

Diabete: Clinica e Laboratorio a confronto

La microalbuminuria

Cosa può dire il Laboratorio

M.S. Graziani^a, A. Caldini^b

^aLaboratorio di Analisi Chimico Cliniche ed Ematologiche, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera, Verona

^bLaboratorio Generale, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

Riassunto

L'escrezione urinaria di albumina è un parametro cardine nel monitoraggio del paziente diabetico e la sua misura viene consigliata periodicamente nelle linee guida esistenti. A fronte di questa rilevanza clinica, la standardizzazione della misura è carente e sono disponibili scarse raccomandazioni in merito.

Questa presentazione riporta i risultati di una indagine conoscitiva sullo stato dell'arte della misura di albumina urinaria nei Laboratori Italiani promossa dal Gruppo Intersocietario Diabete Mellito ed esamina inoltre i principali problemi che il Laboratorio Clinico dovrà affrontare nel prossimo futuro per essere in grado di rispondere adeguatamente alle esigenze cliniche.

I risultati dell'indagine dimostrano che esiste senz'altro la necessità di un miglioramento della qualità analitica della misura, ma che maggiore attenzione deve essere prestata alla standardizzazione della fase post analitica.

Studi recenti hanno dimostrato che l'albumina può essere escreta nelle urine come molecola intatta o parzialmente degradata in frammenti di diverso peso molecolare; inoltre la molecola può subire ulteriori modificazioni come, ad esempio, la glicazione. Que-

ste diverse forme di albumina possono essere immunoreattive o no.

I metodi in uso sono essenzialmente metodi immunometrici, che possono potenzialmente sottostimare la concentrazione della albumina, se nel campione è presente una certa quantità di albumina non-immunoreattiva. Per superare il problema sono stati proposti metodi basati su principi differenti (HPLC, chip elettroforesi, spettrometria di massa). Prima che questi metodi possano essere clinicamente utilizzabili, tuttavia deve essere dimostrato che il loro utilizzo porta ad un effettivo miglioramento nella gestione clinica del paziente. Un ulteriore importante aspetto è la sensibilità dei metodi. Esistono evidenze che esiste una relazione continua fra concentrazione di albumina urinaria e rischio, cosicché non può essere identificato un valore soglia al di sotto del quale il rischio sia assente. In questo contesto, la sensibilità dei metodi utilizzati diventa cruciale.

In conclusione, mentre è senz'altro necessario incoraggiare l'adesione dei laboratori alle linee guida esistenti per l'esecuzione della microalbuminuria, è anche fortemente sentita la necessità di una standardizzazione internazionale della sua misura.

Summary

Albuminuria: the Laboratory contribution

Urine albumin is a sensitive marker of renal derangement; accordingly with the current guidelines, the measurement is required for an appropriate monitoring of diabetic patients annually.

In spite of its clinical importance the standardisation of the laboratory measurement is lacking.

The presentation is twofold: to illustrate the results of an Italian survey on the state of the art of the laboratory measurement and to examine the main problems the Clinical Laboratory should face in the next future in order to give the correct answer to clinical needs.

The survey results show that there is a need for improvement of the albumin measurement analytical quality and that it is of even more importance the standardization of the post analytical phase (reporting and interpreting the results).

Recent studies have demonstrated that the nature of albumin in urine is more complex than previously thought. Albumin can be excreted as intact molecule or degraded as fragments of different molecular weights; furthermore the intact molecule can be immunoreactive or not due to chemical modifications of the molecule. Methods based on different principles are able to detect different forms of albumin and give thus different results.

Current microalbuminuria assays use different kinds of immunochemical methods. These methods may lead to underestimation of albumin in urine samples containing non immunoreactive albumin. To overcome this problem, different methodologies have been proposed. Before the results of these new techniques could be validated for clinical utilization, it should be demonstrated that the new measurements lead to effective improvement in clinical outcomes.

Analytical quality specifications, and in particular sensitivity,

are another critical issue. There is increasing evidence that a continuous relationship between albumin excretion and risk exists so that non lower bound between normal and increased albuminuria can be identified that segregates subjects at different risk. The sensitivity of the laboratory method is, in this context, crucial.

A more strict adherence of Italian Laboratories to the existing guidelines should be encouraged. At the same time the standardisation of the test, including an accurate definition of the analyte, is mandatory in the next future.

Introduzione

L'escrezione urinaria di albumina è un parametro cardine nel monitoraggio del paziente diabetico e la sua misura viene consigliata periodicamente nelle linee guida ad oggi emanate^{1,2}. L'utilità della sua misura è stata oggetto di studi così approfonditi che non può più essere messa in discussione³.

A fronte della sua importanza clinica la standardizzazione è carente e esistono scarse raccomandazioni in merito. Le linee guida disponibili forniscono raccomandazioni sulla fase pre analitica e post analitica, ma considerano solo marginalmente le caratteristiche analitiche dell'esame⁴.

Lo scopo di questa presentazione è duplice: da un lato illustrare lo stato dell'arte esaminando i risultati di una indagine nazionale sull'argomento organizzata dal Gruppo di Lavoro Intersocietario sul Diabete Mellito⁵ e dall'altro di esaminare i problemi principali che il laboratorio dovrà affrontare nel prossimo futuro per rispondere adeguatamente alle esigenze cliniche. Tra questi sembrano rivestire particolare importanza la corretta definizione dell'analita e la sensibilità delle metodiche⁶⁻⁸.

Le linee guida esistenti

Le raccomandazioni della American Diabetes Association (ADA), che sono state anche tradotte in italiano dalla Associazione Medici Diabetologi⁹, possono essere così riassunte:

- è necessario eseguire la misura della albumina nelle urine almeno annualmente nei pazienti con diabete di tipo 1 con diagnosi da più di 5 anni, in tutti i pazienti con diabete di tipo 2 e in gravidanza.
- il campione da preferire è il campione spot (meglio se il primo del mattino) nel quale vengano simultaneamente misurate albumina e creatinina. Altri campioni utilizzabili sono la raccolta delle 24 ore ed il campione temporizzato del riposo notturno.
- il valore decisionale del rapporto albumina/creatinina è

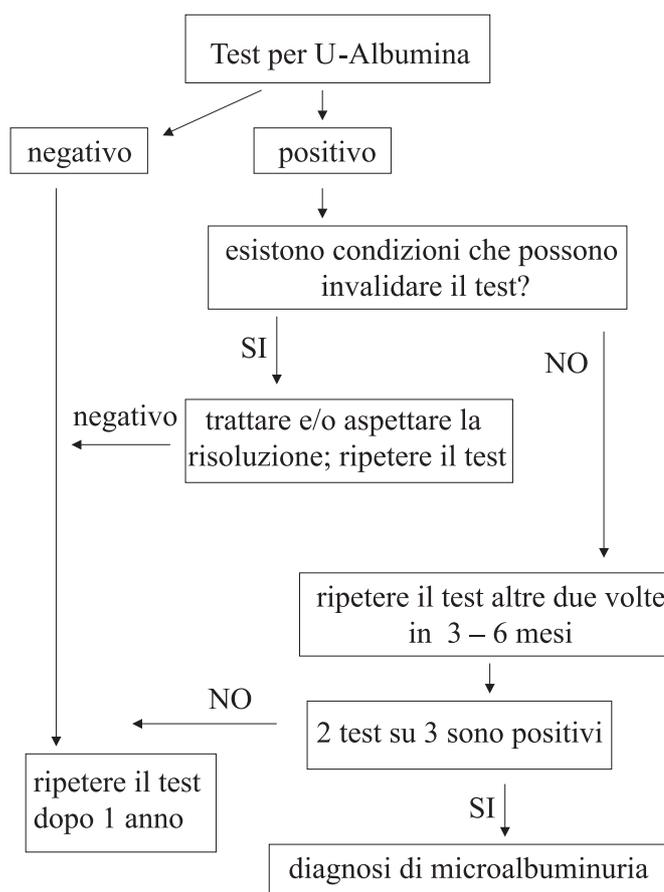


Figura 1. Algoritmo per lo screening per albuminuria, proposto dall'ADA (ref. 1).

30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina (3.4 mg/mmol creatinina). In Tabella I sono riportati i valori normali dell'escrezione di albumina, espressi anche per gli altri tipi di campione/raccolta.

- almeno due misure di albuminuria su tre (eseguite in un

Tabella I. Valori decisionali per albumina urinaria (modificata da Diabetes Care 2004;27 Supplement 1:S79-S83).

	Campione spot	Campione 24 ore	Campione temporizzato
Unità di misura	$\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina (mg/mmol creatinina)	mg/24 h	$\mu\text{g}/\text{min}$
Normale	< 30 (< 3.4)	< 30	< 20
Microalbuminuria	30 - 299 (3.4 - 33.9)	30 - 299	20 - 199
Macroalbuminuria	> 300 (> 34.0)	> 300	> 200

Gruppo di Studio Intersocietario sul Diabete Mellito SIBIOC-SIMEL (indagine microalbuminuria)	Gruppo di Studio Intersocietario sul Diabete Mellito SIBIOC-SIMEL (indagine microalbuminuria)
VI PREGHIAMO DI COMPILARE IL MODULO IN STAMPATELLO E DI INVIARE UNITAMENTE AL MODULO COMPILATO UNA COPIA DI UN VOSTRO REFERTO.	
Partecipante, Nome.....Cognome..... Laboratorio di appartenenza..... Ente di appartenenza..... Via.....N.....Città.....Provincia.....CAP..... Telefono.....e-mail:.....	<input type="checkbox"/> µg/ml
SPEDIRE ENTRO L'8 APRILE 2006 VIA FAX A: Dr.ssa Anna Caldini Laboratorio Generale DAI Diagnostica di Laboratorio Azienda Ospedaliera Careggi Viale Morgagni 85 - 50100 Firenze Tel 055-7949452 e-mail caldina@ao-careggi.toscana.it FAX 055-7949162	9. Con quale/i intervallo/i di riferimento?..... 10. Se il campione di urina non risponde ai criteri di raccolta richiesti viene analizzato ugualmente? <input type="checkbox"/> SI, sempre <input type="checkbox"/> SI in questi casi..... <input type="checkbox"/> NO, mai <input type="checkbox"/> NO in questi casi.....
Richiesta ed utilizzo del test 1. Esiste nel Laboratorio di appartenenza un protocollo diagnostico per l'effettuazione della determinazione della microalbuminuria concordato con il Servizio di Diabetologia e/o altre Strutture cliniche di riferimento territoriale e/o ospedaliero? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO 2. In assenza di un protocollo concordato coi clinici eseguite comunque la determinazione della microalbuminuria? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO 3. Viene fornito ai pazienti esterni un modulo con la spiegazione sulle modalità di raccolta e conservazione del campione? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO	11. Se SI come viene refertato?.....
Metodica e reagenti 4. Principio del metodo: <input type="checkbox"/> Immunofelometrico <input type="checkbox"/> Immunoturbidimetrico <input type="checkbox"/> Colorimetrico <input type="checkbox"/> RIA <input type="checkbox"/> Chimica secca <input type="checkbox"/> Altro (specificare):..... 5. Ditta produttrice del reagente:..... 6. Strumento:..... 7. Ditta produttrice dello strumento:.....	Tipo di campione analizzato 12. Quanti campioni di urina vengono richiesti alla diagnosi?..... 13. A quale intervallo di tempo l'uno dall'altro?..... 14. Che tipo di campione di urina viene richiesto? <input type="checkbox"/> Raccolta delle 24 h <input type="checkbox"/> Raccolta di 9 ore notturne <input type="checkbox"/> Campione spot 2° minzione del mattino <input type="checkbox"/> Estemporaneo non specificato 15. Che tipo di conservazione del campione viene richiesta? <input type="checkbox"/> + 4°C <input type="checkbox"/> - 20°C <input type="checkbox"/> temperatura ambiente
Refertazione 8. Come viene espresso il risultato? <input type="checkbox"/> mg/mmol creatinina <input type="checkbox"/> mg/g creatinina <input type="checkbox"/> µg/min <input type="checkbox"/> mg/24h	Controlli di Qualità 16. Viene eseguito un Controllo Interno di Qualità? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO 17. Se SI: Ditta Produttrice..... 18. Su quanti livelli? <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 19. Con che cadenza? <input type="checkbox"/> Ad ogni seduta analitica <input type="checkbox"/> Alla calibrazione <input type="checkbox"/> Altro specificare.....
Pagina 1 di 2	20. Partecipate ad un programma di Controllo Esterno di Qualità? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO 21. Se SI, a quale?..... Informativa e Acquisizione del Consenso Oggetto: Decreto Legislativo 30 giugno 2003 n. 196 "Codice in Materia di Protezione dei dati personali" Con la presente, ai sensi dell'art. 13 della D.Lgs. 30.06.2003 n. 196, acconsento al trattamento dei miei dati personali al fine di poter espletare tutta la parte funzionale collegata all'indagine in oggetto. Dichiaro di essere informato che il trattamento dei dati avverrà nel pieno rispetto della citata legge e sarà realizzato mediante l'utilizzo di strumenti automatizzati atti a memorizzare e gestire i dati, garantendo la riservatezza e la sicurezza dei dati raccolti. Firma per il consenso
	Pagina 2 di 2

Figura 2. Questionario inviato.

periodo di 3-6 mesi) devono superare i valori soglia (Tab. I) perché il paziente sia considerato albuminurico.

- alcune condizioni inducono un aumento della escrezione di albumina: recente esercizio fisico intenso, infezioni, febbre, scompenso cardiaco, iperglicemia marcata, ipertensione marcata, batteriuria, ematuria.

L'ADA riporta anche un algoritmo decisionale da applicare nello screening dei pazienti (Fig. 1).

Per quanto riguarda la fase analitica, l'ADA ha avallato alcuni anni fa una linea guida sulle caratteristiche analitiche che gli esami di Laboratorio per la diagnosi e il trattamento del paziente diabetico dovrebbero possedere⁴. Relativamente alla misura della microalbuminuria veniva raccomandato un CV analitico < 15%, basato su una variabilità interindividuale del 39 % del rapporto albumina/creatinina; tale raccomandazione è peraltro fornita con un livello di evidenza basso (E).

Esiste un Working Group della IFCC sull'argomento che non ha ancora emanato alcuna precisa indicazione in merito alla standardizzazione della misura, ma solo segnalato che questo è un problema urgente da affrontare^{10,11}.

Al fine di valutare l'aderenza dei laboratori italiani a quanto raccomandato, per individuare possibili aree di miglioramento, qui di seguito vengono riportate e commentate alcune delle risposte di un numero rappresentativo di Laboratori Italiani al questionario preparato dal Gruppo

Intersocietario sul Diabete Mellito⁵.

Il questionario

Il questionario riguarda aspetti pre-analitici (tipo di campione), analitici (metodo e reagenti utilizzati, strumentazione, controllo di qualità) e post-analitici (unità di misura, valori di riferimento, protocolli diagnostici applicati) ed è rappresentato in Figura 2. Sono stati analizzati 153 questionari che corrispondono a circa il 10 % dei Laboratori degli Ospedali Italiani. I risultati più significativi si possono così riassumere.

- **Tipologia di campione:** il campione 24 ore è utilizzato da circa la metà dei partecipanti (43 %), mentre il 30 % utilizza il campione estemporaneo. Una percentuale non piccola (16 %) utilizza più tipologie.

- **Metodi impiegati:** più della metà dei laboratori (55 %) utilizza il metodo turbidimetrico, mentre il metodo nefelometrico è utilizzato dal 39 %. Il metodo turbidimetrico è prevalentemente utilizzato su piattaforme di chimica clinica multicanale.

- **Procedure di controllo di qualità:** solo l'85 % dei laboratori dichiara di seguire procedure di controllo interno di qualità, ed una percentuale ancora minore (60%) esegue il controllo ad ogni seduta analitica. Il rimanente esegue il controllo a cadenze diverse, come ad esempio in corrispondenza della calibrazione; quest'ultima modalità è

Tabella II. Variabilità inter-laboratorio per gruppi omogenei di metodiche, raccolta dal programma di VEQ del Centro di Ricerca Biomedica. I coefficienti di variazione sono le medie di 4 esercizi con 8 campioni analizzati nell'anno 2006. L'escrezione di albumina urinaria nei campioni inviati variava da 26 e 178 mg/24 ore. Non sono riportati tutti i risultati ottenuti, ma solo quelli relativi ai sistemi analitici maggiormente utilizzati.

Metodo/ Sistema	n	CV%
<i>Nefelometria (tutti)</i>		
Beckman Array	8	7.0
Beckman Image	13	8.3
Dade Behring; BN	33	6.7
<i>Turbidimetria (tutti)</i>		
Bayer, Advia	14	7.9
Beckman, Synchron CX/LX	13	7.9
Olympus, AU	33	4.2
Roche, Hitachi/Modular	56	7.5
Roche, Integra	20	5.8

seguita dal 19 % dei laboratori. Sempre relativamente alle procedure di controllo interno di qualità, è interessante segnalare che solo una piccola percentuale (21%) utilizza un controllo diverso da quello fornito dalla ditta produttrice dei reagenti. Una percentuale importante di questi (63%) utilizza il prodotto di uno stesso fornitore. Solo il 28 % dei Laboratori coinvolti nell'indagine partecipa a programmi di Valutazione Esterna di Qualità; di questi la maggioranza (61%) aderisce al programma del Centro di Ricerca Biomedica della Regione Veneto.

- *Espressione dei risultati:* esiste una importante variabilità nelle modalità di espressione del risultato. La maggioranza utilizza l'espressione della concentrazione della albumina nelle 24 ore (33%); un numero molto simile di laboratori dichiara di esprimere la concentrazione di albumina per volume (29%). Seguono poi l'espressione in rapporto alla escrezione di creatinina (solo il 15%) ed infine la concentrazione per minuto (9%); esiste poi un certo numero di Laboratori (14%) che è in grado di esprimere il risultato in più modalità. Altrettanta variabilità si osserva nelle unità di misura adottate (mg, µg, dL, L, mmol) e nei valori di riferimento. E' infine da segnalare che in un preoccupante 34% dei Laboratori si nota incongruenza tra tipologia di campione richiesto, modalità di espressione dei risultati, unità di misura e valori di riferimento adottati.
- *Protocolli condivisi:* poco meno di un terzo dei laboratori (27%) ne dichiara l'esistenza; peraltro solo in una piccola percentuale di casi (7%) queste raccomandazioni seguono le indicazioni ADA.

Verifiche Esterne di Qualità

È interessante valutare i dati elaborati anche alla luce dei risultati della Verifica Esterna di Qualità del Centro di Ricerca Biomedica di Castelfranco Veneto relativamente alla precisione e al bias. Il CV% complessivo (Tab. II) è lievemente inferiore per i metodi nefelometrici rispetto ai metodi turbidimetrici (rispettivamente 8,2% e 9,5%); ma, mentre i diversi metodi nefelometrici hanno CV abbastanza simili al loro interno, quelli turbidimetrici variano da 4.2%

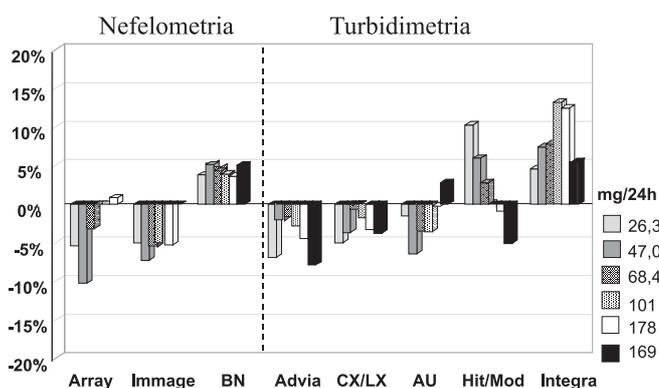


Figura 3. Bias dei sistemi diagnostici maggiormente utilizzati, relativi a 6 campioni a concentrazione crescente distribuiti nel ciclo di VEQ 2006 per albumina urinaria, rispetto alla mediana di consenso.

a 7.9%. Per quanto riguarda il bias (Fig. 3) di nuovo i metodi nefelometrici nel loro complesso presentano un bias più contenuto, mentre tra i metodi turbidimetrici troviamo sistemi diagnostici con bias molto ridotti e metodi con bias elevati (oltre il 10%). In ambedue i casi si osserva che i bias sono nettamente strumento-dipendenti.

Commento alle risposte

Complessivamente si può affermare che i comportamenti dei Laboratori Italiani nella determinazione della albumina urinaria sono solo molto parzialmente in linea con le raccomandazioni esistenti, pur essendo queste ormai consolidate^{1,2}. Il mancato adeguamento include l'impiego prevalente del campione delle 24 ore (43%), la difformità delle unità di misura impiegate e soprattutto i livelli decisionali. Questo ultimo aspetto è particolarmente preoccupante, specialmente se si considera l'incongruenza non raramente riscontrata tra espressione dei risultati e campione utilizzato. Ad esempio solo il 15% dei Laboratori dichiara di esprimere il risultato come rapporto alla concentrazione di creatinina, mentre ben il 30% dichiara di impiegare il campione estemporaneo. Ulteriore perplessità suscita il dato del 29% dei laboratori che esprimono il risultato come albumina/volume. È infatti difficilmente ipotizzabile un utilizzo clinico di un valore di albumina urinaria espresso come concentrazione per volume. Tali comportamenti difformi segnalano modalità di refertazione suscettibili di fornire risultati poco utili sul piano clinico quando non francamente fuorvianti. È pur vero che, nonostante il massimo impegno per una stesura chiara delle domande, alcune di queste possano essere state mal interpretate, e avere di conseguenza generato risposte difformi, ma una segnalazione in questo senso è doverosa a causa della possibilità che modalità di refertazione non corrette hanno di generare comportamenti clinici non adeguati.

Le procedure di controllo di qualità seguite dai Laboratori sia interno che esterno non risultano ottimali. Il fatto che solo il 60% di questi dichiara di eseguire un controllo di qualità interno ad ogni seduta analitica genera preoccupazione relativamente alla adeguata assicurazione di qualità dei risultati forniti. Inoltre solo il 28% dichiara di partecipare a VEQ e quindi indubbiamente la partecipazione a questi programmi necessita di essere incoraggiata.

Per quanto riguarda i risultati della VEQ possiamo osservare che la precisione sembra essere soddisfacente, essendo i CV inferiori al 15 % suggerito⁴, per ambedue i gruppi di metodiche considerate (nefelometria e turbidimetria) pur essendo il CV calcolato tra laboratori diversi. Relativamente al bias, non vengono indicate specifiche precise⁴; osserviamo tuttavia che essi risultano chiaramente produttore-dipendenti (Fig. 3). Possiamo quindi senz'altro affermare che la standardizzazione di reagenti e calibratori è particolarmente necessaria e che una sua implementazione porterebbe senza dubbio una importante omogeneizzazione nei risultati forniti. Il fatto che il metodo più impiegato sia quello turbidimetrico, spesso utilizzato su piattaforme di chimica clinica, significa che in molti laboratori si è deciso di consolidare questa misura, anziché riservarla ai nefelometri, sovente posizionati in settori analitici specialistici (diagnostica proteica). Mentre è senz'altro vero che molti turbidimetri sono del tutto adeguati alle specifiche di qualità che l'esame richiede (Tab. II e Fig. 3), è necessario rilevare che la qualità analitica dell'intero sistema analitico ha necessità di essere assicurata (e quindi verificata periodicamente) sia in termini di precisione che di accuratezza. Questo è tanto più vero per i sistemi turbidimetrici che sono rappresentati da numerose tipologie.

Sia il monitoraggio della condizione che la sua diagnosi richiedono risposte affidabili, visto che decisioni cliniche importanti vengono prese sulla base dei valori di albumina urinaria e che i valori decisionali vengono adottati indipendentemente dal sistema analitico adottato.

Problemi cogenti

- *Definizione dell'analita*: è noto che il primo passo verso la standardizzazione di un analita è la sua accurata definizione. Diversi studi recenti tuttavia stanno dimostrando che la natura dell'albumina nelle urine è diversa e per certi aspetti più complicata di quanto ritenuto^{12,13}. La molecola infatti può essere escreta intatta o frammentata in polipeptidi a basso peso molecolare oppure ancora soggetta a modificazioni dovute a reazioni di ossido-riduzione o glicazione^{6,8,12,13}. L'importante implicazione è che metodi analitici basati su diversi principi misurano specie diverse di albumina e forniscono quindi risultati discordanti⁸. Alcune di queste modificazioni sono in grado di rendere la molecola non più riconoscibile da parte degli anticorpi utilizzati nei metodi immunometrici e di conseguenza tali metodi forniscono valori più bassi di quelli ottenuti con metodi basati su altre caratteristiche della molecola^{14,15}.

1. *Aspetti analitici*: allo scopo di misurare quella che viene definita "albumina totale" (immunoreattiva e non) sono stati così sviluppati in questi anni metodi alternativi. Il primo ad essere proposto è stato un metodo in HPLC che fornisce valori consistentemente più elevati dei comuni metodi immunometrici¹⁶. Successivamente altri Autori hanno dimostrato che altre proteine vengono co-eluite con l'albumina mettendo così in discussione la specificità di tale metodo basato su esclusione molecolare¹⁷. Per la misura della "albumina totale" è stato anche proposto un metodo elettroforetico (chip electrophoresis) apparentemente libero da tali interferenze, che anche fornisce valori più elevati dei

metodi immunometrici¹⁸. I metodi che sembrano più promettenti sono quelli che accoppiano la cromatografia liquida con spettrometria di massa¹⁹. Tali metodi godono di una elevata accuratezza e specificità analitica che li propongono quali candidati ideali come metodi di riferimento per la misura di varie proteine²⁰. È stato anche verificato che il metodo citato fornisce risultati sostanzialmente in accordo con un metodo immunometrico, suggerendo così che la sottostima dei metodi immunometrici potrebbe non essere un problema maggiore¹⁹.

2. *Utilizzo clinico*: prima che l'utilizzo di un nuovo metodo possa essere raccomandato, è necessario che i risultati che esso fornisce (specialmente se essi differiscono in modo sostanziale dal metodo in uso precedentemente) siano validati clinicamente, sia cioè dimostrato che il loro impiego porta ad un effettivo miglioramento nella gestione clinica del paziente. I metodi HPLC ad esclusione molecolare avevano destato grande interesse al loro apparire anche perché sembrava dimostrato che essi erano in grado di rilevare l'insorgere della nefropatia diabetica con anni di anticipo rispetto ai metodi tradizionali²¹. In realtà, una ri-valutazione condotta sui partecipanti allo studio HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation) nel quale l'albumina urinaria è stata misurata con metodo immunometrico e con metodo HPLC, ha dimostrato che i più elevati livelli di albumina misurati con HPLC rispetto al metodo radioimmunologico convenzionale, non aumentavano il valore predittivo del parametro per gli eventi cardiovascolari considerati nello studio²². Non sembrano quindi esistere sufficienti evidenze che inducano alla sostituzione dei metodi immunometrici per la misura della albumina urinaria almeno nel medio periodo.

- *Sensibilità dei metodi*: esistono fondate evidenze [molto chiaramente discusse in due recenti rassegne^{7,23}] che indicano come esista una relazione continua tra escrezione urinaria di albumina e rischio, analogamente a quanto si verifica per i livelli di colesterolo e la pressione arteriosa. Alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato infatti che non può essere identificata una concentrazione bassa di albumina urinaria che sia associata a rischio "zero"^{24,25}. In questo contesto di esigenza clinica, la sensibilità e la linearità dei metodi diventano caratteristiche analitiche particolarmente importanti da sottoporre a verifica nel momento della acquisizione della strumentazione. I metodi commerciali a sensibilità più elevata dichiarano limiti di rilevabilità attorno a 2 mg/L; resta da chiarire se questo limite è congruo con le esigenze cliniche sopra ricordate, tenendo conto del fatto che è possibile vengano analizzati campioni di urine particolarmente diluiti. Il comportamento dei metodi comunemente utilizzati a concentrazioni particolarmente basse non è noto in quanto le concentrazioni dell'analita nei campioni di controllo sia interno che esterno sono in generale sostanzialmente più elevate del limite di 2 mg/L.

- *Standardizzazione della misura della creatinina*: questo problema è particolarmente sentito relativamente all'utilizzo della misura della creatinina plasmatica come indice di funzionalità renale²⁶, ma considerato il rilievo del rap-

porto albumina/creatinina nella rilevazione del danno renale, anche la standardizzazione della misura della creatinina urinaria ha necessità di essere affrontato¹¹.

Nota conclusiva

In attesa che la disponibilità di ulteriori elementi consenta alla comunità scientifica internazionale di assumere posizione sui problemi menzionati, il laboratorista ha il compito di adeguarsi alle indicazioni delle linee guida esistenti che sono state elencate nel paragrafo ad esse dedicato e che vengono qui brevemente riassunte nei loro elementi essenziali.

- Fase preanalitica: campione spot (meglio se il primo del mattino) nel quale misurare simultaneamente albumina e creatinina.
- Fase analitica: metodi con CV < 15%.
- Fase post analitica: unità di misura e valori di decisionali: 30 µg/mg creatinina oppure 3.4 mg/mmol creatinina.

Da quanto emerso nel questionario, particolare attenzione deve essere posta alla congruità fra tipo di campione esaminato, unità di misura e valori di riferimento; inoltre le procedure di verifica interna ed esterna di qualità hanno necessità di essere riviste e modificate secondo le regole della buona pratica di Laboratorio.

Considerate le importanti implicazioni cliniche che la misura del rapporto albumina/creatinina ha nei pazienti diabetici e non, una standardizzazione internazionale del test è una seria necessità. Il Gruppo di lavoro IFCC sull'argomento ha deciso di programmare le proprie attività in modo da essere in grado di proporre soluzioni a breve-medio termine¹¹.

Bibliografia

1. American Diabetes Association. Position Statement. Nephropathy in Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:Suppl1:79-83.
2. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendation 2007. Nephropathy screening and treatment. *Diabetes Care* 2007;30 Suppl1:S79-S81.
3. Newman DJ, Mattock MB, Dawney ABS, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, et al. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications. *Health Technol Assess* 2005;9:1-180.
4. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrot M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48:436-72.
5. Graziani MS, Lo Cascio C, Caldini AL, Ghiara F, Salvadori B, Secchiero S, et al. Indagine conoscitiva sulla determinazione quantitativa della albumina nelle urine nei laboratori italiani. *Biochim Clin* 2007;31:290-6.
6. Peters T Jr. New form of urinary albumin in early diabetes: *Clin Chem* 2004;12:2238-9.
7. Ruggenenti P, Remuzzi G. Time to abandon microalbuminuria? *Kidney Intern* 2006;70:1214-22.
8. Peters T. How should we measure the albumin in urine? *Clin Chem* 2006;52:555-6.
9. www.aemmedi.it. (data di consultazione: 23.8.2007).
10. www.ifcc.org. (data di consultazione: 23.8.2007).
11. McQueen MJ Standardisation of microalbumin. *CCLM* 2007;45:Special Supplement S13.
12. Wiggins RC, Kshirsagar B, Kelsch RC, Wilson BS. Fragmentation and polymeric complexes of albumin in human urine. *Clin Chem Acta* 1985;149:155-63.
13. Osicka TM, Houlihan CA, Chan JG, Jerunms G, Comper WD. Albuminuria in patients with type 1 diabetes is directly linked to changes in lysosome-mediated degradation of albumin during renal passage. *Diabetes* 2000;49:1579-84.
14. Osicka TM, Comper WD. Characterisation of immunochemically nonreactive urinary albumin. *Clin Chem* 2004;50:2286-91.
15. Redon J. Measurement of microalbuminuria - what nephrologist should know. *Nephrol Dial Transplan* 2006;21:573-6.
16. Comper WD, Osicka TM, Jermus G. High prevalence of immunoreactive intact albumin in urine of diabetic patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41:336-42.
17. Sviridov D, Meilinger B, Drake SK, Hoehn GT, Hortin GL. Coelution of other proteins with albumin during size-exclusion HPLC: implications for analysis of urinary albumin. *Clin Chem* 2006;52:389-97.
18. Chan OTM, Herold DA. Chip electrophoresis as a method for quantifying total microalbuminuria. *Clin Chem* 2006;52:214-6.
19. Babic N, Larson TS, Grebe SK, Turner ST, Kumar R, Singh RJ. Application of liquid chromatography-mass spectrometry technology for early detection of microalbuminuria in patients with kidney disease. *Clin Chem* 2006;52:2155-7.
20. Hortin GL. A new era in protein quantification in clinical laboratories: application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2007;53:543-4.
21. Comper WD, Osicka TM, Clark M, MacIsaac RJ, Jeremus G. Earlier detection of microalbuminuria in diabetic patients using a new urinary albumin assay. *Kidney Int* 2004;65:1850-5.
22. McQueen MJ, Gerstein HC, Pogue J, Mann JFE, Yusuf S. Reevaluation by High-Performance Liquid Chromatography: clinical significance of microalbuminuria in individuals at high risk of cardiovascular disease in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) study. *Am J Kidney Dis* 2006;48:889-96.
23. Forman JP, Brenner BM. "Hypertension" and "microalbuminuria": the bell tolls for thee. *Kidney Int* 2006;69:22-8.
24. Gerstein HC, Mann JFE, Qilong Y, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular event, deaths and heart failure in diabetic and non diabetic individuals. *JAMA* 2001;286:421-6.
25. Klausen K, Borch-Johnsen K, Feldt-Rasmussen, et al. Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension and diabetes. *Circulation* 2004;110:32-5.
26. Panteghini M, Myers G, Miller WG, Greenberg N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1187-92.