

IMPORTANCIA CLINICA DE LA MICROALBUMINURIA EN DIABETICOS

Manuel E. Jiménez Díaz*

RESUMEN

La microalbuminuria es el principal parámetro empleado en pacientes diabéticos para la evaluación clínica de la enfermedad renal incipiente. El presente artículo presenta una revisión sobre los aspectos más relevantes de la microalbuminuria y su relación con la nefropatía diabética. También se comentan aspectos generales sobre la recolección de la muestra, su almacenamiento y los procedimientos de laboratorio (cualitativos y cuantitativos) empleados para su determinación. (*Rev. Cost. Cienc. Med. 1996, 17-1:47-55*)

Palabras clave: microalbuminuria, diabetes, diabetic nephropathy, screening, methods.

INTRODUCCIÓN

La proteinuria clínica generalmente se define como una excreción de proteínas totales en orina, superior a 500 mg/24h. En pacientes diabéticos está asociada usualmente con enfermedad de larga duración, pero es poco frecuente que se presente durante los primeros 7 años de la enfermedad (1 - 3). Sin embargo, su aparición sugiere nefropatía (1-4), con el consiguiente deterioro rápido de la

función renal, el desarrollo de insuficiencia renal y muerte (4,5). El tratamiento en esta fase puede retardar el progreso de la enfermedad pero no detenerlo o revertirlo, de manera que el pronóstico de la nefropatía diabética depende en gran medida del diagnóstico temprano de la proteinuria (6). Sin embargo, aún en nuestros días, esta complicación se detecta tardíamente en la diabetes, cuando ya hay una fase avanzada de nefropatía. Esto ocurre, por lo general, hasta que en un análisis general de orina, la proteinuria se hace evidente mediante cintas reactivas comunes (1, 3). Para mejorar el pronóstico de la nefropatía, esta debe diagnosticarse en una etapa más temprana.

En la fase incipiente de la nefropatía diabética se presenta una elevada tasa de excreción urinaria de albúmina, no detectable por los métodos de rutina (1, 3, 4). De manera que es posible el diagnóstico temprano de la enfermedad renal mediante el hallazgo de una pequeña elevación de la excreción de albúmina en esta fase.

Aunque la albúmina es la proteína plasmática más común, normalmente sólo se excretan en orina cantidades inferiores a 30 mg/24 h (7). La excreción renal de albúmina representa un balance entre la filtración glomerular y la reabsorción tubular. La filtración es afectada o influenciada por la tasa de filtración glomerular, el tamaño de la molécula y su carga eléctrica. Más del 95% de la albúmina y de IgG que son

* Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

filtradas normalmente son reabsorbidas por un mecanismo tubular que se encuentra casi saturado (8). Al aumentar la filtración glomerular de albúmina, aumenta su excreción, por saturación de la capacidad de reabsorción, sin que necesariamente esté ocurriendo una disminución de la funcionalidad tubular, ya que algunos marcadores de esta, como la excreción de β -2 microglobulina y lisozima no está aumentada (9).

La glicosilación de proteínas estructurales y circulantes puede también ser importante en este contexto. La membrana basal glomerular actúa como un filtro cargado negativamente, el cual aumenta o favorece la filtración de polianiones y retarda el pasaje de polianiones circulantes, tales como la albúmina. Los pacientes diabéticos tienen aumentadas las concentraciones de proteínas glicosiladas. La pérdida de albúmina puede ser el resultado de la glicosilación y de la disminuida sulfatación de los proteoglicanos de la membrana glomerular, la cual consecuentemente pierde su carga negativa (10, 11).

Por las razones anteriores se considera que la albuminuria es un indicador temprano de enfermedad renal diabética tratable.

DEFINICION DE MICROALBUMINURIA

El término microalbuminuria se emplea para describir aumentos subclínicos de la concentración de albúmina en orina, que no son detectables con pruebas comunes de cintas reactivas para proteínas urinarias. La tasa de excreción de albúmina en adultos sanos fluctúa entre 2,5 y 26 mg/ 24h ($< 20 \mu\text{g}/\text{min}$, relación albúmina) creatinina $< 0,01$). Estos niveles de excreción se definen como normoal-

buminuria. Los pacientes diabéticos con orina positiva con las cintas reactivas, generalmente tienen tasas de excreción superiores a 250 mg/24h ($>200 \mu\text{g}/\text{min}$, relación albúmina/creatinina $> 0,2$). Estos niveles se definen como una albuminuria clínica persistente o macroalbuminuria. Por lo tanto, en pacientes diabéticos con resultados negativos con cintas reactivas puede presentarse un amplio intervalo de hipersecreción subclínica de albúmina. Estas tasas de excreción, usualmente entre 20 y 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ (30 y 250 mg/ 24h, concentración de albúmina mayor a 20 mg/L), exceden el intervalo normal pero no llegan al nivel de detección de las pruebas comunes para proteinuria. Las tasas de excreción de este grado se definen como microalbuminuria (3, 4, 8). Algunos investigadores utilizan un valor ligeramente superior, una excreción de albúmina de 30 -200 $\mu\text{g}/\text{min}$ (45 a 250 mg/24 h) (12) y otros investigadores, cuando analizan la excreción nocturna, usan 15 $\mu\text{g}/\text{min}$ como el límite inferior (13).

El término microalbuminuria aunque generalmente aceptado, puede generar confusión, ya que implica una versión pequeña de la molécula de albúmina, más que una excreción urinaria de albúmina superior a la normal. Un término más exacto puede ser paucialbuminuria (14). Sinónimos de microalbuminuria también incluyen, albuminuria leve y nefropatía diabética incipiente (15).

SIGNIFICADO CLINICO DE LA MICROALBUMINURIA

La relación entre microalbuminuria y nefropatía diabética clínica se demostró mediante estudios prospectivos de grupos de pacientes con

diabetes tipo I (diabetes mellitus insulina dependiente, DMID) (2, 3). Los resultados de estos estudios, sugirieron la existencia de un umbral de la tasa de excreción de albúmina sobre el cual está aumentado el riesgo de avance a proteinuria clínica y el progresivo descenso de la función glomerular (16). Pacientes diabéticos con una tasa de excreción de albúmina entre 20 y 200 $\mu\text{g}/\text{min}$, tienen un riesgo 20 veces mayor de desarrollar nefropatía clínica. Mientras que sólo un 4% de los pacientes diabéticos con tasas de excreción normales desarrollan la nefropatía clínica (2-5). Cuanto mayor y más consistente sea la tasa de excreción, mayor es el riesgo de progreso y subsecuente deterioro en la función renal [17].

Algunos estudios han evaluado también el valor pronóstico de la microalbuminuria en grupos de pacientes con diabetes tipo II (diabetes mellitus no insulina dependiente, DMNID) (18, 19). En este tipo de diabetes, al menos 5% de los pacientes presentan microalbuminuria al momento del diagnóstico, esta proporción alcanza un 25% después de 20 años de diabetes (19). La prevalencia de la nefropatía diabética clínica se ha reportado entre 15% y 40% en diabéticos tipo II con al menos 10 años de duración de la enfermedad (20). Se ha demostrado, en un intervalo de 10-14 años, un riesgo significativamente aumentado de mortalidad cardiovascular y proteinuria clínica en pacientes con microalbuminuria (18-20). Por lo tanto los pacientes microalbuminúricos representan un grupo con un alto riesgo de desarrollar la nefropatía diabética si no se les da ningún tratamiento.

Estos estudios han llevado a emplear como principal parámetro, para la evaluación clínica de enfermedad renal temprana, la tasa de excreción

urinaria de albúmina de los pacientes diabéticos (21). Este parámetro no sólo está relacionado a diagnóstico, sino que es también importante para una temprana intervención, por ejemplo un buen control metabólico (22) y más específicamente un tratamiento temprano antihipertensivo (22-25). Algunas investigaciones demuestran que en pacientes con diabetes tipo 1 y en pacientes relativamente jóvenes con diabetes tipo II, los cuales presentan microalbuminuria, el tratamiento con agentes inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y otros agentes antihipertensivos, disminuye la albuminuria y es probable que retarde el descenso de la tasa de filtración glomerular (23-25, 26).

La primera aplicación de la determinación de microalbuminuria ha sido en diabetes mellitus, pero debido a que este desorden refleja un aumento generalizado en la tasa de escape transcápilar de albúmina, es también un marcador de enfermedad microvascular (11). La microalbuminuria predice mortalidad en enfermedad cardíaca en pacientes de la tercera edad (27) y quizás también en la enfermedad vascular coronaria y periférica en la población general (27). Ha sido sugerida como un parámetro para seguimiento de la terapia o el control de la preeclampsia (28). La microalbuminuria puede ser un marcador no específico de enfermedad aguda y puede tener un valor pronóstico indicando la severidad de la enfermedad aguda o la respuesta al tratamiento (29).

RECOLECCION DE LA MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

No existe un consenso general en cuanto a como debe recogerse la muestra de orina. Se sugiere que las 4 siguientes formas de recolección son

aceptables para el diagnóstico de microalbuminuria: 1- orina de 1 a 2 horas recogida en el laboratorio; 2- orina nocturna cronometrada (el paciente debe antes de acostarse vaciar su vejiga completamente y anotar la hora; al levantarse debe inmediatamente recoger en forma completa la primera orina y anotar la hora); 3- orina de 24 horas y 4- primera orina de la mañana (15). La forma de recolección utilizada, debe basarse probablemente en que es lo más conveniente para el paciente y el laboratorio. La primera orina de la mañana es una muestra bastante adecuada para fines de tamizaje. Si la excreción de albúmina está aumentada en esta muestra, debe recogerse una orina nocturna cronometrada o una orina de 24 h para evaluar la tasa de excreción de albúmina (6, 30-32).

Deben analizarse al menos 3 muestras debido a la alta variación intraindividual en la tasa de excreción de albúmina (CV de 30-50%) y a la variación diurna (50-100% mayor excreción durante el día que durante la noche) (30). El hallazgo de una única muestra con una elevada excreción de albúmina no indica necesariamente una nefropatía inicial. La microalbuminuria que se presenta ocasionalmente se denomina "microalbuminuria intermitente". Se presenta una microalbuminuria persistente, cuando al menos 2 de las 3 determinaciones son positivas en un lapso de 3 - 6 meses (6, 15, 30).

La excreción urinaria de albúmina aumenta por factores fisiológicos, tales como ejercicio, postura y diuresis. Por este motivo el método de recolección de orina debe estar estandarizado (6, 15, 30).

Las variaciones en la tasa de flujo de orina en un individuo, pueden corregirse expresando la albúmina en relación a la creatinina (albúmina/ creatinina en mg/mg ó $\mu\text{g}/\text{mmol}$) (15, 30, 32).

Las muestras no deben recogerse después del ejercicio o después de una carga aguda de líquido. Tampoco debe realizarse la determinación si el paciente tiene un mal control diabético, pues esto aumenta la tasa de excreción de albúmina. No debe evaluarse la excreción de albúmina si el paciente presenta una infección del tracto urinario. La enfermedad aguda con fiebre también aumenta la tasa de excreción de albúmina (30). Además, se recomienda que las pacientes no sean examinadas durante la menstruación, ni cuando experimentan cualquier otra descarga vaginal, debido a la probable contaminación de la muestra (30).

Recientes estudios muestran que la molécula de albúmina es muy estable bajo condiciones de almacenamiento usuales; aún a temperatura ambiente por 1 semana o almacenada en el refrigerador por 2-3 semanas (33-37). Si se congelan las muestras (-20°C ó -70°C) debe tenerse el cuidado de mezclar bien antes de realizar la determinación, de lo contrario se obtendrán valores falsamente disminuidos (33-37).

Los resultados de la microalbuminuria pueden expresarse como la concentración de albúmina (mg/L), como la relación albúmina/creatinina (mg/mg ó mg/mmol) o como la tasa de excreción de albúmina ($\mu\text{g}/\text{min}$) (15, 30, 32).

METODOS PARA LA DETERMINACION DE LA MICROALBUMINURIA

1-Métodos semicuantitativos:

Se han descrito varias pruebas semicuantitativas para la determinación de microalbuminuria: basadas en turbiedad (38), el principio del error

proteico de los indicadores (39), colorimetría (40) y en la aglutinación de partículas de látex, para esta última prueba se señala una sensibilidad y una especificidad de un 95% (41-43). También existen cintas reactivas especialmente desarrolladas para el tamizaje de microalbuminuria. Una de estas cintas utiliza azul de bromofenol en una matriz alcalina para detectar concentraciones de albúmina que excedan 40 mg/L. Se detectan también otras proteínas y se declara una especificidad de un 80-90% y una sensibilidad de 90-95% (15, 42). Otra de estas cintas utiliza un anticuerpo monoclonal IgG contra albúmina unido a β -galactosidasa. La albúmina en la orina se une al conjugado anticuerpo-enzima en la cinta de prueba. El exceso de conjugado se retiene en una zona de separación que contiene albúmina inmovilizada y únicamente difunden a la zona de reacción los inmunocomplejos conjugado-albúmina. Estos reaccionan con el sustrato (galactósido de clorofenol) para producir una coloración roja. La intensidad de color después de 5 mm es proporcional a la concentración urinaria de albúmina. Para este sistema se señala una sensibilidad y una especificidad de 90 a 95% y 80 a 93% respectivamente (30, 44, 45).

Los métodos semicuantitativos tienen ciertas limitaciones: ya que no son métodos exactos, un valor normal no descarta enfermedad renal y además con ellos no se puede realizar un seguimiento del paciente para detectar alguna tendencia en la tasa de excreción de albúmina.

2- Métodos cuantitativos:

Los métodos para la cuantificación de microalbuminuria deben ser sensibles, específicos y reproducibles

en el intervalo de 2 a 200 mg/L. Los métodos basados en unión de la albúmina a indicadores y en la precipitación proteica, que normalmente se usan para proteinuria son poco sensibles e inespecíficos (15, 35, 46]. Además se ha demostrado, que no hay una relación lineal entre la albuminuria y la excreción de proteínas totales en orina (35, 47). Todas las pruebas sensibles y específicas, descritas hasta ahora, para la determinación de albúmina en orina tienen fundamentos inmunoquímicos y utilizan anticuerpos contra albúmina humana. Existen varias opciones: el radioinmunoensayo (48), que fue el método que se estableció primero, ha sido desplazado por pruebas inmunoenzimáticas (ELISA) (46, 49, 50), métodos nefelométricos (51), pruebas inmunoturbidimétricas (52-53) y la inmunodifusión radial. Cada método tiene ventajas y desventajas. Todos los sistemas tienen sensibilidad, especificidad e intervalo analítico similares (27). Debido a que estas pruebas son bastante exactas, la elección del tipo de sistema depende del equipo de que se dispone y de la experiencia del personal de laboratorio.

En el Departamento de Análisis Clínicos de la Facultad de Microbiología, trabajamos en el desarrollo de un método cuantitativo, espectrofotométrico, sencillo y barato, que puede ponerse en práctica en los laboratorios clínicos nacionales, los cuales en la actualidad, salvo alguna excepción, no realizan esta determinación.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA MICROALBUMINURIA

Al obtenerse un hallazgo positivo por microalbuminuria, deben descartarse primero otros posibles factores como por ejemplo un mal control metabólico, hipertensión o un fuerte

ejercicio físico, los cuales aumentan la tasa de excreción de albúmina. Además, otras nefropatías glomerulares, las cuales dañan la pared capilar pueden naturalmente provocar una elevada excreción de albúmina. En diabetes tipo I se puede pensar también en una nefropatía no diabética, cuando se presenta una elevada excreción de albúmina poco tiempo después del inicio de la enfermedad (< 5 años). Las proteinurias de origen tubular pueden ser excluidas mediante la simultánea determinación de los correspondientes marcadores tubulares como por ejemplo la α_1 -microglobulina (54).

CONCLUSIONES

Debido a las posibilidades terapéuticas por un lado y al mal pronóstico de un diagnóstico tardío de la nefropatía por el otro, se debe efectuar a cabo un tamizaje adecuado para detectar en forma temprana la microalbuminuria en diabéticos tipo I y tipo II. Por esta razón la Asociación Americana de Diabetes (ADA) recomienda que se realice al menos una determinación anual de albúmina en orina para todos los diabéticos tipo II y para aquellos diabéticos tipo I que

tengan más de 5 años de inicio de la enfermedad [26]. En nuestro país es necesario establecer este análisis en todos los laboratorios, para poder darle un adecuado seguimiento y tratamiento a los pacientes diabéticos y así disminuir la incidencia de nefropatía diabética en nuestra población.

AGRADECIMIENTO

A los doctores Karl Schosinsky y Francisco Hernández por la revisión del manuscrito y sus valiosas sugerencias.

ABSTRAT

The measurement of small but abnormal amounts of albumin in urine (microalbuminuria) is the main parameter used in diabetic patients for the dm1-cal evaluation of early renal disease. In this article, relevant aspects of microalbuminuria and its association with diabetic nephropathy are reviewed. Current concepts in laboratory methodology, including urine collection techniques, storing conditions and measurement systems (semiquantitative and quantitative assays) are also summarized.

REFERENCIAS

1. Borch-Johnsen K, Andersen PK, Deckert T. The effect of proteinuria on relative mortality in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1985; 28:590-596.
2. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK et al.. Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia*. 1983; 25:496-501.
3. Viberti GC, Hill RD, Jarrett RJ, et al. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Lancet*. 1982;1 :1430-1432.
4. Mogensen CE, Christiansen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med*. 1984;311:89-93.
5. Borch-Johnsen K, Kreiner S. Proteinuria: valor as predictor of cardiovascular mortality in insulin dependent diabetes mellitus. *Brit Med J*. 1987;295:1651-1654.
6. Hasslacher Ch, Müller E. Frühdiagnose der diabetischen Nephropatie. *Lab med*. 1989; 13:231-234.
7. GuderWG. Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie. In: Greiling H, Gressner AM, eds. Stuttgart-New York: Schattauer; 1989.
8. Viberti GC, Keen H. The pattern of proteinuria in diabetes mellitus. Prevalence to pathogenesis and prevention in diabetic nephropathy. *Diabetes*. 1984;33:686-692.
9. Viberti GC, Pickup JC, Jarrett RJ, et al. Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and b-2 microglobulin in insulin-dependent diabetics. *N Engl J Med*. 1979;300:638-641.
10. Hindmarsh JT. Microalbuminuria. *Clin Lab Med*. 1988;8:611-616.
11. Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Norgaard K, et al. Microalbuminuria: Implications for micro- and macrovascular disease. *Diabetes Care*. 1992;15:1181-1191.
12. Microalbuminuria Collaborative Study Group, U.K.. Risk factors for development of microalbuminuria in insulin dependent diabetic patients: a cohort study. *Br Med J*. 1993;306:1235-1239.
13. Bangstad HJ, Osterby R, et al. Improvement of blood glucose control in IDDM patients retards the progression of morphological changes in early diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 1994;37:483-490.
14. Trivin F, Giraudet P. Microalbuminuria or paucialbuminuria. *Clin Chem*. 1988; 34(1):209-210.
15. Cembrowski GS. Testing for microalbuminuria: promises and pitfalls. *Lab Med*. 1990;21:491-496.
16. Viberti GC, Wiseman MJ. The kidney in diabetes: significance of the early abnormalities. *Clin Endocrinol Metab*. 1986;15:753-782.
17. Chase HP, Marshall G, Garg SK, et al. Borderline increases in albumin excretion rate and the relation to glycem control in subjects with type I diabetes. *Clin Chem*. 1991;37:2048-2052.
18. Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity onset diabetes. *N Engl J Med*. 1984;310:356-360.

19. Ballard DJ, Humphrey LL, Melton LJ, et al. Epidemiology of persistent proteinuria in type II diabetes mellitus. *Diabetes*. 1988;37:405-412.
20. Selby JV, Fitz, Simmons SC, Newman JM, et al. The natural history and epidemiology of diabetic nephropathy: Implications for prevention and control. *JAMA*. 1990;14:1954-1960.
21. American Diabetes Association. Consensus development conference on the diagnosis and management of nephropathy in patients with diabetes mellitus (Consensus Statement). *Diabetes Care*. 1994;17:1357-1361.
22. The Diabetes Control, Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977-986.
23. Molitch ME. ACE inhibitors and diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 1994;17:756-760.
24. Parving HH. Effect of captopril on blood pressure and kidney function in normotensive insulin-dependent diabetics with nephropathy. *Br Med J*. 1989;299:533-536.
25. Marre M, Chatellier G, Leblanc H, et al. Prevention of diabetic nephropathy with enalapril in normotensive diabetics with microalbuminuria. *Br Med J*. 1988;297:1092-1095.
26. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1989;12:365-368.
27. Damsgaard EM, Froland A, Jorgensen OD, et al. Microalbuminuria as predictor of increased mortality in elderly people. *Br Med J*. 1990;300:297-300.
28. Irgens-Moller L, Hemmingsen L, Holm J. Diagnostic value of microalbuminuria in preeclampsia. *Clin Chim Acta*. 1986;157:295-298.
29. Winocour PH. Microalbuminuria. *Br Med J*. 1992;304:1196-1197.
30. Mogensen CE, Vestro E, Poulsen PL, et al. Microalbuminuria and potential confounders. *Diabetes Care*. 1995;18:572-581.
31. Howey JEA, Browning MCK, Fraser CG. Which specimen to screen for microalbuminuria. *Clin Chem*. 1988;34:2393-2394.
32. Hutchinson AS, O'Reilly DStJ, MacCuisch AC. Albumin excretion rate, albumin concentration and albumin/creatinine ratio compared for screening diabetics for slight albuminuria. *Clin Chem*. 1988;34:2019-2021.
33. Rowe DJF, Dawney A, Watts GF. Microalbuminuria in diabetes mellitus: Review and recommendations for the measurement of albumin in urine. *Ann Clin Biochem*. 1990;27:297-312.
34. MacNeil ML, Mueller PW, Caudill SP, Steinberg K. Considerations when measuring urinary albumin: precision, substances that may interfere, and conditions for sample storage. *Clin Chem*. 1991;37:2120-2123.
35. Gianpietro O, Clerico A, et al. Microalbuminuria in diabetes mellitus: more on urine storage and accuracy of colorimetric assays. *Clin Chem*. 1989;35:1560-1562.

36. Melzi, G.V., Valenti G, Pastore R, Pankopf S. More on stability of albumin, N-acetylglucosaminidase and creatinine in urine samples. *Clin Chem.* 1994;40:339-340.
37. Silver AC, Dawney A, London J. Specimen preparation for assay of albumin in urine. *Clin Chem.* 1987;33:199-200.
38. Watts GF, Hodgson B, Morris RW, et al. Side room tests to screen for microalbuminuria in diabetes mellitus. *Diabetes Med.* 1988;5:298-303.
39. Slama G, Boillot J, Resplanque N, et al. Bedside stimation of microalbuminuria. *Lancet.* 1985;ii:1338-1339.
40. Phillipou C, James SK, Seaborn CJ, et al. Screening for microalbuminuria by use of a rapid, low cost colorimetric assay. *Clin Chem.* 1989;35:1927-1928.
41. Maclean-Bushnell JE, Frayn KN, Mitchener J. More on predictive value of "AlbuScreen" and "Albusure" results. *Clin Chem.* 1988;34:2387.
42. Guagnellini E, Mella M, Lovagnini Scher A. More on rapid detection of urinary albumin at low concentration. *Clin Chem.* 1988;34:2603-2605.
43. Capps NE, Bottomley S, O Hare P. Predictive value of Albuscreen and Albustix results. *Clin Chem.* 1988;34:1368.
44. Poulsen PL, Mogensen CE. Evaluation of a new semiquantitative stix for microalbuminuria. *Diabetes Care.* 1995;18:732-733.
45. Ward KM, Rossetti BM, et al. Screening for microalbuminuria with Micral™, 24 hours vs. random urine samples. *Diabetes.* 1995;44:121 A.
46. Heinze K-G, Westphal C, da Fonseca-Wollheim F. Einfacher und ökonomischer Enzymimmunoassay zur Quantifizierung der Mikroalbuminurie. *Lab med.* 1989;13:20-24.
47. Linton AS, Rowe DJF. Ames "Microbumintest" evaluated, and the correlation with total protein and albumin concentration in urine. *Clin Chem.* 1988;34:1927.
48. Jury DR, Speck JF, Dum PJ. Urinary albumin RIA using a solid phase second antibody and solid phase albumin iodination. *Clin Chim Acta.* 1985; 148:63-67.
49. Magnotti RA, Stephens GW, Rogers RK, et al. Microplate measurement of urinary albumin and creatinine. *Clin Chem.* 1989;35:1371-1375.
50. Townsend JC. A competitive immunoenzymometric assay for albumin in urine. *Clin Chem.* 1986;32:1372-174.
51. Lievens MW, Kelelsleberg JM. Immunonephelometric method evaluated for determining low concentrations of albumin in urine. *Clin Chem.* 1988;34:992-993.
52. Bakker AJ. Immunoturbidimetry of urinary albumin: prevention of adsorption or albumin; influence or other urinary constituents. *Clin Chem.* 1988;34:82-86.
53. Linton A, Rowe DJE "URIN-PAK" Immunoturbidimetric method evaluated for measuring albumin in urine. *Clin Chem.* 1988;34:1927.
54. Hofmann W, Guder WG. Moderne Methoden zur Proteindifferenzierung im Urin. *Lab med.* 1989;13:336-344.