer i urinen. Der anbefales derfor, at der primært bestemmes U-albumin frem for U-protein, total. Selvom der er god korrelation mellem urin albumin- og proteinudskillelsen [101;102], foreligger der ingen studier, der direkte sammenligner værdien af proteinuri versus albuminuri ved diagnostik eller vurdering af prognose ved nyre- eller anden sygdom. Måling af total protein-udskillelse i urinen bør derfor fortsat kunne tilbydes parallelt med måling af U-albumin udskillelsen. Det anbefales, at iværksætte fremadrettede undersøgelser med parallelbestemmelse af U-albumin udskillelse og total U-protein udskillelse indenfor en række sygdomstilstande med klinisk proteinuri/ albuminuri med det formål at etablere et rationelt grundlag for en vurdering af, om total-protein udskillelsen i urinen også ved sværere tilfælde af proteinuri kan vurderes ved U-albumin udskillelse alene.

### ***Referenceområde for proteinuri/albuminuri***

Proteinudskillelsen varierer betydeligt fra dag til dag og over døgnet [103;104], bl.a. afhængig af stilling og fysisk aktivitet. Selv med døgnurinopsamlinger har det vist sig vanskeligt entydigt at definere en øvre grænse for det normale niveau. Man har hidtil skelnet mellem mikroalbumin og albuminuri eller proteinuri. Albuminuri var oprindeligt detekterbart med urinstix-metoder til påvisning af total protein, mens udskillelsen af albumin under denne grænse, men over det normale, blev kaldt mikroalbuminuri, og var associeret med udvikling af nefropati og kardiovaskulær sygdom og død. Imidlertid har albuminudskillelser under den definerede mikroalbuminurigrænse vist sig at være associeret med øget kardiovaskulær risiko og død [105;106], ligesom nye studier har vist, at såvel mikroalbuminuri som albuminuri er associeret med både øget kardiovaskulær sygdom og øget risiko for tab af nyrefunktion [107]. De nuværende grænseværdier samt skelnen mellem mikroalbuminuri og albuminuri repræsenterer således formodentligt ikke klinisk eller patofysiologisk forskellige entiteter, men forskellige grader af samme vaskulære og renale sygdomsmekanismer. Begreberne repræsenterer imidlertid almindeligt udbredte kliniske beslutningsgrænser og foreslås opretholdt, da et alment accepteret alternativ ikke foreligger for nuværende.

### ***Døgnurin eller spoturin***

Som følge af døgnvariation i urin-proteinudskillelsen udgør en ekskretionshastighed baseret på døgnurinopsamling den klassiske guld standard for bestemmelse af proteinuri uden, at der i øvrigt foreligger egentlig (pato)fysiologisk evidens for at vælge netop dette estimat. Opsamling af naturin (hvor udskillelsen ligger ca. 30 % lavere) eller andre tidsopsamlinger f.eks. i forbindelse med bestemmelse af GFR med eksterne markører er også anvendt. Af praktiske årsager, og på grund af muligheden for unøjagtig urinopsamling anvendes ofte spoturiner, enten som morgenurin eller som tilfældig spoturin. En spoturin protein-koncentrationsbestemmelse anses generelt for mindre pålidelig end døgnurinopsamlinger, blandt andet på grund af variation i urinvolumen. Estimer

baseret på protein/kreatinin ratio eller albumin/kreatinin ratio forsøger at korrigere for denne variation under antagelse af konstant kreatinin udskillelse.

### **Sammenlignende studier**

Hovedparten af de større, kliniske studier, hvor proteinuri eller albuminuri indgår som effektparameter, har anvendt døgnurinopsamlinger og kun få studier har sammenlignet værdien af døgnurinopsamling versus spoturin ved diagnostik eller vurdering af prognose ved nyre- eller anden sygdom. Et studie har vist, at morgen spoturin protein/kreatinin ratio hos kronisk nyresyge er en mindst lige så god prediktor for tab af nyrefunktion (GFR) som døgnurin protein bestemmelse [108].

### **Proteinuri**

En række studier har sammenlignet korrelationen mellem spoturin proteinkoncentration eller protein/kreatinin ratio og døgnurin protein-opsamlinger, hvor sidstnævnte *a priori* anses for at være det mest sikre, selvom problemerne med at opnå pålidelige opsamlinger og betydelige dag-til-dag variationer er velkendte [103].

- Undersøgelserne viser generelt god korrelation mellem protein/kreatinin ratio og døgnurin proteinudskillelse. Et review af 16 studier på meget forskellige patientpopulationer konkluderede, at protein/kreatinin ratio korrelerer med døgnurin proteinudskillelsen og pålideligt kan anvendes til at udelukke proteinuri trods forskellige cut-off værdier anvendt i de forskellige studier [109]
- Der er god korrelation både ved normal og nedsat nyrefunktion [110-123]. Enkelte studier har vist manglende korrelation mellem protein/kreatinin ratio og døgnurin protein ved svært nedsat nyrefunktion (kreatinin-clearance < 10 ml/min) [124].
- Korrelationen falder ved stigende proteinudskillelse [125-129].

Selvom morgen spot-protein/kreatinin ratio i visse [103;130], men ikke alle [131], studier synes at korrelere bedst med døgnurinprotein udskillelsen, og er fundet at variere mindst, er det vist, at en tilfældig spoturinprøve (morgen eller middag) giver et tilfredsstillende estimat af døgnurin proteinudskillelsen [132]. Dette gælder tilsyneladende uanset, at døgnvariationen i proteinudskillelsen er betydeligt større end døgnvariationen i kreatininudskillelsen [103].

### **Mikroalbuminuri**

- Der er god korrelation mellem forhøjet spoturin albumin/kreatinin ratio og forekomsten af mikroalbuminuri ved døgnurinopsamling [133-137]. Et review af 10 studier viste, at albumin/kreatinin ratio er en acceptabel metode til screening for mikroalbuminuri hos patienter med diabetes [138] uanset betydelig variation i albumin/kreatinin ratio over døgnet [139].
- Albuminkoncentrationen i en morgen spoturin er i flere studier vist at være acceptabel og på højde med albumin/kreatinin ratio til screening for mikroalbuminuri i den almene befolkning [140;141], hos patienter med diabetes [142-144] og patienter med hypertension [145].
- Det er vist, at der er køns- såvel som aldersvariation i kreatininudskillelsen og på den baggrund differentierede referenceintervaller for albumin/kreatinin ratio [146-149]. Imidlertid foreligger endnu ikke dokumenteret effekt af interventioner baseret på alders/kønscorrigerede intervaller.

## Kontrol af nyresygdom

Der foreligger ikke tilstrækkelige undersøgelser af værdien af protein/kreatinin ratio sammenlignet med døgnurinproteinudskillelsen i forbindelse med kontrol af sygdom og behandling. Meget få studier har analyseret sammenhængen mellem protein/kreatinin ratio og døgnurinproteinudskillelsen over tid. Et studie på nyretransplanterede rapporterede god korrelation mellem protein/kreatinin ratio og døgnudskillelsen af protein inden for en to-årig periode [150], mens et ældre studie har vist betydelig disconcordans mellem samme over 3 måneder hos patienter med diabetisk nefropati [151].

## Gravide

Divergerende resultater er rapporteret vedrørende estimering af proteinuri hos gravide.

- Generelt er fundet god association mellem protein/kreatinin ratio og døgnurinproteinudskillelse [152-161].
- De fleste studier har endvidere vist høj sensitivitet og specificitet af protein/kreatinin ratio ved diagnostik af signifikant proteinuri [156;162-164], om end andre bedømmer denne som utilstrækkelig [165-167].

## Rekommandationer

- Bestemmelse af albumin i urinen bør anvendes som den primære analyse ved screening og monitorering af proteinuri
- For nuværende anbefales ikke brugen af køns- og alderskorrigerede referenceintervaller. Følgende definitioner og enheder anbefales [168]:

	Døgnurin	Spoturin	Albumin/kreatinin-ratio
Normal albuminudskillelse	< 30 mg/døgn	< 20 mg/l	< 30 mg/g
Mikroalbuminuri	30-299 mg/døgn	20-199 mg/l	30-299 mg/g
Klinisk proteinuri	≥ 300 mg/døgn	≥ 200 mg/l	≥ 300 mg/g

- Albumin/kreatinin ratio i spoturin anbefales til undersøgelse for albuminuri. En frisk morgenurin bør foretrækkes, men en tilfældig spoturin kan alternativt anvendes
- Såfremt albumin/kreatinin ratio ikke er umiddelbart tilgængelig kan en morgen spoturin albuminkoncentration anvendes til screening. En positiv test bør bekræftes ved spoturin albumin/kreatinin ratio.
- En positiv test bør gentages. To positive af 3 tests bekræfter diagnosen
- Ved monitorering af sygdom og behandling bør albumin/kreatinin ratio foretrækkes frem for albumin koncentration.
- Ved klinisk proteinuri (makroalbuminuri) bør albumin- eller proteinudskillelsen kvantiteres ved døgnurin.

## Metoder til bestemmelse af proteinuri/albuminuri

Bestemmelse af U-albumin, U-protein og U-kreatinin kan udføres med

- Point-Of-Care Test (POCT)
  - Stix til semikvantitativ bestemmelse
  - Testudstyr til kvantitativ bestemmelse
- Laboratoriemetoder

Ved anvendelse af stix eller POCT udstyr er der således mulighed for at udføre analyse på sengeafdelinger, i ambulatorier og hos praktiserende læger. Anvendelse af stix giver semikvantitativ bestemmelse af komponenterne, mens patientnært testudstyr samt laboratoriemetoder kvantiterer indholdet.

### *Point of care test (POCT)*

#### **Stix**

##### *U-albumin*

Stix til semikvantitativ bestemmelse af U-albumin kan påvise koncentrationer fra 10 eller 20 mg/l og dermed i et område svarende til mikroalbuminuri. Stixene kan altid aflæses visuelt, men afhængig af fabrikat findes også aflæsningsudstyr. Stix til aflæsning i udstyr kan være forsynet med et stixfelt til kreatinin, hvorved albumin/kreatinin ratio beregnes. Sensitivitet for påvisning af mikroalbuminuri er formodentlig mindre end 95% [169-171], og opfylder dermed ikke kravene i Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus [172]

##### *U-protein*

Stix til semikvantitativ bestemmelse af den totale koncentration af protein er først følsomme for albumin i området mellem 100 og 300 mg/l. De er således ikke anvendelige til at påvise mikroalbuminuri. Følsomheden for andre proteiner som globuliner og mucoproteiner er endnu mindre, idet de først påvises ved koncentrationer fra ca. 600 mg/l. Flere studier har vist lav sensitivitet og specificitet for proteinuri, specielt i populationer med høj prævalens af proteinuri [119;173;174].

#### **Testudstyr**

##### *U-albumin og U-kreatinin*

Der findes udstyr, som alene kvantiterer U-albumin og andre, der også kvantiterer U-kreatinin, så U-albumin/kreatinin ratio kan beregnes. Nedre målegrænse for albumin-metoderne er metodeafhængig, men ligger mellem 5 og 10 mg/l, mens øvre målegrænse ligger mellem 150 og 300 mg/l. Måleområder for kreatinin-metoderne er ligeledes metodeafhængige, nedre grænse ligger mellem 1,3 og 1,5 mmol/l, mens øvre grænse ligger mellem 30 og 44 mmol/l. Resultater på kreatinin kan omregnes fra mmol til g, således at U-albumin/kreatinin ratio kan opgives i enheden mg/g. Resultater kan rapporteres i området fra 1 mg/g til 1200 mg/g.

Albumin-metoderne er sporbare til CRM 470 (serumbaseret Certified Reference Material) og til SRM 914 (Serum Reference Material) mht U-kreatinin.

Analytiske variationskoefficienter angives til under 10% for U-albumin og under 5% for U-kreatinin.

## **Laboratoriemetoder**

### *U-albumin*

Rutinemæssig bestemmelse af albumin i urinprøver udføres på fuldautomatisk udstyr. Metoderne er sporbare til CRM 470 (serumbaseret Certified Reference Material). Der anvendes således ligesom ved POCT-testudstyr et referencemateriale baseret på plasma. Både referencemateriale og -metode til bestemmelse af U-albumin savnes på nuværende tidspunkt, men i 2008 er der i samarbejde mellem IFCC<sup>2</sup> og NKDEP<sup>3</sup> nedsat en arbejdsgruppe, som skal etablere en referencemetode til bestemmelse af U-albumin.

Metodernes nedre målegrænse ligger mellem 1,3 og 6 mg/l. Den øvre grænse mellem 100 og 500 mg/l, men de fleste metoder har en udvidet øvre grænse efter fortynding. For flere af metoderne gælder at antistoffet kan komme i underskud ved meget høje koncentrationer af albumin, hvilket medfører underbestemmelse af albuminindholdet. I disse tilfælde anbefales, at urinerne undersøges for forekomst af store mængder protein inden analyse.

I måleområdet mellem 10 og 25 mg/l angives analytiske variationskoefficienter at ligge mellem 5 og 10%, mens de i området over 25 mg/l angives at ligge under 5%.

### *U-protein*

Metoderne angives at have sporbarhed til NIST SRM927c (serumbaseret Standard Reference Material). Dette materiale er deklareret som total protein standard, men er en 7% albumin opløsning. Metoderne underbestemmer globuliner med ca. 30% i forhold til albumin.

Det er hverken muligt at udarbejde en referencemetode eller -materiale til U-protein, da sammensætning af protein-forekomsten ikke kan standardiseres. Derfor må bestemmelse af det specifikke protein, albumin, foretrækkes.

## **Kvalitetskrav**

Analytiske kvalitetskrav fastsættes ofte ud fra den analyserede komponents intra- og interindividuelle biologiske variation [175].

### *U-albumin*

Som tidligere omtalt er der betydelige variationer i albuminudskillelsen. Den intra- og den interindividuelle variation er således estimeret til hhv. 36% og 55% for analyser på morgenurin [176]. For U-albumin/kreatinin ratio i morgenurin angives den intraindividuelle variation til 31% [177]. Med en anslået variation i kreatininbestemmelsen på 5%, kan den tilladte analytiske variationskoefficient for U-albumin, når den indgår i ratio med U-kreatinin beregnes til 15% [178]. Krav til U-albumin metoder kan derfor udtrykkes som

- analytisk variationskoefficient < 15%
- bias <16%.

### *Vurdering*

Både kvantitative POCT-metoder og laboratoriemetoder skal opfylde krav til analytisk imprecision, og bias. Krav til analytisk variationskoefficient vurderes at være opfyldt for metoder til U-albumin. Et nordisk kvalitetssikringsprogram viser imidlertid forskelle mellem metoder til U-albuminbestemmelse selv om sporbarhed til samme referencemateriale anføres, og det er derfor vanskeligt

<sup>2</sup> IFCC = International Federation of Clinical Chemistry

<sup>3</sup> NKDEP = National Kidney Disease Education Programme



at vurdere de enkelte metoders bias. En metodes bias og imprecision har sammen med den biologiske variation betydning, når værdier sammenlignes med fastsatte beslutningsgrænser.

### ***Prøvemateriale***

#### **Holdbarhed**

Urinprøver til U-albumin-og/eller U-kreatinin-bestemmelse har minimum holdbarhed i 2 døgn ved stuetemperatur. Det er således muligt at måle på en morgen-urinprøve, hvis den medbringes i konsultationen, ligesom det er muligt at opsamle døgnurin..

#### ***Fejlkilder***

Det er almindeligt anerkendt, at undersøgelse for blod og protein/albumin i urinen hos kvinder ikke bør foregå i forbindelse med menstruel blødning pga. risikoen for kontamination.

Det er vist i et mindre studie, at coitus kan medføre positiv urinstix for protein hos op mod ¼ af de undersøgte mænd, men ingen af de undersøgte kvinder [179]. Man anbefaler på baggrund af undersøgelsen, at der bør gå 12 timer fra coitus til vandladningen.

Undersøgelse for proteinuri/albuminuri betragtes oftest som inkonklusiv ved samtidig urinvejsinfektion. Et review af tidligere publicerede undersøgelser konkluderer, at der foreligger evidens for at symptomatisk, men ikke asymptomatisk, urinvejsinfektion er associeret med proteinuri/albuminuri [180]

#### ***Rekommandationer***

- Kvantitative metoder foretrækkes, da de er teknisk tilfredsstillende til påvisning af albuminuri, proteinuri og albumin/kreatinin-ratio bestemmelse.
- En referencemetode til bestemmelse af albumin i urinprøver bør etableres.

## Algoritme til screening for albuminuri

Spoturin

1. valg

Udfør

Morgen U-albumin/U-kreatinin ratio (AKR)

< 30 mg/g

30 –299 mg/g

≥ 300 mg/g

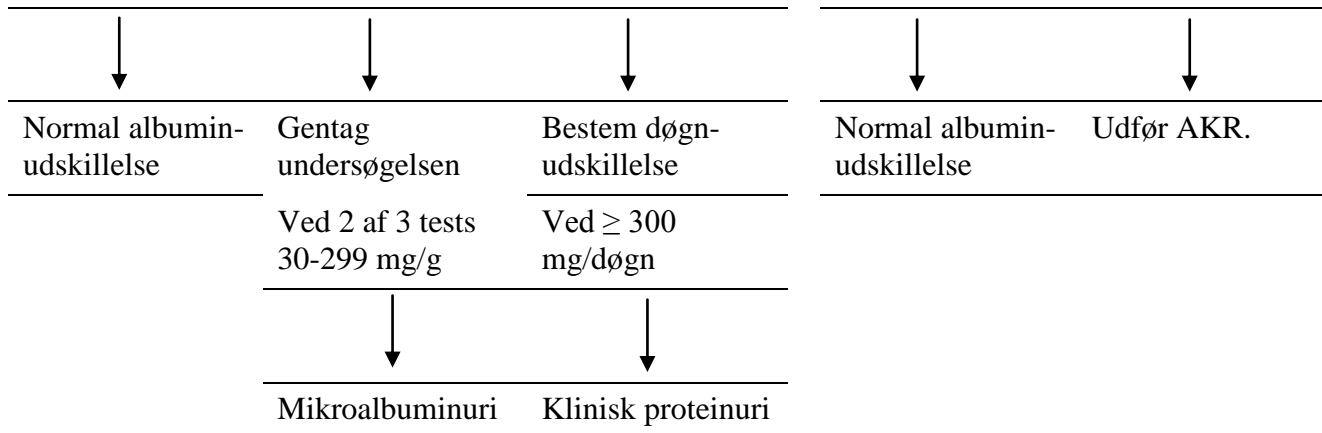
2. valg

Udfør

Morgen U-albumin-koncentration

< 20 mg/l

≥ 20 mg/l



## **Afsluttende kommentarer til vurdering af proteinuri**

De opstillede rekommandationer giver en anbefaling for screening og monitorering af proteinuri/albuminuri. Der er ligeledes anbefalet en bestemt enhed til svar på albumin/kreatinin ratio for at gøre svarene entydige. Der er fastholdt de velkendte beslutningsgrænser for mikroalbuminuri og klinisk proteinuri (makroalbuminuri) velvidende at de ikke er fysiologisk bestemte. Der findes videnskabelig dokumentation for at bruge beslutningsgrænserne til behandlingsvalg. Endelig er givet en anbefaling for, hvornår bestemmelse af døgnudskillelse er indiceret. For nuværende kan ikke anbefales brugen af køns- og alderskorrigerede referenceintervaller. De opstillede rekommandationer ligger formodentlig tæt op ad den anvendte kliniske praksis.

## Referenceliste

1. Toto RD: Conventional measurement of renal function utilizing serum creatinine, creatinine clearance, inulin and para-aminohippuric acid clearance. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 4:505-509, 1995
2. Brochner-Mortensen J, Jensen S, Rodbro P: Delimitation of plasma creatinine concentration values for assessment of relative renal function in adult patients. *Scand J Urol Nephrol* 11:257-262, 1977
3. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1-266, 2002
4. Brøchner-Mortensen J: *Routine methods and their reliability for assessment of glomerular filtration rate in adults, with special reference to total [51Cr]EDTA plasma clearance*. Copenhagen, Denmark, Lægeforeningens Forlag, 1978
5. Thomsen HS, Hvid-Jacobsen K: Estimation of glomerular filtration rate from low-dose injection of iohexol and a single blood sample. *Invest Radiol* 26:332-336, 1991
6. Rehling M: *[Assessment of renal function by single injection of <sup>99m</sup>Tc-DTPA] Kliniske nyrefunktionsundersøgelser. Med enkelt-injektion af <sup>99m</sup>Tc-DTPA*. Aarhus, Denmark, Linde Tryk, 1993
7. Kamper AL, Nielsen SL: 51Cr-EDTA plasma clearance in severe renal failure determined by one plasma sample. *Scand J Clin Lab Invest* 49:555-559, 1989
8. Rehling M, Stadeager C, et al: Measurement of glomerular filtration rate in patients with ascites, in *Radionuclides in Nephrourology*, edited by Thomsen HS, Nally J, Britton K, Frøkiær J, Copenhagen, Denmark, FADL, 1998, pp 114-118
9. Payne RB: Creatinine clearance: a redundant clinical investigation. *Ann Clin Biochem* 23:243-250, 1986
10. Walser M: Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 32:23-31, 1998
11. Ricos C, Jimenez CV, Hernandez A *et al.*: Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clin Chem* 40:472-477, 1994
12. Miller BF, Winkler AW: The renal excretion of endogenous creatinine in man: Comparison with exogenous creatinine and insulin. *J Clin Invest* 17:31-40, 1938
13. van Acker BAC, Koome GCM, Koopman MG *et al.*: Creatinine clearance during cimetidine administration for measurement of glomerular filtration rate. *lanc* 340:1326-1329, 1992
14. Ricos C, Jimenez CV, Hernandez A *et al.*: Biological variation in urine samples used for analyte measurements. *Clin Chem* 40:472-477, 1994
15. Rustad P, Felding P, Franzson L *et al.*: The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest* 64:271-284, 2004
16. Jones CA, McQuillan GM, Kusek JW *et al.*: Serum creatinine levels in the US population: third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 32:992-999, 1998
17. Goldman R: Creatinine excretion in renal failure. *Proc Soc Exp Biol Med* 85:446-448, 1954

18. Borsook H, Dubnoff JW: The hydrolysis of phosphocreatinine and the origin of urinary creatinine. *J Biol Chem* 168:493-510, 1947
19. Goldman R: Creatinine excretion in renal failure. *Proc Soc Exp Biol Med* 85:446-448, 1954
20. Heymsfield SB, Arteaga C, McManus C *et al.*: Measurement of muscle mass in humans: validity of the 24-hour urinary creatinine method. *Am J Clin Nutr* 37:478-494, 1983
21. Johnson D: The CARI guidelines. Evaluation of renal function. *Nephrology (Carlton)* 10 Suppl 4:S133-S176, 2005
22. Kampmann J, Siersbaek-Nielsen K, Kristensen M, Hansen JM: Rapid evaluation of creatinine clearance. *Acta Med Scand* 196:517-520, 1974
23. Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16:31-41, 1976
24. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB *et al.*: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 130:461-470, 1999
25. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB *et al.*: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 130:461-470, 1999
26. Levey AS, Coresh J, Greene T *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* 145:247-254, 2006
27. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1-S266, 2002
28. Johnson D: The CARI guidelines. Evaluation of renal function. *Nephrology (Carlton)* 10 Suppl 4:S133-S176, 2005
29. Joint Specialty Committee on Renal Medicine of the Royal College of Physicians and the Renal Association at RCoGP: *Chronic kidney disease in adults: UK guidelines for identification, management and referral*. London, UK, Royal College of Physicians, 2006
30. Prigent A: Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Semin Nucl Med* 38:32-46, 2008
31. Rossing P, Rossing K, Gaede P *et al.*: Monitoring kidney function in type 2 diabetic patients with incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 29:1024-1030, 2006
32. Richards N, Harris K, Whitfield M *et al.*: The impact of population-based identification of chronic kidney disease using estimated glomerular filtration rate (eGFR) reporting. *Nephrol Dial Transplant* 23:556-561, 2008
33. Prigent A: Monitoring renal function and limitations of renal function tests. *Semin Nucl Med* 38:32-46, 2008
34. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A: The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 34:571-590, 1987
35. Wuyts B, Bernard D, Van den NN *et al.*: Reevaluation of formulas for predicting creatinine clearance in adults and children, using compensated creatinine methods. *Clin Chem* 49:1011-1014, 2003
36. Appel LJ, Champagne CM, Harsha DW *et al.*: Effects of comprehensive lifestyle modification on blood pressure control: main results of the PREMIER clinical trial. *JAMA* 289:2083-2093, 2003

37. Van LF, Suit P: Assessment of renal function by serum creatinine and creatinine clearance: glomerular filtration rate estimated by four procedures. *Clin Chem* 35:2326-2330, 1989
38. Coresh J, Astor BC, McQuillan G *et al.*: Calibration and random variation of the serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 39:920-929, 2002
39. Miller WG, Myers GL, Ashwood ER *et al.*: Creatinine measurement: state of the art in accuracy and interlaboratory harmonization. *Arch Pathol Lab Med* 129:297-304, 2005
40. Myers GL, Miller WG, Coresh J *et al.*: Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 52:5-18, 2006
41. Myers GL, Miller WG, Coresh J *et al.*: Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 52:5-18, 2006
42. Olesen H: Kompendium i laboratoriemedicin Amtsrådsforeningen, 1988,
43. Junge W, Wilke B, Halabi A, Klein G: Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffe method. *Clin Chim Acta* 344:137-148, 2004
44. Grubb A, Lofberg H: Human gamma-trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79:3024-3027, 1982
45. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A *et al.*: Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J* 268:287-294, 1990
46. Simonsen O, Grubb A, Thysell H: The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 45:97-101, 1985
47. Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K: Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scand J Clin Lab Invest* 56:409-414, 1996
48. Nilsson-Ehle P, Grubb A: New markers for the determination of GFR: iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney Int Suppl* 47:S17-S19, 1994
49. Grubb A: Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 38 Suppl 1:S20-S27, 1992
50. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ *et al.*: Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem* 45:1856-1858, 1999
51. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH: Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 36:393-397, 1998
52. Finney H, Bates CJ, Price CP: Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 29:75-94, 1999
53. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ *et al.*: Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem* 45:1856-1858, 1999
54. Vinge E, Lindergard B, Nilsson-Ehle P, Grubb A: Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest* 59:587-592, 1999

55. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH: Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 36:393-397, 1998
56. Sjostrom P, Tidman M, Jones I: Determination of the production rate and non-renal clearance of cystatin C and estimation of the glomerular filtration rate from the serum concentration of cystatin C in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 65:111-124, 2005
57. Vinge E, Lindergard B, Nilsson-Ehle P, Grubb A: Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest* 59:587-592, 1999
58. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G: Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 40:221-226, 2002
59. Coll E, Botey A, Alvarez L *et al.*: Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis* 36:29-34, 2000
60. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G: Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 40:221-226, 2002
61. Randers E, Erlandsen EJ, Pedersen OL *et al.*: Serum cystatin C as an endogenous parameter of the renal function in patients with normal to moderately impaired kidney function. *Clin Nephrol* 54:203-209, 2000
62. Fliser D, Ritz E: Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis* 37:79-83, 2001
63. Kottgen A, Selvin E, Stevens LA *et al.*: Serum cystatin C in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis* 51:385-394, 2008
64. Thomassen SA, Johannesen IL, Erlandsen EJ *et al.*: Serum cystatin C as a marker of the renal function in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 40:524-528, 2002
65. Cholongitas E, Shusang V, Marelli L *et al.*: Review article: renal function assessment in cirrhosis - difficulties and alternative measurements. *Aliment Pharmacol Ther* 26:969-978, 2007
66. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF: Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 116:85-97, 2007
67. Helin I, Axenram M, Grubb A: Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 49:221-225, 1998
68. Zaffanello M, Franchini M, Fanos V: Is serum Cystatin-C a suitable marker of renal function in children? *Ann Clin Lab Sci* 37:233-240, 2007
69. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG *et al.*: Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 47:312-318, 1995
70. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG *et al.*: Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 47:312-318, 1995
71. Flodin M, Jonsson AS, Hansson LO *et al.*: Evaluation of Gentian cystatin C reagent on Abbott Ci8200 and calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min/1.73 m<sup>2</sup> from the cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest* 67:560-567, 2007
72. Finney H, Newman DJ, Gruber W *et al.*: Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 43:1016-1022, 1997

73. Finney H, Newman DJ, Gruber W *et al.*: Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem* 43:1016-1022, 1997
74. Bandaranayake N, nkrah-Tetteh T, Wijeratne S, Swaminathan R: Intra-individual variation in creatinine and cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 45:1237-1239, 2007
75. Delanaye P, Cavalier E, Depas G *et al.*: New data on the intraindividual variation of cystatin C. *Nephron Clin Pract* 108:c246-c248, 2008
76. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW: Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 44:1535-1539, 1998
77. Helin I, Axenram M, Grubb A: Serum cystatin C as a determinant of glomerular filtration rate in children. *Clin Nephrol* 49:221-225, 1998
78. Erlandsen EJ, Randers E, Kristensen JH: Reference intervals for serum cystatin C and serum creatinine in adults. *Clin Chem Lab Med* 36:393-397, 1998
79. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ *et al.*: Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem* 45:1856-1858, 1999
80. Randers E, Erlandsen EJ, Pedersen OL *et al.*: Serum cystatin C as an endogenous parameter of the renal function in patients with normal to moderately impaired kidney function. *Clin Nephrol* 54:203-209, 2000
81. Finney H, Bates CJ, Price CP: Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 29:75-94, 1999
82. Finney H, Bates CJ, Price CP: Plasma cystatin C determinations in a healthy elderly population. *Arch Gerontol Geriatr* 29:75-94, 1999
83. Tidman M, Sjostrom P, Jones I: A Comparison of GFR estimating formulae based upon s-cystatin C and s-creatinine and a combination of the two. *Nephrol Dial Transplant* 23:154-160, 2008
84. Grubb A, Nyman U, Bjork J *et al.*: Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 51:1420-1431, 2005
85. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT: A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 18:2024-2031, 2003
86. Filler G, Lepage N: Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol* 18:981-985, 2003
87. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH *et al.*: Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis* 51:395-406, 2008
88. Tidman M, Sjostrom P, Jones I: A Comparison of GFR estimating formulae based upon s-cystatin C and s-creatinine and a combination of the two. *Nephrol Dial Transplant* 23:154-160, 2008
89. Fricker M, Wiesli P, Brandle M *et al.*: Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int* 63:1944-1947, 2003
90. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR: Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clin Chem* 47:2055-2059, 2001



91. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D *et al.*: Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 65:1416-1421, 2004
92. Section I. Measurement of renal function, when to refer and when to start dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 17 Suppl 7:7-15, 2002
93. Bauer C, Melamed ML, Hostetter TH: Staging of chronic kidney disease: time for a course correction. *J Am Soc Nephrol* 19:844-846, 2008
94. Richards N, Harris K, Whitfield M *et al.*: The impact of population-based identification of chronic kidney disease using estimated glomerular filtration rate (eGFR) reporting. *Nephrol Dial Transplant* 23:556-561, 2008
95. Richards N, Harris K, Whitfield M *et al.*: The impact of population-based identification of chronic kidney disease using estimated glomerular filtration rate (eGFR) reporting. *Nephrol Dial Transplant* 23:556-561, 2008
96. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1-266, 2002
97. Myers GL, Miller WG, Coresh J *et al.*: Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 52:5-18, 2006
98. Johnson D: The CARI guidelines. Evaluation of renal function. *Nephrology (Carlton)* 10 Suppl 4:S133-S176, 2005
99. de Jong PE, Gansevoort RT, Bakker SJ: Macroalbuminuria and microalbuminuria: do both predict renal and cardiovascular events with similar strength? *J Nephrol* 20:375-380, 2007
100. Weir MR: Microalbuminuria and cardiovascular disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2:581-590, 2007
101. Atkins RC, Briganti EM, Zimmet PZ, Chadban SJ: Association between albuminuria and proteinuria in the general population: the AusDiab Study. *Nephrol Dial Transplant* 18:2170-2174, 2003
102. Newman DJ, Thakkar H, Medcalf EA *et al.*: Use of urine albumin measurement as a replacement for total protein. *Clin Nephrol* 43:104-109, 1995
103. Koopman MG, Krediet RT, Koomen GC *et al.*: Circadian rhythm of proteinuria: consequences of the use of urinary protein:creatinine ratios. *Nephrol Dial Transplant* 4:9-14, 1989
104. Koopman MG, Koomen GC, Krediet RT *et al.*: Circadian rhythm of glomerular filtration rate in normal individuals. *Clin Sci (Lond)* 77:105-111, 1989
105. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF *et al.*: Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 106:1777-1782, 2002
106. Klausen K, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen B *et al.*: Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabetes. *Circulation* 110:32-35, 2004
107. de Jong PE, Gansevoort RT, Bakker SJ: Macroalbuminuria and microalbuminuria: do both predict renal and cardiovascular events with similar strength? *J Nephrol* 20:375-380, 2007
108. Ruggenenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G: Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ* 316:504-509, 1998

109. Price CP, Newall RG, Boyd JC: Use of protein:creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: a systematic review. *Clin Chem* 51:1577-1586, 2005
110. Xin G, Wang M, Jiao LL *et al.*: Protein-to-creatinine ratio in spot urine samples as a predictor of quantitation of proteinuria. *Clin Chim Acta* 350:35-39, 2004
111. Christopher-Stine L, Petri M, Astor BC, Fine D: Urine protein-to-creatinine ratio is a reliable measure of proteinuria in lupus nephritis. *J Rheumatol* 31:1557-1559, 2004
112. Morales JV, Weber R, Wagner MB, Barros EJ: Is morning urinary protein/creatinine ratio a reliable estimator of 24-hour proteinuria in patients with glomerulonephritis and different levels of renal function? *J Nephrol* 17:666-672, 2004
113. Steinhauslin F, Wauters JP: Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. *Clin Nephrol* 43:110-115, 1995
114. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z *et al.*: The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 26:904-909, 1995
115. Torng S, Rigatto C, Rush DN *et al.*: The urine protein to creatinine ratio (P/C) as a predictor of 24-hour urine protein excretion in renal transplant patients. *Transplantation* 72:1453-1456, 2001
116. Chitalia VC, Kothari J, Wells EJ *et al.*: Cost-benefit analysis and prediction of 24-hour proteinuria from the spot urine protein-creatinine ratio. *Clin Nephrol* 55:436-447, 2001
117. Ralston SH, Caine N, Richards I *et al.*: Screening for proteinuria in a rheumatology clinic: comparison of dipstick testing, 24 hour urine quantitative protein, and protein/creatinine ratio in random urine samples. *Ann Rheum Dis* 47:759-763, 1988
118. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S: Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 309:1543-1546, 1983
119. Gai M, Motta D, Giunti S *et al.*: Comparison between 24-h proteinuria, urinary protein/creatinine ratio and dipstick test in patients with nephropathy: patterns of proteinuria in dipstick-negative patients. *Scand J Clin Lab Invest* 66:299-307, 2006
120. Gaspari F, Perico N, Remuzzi G: Timed urine collections are not needed to measure urine protein excretion in clinical practice. *Am J Kidney Dis* 47:1-7, 2006
121. Lane C, Brown M, Dunsmuir W *et al.*: Can spot urine protein/creatinine ratio replace 24 h urine protein in usual clinical nephrology? *Nephrology (Carlton)* 11:245-249, 2006
122. Leung YY, Szeto CC, Tam LS *et al.*: Urine protein-to-creatinine ratio in an untimed urine collection is a reliable measure of proteinuria in lupus nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 46:649-652, 2007
123. Ruggenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G: Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ* 316:504-509, 1998
124. Xin G, Wang M, Jiao LL *et al.*: Protein-to-creatinine ratio in spot urine samples as a predictor of quantitation of proteinuria. *Clin Chim Acta* 350:35-39, 2004
125. Ruggenti P, Gaspari F, Perna A, Remuzzi G: Cross sectional longitudinal study of spot morning urine protein:creatinine ratio, 24 hour urine protein excretion rate, glomerular filtration rate, and end stage renal failure in chronic renal disease in patients without diabetes. *BMJ* 316:504-509, 1998

126. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z *et al.*: The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 26:904-909, 1995
127. Morales JV, Weber R, Wagner MB, Barros EJ: Is morning urinary protein/creatinine ratio a reliable estimator of 24-hour proteinuria in patients with glomerulonephritis and different levels of renal function? *J Nephrol* 17:666-672, 2004
128. Lane C, Brown M, Dunsmuir W *et al.*: Can spot urine protein/creatinine ratio replace 24 h urine protein in usual clinical nephrology? *Nephrology (Carlton)* 11:245-249, 2006
129. Polkinghorne KR: Detection and measurement of urinary protein. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 15:625-630, 2006
130. Xin G, Wang M, Jiao LL *et al.*: Protein-to-creatinine ratio in spot urine samples as a predictor of quantitation of proteinuria. *Clin Chim Acta* 350:35-39, 2004
131. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S: Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 309:1543-1546, 1983
132. Chitalia VC, Kothari J, Wells EJ *et al.*: Cost-benefit analysis and prediction of 24-hour proteinuria from the spot urine protein-creatinine ratio. *Clin Nephrol* 55:436-447, 2001
133. Assadi FK: Quantitation of microalbuminuria using random urine samples. *Pediatr Nephrol* 17:107-110, 2002
134. Kruseman AC, van den Berg BW, Degenaar CP, Wolfenbuttel BH: Screening for micro-albuminuria with Micro-Bumintest tablets and albumin/creatinine ratio. *Horm Metab Res Suppl* 26:71-5.:71-75, 1992
135. Eshoj O, Feldt-Rasmussen B, Larsen ML, Mogensen EF: Comparison of overnight, morning and 24-hour urine collections in the assessment of diabetic microalbuminuria. *Diabet Med* 4:531-533, 1987
136. Nathan DM, Rosenbaum C, Protasowicki VD: Single-void urine samples can be used to estimate quantitative microalbuminuria. *Diabetes Care* 10:414-418, 1987
137. Jensen JS, Clausen P, Borch-Johnsen K *et al.*: Detecting microalbuminuria by urinary albumin/creatinine concentration ratio. *Nephrol Dial Transplant* 12 Suppl 2:6-9.:6-9, 1997
138. Ewald B, Attia J: Which test to detect microalbuminuria in diabetic patients? A systematic review. *Aust Fam Physician* 33:565-7, 571, 2004
139. Townsend JC: Albumin to creatinine ratio: an unreliable index of 24 h albumin excretion in healthy adults. *N Z Med J* 100:66-67, 1987
140. Gansevoort RT, Verhave JC, Hillege HL *et al.*: The validity of screening based on spot morning urine samples to detect subjects with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int Suppl*S28-S35, 2005
141. Jafar TH, Chaturvedi N, Hatcher J, Levey AS: Use of albumin creatinine ratio and urine albumin concentration as a screening test for albuminuria in an Indo-Asian population. *Nephrol Dial Transplant* 22:2194-2200, 2007
142. Incerti J, Zelmanovitz T, Camargo JL *et al.*: Evaluation of tests for microalbuminuria screening in patients with diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 20:2402-2407, 2005
143. Ahn CW, Song YD, Kim JH *et al.*: The validity of random urine specimen albumin measurement as a screening test for diabetic nephropathy. *Yonsei Med J* 40:40-45, 1999

144. Hutchison AS, O'Reilly DS, MacCuish AC: Albumin excretion rate, albumin concentration, and albumin/creatinine ratio compared for screening diabetics for slight albuminuria. *Clin Chem* 34:2019-2021, 1988
145. Derhaschnig U, Kittler H, Woisetschlager C *et al.*: Microalbumin measurement alone or calculation of the albumin/creatinine ratio for the screening of hypertension patients? *Nephrol Dial Transplant* 17:81-85, 2002
146. de Jong PE, Curhan GC: Screening, monitoring, and treatment of albuminuria: Public health perspectives. *J Am Soc Nephrol* 17:2120-2126, 2006
147. Houlihan CA, Tsalamandris C, Akdeniz A, Jerums G: Albumin to creatinine ratio: a screening test with limitations. *Am J Kidney Dis* 39:1183-1189, 2002
148. Mattix HJ, Hsu CY, Shaykevich S, Curhan G: Use of the albumin/creatinine ratio to detect microalbuminuria: implications of sex and race. *J Am Soc Nephrol* 13:1034-1039, 2002
149. Bakker AJ: Detection of microalbuminuria. Receiver operating characteristic curve analysis favors albumin-to-creatinine ratio over albumin concentration. *Diabetes Care* 22:307-313, 1999
150. Torng S, Rigatto C, Rush DN *et al.*: The urine protein to creatinine ratio (P/C) as a predictor of 24-hour urine protein excretion in renal transplant patients. *Transplantation* 72:1453-1456, 2001
151. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z *et al.*: The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis* 26:904-909, 1995
152. Gonsales VE, Lopes Ramos JG, Martins-Costa SH, Muller AL: Variation in the urinary protein/creatinine ratio at four different periods of the day in hypertensive pregnant women. *Hypertens Pregnancy* 24:213-221, 2005
153. Risberg A, Larsson A, Olsson K *et al.*: Relationship between urinary albumin and albumin/creatinine ratio during normal pregnancy and pre-eclampsia. *Scand J Clin Lab Invest* 64:17-23, 2004
154. Yamasmit W, Chaithongwongwatthana S, Charoenvidhya D *et al.*: Random urinary protein-to-creatinine ratio for prediction of significant proteinuria in women with preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 16:275-279, 2004
155. Neithardt AB, Dooley SL, Borensztajn J: Prediction of 24-hour protein excretion in pregnancy with a single voided urine protein-to-creatinine ratio. *Am J Obstet Gynecol* 186:883-886, 2002
156. Ramos JG, Martins-Costa SH, Mathias MM *et al.*: Urinary protein/creatinine ratio in hypertensive pregnant women. *Hypertens Pregnancy* 18:209-218, 1999
157. Rodriguez-Thompson D, Lieberman ES: Use of a random urinary protein-to-creatinine ratio for the diagnosis of significant proteinuria during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 185:808-811, 2001
158. Robert M, Sepandj F, Liston RM, Dooley KC: Random protein-creatinine ratio for the quantitation of proteinuria in pregnancy. *Obstet Gynecol* 90:893-895, 1997
159. Leanos-Miranda A, Marquez-Acosta J, Romero-Arauz F *et al.*: Protein:creatinine ratio in random urine samples is a reliable marker of increased 24-hour protein excretion in hospitalized women with hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Chem* 53:1623-1628, 2007
160. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L: Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 104:1159-1164, 1997
161. Rizk DE, Agarwal MM, Pathan JY, Obineche EN: Predicting proteinuria in hypertensive pregnancies with urinary protein-creatinine or calcium-creatinine ratio. *J Perinatol* 27:272-277, 2007

162. Nisell H, Trygg M, Back R: Urine albumin/creatinine ratio for the assessment of albuminuria in pregnancy hypertension. *Acta Obstet Gynecol Scand* 85:1327-1330, 2006
163. Leanos-Miranda A, Marquez-Acosta J, Romero-Arauz F *et al.*: Protein:creatinine ratio in random urine samples is a reliable marker of increased 24-hour protein excretion in hospitalized women with hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Chem* 53:1623-1628, 2007
164. Saudan PJ, Brown MA, Farrell T, Shaw L: Improved methods of assessing proteinuria in hypertensive pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 104:1159-1164, 1997
165. Al RA, Baykal C, Karacay O *et al.*: Random urine protein-creatinine ratio to predict proteinuria in new-onset mild hypertension in late pregnancy. *Obstet Gynecol* 104:367-371, 2004
166. Wheeler TL, Blackhurst DW, Dellinger EH, Ramsey PS: Usage of spot urine protein to creatinine ratios in the evaluation of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 196:465-4, 2007
167. Durnwald C, Mercer B: A prospective comparison of total protein/creatinine ratio versus 24-hour urine protein in women with suspected preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 189:848-852, 2003
168. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 49:S12-S154, 2007
169. Sarafidis PA, Riehle J, Bogojevic Z *et al.*: A comparative evaluation of various methods for microalbuminuria screening. *Am J Nephrol* 28:324-329, 2008
170. Comper WD, Jerums G, Osicka TM: Deficiency in the detection of microalbuminuria by urinary dipstick in diabetic patients. *Diabetes Care* 26:3195-3196, 2003
171. Le Floch JP, Marre M, Rodier M, Passa P: Interest of Clinitek Microalbumin in screening for microalbuminuria: results of a multicentre study in 302 diabetic patients. *Diabetes Metab* 27:36-39, 2001
172. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE *et al.*: Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 48:436-472, 2002
173. Gangaram R, Ojwang PJ, Moodley J, Maharaj D: The accuracy of urine dipsticks as a screening test for proteinuria in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Pregnancy* 24:117-123, 2005
174. Polkinghorne KR: Detection and measurement of urinary protein. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 15:625-630, 2006
175. Ricos C, Alvarez V, Cava F *et al.*: Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 59:491-500, 1999
176. Ricos C, Alvarez V, Cava F *et al.*: Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 59:491-500, 1999
177. Howey JE, Browning MC, Fraser CG: Biologic variation of urinary albumin: consequences for analysis, specimen collection, interpretation of results, and screening programs. *Am J Kidney Dis* 13:35-37, 1989
178. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE *et al.*: Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 48:436-472, 2002
179. Domachevsky L, Grupper M, Shochat T, Adir Y: Proteinuria on dipstick urine analysis after sexual intercourse. *BJU Int* 97:146-148, 2006
180. Carter JL, Tomson CR, Stevens PE, Lamb EJ: Does urinary tract infection cause proteinuria or microalbuminuria? A systematic review. *Nephrol Dial Transplant* 21:3031-3037, 2006

