La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio Italian Journal of Laboratory Medicine

ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU) PHYSICAL, CHEMICAL AND MORPHOLOGICAL URINE EXAMINATION GUIDELINES FOR THE ANALYTICAL PHASE FROM THE INTERSOCIETY URINALYSIS GROUP . Titolo Breve: Esame delle urine: linee guida per la fase analitica. Short Title: Urinalysis: guidelines for analytical phase.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	RIME-D-16-00019R1
Full Title:	ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU) PHYSICAL, CHEMICAL AND MORPHOLOGICAL URINE EXAMINATION GUIDELINES FOR THE ANALYTICAL PHASE FROM THE INTERSOCIETY URINALYSIS GROUP . Titolo Breve: Esame delle urine: linee guida per la fase analitica. Short Title: Urinalysis: guidelines for analytical phase.
Article Type:	Editorial (Editoriale)
Corresponding Author:	Gianluca Gessoni, MD ULSS 14 Chioggia Chioggia, Venice ITALY
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	ULSS 14 Chioggia
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Gianluca Gessoni, MD
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Gianluca Gessoni, MD
	Fabio Manoni, MD
	Giovanni Battista Fogazzi, Prof
	Maria Grazia Alessio, MD
	Alberta Caleffi, MD
	Maria Grazia Epifani
	Giovanni Gambaro, Prof
	Barbara Pieretti
	Angelo Perego
	Cosimo Ottomano
	Graziella Saccani
	Sara Valverde
	sandra Secchiero
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

Manuscript

Click here to download Manuscript Manoni F. LG GIAU Testo SIPMEL Rev01.doc

Click here to view linked References

ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU)

PHYSICAL, CHEMICAL AND MORPHOLOGICAL URINE EXAMINATION GUIDELINES FOR THE ANALYTICAL PHASE FROM THE INTERSOCIETY URINALYSIS GROUP.

Fabio MANONI[1], Gianluca GESSONI[2], Giovani Battista FOGAZZI[3], Maria Grazia ALESSIO[4], Alberta CALEFFI[5], Giovanni GAMBARO[6], Maria Grazia EPIFANI[7], Barbara PIERETTI[8], Angelo PEREGO[9], Cosimo OTTOMANO[10], Graziella SACCANI[11], Sara VALVERDE[2], Sandra SECCHIERO[7]; per il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine.

1. Dipartimento dei Servizi di Diagnosi e Cura Ospedali Riuniti Padova Sud "Madre Teresa di Calcutta" Monselice PD.
2. Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Madonna della Navicella, Chioggia VE
3. Laboratorio Clinico e di Ricerca sul Sedimento Urinario U.O. Di Nefrologia e Dialisi Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano.
4. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche. ASST Papa Giovanni XXIII Piazza OMS Bergamo.
5. U.O Diagnostica Ematochimica, Dipartimento Diagnostico, Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma.
6. Divisione di Nefrologia e Dialisi, Fondazione Policlinico A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma.
7. Centro di Ricerca Biomedica, U.O.C. Medicina di Laboratorio Azienda Ospedaliera-Università, Padova
8. Laboratorio Analisi Ospedale S. Croce Fano PU
9. Divisione di Nefrologia e Dialisi Ospedali Riuniti Padova Sud "Madre Teresa di Calcutta" Monselice PD.
10. Centro Analisi Monza.
11. Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale Orlandi Bussolengo VR

Per Corrispondenza:
Dott. Fabio Manoni MD
Dipartimento dei Servizi di Diagnosi e Cura Ospedale Madre Teresa di Calcutta.
Monselice PD
Tel 0039-0429-788256 Fax 0039-0429-788560
e-mail: fabio.manoni@ulss17.it,

Titolo Breve:
Esame delle urine: linee guida per la fase analitica.
Short Title:
Urinalysis: guidelines for analytical phase.

Riassunto

Mediante queste linee guida il gruppo intersocietario analisi delle urine (GIAU) mira a stimolare i seguenti aspetti:

• miglioramento e standardizzazione dell'approccio analitico all'esame chimico fisico e morfologico delle urine (ECMU).

• sottolineare il valore aggiunto all'ECMU dalla introduzione analizzatori automatizzati per lo studio della morfologia delle frazione corpuscolata delle urine.

• Miglioramento della analisi chimica delle urine con particolare riguardo al riesame del significato diagnostico dei parametri che vengono tradizionalmente valutati nell'analisi mediante dip-stik insieme con una crescente consapevolezza dei limiti di sensibilità e specificità di questo metodo analitico.

• Aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria della importanza della interazione con i clinici.

• Implementare una politica di valutazione della qualità analitica utilizzando, oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni, un programma per la valutazione della competenza morfologica.

• Stimolare l'industria diagnostica del settore a concentrare gli sforzi sulla ricerca e sullo sviluppo di metodologie strumentali sempre più idonee alle esigenze di diagnosi clinica.

La speranza è quella di rivalutare l'enorme potenziale diagnostico di 'ECMU, attraverso la esecuzione di un esame delle urine personalizzato in base alle esigenze diagnostiche di ogni paziente.

Parole chiave:

fase analitica, linee guida, analisi delle urine,

Summary

With these guidelines the Intersociety Urinalysis Group (GIAU) aims to stimulate the following aspects:

• improvement and standardization of the analytical approach to physical, chemical and morphological urine examination (ECMU)-.

• Emphasize the value added to ECMU by automated analyzers for the study of the morphology of the corpuscular fraction urine.

• Improvement of the chemical analysis of urine with particular regard to the reconsideration of the diagnostic significance of the parameters that are traditionally evaluated in dipstick analysis together with an increasing awareness of the limits of sensitivity and specificity of this analytical method.

• Increase the awareness of the 'importance of professional skills in the field of urinary morphology and their relationships with the clinicians.

• Implement a policy of evaluation of the analytical quality by using, in addition to traditional internal and external controls, a program for the evaluation of morphological competence.

• Stimulate the diagnostics industry to focus research efforts and development methodology and instrumental catering to the needs clinical diagnosis.

The hope is to revalue the enormous potential diagnostic of 'ECMU, implementing a urinalysis on personalized diagnostic needs that each patient brings with it.

Key Words: Analytical Phase, Guidelines, Urinalysis,

Abbreviazioni ed acronimi:

ACR= Albumina/Creatinina Ratio

AGREE=Appraisal of Guidelines for Research & Evaluation

CBM= CuvetteBasedMicroscopy

CQI= Controllo di Qualità Interno

CV= coefficiente di variazione

ECLM=EuropeanConfederation of Laboratory Medicine

ECMU= Esame Chimico-fisico e Morfologico delle Urine

eGFR= estimated Glomerular Filtration Rate

EUG= European Urinalysis Group

EUGL= EuropeanUrinalysisGuidelines

GIAU= Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine

GRADE - Grades of Recommendation Assessment, Development and Evaluation

KDIGO= Kidney Disease Improving Global Outcomes

HPF= Hight Performance Field (400x)

IFCC= International Federation of Clinical Chemistry

IVU= Infezione delle Vie Urinarie

LG= Linee Guida

LPF= Low Performance Field (100x)

MRC= Malattia Renale Cronica

MO= Microscopio Ottico

PCR= Proteine / Creatinina Ratio

POCT= Point Of Care Test

RCT= studi controllati randomizzati

SIGN= ScottishIntercollegiateGuidelines Network

THP= Tamm-HorsfallProtein

VEQ= Verifica Esterna di Qualità

VPN= valore predittivo negativo

VPP= valore predittivo positivo

Definizione di Linea Guida

Le LG possono essere definite come «raccomandazioni di comportamento clinico, elaborate mediante un processo di revisione sistematica della letteratura e delle opinioni di esperti, con lo scopo di aiutare i medici a decidere le modalità assistenziali più appropriate in specifiche situazioni cliniche» [1].

La definizione di LG sopra riportata segna inoltre la differenza tra linee guida e altri strumenti. I cosiddetti «protocolli», per esempio, sono schemi di comportamento predefiniti e vincolanti utilizzati nel corso di sperimentazioni. Si dicono invece «profili di cura» o «percorsi diagnostico-terapeutici» i risultati degli adattamenti delle linee guida alle situazioni locali, con le loro specifiche caratteristiche organizzative e gestionali [2].

Le linee guida nascono quindi per rispondere a un obiettivo fondamentale: assicurare il massimo grado di appropriatezza degli interventi, riducendo al minimo quella parte di variabilità nelle decisioni cliniche che è legata alla carenza di conoscenze e alla soggettività nella definizione delle strategie assistenziali [3].

Metodologia per il reperimento delle fonti

Queste linee guida sono state sviluppate da un gruppo di Professionisti di Medicina di Laboratorio e di Nefrologia componenti il GIAU. Si tratta quindi di un gruppo di professionisti impegnati a rivalutare l'esame delle urine per l'importanza che questo riveste nella diagnosi precoce delle alterazioni dell'apparato urinario. In particolare, in queste Linee Guida si sono affrontate le problematiche relative alla fase analitica dell'ECMU. Sono stati identificati gli aspetti relativi alla fase analitica dell'esame delle urine e, sulla base di una revisione sistematica della letteratura, sono state sviluppate le relative raccomandazioni.

Strategia di ricerca delle prove di efficacia

La linea guida si basa su una revisione sistematica della letteratura, volta alla ricerca di prove di efficacia per fornire risposte ai quesiti individuati dal gruppo di lavoro. Il processo di ricerca delle prove di efficacia ha seguito una strategia di selezione gerarchica, secondo il principio di saturazione teoretica [4-5]: è iniziata cioè con la ricerca di linee guida (studi terziari) pubblicate su questo argomento, selezionate sulla base di criteri di qualità, come indicato dalla metodologia AGREE [6]. La ricerca ha condotto all'identificazione delle seguenti linee guida, che sono state utilizzate come riferimento nella stesura di questo documento:

- ECLM- *European Urinalysis Guidelines.*The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 60: 1-96, suppl. 231, 2000 [7].
- CLSI GP-16 A3 Urinalysis and Collection, transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline – third Edition vol.29: n4: 4-21, 2009 [8].
- SIGN- Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A National Clinical Guideline. Edinburgh (Scotland), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN); July 2006. SIGN publication n. 88 [9].
- Kuori T, Gyory A, Rowan M. ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine Lab Hematol 2003;9:58-63 [10].
- Linea Guida Regione Emilia Romagna. Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Dossier 190-2010 [11].
- British Columbia Health Service Guidelines for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. Maggio 2005 [12].

La ricerca è poi proseguita con l'identificazione di studi primari e secondari. Questa ulteriore fase si è resa necessaria sia perché le linee guida facevano riferimento a una bibliografia non aggiornata, sia perché alcune delle problematiche identificate dal gruppo di lavoro, ad esempio quelle relative all'automazione della valutazione della frazione corpuscolata, non erano state debitamente affrontate e dibattute nelle linee guida in esame.

Gli studi primari e secondari sono stati selezionati ed inclusi partendo da quelli di livello superiore (revisioni sistematiche) e interrompendo la selezione al livello gerarchico più elevato al quale è stata identificata una prova di efficacia rilevante. In altri termini, sono stati inizialmente consultati la Cochrane Library e la ClinicalEvidence. Per gli argomenti ai quali questi strumenti non hanno fornito risposta o nel caso in cui il dato fornito non fosse recente, la ricerca è proseguita in PubMed-Medline, dando priorità agli RCT. In assenza di RCT si è proseguito con l'inclusione di studi di livello progressivamente più basso (studi controllati non randomizzati, studi osservazionali controllati, studi osservazionali non controllati, opinione di esperti). In questo modo si è riusciti a fornire le risposte ai quesiti utilizzando il più elevato livello di prova di efficacia disponibile.

Livello delle prove di efficacia

Nell'attribuzione del livello delle prove di efficacia e del grado delle raccomandazioni, si è fatto riferimento ai principi adottati dal gruppo di lavoro del GRADE [13]: le raccomandazioni vengono distinte in forti o deboli sulla base di criteri espliciti e condivisi. Rispetto agli altri sistemi, l'aspetto caratterizzante del GRADE è che non si tratta di un

Formatted: English (United States)

metodo di valutazione automatica. In particolare in questa linea guida, si è utilizzata una versione semplificata del GRADE, adottata a partire dal 2006 dall'American College of Chest Physicians [14]. Le prove di efficacia possono ricevere i seguenti livelli di qualità: Qualità elevata, Qualità moderata, Qualità scarsa.

Grado delle raccomandazioni

Il grado della raccomandazione (forte o debole) è un giudizio finale basato sulla valutazione di diverse componenti il cui valore deve essere esplicitato contestualmente alla raccomandazione [13,14]. In questa linea guida si è deciso di presentare le raccomandazioni con il grado (forte o debole) in evidenza. Ogni singola raccomandazione è correlata da un inciso che descrive le componenti che hanno portato al giudizio finale. Tutte le raccomandazioni sono state discusse, condivise e accettate dai componenti del gruppo di lavoro.

Necessità di una Linea Guida

La MRC e ormai emersa come un problema di salute pubblica
di prima grandezza su scala mondiale [15]. Il Center for Disease Control and Prevention identifica la MRC come una delle grandi priorità dell'era della transizione epidemiologica [16] e una revisione sistematica della prevalenza della malattia in Europa ha messo in luce che nei paesi europei il problema è dello stesso ordine di grandezza riscontrato negli Stati Uniti [17]. Si stima che, in Italia, nella popolazione adulta con più di 40 anni di età, circa 1 individuo ogni 7 (13%) abbia un grado qualsiasi di MRC [18]. Oltre quella che viene ormai comunemente definita emergenza nefrologica, non bisogna trascurare la rilevante numerosità di patologie urologiche che pongono un ampio ventaglio di casi clinici, che devono essere tempestivamente diagnosticati e trattati.

A tutto questo il Laboratorio è chiamato a dare una risposta che sia all'altezza della sfida, sia in termini di diagnosi precoce che di accurata definizione del processo patologico in atto [19-21].

L'esame delle urine, nella sua accezione comune (dipstick + analisi microscopica del sedimento) non può più essere considerato uno strumento idoneo a rispondere alle nuove esigenze che nascono da quella che viene ormai considerata una vera e propria "epidemia". Le maggiori conoscenze sui limiti dei dipstick; la disponibilità di nuove tecnologie per l'analisi automatizzata della frazione corpuscolata; la possibilità di effettuare misurazioni biochimiche altamente sensibili ed accurate su strumenti automatici ad elevata cadenza analitica; la selezione, l'integrazione, l'elaborazione (sulla base di griglie pre-impostate personalizzabili) dei dati ottenuti con metodiche e strumentazioni diverse

attraverso software dedicati; la disponibilità di sistemi per la raccolta ed archiviazione delle immagini, rende il moderno esame delle urine uno strumento complesso e totalmente modulabile sulle esigenze del clinico e del Laboratorio, dall'esame condotto al letto del malato per prendere decisioni non differibili in condizioni di emergenza, fino alla realizzazione di un profilo integrato di test biochimici/immunochimici e di valutazioni morfologiche, capaci di rispondere a quesiti clinici complessi e realizzabile solo in laboratori ad elevata specializzazione [22-24].

In tutto questo, lo specialista di Laboratorio è chiamato a svolgere un ruolo fondamentale: a lui sono richieste competenze cliniche e morfologiche comprovate e adeguate al livello diagnostico richiesto al Laboratorio; una conoscenza approfondita delle tecnologie e, per i livelli analitici più alti, la capacità di lavorare in equipe, rapportandosi con i colleghi di altre specialità per elaborare percorsi diagnostici condivisi [25-26].

Riteniamo quindi non differibile dotarsi di una linea guida aggiornata che, attraverso un update di metodi e tecnologie, ridefinisca i requisiti necessari per l'esecuzione di un ECMU che sia all'altezza delle rinnovate esigenze cliniche.

Le linee guida della fase analitica non si riferiscono a tutte le determinazioni che possono essere eseguite sulle urine ma soltanto all'ECMU. Non trattano quindi, se non incidentalmente, aspetti microbiologici, dosaggi su raccolte temporizzate ed aspetti farmaco-tossicologici; definiscono inoltre la modalità per il Laboratorio di eseguire al meglio l'ECMU sulle decine o più spesso centinaia di campioni urinari da analizzare con informazioni cliniche spesso carenti o assenti. Seguono a distanza di cinque anni le LG della fase pre-analitica dell'esame urine, redatte dallo stesso GIAU, alle quali si rimanda per tutti gli aspetti relativi all'appropriatezza della richiesta, alle modalità di raccolta, alla tipologia del campione da esaminare, al tempo ed alla temperatura accettabili per la (breve) conservazione del campione fino al momento dell'analisi ~~[134]~~. In estrema sintesi possono così essere espresse: l'ECMU va richiesto per la diagnosi, monitoraggio, esclusione di patologie del rene e delle vie urinarie di varia natura, primitive o secondarie; il campione raccolto alla prima minzione del mattino, da mitto intermedio e dopo accurata pulizia dei genitali; deve essere analizzato nel più breve tempo possibile, mai oltre le 4 ore se conservato a t° di 20°C o le 6 ore a t° di +4°C. L'utilizzo di conservanti deve essere riservato a casi particolari e dopo aver verificato che non influenzi i risultati dei diversi parametri fisici, chimici, morfologici.

Le modalità di refertazione e l'armonizzazione dei risultati saranno oggetto di una prossima LG.

Definizione e rilievo dell'ECMU

L'ECMU è un esame ampiamente diffuso per le numerose informazioni che è in grado di fornire, per la facilità con cui si raccoglie il campione, per la possibilità di eseguirlo in qualunque Laboratorio in modo pratico, accurato, sicuro e per il vantaggioso rapporto costo efficacia. Essendo, insieme alla creatinina ed all'eGFR, il primo approccio alla diagnostica di lesioni e/o di disfunzioni del rene e dell'apparato urinario, è particolarmente importante che venga eseguito correttamente nelle caratteristiche tre fasi: pre-analitica, analitica, post-analitica. Infatti se mal condotto potrebbe innescare, con esiti falsamente positivi, un eccesso di accertamenti non necessari o, peggio, con esiti falsamente negativi, delle mancate diagnosi.

In entrambi i casi le conseguenze sarebbero di particolare gravità sia sotto il profilo medico che sotto quello economico e possiamo quindi parlare di appropriatezza analitica come chiave di volta del processo diagnostico rapportato alle esigenze cliniche [27-30].

L'ECMU include di norma alcuni o tutti i seguenti tipi di indagine e relativi parametri:

ispezione visiva: colore ed aspetto [24,31-35];

analisi fisiche: volume (nelle raccolte temporizzate), concentrazione (densità relativa/conduttività/osmolalità) [24,31-35];

analisi chimiche: proteine, albumina, glucosio, chetoni, bilirubina, urobilinogeno, emoglobina, esterasi, nitriti, pH, creatinina, acido ascorbico [24,31-35];

conteggio e morfologia della componente corpuscolata: su analizzatori automatici e/o in microscopia per emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri, batteri, cristalli, miceti, lipidi, parassiti, contaminanti, protozoi, cellule atipiche [24,31-35].

Ciascun Laboratorio definisce quali procedure utilizzare e, in accordo con i clinici, come approfondire le indagini sulla base di studi noti e pubblicati, quali test eseguire in accordo con la prevalenza di malattie nella popolazione aperta e con la tipologia di pazienti studiati. Infatti la probabilità pre-test in relazione alla prevalenza di malattie renali o urologiche dovrà condizionare l'uso di procedure altamente specifiche o al contrario di test altamente sensibili: se si valutano prevalentemente pazienti nefrologici/urologici dovranno privilegiarsi metodi ad elevata specificità mentre, in soggetti prevalentemente normali come ad esempio nella medicina sportiva, dovranno privilegiarsi metodi molto sensibili [7-12].

La richiesta di ECMU dovrebbe essere effettuata sulla base di un quesito clinico [7,8], anche quando tali accertamenti sono richiesti per escludere la presenza di una patologia o come parte di un approccio generale per inquadrare clinicamente un paziente [7,8].

La richiesta di ECMU trova un suo razionale nelle seguenti condizioni [7-12]-: sospetto o follow-up di infezione o di patologia non infettiva del tratto urinario; sospetto o follow-up di malattia renale primitiva o secondaria a patologie sistemiche, effetti collaterali di farmaci.

Aspetti Tecnico Diagnostici

Riconoscimento di un liquido da caratterizzare come Urina

Talvolta può essere necessario stabilire la natura di un liquido inviato in Laboratorio come urina. Ciò potrebbe ad esempio essere opportuno qualora si sospetti un'adulterazione fraudolenta (in corso di un accertamento con finalità legali o cliniche), o per valutare la natura di un liquido di drenaggio addominale (dopo un intervento interessante la vescica).

Le urine appena emesse presentano abitualmente le seguenti caratteristiche [24,31-35]:

- Densità relativa tra 1007 e 1035 (individui che abbiano recentemente ricevuto mezzi di contrasto iodato possono presentare una densità relativa urinaria superiore a 1035).
- pH tra 4.5 e 7.5.
- Temperatura tra 32.5 e 37.5.
- Creatinina, con una concentrazione 50-100 volte più alta che negli altri liquidi corporei.

La concentrazione di urea, Na, K e Cl nelle urine è significativamente più elevata di quanto riscontrato negli altri liquidi corporei. Nelle urine di soggetti sani abitualmente si riscontrano quantità trascurabili di glucosio e proteine che invece sono presenti in alta concentrazione nel plasma, nel liquido amniotico, negli essudati (ma non necessariamente nei trasudati).

Raccomandazioni:

- ***Il test di scelta per caratterizzare come urina un liquido biologico è la determinazione della creatinina***

ESAME FISICO

- **Volume**

Il volume di urina normalmente prodotto nelle 24 ore è compreso tra i 600 ed i 1500 mL. Il dato non riveste importanza nell'ambito dell'ECMU (solo verifica idoneità della quantità del campione da analizzare) ma assume rilevo nel caso delle raccolte temporizzate e nel calcolo delle clearance. La misura della diuresi con i dispositivi medicali disponibili, é affidabile in ambito ospedaliero, molto meno quando la raccolta è effettuata dal paziente

presso il proprio domicilio, in quest'ultimo caso, è compito del medico prescrittore insegnare al paziente la corretta modalità di raccolta. [24,31-35].

- **Colore:**

Le urine abitualmente presentano una colorazione propria, gialla più o meno marcata, ma possono assumere colorazioni diverse in corso di patologie sistemiche, renali od urologiche: rosso scuro o color cola in corso di emoglobinuria, di mioglobinuria, di porfiria; marrone in corso di ittero e alcaptonuria; blu nella sindrome del pannolino blu per la presenza nelle urine di indolo, un catabolita del triptofano; color lavatura di carne in corso di ematuria macroscopica. Colori diversi legati all'assunzione di alimenti contenenti particolari pigmenti e di farmaci non hanno nessun rilievo patologico (vedi tabella 1) [24,31-35]. Nell'ECMU il colore viene sempre valutato ma viene espresso nel referto solo nel caso di colorazioni anomale con obbligo di commento.

- **Torbidità:**

Le urine normali appaiono limpide; vari gradi di torbidità sono correlati ad un aumento dei corpuscoli in sospensione [24,31-35].

- **Schiuma**

La formazione di schiuma nelle urine è legata a sostanze tensioattive in essa presenti.
La presenza di schiuma abbondante biancastra è spesso legata alla presenza di proteine.
In un soggetto itterico la schiuma può essere colorata in giallo verdastro o arancio scuro.

Raccomandazioni:

- ***Non è raccomandata la determinazione del volume nell'ECMU, se non nell'ambito della valutazione dell'idoneità del campione (campione insufficiente); in tal senso ogni Laboratorio dovrà dare indicazioni sul volume necessario all'esecuzione analitica.***
- ***E raccomandata la valutazione del colore delle urine solo qualora esso sia alterato; in questo caso è raccomandato refertarlo, indicando gli eventuali, ulteriori approfondimenti da effettuare.***
- ***Non è raccomandata la valutazione dell'aspetto delle urine nell'ECMU, in quanto tutti gli elementi che lo determinano vengono valutati quale frazione corpuscolata nell'esame morfologico.***
- ***Non è raccomandata la valutazione della schiuma in quanto la presenza di proteine viene rilevata con analisi chimica.***

ESAME CHIMICO

Alla luce delle conoscenze accumulate negli ultimi decenni, oggi possiamo affermare che molti dei parametri abitualmente rilevati nelle urine con l'ECMU sono privi di effettiva utilità clinica o lo sono solo in alcune condizioni cliniche particolari, esulano pertanto da quello che dovrebbe essere un esame mirato principalmente alla valutazione della presenza o meno di patologie dell'apparato urinario [30,36-39]. I dipstick sono attualmente il metodo più utilizzato nella prassi di Laboratorio, le cui caratteristiche di sensibilità e specificità sono state valutate da numerosi autori; la tabella 2 compendia le caratteristiche dei principali prodotti in commercio.

Sebbene ad oggi non siano disponibili metodi commerciali in kit applicabili sugli analizzatori di chimica clinica per la valutazione dell'intero profilo dell'ECMU, è possibile procedere ad un "aggiornamento" prevedendo:

1) *La refertazione dei soli parametri clinicamente utili*
2) *La misurazione in chimica liquida, delle proteine urinarie con metodi maggiormente sensibili e specifici, (nei laboratori di medie-grandi dimensioni e/o di riferimento territoriale)*
3) *L'analisi su richiesta e con metodi in chimica tradizionale dei parametri utili solo in particolari condizioni cliniche (glucosio, chetoni etc.).*

Possiamo suddividere i parametri dell'ECMU in quattro categorie :

- Parametri irrinunciabili analiticamente o di indubbia utilità clinica: proteine/albumina, creatinina, concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività, osmolalità), emoglobina, pH.
- Parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio: esterasi, nitriti, ed ascorbato.
- Parametri utili solo in particolari condizioni cliniche: glucosio, chetoni,
- Parametri non utili: bilirubina, urobilinogeno.

Parametri irrinunciabili analiticamente e/o di indubbia utilità clinica

- **Albumina/Proteine:**

  Quando la proteinuria supera i limiti fisiologici, indica quasi sempre la presenza di una compromissione della funzionalità ed integrità del rene, o di una patologia sistemica [7,8,24,31-35]. Le recenti linee guida della KDIGO [40,41], sulla scorta di molteplici studi ed evidenze, indicano come la presenza di proteine nelle urine rappresenti un fattore prognostico negativo sia per lo sviluppo di insufficienza renale cronica che per il rischio cardiovascolare già a concentrazioni considerate

"fisiologiche" (comprese tra 100 e 300 mg/L di albumina; oppure, utilizzando la ratio albumina / creatinina tra 10 e 30 mg/mmol) e quando ancora l'eGFR risulti normale. Ne consegue che una precoce rilevazione dell'albuminuria (e/o proteinuria) con metodi sensibili ed accurati, può costituire l'arma più efficace per una diagnosi precoce di malattia renale e per la prevenzione cardiovascolare [42-46].

Classicamente possiamo distinguere quattro tipi di proteinurie: ortostatica, da sovraccarico, glomerulare, tubulare.

- Nella forma funzionale la proteinuria, di solito modesta (sempre <1,5 g/die) compare dopo che il soggetto ha mantenuto per un certo tempo la postura eretta (proteinuria ortostatica) o in corso di stati febbrili, dopo attività fisica, scompenso cardiaco acuto mentre è assente nelle prime urine del mattino [24,31-35].
- La forma da sovraccarico è riconducibile ad un aumento della proteine plasmatiche ultra filtrate. Questo aumentato carico di proteine a basso peso molecolare si può avere ad esempio nelle patologie renali da gammopatie monoclonali associate ad eliminazione di catene leggere, nella setticemia severa (in questo caso si tratterà di proteine della fase acuta), nell'emolisi acuta (emoglobina) o cronica (emosiderina), nei traumi muscolari massivi (mioglobina) [24,31-35].
- La proteinuria glomerulare è la forma di proteinuria più grave e più comune, spesso marcata (>3.5 g/die, cosiddetta proteinuria in range nefrosico), si può associare ad ematuria, nella glomerulonefrite, oppure a lipiduria con ipoalbuminemia e iperlipemia nella sindrome nefrosica. Abitualmente la proteina più rappresentata nelle urine è l'albumina ma mano a mano che la malattia evolve possono comparire altre specie proteiche di più elevato peso molecolare. La presenza di modeste quantità di albumina nelle urine (cosiddetta erroneamente microalbuminuria) ha assunto un importante valore prognostico in alcune comuni patologie quali il diabete e l'ipertensione e sulla base di ciò viene considerata sufficiente come marker di MRC dalle KDIGO, se riconfermata a distanza di almeno 3 mesi [24,31-35, 41].

La proteinuria tubulare si ha quando la normale funzione tubulare di riassorbimento delle proteine viene a mancare; si tratta caratteristicamente di una proteinuria relativamente modesta (<1.5 g/die), caratterizzata da proteine a basso peso molecolare (<35 Kd) quali il lisozima, la globulina legante il retinolo, l'α_1-microglobulina [24,31-35].

La proteinuria mista glomerulare e tubulare si ha quando sono associati un danno glomerulare ed un danno tubulare; si tratta di una proteinuria non selettiva caratterizzata da proteine a diverso PM. E' opportuno che la determinazione delle

Formatted: Space After: 0 pt, Line spacing: 1.5 lines

proteine urinarie sia espresso come rapporto con la creatinuria quale indicatore di concentrazione urinaria: PCR o ACR.

Metodi di determinazione: Per la rilevazione della proteinuria le linee guida della KDIGO danno indicazioni precise [40,41]:

- la determinazionedelle proteine urinarie deve essere eseguita sul mitto intermedio del primo campione del mattino, con metodi sensibili, in chimica liquida ed il risultato espresso in rapporto alla concentrazione delle urine [40-46].

In ordine di preferenza vengono suggeriti: ACR (test di prima scelta nell'adulto); PCR (test di prima scelta nel bambino); dipstick [40-46].

La minor sensibilità di ACR nei soggetti in età pediatrica è determinata dalla maggiore frequenza, in questa fascia di età, di patologie tubulari rispetto a quelle glomerulari.

- Molto rilevante è il metodo analitico utilizzato nell'ECMU: l'immunoturbidimetria su analizzatori automatici è quello più attendibile ma anche il meno utilizzato attualmente, a seguire metodi in dry chemistry con coloranti specifici per l'albumina ed espressione in rapporto alla creatinuria; infine, non consigliati, metodi in dry chemistry che valutano la concentrazione delle proteine (quasi esclusivamente albumina) sulla base della variazione di un indicatore sensibile alle variazioni di pH con marcate interferenze in caso di pH alcalino. Altri metodi, tra i quali la nefelometria, non sono applicabili nella routine. L'accuratezza (e l'armonizzazione) della misurazione dell'albumina e della creatinina urinarie è ancora un problema aperto, al punto che l'IFCC è attualmente impegnata per superare al meglio tale criticità. In ogni caso, la scelta della metodica deve garantire la rilevazione, con adeguata sensibilità, sia dell'albumina che delle globuline. Il termine microalbuminuria, coniato per individuare la misurazione dell'albumina in basse concentrazioni, deve essere evitato per non indurre errori sulla natura della proteina ed eventualmente sostituito da termini in grado di evidenziare la sensibilità del metodo di determinazione [40-46]. Nel test eseguito con striscia reattiva non si dovrebbe parlare di proteine ma di albumina. Il metodo utilizzato infatti è sensibile quasi esclusivamente alla presenza di albumina e transferrina, pochissimo alla presenza di globuline, mentre la sensibilità per le catene leggere è praticamente nulla. Alcune strisce multi reattive utilizzano, a fianco del pad basato sul principio sopra esposto, un'area reattiva per la determinazione dell' albumina a bassa concentrazione (circa 100 mg/L). Oltre ai limiti di sensibilità, bisogna ricordare che i dipstick dosano l'albumina in valore assoluto, senza alcuna correlazione con la

concentrazione del campione; pertanto, urine molto diluite possono dare albuminurie falsamente negative e, al contrario, urine fortemente concentrate possono rilevare un'albuminuria significativa senza che questa in realtà superi i limiti fisiologici. Per ovviare a questo problema, sono state recentemente immesse nel commercio strisce reattive in grado di rilevare la ratio albumina/creatinina [24,31-35, 40-46]. Trattandosi di un metodo semplice, poco costoso e rapido, la chimica secca su dipstick si è diffusa in tutti i laboratori ed attualmente può essere considerata il metodo maggiormente utilizzato per la determinazione delle proteine (albumina) nelle urine. Tuttavia, in considerazione dei numerosi limiti che questo metodo presenta (metodo non quantitativo, numerosi interferenti, scarsa o nulla sensibilità per le globuline, mancata rilevazione della proteinuria di Bence Jones) la determinazione della proteinuria con i dipstick andrebbe limitata a situazioni in cui non sia possibile effettuare una determinazione più accurata in chimica liquida (vedi capitolo sui livelli diagnostici) [44-46]. In un paziente con proteinuria, può risultare rilevante valutare la selettività della proteinuria attraverso test specifici di approfondimento quale la migrazione elettroforetica in base al peso molecolare (SDS elettroforesi) ma questo esula dallo specifico dell'ECMU.

- **Concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività, osmolalità):**

Le urine sono composte per il 97-99% di acqua e per il restante 1-3% da una miscela di soluti. La concentrazione dei soluti nelle urine è un importante indice della capacità di concentrare le urine da parte del rene, oltre che dello stato di idratazione del soggetto. Risulta quindi essere un indicatore di notevole valenza clinica [7,8,24,31-35]. Ha inoltre rilevanza nell'analisi del sedimento urinario in quanto la concentrazione delle urine condiziona la conservazione degli elementi figurati che possono andare incontro a lisi, in urine poco concentrate e ad alterazioni morfologiche in urine fortemente ipertoniche [7,8,24,31-35].

L'espressione dei soluti nelle urine può essere valutata utilizzando diversi parametri che appaiono differenti per significato e per tipologia dei soluti che si andranno a rilevare: Densità Relativa, Osmolalità, Conduttività, Creatinuria [7,8,24,31-35].

Ciascuno di questi parametri può essere determinato utilizzando metodiche differenti.

Densità Relativa

Misura la densità delle urine in g/L (massa/volume) ed è la determinazione usualmente utilizzata nella pratica clinica. Viene troppo spesso erroneamente indicata come peso specifico che è il rapporto tra il peso e il volume e si esprime in Newton/L [47-50].

Metodi di determinazione: I metodi per la determinazione della densità relativa possono essere diretti o~~d~~ indiretti. I metodi diretti determinano la densità relativa delle urine a prescindere dalla tipologia di soluto presente, in quanto tutti i soluti vengono rilevati e misurati, sia quelli fisiologicamente presenti nelle urine come urea ed elettroliti, sia quelli indicativi di patologia come glucosio e proteine, sia quelli di origine jatrogena come i mezzi di contrasto radiologici. La presenza di proteine o glucosio nelle urine può falsare il significato del test, infatti la glicosuria può ricondurre nella norma un valore di densità relativa pur in presenza di urine patologicamente non concentrate nella poliuria diabetica [7,8,24,31-35].

La densità relativa può essere valutata direttamente utilizzando i seguenti metodi: gravimetrico, non utilizzato in diagnostica routinaria ma comunque considerato il metodo di riferimento; dell'urinometro e della oscillazione armonica, obsoleti; rifrattometrico, poco adatto ad usi di routine ma ancora utilizzabile in casi particolari (es. urine ipercromiche); con strumentazioni automatiche per dry chemistry [24,31-35].

Striscia Reattiva: il metodo utilizzato nei pad reattivi dei dipstick si basa sulla determinazione degli ioni (massimamente Na^+, Cl^-, K^+, NH_4^-), non viene invece rilevata la presenza di altre sostanze non ioniche (glucosio, proteine, mezzi di contrasto radiologici). Si tratta quindi di una metodica in grado di valutare la capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico attraverso il riassorbimento e l'eliminazione selettiva dell'acqua e degli ioni. La variazione del pH nel pad provoca il cambiamento di colore del blu di bromotimolo dal blu al giallo. Il metodo però appare influenzato dal pH (sovrastima a pH acido e sottostima a pH alcalino) e dalla colorazione delle urine. Nel caso di strip multipads, con contemporanea rilevazione del pH, sarà possibile effettuare la correzione per tale fattore interferente. Si tratta di un metodo facilmente automatizzabile ed adatto alle applicazioni di routine [24,31-35].

Osmolalità: viene determinata sfruttando metodi in grado di valutare le proprietà colligative dei soluti che vanno ad interferire con i cambiamenti di stato della soluzione, tali capacità colligative dipendono solo dal numero della particelle presenti in soluzione e non dalle loro caratteristiche. Si utilizzano metodi che valutano la temperatura di congelamento o la tensione di vapore; in entrambi i casi si tratta di un metodo di riferimento scarsamente automatizzabile e poco adatto ad applicazioni di routine. Anche in questo caso il valore è influenzato dalla glicosuria e quindi risulta non attendibile nei diabetici scompensati [24,31-35].

Conduttività: La conduttività o conducibilità è un parametro noto da molto tempo il cui utilizzo in routine è stato riproposto per la disponibilità su strumentazione automatica che lo rende idoneo per un uso routinario. La conduttività dipende dalla concentrazione di elettroliti nelle urine (Na^+, Cl^-, K^+, NH_4^-, etc.) ma non dalla concentrazione di glucosio e proteine, non è influenzata dal pH e dal colore delle urine; è quindi in grado di misurare il risultato dell'azione del riassorbimento e dell'eliminazione selettiva di acqua e di ioni del rene anche in soggetti diabetici [47-50].

- **Creatinina**

La misurazione della creatinina urinaria ha rilevanza in diverse applicazioni: identificazione di un liquido come urina, evidenziazione di adulterazioni, nell'ambito di dosaggi complessi quali la determinazione della clearance della creatinina, o la determinazione della proteinuria o della ionuria in rapporto alla creatinina intesa come indicatore di concentrazione delle urine [24,31-35].

Metodi di determinazione: sono disponibili sui comuni analizzatori automatici di biochimica clinica due metodi di misurazione della creatinina urinaria: il metodo enzimatico ed il metodo di Jaffè; quest'ultimo, superato dal metodo enzimatico per la misurazione sierica, si fa preferire per la determinazione della creatinina urinaria, perché ha prestazioni simili sulla matrice urinaria e minor costo [24,31-35].

- **Emoglobina:**

La presenza di emoglobina e/o di eritrociti nelle urine è, insieme alla presenza di proteine, uno dei marker più significativi di possibile patologia dell'apparato urinario; l'ematuria può costituire l'unica spia della presenza di una patologia glomerulare o urologica, comprese quelle di natura neoplastica [7,8,24,31-35,51-56].

Con il termine emoglobinuria si intende la presenza di emoglobina libera mentre con il termine ematuria si definisce la presenza di eritrociti nelle urine. In urine poco concentrate (densità relativa < 1010 g/L) o molto alcaline (pH>8.0) le emazie possono andare incontro a lisi liberando l'emoglobina in esse contenuta, solitamente in questi casi residuano i cosiddetti eritrociti fantasma (ghost) oltre ad un numero variabile di eritrociti con maggiore resistenza osmotica [7,8,24,31-35,51-56]. Oltre a situazioni legate alla fase pre-analitica l'emoglobinuria è espressione di patologie emolitiche intra ed extra eritrocitarie di diversa origine: metabolica, infettiva, immune, meccanica. In queste patologie la crisi emolitica dà luogo ad una marcata pigmentazione delle urine color bruno per effetto della trasformazione in metaemoglobina operata dal pH acido delle urine.

Per il rilievo clinico del parametro la sua misurazione nelle urine è fortemente raccomandata.

Metodi di determinazione: tutti i metodi in dip-stik si basano sulla attività pseudo-perossidasica dell'anello tetrapirrolico completo dell'atomo di ferro centrale (protoporfirina IX); la sensibilità è di circa 0.03 mg/dL, corrispondente a circa 10 emazie/microlitro. Il test risulta reattivo sia per emoglobina che per mioglobina, in quanto entrambe contengono un anello tetrapirrolico. False negatività possono essere ricondotte alla interferenza dell'acido ascorbico, che essendo dotato di un forte potere riducente tende a legare il perossido sottraendolo alla reazione, mentre false positività possono essere ricondotte all' attività di perossidasi batteriche e/o leucocitarie alla contaminazione del campione con sostanze dotate di attività ossidoriducente (detergenti, ipoclorito) [7,8,24,31-35]. La sensibilità non supera l'80-90%; pertanto, non è possibile escludere la presenza di ematuria con l'utilizzo del solo dipstick, ma è indispensabile che ad esso venga sempre associata la valutazione microscopica e/o strumentale della frazione corpuscolata [51-56]. L'attuale maggior sensibilità degli analizzatori della frazione corpuscolata sta facendo emergere una frequenza di discordanze tra esito chimico per l'emoglobina del dipstick e l'esito per le emazie degli analizzatori maggiore di quanto avvenisse in passato con la lettura microscopica. Al momento non sono presenti in commercio metodi alternativi routinari alla determinazione dell'emoglobina in chimica secca con il metodo della perossidasi; è auspicabile l'introduzione di metodi di maggior sensibilità e specificità applicabili su strumentazione automatica [51-56].

- **pH:**

E' un parametro irrinunciabile sotto il profilo clinico e laboratoristico con evidenti limiti di misurazione con la metodica di dry chemistry.

Il rene gioca un ruolo chiave nella regolazione dell'equilibrio acido-base. Il pH urinario può variare da 4.5 a 7.5. Normalmente le urine presentano un pH leggermente acido (tra 5.0 e 6.0) poiché in condizioni basali la produzione endogena di acidi è prevalente e vi è quindi la necessità di procedere alla loro eliminazione. La determinazione del pH ha una notevole importanza per il Laboratorio perché permette di interpretare meglio le altre reazioni chimiche (albumina-proteine) e di valutare correttamente le cristallurie e l'eventuale batteriuria. Per il clinico ha importanza nelle infezioni urinarie, e nella valutazione della funzionalità tubulare. Il pH urinario può influenzare la conservazione degli elementi figurati, ad esempio a pH alcalino si può avere lisi delle cellule e mancata formazione dei cilindri per interazione con la loro matrice proteica [7-9,24,31-35].

Metodi di determinazione: tutti i dipstick del commercio dispongono di un pad per la rilevazione del pH, con un range variabile da 4.5-5.0 fino a 8.0-9.0; Il pH così misurato (su scala ordinale con step di 0,5 unità) ha una scarsa accuratezza e quindi un modesto rilievo se non per orientare l'interpretazione analitica di cristalli o altro. Nei casi in cui la rilevazione del pH rivesta importanza clinica (calcolosi, nefropatie, monitoraggio terapie acidificanti/alcalinizzanti etc.) è consigliabile che sia effettuata una specifica richiesta di pH urinario (diversa dall'ECMU) con una misurazione mediante pHmetroda parte del Laboratorio o dello stesso reparto come POCT (nefrologia, terapia intensiva). [7-9,24,31-35].

- **Parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio**
  - **Esterasi leucocitaria:**

E' un enzima presente nei granuli azzurrofili dei granulociti ma non nei linfociti [7,8,24,31-35]. La presenza di leucocituria significativa può indicare la presenza di una infezione o di una flogosi delle vie urinarie [57-64]. La positività dei dipstick si verifica in presenza di esterasi rilasciata dai leucociti in corso di degenerazione. In presenza di leucociti giovani, resistenti alla lisi, con nullo o minimo rilascio di esterasi, si può avere leucocituria nel sedimento con negatività all'esterasi; al contrario, una lisi dei leucociti (dovuta alla bassa concentrazione del campione, all'esposizione a pH molto alcalino, alla cattiva conservazione del campione) può determinare positività per l'esterasi in assenza di leucociti rilevabili al MO o con strumentazione automatica. Pertanto, come per l'emoglobina, la determinazione dell'esterasi leucocitaria deve essere associata alla ricerca dei leucociti con la microscopia e/o con strumentazione automatica [57-64].

Metodi di determinazione: tutti i dipstick del commercio rilevano l'esterasi leucocitaria, con una sensibilità equivalente a circa 20-25 leucociti/microlitro. Tale sensibilità è minore di quella rilevata dagli analizzatori automatici (2-3 elementi/microlitro) e ai limiti di riferimento per i leucociti(10-15/μL) [7,8,24,31-35].

  - **Nitriti:**

Alcuni batteri (prevalentemente Enterobatteriacee ma non altri importanti patogeni urinari come gli enterococchi) sono in grado di convertire in nitriti i nitrati normalmente presenti nelle urine. I nitrati sono introdotti nell'organismo con una dieta ricca in vegetali freschi e la loro riduzione a nitriti da parte del metabolismo batterico richiede un lasso di tempo variabile in funzione della quantità e del tipo di batteri in causa. Pertanto, la mancata assunzione di nitrati con la dieta o la ridotta permanenza delle urine in vescica sono le

ragioni per cui, anche in caso di infezioni sostenute da batteri in grado di ridurre i nitrati a nitriti, il test dei nitriti nelle urine può risultare negativo. [7,9-11,65-67].

A fronte di una bassa sensibilità, il test è utile in quanto dotato di elevato VPP; il VPN non appare altrettanto elevato per la possibilità che l'infezione sia sostenuta da enterococchi [7,9-11,65-67].

Metodi di determinazione: tutti i dipstick del commercio rilevano i nitriti urinari mentre non sono disponibili kit per chimica liquida automatizzata [24,31-35].

- **Ascorbato**:

La presenza di ascorbato nelle urine è piuttosto frequente potendo originare sia dalla dieta (agrumi, conservanti) sia dall'assunzione di farmaci con vitamina C. Nelle urine la presenza di acido ascorbico ad una concentrazione di 100 mg/L è in grado di interferire con la determinazione della emoglobina; ad una concentrazione di 250 mg/L dà interferenza con la determinazione dei nitriti e della bilirubina; ad una concentrazione di 500 mg/L si ha interferenza anche con la determinazione del glucosio. Rappresenta pertanto per il Laboratorio un utile indicatore di possibili interferenze; pertanto, alcune aziende hanno dotato le loro strisce reattive di un pad dedicato alla rilevazione della presenza di questa sostanza nelle urine [7-9,24,31-35].

Parametri utili in particolari condizioni cliniche

- **Glucosio:**

La presenza di glucosio nelle urine si ha quando la quantità di glucosio ultrafiltrata eccede le capacità di riassorbimento tubulare. Questo può avvenire per diminuzione della capacità del tubulo prossimale di riassorbire il glucosio oppure per la maggior ultrafiltrazione conseguente all'iperglicemia. Nel soggetto a rene integro compare glicosuria quando la glicemia supera i 180 mg/dL; glicosuria si può avere anche con concentrazione normale di glucosio nel sangue nella patologia tubulare congenita nota come "glicosuria normoglicemica" e nella sindrome nefrosica, a causa della ridotta capacità di riassorbimento del glucosio da parte delle cellule del tubulo prossimale per competizione con il riassorbimento di proteine ultrafiltrate a livello glomerulare [7-8].

Tutte le strisce reattive sono dotate di pad per la rilevazione della glicosuria; falsi negativi si possono avere in presenza di ascorbato e nel caso di infezione del tratto urinario, mentre falsi positivi si osservano in presenza di sostanze ossidanti e nelle urine

particolarmente acide. Il glucosio può essere determinato in chimica liquida utilizzando un metodo enzimatico specifico (ad esempio esochinasi o glucosio ossidasi) [24,31-35].

Negli ultimi anni l'utilità clinica della determinazione del glucosio nelle urine è stata fortemente ridimensionata; nelle linee guida internazionali, i diabetologi non fanno più alcun riferimento a questo test per la diagnosi ed il monitoraggio del diabete, ormai totalmente basati su test eseguiti su siero (glicemia ed emoglobina glicata) [68,69].

L'analisi del glucosio urinario può tuttavia essere utile in patologie nefrologiche quali le tubulopatie congenite o acquisite (sindrome di Fanconi) e in corso di tubulo-interstiziopatie a varia eziologia dove può essere specificamente richiesta e determinata in chimica liquida [68-70]. Inoltre, la ricerca del glucosio urinario può essere inserito, insieme ai chetoni e accanto ai parametri irrinunciabili, in un profilo dedicato in modo specifico ai soggetti pediatrici nella prima infanzia, quando le oggettive difficoltà a ricorrere ai prelievi ematici rendono più frequente il ricorso all'esame urine come primo test nel sospetto clinico di diabete [70,71].

- **Chetoni:**

I chetoni sono una famiglia di tre composti - acetone, aceto-acetato, acido β-idrossibutirrico - che derivano dal metabolismo (in carenza di glucosio) degli acidi grassi. La presenza di chetoni nelle urine è per lo più legata al digiuno ed è utile solo in riferimento a specifiche popolazioni di pazienti e in specifiche condizioni cliniche (diabete, ipotermia, febbre, vomito prolungato, complicanze fetali nel post-termine) ma raramente hanno reale utilità clinica, ad eccezione di alcune situazioni in medicina d'urgenza (chetoacidosi diabetica, abuso alcolico) [24,31-35].

Metodi di determinazione: con il dipstick, falsi negativi sono determinati dal fatto che non viene rilevato l'acido β-idrossibutirrico, mentre risultati falsi positivi si osservano in presenza di gruppi sulfidrilici liberi (ad es. farmaci come captopril, L-DOPA, cefalosporina) [24,31-33]. Per reali necessità cliniche è quindi auspicabile misurare le specifiche chetonurie in chimica liquida su precisa richiesta del curante.

Parametri non utili

- **Pigmenti Biliari (bilirubina, urobilinogeno):**

La bilirubina e l'urobilinogeno rilevati nelle urine hanno perduto il loro significato, e la letteratura scientifica concorda sulla insufficiente previsione del danno epatico sulla base delle positività urinarie dei pigmenti biliari. Sono rilevati dai comuni dipstick; falsi negativi per la bilirubina si evidenziano in presenza di vitamina C e di nitriti, mentre falsi positivi si

riscontrano in presenza dei metaboliti della clorpromazina e, per quanto riguarda l'urobilinogeno, di alcuni farmaci (carbapenem e sulfanilammide). Falsi positivi sono frequenti anche in condizioni di cattiva conservazione delle strisce reattive (umidità) [24,31-35].

Per un quadro riassuntivo dei principali interferenti dell'esame chimico con dipstick (vedi la Tabella 3).

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandata la determinazione dell' albumina nelle urine. Nei bambini, è fortemente raccomandata la determinazione delle proteine totali. In entrambi i casi, e' raccomandato l'utilizzo di metodi quantitativi, ad elevata sensibilità e specificità, che non risentano della influenza del pH ed il cui valore venga normalizzato in funzione della concentrazione delle urine (rapporto albumina/creatinina o proteine/creatinina). La rilevazione della proteinuria con il dipstick dovrebbe essere limitata alle sole situazioni di indisponibilità di strumentazione idonea all'analisi in chimica liquida.***
- ***E' fortemente raccomandata la determinazione della concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività o osmolalità) quale indice dello stato di idratazione o della capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico, utilizzando un metodo che non risenta della presenza di altri soluti (ad esempio glucosio e proteine).***
- ***E' fortemente raccomandata la determinazione della creatinina urinaria sia come indicatore di concentrazione del campione e per l'espressione in termini di ratio dei parametri urinari, ove previsto, sia come garante della natura urinaria del campione.***
- ***E' fortemente raccomandata la ricerca della emoglobina nelle urine; la rilevazione con il dipstick deve sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale del della frazione corpuscolata.***
- ***E' fortemente raccomandata la determinazione del pH urinario, in quanto può dare indicazioni al Laboratorio nell' identificazione delle cristallurie e con un pHfortemente alcalino può suggerire una falsa positività di proteinuria al dipstick. In casi di reale utilità clinica, è raccomandata la rilevazione con pH-metro.***
- ***E' raccomandata la ricerca dell'esterasi leucocitaria nelle urine; la rilevazione con il dipstick dovrebbe sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale del della frazione corpuscolata.***

- ***E' raccomandata la ricerca dei nitriti nelle urine, per il loro elevato predittivo positivo per le infezioni delle vie urinarie.***
- ***E' raccomandata la determinazione dell'ascorbato per le informazioni utili al Laboratorio circa possibili interferenze sui risultati analitici ottenuti con i dipstick.***
- ***Non è raccomandata la misurazione della glicosuria. Per finalità specifiche in ambito nefrologico, e nella prima infanzia, se ne raccomanda l'analisi in chimica liquida.***
- ***Non è raccomandata la determinazione dei chetoni urinari, tranne che in situazioni di medicina di emergenza/urgenza (chetoacidosi diabetica, intossicazione alcolica).***
- ***Non è raccomandata la determinazione di urea, acido urico, ioni; la loro determinazione deve essere effettuata su richiesta, in specifiche condizioni cliniche.***
- ***Non è raccomandata la determinazione della bilirubina urinaria.***
- ***Non è raccomandata la determinazione dell'urobilinogeno nelle urine.***

ANALISI DELLA FRAZIONE CORPUSCOLATA

La gerarchia dei processi analitici riconosce quattro livelli:

Livello 1: test rapidi

Livello 2: metodi routinari

Livello 3: metodi qualificati di comparazione

Livello 4: metodi di riferimento

Vedi Tabella 4.

Livello 1 - Test rapidi. Si tratta di test che idealmente dovrebbero dare una risposta rapida ed affidabile per il singolo paziente; possono essere eseguibili al letto del malato. Nell'ambito della microscopia urinaria possiamo considerare come test di primo livello l'osservazione di un preparato a fresco di urina nativa in campo chiaro con vetrini portaoggetto e coprioggetto tradizionali eseguita, ad esempio, nell'ambulatorio di un Medico [7,8].

Livello 2 - Metodi di routine. Si tratta delle metodiche che vengono abitualmente adottate per la diagnostica di routine nei Laboratori clinici. In riferimento alla microscopia urinaria possiamo ricomprendere in questo livello la valutazione microscopica di preparati allestiti dopo centrifugazione del campione, aspirazione del sovranatante, risospensione del fondello. I preparati sono allestiti in vetrini multicellette a volume predefinito, dotati di

reticolo per il conteggio. La lettura potrà avvenire in campo chiaro od a contrasto di fase [7,8].

Livello 3 - Metodi di comparazione. Si tratta di metodiche diagnostiche che, pur non essendo ancora di riferimento, sono comunque più accurate e precise di quelle considerate nel livello 2. Si tratta di metodi automatizzati ed adatti alla applicazione su ampie serie di campioni che richiedono, per la loro esecuzione, personale adeguatamente formato e di attrezzature analitiche complesse. Come metodica di livello 3 per l'esame microscopico si intende la valutazione a fresco a 400 ingrandimenti delle urine native (non centrifugate) effettuata da due diversi osservatori utilizzando una camera citometrica (es. Kovacs o FuchsRosenthal) in contrasto di fase [7,8]. In alcune situazioni in cui è importante ricercare elementi di particolare rilievo clinico (es., cilindri eritrocitari) risulta vantaggioso centrifugare il campione anche se questo inficia la corretta quantificazione degli elementi.

Livello 4 - Le metodologie diagnostiche dotate di maggiore accuratezza sono dette "Metodi di riferimento" e vengono così definite dopo essere state sottoposte ad una accurata valutazione di tutte le fonti di inaccuratezza, compresa la non specificità. Allo stato attuale non esistono metodiche di Livello 4 applicabili alla diagnostica microscopica delle urine [7,8].

Nella diagnostica microscopica delle urine, non esistendo test di riferimento (livello 4), le metodiche di livello 3 costituiscono il massimo livello di approfondimento diagnostico e possono essere utilizzate per valutare la performance analitica delle metodiche di routine (livello 2)

Principi di Microscopia Manuale del Sedimento Urinario

La valutazione della componente corpuscolata delle urine veniva effettuata utilizzando l'esame a fresco del sedimento urinario in microscopia manuale in campo chiaro. Tale metodologia, sino al 2000, era considerata adeguata alle applicazioni di routine. L'utilizzo di colorazioni sopravitali veniva raccomandato solamente in casi patologici, per migliorare la differenziazione degli elementi cellulari o dei cilindri. L'uso della microscopia in contrasto di fase veniva riconosciuto in grado di migliorare il riconoscimento e la differenziazione degli elementi corpuscolati, ma senza specifiche raccomandazioni di utilizzo. L'utilizzo di tecniche alternative di microscopia come la microscopia in polarizzazione veniva fortemente raccomandata per la evidenziazione e la differenziazione di cristalli e lipidi. Veniva inoltre raccomandata la standardizzazione di una serie di aspetti e passaggi

preanalitici, quali le caratteristiche del contenitore, le modalità di centrifugazione dei campioni e l' allestimento dei preparati microscopici [7].

Infine, veniva data indicazione che fosse garantito il riconoscimento e la differenziazione dei seguenti elementi [72-78]:

- Cellule ematiche: eritrociti e leucociti
- Cellule epiteliali: squamose, transizionali (uroteliali) tubulari.
- Cilindri: jalini, granulari, cerei, lipidici, eritrocitari, leucocitari, epiteliali (contenenti cellule tubulari renali), pigmentati (da emoglobina, mioglobina, bilirubina), con inclusi cristalli o microorganismi, misti.
- Lipidi
- Cristalli: ossalato di calcio, acido urico, urati amorfi, fosfati amorfi, calcio fosfato, fosfato triplo, colesterolo, cistina, 2,8 di-idrossiadenina, da farmaci. I risultati sono espressi in termini qualitativi.
- Microorganismi: batteri, miceti, parassiti, protozoi.
- Altro: muco, spermatozoi, contaminanti. I risultati sono espressi in termini qualitativi.

L'importanza di una corretta lettura della frazione corpuscolata delle urine e delle notevoli implicazioni cliniche ad essa correlate sono esemplificate nella tabella 5 [79,80].

Le modalità di osservazione del sedimento urinario in microscopia ottica, enunciate nelle linee guida Europee del 2000, restano ancora oggi valide nei principi generali, anche se l'avvento dei sistemi automatizzati di conteggio differenziale della frazione corpuscolata delle urine ne ha molto ridotto il campo d'impiego.

Valutazione morfologica della frazione corpuscolata mediante microscopia ottica

Identificazione e quantificazione delle Emazie:

Si definisce ematuria la presenza di emazie nelle urine.

Si parla di macroematuria se la quantità di sangue è tale da alterare il colorito delle urine. Sono sufficienti 2 mL di sangue in un litro di urina per causare un cambiamento visibile del colore [24,31-33]. In caso di ematuria macroscopica le urine possono avere vari colori in base alla gravità del sanguinamento e anche alla tempistica con cui è avvenuto. Per esempio un'ematuria franca (color rosso) indica un considerevole sanguinamento in atto, l'ematuria "a lavatura di carne" indica un lieve sanguinamento, l'ematuria color "marsala" o "cola" può indicare emoglobinuria o un sanguinamento pregresso. In presenza di urine colorate di rosso è sempre necessaria la conferma microscopica della presenza di emazie nel campione, in quanto alcune sostanze di origine alimentare ed alcuni farmaci possono

conferire alle urine un colore simile a quello determinato dalla presenza di sangue (tabella 1) [24,31-35]. Si parla di microematuria quando la quantità di sangue è modesta e non in grado di alterare l'aspetto delle urine. Non esiste un valore soglia condiviso per definire la microematuria. E' raccomandato che ogni Laboratorio definisca i propri valori di riferimento in relazione alla popolazione ed alla casistica esaminata. Una delle soglie più condivise è quella dell' American Urological Association, che indica come microematuria la presenza di 3 o più emazie per campo microscopico a 400X, equivalenti a 10-12 eritrociti /microlitro con gli analizzatori automatici [24,31-35].

Le principali cause di Ematuria sono riportate nella Tabella 6.

Identificazione e quantificazione dei Leucociti

Non esiste un valore soglia condiviso per definire la leucocituria. E' raccomandato che ogni Laboratorio definisca i propri valori di riferimento in relazione alla popolazione ed alla casistica esaminata. Si definisce comunemente come leucocituria la presenza di oltre 3-5/ campo microscopico HPF, equivalenti a 10-20 globuli bianchi per microlitro di urine.

Nelle urine possiamo trovare granulociti neutrofili ed eosinofili, linfociti e macrofagi.

I granulociti neutrofili costituiscono un riscontro comune in molte patologie infettive e flogistiche, dall'infezione delle vie urinarie alla glomerulonefrite [24,31-35].

I granulociti eosinofili sono presenti in diverse patologie ed hanno quindi perso il significato patognomonico, di marker di nefrite acuta interstiziale.

I linfociti appaiono associati a condizioni di infiammazione cronica e malattie virali; sono presenti nelle urine in corso di rigetto del trapianto renale (sensibilità 80-90%) o in corso di patologie ematologiche (leucemie o linfomi con infiltrazione del rene) [24,31-35].

I macrofagi (istiociti) possono essere presenti in varie patologie infiammatorie croniche, quasi sempre associati ai neutrofili ed in corso di marcata proteinuria. Possono assumere vari aspetti: dendritico con pseudopodi, poligonale, simile ai granulociti in via di degenerazione, circolare con inclusioni e nucleo evidente [81-82].

Identificazione e quantificazione dei cilindri

Elementi di forma cilindrica con estremità talvolta arrotondate e talvolta tronche, costituiti da THP che può essere l'unico costituente (cilindri ialini) o nel quale possono essere presenti elementi cellulari o di derivazione cellulare. La THP costituisce la componente quantitativamente più importante della proteinuria fisiologica ed è prodotta a livello del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle. La formazione dei cilindri deriva dalla aggregazione delle fibrille della THP, che è favorita da diversi fattori, quali pH acido, alta osmolalità, presenza di proteine ultrafiltrate. Nelle urine a pH alcalino il riscontro dei cilindri

è abbastanza raro per la mancata aggregazione delle fibrille di THP. Nei soggetti normali il riscontro di cilindri ialini non è infrequente e non esiste un valore soglia in quanto dipendente da diversi fattori fisiologici**.**

I cilindri assumono il significato suggerito dai loro costituenti; si formano soprattutto nell'ansa di Henle e nel tubulo contorto distale, dei quali riproducono la forma [7,8,10,24,31-35,70-76]. In base alla loro costituzione è possibile distinguere i seguenti tipi di cilindri:

- **Cilindri ialini**
- **Cilindri granulosi (a piccoli e grandi granuli)**
- **Cilindri leucocitari**
- **Cilindri eritrocitari**
- **Cilindri epiteliali (cellule renali tubulari)**
- **Cilindri lipidici**
- **Cilindri cerei**
- **Cilindri pigmentati** (da emoglobina, mioglobina, bilirubina)
- **Cilindri con inclusi batterici o micotici**
- **Cilindri con inclusi cristallini**
- **Cilindri misti**

Cilindri Ialini —Sono costituiti solo dalla THP; possono presentarsi scarsamente visibili con luce intensa (e sono ritenuti di recente formazione), oppure più visibili e dalla struttura più compatta. Una cilindruria ialina si può osservare anche in soggetti normali, più facilmente dopo sforzo, disidratazione o esposizione al freddo, nello scompenso cardiaco acuto, nell'iperpiressia. Una cilindruria ialina può essere presente in tutte le nefropatie nelle quali è abitualmente associata a cilindri di altro tipo [7,8,10,24,31-33].

Cilindri Granulosi – a piccoli e grandi granuli: i piccoli granuli sono formati da conglutinati di proteine ultrafiltrate a livello del glomerulo, i grandi granuli sono formati dalla degenerazione di elementi cellulari. Solitamente non si riscontrano nelle urine dei soggetti normali sebbene, anche in assenza di patologia renale, cilindri a piccoli granuli si possano ritrovare dopo iperpiressia. I cilindri a grandi granuli si ritrovano spesso in molti tipi di nefropatia ad esempio nelle glomerulo nefriti e nella nefropatia diabetica. Nei pazienti con insufficienza renale acuta, i cilindri granulosi sono considerati un marcatore di danno tubulare organico [7,8,10,24,31-35].

Cilindri Leucocitari –La loro presenza nell'urina può essere determinata da tutte le patologie flogistiche del rene ad esempio: lupus eritematoso, nefrite interstiziali, pielonefriti acute, etc [7,8,10,24,31-35].

Cilindri Eritrocitari –Possono osservarsi in tutte le nefropatie che causano ematuria per le quali rappresentano un marker di specificità assoluta [7,8,10,24,31-35].

Cilindri Epiteliali –Sono considerati come espressione di una sofferenza tubulare acuta organica quale si può osservare ad esempio nelle. nefropatie glomerulari,necrosi tubulare acuta, nefriti interstiziali acute, tubulopatie [7,8,10,24,31-35].

Cilindri lipidici –Sono presenti in situazioni caratterizzata da proteinuria marcata, specialmente nella sindrome nefrosica [7,8,10,24,31-35].

Cilindri Cerei –Sono gli unici cilindri in cui la matrice proteica prevalente non è THP. Sono compatti e friabili, e solo eccezionalmente presentano elementi inclusi perché la lunga permanenza nei tubuli li porta a completa degenerazione. I cilindri cerei sono quindi espressione di una compromissione renale. Una loro presenza può essere associata principalmente a glomerulonefriti, nefropatia diabetica, amiloidosi renale [8,10,24,31-35,83,84].

Cilindri Pigmentati –Devono la loro colorazione alla presenza di sostanze cromogene. Cilindri emoglobinici e mioglobinici: di colore rossastro, hanno aspetto simile ad un cilindro granuloso. Quelli di emoglobina possono derivare da emazie degenerate o da emoglobinuria. Quelli di mioglobina si riscontrano nell'insufficienza renale acuta associata a rabdomiolisi di diverse origini. Cilindri bilirubinici: la bilirubina conferisce al cilindro un colore aranciato scuro; si osservano in pazienti itterici con alta percentuale di bilirubina coniugata [7,8,10,24,31-35].

Cilindri con inclusi batterici o micotici –La presenza di cilindri con inclusioni batteriche depone per un'infezione renale, il reperto ha una notevole importanza, perché indicativo della presenza di un'infezione particolarmente grave [7,8,10,24,31-35].

Cilindri con inclusi cristallini –La presenza di inclusi cristallini indica che i cristalli sono presenti a livello tubulare. Molto importante clinicamente nelle forme cristalluriche di insufficienza renale acuta quale ad esempio la nefropatia uratica acuta [7,8,10,24,31-35].

Cilindri Misti – Sono forme pleiomorfe nelle quali possono trovarsi elementi corpuscolati diversi (emazie, leucociti, cellule, lipidi, cristalli etc.) inclusi nella matrice THP. Il loro significato clinico riconduce a quanto espresso per i cilindri con le singole inclusioni [7,8,10,24,31-35].

Identificazione e Quantificazione delle Cellule

Le mucose del tratto genito-urinario sono rivestite da differenti tipologie di epiteli [7,8,10,24,31-35].

- L'uretra nel suo primo tratto appare rivestita da un epitelio di transizione in continuità con quello della vescica; nella sua porzione anteriore, invece, è rivestita da un epitelio pavimentoso squamoso disposto in più strati, sino all'orifizio uretrale esterno. Le cellule epiteliali squamose provenienti dall'uretra e dal trigono vescicale (nelle donne in età fertile) sono di grandi dimensioni, fogliacee, con piccolo nucleo picnotico [7,8,10,24,31-35].
- La vescica, ad eccezione del trigono, gli ureteri sono rivestiti da un epitelio di transizione pluristratificato detto urotelio. Si riconoscono almeno tre morfologie cellulari distinte: le cellule dello strato superficiale, di forma rotonda od ovalare, a ombrello e di grosse dimensioni, con nucleo piccolo e centrale; le cellule dello strato intermedio, generalmente di dimensioni inferiori e forma più eterogenea (ovalari, o a clava spesso binucleate), le cellule dello strato profondo cuboidali [7,8,10,24,31-35].
- I tubuli renali sono rivestiti dall'epitelio tubulare. Su base morfologica possiamo distinguere tra l'epitelio dei tubuli distale e prossimale, monostratificato con cellule cubiche o cilindriche, con nucleo centrale tondeggiante e corti microvilli sul lato luminale, dall'epitelio del dotto collettore, generalmente cubico con nucleo centrale ovalare e corti microvilli [7,8,10,24,31-35].

Le cellule epiteliali possono provenire da ogni porzione del tratto genito-urinario e quindi sono per definizione estremamente pleiomorfe.

La presenza di cellule squamose è un evento frequente nella valutazione microscopica delle urine e solitamente non riveste significato patologico, essendo in genere espressione di contaminazione genitale; pertanto, rappresenta il più delle volte un indicatore di non corretta raccolta del campione.

La presenza di elementi dell'urotelio (cellule transizionali) appare frequentemente correlata a patologia vescicale infiammatoria, calcolosi, manovre invasive (es. cateterizzazione), patologia neoplastica.

La presenza di cellule tubulari ha sempre un significato patologico ed appare correlata con un danno acuto del tubulo renale, quale si osserva in diverse patologie acute del parenchima renale [7,8,10,24,31-35].

Identificazione dei lipidi

Dal punto di vista morfologico esistono quattro categorie di lipidi: gocciole (isolate od in aggregati), corpi ovali grassi, cilindri lipidici, cristalli di colesterolo. L'identificazione delle

prime tre categorie è facilitata dall'impiego della luce polarizzata che mostra le tipiche "croci di Malta". Questi elementi sono associati a proteinuria marcata [7,8,10,24,31-35].

Identificazione dei Cristalli

La presenza di cristalli nelle urine è significativa solo per quantità consistenti e per alcuni tipi di cristalli [85-90].

In urine acide possono ritrovarsi cristalli di acido urico e di ossalato di calcio, ma anche precipitati di urati amorfi.

Nelle urine alcaline si possono ritrovare cristalli di fosfato di calcio e precipitati di fosfati amorfi [85-92].

Alcune cristallurie vengono considerate sempre patologiche; rientrano in questo campo la presenza di cristalli di triplo fosfato (infezioni del tratto genitourinario) cistina (cistinuria) idrossiadenina, tirosina e leucina (patologie ereditarie, epatite, leucemie) colesterolo (patologie renali, sindrome nefrosica) bilirubina (ittero clinicamente rilevabile), emosiderina (emolisi severa, anemie emolitiche, reazioni trasfusionali). Va tenuto presente che anche alcuni farmaci possono dare luogo alla presenza di particolari precipitati nelle urine [85-90].

La maggior parte dei cristalli non strettamente patologici precipita nelle urine a seguito di determinate condizioni preanalitiche (campione vecchio, conservato in frigorifero o sottoposto a sbalzi termici o a concentrazione per evaporazione) ma anche per elevata concentrazione, transitoria, di sali da fattori fisiologici o para-fisiologici, quali alimenti, disidratazione estiva, etc.; in questo caso il loro riscontro è privo di significato clinico. Nella valutazione di un soggetto con sospetta diatesi calcolotica, l'esame del sedimento urinario andrebbe effettuato esclusivamente su un campione di urina appena emessa, esaminato "a fresco": il riscontro di cristalli non necessariamente patologici (acido urico, ossalato di calcio etc.) ma presenti in grande quantità, con forme di medie e/o grosse dimensioni e/o formazione di aggregati e/o persistenti in campioni ripetuti, costituisce in questo caso indicazione ad uno studio metabolico più approfondito [88-96].

Microorganismi:

Le linee guida dell'ECLM–EUG, propongono una classificazione degli agenti eziologici di IVU in base: a) alla loro potenziale uropatogenicità; b) all'integrità dell'apparato genito urinario; c) alle condizioni fisiologiche (es. gravidanza); d) alla presenza di malattie sistemiche. Inoltre tale classificazione prende in considerazione la frequenza con cui i diversi microrganisimi vengono isolati da campioni urinari. Si definiscono "Patogeni Primari" quei batteri in grado di dare frequentemente infezione in soggetti sani e senza

anomalie anatomiche o funzionali dell'apparato urinario (es. Escherichia coli e Staphylococcus s~~S~~aprophyticus) e "Patogeni Secondari" quei batteri che pure si riscontrano in soggetti sani ma con minore frequenza. Si tratta spesso di infezioni in soggetti istituzionalizzati o con anomalie funzionali/anatomiche dell'apparato urinario o con patologia sistemica concomitante (es. Enterococcus spp., Proteuss pp., Pseudomonas a~~A~~eruginosa, Staphylococcus a~~A~~ureus, Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp.). Vengono poi definiti "Patogeni Condizionali" quei batteri che non sono in grado di dare infezione in soggetti sani ma che rivestono significato patologico in pazienti con anomalie funzionali od anatomiche dell'apparato urinario o presentano patologia sistemica concomitante (es. miceti lievitiformi, lo Streptococcus a~~A~~galactiae o di gruppo B, gli stafilococchi coagulasi negativi, Pseudomonas spp.). Il quarto ed ultimo gruppo è quello dei “Batteri contaminanti” e quindi privi di significato patologico (es. difteroidi e ~~i~~ lattobacilli).

Pertanto, la sola valutazione quantitativa e qualitativa della flora batterica nelle urine non è sufficiente a porre diagnosi di IVU (che è una diagnosi clinica) ma deve essere integrata con una valutazione della componente corpuscolata: leucociti, eritrociti, cellule epiteliali. La presenza di un elevato numero di cellule epiteliali squamose suggerisce una contaminazione mentre la presenza di batteriuria senza piuria depone per una colonizzazione invece che per un’ infezione [7,9,11,12,24,31,34,35].

Raccomandazioni:

- ***E’ fortemente raccomandato che all’esame batteriologico per IVU sia associata la valutazione della componente corpuscolata delle urine al fine di definire, oltre al microrganismo, la reazione infiammatoria dell’ospite e le lesioni che l’infezione ha causato.***

Contaminanti

Sono considerati contaminanti tutti quegli elementi presenti nel campione in esame che non originano dall’apparato urinario. In tal senso possiamo distinguere contaminanti provenienti:

- dal soggetto che ha prodotto il campione: di provenienza genitale -eritrociti, leucociti, cellule squamose batteri, protozoi, miceti, spermatozoi~~, -~~; di provenienza cutanea -peli, parassiti, talco, creme, olii, polveri aspersorie~~-~~; di provenienza fecale

-fibre, cellule, batteri, parassiti e loro uova-; fibre tessili dagli indumenti, fibre di cellulosa da assorbenti, pannolini, carta igienica;

- dall'ambiente esterno durante la raccolta e conservazione: pollini, cellule vegetali, spore fungine, fibre;
- dal Laboratorio durante la preparazione-esecuzione dell'esame: frammenti di vetro dai vetrini per l'osservazione microscopica, polvere aspersoria dai guanti, bollicine d'aria prodotte dal pipettamento del campione;

Per ridurre il rischio di contaminazione del campione dal soggetto e dall'ambiente è fondamentale attuare quanto raccomandato dalle LG: preliminare accurata igiene dei genitali [7,8], raccolta da mitto intermedio con contenitore monouso e dispositivo per provetta sottovuoto [27,29]. Il raro reperto di protozoi di origine genitale od elminti (o loro uova) di origine fecale nelle urine non appare indicativo di una infestazione urinaria ma suggerisce una contaminazione; tuttavia trattandosi di elementi indicativi di una infestazione parassitaria genitale o intestinale il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti [7,9,11,12,24,31,34,35]. Per quanto attiene la contaminazione dal Laboratorio, l'utilizzo di lettori automatizzati della frazione corpuscolata ha notevolmente ridotto la manipolazione dei campioni e quindi il rischio di contaminazioni da esposizione all'ambiente, così come l'utilizzo di dispositivi in plastica multicellette per microscopia (senza vetro) e l'uso di guanti in vinile o nitrile (senza polveri aspersorie) hanno eliminato le relative contaminazioni.

Per ridurre il rischio che eventuali contaminanti possano generare errate informazioni è necessario che il personale addetto all'analisi riconosca i quadri morfologici relativi ai contaminanti ed alle loro possibili origini, segnalando con opportuni commenti l'idoneità del campione o la necessità di procedere ad una nuova e più accurata raccolta in conformità alle LG [7-8].

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandato dare informazione agli utenti circa le modalità di raccolta dei campioni urinari: preliminare accurata igiene dei genitali, raccolta da mitto intermedio, utilizzo di contenitori dedicati e provette sottovuoto.***
- ***E' fortemente raccomandato che gli operatori acquisiscano le competenze per il riconoscimento dei contaminanti, il giudizio di idoneità del campione, e***

commentino opportunamente i casi in cui ripetere l'esame con raccolta conforme alle LG.

- ***E' fortemente raccomandato il giudizio di non idoneità del campione urinario con protozoi di origine genitale od elminti (o loro uova) di origine fecale; rivestendo importanza clinica il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti.***

Sistemi per l'acquisizione ed archiviazione d'immagini in formato digitale

Collegati alla microscopia ottica sono disponibili sistemi di acquisizione di immagini, oggi facilmente reperibili sul mercato a costi contenuti e con possibilità di adattamento a sistemi di microscopia preesistenti; permettono:

- la creazione di atlanti "in linea", in cui riversare le immagini della propria casistica,
- lo svolgimento di funzioni educative durante il tutoraggio del personale in formazione (laureandi, specializzandi, etc.),
- la fruizione di teleconsulenze di colleghi più esperti mediante l'invio delle immagini di elementi urinari di difficile classificazione.

Valutazione della frazione corpuscolata delle urine mediante strumentazione automatizzata.

Gli analizzatori per la valutazione e quantificazione automatizzata della frazione corpuscolata delle urine sono classificabili in tre categorie in base al principio di funzionamento:

- Microscopia automatizzata
- Cattura di Immagini
- Citofluorimetria

Microscopia automatizzata: Il più diffuso analizzatore per l'analisi della frazione corpuscolata delle urine mediante automazione della microscopia (cCuvette based microscopy - CBM) è l'analizzatore SediMAX (Menarini) a cui di recente si è aggiunto un sistema denominato Cobas 6500 (Roche). L'analisi richiede un volume minimo di campione di 2 mL. Un' aliquota di 200 µL viene iniettata all'interno di una particolare cuvetta che, una volta centrifugata, permette la formazione di un sottile film liquido su cui avviene la lettura con videocamera microscopica mediante illuminazione del campione tramite led verde ad elevata potenza. Per ogni campione possono essere analizzati più campi microscopici a 400X, visualizzati attraverso 15 fotografie. Una speciale rete neurale,

supportata da un database contenente migliaia di immagini del sedimento, individua gli elementi in base alle loro caratteristiche morfologiche. E' possibile evidenziare gli elementi identificati tramite un acronimo che compare sull'elemento stesso; gli elementi anomali, contigui e sovrapposti modificano l'aspetto morfologico perimetrale, non vengono quindi riconosciuti e vengono esclusi dal conteggio [97-103]. Recentemente è stata rilasciata una nuova versione dell'analizzatore SediMAX, che utilizza la microscopia in contrasto di fase in aggiunta al campo chiaro.

Cattura di Immagini: Il primo analizzatore con tecnologia a cattura di immagini è stato l'analizzatore Iris iQ200 di Beckman. A questo sistema si sono ora aggiunti altri due sistemi, FUS 100 e 200 (Dirui) che ricalcano lo stesso principio di funzionamento. Tali sistemi incorporano un microscopio automatizzato con ottica focalizzata su cella planare a flusso laminare, nella quale le particelle contenute nel campione vengono focalizzate idrodinamicamente. Il flusso laminare consente di presentare il campione all'interno del piano focale dell'obiettivo del microscopio, orientando inoltre le particelle asimmetriche in modo che si presentino in posizione ortodromica per una migliore lettura e classificazione. Una lampada stroboscopica illumina con una frequenza di 24 flash al secondo il campione che transita attraverso la cella a flusso, consentendo ad una camera digitale miniaturizzata di riprendere, isolare e di memorizzare un elevatissimo numero di fotogrammi per campione. Ad ogni singola immagine viene sottratto il valore di fondo (background, sfondo), ripreso e digitalizzato precedentemente, esaltando in questo modo la morfologia della particella ripresa ed il suo confronto con il medium liquido. Le singole immagini di una particella sono isolate all'interno di ogni fotogramma. Il software di riconoscimento delle particelle analizza con una rete neurale ogni elemento e lo confronta con oltre 26.000 immagini univoche; quindi considerando le caratteristiche di dimensione, forma, contrasto e contenuto interno, lo classifica [104-109].

Citofluorimetria: l'unico analizzatore automatizzato della frazione corpuscolata delle urine mediante citofluorimetria è l'analizzatore Sysmex UF, di cui il modello 1000i è l'ultima evoluzione. Sysmex UF-1000i (Dasit) combina la tecnologia impendenziometrica con la citofluorimetria ed utilizza come fonte luminosa un laser a diodi. Il campione urinario (0,8 – 1,2 mL) viene aspirato nel sistema, viene diluito con un tampone, e viene sottoposto ad un processo di colorazione con due fluorocromi polimetinici di recente concezione, in grado di legarsi agli acidi nucleici. Dopo un processo di focalizzazione idrodinamica, il campione viene fatto passare attraverso due celle a flusso, una dedicata all'analisi dei microorganismi e l'altra dedicata all'analisi di tutti gli altri elementi corpuscolati. Il

passaggio delle singole particelle viene riconosciuto con metodica impedenziometrica, che ne permette l' accurata quantificazione e fornisce indicazioni circa le loro dimensioni. Inoltre il passaggio delle particelle sospese nel flusso laminare devia il fascio di luce laser e genera un segnale di diffrazione che viene letto sia da rilevatori per lo scatter frontali (forward, 45°) e laterali (side, 90°) che da un rilevatore di fluorescenza. I parametri misurati vengono convertiti in segnali elettrici che, analizzati attraverso algoritmi matematici, permettono l'identificazione dei diversi elementi presenti nell'urina. Per caratterizzare il campione, viene inoltre misurata la conduttività della soluzione, che è indice della concentrazione di elettroliti nelle urine. Il canale dei batteri funziona analogamente a quello degli altri elementi su specifiche orientate al conteggio e differenziazione dei microrganismi presenti nelle urine [110-116].

Tutti gli analizzatori automatici per la valutazione qualitativa e quantitativa della frazione corpuscolata delle urine hanno in comune alcuni vantaggi e presentano alcune problematiche.

- Esaminano urina nativa, eliminando così la centrifugazione, l'aspirazione del sovranatante, la risospensione del fondello e l'allestimento del preparato microscopico. Tali passaggi, presenti nella microscopia tradizionale, non solo introducono una notevole variabilità analitica, per la sostanziale assenza di standardizzazione, ma costituiscono dei colli di bottiglia organizzativi, con un ritardo nell'analisi della frazione corpuscolata che può modificare gli esiti analitici a scapito di precisione ed accuratezza. Questo è tanto più rilevante nei laboratori con elevati carichi di lavoro.
- La quantificazione degli elementi corpuscolati effettuata con analizzatori automatici è assai più ripetibile di quella effettuata da un osservatore umano al MO. Inoltre vengono forniti risultati quantitativi espressi in numero di particelle per unità di volume, evitando espressioni descrittive e soggettive quali "rari", "alcuni", "numerosi", etc. La possibilità di quantificare gli elementi per unità di volume esaminato, permette di standardizzare l'analisi e costituisce un indicatore oggettivo per la valutazione clinica.
- La capacità degli analizzatori di identificare correttamente gli elementi corpuscolati delle urine appare soddisfacente per quanto attiene gli eritrociti, i leucociti, le cellule epiteliali squamose, i batteri, i miceti, etc. Per contro l'identificazione dei cilindri appare meno soddisfacente, con possibilità di falsi positivi dovuti alla presenza di muco, aggregati cellulari, ammassi di cristalli; in questo caso sarà dirimente la valutazione morfologica. Al riguardo va ricordato che la presenza di muco testimonia nella gran parte dei casi

una raccolta del campione scorretta, eseguita da mitto iniziale e non intermedio [106-114].

- La necessità di definire soglie di allarme, griglie per la revisione dei risultati, allarmi per l'anomalia del dato e/o del campione ha permesso di orientare le risorse e le competenze professionali su quei casi che beneficiano di opportuni approfondimenti. Paradossalmente proprio l'introduzione degli analizzatori automatizzati per il conteggio differenziale della frazione corpuscolata, sta sempre più valorizzando la competenza morfologica degli operatori, dando un notevole valore aggiunto all'ECMU. Inoltre questi analizzatori permettono un agevole controllo di qualità interno, consentendo di valutare i principali parametri corpuscolati e di operare sulla scorta di elementi oggettivi.
- Tali analizzatori, al momento, non sono in grado di riconoscere i lipidi, i protozoi, numerosi cristalli segnalando generici allarmi, che devono essere colti in fase di revisione, così come non distinguono le cellule tubulari e le transizionali limitandosi genericamente a segnalare piccole cellule rotonde (small round cells) e cellule di grandi dimensioni (large cells).

In conclusione, gli analizzatori automatici per lo studio della frazione corpuscolata delle urine sono uno strumento indispensabile per garantire elevati standard analitici nei Laboratori Analisi rimpiazzando l'esame morfologico tradizionale nei casi di semplice definizione, quantificando gli elementi corpuscolati con precisione ed accuratezza paragonabili a quelli di un microscopista esperto, mediante adeguata tecnologia, metodologia e con carichi di lavoro ridotti e permettendo una selezione efficace dei casi per i quali si rende necessario un approfondimento con la microscopia tradizionale o con altri metodi d'indagine. Sono quindi in grado di focalizzare le risorse da dedicare alla microscopia sui casi clinici meritevoli di approfondimento, contribuendo quindi a migliorare le performances sia dei casi semplici che complessi sotto il profilo diagnostico-clinico [97-116].

Raccomandazioni:

Sono fortemente raccomandati:

- ***l'impiego del microscopio a contrasto di fase per la valutazione del sedimento urinario; l'osservazione microscopica delle urine in campo chiaro può essere un utile complemento visivo ad esempio con elementi pigmentati.***

- ***l'impiego del polarizzatore sia per la valutazione dei cristalli sia per il riconoscimento dei lipidi urinari. Tale dotazione fa parte del corredo necessario al Laboratorio, e deve essere acquisita al pari dei reagenti analitici.***
- ***l'implementazione dei sistemi di acquisizione delle immagini microscopiche, sia per l'archiviazione di immagini significative a scopo didattico e documentale sia per applicazioni di teleconsulenza.***
- ***l'utilizzo degli analizzatori automatizzati della frazione corpuscolata nei Laboratori con un carico di lavoro >40 ECMU giornaliere, per l'impatto positivo sulla standardizzazione dei processi analitici, è comunque raccomandato il loro impiego anche in realtà con carichi di lavoro inferiori.***
- ***la verifica microscopica in tutti quei casi in cui gli analizzatori automatizzati della frazione corpuscolata diano luogo ad allarmi riferiti ad elementi anomali, interpretazioni dubbie, necessità di approfondimento.***
- ***la tipologia e le caratteristiche degli analizzatori da utilizzare siano valutate dal Laboratorio in merito alla compatibilità con le necessità operative, alla casistica esaminata ed alle competenze degli operatori in modo da valorizzare i punti di forza e minimizzare i limiti strumentali.***

CQI e VEQ

Negli ultimi anni l'evoluzione del ruolo della Medicina di Laboratorio nella gestione del Paziente e l'attenzione al contenimento dei costi hanno imposto al laboratorio una valutazione del servizio fornito basata su criteri di efficacia. Tecnologie e metodi sempre più innovativi ed accurati, assieme alla formazione del personale, ad un adeguato ambiente di lavoro, a processi ben pianificati, all'erogazione di informazioni comprensibili per il giusto paziente al momento giusto, sono elementi fondamentali per garantire la qualità. In questo contesto è diventato cogente il superamento delle tecniche di controllo della qualità dalla fase puramente analitica alla promozione e sviluppo di sistemi di assicurazione della qualità del Total Testing Process (TTP).

La verifica di qualità è diventata pertanto uno degli elementi connotanti la pratica di Laboratorio. Infatti, contrariamente ad altre branche della Medicina, la messa in discussione del modo di operare, dei risultati ottenuti e perfino delle competenze e capacità diagnostiche degli operatori è costante e rituale.

In alcune regioni, la verifica esterna di qualità assume valore mandatorio per il mantenimento dell'autorizzazione all'esercizio professionale; la certificazione ISO (9001/2015 e 15189/2012) ed i principali standard per l'accreditamento prescrivono l'adesione a programmi per il controllo di qualità interno ed esterno.

Nella fase analitica consideriamo il CQI, l'allineamento, i traguardi analitici; nella fase post analitica la VEQ sia chimica che morfologica [117-126].

Il CQI risponde all'esigenza di verificare le prestazioni analitiche di un metodo/sistema analitico in modo tale da fornire allarmi nel caso in cui quest'ultimo non stia più lavorando entro limiti di errore totale (ET) predefiniti. Il CQI va eseguito ad ogni seduta di lavoro per validare la serie analitica secondo regole ben definite da Westegard [117-121]. Può e deve essere ripetuto più volte laddove le sedute analitiche siano protratte a lungo. E' opportuno che la matrice dei campioni di controllo sia la stessa dei campioni analizzati ma laddove questo non sia possibile, dovrà avere caratteristiche analoghe. E' raccomandato che il campione di controllo sia di parte terza, prodotto cioè da un fabbricante estraneo alla ragione sociale del produttore della strumentazione e dei reagenti [122].

Allineamento: quando in un Laboratorio sono presenti più strumenti per l'ECMU è necessario che questi siano allineati, ovvero che i risultati ottenuti dai diversi strumenti sullo stesso campione non varino oltre quanto accada sul singolo strumento. Per valutare quanto le variazioni siano casuali ed indipendenti dallo strumento utilizzato si può utilizzare il metodo statistico di Bland-Altman [123]**.** E' importante che il campione utilizzato per la verifica dell'allineamento sia un campione urinario con una concentrazione intermedia di soluti e di elementi corpuscolati.

Traguardi analitici: per traguardo analitico (o specifica di qualità) di un test si intende la massima variazione accettabile nelle prestazioni di un metodo (Errore Totale) che non comprometta l'interpretazione clinica del dato.

Per definire i traguardi analitici di imprecisione (CV%), inesattezza (bias%) ed Errore Totale, generalmente si fa riferimento ai concetti di variabilità biologica..utilizzando le formule consigliate da Fraser con le quali la performance analitica viene schematicamente distinta in: ottimale, desiderabile, soddisfacente, non soddisfacente. Nel caso dell'ECMU, tali traguardi non risultano in modo univoco [117-126].

La VEQ risponde all'esigenza di confrontare le prestazioni del laboratorio e del metodo utilizzato con quelle di tutti gli altri partecipanti. Il fine ultimo è quello di verificare l'esattezza della misura analitica, rispetto ad un valore vero (ottenuto con metodi di

riferimento) o di consenso (risultante cioè da quello determinato da tutti gli utilizzatori con lo stesso metodo o con metodi diversi).

Sono disponibili programmi di VEQ per la quasi totalità degli analiti del profilo biochimico, sia in fase liquida che su dipstick.

La scarsa diffusione dei Programmi di VEQ per l'Esame Chimico Fisico delle urine mediante striscia reattiva è dovuta al fatto che, mentre la tracciabilità e la descrizione dell'incertezza di misura sono ben stabilite in chimica liquida, questi concetti sono ancora poco applicabili per le determinazioni di tipo semi-quantitativo o su scala ordinale utilizzate per l'esame delle urine. Molti schemi per l'analisi mediante dipstick prendono in considerazione risultati solo di tipo qualitativo, raggruppandoli in una scala lineare (es. assente, tracce, positivo) ed esistono veramente pochi Programmi di VEQ che utilizzano i risultati numerici corrispondenti [127]. Tra quest'ultimi citiamo il Programma di VEQ gestito dal CRB sin dal 2000, che vede una partecipazione di circa 300 laboratori, nel quale l'elaborazione viene effettuata per sistema diagnostico (striscia reattiva) confrontando il risultato del laboratorio con quello più frequente (moda) fornito dai partecipanti che utilizzano la stessa striscia. Questo tipo di VEQ, pur con i limiti intrinseci derivanti dal dover necessariamente raggruppare in categorie arbitrarie i risultati delle diverse strisce presenti sul mercato, può essere un valido aiuto per tenere sotto controllo l'esame chimico fisico delle urine. Consente infatti di valutare come un laboratorio si "colloca" nel contesto generale e favorisce la riduzione dell'errore analitico allertando il referente quando un valore fornito dal suo laboratorio risulta appartenere ad una classe di valori lontana da quella in cui cadono tutti gli altri risultati. Inoltre il Programma di VEQ può contribuire alla standardizzazione della refertazione di alcuni parametri, come nel caso dell'Emoglobina (mg/dL invece di Ery/µL) e a diffondere l'utilità della determinazione di importanti parametri, quali la creatinina ed il rapporto proteine/creatinina o meglio albumina/creatinina, che in Italia, al contrario di altri Paesi, sono ancora scarsamente utilizzati.

I Programmi di VEQ per l'analisi della frazione corpuscolata delle urine sono ancora meno sviluppati rispetto ai Programmi di VEQ per l'analisi chimica, quantitativa o semiquantitativa delle urine poiché i risultati di tipo qualitativo per l'analisi morfologica in generale, non possono essere suddivisi in rank ed il giudizio su ogni singola risposta richiede la consulenza di un professionista esperto nella disciplina [128-133].

In Italia è attiva una VEQ per il sedimento urinario, basata sull'interpretazione di immagini degli elementi corpuscolati, per alcuni dei quali è richiesta una correlazione clinica; nel programma annuale è prevista anche la valutazione di Casi clinici.

Gli esercizi che propongono casi clinici hanno lo scopo di approfondire una specifica patologia, mediante il confronto tra i risultati dell'esame chimico fisico e quelli ottenuti dall'esame morfologico e la ricerca delle motivazione di eventuali discrepanze tra i due tipi di informazione (per esempio il ritrovamento di un basso numero di eritrociti e leucociti in contrasto con il risultato di 1 mg/dL di emoglobina e 250 Leu/µL di esterasi leucocitaria, dovuto alla lisi delle cellule causata da una bassa densità) e l'individuazione del commento più appropriato da inserire nel referto. L'aspetto saliente è che l'Ente organizzatore si deve avvalere di uno o più consulenti molto esperti della patologia inerente i casi clinici che vengono trattati e disponibili a fornire assistenza al riguardo.

Nel report del programma di VEQ oltre alla valutazione delle risposte del laboratorio con il relativo punteggio, vengono forniti commenti esaustivi sul significato clinico di ogni elemento proposto. L'analisi delle risposte, raccolte in più di 15 anni di esperienza su questo tipo di VEQ, ne ha mostrato la grande utilità anche in termini educazionali [130-133]. In questo tipo di schemi di VEQ, infatti, per la refertazione dei risultati, è richiesta una valutazione soggettiva da parte del professionista di laboratorio; questi esercizi sono pertanto utili al laboratorio per evidenziare eventuali necessità di formazione / aggiornamento e rappresentano uno stimolo per il personale preposto ad approfondire le conoscenze su una determinata patologia.

Insieme ai Corsi teorico-pratici sull'argomento, questo Programma di VEQ costituisce quindi un supporto indispensabile alla formazione dei partecipanti ed ha quindi un suo spazio ed un suo ruolo nell'educazione continua nella Medicina di Laboratorio Italiana [130-133].

A tutt'oggi non è ancora disponibile una VEQ per l'analisi automatizzata della frazione corpuscolata: vi sono infatti difficoltà ad approntare un materiale tale da garantire la stabilità e l'integrità morfologica degli elementi in esame e che risulti idoneo all'analisi con tutti i sistemi disponibili sul mercato che utilizzano tecnologie molto diverse tra loro.

Raccomandazioni:

E' fortemente raccomandato:

- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto alla ECMU sia per la componente chimica che morfologica*** [***117-124***].
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo*** [***128-133***]..

L'ECMU: livelli diagnostici

Per le sue caratteristiche e soprattutto per la facilità di acquisire il campione l'analisi delle urine è uno dei test più eseguiti anche al di fuori dell'ambito specialistico del Laboratorio [7,8,12].

Naturalmente in relazione alle competenze ed alle attrezzature utilizzate ne deriveranno accertamenti che differiscono anche sostanzialmente per accuratezza, precisione, sensibilità e specificità, con conseguenti marcate differenze circa la percentuale di veri positivi, veri negativi, falsi positivi, falsi negativi, che si traducono in una diversa affidabilità e penetranza diagnostica del test [7,8,12].

Occorre quindi differenziare in diversi livelli l'esame delle urine per non correre il rischio di attuare una inappropriatezza analitica in relazione alla tipologia di accertamento, di paziente, di condizioni operative [7,8,12].

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandato che il livello diagnostico sia in stretta relazione con la tipologia di pazienti valutata, permettendo una diagnosi efficace delle patologie riscontrabili con maggiore frequenza ed un corretto indirizzo di quelle più rare o complesse ad un opportuno approfondimento da effettuarsi presso strutture di livello più elevato per disponibilità di attrezzature, di competenze specialistiche e di procedure adottate.***

Livello I:

E' l'approccio base, di tipo generalista e non specialistico; utilizza una striscia reattiva per il solo esame chimico, ed è solitamente usato per confermare o smentire un sospetto diagnostico che per motivi di opportunità/necessità si ritiene di non poter differire; un

classico esempio lo abbiamo nell'assistenza domiciliare, nell'ambulatorio medico/ pediatrico territoriale ed in tutte quelle situazioni dove il Laboratorio non risulti accessibile sulla scorta di una decisione clinica non rinviabile.

E' utilizzabile in un ambito non specialistico, dove si accetta una minore affidabilità del test sulla base dell'impossibilità ad accedere a prestazioni diverse o della necessità di assumere decisioni cliniche non differibili-.

Questa minor affidabilità deriva, oltre che dal processo non sufficientemente standardizzato, anche dai minori requisiti di competenza dell'operatore. Infatti l'esame può essere eseguito dallo stesso paziente (autodiagnosi) o da un sanitario (infermiere, medico, farmacista) senza specifiche competenze e/o pratica di Laboratorio.

Non risultano evidenze circa l'opportunità di questa pratica in Ospedali ove siano attivi Laboratori h. 24; per questo essa è sconsigliata in quanto non standardizzata, quasi sempre senza la necessaria verifica di qualità, quasi mai documentata.

Può trovare applicazione nei POCT di cui il Laboratorio garantisca la gestione secondo regole condivise e documentate con apposite procedure e programmi di controllo di qualità.

Raccomandazioni

- ***E' fortemente raccomandata la lettura strumentale della striscia reattiva per eliminare la soggettività nella valutazione della reazione cromatica e la stampa o memorizzazione automatica dei risultati.***
- ***Non è raccomandabile questo livello al letto del paziente nei reparti degli Ospedali dove risulti attivo un Servizio di Medicina di Laboratorio h 24.***
- ***E' raccomandato che la valenza analitica di questo livello sia solo di supporto al sospetto clinico. Laddove l'esito risulti discordante è opportuno che non abbia valore definitivo ma che indirizzi ad ulteriori indagini.***
- ***E' raccomandata la presenza delle tabelle degli interferenti con i test utilizzati nella striscia reattiva per facilitare la comprensione dei risultati, soprattutto quelli inattesi, ed eliminare incertezze nella valutazione del dato.***
- ***E' raccomandata l'archiviazione dei risultati dei test eseguiti: per poterli rivalutare alla luce di modificate condizioni cliniche, per consentire il confronto di esiti successivi, per poter documentare l'attività svolta.***

Livello II:

E' l'approccio più semplice all'attività specialistica di Laboratorio: per le tecnologie utilizzate, per la standardizzazione del processo, per le competenze e la pratica degli operatori [7,8,12].

E' raccomandato venga espresso il giudizio di idoneità del campione circa la corretta esecuzione della fase preanalitica relativamente a preparazione del paziente, raccolta, volume, identificazione, tempo e temperatura di conservazione, sicurezza biologica per gli operatori [7-12,27,29,134-140].

Durante la fase analitica è raccomandata la verifica dell'assenza di contaminanti fecali (fibre vegetali o carnee) e genitali (cellule vaginali, spermatozoi); questi elementi sono legati ad una contaminazione non evidente ad occhio nudo ma rilevata da reperti nella componente corpuscolata [7-12,27,29, 134-140].

A questo proposito è opportuno raccomandare che nella refertazione si evitino sia le omissioni circa la contaminazione, che potrebbero dar luogo ad inopportuni allarmi per una patologia urinaria in realtà inesistente (come nel caso di positività per proteine, leucociti, emazie e batteri presenti nel materiale contaminante), sia le espressioni legate alla natura del contaminante stesso (ad es. spermatozoi), limitandosi ad inserire un commento del tipo: "campione non idoneo per evidente contaminazione, si consiglia di ripetere la raccolta attenendosi alle modalità prescritte dal Laboratorio". Nel caso di parassiti intestinali patogeni, questi vanno segnalati insieme alla contaminazione perché legati ad una evidente parassitosi di cui il curante deve essere messo a conoscenza [7-12,27,29].

Il criterio di idoneità analitica del campione vale anche per tutti i livelli superiori mentre non risulta praticabile per il Livello I con sola striscia reattiva [7-12,27,29,112-114, 127-134].

- ✓ All'esame chimico deve essere sempre associata la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata (o su analizzatori automatizzati o in microscopia standardizzata). Il Laboratorio deve risolvere le possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici [7-12,27,29].

Questo livello deve essere praticato anche nella diagnostica d'urgenza in modo da poter rispondere in modo adeguato alle esigenze del paziente, assicurando nelle 24 ore i necessari requisiti di standardizzazione in accordo con il sistema di gestione della qualità adottato e con i clinici richiedenti. Naturalmente questa raccomandazione deve tenere in debito conto il contesto e le necessità cliniche oltre che la disponibilità strumentale e di personale competente.

- ✓ Deve essere attuato un adeguato programma per il controllo e la verifica della qualità analitica [7-12].
- ✓ In conformità con i documenti dei maggiori organismi per la promozione della qualità e della standardizzazione devono essere valutati i seguenti parametri [7-12,27,29]

- Parametri irrinunciabili e di indubbia utilità: proteine/albumina, creatinina, densità relativa / conduttività, emoglobina, pH.
- Parametri utili e di verifica per il Laboratorio: nitriti, esterasi, ascorbato.

Tutti i parametri chimici, con l'eccezione di pH e nitriti, devono essere espressi in concentrazione.

Gli altri parametri, ad eccezione dei chetoni in ambito pediatrico, sono da considerare poco utili se non in casi selezionati e pertanto, in caso di necessità di valutazioni metaboliche, i relativi parametri dovrebbero essere vantaggiosamente sostituiti da dosaggi diversi e più efficaci oppure, in caso di specifiche e motivate richieste, dosati con metodi più performanti.

Relativamente alla componente corpuscolata è obbligatorio esprimere in termini di concentrazione: n°/μL o n°/campo microscopico HPF, i seguenti parametri irrinunciabili e di indubbia utilità: emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri.

L'espressione dei parametri morfologici in termini di concentrazione impone la definizione di valori di riferimento. Trattandosi di indicatori di lesione, devono esprimere il solo limite superiore (URL) di norma riferito al 95° percentile ed è opportuno che ciascun Laboratorio calcoli i propri sulla base della metodologia utilizzata e della popolazione esaminata [135-136].

Parametri morfologici utili clinicamente: batteri, miceti, identificazione dei cristalli (acido urico, urato e fosfati amorfi, ossalato di calcio, triplo fosfato, cistina, farmaci etc.).

Rispetto all'esame eseguito al Livello I è possibile acquisire una quota significativa (tra il 12 e 30%) di informazioni aggiuntive relative alla frazione corpuscolata, che il solo esame su striscia reattiva non è in grado di fornire (ad es. cilindri, miceti, cellule tubulari, contaminanti etc) [7-9,24,31].

- ✓ *Le* ***competenze professionali*** sono quelle specialistiche: medico specialista (discipline di Laboratorio o nefrologia nel caso di aree diagnostiche nella unità di Nefrologia), biologo specialista, tecnico sanitario di Laboratorio biomedico (TSLB). Le abilità devono prevedere il riconoscimento morfologico degli elementi di più frequente riscontro in termini tali da non risultare equivoci e la segnalazione

dell'opportunità di un approfondimento morfologico, microbiologico, biochimico (vedi tabella 7).

Per garantire la necessaria standardizzazione del processo è fortemente raccomandato l'uso degli analizzatori automatizzati sia per l'analisi chimica che per l'esame della frazione corpuscolata, interfacciati al sistema informatico del Laboratorio (LIS).
Solo per routine di ridotta entità (<40 campioni/die) è accettabile eseguire l'esame chimico con sistemi semi automatizzati ma è raccomandabile che siano interfacciati con il LIS.
Per routine di media-alta entità (>100 campioni/die) è fortemente raccomandata l'analisi degli elementi corpuscolati con sistemi automatizzati in grado di eseguire il conteggio differenziale, con approfondimenti morfologici in microscopia a contrasto di fase e luce polarizzata.
L'utilizzo esclusivo dell'esame microscopico della frazione corpuscolata è raccomandato solo per routine di ridotta entità, nei casi in cui il tempo impiegato per l'allestimento dei preparati non pregiudichi la conservazione e l'integrità del campione [110,140].
Nelle routine medio-alte sono raccomandati software esperti in grado di rendere agevole il rilascio veloce dei risultati non patologici e/o congruenti, la gestione delle possibili discordanze tra l'esame chimico e morfologico, l'inserimento di commenti preordinati per le situazioni di frequente riscontro, la selezione dei casi per i quali sia richiesto un più elevato livello per l'approfondimento specialistico laddove possibile e/o necessario [110, 140].
La ***valenza analitica*** di questo livello si estrinseca nella possibilità di diagnosticare con un buon grado di efficacia patologie ben espresse a livello urinario. Per patologie ad elevata complessità, con una espressione modesta e/o incostante di indicatori di lesione e /o di funzione e in presenza di specifici quesiti/sospetti clinici, è raccomandato attuare un livello diagnostico superiore.

Raccomandazioni
Sono fortemente raccomandati:

- ***il giudizio di idoneità del campione***
- ***l'associazione tra l'esame chimico e la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata***

- ***la risoluzione, da parte del Laboratorio delle possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici***
- ***l'esecuzione di quei parametri fisico-chimici di utilità sia diagnostica che per la pratica di Laboratorio***
- ***che emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri siano espressi in concentrazione***
- ***l'utilizzo di analizzatori automatici sia per la componente chimica che corpuscolata in routine di media/alta entità***
- ***l'utilizzo di software esperti per il trattamento dei dati ed il collegamento delle strumentazioni al LIS***
- ***che laddove la complessità del caso superi le possibilità diagnostiche di questo livello siano prescritti approfondimenti di livello superiore***

che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto alla ECMU sia per la componente chimica che morfologica [***117-133***].

- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo.***

Livello III

E' l'approccio specialistico avanzato di Laboratorio: per le tecnologie utilizzate, per la standardizzazione del processo, per le competenze e la pratica degli operatori esprime il più alto livello riferibile all'ECMU; esso prevede [7-9,24,31-35].

- un impegno tecnologico e professionale rilevante
- la standardizzazione dell'intero processo, l'approfondimento microscopico su casi selezionati con griglie e/o criteri definiti sulla base della casistica esaminata in ogni Laboratorio
- l'espressione di commenti riferiti alla valutazione analitica ed alla possibile interpretazione in chiave clinica.

Si raccomanda che l'esame chimico venga eseguito su analizzatori automatizzati con elevato controllo del processo e della qualità analitica e che l'esame della frazione corpuscolata venga eseguito su urina nativa da un analizzatore automatizzato, con produzione di allarmi e segnalazioni che permettano la selezione di casi per gli

approfondimenti necessari su base analitica e su base clinica, a cui far seguire la produzione di un commento interpretativo. Sotto il profilo analitico è raccomandato che la misura dell'albuminuria sia accurata e precisa e rapportata alla creatinina urinaria, per la crescente importanza di questo parametro nella valutazione del danno e della funzione renale [7-9,24,31-35].

Per quanto attiene l'idoneità del campione ed i parametri chimici e morfologici da valutare, vale quanto previsto per il Livello II con l'integrazione per quanto riguarda le dotazioni in relazione agli approfondimenti da effettuare in ~~di~~ situazioni patologiche:

Proteinurie: determinazione quantitativa di albumina e proteine specifiche.

Cristallurie: microscopio a contrasto di fase e con filtro polarizzato, pH-metro.

Ematurie: camere di conta specifiche (FuchsRosenthal).

Emoglobinuria: riconoscimento dell'emoglobina con metodo immunologico, infatti la sola reattività della pseudoperossidasi non è probatoria di emoglobinuria in assenza di ematuria in quanto la reattività pseudoperossidasica non risulta dirimente tra emoglobinuria e mioglobinuria.

Citologia: colorazioni appropriate per migliorare la definizione di immagini riferite ad elementi o cellule di dubbia o complessa interpretazione.

Sistemi di registrazione ed archiviazione delle immagini.

Agli operatori già previsti nel II livello vengono richieste competenze professionali che devono prevedere, oltre al riconoscimento morfologico degli elementi comunemente riscontrabili nella routine, la segnalazione della presenza di elementi patologici di non frequente riscontro e la possibilità di effettuare o proporre nella stessa sede l'approfondimento morfologico/~~–~~biochimico necessario. In particolare per il III livello morfologico è richiesta la capacità di effettuare una valutazione del quadro microscopico relazionandolo ad un quadro sindromico laddove richiesto dal clinico o dalla gravità del caso [7-9,24,31-35]. Vedi tabella 8.

La valenza analitica di questo livello si esprime nella possibilità di valutare con un elevato grado di efficacia patologie renali ed urologiche, anche ad elevata complessità e con una bassa concentrazione di indicatori di lesione e/o di funzione a livello urinario. E' l'accertamento indicato per pazienti nefrologici, urologici o internistici con un coinvolgimento renale.

Per la definizione di particolari quesiti / sospetti clinici possono essere necessari specifici accertamenti ed è quindi raccomandato attuare un livello diagnostico superiore.

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***una dotazione strumentale che permetta la determinazione quantitativa di albumina urinaria con sensibilità analitica rapportata alle crescenti esigenze cliniche.***
- ***una dotazione microscopica con contrasto di fase, luce polarizzata, luce trasmessa, archiviazione di immagini.***
- ***l'utilizzo di camere di conta microscopica per le necessarie verifiche e/o approfondimenti.***
  che le competenze professionali siano attestate da un percorso formativo-esperenziale, da adeguato aggiornamento e da programmi di verifica della competenza gestiti da enti terzi.
- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità dell'ECMU secondo programmi annuali definiti*** [***117-133***]..
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo.***

Sono raccomandati:

- ***l'uso di un pH-metro per le tutte le misurazioni rilevanti analiticamente o clinicamente.***
- ***l'uso di reattivi per rilevare immunologicamente l'emoglobinuria in assenza di ematuria.***

Livello IV

Il quarto livello esprime in modo efficace l'interazione tra medicina clinica e di Laboratorio finalizzata ad uno specifico quesito diagnostico; in questo caso non siamo più di fronte ad un esame schematicamente preordinato, ma ad un accertamento modulato sulle esigenze diagnostiche del paziente ed in base ad una forte interazione con il clinico ed ev. anche con il paziente. E' infatti una indagine diagnostica che procede con l'anamnesi, la raccolta del campione con le modalità, l'esame del campione teso a valorizzare i caratteri

patognomonici e gli elementi di diagnostica differenziale su base microscopica e/o strumentale, per concludersi con un referto interpretativo ed un'indicazione clinica [7-9,24,31-35].

Le competenze morfologiche indispensabili per il quarto livello sono le stesse indicate per il terzo livello, ma integrate dall'utilizzo di specifici strumenti atti al riconoscimento non solo presuntivo degli elementi del sedimento e alla definizione/esclusione di una patologia in atto; in particolare:

- **1.** Utilizzo dell'osmometro per la più compiuta valutazione della capacità di concentrazione renale.
- **2.** Valutazione del pH urinario con piaccametro e utilizzo del polarizzatore per la valutazione dei cristalli e dei lipidi.
- **3.** Differenziazione morfologica degli eritrociti, con espressione in percentuale delle popolazioni isomorfica e dismorfica e degli acantociti.
- **4.** Allestimento di colorazioni specifiche, per la differenziazione di leucociti e macrofagi, per la definizione della componente citologica o microbiologica o parassitaria
- **5.** Documentazione ed archiviazione immagini.
- **6.** Dosaggi biochimici e/o immunochimici specifici.
- **7.** Coinvolgimento di altri specialisti per la gestione "in team" di casi particolarmente complessi.

Esempi di Quesiti per il IV Livello

Origine dell'ematuria: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; espressione in percentuale delle due popolazioni eritrocitarie, isomorfiche e dismorfiche~~,~~ e, nell'ambito di queste ultime, il riconoscimento degli acantociti, che correlano con la presenza di ematuria di origine glomerulare; ricerca di altri elementi caratterizzanti (cilindri ematici, altre tipologie di cilindri, cellule tubulari, cellule dell'epitelio transizionale, cristalli etc.); eventuale determinazione di albumina/creatinina e/o proteine/creatinina in caso di ematuria glomerulare, eventuale determinazione dell'α_2-macroglobulina per confermare un'ematuria post-glomerulare, eventuale classificazione dell'ematuria (glomerulare/non glomerulare/mista); emissione di un referto commentato.

Origine della proteinuria [pre renale, renale (glomerulare/tubulare/mista) post renale; ECMU con dipstick, diagnostico solo per albuminuria, in minima parte per alcune proteine tubulari, mai per la proteinuria di Bence Jones. L'ECMU con misurazione della PCR: se

<200 mg/g si conclude per proteinuria nella norma. Se PCR >200 mg/g caratterizzare la proteinuria mediante elettroforesi delle urine e determinazione di proteine specifiche a cascata: Albumina, α_1-microglobulina, Transferrina, IgG, catene leggere Kappa e Lambda. Naturalmente i valori citati sono metodo dipendenti ed è opportuno che ciascun Laboratorio rapporti i valori di riferimento al metodo utilizzato.

Sindrome nefritica e/o nefrosica: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari, lipidi etc.); determinazione proteine/creatinina, albumina/creatinina; emissione di un referto commentato.

IVU di difficile inquadramento e/o trattamento: ECMU; valutazione immagini/grafici/ scatter/parametri strumentali, con particolare riguardo ai valori di leucociti e batteri; esame microscopico, con ricerca degli elementi significativi utili a confermare e connotare la presenza di IVU e ad escludere una contaminazione (emazie, cilindri leucocitari e batterici, macrofagi, cellule epiteliali squamose, muco, etc.); emissione di un referto commentato.

Sospetta nefrotossicità da farmaci: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/ parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari, cristalli etc); determinazione albumina/creatinina e proteine totali/creatinina; determinazione proteine di origine tubulare; elettroforesi delle proteine urinarie; emissione di un referto commentato.

Insufficienza renale acuta: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari etc.); osmolarità urinaria; concentrazione sodica urinaria; frazione di escrezione del sodio; determinazione NGAL, KIM-1 e/o altri biomarcatori urinari.

Valutazione della diatesi calcolotica: ECMU; pHmetria; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; analisi del sedimento a fresco ed eventuale valutazione dei cristalli (tipologia, dimensioni, presenza di aggregati, etc.); esecuzione profilo biochimico su urine (creatinina, urea, Ca, Mg, P, Na, K, Cl, cistina, citrati, ossalati); analisi in spettrometria IR della composizione del calcolo.

Ricerca ed identificazione di Parassiti; ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/ parametri strumentali; raccolta temporizzata e con fase preanalitica controllata (schistosoma); esame microscopico del sedimento a fresco; eventuali colorazioni specifiche; emissione di un referto commentato.

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***l'emissione di un referto adeguatamente commentato e mirato a rispondere al quesito inizialmente posto;***
- ***la formulazione di una indicazione diagnostica, utilizzando ad esempio, come gradazione (in senso crescente) della forza dell' associazione i termini: compatibile, suggestivo, indicativo;***
- ***l'espressione di un criterio di idoneità analitica avvalorato dall'interazione con Il medico curante e con il paziente;***
- ***che questo impegnativo livello sia praticato solo se presenti le necessarie competenze di fisiopatologia renale e di microscopia clinica, attestate da un percorso formativo-esperenziale, da un adeguato aggiornamento e dai programmi di verifica della competenza gestiti da enti terzi.***
-

Strategia per un approccio analitico graduato all'esame chimico e morfologico delle urine

Ciascun Laboratorio in base alla casistica di afferenza, alla tipologia della richiesta, il grado di competenza professionale degli operatori e le dotazioni tecnologiche, deve individuare il livello diagnostico erogabile, e di conseguenza definire le procedure da adottare ed il grado di approfondimento diagnostico disponibile.

L'esame morfologico deve essere sempre effettuato a partire dal livello II. Non è ammissibile la pratica di decidere se eseguire o meno l'esame morfologico sulla base dei risultati dell'esame chimico-fisico e della casistica esaminata in quanto esporrebbe il Laboratorio ad un numero eccessivo di falsi negativi e ridurrebbe notevolmente l'efficacia diagnostica del test.

La decisione di effettuare una revisione microscopica dei campioni dopo l'esame morfologico automatizzato deve invece essere valutata sulla base di criteri di selezione espliciti e formalizzati che, in presenza di un software gestionale dedicato, potranno essere selezionati automaticamente; l'operatore potrà comunque individuare ulteriori campioni da inviare all'approfondimento microscopico sulla base di segnalazioni o allarmi strumentali, incongruenze tra esame chimico e morfologia automatizzata, pazienti critici per esiti analitici o decorso clinico.

Raccomandazioni conclusive

Con queste linee guida il GIAU si propone di stimolare i seguenti aspetti:

- ***Migliorare e standardizzare l'approccio analitico all'ECMU della urine con il presupposto di una raccolta ed di un processo preanalitico ben condotto.***
- ***Sottolineare il valore aggiunto, in termini di informazioni e standardizzazione metodologica, delle nuove tecnologie (citofluorimetria urinaria, cattura digitale di immagini, microscopia automatizzata) adottate dagli analizzatori per lo studio della morfologia della frazione corpuscolata delle urine.***
- ***Ricondurre ai soli elementi utili clinicamente o necessari alla pratica analitica i parametri misurati e proposti alla refertazione.***
- ***Migliorare l'analisi chimica delle urine; in particolare, la determinazione dell'albumina dovrebbe essere effettuata con metodo immunoturbidimetrico ed il risultato dovrebbe essere espresso in rapporto ad indicatori di concentrazione urinaria quali la creatinina, permettendo, attraverso la normalizzazione, una valutazione più attendibile del risultato ed in linea con le esigenze cliniche.***
- ***Aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria e delle loro relazioni con la clinica.***
- ***Disporre delle basilari dotazioni tecnologiche per la microscopia a contrasto di fase e a luce polarizzata per valutare adeguatamente elementi di indubbio rilievo clinico: cellule, cilindri, lipidi, cristalli etc.***
- ***Attuare una politica di verifica della qualità analitica che oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni preveda un programma per la valutazione della competenza morfologica.***
- ***Misurare ed esprimere in termini quantitativi sia i parametri fisico chimici sia principali elementi corpuscolati.***
- ***Approfondire l'analisi compiuta, ove necessario, con ulteriori indagini fisico, chimiche e morfologiche che permettano di risolvere eventuali incongruenze analitiche o di orientare in maniera più sicura il percorso diagnostico-terapeutico del paziente.***
- ***Stimolare l'industria diagnostica a concentrare gli sforzi di ricerca e messa a punto metodologica e strumentale per aderire alle esigenze clinico-diagnostiche.***

L'auspicio è quello di rivalutare l'enorme potenziale diagnostico dell'ECMU, attuando un esame delle urine personalizzato sulle esigenze diagnostiche che ogni paziente porta con sé ~~se~~.

Dichiarazione Conflitto di Interessi
Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse

Dichiarazione Etica
L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori

Bibliografia

1. Grilli R, Penna A, Zola P, et al. (1996) Physician's view of practice guidelines. SocSci Med 1996;43:1283-1287.
2. Formoso G, Liberati A, Magrini N (2001). Practice guidelines: useful and «participative» method? Survey of Italian physicians by professional setting. Arch Int Med 2001;161: 2037-2042.
3. Burnand B (1999). Clinical practice guidelines. A public health perspective. European Journal of Public Health 1999;9:83-85.
4. Coomarasamy A (2004). Searching for evidence to inform clinical practice. Current Obstetrics & Gynaecology 2004;14:142-6.
5. Lilford R, Richardson A, Stevens A, et al. (2001) Issues in methodological research: perspectives from researchers and commissioners. Health Technol Assess 2001;15:1-57.
6. Grilli R (2002). AGREE uno strumento per la valutazione della qualità delle line guida. Dossier 60 Bologna. Agenzia Sanitaria Regionale dell'Emilia-Romagna 2002.
7. ECLM - European Urinalysis Guidelines .(2000) Scand J Clin Lab Invest 2000;60:1-96.
8. CLSI GP-16 A3 (2009) Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline – third Edition vol.29; n 4:4-21, 2009.
9. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) (2006). Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A National Clinical Guideline. Edinburgh (Scotland), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN); July 2006. SIGN publication n. 88.
10. Kuori T, Gyory A, Rowan M (2003). ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. Lab Hematol 2003;9:58-63.
11. Linea Guida Regione Emilia Romagna (2010). Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Dossier 190 2010
12. British Columbia Health Service (2005) Guidelines for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. Maggio 2005. www.healthservices.gov.bc,ca/msp/protoguides
13. Atkins D, Best D, Briss P, et al. (2004) Grading quality of evidence and strength of recommendations. BMJ 2004;328:1490-1495.
14. Guyatt G, Gutterman D, Baumann MH, et al (2006). Grading strength of recommendations and quality of evidence in clinical guidelines: report from American College of chest physicians task force. Chest 2006;129:174-181.
15. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, et al (2011). The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. Kidney Int 2011;80:17-28.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2007). Prevalence of chronic kidney disease and associated risk factors – United States, 1999-2004. MMWR Morb Mortal Weekly Rep 2007;56:161-165. www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5608a2
17. Zoccali C, Kramer A, Jager KJ (2010). Chronic kidney disease and end-stage renal disease – a review produced to contribute to the report "the status of health in the European union: towards a healthier Europe". NDT Plus 2010;3:213-224.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: Font: Not Italic

Formatted: English (United States)

Field Code Changed

Field Code Changed

18. Gambaro G, Yabarek T, Graziani MS, et al (2010). Prevalence of CKD in northeastern Italy: results of the INCIPE study and comparison with NHANES. Clin J Am Soc Nephrol 2010;5:1946-1953.
19. Chacko KM, Feinberg LE (2007). Laboratory screening at preventive health exams: trend of testing, 1978-2004. Am J Prev Med 2007;32:59-62.
20. Woolhandler S, Pels RJ, Bor DH, et al (1989). Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders. I. Hematuria and proteinuria. JAMA 1989;262:1214-1219.
21. Pels RJ, Bor DH, Woolhandler S, et al (1989). Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders II Bacteriuria. JAMA 1989;262:1221-1224.
22. Yuno T, Hisada Y, Nishimura Y (2013). A review of urinary examination - what medical practice expects now and what urinary examinations have to provide in the future. Rinsho Byori 2013;61:622-628.
23. Cho BS, Hahn WH, Cheong HI, el al (2013). A nationwide study of mass urine screening tests on Korean school children and implications for chronic kidney disease management. Clin Exp Nephrol 2013;17:205-210.
24. Brunzel N.l .Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis. Elsevier 3th ed. 2013.
25. Prochazka AV, Lundahl K, Pearson W, et al (2005). Support of evidence-based guidelines for the annual physical examination: a survey of primary care providers. Arch Intern Med 2005;165:1347-1352.
26. Simerville J, Maxted W, Pahira J (2005). Urinalysis: A Comprehensive Review. Am Fam Physician 2005;71:1153-1162.
27. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, et al (2013). Preanalytical quality improvement: in quality we trust. Clin Chem Lab Med 2013;51:229-241.
28. McNulty CA, Thomas M, Bowen J, et al (2008). Improving the appropriateness of laboratory submissions for urinalysis from general practice. Fam Pract 2008;25:272-278.
29. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG, et al (2011). Mid-stream vs first-voided urine collection by using automated analyzers for particle examination in healthy subjects: an Italian multi center study. Clin Chem Lab Med 2011;50:679-684.
30. Rao PK, Gao T, Pohl M, et al (2010). Dipstick pseudo_hematuria: unnecessary consultation and evaluation. J Urol 2010;183:560-564.
31. Mc Bride L. Textbook of Urinalysis and Body Fluids: A Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins 1997.
32. Kanbay M, Kasapoglu B, Perazella MA (2010). Acute tubular necrosis and pre-renal acute kidney injury: utility of urine microscopy in their evaluation – a systematic review. Int Urol Nephrol 2010;42:425-433.
33. Perazella MA, Coca SG, Hall IE, et al (2010). Urine microscopy is associated with severity and worsening of acute kidney injury in hospitalized patients. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;5:402-408.
34. Mundt L, Shanahan K. Graff's Textbook of Urinalysis and Body Fluids. Lippicott, Williams & Wilkins 2011.
35. Ross D, Neely A. Textbook of Urinalysis and Body Fluids. Appleton & Lange 1982.
36. Braeckman L, Haak E, Peremans L (2012). Routine dipstick urinalysis in daily practice of Belgian occupational physicians. Arch Public Health 2012;70:1-15.
37. Rigby D, Gray K (2005). Understanding urine testing. Nurs Times 2005;101:60-62.
38. Berry J (2003). Microalbuminuria testing in diabetes: is a dipstick as effective as laboratory tests? Br J Community Nurs 2003;8:267-273.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

39. Patel HD, Livsey SA, Swann RA, et al (2005). Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload? J Clin Pathol 2005;58:951-954.
40. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney International Supplements. March 2012 Volume 2 Issue 1.
41. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the evaluation and management chronic Kidney disease. Kidney International Supplements. January 2013 Volume 3 Issue 1.
42. Ruggenenti P, Porrini E, Motterlini N, et al (2012). Measurable Urinary Albumin Predicts Cardiovascular Risk among Normoalbuminuric Patients with Type 2 Diabetes. J Am Soc Nephrol 2012;23:1717-1724.
43. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). (2013) ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. Journal of Hypertension 2013;31:1281-1357.
44. Graziani MS, Secchiero S, Terreni A, et al (2015). La diagnostica di laboratorio della malattia renale cronica in Italia: armonizzare è d'obbligo. Biochimica Clinica 2015;39,6:617-626.
45. Graziani M, Lo Cascio C, Caldini A, et al (2007). Indagine conoscitiva sulla determinazione quantitativa della albumina nelle urine nei laboratori italiani. Biochimica Clinica 2007;31:290-296.
46. Graziani M, Caldini A per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Diabete Mellito (2011). Indicazioni per la misura dell'albumina nelle urine per l'accertamento e il monitoraggio della nefropatia diabetica. Biochimica Clinica 2011;35:127-130.
47. Turchetti E, Fasi R, Elementi di Fisica, 1ª ed., Zanichelli, 1998.
48. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, et al (2009). Laboratory diagnosis of renal failure: urine conductivity and tubular function. Minerva Urol Nefrol 2009;61:17-20.
49. Wang JM, Wen CY, Lin CY, et al (2014). Evaluating the performance of urine conductivity as screening for early stage chronic kidney disease. Clin Lab 2014;60:635-643.
50. FazilMarickar YM (2010). Electrical conductivity and total dissolved solids in urine. Urol Res 2010;38:233-235.
51. Sing RI, Singal RK (2012). What is significant hematuria for the primary care physician? Can J Urol 2012;19 Suppl 1:36-41.
52. Higashihara E, Nishiyama T, Horie S, et al (2008). Hematuria: definition and screening test methods. Int J Urol 2008;15:281-284.
53. McDonald MM, Swagerty D, Wetzel L (2006). Assessment of microscopic hematuria in adults. Am Fam Physician. 2006;15;73:1748-1754.
54. Cohen RA, Brown RS (2003). Clinical practice. Microscopic hematuria. N Engl J Med 2003;348:2330-2338.
55. Ma J, Wang C, Yue J, et al (2013). Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. Clin Lab 2013;59:1297-1303.
56. Boven LA, Kemperman H, Demir A (2012). A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. ClinChem Lab Med 2012;50:751-753.
57. Khasriya R, Khan S, Lunawat R, et al (2010). The inadequacy of urinary dipstick and microscopy as surrogate markers of urinary tract infection in urological outpatients with lower urinary tract symptoms without acute frequency and dysuria. J Urol 2010;183:1843-1847.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: Italian (Italy)

Formatted: Italian (Italy)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

58. Aspevall O, Hallander H, Gant V, et al (2001). European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clin Microbiol Infect 2001;7:173-178.
59. Marschal M, Wienke M, Hoering S, et al (2012). Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. Diagn Microbiol Infect Dis 2012;72:125-130.
60. Kouri T, Malminiemi O, Penders J, et al (2008). Limits of preservation of samples for urine strip tests and particle counting. Clin Chem Lab Med 2008;46:703-713.
61. Fabbro C, Darolles J, Rault JP (2011). Preservation of urine samples for UF 1000i analysis. Ann Biol Clin .2011;69:588-592.
62. Komarova O, van derMeer W, Levtchenko E, et al (2003). Effective chemical preservation of morphology of urinary erythrocytes. Pediatr Nephrol 2003;18:665-666.
63. Kouri T, Vuotari L, Pohjavaara S, et al (2002). Preservation of urine for flowcytometric and visual microscopic testing. ClinChem 2002;48:900-905.
64. del Rosario-Rodríguez M, Rodríguez-Moreno I, León MT, et al (1999). A new chemical preservative that permits analysis of urine sediment for light microscopic examination 12 h after emission. Nephron 1999;82:65-71.
65. Mody L, Juthani-Mehta M (2014). Urinary tract infections in older women: a clinical review. JAMA 2014;311:844-854.
66. Sundvall PD, Gunnarsson RK (2009). Evaluation of dipstick analysis among elderly residents to detect bacteriuria: a cross-sectional study in 32 nursing homes. BMC Geriatr 2009;9:32-38.
67. Kodikara H, Seneviratne H, Kaluarachchi A, et al (2009). Diagnostic accuracy of nitrite dipstick testing for the detection of bacteriuria of pregnancy. Public Health 2009;123:393-394.
68. American Diabetes Association (2015). Standards of Medical Care in Diabetes – 2015. Diabetes Care 2015;38 suppl-1:-S1-S94.
69. Shivaraj G, Prakash B, Shruthi S, et al (2010). Markers of renal function tests. N Am J Med Sci 2010;2:170-173.
70. Edmund L, David J. Kidney function tests. In: Carl AB, Edward R, David E, editors. Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. New Delhi: ElsevierInc; 2006. pp. 797-808.
71. Arvind B, Anurag B, Shina M (2005). Approach to Renal Tubular Disorders. Indian Journal of Pediatrics 2005;72:771-776.
72. Fogazzi GB, Saglimbeni L, Banfi G, et al (2005). Urinary sediment features in proliferative and non-proliferative glomerular diseases. J Nephrol 2005;18:703-710.
73. Emerson JF, Emerson SS (2005). Evaluation of a standardized procedure for microscopic cell counts in body fluids. J Clin Lab Anal 2005;19:267-275.
74. Fogazzi GB, Grignani S (1998). Urine microscopic analysis an art abandoned by nephrologists? Nephrol Dial Transplant 1998;13:2485-2487.
75. Fogazzi GB, Cameron JS (1996). Urinary microscopy from the seventeenth century to the present day. Kidney Int 1996;50:1058-1068.
76. Fogazzi GB, Cameron JS (1995). The introduction of urine microscopy into clinical practice. Nephrol Dial Transplant 1995;10:410-413.
77. Tsai JJ, Yeun JY, Kumar VA, et al (2005). Comparison and interpretation of urinalysis performed by a nephrologist versus a hospital-based clinical laboratory. Am J Kidney Dis 2005;46:820-829.
78. Fogazzi GB, Grignani S, Colucci P (1999). Urinary microscopy as seen by nephrologists. ClinChem Lab Med 1999;36:919-924.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

79. Fogazzi GB, Garigali G “Urinalysis” in Johnson RJ et al, “Comprehensive Clinical Nephrology 5th edition”, Elsevier Saunders 2014.
80. Fogazzi GB. The Urinary Sediment” An Integrated View - Masson Third edition, 2010.
81. Hisano S, Sasatomi Y, Kiyoshi Y, et al. (2001) Macrophage subclasses and proliferation in childhood IgA glomerulonephritis. Am J Kidney Dis 2001;37:712-719.
82. Shiozawa S (2000). Participation of macrophages in glomerular sclerosis through the expression and activation of matrix metalloproteinases. Pathol Int. 2000;50:441-457.
83. Fogazzi GB, Ferrari B, Garigali G, et al (2012). Urinary sediment findings in acute interstitial nephritis. Am J Kidney Dis 2012;60:330-332.
84. Spinelli D, Consonni D, Garigali G, et al (2013). Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: results of a prospective study. Clin Chim Acta 2013;424:47-52.
85. Henschkowski J, Vogt B (2006). Crystalluria. Ther Umsch 2006;63:591-594.
86. Baggio B, Giannossi ML, Medici L, et al (2012). X-ray microdiffraction and urine: a new analysis method of crystalluria. J Xray Sci Technol 2012;20:489-498.
87. van Noord C, Wulkan RW, van den Dorpel MA (2012). Crystalluria. Neth J Med 2012;70:84-87.
88. Verdesca S, Fogazzi GB, Garigali G, et al (2011). Crystalluria: prevalence, different types of crystals and the role of infrared spectroscopy. ClinChem Lab Med 2011;49:515-520.
89. Baumann JM, Affolter B, Meyer R (2010). Crystal sedimentation and stone formation Urol Res 2010;38:21-27.
90. Marickar YM, Salim A (2009). Photmicrography of urinary deposits in stone clinic. Urol Res. 2009;37:359-368.
91. Fazil-Marickar YM, Lekshmi PR, VarmaL ,et al (2009). Elemental distribution analysis of urinary crystals. Urol Res 2009;37:277-282.
92. Daudon M, Jungers P, Lacour B (2004). Clinical value of crystalluria study. Ann Biol Clin 2004;62:379-393.
93. Gruppo di Studio Multidisciplinare per la Calcolosi Renale (2010) -Percorso diagnostico- terapeutico per il paziente con calcolosi urinaria – Giornale Italiano di Nefrologia Anno 27; N.3,2010, p.282-289.
94. Scoffone C, Zattoni F. Linee Guida 2009 Comitato SIU (Società Italiana di Urologia) Linee Guida.
95. Linee Guida per la Calcolosi delle vie urinarie 2007. AURO.it (Associazione Urologi Ospedalieri Italiani).
96. Goldfarb DS, Arowojolu O (2013). Metabolic evaluation of first-time and recurrent stone formers. Urol Clin North Am 2013;40:13-20.
97. Bottini PV, Martinez MH, Garlipp CR (2014). Urinalysis: comparison between microscopic analysis and a new automated microscopy image-based urine sediment instrument. Clin Lab 2014;60:693-697.
98. Ma J, Wang C, Yue J, et al (2013). Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. Clin Lab 2013;59:1297-1303.
99. Yüksel H, Kiliç E, Ekinci A, et al (2013). Comparison of fully automated urine sediment analyzers H800-FUS100 and LabUMat-UriSed with manual microscopy. J Clin Lab Anal 2013;27:312-316.
100. Martinez MH, Bottini PV, Levy CE, et al (2013). UriSed as a screening tool for presumptive diagnosis of urinary tract infection. Clin Chim Acta 2013;21;425:77-79.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

101. Boven LA, Kemperman H, Demir A (2012). A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. Clin Chem Lab Med 2012;50:751-753
102. Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, et al (2010). Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX - a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clin Chim Acta 2010;411:147-154.
103. Budak YU, Huysal K (2011). Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab 2011;57:47-52.
104. Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z, et al (2009). Comparison of LabUMat-with-UriSed and iQ200 fully automatic urine sediment analysers with manual urine analysis. BiotechnolApplBiochem 2009;53:139-144.
105. Park J, Kim J (2008). Evaluation of iQ200 automated urine microscopy analyzer. Korean J Lab Med 2008;28:267-273.
106. Mayo S, Acevedo D, Quiñones-Torrelo C, et al (2008). Clinical laboratory automated urinalysis: comparison among automated microscopy, flow cytometry, two test strips analyzers, and manual microscopic examination of the urine sediments. J Clin Lab Anal 2008;22:262-270.
107. Chien TI, Kao JT, Liu HL, et al (2007). Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy. Clin Chim Acta 2007;384:28-34.
108. Linko S, Kouri TT, Toivonen E, et al (2006). Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. Clin Chim Acta 2006;372:54-64.
109. Du J, Xu J, Wang F, et al (2015). Establishment and development of the personalized criteria for microscopic review following multiple automated routine urinalysis systems. Clin Chim Acta 2015;444:221-228.
110. Xiang D, Cong Y, Wang C, et al (2012). Development of microscopic review criteria by comparison urine flow cytometer, strip and manual microscopic examination. Clin Lab 2012;58:979-985.
111. Fabbro C, Darolles J, Rault JP (2011). Evaluation of the performances of the UF-1000i automated urine analyzer. Ann Biol Clin 2011;69:431-439.
112. Budak YU, Huysal K (2011). Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab 2011;57:47-52.
113. Kadkhoda K, Manickam K, Degagne P, et al (2011). UF-1000i flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. DiagnMicrobiol Infect Dis 2011;69:130-136.
114. Jiang T, Chen P, Ouyang J, et al (2011). Urine particles analysis: performance evaluation of Sysmex UF-1000i and comparison among urine flow cytometer, dipstick, and visual microscopic examination. Scand J Clin Lab Invest. 2011;71:30-37.
115. Manoni F, Tinello A, Fornasiero L, et al (2010). Urine particle evaluation: a comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy. Clin Chem Lab Med 2010;48:1107-1111.
116. National Health Service (2010). Evidence Review. Automated Urine Screening Systems. CAO 10030 March 2010.
117. Westgard JO, Westgard SA. (2016) Quality control review: implementing a scientifically based quality control system. Ann Clin Biochem 2016;53:32-50.
118. Harel O, Schisterman EF, Vexler A, et al (2008). Monitoring quality control: can we get better data? Epidemiology 2008;19:621-627.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

119. Westgard JO (2004). Design of internal quality control for reference value studies. Clin Chem Lab Med 2004;42:863-867.
120. Westgard JO (2003). Internal quality control: planning and implementation strategies. Ann Clin Biochem 2003;40:593-611.
121. Westgard JO (1999). The need for a system of quality standards for modern quality management. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:483-486.
122. Ottomano C, Ceriotti F, Galeazzi M, et al (2008). Linee guida per la gestione dei programmi di Controllo di Qualità Interno. Biochimica Clinica 2008;32:102-121.
123. Bland JM, Altman DG (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986:327:307-310.
124. Ceriotti F, Secchiero S, Sciacovelli L, et al (2011). Linee guida per la gestione dei Programmi di Valutazione Esterna di Qualità. Biochimica Clinica 2011;35:107-126.
125. Sciacovelli L, Secchiero S, Zardo L, et al (2010). The role of External Quality Assessment. BiochemiaMedica 2010;2:160-164.
126. Secchiero S, Sciacovelli L, Faggian A, et al(2013) . Gli strumenti di assicurazione della Qualità in Medicina di Laboratorio: i Programmi di VEQ e gli Indicatori di Qualità del Centro di Ricerca Biomedica. Ligand Assay 2013;18,2:41-53.
127. Kouri T, Laippala P, Kutter D, et al (1999). Quality specifications for ordinal scale measurements with multiproperty (multiple) urine test strips. Scand J Clin Lab Invest 1999;59:523-526.
128. Schürer-Maly C, Wood WG, Falbo R, et al(2013). An educational web-based external quality assessment outcome and evaluation: first experiences with urinary sediment and hemostaseology. Clin Lab 2013;59:1061-1069.
129. Wood WG, Schwarz P, Illigen D, et al (2013). Experience with an alternative form of samples for external quality assessment of urinary sediment (visual sample EQA). Clin Lab 2013;59:875-883.
130. Fogazzi GB, Secchiero S, Consonni D, et al (2010). An Italian external quality assessment (EQA) program on urinary sediment. Clin Chim Acta 2010;411:859-867.
131. Secchiero S, Fogazzi GB. (2009) Quality control programs for urinary sediment (Capitolo 8) In: The Urinary Sediment. An integrated view. Third Edition. Ed.Masson Spa, Milano, 2009: 233-45.
132. Fogazzi GB, Secchiero S, Garigali G, et al (2014). Evaluation of Clinical cases in an Italian External Quality Assessment Scheme (EQAS) for the urinary sediment. Clin Clem Lab Med 2014;52,6:845-852.
133. Secchiero S, Fogazzi GB, Manoni F, et a.l et al (2015) The Italian External Quality Assessment (EQA) program: results of the period 2012-2015. Clin Clem Lab Med 2015;53(Suppl):S1495-1502..
134. Manoni F, Caleffi A, Gessoni G, et al (2011). L'esame chimico, morfologico e colturale delle urine: proposta di linee guida per una procedura standardizzata della fase pre analitica. Riv Ital Med Lab 2011;7:25-35.
135. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG, et al (2014). Gender's equality in evaluation of urine particles: Results of a multicenter study of the Italian Urinalysis Group. Clin Chim Acta 2014;427:1-5.
136. Manoni F, Gessoni G, Caleffi A, et al (2013). Pediatric reference values for urine particles quantification by using automated flow cytometer: results of a multicenter study of Italian urinalysis group. ClinBiochem 2013;46:1820-1824.
137. Shayanfar N, Tobler U, von Eckardstein A, et al. (2007) Automated urinalysis: first experiences and a comparison between the Iris iQ200 urine microscopysystem, the

Formatted: Italian (Italy)
Formatted: Italian (Italy)
Formatted: English (United States)
Formatted: Italian (Italy)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)
Formatted: English (United States)

Sysmex UF-100 flow cytometer and manual microscopic particle counting. Clin Chem Lab Med 2007;45:1251-1256.

138. Graziani MS, Gambaro G, Mantovani L, et al (2009). Diagnostic accuracy of a reagent strip for assessing urinary albumin excretion in the general population. Nephrol Dial Transplant 2009;24:1490-1494.
139. Camporese A (2014). L'evoluzione della citofluorimetria urinaria in microbiologia, da metodo di screening a insostituibile strumento per la validazione clinica dell'esame delle urine. RivItalMed Lab 2014;10:242-246.
140. Caleffi A, Manoni F, Alessio MG, et al (2010). Quality in extra analytical phases of urinalysis. Biochemia Medica 2010;20:179-183.

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Formatted: English (United States)

Il Gruppo Intersocietario (SIPMeL, SIBioC, SIN) Analisi delle Urine è formato da: MG. Alessio (Bergamo), R. Anderlini (Modena), I. Bountis (Monselice), G. Brunori (Trento), A. Caleffi (Parma), D. Coseddu (Torino), B. Creanza (Gravina di Puglia), N. Di Pace Nunzia (Gravina di Puglia), G. Di Rienzo (Gravina di Puglia), MG. Epifani (Padova), GB. Fogazzi (Milano), G. Gambaro (Roma), G. Gessoni (Chioggia), L. Gesualdo (Bari), M. Guida (Gravina di Puglia), A. Liverani (Monselice) F. Manoni (Monselice), C. Ottomano (Monza), M. Parimbelli (Bergamo), A. Perego (Monselice), B. Pieretti (Fano), D. Poz (S. Daniele), G. Saccani (Bussolengo), M. Schinella (Rovereto), S. Secchiero (Padova), F. Sirianni (Palmanova), B. Talento (Nocera Inferiore), S. Valverde (Chioggia), D. Vannoni (Siena), M. Vizzini (Rovereto), T. Zorzan (Monselice).

Monselice 09/02/2016

Al Presidente della Societa Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio

Dott. Bruno Biasioli

Trasmetto, allegato alla presente, il testo di un nostro manoscritto intitolato:

"ESAME FISICO, CHIMICO E MORFOLOGICO DELLE URINE PROPOSTA DI LINEE GUIDA PER LA FASE ANALITICA DEL GRUPPO INTERSOCIETARIO ANALISI DELLE URINE (GIAU)".

Perchè venga discusso sul sito della società, approvato dal consiglio nazionale e valutato per la pubblicazione nella Rivista Italiana di Medicina di Laboratorio.

Lo stesso iter viene seguito presso le altre società scientifiche SIBioC e SIN.

Tale manoscritto è stato steso dagli autori sottonotati:
Fabio MANONI[1], Gianluca GESSONI[2], Giovani Battista FOGAZZI[3], Maria Grazia ALESSIO[4], Alberta CALEFFI[5], Giovanni GAMBARO[6], Maria Grazia EPIFANI[7], Barbara PIERETTI[8], Angelo PEREGO[9], Cosimo OTTOMANO[10], Graziella SACCANI[11], Sara VALVERDE[2], Sandra SECCHIERO[7]; per il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine.

Che dichiarano le seguenti affiliazioni

1. Dipartimento dei Servizi di Diagnosi e Cura Ospedali Riuniti Padova Sud “Madre Teresa di Calcutta” Monselice PD.
2. Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Madonna della Navicella, Chioggia VE
3. Laboratorio Clinico e di Ricerca sul Sedimento Urinario U.O. Di Nefrologia e Dialisi Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano.
4. Laboratorio Analisi Chimico Cliniche. ASST Papa Giovanni XXIII Piazza OMS Bergamo.
5. U.O Diagnostica Ematochimica, Dipartimento Diagnostico, Azienda Ospedaliero-Universitaria Parma.
6. Divisione di Nefrologia e Dialisi Ospedale Universitario Colombo - Gemelli, Università Cattolica Roma.
7. Servizio di Medicina di Laboratorio Azienda Ospedaliera-Universitaria Padova
8. Laboratorio Analisi Ospedale S. Croce Fano PU
9. Divisione di Nefrologia e Dialisi Ospedali Riuniti Padova Sud “Madre Teresa di Calcutta” Monselice PD.
10. Centro Analisi Monza.
11. Servizio di Medicina di Laboratorio Ospedale Orlandi Bussolengo VR

Gli autori negano Conflitti di Interesse e dichiarano che per la raccolta dei dati necessari alla stesura del lavoro non sono stati utilizzati studi su animali o dati relativi a pazienti.

L’esame delle urine è l’esame routinario a maggiore complessità organizzativa e metodologica: raccolta, trasporto, fase pre-analitica, fase analitica con parametri fisici, chimici e corpuscolati, eseguita di norma su più strumenti dove aspetti organizzativi e competenze professionali elevate si fondono per fornire un profilo in grado di esprimere indicatori di lesione e di funzione del rene e delle vie urinarie.
Un’efficace strategia diagnostica si basa su una richiesta appropriata e procedure standardizzate di raccolta, trasporto ed analisi; questi presupposti permettono di avere degli intervalli di riferimento e dei livelli decisionali adeguati alle necessità cliniche.
La standardizzazione procedurale permette di armonizzare l’interpretazione dei risultati nelle diverse applicazioni cliniche ed epidemiologiche rendendo comparabili esiti di laboratori diversi.
Il crescente rilievo socio-sanitario delle patologie renali e dell’apparato urinario pone l’accento sulla necessità di dare all’approccio analitico quella solidità metodologica che permetta,nelle patologie acute,di fare diagnosi tempestivamente e nelle patologie croniche, di valutare nel tempo il reale andamento della malattia.
Per ottenere questi risultati è necessario ridurre al minimo le numerose fonti di variabilità e di errore con un approccio standardizzato e condiviso sulle evidenze e su base scientifico esperenziale.
Le EUG del 2000 e le CLSI GP 16-A3 del 2009 sono le ultime LG che sono state prodotte rispettivamente in Europa e negli USA sull’esame delle urine e mancavano di quegli elementi di innovazione strumentale che hanno contraddistinto questi ultimi anni e che hanno modificato sostanzialmente il modo di esaminare il campione urinario.
Inoltre il ricorso sempre maggiore ad accorpamenti di strutture di laboratorio ha creato nuove esigenze analitiche che si traducono in un aumento della pressione ad eseguire in tempi ridotti serie analitiche cospique.
A questo si somma la necessità di calare le Linee Guida nella realtà sanitaria italiana.
Queste Linee Guida sono rivolte a tutti gli operatori che eseguono l’esame delle urine: in piccoli o grandi laboratori a carattere generale o specialistico ma anche nei point of care.
Il documento è basato sul lavoro del Gruppo Intersocietario Analisi Urine(GIAU) costituito da componenti di Società scientifiche di Medicina di Laboratorio (SIBioC, SIPMeL) e della Società italiana di Nefrologia.
Gli obiettivi che le linee Guida della fase analica dell’esame delle Urine si prefiggono sono sintetizzate nei seguenti punti:

- Migliorare e standardizzare l'approccio analitico all'ECMU
- Sottolineare il valore aggiunto delle nuove tecnologie
- Ricondurre ai soli elementi utili i parametri misurati e proposti alla refertazione.
- Migliorare l'analisi chimica delle urine; in particolare, il dosaggio dell’albumina
- Ribadire l’importanza delle competenze professionali
- Condividere la necessità di disporre delle basilari dotazioni tecnologiche
- Adeguare la programmazione per la verifica della qualità analitica
- Esprimere in termini quantitativi i risultati sia per i parametri fisico chimici sia per gli elementi corpuscolati.
- Approfondire le incongruenze analitiche tra parametri chimici e corpuscolati.
- Stimolare l’industria a migliorare i sistemi diagnostici per aderire in modo ottimale alle attuali esigenze diagnostiche e terapeutiche.

Il testo delle presenti LG che segue di cinque anni la pubblicazione delle LG della fase pre-analitica, viene sottoposto ai direttivi delle tre società scientifiche per l'approvazione e per il successivo iter di discussione prima dell'eventuale pubblicazione sulle riviste ufficiali per la massima diffusione agli operatori sanitari a cui è indirizzata.

Nella speranza che il manoscritto possa essere considerato idoneo per la pubblicazione si porgono
Cordiali saluti

Dott. Fabio Manoni MD

TABELLA I: PRINCIPALI ALTERAZIONI DEL COLORE DELLE URINE E LORO POSSIBILI CAUSE

Colore	Patologia	Farmaci	Alimenti
ROSSO	Ematuria Porfirinuria Mononucleosi Emoglobinuria Mioglobinuria	Cascara Desferroxamina Doxorubicina Levodopa Fenotiazine Fenitoina Rifampicina Senna (urine alcaline) Epirubucina Sulfametossazolo Ibuprofene	Barbabietole More Rabarbaro
ARANCIONE	Disidratazione	Warfarin Rifampicina Sulfasalanzina (urine alcaline) Fluorescina	Peperoncino Rabarbaro
VERDE-BLU	Ittero (verdi) Tifo Infezioni urinarie da Pseudomonas (verdi) Blue diaper sindrome	Amitriptilina Indometacina Blu di metilene Triamterene	
MARRONE	Alkaptonuria Tirosinosi Porfirinuria Ittero	Cascara Ferro Levodopa Metronidazolo Metildopa Nitrofurantoina Fenotiazine Fenitoina Chinino Senna (urine alcaline)	
NERO	Black water fever (febbre emoglobinurica in corso di alcune malattie infettive quali malaria, dengue, coinfezione acuta da HBV + HDV) Melanoma maligno	Cascara Ferro Metildopa Chinino	
VIOLA	Porfirinuria Sindrome da catetere vescicale (Purple urine bag syndrome)	Senna	

TABELLA II: VALUTAZIONE COMPARATIVA DELLA SENSIBILITA' ANALITICA DI ALCUNE STRISCE REATTIVE DEL COMMERCIO PER ALBUMINA, GLUCOSIO, EMAZIE/EMOGLOBINA, ESTERASI, NITRITI E CHETONI

	Albumina	**Glucosio**	**Emazie Emoglobina**	**Esterasi**	**Nitriti**	**Chetoni**
AimStick	15 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/μL 0.3 mg/dL	5 WBC/μL	0.09 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 48 mg/dL
AutionSticks	15 mg/dL	50 mg/dL	20 RBC/μL 0.06 mg/dL	5 WBC/μL	0.09 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Chemistrip	6 mg/dL	40 mg/dL	5 RBC/μL -	20 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 9 mg/dL Ac 70 mg/dL
CombiScreen plus	15 mg/dL	40 mg/dL	5 RBC/μL -	10 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 50 mg/dL
DiaScreen	5 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/μL 0.02 mg/dL	20 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Dirui Serie H	15 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/μL -	5 WBC/μL		Ad 0.5 mmol/LL -
MediTest C9	30 mg/dL	50 mg/dL	10 RBC/μL -	-	0.05 mg/dL	- -
Mission	18 mg/dL	25 mg/dL	- 0.018 mg/dL	9 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 2.5 mg/dL -
Multistix	15 mg/dL	75 mg/dL	5 RBC/μL 0.015 mg/dL	5 WBC/μL	0.06 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Self Stick	5 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/μL -	-	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 100 mg/dL
Uriflet S2	5 mg/dL	10 mg/dL	10 RBC/μL 0.03 mg/dL	20 WBC/μL	0.08 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Uriscan	10 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/μL 0.015 mg/dL	2 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 70 mg/dL
Uritest 13G	10 mg/dL	40 mg/dL	- 0.3 mg/dL	15 WBC/μL	0.06 mg/dL	Ad 0.5 mmol/L

Uro-Dip 10C	-	100 mg/dL	- 0.05 mg/dL	-	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 100 mg/dL
Uropaper alfa 3-9L	15 mg/dL	50 mg/dL	10 RBC/μL 0.3 mg/dL	25 WBC/μL	0.1 mg/dL	Ad 10 mg/dL -
URS	15 mg/dL	100 mg/dL	5 RBC/μL 0.3 mg/dL	10 WBC/μL	0.075 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
vChem	15 mg/dL	45 mg/dL	5 RBC/μL 0.2 mg/dL	20 WBC/μL	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 48 mg/dL

Modificata Da Graff' Textbook of Urinalysis and body Fluids II eds. Mundt L, Shanan K. Lippicot Williamds and Wilkins 2010 [32]

TABELLA III: PRINCIPALI INTERFERENTI CON I DIP-STIK

Parametro	Metodo / Sensibilità	Specificità / Interferenze
Densità Relativa	Reattivo polielettrolitico ed indicatore di pH Da 1010 a 1030	Solo soluti ionici Interferenza in riduzione: pH alcalino, Glucosio ed Urea >1 g/L Interferenza in aumento: Proteine 500 mg/dL, Chetoacidosi
pH	Due indicatori di pH Da 5.0 a 9.0 incrementi di 0.5 unità	Interferenza in riduzione: Formaldeide
Sangue / Emoglobina	Attività pseudoperossidasica Da 0.02 a 0.06 mg/dL Da 5 a 10 RBC/uL	**Falsi positivi:** Perossidasi batteriche**,** Agenti ossidanti**,** Acido cloridrico **Falsi negativi:** Ascorbato**,** Alta densità relativa**,** Agenti riducenti**,** Formalina**,** Nitriti**,** Farmaci
Esterasi leucocitaria	Attività Indoxil esterasica 5-25 WBC/uL	Presente solo nei granulociti **Falsi positivi:** Urine ipercromiche**,** Formalina**,** Farmaci**,** Sodio azide**,** Detergenti **Falsi negativi:** Ascorbato**,** Borato**,** Glucosio >3g/dL**,** Proteine >05g/dL**,** Elevata densità relativa**,** Agenti ossidanti**,** Saponi e detergenti**,** Farmaci
Nitriti	Reazione di Greiss 0.05 mg/dL	**Falsi positivi:** Urine ipercromiche**,** Farmaci**,** Malconservazione campione **Falsi negativi:** Batteri non formanti nitriti**,** Dieta povera in nitrati**,** Urine che non hanno soggiornato in vescica **,** Ascorbato
Proteine	Legame non specifico ad un indicatore Sensibili alla albumina 6-15 mg/dL	**Falsi negativi:** Presenza di globuline**,** Urine ipercromiche **Falsi positivi:** Urine fortemente alcaline**,** Urine ipercromiche**,** Farmaci, Ammonio quaternario**,** Plasma expander
Glucosio	Glucosio ossidasi perossidasi 40 mg/dl	Metodo specifico per il glucosio ma interferenze da bassa temperatura e/o elevata densità relativa **Falsi positivi:** Agenti ossidanti**,** Perossidi**,** Acido cloridrico **Falsi negativi:** Ascorbato**,** Malconservazione
Chetoni	Reazione al nitroprussiato 5-10 mg/dL per aceto acetato 50-70 mg/dL per acetone	Non evidenzia l'acido idrossi butirrico **Falsi positivi:** Gruppi sulfidrilici liberi (N-acetil cisteina)**,** Urine ipercromiche**,** Metaboliti del levodopa**,** Fenolftaleina **Falsi negativi:** Malconservazione
Bilirubina	Azoreazione con sali di diazonio 0.4-0.8 mg/dL bilirubina coniugata	**Falsi positivi:** Urine ipercromiche**,** Cloropromazina **Falsi negativi:** Ascorbato**,** Nitriti**,** Malconservazione**,** Luce solare diretta
Urobilinogeno	Azoreazione con aldeide di Erlich 0.2 – 1.0 mg/dL	**Falsi positivi:** Urine ipercromiche**, S**ulfonamidi, Acido para aminosalilico **Falsi negativi:** Formalina**,** Agenti ossidanti**,** Malconservazione
Ascorbato	Riduzione dell'indolo 20 mg/dL	**Falsi positivi:** Gruppi sulfidrilici liberi (N-acetil cisteina)**,** Agenti riducenti
Creatinina	Reazione ossidativa con complessi di rame	**Falsi negativi:** EDTA **Falsi positivi:** Emoglobina, mioglobina

TABELLA IV: TECNICHE DI VISIONE MICROSCOPICA PER IDENTIFICARE E QUANTIFICARE GLI ELEMENTI PARTICOLATI DELLE URINE.

1. Metodi Rapidi: Microscopia estemporanea del campione nativo (livello 1)
2. Metodi di Routine: Esame microscopico standardizzato del sedimento (livello 2)
3. Metodi di Comparazione: Conta degli elementi corpuscolati delle urine in camera citometrica effettuata su campione non centrifugato. Valutazione della flora batterica dopo centrifugazione fissazione e colorazione secondo Gram. (livello III)
4. Metodo di Riferimento: Conta di WBCm RBC, cellule epiteliali e cilindri in camera citologia secondo raccomandazione ISLH (livello IV)

Modificata da Kuori T, Gyory A, Rowan M. ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. Lab Hematol 2003;9:58-63 [10].

TABELLA V: ELEMENTI CORPUSCOLATI NELLE URINE E PRINCIPALI ASSOCIAZIONI CLINICHE

ELEMENTI PRINCIPALI	PRINCIPALI ASSOCIAZIONI CLINICHE
Eritrociti dismorfici e acantociti	Ematuria glomerulare
Eritrociti isomorfi	Ematuria non glomerulare
Leucociti polimorfonucleati	Infezioni urinarie Glomerulonefriti proliferative Nefriti interstiziali acute Contaminazione da secrezioni genitali
Cellule epiteliali renali tubulari	Patologie renali associate a danno tubulare organico (=necrosi tubulare acuta), quali si possono osservare nelle nefropatie tubulotossiche, ischemiche, glomerulonefriti, nefriti intersitiziali ecc.
Cellule transizionali superficiali	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (strati cellulari superficiali)
Cellule transizionali profonde	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (strati cellulari profondi)
Cellule squamose	Contaminazione da secrezioni genitali
Lipidi	Patologie glomerulari associate a proteinuria di grado variabile, ma soprattutto di entità nefrosica. Malattia di Fabry (da accumulo lisosomiale di glicosfingolipidi)
Cilindri jalini	Possono essere presenti in piccolo numero negli individui normali. Possono essere presenti in svariate tipologia di patologia renale.
Cilindri jalino-granulosi	Possono essere presenti in piccolo numero negli individui normali. Possono essere presenti in svariate tipologia di patologia renale
Clindri granulosi	Possono essere presenti in svariate tipologia di patologia renale Necrosi tubulare acuta
Cilindri cereei	Patologia renale con significativa perdita di funzione
Cilindri lipidici	Sindrome nefrosica

Cilindri eritrocitari	Ematuria glomerulare Glomerulonefrite proliferativa o necrotizzante
Cilindri leucocitari	Nefrite interstiziale acuta Pielonefrite acuta Glomerulonefrite proliferativa
Cilindri cellulari / epiteliali (cellule epiteliali tubulari)	Necrosi tubulare acuta Nefrite interstiziale acuta Sindrome nefrosica
Cilindri emoglobinici	Ematuria glomerulare Glomerulonefrite proliferativa o necrotizzante Emolisi acuta intravascolare
Cilindri mioglobinici	Rabdomiolisi
Cilindri bilirubinici	Ittero marcato
Cilindri con inclusi batterici o micotici	Infezioni batteriche o micotiche del rene
Cilindri con inclusioni cristalline	Insufficienza renale acuta da cristalluria massiva
Cilindri a composizione mista	

Modificata Da Graff' Textbook of Urinalysis and body Fluids II eds. Mundt L, Shanan K. Lippicot Williamds and Wilkins 2010 [32]
Modificata Da Fogazzi GB e Garigali G Urinalysis. In Johnson R, Feehally J, Floege J Comprehensive Clinical Nephrology 5th edition pp 39-52. Elsevier 2015[76]

TABELLA VI: CLASSIFICAZIONE DELLE PRINCIPALI CAUSE DI EMATURIA

Cause Urologiche	**Cause non Urologiche**	**Falsa Ematuria**
Cistite emorragica	Nefrite interstiziale acuta	Colorazione da Farmaci
Calcolosi	Da anticoagulanti	Colorazione da Alimenti
Neoplasie delle vie urinarie	Glomerulopatie	Mioglobinuria
Neoplasie della prostata		Porfirie
Traumatismi		Emoglobinuria
Ematuria da sforzo fisico intenso		
Fistole artero-venose renali		
Rottura cisti renali		
Manovre diagnostiche invasive		
Endometriosi delle vie urinarie		

TABELLA VII: COMPETENZE MORFOLOGICHE INDISPENSABILI PER IL SECONDO LIVELLO DIAGNOSTICO

- Corretta identificazione di Leucociti,
- Corretta identificazione degli Eritrociti,
- Corretta identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione tra Cellule Squamose e non squamose
- Corretta identificazione dei Cilindri e differenziazione tra Cilindri Jalini e non Jalini
- Identificazione di Batteri, Lieviti, Protozoi, uova di parassiti
- Identificazione dei Cristalli più comuni e/o caratteristici: Urati, Ossalati, Fosfato, Fosfato triplo, Cistina
- Identificazione dei principali contaminanti: nemaspermi, peli, artefatti, fibre, amido, materiale fecale.

TABELLA VIII: COMPETENZE MORFOLOGICHE INDISPENSABILI PER IL TERZO LIVELLO DIAGNOSTICO

- Identificazione dei leucociti: differenziazione tra granulociti, linfociti, macrofagi
- Identificazione degli eritrociti, connotando l'eventuale dismorfismo
- Identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione oltre che tra cellule squamose e non squamose, di cellule transizionali (superficiali e profonde) e cellule tubulari .
- Identificazione delle varie tipologie di cilindri: jalini, granulosi, leucocitari, eritrocitari, epiteliali, cerei, lipidici, pigmentati (bilirubinici, mioglobinici, emoglobinici)
- Morfologia dei batteri presenti: cocchi, bastoncelli etc, morfologia dei miceti: lieviti, ife etc., identificazione di protozoi, parassiti e loro uova
- Identificazione dei cristalli seguenti: ossalati, urati, fosfato, triplo fosfato, colesterolo, farmaci, cistina, leucina
- Identificazione dei principali contaminanti endogeni: nemaspermi, materiale fecale , ed esogeni : peli, fibre vegetali, tessili, pollini, amido, polveri aspersorie, materiale plastico, vetroso, cartaceo.
- Corretta identificazione dei lipidi: gocce, corpi ovali grassi.
- Identificazione presuntiva di cellule patologiche ad es. cellule di origine vaginale, cellule neoplastiche, enterociti etc.

Manuscript

Click here to download Manuscript Manoni F. LG GIAU Testo SIPMEL Rev01_rev.docx

Click here to view linked References

Esame fisico, chimico e morfologico delle urine: proposta di linee guida per la fase analitica del Gruppo Intersocietario Analisi felle Urine (GIAU)

Physical, chemical and morphological urine examination guidelines for the analytical phase from the Intersociety Urinalysis Group

Fabio Manoni[1], Gianluca Gessoni[2], Giovani Battista Fogazzi[3], Maria Grazia Alessio[4], Alberta Caleffi[5], Giovanni Gambaro[6], Maria Grazia Epifani[7], Barbara Pieretti[8], Angelo Perego[9], Cosimo Ottomano[10], Graziella Saccani[11], Sara Valverde[2], Sandra Secchiero[7]; per il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine

[1]Dipartimento dei Servizi di Diagnosi e Cura, Ospedali Riuniti Padova Sud "Madre Teresa di Calcutta", Monselice (PD), Italia
[2]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Madonna della Navicella, Chioggia (VE), Italia
[3]Laboratorio Clinico e di Ricerca sul Sedimento Urinario, UO di Nefrologia e Dialisi, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italia
[4]Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italia
[5]UO Diagnostica Ematochimica, Dipartimento Diagnostico, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Parma, Italia
[6]Divisione di Nefrologia e Dialisi, Fondazione Policlinico A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia
[7]Centro di Ricerca Biomedica, UOC Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera-Università, Padova, Italia
[8]Laboratorio Analisi, Ospedale S. Croce, Fano (PU), Italia
[9]Divisione di Nefrologia e Dialisi, Ospedali Riuniti Padova Sud "Madre Teresa di Calcutta", Monselice (PD), Italia
[10]Centro Analisi, Monza, Italia
[11]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Orlandi, Bussolengo (VR), Italia

Franco Manoni ( )
E-mail: fabio.manoni@ulss17.it

Riassunto Mediante queste linee guida (LG) il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine (GIAU) mira a stimolare i seguenti aspetti:

• miglioramento e standardizzazione dell'approccio analitico all'esame chimico-fisico e morfologico delle urine (ECMU);
• sottolineare il valore aggiunto all'ECMU dall'introduzione di analizzatori automatizzati per lo studio della morfologia delle frazione corpuscolata delle urine;
• miglioramento dell'analisi chimica delle urine, con particolare riguardo al riesame del significato diagnostico dei parametri tradizionalmente valutati nell'analisi mediante dip-stick insieme con una crescente consapevolezza dei limiti di sensibilità e specificità di questo metodo analitico;
• aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria e dell'importanza dell'interazione con i clinici;
• implementare una politica di valutazione della qualità analitica utilizzando, oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni, un programma per la valutazione della competenza morfologica;
• stimolare l'industria diagnostica del settore a concentrare gli sforzi sulla ricerca e sullo sviluppo di metodologie strumentali sempre più idonee alle esigenze di diagnosi clinica.

La speranza è rivalutare l'enorme potenziale diagnostico dell'ECMU, attraverso l'esecuzione di un esame delle urine personalizzato in base alle esigenze diagnostiche di ogni paziente.

Parole chiave Fase analitica · Linee guida · Analisi delle urine

Summary With these guidelines the Intersociety Urinalysis Group (GIAU) aims to stimulate the following aspects:

• improvement and standardization of the analytical approach to physical, chemical and morphological urine examination (ECMU);

• emphasize the value added to ECMU by automated analyzers for the study of the morphology of the corpuscular fraction urine;

• improvement of the chemical analysis of urine with particular regard to the reconsideration of the diagnostic significance of the parameters that are traditionally evaluated in dip-stick analysis together with an increasing awareness of the limits of sensitivity and specificity of this analytical method;

• increase the awareness of the importance of professional skills in the field of urinary morphology and their relationships with the clinicians;

• implement a policy of evaluation of the analytical quality by using, in addition to traditional internal and external controls, a program for the evaluation of morphological competence;

• stimulate the diagnostics industry to focus research efforts and development methodology and instrumental catering to the needs clinical diagnosis.

The hope is to revalue the enormous potential diagnostic of ECMU, implementing a urinalysis on personalized diagnostic needs that each patient brings with it.

Key words Analytical Phase · Guidelines · Urinalysis

Definizione di linea guida

Le linee guida (LG) possono essere definite come “raccomandazioni di comportamento clinico, elaborate mediante un processo di revisione sistematica della letteratura e delle opinioni di esperti, con lo scopo di aiutare i medici a decidere le modalità assistenziali più appropriate in specifiche situazioni cliniche” [1].

La definizione di LG sopra riportata segna inoltre la differenza tra LG e altri strumenti. I cosiddetti “protocolli”, per esempio, sono schemi di comportamento predefiniti e vincolanti utilizzati nel corso di sperimentazioni. Si dicono invece “profili di cura” o “percorsi diagnostico-terapeutici” i risultati degli adattamenti delle LG alle situazioni locali, con le loro specifiche caratteristiche organizzative e gestionali [2].

Le LG nascono quindi per rispondere a un obiettivo fondamentale: assicurare il massimo grado di appropriatezza degli interventi, riducendo al minimo quella parte di variabilità nelle decisioni cliniche che è legata alla carenza di conoscenze e alla soggettività nella definizione delle strategie assistenziali [3].

Metodologia per il reperimento delle fonti

Queste LG sono state sviluppate da un gruppo di professionisti di Medicina di Laboratorio e di Nefrologia componenti il GIAU (Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine). Si tratta quindi di un gruppo di professionisti impegnati a rivalutare l’esame delle urine per l’importanza che questo riveste nella diagnosi precoce delle alterazioni dell’apparato urinario. In particolare, in queste LG sono state affrontate le problematiche relative alla fase analitica dell’ECMU (esame chimico-fisico e morfologico delle urine). Sono stati identificati gli aspetti relativi alla fase analitica dell’esame delle urine e, sulla base di una revisione sistematica della letteratura, sono state sviluppate le relative raccomandazioni.

Strategia di ricerca delle prove di efficacia

La LG si basa su una revisione sistematica della letteratura, volta alla ricerca di prove di efficacia per fornire risposte ai quesiti individuati dal gruppo di lavoro. Il processo di ricerca delle prove di efficacia ha seguito una strategia di selezione gerarchica, secondo il principio di saturazione teoretica [4, 5]: è iniziata cioè con la ricerca di LG (studi terziari) pubblicate su questo argomento, selezionate sulla base di criteri di qualità, come indicato dalla metodologia AGREE (*Appraisal of Guidelines for Research & Evaluation*) [6]. La ricerca ha condotto all’identificazione delle seguenti LG, che sono state utilizzate come riferimento nella stesura di questo documento:

- ECLM (*European Confederation of Laboratory Medicine*), European Urinalysis Guidelines (2000) The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 60:1-96(Suppl 231) [7];
- CLSI GP-16 A3 Urinalysis and Collection, transportation, and Preservation of Urine Specimens (2009) Approved Guideline – Third Edition 29:4-21 [8];
- SIGN, Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A National Clinical Guideline. Edinburgh (Scotland), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). SIGN publication, July 2006, n. 88 [9];
- Kuori T, Gyory A, Rowan M (2003) ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. Lab Hematol 9:58-63 [10];
- LG Regione Emilia Romagna. Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Dossier 190-2010 [11];
- British Columbia Health Service Guidelines for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. Maggio 2005 [12].

La ricerca è poi proseguita con l'identificazione di studi primari e secondari. Questa ulteriore fase si è resa necessaria sia perché le LG facevano riferimento a una bibliografia non aggiornata, sia perché alcune delle problematiche identificate dal gruppo di lavoro, per esempio quelle relative all'automazione della valutazione della frazione corpuscolata, non erano state debitamente affrontate e dibattute nelle LG in esame.

Gli studi primari e secondari sono stati selezionati e inclusi partendo da quelli di livello superiore (revisioni sistematiche) e interrompendo la selezione al livello gerarchico più elevato al quale è stata identificata una prova di efficacia rilevante. In altri termini, sono stati inizialmente consultati la *Cochrane Library* e la *ClinicalEvidence*. Per gli argomenti ai quali questi strumenti non hanno fornito risposta o nel caso in cui il dato fornito non fosse recente, la ricerca è proseguita in *PubMed-Medline*, dando priorità agli studi controllati randomizzati (RCT). In assenza di RCT si è proseguito con l'inclusione di studi di livello progressivamente più basso (studi controllati non randomizzati, studi osservazionali controllati, studi osservazionali non controllati, opinione di esperti). In questo modo si è riusciti a fornire le risposte ai quesiti utilizzando il più elevato livello di prova di efficacia disponibile.

Livello delle prove di efficacia

Nell'attribuzione del livello delle prove di efficacia e del grado delle raccomandazioni, si è fatto riferimento ai principi adottati dal gruppo di lavoro del GRADE (*Grades of*

Recommendation Assessment, Development and Evaluation) [13]: le raccomandazioni vengono distinte in forti o deboli sulla base di criteri espliciti e condivisi. Rispetto agli altri sistemi, l'aspetto caratterizzante del GRADE è che non si tratta di un metodo di valutazione automatica. In particolare, in questa LG è stata utilizzata una versione semplificata del GRADE, adottata a partire dal 2006 dall'*American College of Chest Physicians* [14]. Le prove di efficacia possono ricevere i seguenti livelli di qualità: Qualità elevata, Qualità moderata, Qualità scarsa.

Grado delle raccomandazioni

Il grado della raccomandazione (forte o debole) è un giudizio finale basato sulla valutazione di diverse componenti il cui valore deve essere esplicitato contestualmente alla raccomandazione [13, 14]. In questa LG si è deciso di presentare le raccomandazioni con il grado (forte o debole) in evidenza. Ogni singola raccomandazione è correlata da un inciso che descrive le componenti che hanno portato al giudizio finale. Tutte le raccomandazioni sono state discusse, condivise e accettate dai componenti del gruppo di lavoro.

Necessità di una linea guida

La malattia renale cronica (MRC) è ormai emersa come un problema di salute pubblica di prima grandezza su scala mondiale [15]. Il *Center for Disease Control and Prevention* identifica la MRC come una delle grandi priorità dell'era della transizione epidemiologica [16] e una revisione sistematica della prevalenza della malattia in Europa ha messo in luce che nei Paesi europei il problema è dello stesso ordine di grandezza riscontrato negli Stati Uniti [17]. Si stima che, in Italia, nella popolazione adulta con più di 40 anni di età circa 1 individuo ogni 7 (13%) abbia un grado qualsiasi di MRC [18]. Oltre quella che viene ormai comunemente definita emergenza nefrologica, non bisogna trascurare la rilevante numerosità di patologie urologiche che pongono un ampio ventaglio di casi clinici, che devono essere tempestivamente diagnosticati e trattati.

A tutto questo il Laboratorio è chiamato a dare una risposta che sia all'altezza della sfida, in termini sia di diagnosi precoce sia di accurata definizione del processo patologico in atto [19-21].

L'esame delle urine, nella sua accezione comune (dip-stick + analisi microscopica del sedimento) non può più essere considerato uno strumento idoneo a rispondere alle nuove esigenze che nascono da quella che viene ormai considerata una vera e propria

“epidemia”. Le maggiori conoscenze sui limiti dei dip-stick, la disponibilità di nuove tecnologie per l’analisi automatizzata della frazione corpuscolata, la possibilità di effettuare misurazioni biochimiche altamente sensibili e accurate su strumenti automatici a elevata cadenza analitica la selezione, l’integrazione e l’elaborazione (sulla base di griglie pre-impostate personalizzabili) dei dati ottenuti con metodiche e strumentazioni diverse attraverso software dedicati, la disponibilità di sistemi per la raccolta e archiviazione delle immagini rendono il moderno esame delle urine uno strumento complesso e totalmente modulabile sulle esigenze del clinico e del Laboratorio, dall’esame condotto al letto del malato per prendere decisioni non differibili in condizioni di emergenza, fino alla realizzazione di un profilo integrato di test biochimici/immunochimici e di valutazioni morfologiche, capaci di rispondere a quesiti clinici complessi e realizzabile solo in laboratori a elevata specializzazione [22-24].

In tutto questo, lo specialista di Laboratorio è chiamato a svolgere un ruolo fondamentale; a lui sono richieste competenze cliniche e morfologiche comprovate e adeguate al livello diagnostico richiesto al Laboratorio, una conoscenza approfondita delle tecnologie e, per i livelli analitici più alti, la capacità di lavorare in equipe, rapportandosi con i colleghi di altre specialità per elaborare percorsi diagnostici condivisi [25, 26].

Riteniamo quindi non differibile dotarsi di una LG aggiornata che, attraverso un *update* di metodi e tecnologie, ridefinisca i requisiti necessari per l’esecuzione di un ECMU che sia all’altezza delle rinnovate esigenze cliniche.

Le LG della fase analitica non si riferiscono a tutte le determinazioni che possono essere eseguite sulle urine ma soltanto all’ECMU. Non trattano quindi, se non incidentalmente, aspetti microbiologici, dosaggi su raccolte temporizzate e aspetti farmaco-tossicologici; definiscono inoltre la modalità per il Laboratorio di eseguire al meglio l’ECMU sulle decine o più spesso centinaia di campioni urinari da analizzare con informazioni cliniche spesso carenti o assenti. Seguono a distanza di 5 anni le LG della fase pre-analitica dell’esame delle urine, redatte dallo stesso GIAU, alle quali si rimanda per tutti gli aspetti relativi all’appropriatezza della richiesta, alle modalità di raccolta, alla tipologia del campione da esaminare, al tempo e alla temperatura accettabili per la (breve) conservazione del campione fino al momento dell’analisi. In estrema sintesi possono così essere espresse: l’ECMU va richiesto per la diagnosi, monitoraggio, esclusione di patologie del rene e delle vie urinarie di varia natura, primitive o secondarie; il campione raccolto alla prima minzione del mattino, da mitto intermedio e dopo accurata pulizia dei genitali, deve essere analizzato nel più breve tempo possibile, mai oltre le 4 ore se conservato a 20 °C o le 6

ore a +4°C. L'utilizzo di conservanti deve essere riservato a casi particolari e dopo aver verificato che non influenzi i risultati dei diversi parametri fisici, chimici, morfologici.
Le modalità di refertazione e l'armonizzazione dei risultati saranno oggetto di una prossima LG.

Definizione e rilievo dell'ECMU

L'ECMU è un esame ampiamente diffuso per le numerose informazioni che è in grado di fornire, per la facilità con cui si raccoglie il campione, per la possibilità di eseguirlo in qualunque Laboratorio in modo pratico, accurato, sicuro e per il vantaggioso rapporto costo-efficacia. Essendo, insieme alla creatinina e all'eGFR (*estimated glomerular filtration rate*), il primo approccio alla diagnostica di lesioni e/o di disfunzioni del rene e dell'apparato urinario, è particolarmente importante che venga eseguito correttamente nelle caratteristiche tre fasi: pre-analitica, analitica, post-analitica. Infatti, se mal condotto potrebbe innescare, con esiti falsamente positivi, un eccesso di accertamenti non necessari o, peggio, con esiti falsamente negativi, delle mancate diagnosi.
In entrambi i casi le conseguenze sarebbero di particolare gravità sia sotto il profilo medico sia sotto quello economico e possiamo quindi parlare di appropriatezza analitica come chiave di volta del processo diagnostico rapportato alle esigenze cliniche [27-30].
L'ECMU include di norma alcuni o tutti i seguenti tipi di indagine e relativi parametri:

- ispezione visiva: colore e aspetto [24, 31-35];
- analisi fisiche: volume (nelle raccolte temporizzate), concentrazione (densità relativa/conduttività/osmolalità) [24, 31-35];
- analisi chimiche: proteine, albumina, glucosio, chetoni, bilirubina, urobilinogeno, emoglobina, esterasi, nitriti, pH, creatinina, acido ascorbico [24, 31-35];
- conteggio e morfologia della componente corpuscolata: su analizzatori automatici e/o in microscopia per emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri, batteri, cristalli, miceti, lipidi, parassiti, contaminanti, protozoi, cellule atipiche [24, 31-35].

Ciascun Laboratorio definisce quali procedure utilizzare e, in accordo con i clinici, come approfondire le indagini sulla base di studi noti e pubblicati, quali test eseguire in accordo con la prevalenza di malattie nella popolazione aperta e con la tipologia di pazienti studiati. Infatti la probabilità pre-test in relazione alla prevalenza di malattie renali o urologiche dovrà condizionare l'utilizzo di procedure altamente specifiche o al contrario di test altamente sensibili: se si valutano prevalentemente pazienti nefrologici/urologici dovranno

privilegiarsi metodi a elevata specificità, mentre in soggetti prevalentemente normali, per esempio nella medicina sportiva, dovranno privilegiarsi metodi molto sensibili [7-12].

La richiesta di ECMU dovrebbe essere effettuata sulla base di un quesito clinico [7, 8], anche quando tali accertamenti sono richiesti per escludere la presenza di una patologia o come parte di un approccio generale per inquadrare clinicamente un paziente [7, 8].

La richiesta di ECMU trova un suo razionale nelle seguenti condizioni [7-12]: sospetto o follow-up di infezione o di patologia non infettiva del tratto urinario; sospetto o follow-up di malattia renale primitiva o secondaria a patologie sistemiche, effetti collaterali di farmaci.

Aspetti tecnico-diagnostici

Riconoscimento di un liquido da caratterizzare come urina

Talvolta può essere necessario stabilire la natura di un liquido inviato in Laboratorio come urina. Ciò potrebbe per esempio essere opportuno qualora si sospetti un'adulterazione fraudolenta (in corso di un accertamento con finalità legali o cliniche), o per valutare la natura di un liquido di drenaggio addominale (dopo un intervento interessante la vescica).

Le urine appena emesse presentano abitualmente le seguenti caratteristiche [24, 31-35]:

- densità relativa tra 1007 g/L e 1035 g/L (individui che abbiano recentemente ricevuto mezzi di contrasto iodato possono presentare una densità relativa urinaria superiore a 1035 g/L);
- pH tra 4,5 e 7,5.;
- temperatura tra 32,5 e 37,5 °C;
- creatinina, con una concentrazione 50-100 volte più alta che negli altri liquidi corporei.

La concentrazione di urea, Na, K e Cl nelle urine è significativamente più elevata di quanto riscontrato negli altri liquidi corporei. Nelle urine di soggetti sani abitualmente si riscontrano quantità trascurabili di glucosio e proteine che invece sono presenti in alta concentrazione nel plasma, nel liquido amniotico, negli essudati (ma non necessariamente nei trasudati).

Raccomandazioni

- ***Il test di scelta per caratterizzare come urina un liquido biologico è la determinazione della creatinina.***

ESAME FISICO

- **Volume** Il volume di urina normalmente prodotto nelle 24 ore è compreso tra 600 e 1500 ml. Il dato non riveste importanza nell'ambito dell'ECMU (solo verifica idoneità della quantità del campione da analizzare), ma assume rilevo nel caso delle raccolte temporizzate e nel calcolo delle *clearance*. La misura della diuresi con i dispositivi medicali disponibili è affidabile in ambito ospedaliero, molto meno quando la raccolta è effettuata dal paziente presso il proprio domicilio; in quest'ultimo caso, è compito del medico prescrittore insegnare al paziente la corretta modalità di raccolta [24, 31-35].
- **Colore** Le urine abitualmente presentano una colorazione propria, gialla più o meno marcata, ma possono assumere colorazioni diverse in corso di patologie sistemiche, renali o urologiche: rosso scuro o color cola in corso di emoglobinuria, di mioglobinuria, di porfiria; marrone in corso di ittero e alcaptonuria; blu nella sindrome del pannolino blu per la presenza nelle urine di indolo, un catabolita del triptofano; color lavatura di carne in corso di ematuria macroscopica. Colori diversi legati all'assunzione di alimenti contenenti particolari pigmenti e di farmaci non hanno alcun rilievo patologico (Tab. 1) [24, 31-35]. Nell'ECMU il colore viene sempre valutato, ma viene espresso nel referto solo nel caso di colorazioni anomale con obbligo di commento.
- **Torbidità** Le urine normali appaiono limpide; vari gradi di torbidità sono correlati a un aumento dei corpuscoli in sospensione [24, 31-35].
- **Schiuma** La formazione di schiuma nelle urine è legata a sostanze tensioattive in essa presenti. La presenza di schiuma abbondante biancastra è spesso legata alla presenza di proteine. In un soggetto itterico la schiuma può essere colorata in giallo verdastro o arancio scuro.

Raccomandazioni

- ***Non è raccomandata la determinazione del volume nell'ECMU, se non nell'ambito della valutazione dell'idoneità del campione (campione insufficiente); in tal senso ogni Laboratorio dovrà dare indicazioni sul volume necessario all'esecuzione analitica.***
- ***È raccomandata la valutazione del colore delle urine solo qualora esso sia alterato; in questo caso è raccomandato refertarlo, indicando gli eventuali e ulteriori approfondimenti da effettuare.***

- ***Non è raccomandata la valutazione dell'aspetto delle urine nell'ECMU, in quanto tutti gli elementi che lo determinano vengono valutati quale frazione corpuscolata nell'esame morfologico.***
- ***Non è raccomandata la valutazione della schiuma, in quanto la presenza di proteine viene rilevata con analisi chimica.***

ESAME CHIMICO

Alla luce delle conoscenze accumulate negli ultimi decenni, oggi possiamo affermare che molti dei parametri abitualmente rilevati nelle urine con l'ECMU sono privi di effettiva utilità clinica o lo sono solo in alcune condizioni cliniche particolari; esulano pertanto da quello che dovrebbe essere un esame mirato principalmente alla valutazione della presenza o meno di patologie dell'apparato urinario [30, 36-39]. I dip-stick sono attualmente il metodo più utilizzato nella prassi di Laboratorio, le cui caratteristiche di sensibilità e specificità sono state valutate da numerosi autori; la Tabella 2 compendia le caratteristiche dei principali prodotti in commercio.

Sebbene a oggi non siano disponibili metodi commerciali in kit applicabili sugli analizzatori di chimica clinica per la valutazione dell'intero profilo dell'ECMU, è possibile procedere a un "aggiornamento" prevedendo:

- la refertazione dei soli parametri clinicamente utili;
- la misurazione in chimica liquida, delle proteine urinarie con metodi maggiormente sensibili e specifici (nei Laboratori di medie-grandi dimensioni e/o di riferimento territoriale);
- l'analisi su richiesta e con metodi in chimica tradizionale dei parametri utili solo in particolari condizioni cliniche (glucosio, chetoni ecc.).

Possiamo suddividere i parametri dell'ECMU in quattro categorie:

- parametri irrinunciabili analiticamente o di indubbia utilità clinica: proteine/albumina, creatinina, concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività, osmolalità), emoglobina, pH;
- parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio: esterasi, nitriti e ascorbato;
- parametri utili solo in particolari condizioni cliniche: glucosio, chetoni;
- parametri non utili: bilirubina, urobilinogeno.

Parametri irrinunciabili analiticamente e/o di indubbia utilità clinica

Albumina/proteine Quando la proteinuria supera i limiti fisiologici indica quasi sempre la presenza di una compromissione della funzionalità e integrità del rene, o di una patologia sistemica [7, 8, 24, 31-35]. Le recenti LG della KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) [40, 41], sulla scorta di molteplici studi ed evidenze, indicano come la presenza di proteine nelle urine rappresenti un fattore prognostico negativo sia per lo sviluppo di insufficienza renale cronica sia per il rischio cardiovascolare già a concentrazioni considerate "fisiologiche" (comprese tra 100 e 300 mg/L di albumina; oppure, utilizzando la ratio albumina/creatinina tra 10 e 30 mg/mmol) e quando ancora l'eGFR risulti normale. Ne consegue che una precoce rilevazione dell'albuminuria (e/o proteinuria) con metodi sensibili e accurati può costituire l'arma più efficace per una diagnosi precoce di malattia renale e per la prevenzione cardiovascolare [42-46].

Classicamente possiamo distinguere quattro tipi di proteinurie: ortostatica, da sovraccarico, glomerulare, tubulare.

- Nella forma funzionale la proteinuria, di solito modesta (sempre < 1,5 g/die), compare dopo che il soggetto ha mantenuto per un certo tempo la postura eretta (proteinuria ortostatica) o in corso di stati febbrili, dopo attività fisica, scompenso cardiaco acuto, mentre è assente nelle prime urine del mattino [24, 31-35].
- La forma da sovraccarico è riconducibile a un aumento della proteine plasmatiche ultra-filtrate. Questo aumentato carico di proteine a basso peso molecolare si può avere, per esempio, nelle patologie renali da gammopatie monoclonali associate a eliminazione di catene leggere, nella setticemia severa (in questo caso si tratterà di proteine della fase acuta), nell'emolisi acuta (emoglobina) o cronica (emosiderina), nei traumi muscolari massivi (mioglobina) [24, 31-35].
- La proteinuria glomerulare è la forma di proteinuria più grave e più comune, spesso marcata (> 3,5 g/die, cosiddetta proteinuria in range nefrosico); si può associare a ematuria, nella glomerulonefrite, oppure a lipiduria con ipoalbuminemia e iperlipemia nella sindrome nefrosica. Abitualmente la proteina più rappresentata nelle urine è l'albumina, ma mano a mano che la malattia evolve possono comparire altre specie proteiche di più elevato peso molecolare. La presenza di modeste quantità di albumina nelle urine (cosiddetta erroneamente microalbuminuria) ha assunto un importante valore prognostico in alcune comuni patologie quali il diabete e l'ipertensione e sulla base di ciò viene considerata sufficiente come marker di MRC dalle KDIGO, se riconfermata a distanza di almeno 3 mesi [24, 31-35, 41].

La proteinuria tubulare si ha quando la normale funzione tubulare di riassorbimento delle proteine viene a mancare; si tratta caratteristicamente di una proteinuria relativamente modesta (< 1,5 g/die), caratterizzata da proteine a basso peso molecolare (< 35 Kd) quali il lisozima, la globulina legante il retinolo, l'α_1-microglobulina [24, 31-35].

La proteinuria mista glomerulare e tubulare si ha quando sono associati un danno glomerulare e un danno tubulare; si tratta di una proteinuria non selettiva caratterizzata da proteine a diverso PM. È opportuno che la determinazione delle proteine urinarie sia espressa come rapporto con la creatinuria quale indicatore di concentrazione urinaria: PCR (proteine/creatinina ratio) o ACR (albumina/creatinina ratio).

Metodi di determinazione. Per la rilevazione della proteinuria le LG della KDIGO danno indicazioni precise [40, 41]: la determinazione delle proteine urinarie deve essere eseguita sul mitto intermedio del primo campione del mattino, con metodi sensibili, in chimica liquida, e il risultato espresso in rapporto alla concentrazione delle urine [40-46].

In ordine di preferenza vengono suggeriti: ACR (test di prima scelta nell'adulto); PCR (test di prima scelta nel bambino); dip-stick [40-46].

La minore sensibilità di ACR nei soggetti in età pediatrica è determinata dalla maggiore frequenza, in questa fascia di età, di patologie tubulari rispetto a quelle glomerulari.

Molto rilevante è il metodo analitico utilizzato nell'ECMU: l'immunoturbidimetria su analizzatori automatici è quello più attendibile, ma anche il meno utilizzato attualmente, a seguire metodi in *dry chemistry* con coloranti specifici per l'albumina ed espressione in rapporto alla creatinuria; infine, non consigliati, metodi in *dry chemistry* che valutano la concentrazione delle proteine (quasi esclusivamente albumina) sulla base della variazione di un indicatore sensibile alle variazioni di pH con marcate interferenze in caso di pH alcalino. Altri metodi, tra i quali la nefelometria, non sono applicabili nella routine. L'accuratezza (e l'armonizzazione) della misurazione dell'albumina e della creatinina urinarie è ancora un problema aperto, al punto che l'IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) è attualmente impegnata per superare al meglio tale criticità. In ogni caso, la scelta della metodica deve garantire la rilevazione, con adeguata sensibilità, sia dell'albumina sia delle globuline. Il termine microalbuminuria, coniato per individuare la misurazione dell'albumina in basse concentrazioni, deve essere evitato per non indurre errori sulla natura della proteina ed eventualmente sostituito da termini in grado di evidenziare la sensibilità del metodo di determinazione [40-46]. Nel test eseguito con striscia reattiva non si dovrebbe parlare di proteine ma di albumina. Il metodo utilizzato,

infatti, è sensibile quasi esclusivamente alla presenza di albumina e transferrina, pochissimo alla presenza di globuline, mentre la sensibilità per le catene leggere è praticamente nulla. Alcune strisce multi-reattive utilizzano, a fianco del pad basato sul principio sopra esposto, un'area reattiva per la determinazione dell'albumina a bassa concentrazione (circa 100 mg/L). Oltre ai limiti di sensibilità, bisogna ricordare che i dip-stick dosano l'albumina in valore assoluto, senza alcuna correlazione con la concentrazione del campione; pertanto, urine molto diluite possono dare albuminurie falsamente negative e, al contrario, urine fortemente concentrate possono rilevare un'albuminuria significativa senza che questa in realtà superi i limiti fisiologici. Per ovviare a questo problema, sono state recentemente immesse nel commercio strisce reattive in grado di rilevare la ratio albumina/creatinina [24, 31-35, 40-46]. Trattandosi di un metodo semplice, poco costoso e rapido, la chimica secca su dip-stick si è diffusa in tutti i Laboratori e attualmente può essere considerata il metodo maggiormente utilizzato per la determinazione delle proteine (albumina) nelle urine. Tuttavia, in considerazione dei numerosi limiti che questo metodo presenta (metodo non quantitativo, numerosi interferenti, scarsa o nulla sensibilità per le globuline, mancata rilevazione della proteinuria di Bence Jones), la determinazione della proteinuria con i dip-stick andrebbe limitata a situazioni in cui non sia possibile effettuare una determinazione più accurata in chimica liquida (vedi paragrafo sui livelli diagnostici) [44-46]. In un paziente con proteinuria può risultare rilevante valutare la selettività della proteinuria attraverso test specifici di approfondimento quale la migrazione elettroforetica in base al peso molecolare (SDS elettroforesi), ma questo esula dallo specifico dell'ECMU.

Concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività, osmolalità) Le urine sono composte per il 97-99% di acqua e per il restante 1-3% da una miscela di soluti. La concentrazione dei soluti nelle urine è un importante indice della capacità di concentrare le urine da parte del rene, oltre che dello stato di idratazione del soggetto. Risulta quindi essere un indicatore di notevole valenza clinica [7, 8, 24, 31-35]. Ha inoltre rilevanza nell'analisi del sedimento urinario, in quanto la concentrazione delle urine condiziona la conservazione degli elementi figurati che possono andare incontro a lisi, in urine poco concentrate e ad alterazioni morfologiche in urine fortemente ipertoniche [7, 8, 24, 31-35].

L'espressione dei soluti nelle urine può essere valutata utilizzando diversi parametri che appaiono differenti per significato e per tipologia dei soluti che si andranno a rilevare: densità relativa, osmolalità, conduttività, creatinuria [7, 8, 24, 31-35].

Ciascuno di questi parametri può essere determinato utilizzando metodiche differenti.

Densità relativa Misura la densità delle urine in g/L (massa/volume) ed è la determinazione usualmente utilizzata nella pratica clinica. Viene troppo spesso erroneamente indicata come peso specifico, che è il rapporto tra il peso e il volume e si esprime in Newton/L [47-50].

Metodi di determinazione: i metodi per la determinazione della densità relativa possono essere diretti o indiretti. I metodi diretti determinano la densità relativa delle urine a prescindere dalla tipologia di soluto presente, in quanto tutti i soluti vengono rilevati e misurati, sia quelli fisiologicamente presenti nelle urine come urea ed elettroliti, sia quelli indicativi di patologia come glucosio e proteine, sia quelli di origine iatrogena come i mezzi di contrasto radiologici. La presenza di proteine o glucosio nelle urine può falsare il significato del test, infatti la glicosuria può ricondurre nella norma un valore di densità relativa pur in presenza di urine patologicamente non concentrate nella poliuria diabetica [7, 8, 24, 31-35].

La densità relativa può essere valutata direttamente utilizzando i seguenti metodi: gravimetrico, non utilizzato in diagnostica routinaria, ma comunque considerato il metodo di riferimento; dell'urinometro e dell'oscillazione armonica, obsoleti; rifrattometrico, poco adatto a usi di routine, ma ancora utilizzabile in casi particolari (es. urine ipercromiche); con strumentazioni automatiche per *dry chemistry* [24, 31-35].

Striscia reattiva: il metodo utilizzato nei pad reattivi dei dip-stick si basa sulla determinazione degli ioni (massimamente Na^+, Cl^-, K^+, NH_4^-); non viene invece rilevata la presenza di altre sostanze non ioniche (glucosio, proteine, mezzi di contrasto radiologici). Si tratta quindi di una metodica in grado di valutare la capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico attraverso il riassorbimento e l'eliminazione selettiva dell'acqua e degli ioni. La variazione del pH nel pad provoca il cambiamento di colore del blu di bromotimolo dal blu al giallo. Il metodo però appare influenzato dal pH (sovrastima a pH acido e sottostima a pH alcalino) e dalla colorazione delle urine. Nel caso di strip multipad, con contemporanea rilevazione del pH, sarà possibile effettuare la correzione per tale fattore interferente. Si tratta di un metodo facilmente automatizzabile e adatto alle applicazioni di routine [24, 31-35].

Osmolalità Viene determinata sfruttando metodi in grado di valutare le proprietà colligative dei soluti che vanno a interferire con i cambiamenti di stato della soluzione; tali capacità colligative dipendono solo dal numero della particelle presenti in soluzione e non dalle loro caratteristiche. Si utilizzano metodi che valutano la temperatura di congelamento o la tensione di vapore; in entrambi i casi si tratta di un metodo di riferimento scarsamente

automatizzabile e poco adatto ad applicazioni di routine. Anche in questo caso il valore è influenzato dalla glicosuria e quindi risulta non attendibile nei diabetici scompensati [24, 31-35].

Conduttività La conduttività o conducibilità è un parametro noto da molto tempo il cui utilizzo in routine è stato riproposto per la disponibilità su strumentazione automatica che lo rende idoneo per un uso routinario. La conduttività dipende dalla concentrazione di elettroliti nelle urine (Na^+, Cl^-, K^+, NH_4^- ecc.), ma non dalla concentrazione di glucosio e proteine; non è influenzata dal pH e dal colore delle urine ed è quindi in grado di misurare il risultato dell'azione del riassorbimento e dell'eliminazione selettiva di acqua e di ioni del rene anche in soggetti diabetici [47-50].

Creatinina La misurazione della creatinina urinaria ha rilevanza in diverse applicazioni: identificazione di un liquido come urina, evidenziazione di adulterazioni, nell'ambito di dosaggi complessi quali la determinazione della clearance della creatinina, o la determinazione della proteinuria o della ionuria in rapporto alla creatinina intesa come indicatore di concentrazione delle urine [24, 31-35].

Metodi di determinazione: sono disponibili sui comuni analizzatori automatici di biochimica clinica due metodi di misurazione della creatinina urinaria: il metodo enzimatico e il metodo di Jaffè; quest'ultimo, superato dal metodo enzimatico per la misurazione sierica, si fa preferire per la determinazione della creatinina urinaria, perché ha prestazioni simili sulla matrice urinaria e minor costo [24, 31-35].

Emoglobina La presenza di emoglobina e/o di eritrociti nelle urine è, insieme alla presenza di proteine, uno dei marker più significativi di possibile patologia dell'apparato urinario; l'ematuria può costituire l'unica spia della presenza di una patologia glomerulare o urologica, comprese quelle di natura neoplastica [7, 8, 24, 31-35, 51-56].

Con il termine emoglobinuria s'intende la presenza di emoglobina libera, mentre con il termine ematuria si definisce la presenza di eritrociti nelle urine. In urine poco concentrate (densità relativa < 1010 g/L) o molto alcaline (pH > 8,0) le emazie possono andare incontro a lisi liberando l'emoglobina in esse contenuta; solitamente in questi casi residuano i cosiddetti eritrociti fantasma (*ghost*) oltre a un numero variabile di eritrociti con maggiore resistenza osmotica [7, 8, 24, 31-35, 51-56]. Oltre a situazioni legate alla fase pre-analitica l'emoglobinuria è espressione di patologie emolitiche intra- ed extra-eritrocitarie di diversa origine: metabolica, infettiva, immune, meccanica. In queste patologie la crisi emolitica dà luogo a una marcata pigmentazione delle urine color bruno per effetto della trasformazione in metaemoglobina operata dal pH acido delle urine.

Per il rilievo clinico del parametro la sua misurazione nelle urine è fortemente raccomandata.

Metodi di determinazione: tutti i metodi in dip-stick si basano sull'attività pseudo-perossidasica dell'anello tetrapirrolico completo dell'atomo di ferro centrale (protoporfirina IX); la sensibilità è di circa 0,03 mg/dl, corrispondente a circa 10 emazie/µl. Il test risulta reattivo sia per emoglobina sia per mioglobina, in quanto entrambe contengono un anello tetrapirrolico. False negatività possono essere ricondotte all'interferenza dell'acido ascorbico che, essendo dotato di un forte potere riducente, tende a legare il perossido sottraendolo alla reazione, mentre false positività possono essere ricondotte all'attività di perossidasi batteriche e/o leucocitarie e alla contaminazione del campione con sostanze dotate di attività ossidoriducente (detergenti, ipoclorito) [7, 8, 24, 31-35]. La sensibilità non supera l'80-90%, pertanto non è possibile escludere la presenza di ematuria con l'utilizzo del solo dip-stick, ma è indispensabile che a esso venga sempre associata la valutazione microscopica e/o strumentale della frazione corpuscolata [51-56]. L'attuale maggiore sensibilità degli analizzatori della frazione corpuscolata sta facendo emergere una frequenza di discordanze tra esito chimico per l'emoglobina del dip-stick ed esito per le emazie degli analizzatori maggiore di quanto avvenisse in passato con la lettura microscopica. Al momento non sono presenti in commercio metodi alternativi routinari alla determinazione dell'emoglobina in chimica secca con il metodo della perossidasi; è auspicabile l'introduzione di metodi di maggiore sensibilità e specificità applicabili su strumentazione automatica [51-56].

- **pH** È un parametro irrinunciabile sotto il profilo clinico e laboratoristico con evidenti limiti di misurazione con la metodica di *dry chemistry*. Il rene gioca un ruolo chiave nella regolazione dell'equilibrio acido-base. Il pH urinario può variare da 4,5 a 7,5. Normalmente le urine presentano un pH leggermente acido (tra 5,0 e 6,0), poiché in condizioni basali la produzione endogena di acidi è prevalente e vi è quindi la necessità di procedere alla loro eliminazione. La determinazione del pH ha una notevole importanza per il Laboratorio perché permette di interpretare meglio le altre reazioni chimiche (albumina-proteine) e di valutare correttamente le cristallurie e l'eventuale batteriuria. Per il clinico ha importanza nelle infezioni urinarie e nella valutazione della funzionalità tubulare. Il pH urinario può influenzare la conservazione degli elementi figurati, per esempio a pH alcalino si può avere lisi delle cellule e mancata formazione dei cilindri per interazione con la loro matrice proteica [7-9, 24, 31-35]. *Metodi di*

determinazione: tutti i dip-stick in commercio dispongono di un pad per la rilevazione del pH, con un range variabile da 4,5-5,0 a 8,0-9,0; il pH così misurato (su scala ordinale con step di 0,5 unità) ha una scarsa accuratezza e quindi un modesto rilievo se non per orientare l'interpretazione analitica di cristalli o altro. Nei casi in cui la rilevazione del pH rivesta importanza clinica (calcolosi, nefropatie, monitoraggio terapie acidificanti/alcalinizzanti ecc.) è consigliabile che sia effettuata una specifica richiesta di pH urinario (diversa dall'ECMU) con una misurazione mediante pH-metria da parte del Laboratorio o dello stesso reparto come POCT (*point of care test)* [Nefrologia, Terapia Intensiva] [7-9, 24, 31-35].

- **Parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio**
  - **Esterasi leucocitaria:** È un enzima presente nei granuli azzurrofili dei granulociti, ma non nei linfociti [7, 8, 24, 31-35]. La presenza di leucocituria significativa può indicare la presenza di un'infezione o di una flogosi delle vie urinarie [57-64]. La positività dei dip-stick si verifica in presenza di esterasi rilasciata dai leucociti in corso di degenerazione. In presenza di leucociti giovani, resistenti alla lisi, con nullo o minimo rilascio di esterasi, si può avere leucocituria nel sedimento con negatività all'esterasi; al contrario, una lisi dei leucociti (dovuta alla bassa concentrazione del campione, all'esposizione a pH molto alcalino, alla cattiva conservazione del campione) può determinare positività per l'esterasi in assenza di leucociti rilevabili al microscopio ottico (MO) o con strumentazione automatica. Pertanto, come per l'emoglobina, la determinazione dell'esterasi leucocitaria deve essere associata alla ricerca dei leucociti con microscopia e/o con strumentazione automatica [57-64]. *Metodi di determinazione*: tutti i dip-stick in commercio rilevano l'esterasi leucocitaria, con una sensibilità equivalente a circa 20-25 leucociti/μl. Tale sensibilità è minore di quella rilevata dagli analizzatori automatici (2-3 elementi/μl) e ai limiti di riferimento per i leucociti (10-15 μl) [7, 8, 24, 31-35].
  - **Nitriti:** Alcuni batteri (prevalentemente *Enterobacteriaceae*, ma non altri importanti patogeni urinari come gli enterococchi) sono in grado di convertire in nitriti i nitrati normalmente presenti nelle urine. I nitrati sono introdotti nell'organismo con una dieta ricca in vegetali freschi e la loro riduzione a nitriti da parte del metabolismo batterico richiede un lasso di tempo variabile in funzione della quantità e del tipo di batteri in causa. Pertanto, la mancata

assunzione di nitrati con la dieta o la ridotta permanenza delle urine in vescica sono le ragioni per cui, anche in caso di infezioni sostenute da batteri in grado di ridurre i nitrati a nitriti, il test dei nitriti nelle urine può risultare negativo [7, 9-11, 65-67]. A fronte di una bassa sensibilità, il test è utile in quanto dotato di elevato VPP (valore predittivo positivo); il VPN (valore predittivo negativo) non appare altrettanto elevato per la possibilità che l'infezione sia sostenuta da enterococchi [7, 9-11, 65-67]. *Metodi di determinazione*: tutti i dip-stick in commercio rilevano i nitriti urinari, mentre non sono disponibili kit per chimica liquida automatizzata [24, 31-35].

- **Ascorbato**: La presenza di ascorbato nelle urine è piuttosto frequente, potendo originare sia dalla dieta (agrumi, conservanti), sia dall'assunzione di farmaci con vitamina C. Nelle urine la presenza di acido ascorbico a una concentrazione di 100 mg/L è in grado di interferire con la determinazione dell'emoglobina; a una concentrazione di 250 mg/L dà interferenza con la determinazione dei nitriti e della bilirubina; a una concentrazione di 500 mg/L si ha interferenza anche con la determinazione del glucosio. Pertanto, rappresenta per il Laboratorio un utile indicatore di possibili interferenze; alcune aziende hanno quindi dotato le loro strisce reattive di un pad dedicato alla rilevazione della presenza di questa sostanza nelle urine [7-9, 24, 31-35].

- **Parametri utili in particolari condizioni cliniche**
  - **Glucosio:** La presenza di glucosio nelle urine si ha quando la quantità di glucosio ultrafiltrata eccede le capacità di riassorbimento tubulare. Questo può avvenire per diminuzione della capacità del tubulo prossimale di riassorbire il glucosio, oppure per la maggiore ultrafiltrazione conseguente all'iperglicemia. Nel soggetto a rene integro compare glicosuria quando la glicemia supera i 180 mg/dl; glicosuria si può avere anche con concentrazione normale di glucosio nel sangue nella patologia tubulare congenita nota come "glicosuria normoglicemica" e nella sindrome nefrosica, a causa della ridotta capacità di riassorbimento del glucosio da parte delle cellule del tubulo prossimale per competizione con il riassorbimento di proteine ultrafiltrate a livello glomerulare [7, 8]. Tutte le strisce reattive sono dotate di pad per la rilevazione della glicosuria; falsi negativi si possono avere in presenza di ascorbato e nel caso di infezione del tratto urinario, mentre falsi positivi si osservano in presenza di sostanze ossidanti e nelle urine particolarmente acide. Il glucosio può essere

determinato in chimica liquida utilizzando un metodo enzimatico specifico (per esempio, esochinasi o glucosio ossidasi) [24, 31-35]. Negli ultimi anni l'utilità clinica della determinazione del glucosio nelle urine è stata fortemente ridimensionata; nelle LG internazionali, i diabetologi non fanno più alcun riferimento a questo test per la diagnosi e il monitoraggio del diabete, ormai totalmente basati su test eseguiti su siero (glicemia ed emoglobina glicata) [68, 69]. L'analisi del glucosio urinario può tuttavia essere utile in patologie nefrologiche quali le tubulopatie congenite o acquisite (sindrome di Fanconi) e in corso di tubulo-interstiziopatie a varia eziologia, nelle quali può essere specificamente richiesta e determinata in chimica liquida [68-70]. Inoltre, la ricerca del glucosio urinario può essere inserita, insieme ai chetoni e accanto ai parametri irrinunciabili, in un profilo dedicato in modo specifico ai soggetti pediatrici nella prima infanzia, quando le oggettive difficoltà a ricorrere ai prelievi ematici rendono più frequente il ricorso all'esame urine come primo test nel sospetto clinico di diabete [70, 71].

- **Chetoni:** Sono una famiglia di tre composti – acetone, aceto-acetato, acido β-idrossibutirrico – che derivano dal metabolismo (in carenza di glucosio) degli acidi grassi. La presenza di chetoni nelle urine è per lo più legata al digiuno ed è utile solo in riferimento a specifiche popolazioni di pazienti e in determinate condizioni cliniche (diabete, ipotermia, febbre, vomito prolungato, complicanze fetali nel post-termine), ma raramente hanno reale utilità clinica, a eccezione di alcune situazioni in medicina d'urgenza (chetoacidosi diabetica, abuso alcolico) [24, 31-35]. *Metodi di determinazione*: con il dip-stick, falsi negativi sono determinati dal fatto che non viene rilevato l'acido β-idrossibutirrico, mentre risultati falsi positivi si osservano in presenza di gruppi sulfidrilici liberi (per esempio, farmaci come captopril, L-DOPA, cefalosporina) [24, 31-33]. Per reali necessità cliniche è quindi auspicabile misurare le specifiche chetonurie in chimica liquida su precisa richiesta del curante.

- **Parametri non utili**
  - **Pigmenti biliari (bilirubina, urobilinogeno):** La bilirubina e l'urobilinogeno rilevati nelle urine hanno perso il loro significato e la letteratura scientifica concorda sull'insufficiente previsione del danno epatico sulla base delle positività urinarie dei pigmenti biliari. Sono rilevati dai comuni dip-stick; falsi negativi per la bilirubina si evidenziano in presenza di vitamina C e di nitriti,

mentre falsi positivi si riscontrano in presenza dei metaboliti della clorpromazina e, per quanto riguarda l'urobilinogeno, di alcuni farmaci (carbapenem e sulfanilamide). Falsi positivi sono frequenti anche in condizioni di cattiva conservazione delle strisce reattive (umidità) [24, 31-35].

Nella Tabella 3 è riportato un quadro riassuntivo dei principali interferenti dell'esame chimico con dip-stick.

Raccomandazioni:

- ***È fortemente raccomandata la determinazione dell'albumina nelle urine. Nei bambini, è fortemente raccomandata la determinazione delle proteine totali. In entrambi i casi, è raccomandato l'utilizzo di metodi quantitativi, a elevata sensibilità e specificità, che non risentano dell'influenza del pH e il cui valore venga normalizzato in funzione della concentrazione delle urine (rapporto albumina/creatinina o proteine/creatinina). La rilevazione della proteinuria con il dip-stick dovrebbe essere limitata alle sole situazioni di indisponibilità di strumentazione idonea all'analisi in chimica liquida.***
- ***È fortemente raccomandata la determinazione della concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività o osmolalità) quale indice dello stato di idratazione o della capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico, utilizzando un metodo che non risenta della presenza di altri soluti (per esempio, glucosio e proteine).***
- ***È fortemente raccomandata la determinazione della creatinina urinaria sia come indicatore di concentrazione del campione e per l'espressione in termini di*** **ratio** ***dei parametri urinari, ove previsto, sia come garante della natura urinaria del campione.***
- ***È fortemente raccomandata la ricerca dell'emoglobina nelle urine; la rilevazione con dip-stick deve sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale della frazione corpuscolata.***
- ***È fortemente raccomandata la determinazione del pH urinario, in quanto può dare indicazioni al Laboratorio nell'identificazione delle cristallurie e con un pH fortemente alcalino può suggerire una falsa positività di proteinuria al dip-stick. In casi di reale utilità clinica, è raccomandata la rilevazione con pH-metro.***
- ***È raccomandata la ricerca dell'esterasi leucocitaria nelle urine; la rilevazione con dip-stick dovrebbe sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale della frazione corpuscolata.***

- ***È raccomandata la ricerca dei nitriti nelle urine, per il loro elevato valore predittivo positivo per le infezioni delle vie urinarie.***
- ***È raccomandata la determinazione dell'ascorbato per le informazioni utili al Laboratorio circa possibili interferenze sui risultati analitici ottenuti con i dip-stick.***
- ***Non è raccomandata la misurazione della glicosuria. Per finalità specifiche in ambito nefrologico, e nella prima infanzia, se ne raccomanda l'analisi in chimica liquida.***
- ***Non è raccomandata la determinazione dei chetoni urinari, tranne che in situazioni di medicina di emergenza/urgenza (chetoacidosi diabetica, intossicazione alcolica).***
- ***Non è raccomandata la determinazione di urea, acido urico, ioni; la loro determinazione deve essere effettuata su richiesta, in specifiche condizioni cliniche.***
- ***Non è raccomandata la determinazione della bilirubina urinaria.***
- ***Non è raccomandata la determinazione dell'urobilinogeno nelle urine.***

ANALISI DELLA FRAZIONE CORPUSCOLATA

La gerarchia dei processi analitici riconosce quattro livelli (Tab. 4):

Livello 1: test rapidi

Livello 2: metodi routinari

Livello 3: metodi qualificati di comparazione

Livello 4: metodi di riferimento

Livello 1 - Test rapidi. Si tratta di test che idealmente dovrebbero dare una risposta rapida e affidabile per il singolo paziente; possono essere eseguibili al letto del malato. Nell'ambito della microscopia urinaria possiamo considerare come test di primo livello l'osservazione di un preparato a fresco di urina nativa in campo chiaro con vetrini portaoggetto e coprioggetto tradizionali eseguita, per esempio nell'ambulatorio di un medico [7, 8].

Livello 2 - Metodi di routine. Si tratta delle metodiche abitualmente adottate per la diagnostica di routine nei Laboratori clinici. In riferimento alla microscopia urinaria possiamo ricomprendere in questo livello la valutazione microscopica di preparati allestiti dopo centrifugazione del campione, aspirazione del sovranatante, risospensione del fondello. I preparati sono allestiti in vetrini multicellette a volume predefinito, dotati di reticolo per il conteggio. La lettura potrà avvenire in campo chiaro o a contrasto di fase [7, 8].

Livello 3 - Metodi di comparazione. Si tratta di metodiche diagnostiche che, pur non essendo ancora di riferimento, sono comunque più accurate e precise di quelle considerate nel livello 2. Si tratta di metodi automatizzati e adatti all'applicazione su ampie serie di campioni che richiedono, per la loro esecuzione, personale adeguatamente formato e di attrezzature analitiche complesse. Come metodica di livello 3 per l'esame microscopico si intende la valutazione a fresco a 400 ingrandimenti delle urine native (non centrifugate), effettuata da due diversi osservatori utilizzando una camera citometrica (per esempio, Kovacs o Fuchs-Rosenthal) in contrasto di fase [7, 8]. In alcune situazioni nelle quali è importante ricercare elementi di particolare rilievo clinico (per esempio, cilindri eritrocitari) risulta vantaggioso centrifugare il campione anche se questo inficia la corretta quantificazione degli elementi.

Livello 4 - Le metodologie diagnostiche dotate di maggiore accuratezza sono dette "Metodi di riferimento" e vengono così definite dopo essere state sottoposte a un'accurata valutazione di tutte le fonti di inaccuratezza, compresa la non specificità. Allo stato attuale non esistono metodiche di livello 4 applicabili alla diagnostica microscopica delle urine [7, 8].

Nella diagnostica microscopica delle urine, non esistendo test di riferimento (livello 4), le metodiche di livello 3 costituiscono il massimo livello di approfondimento diagnostico e possono essere utilizzate per valutare la *performance* analitica delle metodiche di routine (livello 2).

Principi di microscopia manuale del sedimento urinario

La valutazione della componente corpuscolata delle urine veniva effettuata utilizzando l'esame a fresco del sedimento urinario in microscopia manuale in campo chiaro. Tale metodologia, sino al 2000, era considerata adeguata alle applicazioni di routine. L'utilizzo di colorazioni sopravitali veniva raccomandato solamente in casi patologici, per migliorare la differenziazione degli elementi cellulari o dei cilindri. L'impiego della microscopia in contrasto di fase veniva riconosciuto in grado di migliorare il riconoscimento e la differenziazione degli elementi corpuscolati, ma senza specifiche raccomandazioni di utilizzo. L'utilizzo di tecniche alternative di microscopia come la microscopia in polarizzazione veniva fortemente raccomandato per l'evidenziazione e la differenziazione di cristalli e lipidi. Veniva inoltre raccomandata la standardizzazione di una serie di aspetti e passaggi preanalitici, quali le caratteristiche del contenitore, le modalità di centrifugazione dei campioni e l'allestimento dei preparati microscopici [7].

Infine, veniva data indicazione che fossero garantiti il riconoscimento e la differenziazione dei seguenti elementi [72-78]:

- cellule ematiche: eritrociti e leucociti;
- cellule epiteliali: squamose, transizionali (uroteliali) tubulari;
- cilindri: jalini, granulari, cerei, lipidici, eritrocitari, leucocitari, epiteliali (contenenti cellule tubulari renali), pigmentati (da emoglobina, mioglobina, bilirubina), con inclusi cristalli o microrganismi, misti;
- lipidi;
- cristalli: ossalato di calcio, acido urico, urati amorfi, fosfati amorfi, calcio fosfato, fosfato triplo, colesterolo, cistina, 2,8 di-idrossiadenina, da farmaci. I risultati sono espressi in termini qualitativi;
- microrganismi: batteri, miceti, parassiti, protozoi;
- altro: muco, spermatozoi, contaminanti. I risultati sono espressi in termini qualitativi.

L'importanza di una corretta lettura della frazione corpuscolata delle urine e delle notevoli implicazioni cliniche a essa correlate è esemplificata nella Tabella 5 [79, 80].

Le modalità di osservazione del sedimento urinario in microscopia ottica, enunciate nelle LG europee del 2000, restano ancora oggi valide nei principi generali, anche se l'avvento dei sistemi automatizzati di conteggio differenziale della frazione corpuscolata delle urine ne ha molto ridotto il campo d'impiego.

Valutazione morfologica della frazione corpuscolata mediante microscopia ottica: identificazione e quantificazione delle emazie

Si definisce ematuria la presenza di emazie nelle urine.

Si parla di macroematuria se la quantità di sangue è tale da alterare il colorito delle urine. Sono sufficienti 2 ml di sangue in un litro di urina per causare un cambiamento visibile del colore [24, 31-33]. In caso di ematuria macroscopica le urine possono avere vari colori in base alla gravità del sanguinamento e anche alla tempistica con cui è avvenuto. Per esempio un'ematuria franca (color rosso) indica un considerevole sanguinamento in atto, l'ematuria "a lavatura di carne" indica un lieve sanguinamento, l'ematuria color "marsala" o "cola" può indicare emoglobinuria o un sanguinamento pregresso. In presenza di urine colorate di rosso è sempre necessaria la conferma microscopica della presenza di emazie nel campione, in quanto alcune sostanze di origine alimentare e alcuni farmaci possono conferire alle urine un colore simile a quello determinato dalla presenza di sangue (vedi Tab. 1) [24, 31-35]. Si parla di microematuria quando la quantità di sangue è modesta e

non in grado di alterare l'aspetto delle urine. Non esiste un valore soglia condiviso per definire la microematuria. È raccomandato che ogni Laboratorio definisca i propri valori di riferimento in relazione alla popolazione e alla casistica esaminata. Una delle soglie più condivise è quella dell'*American Urological Association*, che indica come microematuria la presenza di 3 o più emazie per campo microscopico a 400X, equivalenti a 10-12 eritrociti/μl con gli analizzatori automatici [24, 31-35].

Le principali cause di ematuria sono riportate nella Tabella 6.

Identificazione e quantificazione dei leucociti

Non esiste un valore soglia condiviso per definire la leucocituria. È raccomandato che ogni Laboratorio definisca i propri valori di riferimento in relazione alla popolazione e alla casistica esaminata. Si definisce comunemente come leucocituria la presenza di oltre 3-5/campo microscopico HPF [*hight performance field* (400x)], equivalenti a 10-20 globuli bianchi per μl di urine.

Nelle urine possiamo trovare granulociti neutrofili ed eosinofili, linfociti e macrofagi.

I granulociti neutrofili costituiscono un riscontro comune in molte patologie infettive e flogistiche, dall'infezione delle vie urinarie alla glomerulonefrite [24, 31-35].

I granulociti eosinofili sono presenti in diverse patologie e hanno quindi perso il significato patognomonico di marker di nefrite acuta interstiziale.

I linfociti appaiono associati a condizioni di infiammazione cronica e malattie virali; sono presenti nelle urine in corso di rigetto del trapianto renale (sensibilità 80-90%) o in corso di patologie ematologiche (leucemie o linfomi con infiltrazione del rene) [24, 31-35].

I macrofagi (istiociti) possono essere presenti in varie patologie infiammatorie croniche, quasi sempre associati ai neutrofili e in corso di marcata proteinuria. Possono assumere vari aspetti: dendritico con pseudopodi, poligonale, simile ai granulociti in via di degenerazione, circolare con inclusioni e nucleo evidente [81, 82].

Identificazione e quantificazione dei cilindri

Elementi di forma cilindrica con estremità talvolta arrotondate e talvolta tronche, costituiti da THP (*Tamm-Horsfall Protein*), che può essere l'unico costituente (cilindri ialini) o nel quale possono essere presenti elementi cellulari o di derivazione cellulare. La THP costituisce la componente quantitativamente più importante della proteinuria fisiologica ed è prodotta a livello del tratto ascendente spesso dell'ansa di Henle. La formazione dei cilindri deriva dall'aggregazione delle fibrille della THP, che è favorita da diversi fattori, quali pH acido, alta osmolalità, presenza di proteine ultrafiltrate. Nelle urine a pH alcalino il

riscontro dei cilindri è abbastanza raro per la mancata aggregazione delle fibrille di THP. Nei soggetti normali il riscontro di cilindri ialini non è infrequente e non esiste un valore soglia, in quanto dipendente da diversi fattori fisiologici**.**

I cilindri assumono il significato suggerito dai loro costituenti; si formano soprattutto nell'ansa di Henle e nel tubulo contorto distale, dei quali riproducono la forma [7, 8, 10, 24, 31-35, 70-76]. In base alla loro costituzione è possibile distinguere i seguenti tipi di cilindri:

- cilindri ialini;
- cilindri granulosi (a piccoli e grandi granuli);
- cilindri leucocitari;
- cilindri eritrocitari;
- cilindri epiteliali (cellule renali tubulari);
- cilindri lipidici;
- cilindri cerei;
- cilindri pigmentati (da emoglobina, mioglobina, bilirubina);
- cilindri con inclusi batterici o micotici;
- cilindri con inclusi cristallini;
- cilindri misti.

Cilindri ialini Sono costituiti solo dalla THP; possono presentarsi scarsamente visibili con luce intensa (e sono ritenuti di recente formazione), oppure più visibili e dalla struttura più compatta. Una cilindruria ialina si può osservare anche in soggetti normali, più facilmente dopo sforzo, disidratazione o esposizione al freddo, nello scompenso cardiaco acuto, nell'iperpiressia. Una cilindruria ialina può essere presente in tutte le nefropatie nelle quali è abitualmente associata a cilindri di altro tipo [7, 8, 10, 24, 31-33].

Cilindri granulosi a piccoli e grandi granuli: i piccoli granuli sono formati da conglutinati di proteine ultrafiltrate a livello del glomerulo, i grandi granuli sono formati dalla degenerazione di elementi cellulari. Solitamente non si riscontrano nelle urine dei soggetti normali sebbene, anche in assenza di patologia renale, cilindri a piccoli granuli si possano ritrovare dopo iperpiressia. I cilindri a grandi granuli si ritrovano spesso in molti tipi di nefropatia, per esempio nelle glomerulonefriti e nella nefropatia diabetica. Nei pazienti con insufficienza renale acuta, i cilindri granulosi sono considerati un marcatore di danno tubulare organico [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri leucocitari La loro presenza nell'urina può essere determinata da tutte le patologie flogistiche del rene, per esempio: lupus eritematoso, nefrite interstiziale, pielonefriti acute ecc. [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri eritrocitari Possono osservarsi in tutte le nefropatie che causano ematuria per le quali rappresentano un marker di specificità assoluta [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri epiteliali Sono considerati come espressione di una sofferenza tubulare acuta organica quale si può osservare, per esempio, nelle nefropatie glomerulari, nella necrosi tubulare acuta, nelle nefriti interstiziali acute e nelle tubulopatie [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri lipidici Sono presenti in situazioni caratterizzate da proteinuria marcata, specialmente nella sindrome nefrosica [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri cerei Sono gli unici cilindri in cui la matrice proteica prevalente non è THP. Sono compatti e friabili e solo eccezionalmente presentano elementi inclusi perché la lunga permanenza nei tubuli li porta a completa degenerazione. I cilindri cerei sono quindi espressione di una compromissione renale. Una loro presenza può essere associata principalmente a glomerulonefriti, nefropatia diabetica, amiloidosi renale [8, 10, 24, 31-35, 83, 84].

Cilindri pigmentati Devono la loro colorazione alla presenza di sostanze cromogene. Cilindri emoglobinici e mioglobinici: di colore rossastro, hanno aspetto simile a un cilindro granuloso. Quelli di emoglobina possono derivare da emazie degenerate o da emoglobinuria. Quelli di mioglobina si riscontrano nell'insufficienza renale acuta associata a rabdomiolisi di diverse origini. Cilindri bilirubinici: la bilirubina conferisce al cilindro un colore aranciato scuro; si osservano in pazienti itterici con alta percentuale di bilirubina coniugata [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri con inclusi batterici o micotici La presenza di cilindri con inclusioni batteriche depone per un'infezione renale, il reperto ha una notevole importanza, perché indicativo della presenza di un'infezione particolarmente grave [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri con inclusi cristallini La presenza di inclusi cristallini indica che i cristalli sono presenti a livello tubulare. Molto importante clinicamente nelle forme cristalluriche di insufficienza renale acuta, quale per esempio la nefropatia uratica acuta [7, 8, 10, 24, 31-35].

Cilindri misti Sono forme pleiomorfe nelle quali possono trovarsi elementi corpuscolati diversi (emazie, leucociti, cellule, lipidi, cristalli ecc.) inclusi nella matrice THP. Il loro significato clinico riconduce a quanto espresso per i cilindri con le singole inclusioni [7, 8, 10, 24, 31-35].

Identificazione e quantificazione delle cellule

Le mucose del tratto genito-urinario sono rivestite da differenti tipologie di epiteli [7, 8, 10, 24, 31-35].

- L'uretra nel suo primo tratto appare rivestita da un epitelio di transizione in continuità con quello della vescica; nella sua porzione anteriore, invece, è rivestita da un epitelio pavimentoso squamoso disposto in più strati, sino all'orifizio uretrale esterno. Le cellule epiteliali squamose provenienti dall'uretra e dal trigono vescicale (nelle donne in età fertile) sono di grandi dimensioni, fogliacee, con piccolo nucleo picnotico [7, 8, 10, 24, 31-35].
- La vescica, a eccezione del trigono, gli ureteri sono rivestiti da un epitelio di transizione pluristratificato detto urotelio. Si riconoscono almeno tre morfologie cellulari distinte: le cellule dello strato superficiale, di forma rotonda o ovalare, a ombrello e di grosse dimensioni, con nucleo piccolo e centrale; le cellule dello strato intermedio, generalmente di dimensioni inferiori e forma più eterogenea (ovalari, o a clava spesso binucleate), le cellule dello strato profondo cuboidali [7, 8, 10, 24, 31-35].
- I tubuli renali sono rivestiti dall'epitelio tubulare. Su base morfologica possiamo distinguere tra l'epitelio dei tubuli distale e prossimale, monostratificato con cellule cubiche o cilindriche, con nucleo centrale tondeggiante e corti microvilli sul lato luminale, dall'epitelio del dotto collettore, generalmente cubico con nucleo centrale ovalare e corti microvilli [7, 8, 10, 24, 31-35].

Le cellule epiteliali possono provenire da ogni porzione del tratto genito-urinario e quindi sono per definizione estremamente pleiomorfe.

La presenza di cellule squamose è un evento frequente nella valutazione microscopica delle urine e solitamente non riveste significato patologico, essendo in genere espressione di contaminazione genitale; pertanto, rappresenta il più delle volte un indicatore di non corretta raccolta del campione.

La presenza di elementi dell'urotelio (cellule transizionali) appare frequentemente correlata a patologia vescicale infiammatoria, calcolosi, manovre invasive (es. cateterizzazione), patologia neoplastica.

La presenza di cellule tubulari ha sempre un significato patologico e appare correlata con un danno acuto del tubulo renale, quale si osserva in diverse patologie acute del parenchima renale [7, 8, 10, 24, 31-35].

Identificazione dei lipidi

Dal punto di vista morfologico esistono quattro categorie di lipidi: gocciole (isolate o in aggregati), corpi ovali grassi, cilindri lipidici, cristalli di colesterolo. L'identificazione delle

prime tre categorie è facilitata dall'impiego della luce polarizzata che mostra le tipiche "croci di Malta". Questi elementi sono associati a proteinuria marcata [7, 8, 10, 24, 31-35].

Identificazione dei cristalli

La presenza di cristalli nelle urine è significativa solo per quantità consistenti e per alcuni tipi di cristalli [85-90].

In urine acide possono ritrovarsi cristalli di acido urico e di ossalato di calcio, ma anche precipitati di urati amorfi.

Nelle urine alcaline si possono ritrovare cristalli di fosfato di calcio e precipitati di fosfati amorfi [85-92].

Alcune cristallurie vengono considerate sempre patologiche; rientrano in questo campo la presenza di cristalli di triplo fosfato (infezioni del tratto genitourinario), cistina (cistinuria), idrossiadenina, tirosina e leucina (patologie ereditarie, epatite, leucemie), colesterolo (patologie renali, sindrome nefrosica), bilirubina (ittero clinicamente rilevabile), emosiderina (emolisi severa, anemie emolitiche, reazioni trasfusionali). Va tenuto presente che anche alcuni farmaci possono dare luogo alla presenza di particolari precipitati nelle urine [85-90].

La maggior parte dei cristalli non strettamente patologici precipita nelle urine a seguito di determinate condizioni preanalitiche (campione vecchio, conservato in frigorifero o sottoposto a sbalzi termici o a concentrazione per evaporazione), ma anche per elevata concentrazione, transitoria, di sali da fattori fisiologici o para-fisiologici, quali alimenti, disidratazione estiva ecc.; in questo caso il loro riscontro è privo di significato clinico. Nella valutazione di un soggetto con sospetta diatesi calcolotica, l'esame del sedimento urinario andrebbe effettuato esclusivamente su un campione di urina appena emessa, esaminato "a fresco": il riscontro di cristalli non necessariamente patologici (acido urico, ossalato di calcio ecc.) ma presenti in grande quantità, con forme di medie e/o grosse dimensioni e/o formazione di aggregati e/o persistenti in campioni ripetuti, costituisce in questo caso indicazione a uno studio metabolico più approfondito [88-96].

Microrganismi: Le LG dell'ECLM-EUG (ECLM-*European Urinalysis Group*) propongono una classificazione degli agenti eziologici di infezione delle vie urinarie (IVU) in base: a) alla loro potenziale uropatogenicità; b) all'integrità dell'apparato genito urinario; c) alle condizioni fisiologiche (es. gravidanza); d) alla presenza di malattie sistemiche. Inoltre tale classificazione prende in considerazione la frequenza con cui i diversi microrganismi vengono isolati da campioni urinari. Si definiscono "patogeni primari" quei batteri in grado

di dare frequentemente infezione in soggetti sani e senza anomalie anatomiche o funzionali dell'apparato urinario (es. *Escherichia coli* e *Staphylococcus saprophyticus*) e "patogeni secondari" quei batteri che pure si riscontrano in soggetti sani ma con minore frequenza. Si tratta spesso di infezioni in soggetti istituzionalizzati o con anomalie funzionali/anatomiche dell'apparato urinario o con patologia sistemica concomitante (es. *Enterococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp.). Vengono poi definiti "patogeni condizionali" quei batteri che non sono in grado di dare infezione in soggetti sani, ma che rivestono significato patologico in pazienti con anomalie funzionali o anatomiche dell'apparato urinario o presentano patologia sistemica concomitante (es. miceti lievitiformi, *Streptococcus agalactiae* o di gruppo B, gli stafilococchi coagulasi negativi, *Pseudomonas* spp.). Il quarto e ultimo gruppo è quello dei "batteri contaminanti" e quindi privi di significato patologico (es. difteroidi e lattobacilli).

Pertanto, la sola valutazione quantitativa e qualitativa della flora batterica nelle urine non è sufficiente a porre diagnosi di IVU (che è una diagnosi clinica), ma deve essere integrata con una valutazione della componente corpuscolata: leucociti, eritrociti, cellule epiteliali. La presenza di un elevato numero di cellule epiteliali squamose suggerisce una contaminazione, mentre la presenza di batteriuria senza piuria depone per una colonizzazione invece che per un'infezione [7, 9, 11, 12, 24, 31, 34, 35].

Raccomandazioni

- ***È fortemente raccomandato che all'esame batteriologico per IVU sia associata la valutazione della componente corpuscolata delle urine al fine di definire, oltre al microrganismo, la reazione infiammatoria dell'ospite e le lesioni che l'infezione ha causato.***

Contaminanti

Sono considerati contaminanti tutti quegli elementi presenti nel campione in esame che non originano dall'apparato urinario. In tal senso possiamo distinguere contaminanti provenienti:

- dal soggetto che ha prodotto il campione: di provenienza genitale – eritrociti, leucociti, cellule squamose batteri, protozoi, miceti, spermatozoi; di provenienza cutanea – peli, parassiti, talco, creme, oli, polveri aspersorie; di provenienza fecale

– fibre, cellule, batteri, parassiti e loro uova; fibre tessili dagli indumenti, fibre di cellulosa da assorbenti, pannolini, carta igienica;

- dall'ambiente esterno durante la raccolta e conservazione: pollini, cellule vegetali, spore fungine, fibre;
- dal Laboratorio durante la preparazione-esecuzione dell'esame: frammenti di vetro dai vetrini per l'osservazione microscopica, polvere aspersoria dai guanti, bollicine d'aria prodotte dal pipettamento del campione.

Per ridurre il rischio di contaminazione del campione dal soggetto e dall'ambiente è fondamentale attuare quanto raccomandato dalle LG: preliminare accurata igiene dei genitali [7, 8], raccolta da mitto intermedio con contenitore monouso e dispositivo per provetta sottovuoto [27, 29]. Il raro reperto di protozoi di origine genitale o elminti (o loro uova) di origine fecale nelle urine non appare indicativo di un'infestazione urinaria, ma suggerisce una contaminazione; tuttavia, trattandosi di elementi indicativi di un'infestazione parassitaria genitale o intestinale il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti [7, 9, 11, 12, 24, 31, 34, 35]. Per quanto attiene la contaminazione dal Laboratorio, l'utilizzo di lettori automatizzati della frazione corpuscolata ha notevolmente ridotto la manipolazione dei campioni e quindi il rischio di contaminazioni da esposizione all'ambiente, così come l'utilizzo di dispositivi in plastica multicellette per microscopia (senza vetro) e l'impiego di guanti in vinile o nitrile (senza polveri aspersorie) hanno eliminato le relative contaminazioni.

Per ridurre il rischio che eventuali contaminanti possano generare errate informazioni è necessario che il personale addetto all'analisi riconosca i quadri morfologici relativi ai contaminanti e alle loro possibili origini, segnalando con opportuni commenti l'idoneità del campione o la necessità di procedere a una nuova e più accurata raccolta in conformità alle LG [7, 8].

Raccomandazioni

- ***È fortemente raccomandato fornire informazioni agli utenti circa le modalità di raccolta dei campioni urinari: preliminare accurata igiene dei genitali, raccolta da mitto intermedio, utilizzo di contenitori dedicati e provette sottovuoto.***
- ***È fortemente raccomandato che gli operatori acquisiscano le competenze per il riconoscimento dei contaminanti, il giudizio di idoneità del campione, e***

commentino opportunamente i casi in cui ripetere l'esame con raccolta conforme alle LG.

- ***È fortemente raccomandato il giudizio di non idoneità del campione urinario con protozoi di origine genitale o elminti (o loro uova) di origine fecale; rivestendo importanza clinica il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti.***

Sistemi per l'acquisizione e archiviazione di immagini in formato digitale

Collegati alla microscopia ottica sono disponibili sistemi di acquisizione di immagini, oggi facilmente reperibili sul mercato a costi contenuti e con possibilità di adattamento a sistemi di microscopia preesistenti; essi permettono:

- la creazione di atlanti "in linea", in cui riversare le immagini della propria casistica;
- lo svolgimento di funzioni educative durante il tutoraggio del personale in formazione (laureandi, specializzandi ecc.);
- la fruizione di teleconsulenze di colleghi più esperti mediante l'invio delle immagini di elementi urinari di difficile classificazione.

Valutazione della frazione corpuscolata delle urine mediante strumentazione automatizzata

Gli analizzatori per la valutazione e quantificazione automatizzata della frazione corpuscolata delle urine sono classificabili in tre categorie in base al principio di funzionamento:

- microscopia automatizzata;
- cattura di immagini;
- citofluorimetria.

Microscopia automatizzata: Il più diffuso analizzatore per l'analisi della frazione corpuscolata delle urine mediante automazione della microscopia (*cuvette based microscopy*, CBM) è l'analizzatore SediMAX (Menarini), al quale di recente si è aggiunto un sistema denominato Cobas 6500 (Roche). L'analisi richiede un volume minimo di campione di 2 ml. Un'aliquota di 200 µl viene iniettata all'interno di una particolare cuvetta che, una volta centrifugata, permette la formazione di un sottile film liquido su cui avviene la lettura con videocamera microscopica mediante illuminazione del campione tramite led verde a elevata potenza. Per ogni campione possono essere analizzati più campi microscopici a 400X, visualizzati attraverso 15 fotografie. Una speciale rete neurale,

supportata da un database contenente migliaia di immagini del sedimento, individua gli elementi in base alle loro caratteristiche morfologiche. È possibile evidenziare gli elementi identificati tramite un acronimo che compare sull'elemento stesso; gli elementi anomali, contigui e sovrapposti modificano l'aspetto morfologico perimetrale, non vengono quindi riconosciuti ed esclusi dal conteggio [97-103]. Recentemente è stata rilasciata una nuova versione dell'analizzatore SediMAX, che utilizza la microscopia in contrasto di fase in aggiunta al campo chiaro.

Cattura di immagini: Il primo analizzatore con tecnologia a cattura di immagini è stato l'analizzatore Iris iQ200 di Beckman. A questo sistema si sono ora aggiunti altri due sistemi, FUS 100 e 200 (Dirui) che ricalcano lo stesso principio di funzionamento. Tali sistemi incorporano un microscopio automatizzato con ottica focalizzata su cella planare a flusso laminare, nella quale le particelle contenute nel campione vengono focalizzate idrodinamicamente. Il flusso laminare consente di presentare il campione all'interno del piano focale dell'obiettivo del microscopio, orientando inoltre le particelle asimmetriche in modo che si presentino in posizione ortodromica per una migliore lettura e classificazione. Una lampada stroboscopica illumina con una frequenza di 24 flash al secondo il campione che transita attraverso la cella a flusso, consentendo a una camera digitale miniaturizzata di riprendere, isolare e memorizzare un elevatissimo numero di fotogrammi per campione. A ogni singola immagine viene sottratto il valore di fondo (background, sfondo), ripreso e digitalizzato precedentemente, esaltando in questo modo la morfologia della particella ripresa e il suo confronto con il medium liquido. Le singole immagini di una particella sono isolate all'interno di ogni fotogramma. Il software di riconoscimento delle particelle analizza con una rete neurale ogni elemento e lo confronta con oltre 26.000 immagini univoche; quindi, considerando le caratteristiche di dimensione, forma, contrasto e contenuto interno, lo classifica [104-109].

Citofluorimetria: L'unico analizzatore automatizzato della frazione corpuscolata delle urine mediante citofluorimetria è l'analizzatore Sysmex UF, di cui il modello 1000i è l'ultima evoluzione. Sysmex UF-1000i (Dasit) combina la tecnologia impendenziometrica con la citofluorimetria e utilizza come fonte luminosa un laser a diodi. Il campione urinario (0,8-1,2 ml) viene aspirato nel sistema, diluito con un tampone e sottoposto a un processo di colorazione con due fluorocromi polimetinici di recente concezione, in grado di legarsi agli acidi nucleici. Dopo un processo di focalizzazione idrodinamica, il campione viene fatto passare attraverso due celle a flusso, una dedicata all'analisi dei microrganismi e l'altra dedicata all'analisi di tutti gli altri elementi corpuscolati. Il passaggio delle singole particelle

viene riconosciuto con metodica impedenziometrica, che ne permette l'accurata quantificazione e fornisce indicazioni circa le loro dimensioni. Inoltre il passaggio delle particelle sospese nel flusso laminare devia il fascio di luce laser e genera un segnale di diffrazione che viene letto sia da rilevatori per lo scatter frontali (forward, 45°) e laterali (side, 90°) sia da un rilevatore di fluorescenza. I parametri misurati vengono convertiti in segnali elettrici che, analizzati attraverso algoritmi matematici, permettono l'identificazione dei diversi elementi presenti nell'urina. Per caratterizzare il campione, viene inoltre misurata la conduttività della soluzione, che è indice della concentrazione di elettroliti nelle urine. Il canale dei batteri funziona analogamente a quello degli altri elementi su specifiche orientate al conteggio e differenziazione dei microrganismi presenti nelle urine [110-116].

Tutti gli analizzatori automatici per la valutazione qualitativa e quantitativa della frazione corpuscolata delle urine hanno in comune alcuni vantaggi e presentano alcune problematiche.

- Esaminano urina nativa, eliminando così la centrifugazione, l'aspirazione del sovranatante, la risospensione del fondello e l'allestimento del preparato microscopico. Tali passaggi, presenti nella microscopia tradizionale, non solo introducono una notevole variabilità analitica, per la sostanziale assenza di standardizzazione, ma costituiscono dei colli di bottiglia organizzativi, con un ritardo nell'analisi della frazione corpuscolata che può modificare gli esiti analitici a scapito di precisione e accuratezza. Questo è tanto più rilevante nei Laboratori con elevati carichi di lavoro.
- La quantificazione degli elementi corpuscolati effettuata con analizzatori automatici è assai più ripetibile di quella effettuata da un osservatore umano al MO. Inoltre vengono forniti risultati quantitativi espressi in numero di particelle per unità di volume, evitando espressioni descrittive e soggettive quali "rari", "alcuni", "numerosi" ecc. La possibilità di quantificare gli elementi per unità di volume esaminato permette di standardizzare l'analisi e costituisce un indicatore oggettivo per la valutazione clinica.
- La capacità degli analizzatori di identificare correttamente gli elementi corpuscolati delle urine appare soddisfacente per quanto attiene gli eritrociti, i leucociti, le cellule epiteliali squamose, i batteri, i miceti ecc. Per contro l'identificazione dei cilindri appare meno soddisfacente, con possibilità di falsi positivi dovuti alla presenza di muco, aggregati cellulari, ammassi di cristalli; in questo caso sarà dirimente la valutazione morfologica. Al riguardo va ricordato che la presenza di muco testimonia nella gran parte dei casi una raccolta del campione scorretta, eseguita da mitto iniziale e non intermedio [106-114].

- La necessità di definire soglie di allarme, griglie per la revisione dei risultati, allarmi per l'anomalia del dato e/o del campione ha permesso di orientare le risorse e le competenze professionali su quei casi che beneficiano di opportuni approfondimenti. Paradossalmente proprio l'introduzione degli analizzatori automatizzati per il conteggio differenziale della frazione corpuscolata sta sempre più valorizzando la competenza morfologica degli operatori, dando un notevole valore aggiunto all'ECMU. Inoltre questi analizzatori permettono un agevole controllo di qualità interno, consentendo di valutare i principali parametri corpuscolati e di operare sulla scorta di elementi oggettivi.
- Tali analizzatori, al momento, non sono in grado di riconoscere i lipidi, i protozoi, numerosi cristalli segnalando generici allarmi, che devono essere colti in fase di revisione, così come non distinguono le cellule tubulari e le transizionali limitandosi genericamente a segnalare piccole cellule rotonde (*small round cells*) e cellule di grandi dimensioni (*large cells*).

In conclusione, gli analizzatori automatici per lo studio della frazione corpuscolata delle urine sono uno strumento indispensabile per garantire elevati standard analitici nei Laboratori di analisi, rimpiazzando l'esame morfologico tradizionale nei casi di semplice definizione, quantificando gli elementi corpuscolati con precisione e accuratezza paragonabili a quelli di un microscopista esperto, mediante adeguata tecnologia, metodologia e con carichi di lavoro ridotti e permettendo una selezione efficace dei casi per i quali si rende necessario un approfondimento con la microscopia tradizionale o con altri metodi d'indagine. Sono quindi in grado di focalizzare le risorse da dedicare alla microscopia sui casi clinici meritevoli di approfondimento, contribuendo quindi a migliorare le performance dei casi sia semplici sia complessi sotto il profilo diagnostico-clinico [97-116].

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***l'impiego del microscopio a contrasto di fase per la valutazione del sedimento urinario; l'osservazione microscopica delle urine in campo chiaro può essere un utile complemento visivo, per esempio con elementi pigmentati;***
- ***l'impiego del polarizzatore sia per la valutazione dei cristalli sia per il riconoscimento dei lipidi urinari. Tale dotazione fa parte del corredo necessario al Laboratorio e deve essere acquisita al pari dei reagenti analitici.***

- ***l'implementazione dei sistemi di acquisizione delle immagini microscopiche, sia per l'archiviazione di immagini significative a scopo didattico e documentale sia per applicazioni di teleconsulenza;***
- ***l'utilizzo degli analizzatori automatizzati della frazione corpuscolata nei Laboratori con un carico di lavoro > 40 ECMU giornaliere, per l'impatto positivo sulla standardizzazione dei processi analitici; è comunque raccomandato il loro impiego anche in realtà con carichi di lavoro inferiori;***
- ***la verifica microscopica in tutti quei casi in cui gli analizzatori automatizzati della frazione corpuscolata diano luogo ad allarmi riferiti a elementi anomali, interpretazioni dubbie, necessità di approfondimento;***
- ***la tipologia e le caratteristiche degli analizzatori da utilizzare siano valutate dal Laboratorio in merito alla compatibilità con le necessità operative, alla casistica esaminata e alle competenze degli operatori in modo da valorizzare i punti di forza e minimizzare i limiti strumentali.***

CQI e VEQ

Negli ultimi anni l'evoluzione del ruolo della Medicina di Laboratorio nella gestione del paziente e l'attenzione al contenimento dei costi hanno imposto al Laboratorio una valutazione del servizio fornito basata su criteri di efficacia. Tecnologie e metodi sempre più innovativi e accurati, insieme alla formazione del personale, a un adeguato ambiente di lavoro, a processi ben pianificati, all'erogazione di informazioni comprensibili per il giusto paziente al momento giusto, sono elementi fondamentali per garantire la qualità. In questo contesto è diventato cogente il superamento delle tecniche di controllo della qualità dalla fase puramente analitica alla promozione e sviluppo di sistemi di assicurazione della qualità del *Total Testing Process* (TTP).

La verifica di qualità è diventata pertanto uno degli elementi connotanti la pratica di Laboratorio. Infatti, contrariamente ad altre branche della Medicina, la messa in discussione del modo di operare, dei risultati ottenuti e perfino delle competenze e capacità diagnostiche degli operatori è costante e rituale.

In alcune regioni, la verifica esterna di qualità assume valore mandatorio per il mantenimento dell'autorizzazione all'esercizio professionale; la certificazione ISO (9001/2015 e 15189/2012) e i principali standard per l'accreditamento prescrivono l'adesione a programmi per il controllo di qualità interno ed esterno.

Nella fase analitica consideriamo il CQI (controllo di qualità interno), l'allineamento, i traguardi analitici; nella fase post-analitica la VEQ (verifica esterna di qualità) sia chimica sia morfologica [117-126].

Il CQI risponde all'esigenza di verificare le prestazioni analitiche di un metodo/sistema analitico in modo tale da fornire allarmi nel caso in cui quest'ultimo non stia più lavorando entro limiti di errore totale (ET) predefiniti. Il CQI va eseguito a ogni seduta di lavoro per validare la serie analitica secondo regole ben definite da Westegard [117-121]. Può e deve essere ripetuto più volte laddove le sedute analitiche siano protratte a lungo. È opportuno che la matrice dei campioni di controllo sia la stessa dei campioni analizzati, ma laddove questo non sia possibile dovrà avere caratteristiche analoghe. È raccomandato che il campione di controllo sia di parte terza, prodotto cioè da un fabbricante estraneo alla ragione sociale del produttore della strumentazione e dei reagenti [122].

Allineamento: quando in un Laboratorio sono presenti più strumenti per l'ECMU è necessario che questi siano allineati, ovvero che i risultati ottenuti dai diversi strumenti sullo stesso campione non varino oltre quanto accada sul singolo strumento. Per valutare quanto le variazioni siano casuali e indipendenti dallo strumento impiegato si può utilizzare il metodo statistico di Bland-Altman [123]**.** È importante che il campione utilizzato per la verifica dell'allineamento sia un campione urinario con una concentrazione intermedia di soluti e di elementi corpuscolati.

Traguardi analitici: per traguardo analitico (o specifica di qualità) di un test si intende la massima variazione accettabile nelle prestazioni di un metodo (Errore Totale) che non comprometta l'interpretazione clinica del dato.

Per definire i traguardi analitici di imprecisione [coefficiente di variazione (CV)%], inesattezza (bias%) ed Errore Totale, generalmente si fa riferimento ai concetti di variabilità biologica utilizzando le formule consigliate da Fraser, con le quali la performance analitica viene schematicamente distinta in: ottimale, desiderabile, soddisfacente, non soddisfacente. Nel caso dell'ECMU, tali traguardi non risultano in modo univoco [117-126].

La VEQ risponde all'esigenza di confrontare le prestazioni del Laboratorio e del metodo utilizzato con quelle di tutti gli altri partecipanti. Il fine ultimo è verificare l'esattezza della misura analitica, rispetto a un valore vero (ottenuto con metodi di riferimento) o di consenso (risultante cioè da quello determinato da tutti gli utilizzatori con lo stesso metodo o con metodi diversi).

Sono disponibili programmi di VEQ per la quasi totalità degli analiti del profilo biochimico, sia in fase liquida sia su dip-stick.

La scarsa diffusione dei programmi di VEQ per l'esame chimico-fisico delle urine mediante striscia reattiva è dovuta al fatto che, mentre la tracciabilità e la descrizione dell'incertezza di misura sono ben stabilite in chimica liquida, questi concetti sono ancora poco applicabili per le determinazioni di tipo semi-quantitativo o su scala ordinale utilizzate per l'esame delle urine. Molti schemi per l'analisi mediante dip-stick prendono in considerazione risultati solo di tipo qualitativo, raggruppandoli in una scala lineare (es. assente, tracce, positivo) ed esistono veramente pochi programmi di VEQ che utilizzano i risultati numerici corrispondenti [127]. Tra questi ultimi citiamo il programma di VEQ gestito dal CRB sin dal 2000, che vede una partecipazione di circa 300 Laboratori, nel quale l'elaborazione viene effettuata per sistema diagnostico (striscia reattiva) confrontando il risultato del Laboratorio con quello più frequente (moda) fornito dai partecipanti che utilizzano la stessa striscia. Questo tipo di VEQ, pur con i limiti intrinseci derivanti dal dover necessariamente raggruppare in categorie arbitrarie i risultati delle diverse strisce presenti sul mercato, può essere un valido aiuto per tenere sotto controllo l'esame chimico-fisico delle urine. Consente infatti di valutare come un Laboratorio si "collochi" nel contesto generale e favorisce la riduzione dell'errore analitico allertando il referente quando un valore fornito dal suo Laboratorio risulta appartenere a una classe di valori lontana da quella in cui cadono tutti gli altri risultati. Inoltre il programma di VEQ può contribuire alla standardizzazione della refertazione di alcuni parametri, come nel caso dell'emoglobina (mg/dl invece di Ery/µl) e a diffondere l'utilità della determinazione di importanti parametri, quali la creatinina ed il rapporto proteine/creatinina o meglio albumina/creatinina, che in Italia, al contrario di altri Paesi, sono ancora scarsamente utilizzati.

I programmi di VEQ per l'analisi della frazione corpuscolata delle urine sono ancora meno sviluppati rispetto ai programmi di VEQ per l'analisi chimica, quantitativa o semiquantitativa delle urine, poiché i risultati di tipo qualitativo per l'analisi morfologica in generale non possono essere suddivisi in rank e il giudizio su ogni singola risposta richiede la consulenza di un professionista esperto nella disciplina [128-133].

In Italia è attiva una VEQ per il sedimento urinario, basata sull'interpretazione di immagini degli elementi corpuscolati, per alcuni dei quali è richiesta una correlazione clinica; nel programma annuale è prevista anche la valutazione di casi clinici.

Gli esercizi che propongono casi clinici hanno lo scopo di approfondire una specifica patologia, mediante il confronto tra i risultati dell'esame chimico fisico e quelli ottenuti

dall'esame morfologico e la ricerca della motivazione di eventuali discrepanze tra i due tipi di informazione (per esempio il ritrovamento di un basso numero di eritrociti e leucociti in contrasto con il risultato di 1 mg/dl di emoglobina e 250 Leu/µl di esterasi leucocitaria, dovuto alla lisi delle cellule causata da una bassa densità) e l'individuazione del commento più appropriato da inserire nel referto. L'aspetto saliente è che l'Ente organizzatore si deve avvalere di uno o più consulenti molto esperti della patologia inerente i casi clinici trattati e disponibili a fornire assistenza al riguardo.

Nel report del programma di VEQ, oltre alla valutazione delle risposte del Laboratorio con il relativo punteggio, vengono forniti commenti esaustivi sul significato clinico di ogni elemento proposto. L'analisi delle risposte, raccolte in più di 15 anni di esperienza su questo tipo di VEQ, ne ha mostrato la grande utilità anche in termini educazionali [130-133]. In questo tipo di schemi di VEQ, infatti, per la refertazione dei risultati è richiesta una valutazione soggettiva da parte del professionista di Laboratorio; questi esercizi sono pertanto utili al Laboratorio per evidenziare eventuali necessità di formazione/aggiornamento e rappresentano uno stimolo per il personale preposto ad approfondire le conoscenze su una determinata patologia.

Insieme ai corsi teorico-pratici sull'argomento, questo programma di VEQ costituisce quindi un supporto indispensabile alla formazione dei partecipanti e ha quindi un suo spazio e un suo ruolo nell'educazione continua nella Medicina di Laboratorio italiana [130-133].

A tutt'oggi non è ancora disponibile una VEQ per l'analisi automatizzata della frazione corpuscolata: vi sono infatti difficoltà ad approntare un materiale tale da garantire la stabilità e l'integrità morfologica degli elementi in esame e che risulti idoneo all'analisi con tutti i sistemi disponibili sul mercato che utilizzano tecnologie molto diverse tra loro.

Raccomandazioni

È fortemente raccomandato:

- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto all'ECMU per la componente sia chimica sia morfologica*** [***117-124***];
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (3-4 volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico e interpretativo*** [***128-133***]***.***

L'ECMU: livelli diagnostici

Per le sue caratteristiche e soprattutto per la facilità di acquisire il campione, l'analisi delle urine è uno dei test più eseguiti anche al di fuori dell'ambito specialistico del Laboratorio [7, 8, 12].

Naturalmente, in relazione alle competenze e alle attrezzature utilizzate ne deriveranno accertamenti che differiscono anche sostanzialmente per accuratezza, precisione, sensibilità e specificità, con conseguenti marcate differenze circa la percentuale di veri positivi, veri negativi, falsi positivi, falsi negativi, che si traducono in una diversa affidabilità e penetranza diagnostica del test [7, 8, 12].

Occorre quindi differenziare in diversi livelli l'esame delle urine per non correre il rischio di attuare un'inappropriatezza analitica in relazione alla tipologia di accertamento, di paziente, di condizioni operative [7, 8, 12].

Raccomandazioni

- ***È fortemente raccomandato che il livello diagnostico sia in stretta relazione con la tipologia di pazienti valutata, permettendo una diagnosi efficace delle patologie riscontrabili con maggiore frequenza e un corretto indirizzo di quelle più rare o complesse a un opportuno approfondimento da effettuarsi presso strutture di livello più elevato per disponibilità di attrezzature, di competenze specialistiche e di procedure adottate.***

Livello I. È l'approccio base, di tipo generalista e non specialistico; utilizza una striscia reattiva per il solo esame chimico ed è solitamente utilizzato per confermare o smentire un sospetto diagnostico che per motivi di opportunità/necessità si ritiene di non poter differire; un classico esempio lo abbiamo nell'assistenza domiciliare, nell'ambulatorio medico/ pediatrico territoriale e in tutte quelle situazioni nelle quali il Laboratorio non risulti accessibile sulla scorta di una decisione clinica non rinviabile.

È utilizzabile in un ambito non specialistico, dove si accetta una minore affidabilità del test sulla base dell'impossibilità ad accedere a prestazioni diverse o della necessità di assumere decisioni cliniche non differibili.

Questa minore affidabilità deriva, oltre che dal processo non sufficientemente standardizzato, anche dai minori requisiti di competenza dell'operatore. Infatti l'esame può

essere eseguito dallo stesso paziente (autodiagnosi) o da un sanitario (infermiere, medico, farmacista) senza specifiche competenze e/o pratica di Laboratorio.

Non risultano evidenze circa l'opportunità di questa pratica in ospedali ove siano attivi Laboratori h. 24; per questo essa è sconsigliata in quanto non standardizzata, quasi sempre senza la necessaria verifica di qualità, quasi mai documentata.

Può trovare applicazione nei POCT di cui il Laboratorio garantisca la gestione secondo regole condivise e documentate con apposite procedure e programmi di controllo di qualità.

Raccomandazioni

- ***È fortemente raccomandata la lettura strumentale della striscia reattiva per eliminare la soggettività nella valutazione della reazione cromatica e la stampa o memorizzazione automatica dei risultati.***
- ***Non è raccomandabile questo livello al letto del paziente nei reparti degli ospedali dove risulti attivo un Servizio di Medicina di Laboratorio h 24.***
- ***È raccomandato che la valenza analitica di questo livello sia solo di supporto al sospetto clinico. Laddove l'esito risulti discordante è opportuno che non abbia valore definitivo, ma che indirizzi a ulteriori indagini.***
- ***È raccomandata la presenza delle tabelle degli interferenti con i test utilizzati nella striscia reattiva per facilitare la comprensione dei risultati, soprattutto quelli inattesi, ed eliminare incertezze nella valutazione del dato.***
- ***È raccomandata l'archiviazione dei risultati dei test eseguiti: per poterli rivalutare alla luce di modificate condizioni cliniche, per consentire il confronto di esiti successivi, per poter documentare l'attività svolta.***

Livello II. È l'approccio più semplice all'attività specialistica di Laboratorio: per le tecnologie utilizzate, per la standardizzazione del processo, per le competenze e la pratica degli operatori [7, 8, 12].

È raccomandato che venga espresso il giudizio di idoneità del campione circa la corretta esecuzione della fase preanalitica relativamente a preparazione del paziente, raccolta, volume, identificazione, tempo e temperatura di conservazione, sicurezza biologica per gli operatori [7-12, 27, 29, 134-140].

Durante la fase analitica è raccomandata la verifica dell'assenza di contaminanti fecali (fibre vegetali o carnee) e genitali (cellule vaginali, spermatozoi); questi elementi sono legati a una contaminazione non evidente a occhio nudo ma rilevata da reperti nella componente corpuscolata [7-12, 27, 29, 134-140].

A questo proposito è opportuno raccomandare che nella refertazione si evitino sia le omissioni circa la contaminazione, che potrebbero dare luogo a inopportuni allarmi per una patologia urinaria in realtà inesistente (come nel caso di positività per proteine, leucociti, emazie e batteri presenti nel materiale contaminante), sia le espressioni legate alla natura del contaminante stesso (es. spermatozoi), limitandosi a inserire un commento del tipo: "campione non idoneo per evidente contaminazione, si consiglia di ripetere la raccolta attenendosi alle modalità prescritte dal Laboratorio". Nel caso di parassiti intestinali patogeni, questi vanno segnalati insieme alla contaminazione perché legati a un'evidente parassitosi di cui il curante deve essere messo a conoscenza [7-12, 27, 29].

Il criterio di idoneità analitica del campione vale anche per tutti i livelli superiori, mentre non risulta praticabile per il livello I con sola striscia reattiva [7-12, 27, 29, 112-114, 127-134].

- ✓ All'esame chimico deve essere sempre associata la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata (o su analizzatori automatizzati o in microscopia standardizzata). Il Laboratorio deve risolvere le possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici [7-12, 27, 29].

Questo livello deve essere praticato anche nella diagnostica d'urgenza, in modo da poter rispondere in modo adeguato alle esigenze del paziente, assicurando nelle 24 ore i necessari requisiti di standardizzazione in accordo con il sistema di gestione della qualità adottato e con i clinici richiedenti. Naturalmente questa raccomandazione deve tenere in debito conto il contesto e le necessità cliniche, oltre che la disponibilità strumentale e di personale competente.

- ✓ Deve essere attuato un adeguato programma per il controllo e la verifica della qualità analitica [7-12].
- ✓ In conformità con i documenti dei maggiori organismi per la promozione della qualità e della standardizzazione, devono essere valutati i seguenti parametri [7-12, 27, 29]:

- parametri irrinunciabili e di indubbia utilità: proteine/albumina, creatinina, densità relativa/conduttività, emoglobina, pH;
- parametri utili e di verifica per il Laboratorio: nitriti, esterasi, ascorbato.

Tutti i parametri chimici, con l'eccezione di pH e nitriti, devono essere espressi in concentrazione.

Gli altri parametri, a eccezione dei chetoni in ambito pediatrico, sono da considerare poco utili se non in casi selezionati e pertanto, in caso di necessità di valutazioni metaboliche, i relativi parametri dovrebbero essere vantaggiosamente sostituiti da dosaggi diversi e più efficaci oppure, in caso di specifiche e motivate richieste, dosati con metodi più performanti.

Relativamente alla componente corpuscolata è obbligatorio esprimere, in termini di concentrazione n./μl o n./campo microscopico HPF, i seguenti parametri irrinunciabili e di indubbia utilità: emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri.

L'espressione dei parametri morfologici in termini di concentrazione impone la definizione di valori di riferimento. Trattandosi di indicatori di lesione, devono esprimere il solo limite superiore (URL) di norma riferito al 95° percentile ed è opportuno che ciascun Laboratorio calcoli i propri sulla base della metodologia utilizzata e della popolazione esaminata [135-136].

Parametri morfologici utili clinicamente sono: batteri, miceti, identificazione dei cristalli (acido urico, urato e fosfati amorfi, ossalato di calcio, triplo fosfato, cistina, farmaci ecc.).

Rispetto all'esame eseguito al livello I è possibile acquisire una quota significativa (tra il 12% e 30%) di informazioni aggiuntive relative alla frazione corpuscolata, che il solo esame su striscia reattiva non è in grado di fornire (es. cilindri, miceti, cellule tubulari, contaminanti ecc.) [7-9, 24, 31].

- ✓ *Le* ***competenze professionali*** sono quelle specialistiche: medico specialista (discipline di Laboratorio o nefrologia nel caso di aree diagnostiche nell'Unità di Nefrologia), biologo specialista, tecnico sanitario di Laboratorio biomedico (TSLB). Le abilità devono prevedere il riconoscimento morfologico degli elementi di più frequente riscontro in termini tali da non risultare equivoci e la segnalazione dell'opportunità di un approfondimento morfologico, microbiologico, biochimico (Tab. 7).

Per garantire la necessaria standardizzazione del processo è fortemente raccomandato l'utilizzo degli analizzatori automatizzati sia per l'analisi chimica sia per l'esame della frazione corpuscolata, interfacciati al sistema informatico del Laboratorio (LIS).

Solo per routine di ridotta entità (< 40 campioni/die) è accettabile eseguire l'esame chimico con sistemi semi-automatizzati, ma è raccomandabile che siano interfacciati con il LIS.

Per routine di media-alta entità (> 100 campioni/die) è fortemente raccomandata l'analisi degli elementi corpuscolati con sistemi automatizzati in grado di eseguire il conteggio differenziale, con approfondimenti morfologici in microscopia a contrasto di fase e luce polarizzata.

L'utilizzo esclusivo dell'esame microscopico della frazione corpuscolata è raccomandato solo per routine di ridotta entità, nei casi in cui il tempo impiegato per l'allestimento dei preparati non pregiudichi la conservazione e l'integrità del campione [110, 140].

Nelle routine medio-alte sono raccomandati software esperti in grado di rendere agevole il rilascio veloce dei risultati non patologici e/o congruenti, la gestione delle possibili discordanze tra l'esame chimico e morfologico, l'inserimento di commenti preordinati per le situazioni di frequente riscontro, la selezione dei casi per i quali sia richiesto un più elevato livello per l'approfondimento specialistico laddove possibile e/o necessario [110, 140].

La ***valenza analitica*** di questo livello si estrinseca nella possibilità di diagnosticare con un buon grado di efficacia patologie ben espresse a livello urinario. Per patologie a elevata complessità, con un'espressione modesta e/o incostante di indicatori di lesione e/o di funzione e in presenza di specifici quesiti/sospetti clinici, è raccomandato attuare un livello diagnostico superiore.

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***il giudizio di idoneità del campione;***
- ***l'associazione tra l'esame chimico e la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata;***
- ***la risoluzione, da parte del Laboratorio, delle possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici;***
- ***l'esecuzione di quei parametri fisico-chimici di utilità sia diagnostica sia per la pratica di Laboratorio;***
- ***che emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri siano espressi in concentrazione;***
- ***l'utilizzo di analizzatori automatici sia per la componente chimica che corpuscolata in routine di media/alta entità;***
- ***l'utilizzo di software esperti per il trattamento dei dati e il collegamento delle strumentazioni al LIS;***

- ***che laddove la complessità del caso superi le possibilità diagnostiche di questo livello siano prescritti approfondimenti di livello superiore;***
- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto all'ECMU per la componente sia chimica sia morfologica*** [***117-133***];
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (3-4 volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico e interpretativo.***

Livello III. È l'approccio specialistico avanzato di Laboratorio: per le tecnologie utilizzate, per la standardizzazione del processo, per le competenze e la pratica degli operatori esprime il più alto livello riferibile all'ECMU; esso prevede [7-9, 24, 31-35]:

- un impegno tecnologico e professionale rilevante;
- la standardizzazione dell'intero processo, l'approfondimento microscopico su casi selezionati con griglie e/o criteri definiti sulla base della casistica esaminata in ogni Laboratorio;
- l'espressione di commenti riferiti alla valutazione analitica e alla possibile interpretazione in chiave clinica.

Si raccomanda che l'esame chimico venga eseguito su analizzatori automatizzati con elevato controllo del processo e della qualità analitica e che l'esame della frazione corpuscolata venga eseguito su urina nativa da un analizzatore automatizzato, con produzione di allarmi e segnalazioni che permettano la selezione di casi per gli approfondimenti necessari su base analitica e su base clinica, a cui far seguire la produzione di un commento interpretativo. Sotto il profilo analitico è raccomandato che la misura dell'albuminuria sia accurata e precisa e rapportata alla creatinina urinaria, per la crescente importanza di questo parametro nella valutazione del danno e della funzione renale [7-9, 24, 31-35].

Per quanto attiene l'idoneità del campione e i parametri chimici e morfologici da valutare, vale quanto previsto per il livello II con l'integrazione per quanto riguarda le dotazioni in relazione agli approfondimenti da effettuare in situazioni patologiche:

- proteinurie: determinazione quantitativa di albumina e proteine specifiche;
- cristallurie: microscopio a contrasto di fase e con filtro polarizzato, pH-metro;
- ematurie: camere di conta specifiche (FuchsRosenthal);

- emoglobinuria: riconoscimento dell'emoglobina con metodo immunologico, infatti la sola reattività della pseudoperossidasi non è probatoria di emoglobinuria in assenza di ematuria, in quanto la reattività pseudoperossidasica non risulta dirimente tra emoglobinuria e mioglobinuria;
- citologia: colorazioni appropriate per migliorare la definizione di immagini riferite a elementi o cellule di dubbia o complessa interpretazione;
- sistemi di registrazione e archiviazione delle immagini.

Agli operatori già previsti nel livello II vengono richieste competenze professionali che devono prevedere, oltre al riconoscimento morfologico degli elementi comunemente riscontrabili nella routine, la segnalazione della presenza di elementi patologici di non frequente riscontro e la possibilità di effettuare o proporre nella stessa sede l'approfondimento morfologico/biochimico necessario. In particolare, per il III livello morfologico è richiesta la capacità di effettuare una valutazione del quadro microscopico relazionandolo a un quadro sindromico laddove richiesto dal clinico o dalla gravità del caso (Tab. 8) [7-9, 24, 31-35].

La valenza analitica di questo livello si esprime nella possibilità di valutare con un elevato grado di efficacia patologie renali e urologiche, anche a elevata complessità e con una bassa concentrazione di indicatori di lesione e/o di funzione a livello urinario. È l'accertamento indicato per pazienti nefrologici, urologici o internistici con un coinvolgimento renale.

Per la definizione di particolari quesiti/sospetti clinici possono essere necessari specifici accertamenti ed è quindi raccomandato attuare un livello diagnostico superiore.

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***una dotazione strumentale che permetta la determinazione quantitativa di albumina urinaria con sensibilità analitica rapportata alle crescenti esigenze cliniche;***
- ***una dotazione microscopica con contrasto di fase, luce polarizzata, luce trasmessa, archiviazione di immagini;***
- ***l'utilizzo di camere di conta microscopica per le necessarie verifiche e/o approfondimenti;***

- ***che le competenze professionali siano attestate da un percorso formativo-esperenziale, da adeguato aggiornamento e da programmi di verifica della competenza gestiti da Enti terzi;***
- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità dell'ECMU secondo programmi annuali definiti*** [***117-133***];
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (3-4 volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico e interpretativo.***

Sono raccomandati:

- ***l'uso di un pH-metro per le tutte le misurazioni rilevanti analiticamente o clinicamente;***
- ***l'uso di reattivi per rilevare immunologicamente l'emoglobinuria in assenza di ematuria.***

Livello IV. Esprime in modo efficace l'interazione tra Medicina Clinica e di Laboratorio finalizzata a uno specifico quesito diagnostico; in questo caso non siamo più di fronte a un esame schematicamente preordinato, ma a un accertamento modulato sulle esigenze diagnostiche del paziente e in base a una forte interazione con il clinico ed eventualmente anche con il paziente. È infatti un'indagine diagnostica che procede con l'anamnesi, la raccolta del campione con le modalità, l'esame del campione teso a valorizzare i caratteri patognomonici e gli elementi di diagnostica differenziale su base microscopica e/o strumentale, per concludersi con un referto interpretativo e un'indicazione clinica [7-9, 24, 31-35].

Le competenze morfologiche indispensabili per il livello IV sono le stesse indicate per il livello III, ma integrate dall'utilizzo di specifici strumenti atti al riconoscimento non solo presuntivo degli elementi del sedimento e alla definizione/esclusione di una patologia in atto; in particolare:

1. utilizzo dell'osmometro per la più compiuta valutazione della capacità di concentrazione renale;

2. valutazione del pH urinario con piaccametro e utilizzo del polarizzatore per la valutazione dei cristalli e dei lipidi;

3. differenziazione morfologica degli eritrociti, con espressione in percentuale delle popolazioni isomorfica e dismorfica e degli acantociti;

4. allestimento di colorazioni specifiche, per la differenziazione di leucociti e macrofagi, per la definizione della componente citologica o microbiologica o parassitaria;

5. documentazione e archiviazione immagini;

6. dosaggi biochimici e/o immunochimici specifici;

7. coinvolgimento di altri specialisti per la gestione "in team" di casi particolarmente complessi.

Esempi di quesiti per il livello IV

Origine dell'ematuria: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; espressione in percentuale delle due popolazioni eritrocitarie, isomorfiche e dismorfiche e, nell'ambito di queste ultime, il riconoscimento degli acantociti, che correlano con la presenza di ematuria di origine glomerulare; ricerca di altri elementi caratterizzanti (cilindri ematici, altre tipologie di cilindri, cellule tubulari, cellule dell'epitelio transizionale, cristalli ecc.); eventuale determinazione di albumina/creatinina e/o proteine/creatinina in caso di ematuria glomerulare, eventuale determinazione dell'α_2-macroglobulina per confermare un'ematuria post-glomerulare, eventuale classificazione dell'ematuria (glomerulare/non glomerulare/mista); emissione di un referto commentato.

Origine della proteinuria [pre-renale, renale (glomerulare/tubulare/mista), post-renale; ECMU con dip-stick, diagnostico solo per albuminuria, in minima parte per alcune proteine tubulari, mai per la proteinuria di Bence Jones. L'ECMU con misurazione della PCR: se < 200 mg/g si conclude per proteinuria nella norma. Se PCR > 200 mg/g, caratterizzare la proteinuria mediante elettroforesi delle urine e determinazione di proteine specifiche a cascata: albumina, α_1-microglobulina, transferrina, IgG, catene leggere Kappa e Lambda. Naturalmente i valori citati sono metodo-dipendenti ed è opportuno che ciascun Laboratorio rapporti i valori di riferimento al metodo utilizzato.

Sindrome nefritica e/o nefrosica: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari, lipidi ecc.); determinazione proteine/creatinina, albumina/creatinina; emissione di un referto commentato.

IVU di difficile inquadramento e/o trattamento: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali, con particolare riguardo ai valori di leucociti e batteri; esame microscopico, con ricerca degli elementi significativi utili a confermare e connotare la presenza di IVU e a escludere una contaminazione (emazie, cilindri

leucocitari e batterici, macrofagi, cellule epiteliali squamose, muco ecc.); emissione di un referto commentato.

Sospetta nefrotossicità da farmaci: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari, cristalli ecc.); determinazione albumina/creatinina e proteine totali/creatinina; determinazione proteine di origine tubulare; elettroforesi delle proteine urinarie; emissione di un referto commentato.

Insufficienza renale acuta: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; esame microscopico del sedimento con ricerca di tutti gli elementi caratterizzanti (emazie, leucociti, cilindri, cellule tubulari ecc.); osmolarità urinaria; concentrazione sodica urinaria; frazione di escrezione del sodio; determinazione NGAL, KIM-1 e/o altri biomarcatori urinari.

Valutazione della diatesi calcolotica: ECMU; pH-metria; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; analisi del sedimento a fresco ed eventuale valutazione dei cristalli (tipologia, dimensioni, presenza di aggregati ecc.); esecuzione profilo biochimico su urine (creatinina, urea, Ca, Mg, P, Na, K, Cl, cistina, citrati, ossalati); analisi in spettrometria IR della composizione del calcolo.

Ricerca e identificazione di parassiti; ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; raccolta temporizzata e con fase preanalitica controllata (schistosoma); esame microscopico del sedimento a fresco; eventuali colorazioni specifiche; emissione di un referto commentato.

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***l'emissione di un referto adeguatamente commentato e mirato a rispondere al quesito inizialmente posto;***
- ***la formulazione di un'indicazione diagnostica, utilizzando, per esempio, come gradazione (in senso crescente) della forza dell'associazione i termini: compatibile, suggestivo, indicativo;***
- ***l'espressione di un criterio di idoneità analitica avvalorato dall'interazione con il medico curante e con il paziente;***
- ***che questo impegnativo livello sia praticato solo se presenti le necessarie competenze di fisiopatologia renale e di microscopia clinica, attestate da un***

percorso formativo-esperenziale, da un adeguato aggiornamento e dai programmi di verifica della competenza gestiti da enti terzi.

Strategia per un approccio analitico graduato all'esame chimico e morfologico delle urine

Ciascun Laboratorio, in base alla casistica di afferenza, alla tipologia della richiesta, al grado di competenza professionale degli operatori e alle dotazioni tecnologiche, deve individuare il livello diagnostico erogabile, e di conseguenza definire le procedure da adottare e il grado di approfondimento diagnostico disponibile.

L'esame morfologico deve essere sempre effettuato a partire dal livello II. Non è ammissibile la pratica di decidere se eseguire o meno l'esame morfologico sulla base dei risultati dell'esame chimico-fisico e della casistica esaminata, in quanto esporrebbe il Laboratorio a un numero eccessivo di falsi negativi e ridurrebbe notevolmente l'efficacia diagnostica del test.

La decisione di effettuare una revisione microscopica dei campioni dopo l'esame morfologico automatizzato deve invece essere valutata sulla base di criteri di selezione espliciti e formalizzati che, in presenza di un software gestionale dedicato, potranno essere selezionati automaticamente; l'operatore potrà comunque individuare ulteriori campioni da inviare all'approfondimento microscopico sulla base di segnalazioni o allarmi strumentali, incongruenze tra esame chimico e morfologia automatizzata, pazienti critici per esiti analitici o decorso clinico.

Raccomandazioni conclusive

Con queste LG il GIAU si propone di stimolare i seguenti aspetti.

- ***Migliorare e standardizzare l'approccio analitico all'ECMU delle urine con il presupposto di una raccolta e di un processo preanalitico ben condotto.***
- ***Sottolineare il valore aggiunto, in termini di informazioni e standardizzazione metodologica, delle nuove tecnologie (citofluorimetria urinaria, cattura digitale di immagini, microscopia automatizzata) adottate dagli analizzatori per lo studio della morfologia della frazione corpuscolata delle urine.***
- ***Ricondurre ai soli elementi utili clinicamente o necessari alla pratica analitica i parametri misurati e proposti alla refertazione.***
- ***Migliorare l'analisi chimica delle urine; in particolare, la determinazione dell'albumina dovrebbe essere effettuata con metodo immunoturbidimetrico e***

il risultato dovrebbe essere espresso in rapporto a indicatori di concentrazione urinaria quali la creatinina, permettendo, attraverso la normalizzazione, una valutazione più attendibile del risultato e in linea con le esigenze cliniche.

- ***Aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria e delle loro relazioni con la clinica.***
- ***Disporre delle basilari dotazioni tecnologiche per la microscopia a contrasto di fase e a luce polarizzata per valutare adeguatamente elementi di indubbio rilievo clinico: cellule, cilindri, lipidi, cristalli ecc.***
- ***Attuare una politica di verifica della qualità analitica che, oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni, preveda un programma per la valutazione della competenza morfologica.***
- ***Misurare ed esprimere in termini quantitativi sia i parametri fisico-chimici sia i principali elementi corpuscolati.***
- ***Approfondire l'analisi compiuta, ove necessario, con ulteriori indagini fisico-chimiche e morfologiche che permettano di risolvere eventuali incongruenze analitiche o di orientare in maniera più sicura il percorso diagnostico-terapeutico del paziente.***
- ***Stimolare l'industria diagnostica a concentrare gli sforzi di ricerca e messa a punto metodologica e strumentale per aderire alle esigenze clinico-diagnostiche.***

L'auspicio è rivalutare l'enorme potenziale diagnostico dell'ECMU, attuando un esame delle urine personalizzato sulle esigenze diagnostiche che ogni paziente porta con sé.

Conflitti di interessi Nessuno

Dichiarazione etica

L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori

Bibliografia

1. Grilli R, Penna A, Zola P et al (1996) Physician's view of practice guidelines. Soc Sci Med 43:1283-1287
2. Formoso G, Liberati A, Magrini N (2001) Practice guidelines: useful and «participative» method? Survey of Italian physicians by professional setting. Arch Int Med 161:2037-2042
3. Burnand B (1999) Clinical practice guidelines. A public health perspective. Eur J Public Health 9:83-85
4. Coomarasamy A (2004) Searching for evidence to inform clinical practice. Current Obstetrics & Gynaecology 14:142-146
5. Lilford R, Richardson A, Stevens A et al (2001) Issues in methodological research: perspectives from researchers and commissioners. Health Technol Assess 15:1-57
6. Grilli R (2002) AGREE uno strumento per la valutazione della qualità delle linee guida. Dossier 60 Bologna. Agenzia Sanitaria Regionale dell'Emilia-Romagna
7. European Confederation of Laboratory Medicine. European Urinalysis Guidelines (2000) Scand J Clin Lab Invest 231(Suppl.):1-86
8. CLSI GP-16 A3 (2009) Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline. 3rd Edition 29:4-21
9. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) (2006) Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A National Clinical Guideline. Edinburgh (Scotland), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). SIGN publication n. 88
10. Kuori T, Gyory A, Rowan M (2003) ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. Lab Hematol 9:58-63
11. Linea Guida Regione Emilia Romagna (2010). Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Dossier 190
12. British Columbia Health Service (2005) Guidelines for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. www.healthservices.gov.bc,ca/msp/protoguides (Accesso: luglio 2016)
13. Atkins D, Best D, Briss P et al (2004) Grading quality of evidence and strength of recommendations. BMJ 328:1490-1495
14. Guyatt G, Gutterman D, Baumann MH et al (2006) Grading strength of recommendations and quality of evidence in clinical guidelines: report from American College of chest physicians task force. Chest 129:174-181
15. Levey AS, de Jong PE, Coresh J et al (2011) The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. Kidney Int 80:17-28
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2007) Prevalence of chronic kidney disease and associated risk factors – United States, 1999-2004. MMWR Morb Mortal Weekly Rep 56:161-165. www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ mm5608a2. (Accesso: luglio 2016)
17. Zoccali C, Kramer A, Jager KJ (2010) Chronic kidney disease and end-stage renal disease – a review produced to contribute to the report "the status of health in the European union: towards a healthier Europe". NDT Plus 3:213-224
18. Gambaro G, Yabarek T, Graziani MS et al (2010) Prevalence of CKD in northeastern Italy: results of the INCIPE study and comparison with NHANES. Clin J Am Soc Nephrol 5:1946-1953
19. Chacko KM, Feinberg LE (2007) Laboratory screening at preventive health exams: trend of testing, 1978-2004. Am J Prev Med 32:59-62
20. Woolhandler S, Pels RJ, Bor DH et al (1989) Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders. I. Hematuria and proteinuria. JAMA 262:1214-1219

21. Pels RJ, Bor DH, Woolhandler S et al (1989) Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders II Bacteriuria. JAMA 262:1221-1224
22. Yuno T, Hisada Y, Nishimura Y (2013) A review of urinary examination - what medical practice expects now and what urinary examinations have to provide in the future. Rinsho Byori 61:622-628
23. Cho BS, Hahn WH, Cheong HI el al (2013) A nationwide study of mass urine screening tests on Korean school children and implications for chronic kidney disease management. Clin Exp Nephrol 17:205-210
24. Brunzel Nl (2003) Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis. 3th Edition. Elsevier
25. Prochazka AV, Lundahl K, Pearson W et al (2005) Support of evidence-based guidelines for the annual physical examination: a survey of primary care providers. Arch Intern Med 165:1347-1352
26. Simerville J, Maxted W, Pahira J (2005) Urinalysis: A Comprehensive Review. Am Fam Physician 71:1153-1162
27. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D et al (2013) Preanalytical quality improvement: in quality we trust. Clin Chem Lab Med 51:229-241
28. McNulty CA, Thomas M, Bowen J et al (2008) Improving the appropriateness of laboratory submissions for urinalysis from general practice. Fam Pract 25:272-278
29. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG et al (2011) Mid-stream vs first-voided urine collection by using automated analyzers for particle examination in healthy subjects: an Italian multi center study. Clin Chem Lab Med 50:679-684
30. Rao PK, Gao T, Pohl M et al (2010) Dipstick pseudo hematuria: unnecessary consultation and evaluation. J Urol 183:560-564
31. Mc Bride L. Textbook of Urinalysis and Body Fluids: A Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins 1997
32. Kanbay M, Kasapoglu B, Perazella MA (2010) Acute tubular necrosis and pre-renal acute kidney injury: utility of urine microscopy in their evaluation – a systematic review. Int Urol Nephrol 42:425-433
33. Perazella MA, Coca SG, Hall IE et al (2010) Urine microscopy is associated with severity and worsening of acute kidney injury in hospitalized patients. Clin J Am Soc Nephrol 5:402-408
34. Mundt L, Shanahan K. Graff's Textbook of Urinalysis and Body Fluids. Lippicott, Williams & Wilkins 2011
35. Ross D, Neely A. Textbook of Urinalysis and Body Fluids. Appleton & Lange 1982
36. Braeckman L, Haak E, Peremans L (2012) Routine dipstick urinalysis in daily practice of Belgian occupational physicians. Arch Public Health 70:1-15
37. Rigby D, Gray K (2005) Understanding urine testing. Nurs Times 101:60-62
38. Berry J (2003) Microalbuminuria testing in diabetes: is a dipstick as effective as laboratory tests? Br J Community Nurs 8:267-273
39. Patel HD, Livsey SA, Swann RA et al (2005) Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload? J Clin Pathol 58:951-954
40. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney International Supplements. March 2012 Volume 2 Issue 1
41. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the evaluation and management chronic Kidney disease. Kidney International Supplements. January 2013 Volume 3 Issue 1
42. Ruggenenti P, Porrini E, Motterlini N et al (2012) Measurable Urinary Albumin Predicts Cardiovascular Risk among Normoalbuminuric Patients with Type 2 Diabetes. J Am Soc Nephrol 23:1717-1724
43. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) (2013)

ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. J Hypertension 31:1281-1357
44. Graziani MS, Secchiero S, Terreni A et al (2015) La diagnostica di laboratorio della malattia renale cronica in Italia: armonizzare è d'obbligo. Biochimica Clinica 39:617-626
45. Graziani M, Lo Cascio C, Caldini A et al (2007) Indagine conoscitiva sulla determinazione quantitativa della albumina nelle urine nei laboratori italiani. Biochimica Clinica 31:290-296
46. Graziani M, Caldini A per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Diabete Mellito (2011) Indicazioni per la misura dell'albumina nelle urine per l'accertamento e il monitoraggio della nefropatia diabetica. Biochimica Clinica 35:127-130
47. Turchetti E, Fasi R (1998) Elementi di Fisica. 1ª edizione. Zanichelli, 1998
48. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M et al (2009) Laboratory diagnosis of renal failure: urine conductivity and tubular function. Minerva Urol Nefrol 61:17-20
49. Wang JM, Wen CY, Lin CY et al (2014) Evaluating the performance of urine conductivity as screening for early stage chronic kidney disease. Clin Lab 60:635-643
50. FazilMarickar YM (2010) Electrical conductivity and total dissolved solids in urine. Urol Res 38:233-235
51. Sing RI, Singal RK (2012) What is significant hematuria for the primary care physician? Can J Urol 19(Suppl.1):36-41
52. Higashihara E, Nishiyama T, Horie S et al (2008) Hematuria: definition and screening test methods. Int J Urol 15:281-284
53. McDonald MM, Swagerty D, Wetzel L (2006) Assessment of microscopic hematuria in adults. Am Fam Physician 15;1748-1754
54. Cohen RA, Brown RS (2003) Clinical practice. Microscopic hematuria. N Engl J Med 348:2330-2338
55. Ma J, Wang C, Yue J et al (2013) Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. Clin Lab 59:1297-1303
56. Boven LA, Kemperman H, Demir A (2012) A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. ClinChem Lab Med 250:751-753
57. Khasriya R, Khan S, Lunawat R et al (2010) The inadequacy of urinary dipstick and microscopy as surrogate markers of urinary tract infection in urological outpatients with lower urinary tract symptoms without acute frequency and dysuria. J Urol 183:1843-1847
58. Aspevall O, Hallander H, Gant V et al (2001) European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clin Microbiol Infect 7:173-178
59. Marschal M, Wienke M, Hoering S et al (2012) Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. Diagn Microbiol Infect Dis 72:125-130
60. Kouri T, Malminiemi O, Penders J et al (2008) Limits of preservation of samples for urine strip tests and particle counting. Clin Chem Lab Med 46:703-713
61. Fabbro C, Darolles J, Rault JP (2011) Preservation of urine samples for UF 1000i analysis. Ann Biol Clin 69:588-592
62. Komarova O, van derMeer W, Levtchenko E et al (2003) Effective chemical preservation of morphology of urinary erythrocytes. Pediatr Nephrol 18:665-666
63. Kouri T, Vuotari L, Pohjavaara S et al (2002) Preservation of urine for flowcytometric and visual microscopic testing. Clin Chem 48:900-905

64. del Rosario-Rodríguez M, Rodríguez-Moreno I, León MT et al (1999) A new chemical preservative that permits analysis of urine sediment for light microscopic examination 12 h after emission. Nephron 82:65-71
65. Mody L, Juthani-Mehta M (2014) Urinary tract infections in older women: a clinical review. JAMA 311:844-854
66. Sundvall PD, Gunnarsson RK (2009) Evaluation of dipstick analysis among elderly residents to detect bacteriuria: a cross-sectional study in 32 nursing homes. BMC Geriatr 9:32-38
67. Kodikara H, Seneviratne H, Kaluarachchi A et al (2009) Diagnostic accuracy of nitrite dipstick testing for the detection of bacteriuria of pregnancy. Public Health 123:393-394
68. American Diabetes Association (2015) Standards of Medical Care in Diabetes – 2015. Diabetes Care 38(Suppl.1):S1-S94
69. Shivaraj G, Prakash B, Shruthi S et al (2010) Markers of renal function tests. N Am J Med Sci 2:170-173
70. Edmund L, David J (2006) Kidney function tests. In: Carl AB, Edward R, David E (Eds) Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th Edition. New Delhi: Elsevier, pp. 797-808
71. Arvind B, Anurag B, Shina M (2005) Approach to Renal Tubular Disorders. Indian J Pediatrics 72:771-776
72. Fogazzi GB, Saglimbeni L, Banfi G et al (2005) Urinary sediment features in proliferative and non-proliferative glomerular diseases. J Nephrol 18:703-710
73. Emerson JF, Emerson SS (2005) Evaluation of a standardized procedure for microscopic cell counts in body fluids. J Clin Lab Anal 19:267-275
74. Fogazzi GB, Grignani S (1998) Urine microscopic analysis an art abandoned by nephrologists? Nephrol Dial Transplant 13:2485-2487
75. Fogazzi GB, Cameron JS (1996) Urinary microscopy from the seventeenth century to the present day. Kidney Int 50:1058-1068
76. Fogazzi GB, Cameron JS (1995) The introduction of urine microscopy into clinical practice. Nephrol Dial Transplant 10:410-413
77. Tsai JJ, Yeun JY, Kumar VA et al (2005) Comparison and interpretation of urinalysis performed by a nephrologist versus a hospital-based clinical laboratory. Am J Kidney Dis 46:820-829
78. Fogazzi GB, Grignani S, Colucci P (1999) Urinary microscopy as seen by nephrologists. ClinChem Lab Med 36:919-924
79. Fogazzi GB, Garigali G (2014) Urinalysis. In Johnson RJ et al (Eds) Comprehensive Clinical Nephrology. 5th Edition. Elsevier Saunders
80. Fogazzi GB (2010) The Urinary Sediment An Integrated View. 3rd Edition. Milano: Masson
81. Hisano S, Sasatomi Y, Kiyoshi Y et al (2001) Macrophage subclasses and proliferation in childhood IgA glomerulonephritis. Am J Kidney Dis 37:712-719
82. Shiozawa S (2000) Participation of macrophages in glomerular sclerosis through the expression and activation of matrix metalloproteinases. Pathol Int 50:441-457
83. Fogazzi GB, Ferrari B, Garigali G et al (2012) Urinary sediment findings in acute interstitial nephritis. Am J Kidney Dis 60:330-332
84. Spinelli D, Consonni D, Garigali G et al (2013) Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: results of a prospective study. Clin Chim Acta 424:47-52
85. Henschkowski J, Vogt B (2006) Crystalluria. Ther Umsch 63:591-594
86. Baggio B, Giannossi ML, Medici L et al (2012) X-ray microdiffraction and urine: a new analysis method of crystalluria. J Xray Sci Technol 20:489-498

87. Van Noord C, Wulkan RW, van den Dorpel MA (2012) Crystalluria. Neth J Med 70:84-87
88. Verdesca S, Fogazzi GB, Garigali G et al (2011) Crystalluria: prevalence, different types of crystals and the role of infrared spectroscopy. Clin Chem Lab Med 49:515-520
89. Baumann JM, Affolter B, Meyer R (2010) Crystal sedimentation and stone formation Urol Res 38:21-27
90. Marickar YM, Salim A (2009) Photmicrography of urinary deposits in stone clinic. Urol Res 37:359-368
91. Fazil-Marickar YM, Lekshmi PR, VarmaL et al (2009) Elemental distribution analysis of urinary crystals. Urol Res 37:277-282
92. Daudon M, Jungers P, Lacour B (2004) Clinical value of crystalluria study. Ann Biol Clin 62:379-393
93. Gruppo di Studio Multidisciplinare per la Calcolosi Renale (2010) Percorso diagnostico- terapeutico per il paziente con calcolosi urinaria – Giornale Italiano di Nefrologia 27;282-289
94. Scoffone C, Zattoni F (2009) Linee Guida 2009 Comitato SIU (Società Italiana di Urologia) Linee Guida
95. Linee Guida per la Calcolosi delle vie urinarie (2007) AURO.it (Associazione Urologi Ospedalieri Italiani)
96. Goldfarb DS, Arowojolu O (2013) Metabolic evaluation of first-time and recurrent stone formers. Urol Clin North Am 40:13-20
97. Bottini PV, Martinez MH, Garlipp CR (2014) Urinalysis: comparison between microscopic analysis and a new automated microscopy image-based urine sediment instrument. Clin Lab 60:693-697
98. Ma J, Wang C, Yue J et al (2013) Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. Clin Lab 59:1297-1303
99. Yüksel H, Kiliç E, Ekinci A et al (2013) Comparison of fully automated urine sediment analyzers H800-FUS100 and LabUMat-UriSed with manual microscopy. J Clin Lab Anal 27:312-316
100. Martinez MH, Bottini PV, Levy CE et al (2013) UriSed as a screening tool for presumptive diagnosis of urinary tract infection. Clin Chim Acta 21;77-79
101. Boven LA, Kemperman H, Demir A (2012) A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. Clin Chem Lab Med 50:751-753
102. Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G et al (2010) Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX - a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clin Chim Acta 411:147-154
103. Budak YU, Huysal K (2011) Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab 57:47-52
104. Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z et al (2009) Comparison of LabUMat-with-UriSed and iQ200 fully automatic urine sediment analysers with manual urine analysis. BiotechnolApplBiochem 53:139-144
105. Park J, Kim J (2008) Evaluation of iQ200 automated urine microscopy analyzer. Korean J Lab Med 28:267-273
106. Mayo S, Acevedo D, Quiñones-Torrelo C et al (2008) Clinical laboratory automated urinalysis: comparison among automated microscopy, flow cytometry, two test strips analyzers, and manual microscopic examination of the urine sediments. J Clin Lab Anal 22:262-270

107. Chien TI, Kao JT, Liu HL et al (2007) Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy. Clin Chim Acta 384:28-34
108. Linko S, Kouri TT, Toivonen E et al (2006) Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. Clin Chim Acta 372:54-64
109. Du J, Xu J, Wang F et al (2015) Establishment and development of the personalized criteria for microscopic review following multiple automated routine urinalysis systems. Clin Chim Acta 444:221-228
110. Xiang D, Cong Y, Wang C et al (2012) Development of microscopic review criteria by comparison urine flow cytometer, strip and manual microscopic examination. Clin Lab 58:979-985
111. Fabbro C, Darolles J, Rault JP (2011). Evaluation of the performances of the UF-1000i automated urine analyzer. Ann Biol Clin 69:431-439
112. Budak YU, Huysal K (2011) Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab 57:47-52
113. Kadkhoda K, Manickam K, Degagne P et al (2011) UF-1000i flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. DiagnMicrobiol Infect Dis 69:130-136
114. Jiang T, Chen P, Ouyang J et al (2011) Urine particles analysis: performance evaluation of Sysmex UF-1000i and comparison among urine flow cytometer, dipstick, and visual microscopic examination. Scand J Clin Lab Invest 71:30-37
115. Manoni F, Tinello A, Fornasiero L et al (2010) Urine particle evaluation: a comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy. Clin Chem Lab Med 48:1107-1111
116. National Health Service (2010) Evidence Review. Automated Urine Screening Systems. CAO 10030 March
117. Westgard JO, Westgard SA (2016) Quality control review: implementing a scientifically based quality control system. Ann Clin Biochem 53:32-50
118. Harel O, Schisterman EF, Vexler A et al (2008) Monitoring quality control: can we get better data? Epidemiology 19:621-627
119. Westgard JO (2004) Design of internal quality control for reference value studies. Clin Chem Lab Med 42:863-867
120. Westgard JO (2003) Internal quality control: planning and implementation strategies. Ann Clin Biochem 40:593-611
121. Westgard JO (1999) The need for a system of quality standards for modern quality management. Scand J Clin Lab Invest 59:483-486
122. Ottomano C, Ceriotti F, Galeazzi M et al (2008) Linee guida per la gestione dei programmi di Controllo di Qualità Interno. Biochimica Clinica 32:102-121
123. Bland JM, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 327:307-310
124. Ceriotti F, Secchiero S, Sciacovelli L et al (2011) Linee guida per la gestione dei Programmi di Valutazione Esterna di Qualità. Biochimica Clinica 35:107-126
125. Sciacovelli L, Secchiero S, Zardo L et al (2010) The role of External Quality Assessment. BiochemiaMedica 2:160-164
126. Secchiero S, Sciacovelli L, Faggian A et al (2013) Gli strumenti di assicurazione della Qualità in Medicina di Laboratorio: i Programmi di VEQ e gli Indicatori di Qualità del Centro di Ricerca Biomedica. Ligand Assay 18:41-53
127. Kouri T, Laippala P, Kutter D et al (1999) Quality specifications for ordinal scale measurements with multiproperty (multiple) urine test strips. Scand J Clin Lab Invest 59:523-526

128. Schürer-Maly C, Wood WG, Falbo R et al (2013) An educational web-based external quality assessment outcome and evaluation: first experiences with urinary sediment and hemostaseology. Clin Lab 59:1061-1069
129. Wood WG, Schwarz P, Illigen D et al (2013) Experience with an alternative form of samples for external quality assessment of urinary sediment (visual sample EQA). Clin Lab 59:875-883
130. Fogazzi GB, Secchiero S, Consonni D et al (2010) An Italian external quality assessment (EQA) program on urinary sediment. Clin Chim Acta 411:859-867
131. Secchiero S, Fogazzi GB (2009) Quality control programs for urinary sediment (Capitolo 8) In: The Urinary Sediment. An integrated view. 3th Edition. Milano: Masson, pp. 233-245
132. Fogazzi GB, Secchiero S, Garigali G et al (2014) Evaluation of Clinical cases in an Italian External Quality Assessment Scheme (EQAS) for the urinary sediment. Clin Clem Lab Med 52:845-852
133. Secchiero S, Fogazzi GB, Manoni F et al (2015) The Italian External Quality Assessment (EQA) program: results of the period 2012-2015. Clin Clem Lab Med 53(Suppl):S1495-1502
134. Manoni F, Caleffi A, Gessoni G et al (2011) L'esame chimico, morfologico e colturale delle urine: proposta di linee guida per una procedura standardizzata della fase pre-analitica. Riv Ital Med Lab 7:25-35
135. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG et al (2014) Gender's equality in evaluation of urine particles: Results of a multicenter study of the Italian Urinalysis Group. Clin Chim Acta 427:1-5
136. Manoni F, Gessoni G, Caleffi A et al (2013) Pediatric reference values for urine particles quantification by using automated flow cytometer: results of a multicenter study of Italian urinalysis group. Clin Biochem 46:1820-1824
137. Shayanfar N, Tobler U, von Eckardstein A et al (2007) Automated urinalysis: first experiences and a comparison between the Iris iQ200 urine microscopysystem, the Sysmex UF-100 flow cytometer and manual microscopic particle counting. Clin Chem Lab Med 45:1251-1256
138. Graziani MS, Gambaro G, Mantovani L et al (2009) Diagnostic accuracy of a reagent strip for assessing urinary albumin excretion in the general population. Nephrol Dial Transplant 24:1490-1494
139. Camporese A (2014) L'evoluzione della citofluorimetria urinaria in microbiologia, da metodo di screening a insostituibile strumento per la validazione clinica dell'esame delle urine. Riv Ital Med Lab 10:242-246
140. Caleffi A, Manoni F, Alessio MG et al (2010) Quality in extra analytical phases of urinalysis. Biochemia Medica 20:179-183

Il Gruppo Intersocietario (SIPMeL, SIBioC, SIN) Analisi delle Urine è formato da: MG. Alessio (Bergamo), R. Anderlini (Modena), I. Bountis (Monselice), G. Brunori (Trento), A. Caleffi (Parma), D. Coseddu (Torino), B. Creanza (Gravina di Puglia), N. Di Pace Nunzia (Gravina di Puglia), G. Di Rienzo (Gravina di Puglia), MG. Epifani (Padova), GB. Fogazzi (Milano), G. Gambaro (Roma), G. Gessoni (Chioggia), L. Gesualdo (Bari), M. Guida (Gravina di Puglia), A. Liverani (Monselice) F. Manoni (Monselice), C. Ottomano (Monza), M. Parimbelli (Bergamo), A. Perego (Monselice), B. Pieretti (Fano), D. Poz (S. Daniele), G.

Saccani (Bussolengo), M. Schinella (Rovereto), S. Secchiero (Padova), F. Sirianni (Palmanova), B. Talento (Nocera Inferiore), S. Valverde (Chioggia), D. Vannoni (Siena), M. Vizzini (Rovereto), T. Zorzan (Monselice).

Manuscript
Click here to download Manuscript Tabelle_rev.docx
Click here to view linked References

Tabella 1 Principali alterazioni del colore delle urine e loro possibili cause

Colore	Patologia	Farmaci	Alimenti
ROSSO	Ematuria Porfirinuria Mononucleosi Emoglobinuria Mioglobinuria	Cascara Desferroxamina Doxorubicina Levodopa Fenotiazine Fenitoina Rifampicina Senna (urine alcaline) Epirubucina Sulfametossazolo Ibuprofene	Barbabietole More Rabarbaro
ARANCIONE	Disidratazione	Warfarin Rifampicina Sulfasalanzina (urine alcaline) Fluorescina	Peperoncino Rabarbaro
VERDE-BLU	Ittero (verdi) Tifo Infezioni urinarie da *Pseudomonas* (verdi) *Blue diaper syndrome*	Amitriptilina Indometacina Blu di metilene Triamterene	
MARRONE	Alkaptonuria Tirosinosi Porfirinuria Ittero	Cascara Ferro Levodopa Metronidazolo Metildopa Nitrofurantoina Fenotiazine Fenitoina Chinino Senna (urine alcaline)	
NERO	*Black water fever* (febbre emoglobinurica in corso di alcune malattie infettive quali malaria, dengue, coinfezione acuta da HBV + HDV) Melanoma maligno	Cascara Ferro Metildopa Chinino	
VIOLA	Porfirinuria Sindrome da catetere vescicale (*purple urine bag syndrome*)	Senna	

Tabella 2 Valutazione comparativa della sensibilità analitica di alcune strisce reattive del commercio per albumina, glucosio, emazie/emoglobina, esterasi, nitriti e chetoni

	Albumina	**Glucosio**	**Emazie Emoglobina**	**Esterasi**	**Nitriti**	**Chetoni**
AimStick	15 mg/dl	50 mg/dl	5 RBC/µl 0,3 mg/dl	5 WBC/µl	0,09 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 48 mg/dl
AutionSticks	15 mg/dl	50 mg/dl	20 RBC/µl 0,06 mg/dl	5 WBC/µl	0,09 mg/dl	Ad 5 mg/dl -
Chemistrip	6 mg/dl	40 mg/dl	5 RBC/µl -	20 WBC/µl	0,05 mg/dl	Ad 9 mg/dl Ac 70 mg/dl
CombiScreen plus	15 mg/dl	40 mg/dl	5 RBC/µl -	10 WBC/µl	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 50 mg/dl
DiaScreen	5 mg/dl	50 mg/dl	5 RBC/µl 0,02 mg/dl	20 WBC/µl	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl -
Dirui Serie H	15 mg/dl	50 mg/dl	5 RBC/µl -	5 WBC/µl		Ad 0,5 mmol/L -
MediTest C9	30 mg/dl	50 mg/dl	10 RBC/µl -	-	0,05 mg/dl	- -
Mission	18 mg/dl	25 mg/dl	- 0,018 mg/dl	9 WBC/µl	0,05 mg/dl	Ad 2,5 mg/dl -
Multistix	15 mg/dl	75 mg/dl	5 RBC/µl 0,015 mg/dl	5 WBC/µl	0,06 mg/dl	Ad 5 mg/dl -
Self Stick	5 mg/dl	50 mg/dl	5 RBC/µl -	-	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 100 mg/dl
Uriflet S2	5 mg/dl	10 mg/dl	10 RBC/µl 0,03 mg/dl	20 WBC/µl	0,08 mg/dl	Ad 5 mg/dl -
Uriscan	10 mg/dl	50 mg/dl	5 RBC/µL 0,015 mg/dl	2 WBC/µl	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 70 mg/dl
Uritest 13G	10 mg/dl	40 mg/dl	- 0,3 mg/dl	15 WBC/µl	0,06 mg/dl	Ad 0,5 mmol/L

Uro-Dip 10C	-	100 mg/dl	- 0,05 mg/dl	-	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 100 mg/dl
Uropaper alfa 3-9L	15 mg/dl	50 mg/dl	10 RBC/μl 0,3 mg/dl	25 WBC/μl	0,1 mg/dl	Ad 10 mg/dl -
URS	15 mg/dl	100 mg/dl	5 RBC/μl 0,3 mg/dl	10 WBC/μl	0,075 mg/dl	Ad 5 mg/dl -
vChem	15 mg/dl	45 mg/dl	5 RBC/μl 0,2 mg/dl	20 WBC/μl	0,05 mg/dl	Ad 5 mg/dl Ac 48 mg/dl

Modificata da [32].

Tabella 3 Principali interferenti con i dip-stick

Parametro	**Metodo / Sensibilità**	**Specificità / Interferenze**
Densità relativa	Reattivo polielettrolitico e indicatore di pH Da 1010 a 1030	Solo soluti ionici Interferenza in riduzione: pH alcalino, glucosio e urea > 1 g/L Interferenza in aumento: proteine 500 mg/dl, chetoacidosi
pH	Due indicatori di pH Da 5,0 a 9,0 incrementi di 0,5 unità	Interferenza in riduzione: formaldeide
Sangue/Emoglobina	Attività pseudoperossidasica Da 0,02 a 0,06 mg/dl Da 5 a 10 RBC/μl	**Falsi positivi:** perossidasi batteriche**,** agenti ossidanti**,** acido cloridrico **Falsi negativi:** ascorbato**,** alta densità relativa**,** agenti riducenti**,** formalina**,** nitriti**,** farmaci
Esterasi leucocitaria	Attività indoxil esterasica 5-25 WBC/μl	Presente solo nei granulociti **Falsi positivi:** urine ipercromiche**,** formalina**,** farmaci**,** sodio azide**,** detergenti **Falsi negativi:** ascorbato**,** borato**,** glucosio > 3 g/dl**,** proteine > 0,5 g/dl**,** elevata densità relativa**,** agenti ossidanti**,** saponi e detergenti**,** farmaci
Nitriti	Reazione di Greiss 0,05 mg/dl	**Falsi positivi:** urine ipercromiche**,** farmaci**,** malconservazione del campione **Falsi negativi:** batteri non formanti nitriti**,** dieta povera in nitrati**,** urine che non hanno soggiornato in vescica**,** ascorbato
Proteine	Legame non specifico a un indicatore Sensibili all'albumina 6-15 mg/dl	**Falsi negativi:** presenza di globuline**,** urine ipercromiche **Falsi positivi:** urine fortemente alcaline**,** urine ipercromiche**,** farmaci, ammonio quaternario**,** plasma expander
Glucosio	Glucosio ossidasi perossidasi 40 mg/dl	Metodo specifico per il glucosio ma interferenze da bassa temperatura e/o elevata densità relativa **Falsi positivi:** agenti ossidanti**,** perossidi**,** acido cloridrico **Falsi negativi:** ascorbato**,** malconservazione
Chetoni	Reazione al nitroprussiato 5-10 mg/dl per aceto acetato 50-70 mg/dl per acetone	Non evidenzia l'acido idrossi butirrico **Falsi positivi:** gruppi sulfidrilici liberi (n-acetil cisteina)**,** urine ipercromiche**,** metaboliti del levodopa**,** fenolftaleina **Falsi negativi:** malconservazione
Bilirubina	Azoreazione con sali di diazonio 0,4-0,8 mg/dl Bilirubina coniugata	**Falsi positivi:** urine ipercromiche**,** cloropromazina **Falsi negativi:** ascorbato**,** nitriti**,** malconservazione**,** luce solare diretta
Urobilinogeno	Azoreazione con aldeide di Erlich 0,2-1,0 mg/dl	**Falsi positivi:** urine ipercromiche**,** sulfonamidi, acido para aminosalilico **Falsi negativi:** formalina**,** agenti ossidanti**,** malconservazione
Ascorbato	Riduzione dell'indolo 20 mg/dl	**Falsi positivi:** gruppi sulfidrilici liberi (n-acetil cisteina)**,** agenti riducenti
Creatinina	Reazione ossidativa con complessi di rame	**Falsi negativi:** EDTA **Falsi positivi:** emoglobina, mioglobina

Tabella 4 Tecniche di visione microscopica per identificare e quantificare gli elementi particolati delle urine

1. Metodi rapidi: microscopia estemporanea del campione nativo (livello 1)
2. Metodi di routine: esame microscopico standardizzato del sedimento (livello 2)
3. Metodi di comparazione: conta degli elementi corpuscolati delle urine in camera citometrica effettuata su campione non centrifugato. Valutazione della flora batterica dopo centrifugazione fissazione e colorazione secondo Gram (livello III)
4. Metodo di riferimento: conta di WBC RBC, cellule epiteliali e cilindri in camera citologia secondo raccomandazione ISLH (livello IV)

Modificata da [10].

Tabella 5 Elementi corpuscolati nelle urine e principali associazioni cliniche

Elementi principali	Principali associazioni cliniche
Eritrociti dismorfici e acantociti	Ematuria glomerulare
Eritrociti isomorfi	Ematuria non glomerulare
Leucociti polimorfonucleati	Infezioni urinarie Glomerulonefriti proliferative Nefriti interstiziali acute Contaminazione da secrezioni genitali
Cellule epiteliali renali tubulari	Patologie renali associate a danno tubulare organico (= necrosi tubulare acuta), quali si possono osservare nelle nefropatie tubulotossiche, ischemiche, glomerulonefriti, nefriti intersitiziali ecc.
Cellule transizionali superficiali	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (strati cellulari superficiali)
Cellule transizionali profonde	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (strati cellulari profondi)
Cellule squamose	Contaminazione da secrezioni genitali
Lipidi	Patologie glomerulari associate a proteinuria di grado variabile, ma soprattutto di entità nefrosica. Malattia di Fabry (da accumulo lisosomiale di glicosfingolipidi)
Cilindri jalini	Possono essere presenti in piccolo numero negli individui normali Possono essere presenti in svariate tipologie di patologia renale
Cilindri jalino-granulosi	Possono essere presenti in piccolo numero negli individui normali Possono essere presenti in svariate tipologie di patologia renale
Clindri granulosi	Possono essere presenti in svariate tipologie di patologia renale Necrosi tubulare acuta
Cilindri cereei	Patologia renale con significativa perdita di funzione
Cilindri lipidici	Sindrome nefrosica

Cilindri eritrocitari	Ematuria glomerulare Glomerulonefrite proliferativa o necrotizzante
Cilindri leucocitari	Nefrite interstiziale acuta Pielonefrite acuta Glomerulonefrite proliferativa
Cilindri cellulari / epiteliali (cellule epiteliali tubulari)	Necrosi tubulare acuta Nefrite interstiziale acuta Sindrome nefrosica
Cilindri emoglobinici	Ematuria glomerulare Glomerulonefrite proliferativa o necrotizzante Emolisi acuta intravascolare
Cilindri mioglobinici	Rabdomiolisi
Cilindri bilirubinici	Ittero marcato
Cilindri con inclusi batterici o micotici	Infezioni batteriche o micotiche del rene
Cilindri con inclusioni cristalline	Insufficienza renale acuta da cristalluria massiva
Cilindri a composizione mista	

Modificata da [32, 76].

Tabella 6 Classificazione delle principali cause di ematuria

Cause urologiche	**Cause non urologiche**	**Falsa ematuria**
Cistite emorragica	Nefrite interstiziale acuta	Colorazione da farmaci
Calcolosi	Da anticoagulanti	Colorazione da alimenti
Neoplasie delle vie urinarie	Glomerulopatie	Mioglobinuria
Neoplasie della prostata		Porfirie
Traumatismi		Emoglobinuria
Ematuria da sforzo fisico intenso		
Fistole artero-venose renali		
Rottura cisti renali		
Manovre diagnostiche invasive		
Endometriosi delle vie urinarie		

Tabella 7 Competenze morfologiche indispensabili per il secondo livello diagnostico

- Corretta identificazione di leucociti
- Corretta identificazione degli eritrociti
- Corretta identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione tra cellule squamose e non squamose
- Corretta identificazione dei cilindri e differenziazione tra cilindri jalini e non jalini
- Identificazione di batteri, lieviti, protozoi, uova di parassiti
- Identificazione dei cristalli più comuni e/o caratteristici: urati, ossalati, fosfato, fosfato triplo, cistina
- Identificazione dei principali contaminanti: nemaspermi, peli, artefatti, fibre, amido, materiale fecale.

Tabella 8 Competenze morfologiche indispensabili per il terzo livello diagnostico

- Identificazione dei leucociti: differenziazione tra granulociti, linfociti, macrofagi
- Identificazione degli eritrociti, connotando l'eventuale dismorfismo
- Identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione oltre che tra cellule squamose e non squamose, di cellule transizionali (superficiali e profonde) e cellule tubulari
- Identificazione delle varie tipologie di cilindri: jalini, granulosi, leucocitari, eritrocitari, epiteliali, cerei, lipidici, pigmentati (bilirubinici, mioglobinici, emoglobinici)
- Morfologia dei batteri presenti: cocchi, bastoncelli ecc., morfologia dei miceti: lieviti, ife ecc., identificazione di protozoi, parassiti e loro uova
- Identificazione dei cristalli seguenti: ossalati, urati, fosfato, triplo fosfato, colesterolo, farmaci, cistina, leucina
- Identificazione dei principali contaminanti endogeni: nemaspermi, materiale fecale , ed esogeni : peli, fibre vegetali, tessili, pollini, amido, polveri aspersorie, materiale plastico, vetroso, cartaceo.
- Corretta identificazione dei lipidi: gocce, corpi ovali grassi
- Identificazione presuntiva di cellule patologiche per esempio cellule di origine vaginale, cellule neoplastiche, enterociti ecc.