

DOCUMENTO DE CONSENSO: Implicancia de la Proteinuria en el Diagnóstico y Seguimiento de la Enfermedad Renal Crónica

Coordinación: Felipe Inserra, Margarita Angerosa

**Autores: Jorge R. Alegre, Alberto Alles, Margarita Angerosa,
María Eugenia Bianchi, Enrique Dorado, María Cecilia Etchegoyen,
Alicia Fayad, Gustavo Greloni, Felipe Inserra, Daniel Mazziotta,
Graciela Pennacchiotti, Guillermo Rosa Diez, Santiago Torales,
María Lía Torres, Federico Varela y Alberto Villagra.**



30 de Agosto de 2013

Resumen

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es una entidad clínica secundaria a múltiples etiologías, que se caracteriza por ser silente en etapas tempranas y, en ausencia de tratamiento adecuado, frecuentemente tiene un curso progresivo que conduce al fallo irreversible de la función del órgano y requerimiento de tratamiento sustitutivo (diálisis o trasplante renal). La ERC es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (CV), siendo ésta la complicación más frecuente, e inclusive la principal causa de fallecimiento de estos pacientes. Las dos causas más prevalentes de ERC son la diabetes *mellitus* y la hipertensión arterial. La ERC constituye un problema de Salud Pública, no sólo por la necesidad potencial de diálisis y trasplante a largo plazo, sino por la comorbilidad CV que implica desde etapas tempranas.

Nuestras Sociedades Científicas y Profesionales Nacionales han recomendado, en un documento previo publicado en el año 2010, que la evaluación de la función del riñón se haga mediante la estimación del índice de filtrado glomerular (IFGe) por fórmula, a partir de la medición de la creatinina plasmática. La fórmula recomendada por nuestras sociedades en los adultos es la MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*), en la cual el único parámetro medido es la determinación de la creatinina en sangre, más allá de recientes opiniones sobre la potencial superioridad de la fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*), particularmente cuando la afectación de la función es leve. De todas maneras e independientemente de cuál sea la mejor fórmula para utilizar, la valoración funcional renal es una imagen del estado funcional del riñón de ese momento, y las evidencias acumuladas demuestran que poco nos dice sobre la posibilidad evolutiva de esa situación funcional y clínica. La presencia de concentraciones elevadas de proteína o albúmina en orina de modo persistente es un signo de lesión renal y constituye, junto con el IFGe, la mejor estrategia sobre la que se sustenta el diagnóstico y pronóstico de la ERC.

Para determinar la pérdida de proteínas o albúmina en orina se pueden utilizar: tiras reactivas, en muestras de orina al azar, primera orina de la mañana, u orina de 24 horas, dependiendo de cuál sea la situación o momento clínico en el que estemos actuando, siendo diferente si estamos realizando una pesquisa poblacional, una confirmación diagnóstica especializada, en el seguimiento de un tratamiento clásico, o bien evaluando una nueva estrategia antiproteínúrica.

Cabe destacar que el uso de tiras reactivas para la determinación de proteínas totales en orina ha sido evaluado por distintos estudios, los cuales han comparado la exactitud diagnóstica de la tira reactiva frente a la medida de proteína en orina de 24 horas en poblaciones con alta prevalencia de proteinuria (reacciones positivas a partir de 1+). Sin embargo, los resultados muestran una sensibilidad y especificidad variable. Por ello, la mayoría de las guías de práctica clínica aconsejan la confirmación de un resultado positivo mediante una medida cuantitativa. Por otra parte, la medida semicuantitativa de albúmina a partir de tiras reactivas la cual se basa en métodos inmunológicos o no inmunológicos, es capaz de detectar pequeñas concentraciones de albúmina (límite de detección promedio 20 mg/L). Además, el valor predictivo positivo y negativo es variable dependiendo de la concentración utilizada para definir albuminuria. Teniendo en cuenta los conceptos mencionados, en los casos que se considere necesario valorar pequeñas cantidades de pérdida proteica por orina, debe medirse Albúmina urinaria y el cociente Albúmina/Creatinina, preferentemente en la primera orina de la mañana.

Cada situación clínica requiere conductas y metodologías preferenciales. Cuando pretendemos realizar la confirmación diagnóstica o el seguimiento de una enfermedad renal ya conocida, actualmente se recomienda el uso del cociente Albúmina/Creatinina o del cociente Proteína/Creatinina en la primera orina de la mañana en adultos y niños pequeños, y la orina de 24 h en niños con adecuado control de esfínteres. La concentración de proteína o albúmina en orina se recomienda que sea referida a la concentración de creatinina urinaria para minimizar los errores dependientes del volumen, y del estado de hidratación del paciente. La expresión de resultados será mg/g o bien mg/mmol, en función del tipo de unidades utilizadas por cada laboratorio. Los resultados se deberán expresar sin decimales (mg/g) o con un decimal (mg/mmol). Si las muestras no son procesadas el mismo día de la obtención, deben almacenarse a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta 7 días. Se recomienda abandonar el uso de los términos microalbuminuria y macroalbuminuria y sustituirse por el de albuminuria ya que la pérdida urinaria de albúmina constituye una variable continua de riesgo renal y cardiovascular. Este documento proporciona una visión general y actualizada sobre el rol de la proteinuria en el diagnóstico y seguimiento de la ERC.

Palabras clave: enfermedad renal crónica * diagnóstico de ERC * proteinuria * albuminuria * cociente albúmina/creatinina en orina * cociente proteína/creatinina en orina

Summary

Chronic kidney disease (CKD) is a clinical entity secondary to multiple etiologies, characterized by being still in its early stages and, without an adequate treatment, it frequently follows a progressive course that leads to an irreversible failure of the organ function and requires a substitute treatment (dialysis or renal transplant). CKD is a risk factor for cardiovascular disease (CV); this is the most frequent complication, representing the principal cause of death for these patients. The two most prevalent causes of CKD are diabetes mellitus and arterial hypertension. CKD constitutes a Public Health problem, not only because of its potential need for dialysis and transplant in the long run, but also for the cardiovascular co-morbidity implicated from its initial stages.

Our Scientific and Professional National Societies recommended, in a previous document published in 2010, that evaluation of the renal function be estimated by means of the glomerular filtrate index (GFI) by a formula, taking into account the measure of plasmatic creatinine. For our societies, the recommended formula in adults is MDRD (Modification of Diet in Renal Disease). In this one, the only parameter measured is determination of creatinine in blood; although recent opinions highlight the potential superiority of CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration), particularly when the renal function is slightly affected. However, disregarding which the best formula to be used is, the evaluation of the renal function is an image of the functional condition of the kidney at a specific time, and the accumulated evidences offer little or no possibility of knowing the evolution of the functional and clinical situation. The persistent presence of increased concentrations of protein or albumin in urine is a signal of renal injury and constitutes, together with GFI, the best strategy on which both diagnosis and prediction of CKD rely on.

In order to determine the loss of proteins or albumin in urine, test strips in urine samples taken at random or from first morning urine samples or from 24-hours urine samples were used depending on the clinical situation. It depends whether we are performing a population screening, a specialized diagnostic confirmation, the monitoring of a classic treatment or the evaluation of a new antiproteinuric strategy.

It should be highlighted that the use of test strips for the screening of total proteins in urine has already been evaluated by different means. These have compared the diagnostic precision of the test strip with the measure of protein in a 24-hour urine in populations with a high prevalence of proteinuria. However, the results show a variable sensitivity and specificity. That is why the majority of the clinical practice guides suggest the confirmation of a positive result by means of a quantitative measure. On the other hand, the semiquantitative measure of albumin by means of test strips based on immunological or non-immunological procedures is capable of detecting small concentrations of albumin (the mean of limit of detection is 20 mg/L). Moreover, the positive and negative predictive value is variable depending on the concentration used to define albuminuria. Taking into account the concepts mentioned above, in those cases that are considered necessary to evaluate small amounts of protein loss in urine, the determination of urinary albumin and of the albumin/creatinine ratio should be requested; preferably in the first morning urine.

Each clinical situation requires preferential handlings and methodologies. When trying to perform diagnostic confirmation or monitoring of the already existing kidney disease the use of albumin/creatinine ratio or protein/creatinine ratio in urine is recommended in the first morning urine in adults and little children, and in the 24-hour urine in children with adequate control of sphincters. It is recommended that the concentration of protein or albumin in urine be referred to the concentration of urinary creatinine to minimize the errors depending on the volume and on the hydration status of the patient. The results will be expressed in mg/g, or else mg/mmol, depending on the types of units used by each laboratory. The results should be expressed without decimals (mg/g) or with one decimal (mg/mmol). If the samples are not processed the same day of their collection, they should be stored at temperatures between 2 °C and 8 °C for 7 days. It is also advisable to avoid the use of the terms microalbuminuria and macroalbuminuria, and replace them by albuminuria, as the urinary loss of albumin constitutes a continuous variable of renal and cardiovascular risk. This document provides a general and updated vision of the role of proteinuria in the diagnosis and monitoring of CKD.

Key words: *chronic renal disease * diagnosis of CKD * proteinuria * albuminuria * albumin/creatinine ratio in urine * protein/creatinine ratio in urine*

Índice de contenidos

OBJETIVOS

INTRODUCCIÓN

PROTEINURIA

Tipos de Proteinuria

ALBUMINURIA

IMPLICANCIA DE LA VALORACIÓN DE LA PÉRDIDA DE PROTEÍNAS

Implicancia de la valoración de la Proteinuria

Implicancia de la valoración de la excreción alterada de Albúmina en orina

CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS EN LA EVALUACIÓN DE LA PROTEINURIA

CONDICIONES PREANALÍTICAS

Pacientes

Tipos de muestras

Conservación

CIRCUNSTANCIAS CLÍNICAS ASISTENCIALES EN LAS CUALES SE EVALÚA LA PÉRDIDA

DE PROTEÍNAS O DE ALBÚMINA EN ORINA

MÉTODOS PARA LA VALORACIÓN DE PROTEINURIA COMO TAMIZAJE

Tira reactiva para la detección de Proteínas en orina

Tira reactiva para la detección de Albúmina en orina

MÉTODOS CUANTITATIVOS PARA DETECTAR O CONFIRMAR PROTEINURIA

Métodos cuantitativos para la medida de Proteinuria

Métodos cuantitativos para la medida de Albuminuria

RECOMENDACIONES

Recomendaciones para la evaluación de la Proteinuria y/o Albuminuria

Referencias bibliográficas

Objetivos

La tarea principal de este Grupo de Trabajo fue desarrollar un plan de acción clínica dentro del marco de estrategias de diagnóstico, pronóstico y seguimiento de la ERC para prevenir su progresión y la aparición de eventos clínicos asociados. Para ello se definieron los siguientes objetivos específicos en este consenso:

- Definir los ámbitos clínicos y bioquímicos y las diferentes poblaciones en los que las pérdidas de Proteínas Totales en orina o de Albúmina urinaria deben ser valoradas.
- Proporcionar las recomendaciones para la detección y monitorización de la proteinuria como marcador de la presencia de ERC tanto en adultos como en niños
- Definir las indicaciones de determinación de Albuminuria, Proteinuria y de los cocientes Albúmina/Creatinina y Proteína/Creatinina urinarias en el tamizaje, diagnóstico y control de la evolución de la ERC.

- Definir el tipo de muestras de orina a utilizar para las determinaciones, la conservación de las mismas, los métodos bioquímicos y las unidades a utilizar para expresar los resultados.

Introducción

El crecimiento mundial de la enfermedad renal crónica (ERC) ha sido reportado reiteradamente en los últimos años, siendo su prevalencia estimada de más del 10% de la población adulta, según consta en los distintos estudios epidemiológicos incluyendo alguna información de nuestro país (1)(2). Sin embargo, cuando buscamos cuántos de los que presentan la enfermedad renal (ER) tienen conciencia o conocimiento de ello, nos encontramos con la sorpresa que lo saben menos del 10% de los individuos que la padecen. Esto se debe a varios factores concurrentes, sobresaliendo la característica de ser una enfermedad asintomática. Es por ello que se propone la búsqueda de la ERC en estado de salud

aparente, particularmente en las poblaciones que están en mayor riesgo de padecerla, como son los pacientes con Diabetes Mellitus (DM), con Hipertensión Arterial (HTA), individuos mayores de 60 años, pacientes con antecedentes familiares de ERC y aquellos con enfermedad cardiovascular (CV). Dentro de estas poblaciones de mayor riesgo, se estima que la prevalencia de ERC es del 20% entre hipertensos y del 35 al 40% en los diabéticos. En pediatría los antecedentes relevantes son: antecedentes prenatales (oligoamnios, ecografía renal patológica), perinatales (hipoxia, prematurez), reflujo vesicoureteral con infecciones urinarias recurrentes, y pacientes que padecieron síndrome urémico hemolítico. La búsqueda de marcadores de daño renal en pacientes de alto riesgo se debe realizar de manera sistemática, solicitando dos determinaciones de rutina en el laboratorio: creatinemia y análisis de orina. Estos estudios se realizan con algunos de los 2 objetivos siguientes: 1) buscar alteraciones de la función renal, a partir de la creatinina plasmática y posterior estimación del índice de filtración glomerular (IFGe) por fórmula, para mejorar su sensibilidad, como fue desarrollado en el documento de consenso previo (3). La fórmula de Schwartz hace referencia al cálculo del IFGe en pediatría (4). 2) lesión de la estructura del riñón, que se busca en el Análisis de Orina Completa, la detección de Proteinuria y/o Albuminuria mediante el uso de tiras reactivas y su posterior determinación cuantitativa toda vez que se obtenga un resultado positivo. Si dichas evaluaciones son normales podríamos prácticamente descartar la presencia de enfermedad renal o el riesgo de progresión.

Proteinuria

En condiciones normales, un individuo sano elimina por la orina entre 40-80 mg de proteína por día, de los cuales aproximadamente 10-15 mg corresponden a la albúmina y el resto está formado principalmente por la proteína de Tamm-Horsfall (5) y por pequeñas cantidades de otras proteínas de bajo peso molecular. En niños se considera proteinuria fisiológica a valores menores a 5 mg/kg/día ó 100 mg/m²/24h (compuesta por 40% de albúmina y 60% de otras proteínas). Cuando la muestra utilizada es una orina recolectada de manera aleatoria en reemplazo de una recolección de 24 horas, los resultados deben expresarse en forma de cociente entre la concentración de proteína y de creatinina en orina, al igual que cuando realizamos la búsqueda de albúmina en orina.

TIPOS DE PROTEINURIA

El aumento de la concentración de proteínas en orina puede ser el resultado de distintos mecanismos etiopatogénicos (6). Cada uno de ellos se asocia con una pro-

teinuria de características cuantitativas y cualitativas diferentes. La presencia de albúmina en orina expresa daño glomerular, siendo un factor de riesgo de progresión a ERC tanto en los adultos como también en los niños. La presencia en orina de proteínas de bajo peso molecular (β 2-microglobulina, α 1-microglobulina, proteína ligada al retinol, entre otras) denota la existencia de enfermedad túbulo-intersticial. Otro tipo de proteinuria que debe destacarse es la ortostática o postural (excreción proteica diaria menor de 2 g/día que aparece sólo cuando el individuo está en posición de pie y no cuando está acostado). Afecta sobre todo a niños y adolescentes y tiende a desaparecer al llegar a la edad adulta (7-9).

Albuminuria

La albúmina, una proteína de 65-kDa sintetizada en el hígado, es la proteína plasmática más abundante. Las principales funciones de la albúmina son: a) regular la presión oncótica del plasma; b) actuar como *buffer* ácido/base; y c) mediar el transporte de diversos metabolitos, hormonas, vitaminas y medicamentos. La excreción de albúmina en orina en los individuos sanos es inferior a 30 mg/día (1) (10) (11). Históricamente, la albuminuria se ha definido en términos de la excreción urinaria de albúmina por unidad de tiempo, típicamente de 24 horas. La dificultad de reunir las muestras de orina de 24 horas ha dado lugar a la medida de la excreción de albúmina en otros tipos de muestras de orina (12). Cuando el espécimen empleado para su medida es una orina aleatoria, los resultados deben expresarse en forma de cociente entre la concentración de albúmina y creatinina en orina. Dicha relación proporciona una estimación precisa de la excreción urinaria de albúmina, y además, no es afectada por el estado de hidratación del paciente. Aunque la excreción de creatinina varía entre los individuos según la edad, el género, la raza y el peso corporal, los resultados de estudios realizados en adultos y niños, demuestran una fuerte correlación con las mediciones en orina de 24 horas (12). Los valores discriminantes de anormalidad que muestran un mayor consenso internacional son >2,5 mg/mmol o >20 mg/g en hombres y >3,5 mg/mmol o >30 mg/g en mujeres, aunque algunas sociedades recomiendan el uso de un único criterio de decisión (13). Estos valores, que fueron obtenidos a partir de individuos con diabetes insulino dependiente, han sido extrapolados al resto de la población (14), existiendo algunas opiniones discordantes al respecto. En pediatría se consideran valores entre 20 a 200 μ g/min en muestra única o 30 a 300 mg/día en orina de 24 h, siendo necesario realizar tres determinaciones a fin de confirmar dichos resultados (15). La excreción urinaria de albúmina por encima de los valores considerados de corte o de referencia para una población determinada, indica daño renal o por lo me-

nos endotelial. Además se reconoce como un factor de riesgo para la progresión de la ER y de la enfermedad CV. Las mediciones de albúmina urinaria han centrado la atención en la necesidad clínica de obtener resultados precisos y claramente informados(16).

En condiciones normales la concentración de albúmina representa sólo una pequeña parte de la concentración de proteínas presentes en la orina. A medida que la concentración de proteínas aumenta, también lo hace la proporción representada por la albúmina(17)(18). Debido a la relación variable entre ambas magnitudes, no es aconsejable el uso de factores de conversión del cociente Proteína/Creatinina en orina a partir del cociente Albúmina/Creatinina en orina o viceversa(19). Dado que la relación entre la albuminuria y el riesgo CV o renal es continua y directamente proporcional (mayor albuminuria implica mayor riesgo) es difícil establecer el nivel normal de albuminuria. El valor de corte inferior puede cambiar a lo largo de los años, como se ha visto con otros valores de corte (presión arterial, colesterol) en las últimas décadas. De hecho, los niveles de corte se definen según el costo/beneficio de la detección de la albuminuria y del tratamiento para reducirla en un intento de prevenir la enfermedad CV y la ERC. Si se encontrara que la relación costo/beneficio es efectiva para reducir los niveles de albuminuria de, por ejemplo, 15 mg/g creatinina, consecuentemente resultaría prudente

establecer una definición de albuminuria anormal a partir de ese nivel. Puede ser apropiado utilizar un valor de corte más bajo de albuminuria en el caso de morbilidades concomitantes, tales como la diabetes(20).

Implicancia de la valoración de la pérdida de proteínas

IMPLICANCIA DE LA VALORACIÓN DE LA PROTEINURIA

Si bien con la evaluación del IFGe podemos saber si los pacientes tienen o no insuficiencia renal, y podemos valorar la magnitud de la misma ubicándolo en alguno de los estadios, esta información poco o nada nos dice sobre cuál es el pronóstico y la posibilidad de progresión y/o complicaciones que la ERC tiene, salvo para aquellos pacientes que se encuentren en estadios 4 o 5 de la ERC, que son la minoría. Para conocer esta información pronóstica esencial, en los estadios previos, hace falta, tal como lo referimos previamente, un marcador de daño de la estructura renal.

La albuminuria alterada en el rango de lo hasta ahora conocido como microalbuminuria, tomado como manifestación de lesión estructural del riñón, genera opiniones contradictorias; en cambio, la pérdida de proteínas en el rango de lo conocido previamente como “macroalbumi-

Guía de Riesgo de Progresión de ERC

Frecuencia de controles sugeridos

Sin ERC Riesgo Leve Riesgo Moderado Riesgo Alto Riesgo Muy Alto				Categoría de Albuminuria descripción y rangos		
				Índice Albúmina/Creatinina Urinaria (mg/g o mg/mmol)		
Riesgo Compuesto por				A1	A2	A3
				Normal a leve aumento	Moderado aumento	Severo aumento
- Índice de Filtrado Glomerular (IFG) - Índice Albúmina/Creatinina Urinaria				<30 mg/g <3mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g >30 mg/mmol
Estadios (E) por IFG Rangos (ml/min/1.73 m ^{2.7})	E1	Normal o aumentado	≥ 90	1 si ERC	1	2
	E2	Leve disminución	60-89	1 si ERC	1	2
	E3a	Leve a moderada disminución	45-59	1	2	3
	E3b	Moderada a severa disminución	30-44	2	3	3
	E4	Severa disminución	15-29	3	3	4+
	E5	Falla renal	< 15	4+	4+	4+

Figura 1. Guía de Riesgo de Progresión de ERC. Se muestra el IFG y la Albuminuria para reflejar el riesgo de progresión de la intensidad de la coloración. Los números de las cajas son una guía para la frecuencia de monitoreo (número de veces al año). Verde: refleja enfermedad estable, con seguimiento de las mediciones anuales si la ERC está presente; Amarillo: requiere precaución y las medidas de, por lo menos, una vez al año; Anaranjado: requiere mediciones efectuadas 2 veces al año; Rojo: requiere mediciones 3 veces por año; Rojo oscuro: requiere un seguimiento de aproximadamente 4 veces o más por año (por lo menos cada 1-3 meses). Modificado de referencia²⁷.

nuria" (> 200 mg/g de creatinina, o > 150 a 200 mg de proteínas/en 24 horas o $> 0,2$ g de proteínas/g de creatinina) o proteinuria, es aceptada como una manera adecuada de evaluar el verdadero daño del parénquima renal. Se conoce desde hace muchos años que la magnitud de la proteinuria es un claro indicador de la velocidad de pérdida de función renal (21); asimismo se ha publicado reiteradamente su poder predictivo de eventos cardiovasculares, tanto coronarios como cerebrovasculares (22).

En el último tiempo fue adquiriendo cada vez más sustento la estrategia de evaluar de manera conjunta, la pérdida de albúmina o proteínas urinarias al mismo tiempo que el IFGe, pues se ha reconocido que juntos tienen un mayor poder predictivo tanto de la magnitud de la lesión renal como también de su progresión (23). La curva ROC proveniente de los datos de estos dos parámetros asociados muestra una alta sensibilidad y especificidad, que no mejora sustancialmente cuando se le agregan otros datos clínicos del paciente.

Recientemente un importante metaanálisis, con más de un millón de pacientes, muestra que la pérdida proteica evaluada tanto por tira reactiva, como del índice o cociente Albúmina/Creatinina en orina, usadas junto con el IFGe tienen una relación directa con la morbilidad total y cardiovascular en la población general (24). Asimismo con datos extraídos del estudio AASK (*African American Study of Kidney Disease*) (25) se observó que el tratamiento que logra un descenso adecuado de la presión arterial, solo reduce el riesgo en aquellos pacientes en los cuales la proteinuria cae más del 20% de su valor inicial. Estos datos parecen estar confirmando que en aquellos pacientes proteinúricos que no reducen la pérdida proteica con el tratamiento, no se logra disminuir significativamente el riesgo a pesar que el objetivo de presión se alcance. Estos datos sustentan la robusta utilidad clínica de la proteinuria como marcador pronóstico de progresión de la ERC y también de complicaciones asociadas, por ende disminuir la proteinuria parece constituir un objetivo terapéutico válido en el tratamiento de la ERC.

Durante el año 2011, la Sociedad Internacional de Nefrología, a través de la iniciativa KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*), decidieron difundir una tabla de riesgo que recomiendan utilizar al momento de la búsqueda y valoración de enfermedad renal. Esta tabla posibilita que los parámetros de función renal y los de lesión renal sean evaluados de manera conjunta y con los resultados de ambos se sugiere de manera simple una orientación diagnóstica inicial que incluye pronóstico y conductas teniendo en cuenta el estadio de la ERC junto al riesgo de progresión y complicaciones de la misma (26). A principios de este año se publicó en un suplemento de *Kidney International* dedicado a ERC, el trabajo del denominado *Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium* (CKD-PC) (27) integrando los esfuerzos de la *National Kidney Foundation* (NKF) y *Kidney Disease: Im-*

proving Renal Outcomes (KDIGO) donde en el capítulo 2 de definición, identificación y predicción de la progresión de la ERC sugiere modificar la tabla de riesgo previa, teniendo en cuenta el análisis de la información disponible del seguimiento de 46 cohortes en 40 países de Asia, Europa, Norte y Sud América y Australasia. La tabla propuesta se presenta en la Figura 1.

IMPLICANCIA DE LA VALORACIÓN DE EXCRECIÓN ALTERADA DE ALBÚMINA EN ORINA

La pérdida de pequeñas cantidades de albúmina en orina es un marcador aceptado de lesión endotelial, pero su importancia como indicador de daño estructural renal permanece discutida (28) (29). En la actualidad en lugar de microalbuminuria se recomienda denominar, a la pérdida urinaria de pequeñas cantidades de albúmina como alteración en la excreción urinaria de albúmina o del cociente Albúmina/Creatinina urinaria alterada, y su valoración se realiza en muestras de orina tomadas al azar, preferentemente en la primera micción matinal, mediante la utilización del cociente Albúmina/Creatinina, o con tiras reactivas específicas que hacen mediciones semicuantitativas (destacando que un resultado positivo por tira reactiva debe confirmarse mediante la medida cuantitativa). De esta manera se evitan las erróneas recolecciones de orina de 24 horas. En población pediátrica con control de esfínteres se prefiere la recolección de orina de 24 h. Se consideran anormales los valores, por encima de 20 mg/g en el hombre y de 30 mg/g en la mujer. Esta anormalidad es más prevalente en los pacientes hipertensos (10 a 20%) en relación a los normotensos (4 a 6%) según los distintos reportes. Sin embargo, el comportamiento de esta alteración del cociente Albúmina/Creatinina resultante del tratamiento, no sigue patrones uniformes en relación a marcar mejoría o empeoramiento cuando la concentración urinaria de albúmina desciende o bien aumenta (30).

Si bien existe una gran evidencia que relaciona a valores crecientes del cociente Albúmina/Creatinina en orina con mayor riesgo CV y renal, los resultados son aún insuficientes para poder recomendar el uso de drogas antihipertensivas como estrategia terapéutica anti-proteinúrica a fin de reducir los valores de albuminuria en los rangos entre 20 y 200 mg/g para hombres y 30 y 300 mg/g para mujeres.

Consideraciones metodológicas en la evaluación de la proteinuria

Existe una serie de consideraciones metodológicas esenciales que no puede dejar de tenerse en cuenta cuando se realiza el análisis en la orina buscando detectar y cuantificar la magnitud de la pérdida proteica.

Condiciones preanalíticas

PACIENTES

La presencia de fiebre, situaciones de estrés o la realización de ejercicio físico intenso (31) pueden producir elevaciones transitorias de la proteinuria. Asimismo, la presencia de infecciones del tracto urinario o la menstruación pueden ocasionar resultados falsamente positivos. Por ello, bajo estas circunstancias se recomienda evitar la recolección de orina para la valoración de proteinuria.

TIPOS DE MUESTRAS

La recolección de orina de 24 horas comprende las principales condiciones de variabilidad de la eliminación urinaria de proteínas a lo largo del día (grado de hidratación, actividad física o ingesta proteica). Sin embargo, los problemas asociados con la recolección de orina de 24 horas (tiempo exacto y volumen completo de 24 h), han llevado a utilizar otro tipo de muestras alternativas (primera orina de la mañana o muestras aleatorias), expresándose los resultados en estos casos como concentración de proteínas en relación con la creatinina urinaria por ser este último un parámetro estable.

En ausencia de causales que puedan alterar los resultados, como estados febriles, actividad física intensa previa, cuadros de deshidratación entre otros, en individuos en condiciones clínicas estables hay estudios que han evaluado la idoneidad del cociente Proteína/Creatinina en orina de muestra aleatoria o en la primera micción matinal como alternativa a la excreción de proteína en orina de 24 horas (32-35). Los mismos coinciden en que existe una buena correlación y concordancia entre ambas magnitudes, en un amplio rango de valores de proteinuria (36), salvo para proteinurias de rango nefrótico ($>3,5 \text{ g}/1,73 \text{ m}^2/\text{día}$) (12). Cuando el cociente Proteína/Creatinina en orina se expresa en mg/g el valor cuantitativo obtenido es similar al que se obtendría para una excreción de proteína expresada en g/día; si el cociente Proteína/Creatinina en orina se expresa en mg/mmol, la excreción en orina de 24 horas es aproximadamente 10 veces su valor (9). De la misma forma, diferentes estudios (36-39) han demostrado que para evaluar el cociente Albúmina/Creatinina en orina (mg/g o mg/mmol) la primera orina de la mañana, en ayunas y fuera de las condiciones clínicas referidas con anterioridad, es la muestra más adecuada tanto para la búsqueda de albuminuria como para su monitorización.

CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

La realización de las determinaciones en orina comienza con una adecuada técnica de recolección de la muestra y de su procesamiento de inmediato para obtener una óptima información de la prueba. La orina debe recogerse en un frasco preferentemente estéril con tapa

hermética para impedir su derramamiento y contaminación. La muestra de orina es estable durante 7 días entre $2-8^\circ\text{C}$ (14) (40). En el caso de necesidad de congelar la muestra se recomienda hacerlo a temperaturas $\leq -70^\circ\text{C}$ y no a -20°C (41-44). La descongelación se debe realizar a temperatura ambiente y la muestra debe ser homogeneizada con la finalidad de disolver los precipitados que hayan podido formarse (en caso de presentar turbidez es recomendable centrifugar las muestras). Se sugiere utilizar muestras frescas de orina para la medición confiable de la albúmina en la orina (45). Si por algún motivo fuese necesario realizar una recolección de 24 horas de la orina, ésta debe mantenerse refrigerada, no siendo necesario añadir ningún conservante en la misma.

Circunstancias clínicas asistenciales en las cuales se evalúa la pérdida de proteínas o de albúmina en orina

El examen de la albuminuria o proteinuria puede tener 3 objetivos: 1) búsqueda poblacional de ERC (cribaje, rastillaje, tamizaje o el término inglés *screening*); 2) la confirmación diagnóstica de un resultado «+» en el tamizaje; 3) seguimiento de la respuesta terapéutica y/o evolución de quienes tienen proteinuria previamente cuantificada.

Métodos para la valoración de proteinuria como tamizaje

TIRA REACTIVA PARA LA DETECCIÓN PROTEÍNAS EN ORINA

Cuando se realiza la búsqueda de proteínas en orina, particularmente en aquellas poblaciones expuestas a un mayor riesgo, como fue previamente referido, se pueden utilizar tiras reactivas. Estos conceptos deben ser fortalecidos con la buena correlación existente de los resultados frente a los programas de Evaluación Interna y Externa de la Calidad. En ausencia de proteínas, el área de la tira da un color amarillo; si en cambio existe proteína, entre los 30 y 60 segundos después del contacto con la orina, aparecen tonos variables de verde, dependiendo de la concentración de proteínas presentes (40). El resultado se interpreta mediante la comparación visual o con lector de tiras, del color obtenido respecto a una escala cromática semicuantitativa correspondiente a distintas concentraciones de proteína urinaria. Esta relación es variable y depende de la marca comercial de la tira.

La reacción para proteínas se considera positiva cuando se observa un cambio de color en el área reactiva la cual comprende desde trazas a «1+; 2+; 3+» o superior, y para la mayoría de los fabricantes, corres-

ponde a una concentración entre 150 y 300 mg/L en orina. Cabe destacar que un resultado de proteínas en el rango de proteinuria fisiológica, detectado por tira reactiva, no siempre se corresponde con un riñón sano, por tal motivo es que resulta de importancia clínica que toda proteinuria debe ser estudiada y confirmada, sobre todo en los pacientes de riesgo.

Las limitaciones de estos métodos de búsqueda son los resultados falsos negativos que pueden darse en orinas muy diluidas, o por el aumento de otras proteínas diferentes a la albúmina, y falsos positivos debido a la presencia de hematuria, orinas con pH urinario ≥ 8 , o de componentes coloreados tales como la bilirrubina y algunos fármacos.

La exactitud diagnóstica de las tiras reactivas se ha comparado con proteinuria de 24 horas en poblaciones con alta prevalencia de proteinuria con buenos resultados (46-48). Los datos muestran una sensibilidad y especificidad variable en función de la concentración de proteína considerada, y fundamentalmente de la calidad de las tiras reactivas utilizadas en cuanto a su sensibilidad y exactitud. En tal sentido, recomendamos leer los insertos de las tiras reactivas a utilizar para asegurar la confiabilidad de los resultados emitidos, respetando las condiciones de uso y las limitaciones sugeridas por el fabricante. Además, toda vez que se obtenga un resultado positivo por tira, las guías de práctica clínica aconsejan que el mismo sea confirmado mediante una medición cuantitativa (49).

TIRA REACTIVA PARA LA DETECCIÓN DE ALBÚMINA EN ORINA

La medida semicuantitativa de albúmina a partir de tiras reactivas se puede realizar mediante métodos inmunológicos o no inmunológicos (40), siendo capaces de detectar concentraciones pequeñas de albúmina (30-40 mg/L).

Los estudios realizados para conocer la exactitud diagnóstica de la tira específica para la detección de albúmina a concentraciones superiores a 30 mg/g creatinina muestran una sensibilidad variable (del 37 al 83%), pero con una elevada especificidad (del 93 al 98%).

El valor predictivo positivo y negativo es variable dependiendo de la concentración utilizada para definir albuminuria (6). Esta metodología está muy difundida, y tiene demostrada utilidad clínica, en la búsqueda de pérdida incipiente de albúmina en la nefropatía diabética. Sin embargo, los estudios realizados para conocer la exactitud diagnóstica de la tira específica para la detección de albúmina muestran una sensibilidad y especificidad variable. Consecuentemente y dada la importancia de establecer una detección precoz de la ERC, es que debería solicitarse la determinación de la albúmina urinaria y del cociente Albúmina/Creatinina, preferentemente en la primera orina de la mañana, particularmente en la evaluación del paciente de riesgo.

Métodos cuantitativos para detectar o confirmar proteinuria

La evaluación en el laboratorio de la eliminación de proteínas totales en orina ha sido importante para el diagnóstico y seguimiento de la ER durante muchos años. Además desde finales de 1990, la valoración de albuminuria se ha utilizado para determinar si un paciente diabético tiene nefropatía incipiente. La evolución de la comprensión de la ERC y, en particular, del riesgo CV de los individuos con ERC, requiere una valoración sensible de la presencia de proteína en la orina, dado que su existencia y cuantificación han adquirido gran relevancia como significado pronóstico y evolutivo de la ER y de los tratamientos utilizados para detener o retardar la misma.

Grupos de trabajo internacionales en Medicina y Química Clínica como la *National Kidney Disease Education Program/International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (NKDEP/IFCC) han avanzado hacia un sistema de referencia para la albuminuria. La normalización es esencial para permitir la aplicación de puntos de decisión válida universales, y una evaluación de la ER más homogénea. Estos grupos de trabajo recomiendan que la confirmación de proteinuria en la ERC se debe hacer mediante la medición analítica de albúmina en muestra de orina fresca primera de la mañana (50).

MÉTODOS CUANTITATIVOS PARA LA MEDIDA DE PROTEINURIA

Los métodos más utilizados para la determinación de proteinuria son los turbidimétricos (basados en la floculación fina de las proteínas por acción de compuestos tipo ácido tricloroacético, ácido sulfosalicílico o cloruro de bencetonio) y los colorimétricos basados en la fijación a colorantes (Ponceau-S, azul brillante de Coomassie y Rojo de pirogalol molibdato). Tanto unos como otros presentan diferente sensibilidad y especificidad analítica para los distintos tipos de proteínas, reaccionando en mayor proporción con la albúmina (51) (52). No existe actualmente ningún procedimiento de medida definitivo ni material de referencia para la determinación de proteína en orina, lo que da lugar a una gran variabilidad entre los resultados obtenidos en diferentes laboratorios. La mayor variación afecta, sobre todo, a las concentraciones bajas y es menos importante para las más elevadas, en parte debido a que estas últimas tienen una mayor concentración relativa de albúmina. Los datos procedentes del Programa de Control Externo de la Calidad (FPCQLC) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) del año 2009 indican que los métodos más empleados para la medida de proteína son los turbidimétricos que utilizan cloruro de bencetonio (48,5% de los laboratorios) y los de fijación al colorante rojo de pirogalol (44,9% de

los laboratorios). Los coeficientes de variación oscilaron entre 7,7 y 10,5% (turbidimétricos) y 4,5 y 7,7% (fijación al colorante rojo de pirogalol) para un intervalo de concentraciones entre 0,31 y 1,07 g/L (53).

En Argentina, una encuesta al sector bioquímico, organizada por el Grupo Multidisciplinario conformado por la Sociedad Argentina de Nefrología, la Confederación Unificada Bioquímica de la República Argentina, la Asociación Bioquímica Argentina y la Fundación Bioquímica Argentina indica que los métodos utilizados se distribuyen de la siguiente manera: Rojo de Pirogalol 51,7%, Ácido Sulfosalicílico (ASS) 33,6%, Ácido Tricloroacético (TCA) 3,9% y Cloruro de Bencetonio 2,2% (54).

Según datos del Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina los Coeficientes de Variación interlaboratorial son: a una concentración de 0.3 g/L 16 a 28% para métodos turbidimétricos y 26% para colorimétrico. A una concentración de 1g/L 16 a 32% para métodos turbidimétricos y 18% para colorimétrico.

MÉTODOS CUANTITATIVOS PARA LA MEDIDA DE ALBUMINURIA

Miller *et al.* (16) han reportado que los ensayos para cuantificar la albuminuria deberían ser estandarizados utilizando un método y material de referencia para su calibración.

Los métodos más habituales para medirla son los inmunoanálisis turbidimétricos o nefelométricos con límites de detección entre 2 y 10 mg/L, siendo la nefelometría el método clínico con mejor rendimiento analítico (55).

Se han desarrollado diversos métodos para cuantificar albúmina en orina, incluyendo RIA (Radioimmunoassay), tiras reactivas, inmuniturbimetría, ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), cromatografía líquida en tandem LC-MS/MS. Se dispone de pocos datos de estudios limitados que evalúen los límites de detección, y comparen los distintos métodos y equipos disponibles (56). Los datos procedentes del FPCQLC de la SEQC del año 2009 muestran que el 87,8% de los laboratorios inscritos determinan la albúmina en orina mediante métodos turbidimétricos, frente al 12,1% que utilizan métodos nefelométricos. Los coeficientes de variación son similares para ambos métodos en rangos entre 300 y 1000 mg/L (52).

En los últimos años, se han descripto métodos basados en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) que producen valores más altos con respecto a los métodos de inmunoanálisis ya que detectan formas de albúmina no inmunorreactivas. Distintos programas de control externo de la calidad evidencian que existen diferencias entre los resultados obtenidos por distintos laboratorios y en las unidades de expresión de los mismos (57). Ello es consecuencia de la inexistencia de un procedimien-

to analítico de referencia; de un material de referencia internacional; de la presencia en orina de diferentes formas moleculares de la albúmina, tanto en el espécimen como en los calibradores (moléculas fragmentadas, glicosiladas y formas diméricas); de albúmina degradada o no reactiva a los anticuerpos; de las uniones inespecíficas de la albúmina a los tubos utilizados para la recolección del espécimen, así como de los fenómenos de polimerización y fragmentación que se producen durante su almacenamiento y en los procesos de congelación y descongelación de las muestras (58). Tampoco está claro cuáles son las fracciones de albúmina posibles de valorar que mejor correlacionan con los resultados clínicos. Se está trabajando en la búsqueda de un método de referencia como un método basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas por dilución isotópica (LC-IDMS) (59) como posible candidato. Por otra parte la preparación de un material de referencia (RM) con propiedades bien definidas y una concentración correctamente asignada es esencial para el establecimiento de la cadena de trazabilidad de los inmunoensayos de albúmina en orina. Un posible candidato a material de referencia para la albúmina en orina, el CRM-UA, podría mejorar la estandarización. El uso del CRM-UA mostró buena normalización de los resultados de albúmina urinaria entre 7 inmunoensayos (60).

Recomendaciones

RECOMENDACIONES PARA LA EVALUACIÓN DE LA PROTEINURIA Y/O ALBUMINURIA (modificado de 13)

1. En las poblaciones en riesgo debe realizarse la búsqueda sistemática de la ERC mediante la estimación del IFGe, según lo recomendado en el documento previo, junto a la evaluación de la pérdida de Proteínas o Albúmina por orina.
2. Debe asumirse que la presencia de concentraciones elevadas de proteinuria o albuminuria, en dos o más ocasiones durante un período $\geq$ a tres meses, es un signo de lesión renal, y junto con la estimación del IFGe constituyen la base sobre la que se sustenta el diagnóstico de la ERC.
3. La pesquisa de Proteínas o Albúmina, urinarias, en poblaciones en riesgo puede iniciarse con tiras reactivas estándar. Sin embargo, dada la importancia de establecer un diagnóstico adecuado de la ERC, la confirmación de los hallazgos positivos detectados, o la monitorización de Proteínas y/o Albúmina en orina debe estar basada en una medida cuantitativa.
4. Para la clasificación en estadios y monitorización de la ERC y la respuesta a las terapéuticas implementadas, recomendamos que la presencia de la pérdida proteica urinaria sea valorada de la siguiente manera:

- a. En individuos adultos mediante la determinación del cociente Albúmina/Creatinina en muestra de orina. Si se decidiera utilizar como prueba cuantitativa inicial el cociente Proteína/Creatinina, en el caso de obtener un resultado dentro del intervalo de referencia, se debería realizar además, la medida del cociente Albúmina/Creatinina.
 - b. En niños sin DM mediante el cociente Proteína/Creatinina en muestra de orina. En la infancia la prevalencia de ERC debida a DM o HTA es mucho menor que en adultos; en cambio existe una elevada prevalencia de ERC debida a anomalías en el tracto urinario o alteraciones tubulares congénitas que pueden cursar con proteinuria no glomerular.
 - c. En niños con DM de inicio pospuberal y más de 5 años de evolución mediante el cociente Albúmina/Creatinina en muestra de orina. En el resto de los casos se seguirá la misma recomendación que en niños sin DM.
5. Se recomienda considerar «proteinuria clínicamente significativa»:
- a. En individuos sin DM: la excreción de proteína >0,5 g/día, el cociente Proteína/Creatinina en muestra de orina >50 mg/mmol o el cociente Albúmina/Creatinina en muestra de orina >30 mg/mmol.
 - b. En individuos con DM: el cociente Albúmina/Creatinina en muestra de orina >2,5 mg/mmol o >17 mg/g (hombres) y >3,5 mg/mmol o >25 mg/g (mujeres), según criterios establecidos por la guía NICE y que son indicación de inicio de tratamiento con IECA o ARA II.
6. En individuos con ERC y proteinuria clínicamente significativa es posible realizar la monitorización mediante el cociente Proteína/Creatinina.
7. Se desaconseja el uso de factores para la conversión del cociente Albúmina/Creatinina en Proteína/Creatinina o *viceversa*.

Sobre muestras e informes de laboratorio (modificado de 13)

8. La primera orina de la mañana es la muestra más adecuada para la detección y monitorización de proteinuria y/o albuminuria tanto en adultos como en niños pequeños sin control de esfínteres. Si las muestras no son procesadas el mismo día de la obtención, se aconseja su almacenamiento a temperaturas entre 2 y 8 °C hasta 7 días, previa centrifugación. Para periodos de almacenamiento superiores las muestras deben congelarse a temperaturas ≤ -70 °C, se descongelarán a temperatura ambiente, y en caso de presentar turbidez se aconseja centrifugar las muestras previo a su procesamiento.

9. Se recomienda que para los métodos cuantitativos de medición de proteínas o de albúmina en orina las mismas sean referidas a la concentración de creatinina urinaria.
10. La expresión de resultados de albuminuria será mg/g o mg/mmol en función del tipo de unidades utilizadas por cada laboratorio. Los resultados deben expresarse sin decimales (mg/g) o con un decimal (mg/mmol).
11. Las denominaciones microalbuminuria y macroalbuminuria deberían abandonarse, sustituyéndose por el de albuminuria o pérdida o excreción de albúmina urinaria.

Sobre categorías para definir clínicamente al cociente Albúmina/Creatinina en orina

12. En la práctica clínica se aconseja considerar las siguientes categorías para definir al cociente Albúmina/Creatinina en orina (26):
 Optimo: < 10 mg/g
 Normal alto: 10-29 mg/g
 Alto: 30-299 mg/g
 Muy alto: ≥ 300 mg/g

Sin embargo, los valores de corte precisos para aplicar en la práctica clínica aún se siguen debatiendo (61). Consecuentemente, el valor de corte inferior para Albuminuria y para el cociente

Albúmina/Creatinina puede ir cambiando a lo largo de los años. De hecho, los niveles de corte se definen según el costo/beneficio de la detección de la Albuminuria y del tratamiento para reducirla en un intento de prevenir la ERC y la enfermedad CV.

Referencias bibliográficas

1. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. Prevalence of Chronic Kidney Disease in the United States JAMA 2007; 298: 2038-47.
2. Inserra F, Cornelio C, Daverio S, Diehl S, Samarelli N, Díaz A. Frecuencias relativas de diabetes creatininas elevadas y proteinuria en análisis clínicos de Buenos Aires. Nefrología Argentina 2003; 1: 53.
3. Alles A, Fraga A, García R, Gómez A, Greloni G, Inserra F, Mazziotta D, Torres ML, Villagra A. Detección de la enfermedad renal crónica. Documento multidisciplinario. Nefrología Argentina 2010; 8: 48-54
4. Schwartz G, Muñoz A, Schneider M, Max R, Kaskel F, Warady F, Furth S. New Equations to Estimate GFR in Children with CKDClin J Am Soc Nephrol 2009; 4: 1832-43
5. Hoyer JR, Seiler MW. Pathophysiology of Tamm-Horsfall protein. Kidney Int 1979; 16: 279-89.
6. Kashif W, Siddiqi N, Dincer AP, Dincer HE, Hirsch S. Proteinuria: how to evaluate an important finding. Cleve Clin J Med 2003; 70: 535-46.

7. Brandt JR, Jacobs A, Raissy HH, Kelly FM, Staples AO, Kaufman E, Wong CS. Orthostatic proteinuria and the spectrum of diurnal variability of urinary protein excretion in healthy children. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 1131-7.
8. Escalante-Gómez C, Zeledón-Sánchez F, Ulate-Montero G. Proteinuria, fisiología y fisiopatología aplicada. *Acta Médica Costarricense* 2007; 83-9.
9. Hogg RJ, Portman RJ, Milliner D, Lemley KV, Eddy A, Ingelfinger J. Evaluation and management of proteinuria and nephrotic syndrome in children: recommendations from a pediatric nephrology panel established at the National Kidney Foundation conference on proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, and elimination (PARADE). *Pediatrics* 2000; 105: 1242-9.
10. National Institute for Health and Clinical Excellence. Chronic Kidney Disease: National Clinical Guideline for Early Identification and Management in Adults in Primary and Secondary Care. Clinical Guideline 73 [Internet], 2008; consultado el 15-6-2010]. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/Guidance/cg73>.
11. Caring for Australasians with Renal Impairment (CARI). Chronic Kidney Disease Guidelines: Urine Protein as Diagnostic Test [Internet], 2004; [consultado el 15-6-2010]. Disponible en: http://www.cari.org.au/ckd_urine_prot_list_pub2004.php.
12. Lane C, Brown M, Dunsmuir W, Kelly J, Mangos G. Can spot urine protein/creatinine ratio replace 24 h urine protein in usual clinical nephrology? *Nephrology (Carlton)* 2006; 11: 245-9.
13. Montañés Bermúdez R, Gracia García S, Pérez Surribas D, Martínez Castela A, Bover Sanjuán J. Documento de Consenso. Recomendaciones sobre la valoración de la proteinuria en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad renal crónica. *Nefrología* 2011; 31 (3): 331-45.
14. Halimi JM, Hadjadj S, Aboyans V, Allaert FA, Artigou JY, Beaufils M, Berrut G, Fauvel JP, Gin H, Nitenberg A, Renversez JC, Rusch E, Valensi P, Cordonnier D. Microalbuminuria and urinary albumin excretion: French clinical practice guidelines. *Diabetes Metab.* 2007; 33: 303-9.
15. Singh A, Satchell S. Microalbuminuria: causes and implications. *Ped.Nephrol* 2011; 26: 1957-65.
16. Miller WG, Bruns DE., Hortin G, Sandberg S, Aakre KM, McQueen MJ, Itoh Y, Lieske JC, Seccombe DW, Jones G, Bunk DM, Curhan GC, Narva AS. on behalf of the National Kidney Disease Education Program-IFCC Working Group on Standardization of Albumin in Urine Current Issues in Measurement and Reporting of Urinary Albumin Excretion. *Clinical Chemistry* 2009; 55 (1): 24-38.
17. Atkins RC, Briganti EM, Zimmet PZ, Chadban SJ. Association between albuminuria and proteinuria in the general population: the AusDiab Study. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2170-4.
18. Newman DJ, Thakkar H, Medcalf EA, Gray MR, Price CP. Use of urine albumin measurement as a replacement for total protein. *Clin Nephrol* 1995; 43: 104-9.
19. Gansevoort RT, de Jong PE. The Case for Using Albuminuria in Staging Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 465-8.
20. de Jong PE, Curhan GC. Screening, monitoring, and treatment of albuminuria: public health perspectives. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2120-6.
21. Remuzzi G, Ruggenenti P, Benigni A: Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997; 51: 2-15.
22. Miettinen H, Haffner SM, Lehto S, Rönkämaa T, Pyörälä K, Laakso M. Proteinuria predicts stroke and other atherosclerotic vascular disease events in nondiabetic and non-insulin-dependent diabetic subjects. *Stroke* 1996; 27: 2033-9.
23. Hallan SI, Ritz E, Lydersen S, Romundstad S, Kvenild K, Orth SR. Combining GFR and Albuminuria to Classify CKD Improves Prediction of ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1069-77.
24. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375: 2073-81.
25. Lea J, Greene T, Hebert L, Lipkowitz M, Massry S, Middleton J, Rostand SG, Miller E, Smith W, Bakris GL: The relationship between magnitude of proteinuria reduction and risk of end-stage renal disease: Results of the African American Study of Kidney Disease and hypertension. *Arch Intern Med* 2005; 165: 947-53.
26. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, El Nahas M, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt KU. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int* 2011; 80: 17-28.
27. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Chapter 2: Definition, identification, and prediction of CKD progression. *Kidney Int Supplements* 2013; 3: 63-72.
28. Glasscock RJ. Debate: CON position. Should microalbuminuria ever be considered as a renal endpoint in any clinical trial? *Am J Nephrol* 2010; 31: 462-5.
29. Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D. Debate: PRO position. Should microalbuminuria ever be considered as a renal endpoint in any clinical trial? *Am J Nephrol* 2010; 31: 458-61.
30. Bakris GL, Sarafidis PA, Weir M, et al. For the Accomplish trial investigators. Renal outcomes with different fixed-dose combination therapies in patients with hypertension at high risk for cardiovascular events ACCOMPLISH: a prespecified secondary analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 1173-81.
31. Heathcote KL, Wilson MP, Quest DW, Wilson TW. Prevalence and duration of exercise induced albuminuria in healthy people. *Clin Invest Med* 2009; 32 (4): E261-5.
32. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 1983; 309: 1543-6.
33. 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* 2004; 31: 1557-9.
34. Xin G, Wang M, Jiao LL, Xu GB, Wang HY. Protein-to-creatinine ratio in spot urine samples as a predictor

- of quantitation of proteinuria. *Clin Chim Acta* 2004; 350: 35-9.
35. 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* 2005; 51: 1577-6.
 36. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z, Pohl MA, Bain RP, Lewis EJ. 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* 1995; 26: 904-9.
 37. Marshall SM. Screening for microalbuminuria: which measurement? *Diabet Med* 1991; 8: 706-11.
 38. Witte EC, Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D, Bakker SJL, de Jong PE, Gansevoort R. First Morning Voids Are More Reliable Than Spot Urine Samples to Assess Microalbuminuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 436-43.
 39. Lambers Heerspink HJ, Brantsma AH, de Zeeuw DBakker SJL, de Jong PE, Gansevoort RT. For the PRE-VEND Study Group Albuminuria. Assessed From First-Morning-Void Urine Samples Versus 24-Hour Urine Collections as a Predictor of Cardiovascular Morbidity and Mortality. *Am J Epidemiol* 2008; 168: 897-905.
 40. Gansevoort RT, Brinkman J, Bakker SJL, de Jong PE, de Zeeuw D. Evaluation of Measures of Urinary Albumin Excretion. *Am J Epidemiol* 2006; 164: 725-7.
 41. Henry JB. En: *El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico*. Edición en español de: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed. John Bernard Henry. Madrid, España: Marbán Libros; 2005
 42. Brinkman JW, De ZD, Duker JJ, Gansevoort RT, Kema IP, Hillege HL, et al. Falsely low urinary albumin concentrations after prolonged frozen storage of urine samples. *Clin Chem* 2005; 51: 2181-3.
 43. Brinkman JW, Heerspink HL, De ZD, Gansevoort RT, Bakker SJ. Urinary pH affects albumin concentrations after prolonged frozen storage. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3670.
 44. Brinkman JW, De ZD, Gansevoort RT, Duker JJ, Kema IP, De Jong PE, et al. Prolonged frozen storage of urine reduces the value of albuminuria for mortality prediction. *Clin Chem* 2007; 53: 153-4.
 45. Brinkman JW, De ZD, Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Kema IP, De Jong PE, et al. Apparent loss of urinary albumin during longterm frozen storage: HPLC vs immunonephelometry. *Clin Chem* 2007; 53: 1520-6.
 46. Ralston SH, Caine N, Richards I, O'Reilly D, Sturrock RD, Capell HA. 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* 1988; 47: 759-63.
 47. Waugh JJ, Clark TJ, Divakaran TG, Khan KS, Kilby MD. Accuracy of urinalysis dipstick techniques in predicting significant proteinuria in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 769-77.
 48. James GP, Bee DE, Fuller JB. Proteinuria: accuracy and precision of laboratory diagnosis by dip-stick analysis. *Clin Chem* 1978; 24: 1934-9.
 49. Welsh Assembly Government. Designed to Tackle Renal Disease in Wales: A National Service Framework [Internet], 2007; [consultado el 15-6-2010]. Disponible en: [http://www.wales.nhs.uk/sites3/Documents/434/Designed to Tackle Renal Disease in Wales - Eng.pdf](http://www.wales.nhs.uk/sites3/Documents/434/Designed%20to%20Tackle%20Renal%20Disease%20in%20Wales%20-%20Eng.pdf).
 50. Helen Martin. Laboratory Measurement of Urine Albumin and Urine Total Protein in Screening for Proteinuria in Chronic Kidney Disease. *Clin Biochem Rev* 2011; 32: 97-102.
 51. McElderry LA, Tarbit IF, Cassells-Smith AJ. Six methods for urinary protein compared. *Clin Chem* 1982; 28: 356-60.
 52. Nishi HH, Elin RJ. Three turbidimetric methods for determining total protein compared. *Clin Chem* 1985; 31: 1377-80.
 53. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. XIX Programa de Garantía Externa de la Calidad de Bioquímica (orina). [Internet], 2009; [consultado el 22-11-2010]. Disponible en: <http://www.contcal.org/k3/docs/2009/ANUAL/orina.pdf>.
 54. Encuesta a los Bioquímicos: Evaluación de la Función Renal, uso de fórmulas y determinaciones analíticas involucradas. Grupo Multidisciplinario conformado por la Sociedad Argentina de Nefrología, Confederación Unificada Bioquímica de la República Argentina, la Asociación Bioquímica Argentina y la Fundación Bioquímica Argentina, Noviembre 2012.
 55. Rui Liu, Gang Li, Xiao-Fan Cui, Dong-Ling Zhang, Qing-Hong Yang, Xiao-Yan Mu, Wen-Jie Pan. Methodological Evaluation and Comparison of Five Urinary Albumin Measurements. *J Clin Lab Anal* 2011; 25: 324-9.
 56. Jesse C. Seegmiller, Denis Sviridov, Timothy S. Larson, Timothy M. Borland, Glen L. Hortin, and John C. Lieske. Comparison of Urinary Albumin Quantification by Immunoturbidimetry, Competitive Immunoassay, and Protein-Cleavage Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry* 2009; 55: 11: 1991-4.
 57. Aakre KM, Thue G, Subramaniam-Haavik S, Bukve T, Morris H, Muller M, et al. Postanalytical external quality assessment of urine albumin in primary health care: an international survey. *Clin Chem* 2008; 54: 1630-6.
 58. Osicka TM, Comper WD. Characterization of immunochemically nonreactive urinary albumin. *Clin Chem* 2004; 50: 2286-91.
 59. Singh R, Crow FW, Babic N, Lutz WH, Lieske JC, Larson TS, et al. A liquid chromatography-mass spectrometry method for the quantification of urinary albumin using a novel 15N-isotopically labeled albumin internal standard. *Clin Chem* 2007; 53: 540-2.
 60. Yoshihisa Itoh, Kiyoshi Ichihara, Kouji Kishi, Shigemi Hosogaya, Toshiyuki Yamada. Preparation of highly purified monomeric human serum albumin as secondary reference material for standardization of urinary albumin immunoassays. *Clinica Chimica Acta* 2012; 413: 175-81.
 61. Zoccali C, Mallamaci F. Albuminuria in the Normal Range. *J Am Col Cardiol* 2013; 15: 1634-6.