



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de
Buenos Aires
Argentina

Benozzi, Silvia Fabiana; Pennacchiotti, Graciela Laura
Albuminuria: consideraciones preanalíticas y analíticas
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 51, núm. 1, 2017, pp. 45-51
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53550497008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Albuminuria: consideraciones preanalíticas y analíticas

Albuminuria: preanalytical and analytical considerations

Albuminúria: considerações pré-analíticas e analíticas

► Silvia Fabiana Benozzi^{1a}, Graciela Laura Pennacchiotti^{2a}

¹ Magíster en Bioquímica.

² Doctor en Bioquímica.

^a Cátedra de Bioquímica Clínica I, Universidad Nacional del Sur, San Juan 670. Bahía Blanca, Argentina.

Resumen

La albuminuria (AU) se define como el incremento subclínico y persistente de la excreción urinaria de albúmina. Los valores que definen esta condición son mayores a 30 mg AU/g creatininuria. La AU es un marcador de daño renal, de progresión de enfermedad renal y de riesgo cardiovascular. Este analito tiene una elevada variabilidad biológica y múltiples condiciones pueden afectar su determinación e invalidar la prueba: esto justifica la necesidad de obtener 2 de 3 muestras positivas en un período de 3 a 6 meses para confirmar la presencia de AU. La primera orina de la mañana es el espécimen más adecuado para la pesquisa de AU y su monitorización, expresando los resultados como la relación AU/creatininuria (RAC) (mg/mmol, mg/g). El valor de creatininuria en el denominador de la RAC depende de la masa muscular del individuo y puede subestimar o sobreestimar el valor de albúmina urinaria, por ello este aspecto se encuentra en revisión. La orina recién emitida es la mejor muestra para medir este analito, pero se puede conservar en heladera una semana o a -80 °C durante más tiempo. Los inmunoensayos son los métodos más utilizados para medir albuminuria, aunque la falta de estandarización, proceso en desarrollo, es hoy una importante fuente de sesgo entre los diferentes métodos. Es imprescindible la mejora analítica y el consenso respecto del error total e imprecisión para optimizar la medición de este analito.

Palabra clave: albuminuria * relación albúmina/creatinina en orina * enfermedad renal * riesgo cardiovascular

Abstract

Albuminuria (AU) was defined as a persistent and subclinical increase in urinary excretion of albumin. The values that define this condition are higher albuminuria 30 mg/g creatininuria. It is a marker of kidney damage, kidney disease progression and cardiovascular risk. This analyte has a high biological variability and multiple conditions can affect the determination and invalidate the test, which justifies the need to get two positive specimens over a period of 3-6 months to confirm the presence of albuminuria. The first morning urine specimen is best suited for screening and monitoring

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

albuminuria, expressing the results as albuminuria/creatininuria ratio (RAC) (mg/mmol, mg/g). The value of creatininuria in the RAC denominator depends on the individual muscle mass and may underestimate or overestimate the value of urinary albumin, so this aspect is under review. Freshly voided urine is the best example to measure the analyte, but it can be kept in the refrigerator one week or longer, at -80 °C. Immunoassays are the most commonly used methods to measure albuminuria, but the lack of standardization which is a process under development is today an important source of bias between the different methods. Analytical improvement and consensus on total errors and imprecision are essential to optimize the measurement of this analyte.

Keywords: *albuminuria * albumin/creatinine ratio in urine * kidney disease * cardiovascular risk*

Resumo

Albuminúria (AU) é definida como o aumento subclínico e persistente da excreção urinária de albumina. Os valores que definem esta condição são de mais de 30 mg AU/g creatinúria. A AU é um marcador de dano renal, de progressão da doença renal e de risco cardiovascular. Este analito tem uma alta variabilidade biológica e múltiplas condições podem afetar sua determinação e invalidar o teste, o que justifica a necessidade de obter 2 de 3 amostras positivas ao longo de um período de 3-6 meses para confirmar a presença de AU. A primeira urina da manhã é o espécime mais adequado para a pesquisa de AU e seu monitoramento, expressando os resultados como a relação AU/ creatinúria (RAC) (mg/mmol, mg/g). O valor da creatinúria no denominador da RAC depende da massa muscular do indivíduo e pode subestimar ou superestimar o valor de albumina urinária, de modo que este aspecto está em revisão. A urina recém-vertida é a melhor amostra para medir este analito, mas pode ser mantida em geladeira uma semana ou a menos -80 °C durante mais tempo. Os imunoensaios são os métodos mais usados para medir albuminúria, embora a falta de padronização, processo em desenvolvimento, é atualmente uma importante fonte de viés entre os diferentes métodos. É imprescindível a melhora analítica e o consenso a respeito do erro total e imprecisão para maximizar a medição deste analito.

Palavras-chave: *albuminúria * relação albumina/creatinina em urina * doença renal * risco cardiovascular*

Introducción

La albuminuria o albúmina urinaria (AU) (ex microalbuminuria) es actualmente, junto con el índice de filtración glomerular, la base para el diagnóstico, evaluación y estadificación de la enfermedad renal crónica (ERC) (1-4). Tradicionalmente considerada precursor de la nefropatía diabética, es también un signo de “daño sistémico” más allá de la lesión renal, pues es un marcador independiente de riesgo cardiovascular global (disfunción endotelial, remodelado arterial) (4) (5).

La AU se define como el incremento subclínico y persistente de la excreción de albúmina en orina, cuyos valores se encuentran por encima del rango normal pero por debajo del umbral de detección de las tiras reactivas para proteinuria (6). Los valores que definen esta condición se observan en la Tabla I y son los adoptados en el Documento de Consenso: Implicancia de la Proteinuria en el Diagnóstico y Seguimiento de la Enfermedad Renal Crónica elaborado en Argentina (7). Las guías K/DOQI sugieren valores límites de 17 mg/g en hombres y 25 mg/g en mujeres, en virtud de las di-

Tabla I. Valores de albuminuria.

Valores de albuminuria			
Óptimo	Normal alto	Alto	Muy alto
<10 mg/g	10-29 mg/g	30-299 mg/g	≥300 mg/g

ferencias en la masa muscular (1). Sin embargo, se ha observado que concentraciones menores podrían tener relevancia clínica (8) por lo cual los valores de corte se encuentran actualmente en revisión (9) (10).

Consideraciones preanalíticas

Las consideraciones preanalíticas tienen un alto impacto en la determinación de AU y, por lo tanto, en el resultado de la misma.

Una de las limitaciones más relevantes en la evaluación de este analito radica en su elevada variabilidad intraindividual, que es mayor al 40% (11). Esto justifica la necesidad de obtener 2 valores elevados de AU en 3 muestras obtenidas durante un período de 3 a 6 meses para poder confirmar su presencia (4).

FACTORES QUE AFECTAN LA MEDICIÓN DE ALBÚMINA URINARIA

Existen condiciones que afectan la medición de AU y estas deben ser del conocimiento tanto del bioquímico como del médico (Tabla II) (12). Las mismas deben ser consideradas tanto en el momento de dar indicaciones al paciente para la recolección de la muestra, con el fin de que la orina remitida al laboratorio cumpla con los requerimientos preanalíticos adecuados, como en el momento de la interpretación de los resultados.

Diversos factores pueden afectar la concentración de AU, ellos son: el tipo de muestra empleada para el análisis, el material del recipiente de recolección (absorción de la albúmina al plástico), temperatura de almacenamiento, turbiedad de la muestra (13).

Tabla II. Condiciones que afectan la determinación de albúmina urinaria.

Condiciones que afectan la determinación de albúmina urinaria
Actividad física intensa
Hora del día
Posición vertical (proteinuria ortostática)
Sobrecarga salina o proteica
Estado de ayuno
Estado de hidratación
Estados inflamatorios
Síndrome febril agudo
Insuficiencia cardíaca congestiva
Mal control glucémico
Presión arterial descontrolada
Consumo excesivo de alcohol
Condiciones que aumentan la permeabilidad vascular (ej. septicemia)
Hematuria
Contaminación de orina con flujo vaginal o secreción uretral
Infección urinaria sintomática

MUESTRA

La determinación de AU depende de una adecuada técnica de recolección de la muestra y de su procesamiento inmediato.

La excreción de AU es variable a lo largo del día y depende de factores como el estrés, el grado de hidratación, la actividad física o la ingesta proteica. Esto ha llevado a considerar a la orina de 24 horas como la muestra de referencia para su medición, el *gold standard* (5). Sin embargo, la dificultad que representa para los pacientes juntar esta orina y los errores asociados a su recolección, con frecuencia incompleta, han generado la necesidad de buscar muestras alternativas para medir la excreción urinaria de albúmina. En este contexto se han propuesto como muestras opcionales, la primera orina de la mañana u orinas aleatorias o aisladas. En

ambos casos los resultados deben expresarse referidos a la concentración de creatinina en orina, con el fin de eliminar las variaciones en función del grado de hidratación. Surge así la relación AU/creatininuria (RAC) (14). Dicha relación proporciona una estimación precisa de la excreción urinaria de albúmina que no es afectada por el estado de hidratación del paciente. Múltiples estudios han demostrado que la RAC en primera orina de la mañana es el espécimen más adecuado para la pesquisa de AU y su monitorización. Dado que la primera orina de la mañana está menos influenciada por el estado de hidratación y por la actividad física, posee menor variabilidad biológica y tiene buena correlación con la excreción de albúmina en 24 horas, es en la actualidad la muestra recomendada (5). Asimismo, existe evidencia de que la RAC tiene mejor poder predictivo de eventos renales adversos que otras muestras de proteinuria tales como: AU en orina de 24 horas, proteinuria en orina de 24 horas y proteinuria en primera orina de la mañana (15). Un estudio realizado en la población general demostró que de todos los sujetos que presentaron AU en una muestra de orina aleatoria, sólo el 43,5% confirmó esta condición en la primera orina de la mañana; la muestra de orina aleatoria podría sobrestimar la AU (16).

Las guías K/DOQI recomiendan la determinación de la RAC para el diagnóstico y seguimiento del paciente adulto, porque es el biomarcador más sensible para la detección de nefropatía incipiente y ha sido más validado que la proteinuria en enfermedad glomerular, diabetes e hipertensión (1).

Otro aspecto a tener en cuenta es la presencia de creatininuria en el denominador de la RAC. Si se tiene en cuenta que la creatininuria depende de la masa muscular, y que la misma se ve alterada en mujeres, ancianos, amputados, individuos musculosos, etc., es obvio que en estos casos se podría subestimar o sobrestimar el valor de AU. Algunos investigadores proponen estimar la proporción de albúmina excretada mediante una fórmula que incluye la RAC y la creatininuria estimada. Este último parámetro podría calcularse mediante fórmulas que incluyen datos de edad, sexo, raza y algunas de ellas, el peso del individuo (17) (18).

El momento óptimo para la recolección de la muestra de orina es la mañana temprano. Todas las recolecciones deben realizarse en el mismo momento del día para minimizar la variación.

El paciente no debe haber ingerido ningún alimento en las dos horas previas, pero debe estar bien hidratado (sin reducción del volumen) (19).

CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

La AU debería medirse en muestra de orina fresca (20). Si es necesario conservar dicho espécimen es posible refrigerarlo durante 7 días entre 2-8 °C pues tanto

la albúmina como la creatinina urinarias son estables (21-23). También se puede congelar a -70°C pero no a -20°C , ya que a esta temperatura se produce disminución de la concentración de albúmina como consecuencia de la fragmentación que sufre la molécula (24-26).

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 el espécimen) (27).

Si fuera necesario realizar la recolección de orina de 24 horas, esta debe mantenerse refrigerada, sin necesidad del uso de conservantes.

Consideraciones analíticas

La medición de AU es compleja pues la albúmina se presenta en la orina de formas muy variadas y heterogéneas; su exposición a diferentes rangos de pH y de fuerza iónica producen múltiples cambios en su estructura.

Asimismo, la fragmentación proteolítica de la albúmina que ocurre tanto en el plasma como en los túbulos renales y la presencia de diferentes analitos, iones, péptidos, hormonas y drogas, que se unen a la molécula, afectan su configuración molecular (5) (28).

En definitiva, la albúmina en orina se puede encontrar fragmentada o en forma de monómeros, dímeros, polímeros o modificada. De manera interesante se observa que más del 99% de AU está degradada en fragmentos con un peso molecular $<10\text{ kD}$, siendo la excreción de albúmina intacta menor a 1% (29).

Algunos autores sostienen que parte de la albúmina intacta presente en la orina es no inmunorreactiva (Figura 1). La naturaleza de esta molécula podría atribuirse a cambios en los epitopes producidos como consecuencia del proceso de proteólisis incompleta en la vía de fragmentación lisosomal que se lleva a cabo en las células tubulares, lo que impediría su reconocimiento por los an-

ticuerpos utilizados en los inmunoensayos. La presencia en orina de albúmina intacta no inmunorreactiva, se ha demostrado en pacientes con diabetes tipo 1 y tipo 2, que son justamente quienes presentan afectación en el proceso de fragmentación lisosomal aún en etapas tempranas de la nefropatía diabética (30-32). Un hecho interesante en estos pacientes es que la aparición de esta albúmina intacta no inmunorreactiva se anticiparía a la aparición de albúmina inmunorreactiva entre 3,9 y 2,4 años según el tipo de diabetes 1 y 2, respectivamente (31).

Los métodos de diagnóstico *in vitro* disponibles para medir AU pueden clasificarse en: semicuantitativos (tiras reactivas) y cuantitativos (inmunonefelometría, inmunoturbidimetría, radioinmunoensayos, ELISA, cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), electroforesis en un *chip*, cromatografía líquida-espectrometría de masa en *tandem* (LC-MS) (33). Estos métodos analíticos difieren en su capacidad de medir las diferentes formas moleculares de albúmina presentes en la orina.

Los métodos semicuantitativos utilizan diferentes principios metodológicos. La reacción depende de la concentración de albúmina, y del volumen de orina, por lo que el grado de AU se subestima en las orinas diluidas y se sobreestima en aquellas muy concentradas. Aunque la medición cualitativa por tiras reactivas es rápida y fácil de realizar, las tasas de falsos positivos y falsos negativos limitan su utilidad. Por otra parte, están sujetas a interferencias, son operador dependiente, presentan una elevada variabilidad entre los fabricantes y difieren entre sí en sensibilidad y especificidad (34).

Aunque el uso de tiras reactivas para AU podría disminuir los costos de la prueba, su empleo podría subdiagnosticar a la mayoría de los pacientes con AU o aumentar el número de pacientes que deberían repetir la prueba (34).

Los inmunoensayos turbidimétricos o nefelométricos son los métodos analíticos de uso habitual en la práctica clínica (35). En España, se ha informado que el 87,8% de los laboratorios inscriptos en un programa de control de calidad externo determinan la albúmina en orina mediante métodos turbidimétricos y 12,1% utilizan métodos nefelométricos. Los coeficientes de variación que se han registrado oscilan entre 5,4 y 10,0% para los métodos turbidimétricos y 6,8 y 15,5% para los métodos nefelométricos, para un intervalo de concentraciones entre 260 y 970 mg/L (6), respectivamente. Sus límites de detección de albuminuria varían entre 2 y 10 mg/L (36).

Los inmunoensayos detectan albúmina urinaria intacta inmunorreactiva, fragmentos de albúmina $>12\text{KD}$, agregados de polímeros de albúmina y algunas formas modificadas (35). Los anticuerpos empleados pueden ser monoclonales o policlonales con distinta sensibilidad para la detección de formas anómalas o de fragmentos de albúmina presentes en la orina (6). Los métodos que utilizan anticuerpos policlonales poseen mayor sensibilidad que los monoclonales (31).

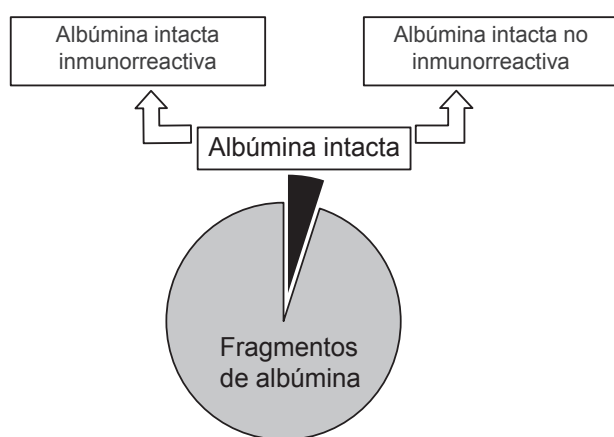


Figura 1. Formas moleculares de albúmina urinaria.

Bargnoux AS, *et al.* realizaron la comparación de 5 ensayos inmunturbidimétricos y concluyeron que los mismos tuvieron una imprecisión aceptable ($CV < 6\%$), sin embargo, no fueron estrictamente equivalentes. Las diferencias observadas se atribuyeron en gran parte a la falta de armonización del ensayo, a la implementación del método, a la fuente de anticuerpos, y al proceso de calibración (37).

Los inmunoensayos son influenciados por los epitopos reconocidos por el anticuerpo y la reactividad con las formas modificadas de albúmina presentes en la muestra de orina (31). Los anticuerpos policlonales podrían reaccionar con formas modificadas y fragmentadas de albúmina mientras que los monoclonales son más sensibles a las modificaciones estructurales de albúmina (39). El *National Kidney Disease Education Program* (NKDEP) y los grupos de trabajo de la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) recomiendan el uso de inmunoensayos con sueros policlonales, ya que reaccionan con formas modificadas de albúmina (13).

Altas concentraciones de antígeno pueden causar un efecto *hook*, lo que resulta en concentraciones falsamente bajas (38), consideración analítica muy importante a tener en cuenta.

La cuantificación de AU por HPLC arroja valores superiores a los que se obtienen por los métodos inmunológicos. Esto podría atribuirse a que el método HPLC detecta albúmina intacta inmunorreactiva y no inmunorreactiva (32); sin embargo, algunos autores sostienen que esta sobreestimación en la medición de AU se debe a que la albúmina no se puede separar de otras proteínas presentes en la orina. Se estima que 20-30% del pico de albúmina observado en la cromatografía, se debe a la presencia de proteínas que coeluyen junto con la albúmina. A esta metodología se le cuestiona la especificidad (40).

Tanto los métodos inmunológicos como la HPLC son incapaces de medir fragmentos de albúmina < 10 KD (35).

La comparación de los métodos inmunológicos y HPLC *versus* el método LC-MS, demostró que HPLC sobreestima la AU (41).

Recientemente se publicaron los resultados de un trabajo de comparación de 17 métodos comerciales para la medición de AU con cromatografía líquida dilución isotópica espectrometría de masa (IDMS), postulado como método de referencia para la medición de AU. Algunos procedimientos de medición de rutina exhibieron sesgos relativamente pequeños en comparación con el procedimiento de IDMS, sin embargo, en la mayoría de ellos, los sesgos fueron importantes y variables con la concentración (-35% a 34%). El *bias* fue la principal fuente de discrepancia entre los métodos de medición de rutina (42).

Las diferencias observadas entre los resultados obtenidos de distintos laboratorios difieren en virtud de

múltiples factores que afectan la medición de AU; entre otros, la inexistencia de un procedimiento analítico de referencia y de un material de referencia internacional; la presencia de diferentes formas moleculares de la albúmina en orina, tanto en la muestra como en los calibradores (moléculas modificadas, fragmentadas, glicosiladas, formas diméricas, polímeros), la existencia de albúmina no reactiva a los anticuerpos, la unión inespecífica de la albúmina a los tubos utilizados para la recolección del espécimen y los fenómenos de polimerización y fragmentación que se producen durante su almacenamiento y en los procesos de congelación y descongelación de las muestras (6).

La mayoría de los fabricantes de productos para diagnóstico *in vitro* declaran que el valor asignado a sus calibradores es trazable al material de referencia que se utiliza para la calibración de la albúmina en suero. Existen diferencias entre los fabricantes en cuanto a los protocolos de preparación del calibrador, diluyente utilizado, factor de dilución, matriz de suero u orina, etc. (6).

La falta de estandarización de la prueba es un inconveniente para lograr valores reproducibles entre los distintos equipos comerciales de rutina.

En la actualidad, no hay objetivos analíticos de consenso para el error total, sesgo o imprecisión de las mediciones de albúmina en orina (42).

El Grupo de Trabajo de Laboratorio del *National Kidney Disease Education Program* y el de la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* están llevando a cabo las tareas vinculadas con la estandarización de AU, un proceso que se encuentra en etapas avanzadas y que permitirá a los fabricantes de equipos comerciales realizar mejoras en los procedimientos de medición (10), lo que redundará en la obtención de resultados precisos y confiables para los pacientes.

Conclusiones

La AU, muy solicitada en los laboratorios de análisis clínicos, es un parámetro de gran utilidad tanto para el estudio de la enfermedad renal incipiente como para la evaluación del riesgo cardiovascular. El bioquímico debe conocer qué condiciones preanalíticas afectan su resultado, para dar indicaciones adecuadas al paciente y proceder correctamente con el manejo de la muestra hasta su medición. Por otra parte, es importante conocer que existen diferentes formas moleculares de AU, que serán detectadas o no según el método y que inciden en la interpretación de los resultados. La estandarización del método y armonización entre laboratorios serán los pilares fundamentales para el fortalecimiento de este parámetro como indicador precoz de daño renal y riesgo cardiovascular.

CORRESPONDENCIA

Dra. GRACIELA PENNACCHIOTTI
 Universidad Nacional del Sur
 San Juan 670. 8000 BAHÍA BLANCA. Argentina
e-mail: grapen@uns.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 Suppl 1: S1-266.
2. National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Chronic kidney disease: National clinical guideline for early identification and management in adults in primary and secondary care London: Royal College of Physicians; 2008.
3. Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3: S6-308.
4. Martínez-Castelao A, Górriz JL, Bover J, Segura-de la Morena J, Cebollada J, Escalada J, *et al.* Documento de consenso para la detección y manejo de la enfermedad renal crónica. *Aten Primaria* 2014; 46 (9): 501-19.
5. Stephen R, Jolly SE, Nally JV, Navaneethan SD. Albuminuria: when urine predicts kidney and cardiovascular disease. *Cleve Clin J Med* 2014; 81 (1): 41-50.
6. Montañés Bermudez R, Gracia García S, Perez Surribas D, Martínez Castelao 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: 1-16.
7. Alegre JR, Alias A, Angerosa M, Bianchi ME, Dorado E, Etchegoyen MC, *et al.* Documento de Consenso: Implicancia de la Proteinuria en el Diagnóstico y Seguimiento de la Enfermedad Renal Crónica. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (3): 613-25.
8. Arnlöv J, Evans JC, Meigs JB, Wang TJ, Fox CS, Levy D, *et al.* Low-grade albuminuria and incidence of cardiovascular disease events in nonhypertensive and nondiabetic individuals: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005; 112: 969-75.
9. Zoccali C, Mallamaci F. Albuminuria in the Normal Range. *J Am Coll Cardiol* 2013; 15: 1634-6.
10. Miller G, Narva A, Bachaman L, Eckfeldt J, Beasley-Green A, Lieske J, *et al.* Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). Workshop on Urine Albumin (UA) Standardization National, February 2015. Disponible en: <http://www.niddk.nih.gov/health-information/health-communication-programs/nkdep/working-groups/laboratory-working-group/meeting-summaries/02052015-ua-workshop/Pages/default.aspx>. Fecha de acceso 31 de marzo de 2015.
11. Mogensen CE, Keane WF, Bennett PH, Jerums G, Parving HH, Passa P, *et al.* Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. *Lancet* 1995; 346: 1080-4.
12. Mogensen CE, Vestbo E, Poulsen PL, Christiansen C, Damsgaard EM, Eiskjaer H, *et al.* Microalbuminuria and potential confounders. A review and some observations on variability of urinary albumin excretion. *Diabetes Care* 1995; 18 (4): 572-8.
13. Miller WG, Bruns DE, Hortic GL, Sandberg S, Aakre KM, McQueen MJ *et al.* National Kidney Disease Education Program-IFCC Working Group on Standardization of Albumin in Urine. Current issues in measurement and reporting of urinary albumin excretion. *Clin Chem* 2009; 55: 24-38.
14. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, *et al.* Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67 (6): 2089-100.
15. Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Brenner BM, Cooper ME, Parving HH, Shahinfar S, *et al.* Comparison of different measures of urinary protein excretion for prediction of renal events. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(8): 1355-60.
16. Saydah SH, Pavkov ME, Zhang C, Lacher DA, Eberhardt MS, Burrows NR, *et al.* Albuminuria prevalence in first morning void compared with previous random urine from adults in the National Health and Nutrition Examination Survey, 2009-2010. *Clin Chem* 2013; 59: 675-83.
17. Fotheringham J, Campbell MJ, Fogarty DG, El Nahas M, Ellam T. Estimated albumin excretion rate versus urine albumin-creatinine ratio for the estimation of measured albumin excretion rate: derivation and validation of an estimated albumin excretion rate equation. *Am J Kidney Dis*. 2014 Mar; 63 (3): 405-14.
18. Abdelmalek JA, Gansevoort RT, Lambers Heerspink HJ, Ix JH, Rifkin DE. Estimated albumin excretion rate versus urine albumin-creatinine ratio for the assessment of albuminuria: a diagnostic test study from the Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease (PREVEND) Study. *Am J Kidney Dis* 2014 Mar; 63 (3): 415-21.
19. Sacks DB, Arnold M, Bakris G L, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS *et al.* Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care* 2011 Jun; 34 (6): e61-e99.
20. Brinkman JW, De ZD, Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Kema IP, De Jong PE, *et al.* Apparent loss of urinary albumin during long term frozen storage: HPLC vs immunonephelometry. *Clin Chem* 2007; 53:1520-26.
21. 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.
22. Keane WF, Eknoyan G. Proteinuria, albuminuria, risk assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 1999; 33 (5): 1004-10.
23. Gansevoort RT, Verhave JC, Hillege HL, Burgerhof JG, Bakker SJ, de Zeeuw D, *et al.* The validity of screening based on spot morning urine samples to detect subjects

- with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int Suppl* 2005; 94: S28-35.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Martin H. Laboratory measurement of urine albumin and urine total protein in screening for proteinuria in chronic kidney disease. *Clin Biochem Rev* 2011; 32 (2): 97-102.
28. Peters T Jr, ed. *All About Albumin: Biochemistry Genetics and Medical Applications*. San Diego: Academic Press; 1996. p. 432.
29. Weyer K, Nielsen R, Christensen EI, Birn H. Generation of urinary albumin fragments does not require proximal tubular uptake. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23 (4): 591-6.
30. Greive KA, Balazs ND, Comper WD. Protein fragments in urine have been considerably underestimated by various protein assays. *Clin Chem* 2001; 47: 1717-9.
31. Comper WD, Osicka TM, Jerums G: High prevalence of immuno-unreactive intact albumin in urine of diabetic patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 336-42.
32. Speeckaert MM, Speeckaert R, Van De Voorde L, Delanghe JR. Immunochemically unreactive albumin in urine: fiction or reality? *Crit Rev Clin Lab Sciences* 2011; 48 (2): 87-96
33. Seegmiller JC, Sviridov D, Larson TS, Borland TM, Hortin GL, Lieske JC. Comparison of urinary albumin quantification by immunoturbidimetry, Competitive immunoassay, and protein-cleavage Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Clin Chem* 2009; 55: 11.
34. Nagrebetsky A, Jin J, Stevens R, James T, Adler A, Park P, *et al.* Diagnostic accuracy of urine dipstick testing in screening for microalbuminuria in type 2 diabetes: a cohort study in primary care. *Family Practice* 2013; 30: 142-52.
35. American Diabetes Association: Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27(Supplement 1): S79- S83.
36. Comper WD, Osicka TM, Clark M, Mac Isaac RJ, Jerums G. Earlier detection of microalbuminuria in diabetic patients using a new urinary albumin assay. *Kidney Int* 2004; 65 : 1850-5.
37. Bargnoux AS, Barrot A, Fesler P, Kuster N, Badiou S, Dupuy AM. Evaluation of five immunoturbidimetric assays for urinary albumin quantification and their impact on albuminuria categorization. *Clin Biochem* 2014; 47: 250-3.
38. Yaguo Ide LE, Akani NA. Microalbuminuria: It's Significance, risk factors and methods of detection. *Nigerian Health J* 2011; 11 (1): 1-7.
39. Sviridov D, Drake SK, Hortin GL. Reactivity of urinary albumin (microalbumin) assays with fragmented or modified albumin. *Clin Chem* 2008; 54: 61-8.
40. Sviridov D, Meilinger B, Drake SK, Hoehn GT, Hortin GL. Coelution of other proteins with albumin during size-exclusion HPLC: Implications for analysis of urinary albumin. *Clin Chem* 2006; 52: 3389-97.
41. Shaikh A, Seegmiller JC, Borland TM, Burns BE, Ladwig PM, Singh RJ, *et al.* Comparison between immunoturbidimetry, size-exclusion chromatography, and LC-MS to quantify urinary albumin. *Clin Chem* 2008; 54 (9): 1504-10.
42. Bachmann LM, Nilsson G, Bruns DE, McQueen MJ, Lieske JC, Zakowski JJ, *et al.* State of the art for measurement of urine albumin: Comparison of routine measurement procedures to isotope dilution tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2014; 60: 471-80.

Recibido: 11 de febrero de 2016

Aceptado: 6 de septiembre de 2016