Gli esami su urine. È il tempo per cambiare?

P. Cappelletti
Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Santa Maria degli Angeli di Pordenone

Riassunto. Il passaggio dall'uroscopia all'analisi delle urine e l'era tecnologica della medicina di laboratorio hanno definito i contenuti dell'esame standard delle urine, consentendo diversificate strategie diagnostiche che oggi convivono nei laboratori e che comprendono un approccio tradizionale, l'uso delle strisce reattive come selezione per la microscopia, l'automazione del sedimento urinario. Ciascuna di queste strategie conosce limiti che è necessario avere in mente, sia per una trasparente dichiarazione della loro efficienza diagnostica complessiva, sia per la scelta della via più razionale. A fronte di una generalizzata sottostima di questa analisi, si impone un cambiamento, stimolato anche dalle più recenti linee-guida internazionali, volto alla redefinizione degli obiettivi clinici, alla garanzia di qualità del campione e delle procedure standardizzate, alla revisione dei processi interni tecnici ed organizzativi, alla stesura di un referto clinicamente espressivo, alla formazione dei produttori specialmente a livello di POCT e degli utilizzatori finali. Una riacquisita consapevolezza del potenziale diagnostico dell'esame urine da parte del medico di laboratorio è peraltro condizione fondamentale per un efficace cambiamento. Oggi per *esame standard delle urine (urinalysis)* si intende un insieme di dati organolettici (aspetto, colore), fisici (peso specifico, pH), chimici (albumina, emoglobina, esterasi leucocitaria, nitriti, glucosio, chetoni, bilirubina, urobilinogeno) e microscopici (sedimenti organizzati) la cui composizione è venuta definendosi storicamente negli ultimi 200 anni.

Prospettiva storica

L'esame delle urine è molto probabilmente il più antico esame di laboratorio della storia della medicina: è citato da Ippocrate nel V secolo a.C., nel *Prognosticon* e negli *Aforismi* e Galeno gli dedica un libro. Durante tutto il medioevo, dalla riscoperta bizantina del VI secolo d.C. da parte di Teofilo Protospatario, esso è presente in tutti i manoscritti medici. In quel periodo l'Europa è percorsa da Uromanti (*Pisse Prophetes*) che sostenevano di poter predire il futuro dall'esame macroscopico delle urine raccolte nella matula. Il distacco dalla magia, durante il Rinascimento, è lento e contrastato, se ancora nel 1638 J. Primrose dedica la seconda parte del suo libro *De Vulgi erroribus in Medicina*, pubblicato a Londra, alla demolizione della divinazione dalla uroscopia (*de fallaci urinarum judicio*). A quello stesso periodo risalgono le prime osservazioni microscopiche delle urine, con il nuovo strumento inventato dagli olandesi, ad opera del francese Nicolas Claude Fabris de Peiresc[1].

Ma è tra gli anni 1830 – 1860 che avviene il passaggio dalla uroscopia all'esame urine[2], transizione che non ha paragoni nella storia della medicina, attraverso la prima descrizione di sedimenti microscopici relati ad una specifica patologia renale da parte di Richard Bright (Londra, 1827) e la definizione della sindrome rene grinzo, albuminuria, idropisia come "malattia di Bright" da parte del suo amico parigino Pierre Rayer, intorno al 1830. Nel 1843 Golding Bird dà resoconto sulla *London medical gazette* di quelle ricerche nelle *Lectures on the physical and pathological characteristics of urinary deposits, delivered at Guy's Hospital*. D'altro canto, in quegli anni sono messe a punto le prime reazioni chimiche applicate all'esame diagnostico delle urine per la determinazione della glicosuria (Fehling, 1848) e della albuminuria, dapprima qualitativa (biureto, 1833; Heller, 1852) e a fine secolo quantitativa (Esbach, 1874)[3].

Nel XX secolo le reazioni chimiche vengono semplificate in polvere o tavolette, per essere utilizzate sul campo di battaglia della Prima Guerra Mondiale, e i sedimenti organizzati, le loro caratteristiche, il loro significato patologico vengono definiti dai lavori, ancor oggi fondamentali, dello scozzese Thomas Addis[4,5] .

La storia tecnologica dell'esame urine, tuttavia, si esplica nella seconda metà del secolo con la nascita delle strisce reattive, "*dip and read*" (dipstick), il cui primo prodotto commerciale è Albustix della Ames (Divisione di Miles, Elkhart, Indiana, USA) nel 1957, la loro progressiva trasformazione da "singole" a "multiple" e la loro automazione durante gli anni '60 (Clinitek della Ames) con la progressiva incorporazione delle determinazioni fisiche negli stru-

Corrispondenza a: piero.cappelletti@aopn.fvg.it

menti automatici. Il trionfo dei dipstick, e della loro sensibilità, mette in crisi l'utilizzo routinario della microscopia tradizionale, criticata per la sua scarsa riproducibilità e per l'impegno di risorse umane[6].
La lunga diatriba sulla obbligatorietà dell'esame microscopico nell'esame urine di routine, iniziata al *Joint Meeting of the American Society of Clinical Pathologists and College of American Pathologist*, Las Vegas 1977, da parte di Schumann e Greenberg[7], non è ancora cessata. D'altra parte, proprio in quegli stessi anni, l'esame microscopico del sedimento è rivalutato nella sua utilità diagnostica dai lavori di Birch e Farley[8] sul tipo di ematuria in relazione alla sua origine anatomica e patologica e dai lavori di Lidner e collaboratori[9,10] sulla formazione, significato ed identificazione dei cilindri. I lavori di Györy e collaboratori[11,12] sottolineano le condizioni tecniche e metodologiche alle quali la microscopia ha corrispondenza con l'escrezione cellulare renale, rivestendo un ruolo concreto nel monitoraggio della patologia renale.
La crisi della cieca fiducia nel potenziale diagnostico delle strisce reattive[13,14], specialmente con l'indicazione delle effettive necessità diagnostiche e degli opportuni marcatori come nella diagnosi differenziale della proteinuria, e la possibilità di quantificazione riproducibile e veloce dei sedimenti organizzati, attraverso mezzi automatici di riconoscimento di immagine più o meno raffinati (the Yellow IRIS, UA 1000) degli anni '80[6,15] e nella messa a punto, durante l'ultimo decennio del secolo, di accurati e precisi riconoscimenti cellulari nelle urine con citofluorimetria a flusso (UF-100),[16] aprono nuove prospettive nella strategia diagnostica dell'esame urine, con interesse per gli aspetti riorganizzativi e di integrazione dell'area urine ed attenzione per una appropriata definizione dei suoi obiettivi diagnostici e della sua efficacia clinica.[17]

Le strategie diagnostiche

Le strategie diagnostiche dell'esame urine attualmente praticate, almeno in Italia, sono il frutto della storia dell'era tecnologica dell'esame urine e sono sostanzialmente sintetizzabili in 3 tipologie:

1. **Strategia tradizionale**, che prevede l'esame completo organolettico, fisico, chimico con strisce a 8-10 parametri, e microscopico del sedimento urinario a luce chiara, talvolta in contrasto di fase, dopo centrifugazione e risospensione, su tutti i campioni di urina, a prescindere dalla popolazione di provenienza e dallo scopo clinico;
2. **Selezione con striscia**, dove è la positività della striscia reattiva a determinare la necessità dell'approfondimento microscopico nell'esame urine per screening; in letteratura si raccomanda che l'esame microscopico sia eseguito sempre sui pazienti selezionati per patologia conosciuta o ad alto rischio di patologia nefro-vescicale;
3. **Automazione del sedimento urinario**, con integrazione, in vario modo, dei dati della striscia reattiva con quelli provenienti dalla strumentazione automatizzata di riconoscimento dei sedimenti organizzati, per lasciare alla microscopia ottica il controllo dei campioni selezionati o da approfondire.

Tutte le strategie proposte hanno limiti importanti che vanno tenuti in mente.

Strategia tradizionale
La microscopia è il gold standard per il riconoscimento di cellule e sedimenti urinari e, in definitiva, per la diagnostica delle malattie renali. Da molto tempo è chiaro che essa conosce molti passaggi operativi che determinano una assai scarsa precisione ed anche una limitata accuratezza.[18] Nonostante ciò, ancor oggi la microscopia ottica eseguita da persone esperte rappresenta il metodo di riferimento, seppur solo qualitativo, per l'esame delle urine.[19]
I principali limiti sono l'elevata imprecisione, che può raggiungere secondo la stima di Hannemann-Pohl e Kampf[19] il 100%, il grande impegno di risorse umane qualificate, la produzione di messaggi che determinano assai scarsi mutamenti nel comportamento clinico, e cioè in non più del 50-75% dei casi[20]. I motivi dell'elevata imprecisione sono i medesimi della microscopia ematologica (metodi e tecniche di conta, variabilità interosservatori) ma a questi si aggiungono due aspetti particolari: la preparazione del campione da analizzare e la qualità del campione nativo. Uno sforzo notevole di standardizzazione delle procedure per l'esame urine è stato quello del NCCLS, dal 1985 in poi[21], e recentemente da ECLM[22]. Il passaggio più difficile da standardizzare è quello della centrifugazione. È stato dimostrato che in questa fase possono essere perduti, anche rispettando le regole di standardizzazione del documento NCCLS GP 16 A, almeno il 20% degli eritrociti e il 15% dei leucociti, per fenomeni di lisi o di adesione, con grande variabilità tra campioni diversi (CV 14-26% a seconda dei sedimenti esaminati) in rapporto alle differenze in viscosità e soprattutto in peso specifico delle urine trattate. L'aumento del tempo di centrifugazione (x 3) o della velocità rotazionale (x 2) migliora l'efficienza del recupero post-centrifugazione ma aumenta il tasso di distruzione delle cellule e dei cilindri[19]. D'altro canto è stato segnalato che il proposto uso di urine non centrifugate determina il mancato riconoscimento di sedimenti organizzati, con falsi negativi tra 84 e 100% per cilindri, tra 83 e 70% per eritrociti e tra 51 e 58% per leucociti, quando confrontato con metodiche standardizzate di quantificazione degli elementi (QUM: *quantitative urine microscopy*).[23] Lo sforzo di standardizzare il volume residuo, in cui risospendere il sedimento, e il volume di urine esaminato al microscopio si è tradotto in regole NCCLS e ECLM sostanzialmente sovrapponibili. Nelle linee guida ECLM[22] il punto 6.2 *Different techniques of visual microscopy*, all'Allegato 12 *Detail of particle analysis*, il punto 12.12 *Standardized urine*

sediment examination (Level 2) e la *Table XXX* stabiliscono i tempi e i volumi, le caratteristiche della centrifugazione e della risospensione, la quantificazione, la refertazione, i controlli di qualità, etc. A queste condizioni è possibile definire il rapporto tra elementi/µL nell'urina nativa ed elementi/hpf nel sedimento per campo a 400x pari a 4 – 5.8[19,22], a seconda della presenza o meno di colorante aggiunto e della valutazione o meno dell'efficienza della centrifugazione. Da questo punto di vista una più precisa quantificazione degli elementi (QUM), in camera di conta di Fuchs-Rosental e con microscopia a contrasto di fase, era stata proposta da Györy[11,12] ancora nei primi anni '80. In relazione alla maggior quantità di urina esaminata con questo metodo (0.25 µL per i batteri, 4 µL per eritrociti e leucociti, 64 µL per i cilindri vs 0.173 µL con il metodo ECLM), l'esame microscopico delle urine diviene effettivamente quantitativo, correlandosi alla escrezione renale e rimpiazzando la conta di Addis, inficiata dai lunghi tempi di raccolta che determinano distruzione di cellule e sedimenti, per il monitoraggio di malattia ed esaltando la significatività delle alterazioni microscopiche urinarie. Györy[24] è in grado di dimostrare l'importanza dei cilindri rinvenuti nelle prime urine del mattino nel definire la presenza di malattia renale (2 QUM sequenziali negativi per cilindri hanno un valore predittivo negativo di alterazioni renali alla biopsia del 100%) e nel predirne la gravità perché correlata al numero di cilindri in QUM e la minor importanza degli eritrociti, anche dismorfici, nella diagnosi di malattia renale perché non specifici del rene, più proni ai problemi di concentrazione e pH urinari e per il meccanismo non sempre "glomerulare" della loro deformazione (aumentano considerevolmente dopo biopsia).

La scarsa attenzione alla risorse umane impiegate per l'esame urine venne icasticamente espresso da Meryl H Haber[25] più di vent'anni fa: *tecnologists in the urinalysis section of the laboratory are often "the lowest man on the totem pole"*. La microscopia urinaria, quando eseguita appropriatamente ed inserita nel contesto clinico, può avere un ruolo clinico importante. Tuttavia in molti casi mancano le condizioni: i principali problemi sono la fase preanalitica, la mancata standardizzazione delle procedure e una adeguata conoscenza di molti elementi microscopici di importanza clinica. A ciò si aggiunge la grande quantità di campioni non selezionati da esaminare[26]. Ancor oggi, in una Survey italiana[27], la percentuale di riconoscimento dei sedimenti organizzati significativi di patologia renale non è buona, con percentuali di riconoscimento delle cellule transizionali superficiali del 41.9%, delle cellule tubulari del 51.9%, dei cilindri granulosi del 62.5% e dei ialinogranulosi del 72.5% contro il riconoscimento di eritrociti isomorfi dell'89.3%, dei leucociti del 96.9% e dei batteri del 97.3%.

ECLM[22] dedica a questo aspetto del problema il punto 6.1 *Clinically significant particle in urine* e, nell'Allegato 12, il punto 12.1.3 *Morphologic criteria for urinary sediment findings (Level 2)* e le *Table XXXI* e *XXXII*. Ancor oggi la quantità e la qualità delle risorse umane impiegate rappresentano il tallone d'Achille, sotto il profilo dell'efficacia clinica, e il collo di bottiglia, sotto il profilo organizzativo, dell'esame urine.

Infine la causa fondamentale dello scarso significato clinico di buona parte delle alterazioni esclusivamente microscopiche dipende dalla contaminazione del campione[20]. Ancora Galeno proibiva l'esame delle urine oltre le 6 ore dall'emissione. Le ricerche della correlazione tra esterasi leucocitaria su striscia e leucociti/hpf hanno messo in evidenza 20 anni fa che il tasso di lisi leucocitaria è già importante a 2 ore dalla raccolta (35%). È oggi chiaro che per una efficace diagnostica le indagini morfologiche dovrebbero avvenire entro un'ora dalla raccolta, 30 minuti se conservate a 20°C[22]. D'altra parte il modo della raccolta è stato definito solo recentemente. Per molto tempo il mitto intermedio dopo accurata pulizia dei genitali è stato raccomandato esclusivamente per le indagini microbiologiche su urine, lasciando il primo mitto a disposizione dell'esame standard. Da sempre i microscopisti conoscono il problema della contaminazione, particolarmente evidente nelle femmine, che può raggiungere valori del 38.8%, in urine raccolte a fini microbiologici, o del 58% in urine raccolte per screening[20]. Recentemente è stato messo in dubbio che la contaminazione possa essere dedotta dalla quantità di cellule epiteliali squamose[28]. Tuttavia NCCLS GP 16-A, ancora nel 1995, raccomanda di evitarla "per quanto possibile" ma non dice come[21]. Finalmente ECML[22], nel 2000, stabilisce i dettagli per una raccolta incontaminata al punto 3 *Patient preparation*, al punto 4 *Collection of specimens, preservatives and transport*, nell'Allegato 10 *Specimen details (box)*, 10.3 *Collection of urine specimens* e con le figure di pagg 91-5 *Pictures showing the basic procedures (…can freely copied)*. E tuttavia pare di capire che l'indicazione del campione da ottenere (*the most commonly obtained specimen is the midstream urine*) derivi esclusivamente da esigenze microbiologiche (*the microbiological requirements usually determine the details of any collection method*). Deve essere, invece, evidente che il mitto intermedio a genitali puliti e divaricati è necessario per l'accuratezza delle determinazioni e per la significatività dei reperti urinari. Diversamente lo sforzo di standardizzazione sarà assolutamente inutile e ci condanneremo a perpetuare le antiche segnalazioni della mancata riconferma dei dati microscopici anche nel 89% dei casi, della segnalazione di "piuria sterile" anche nel 12% dei casi[20] o dell'esistenza delle "glomerulonefriti silenti", istologicamente documentate alla biopsia ma con sedimento completamente normale![12] In questo caso dovremmo concordare con Györy: "*It is far better* ***not*** *to have a result of a microurine examination than to have a false one*" [12].

Selezione con striscia

Il concetto del *dipstick sieve*, nato dalla provoca-

zione di Schuman e Greenberg[7], mira a superare i problemi della microscopia tradizionale, quali lo spreco di risorse e la bassa efficacia clinica, e si basa sulla convinzione che il miglioramento tecnico delle strisce degli anni '70 e l'introduzione dell'esterasi leucocitaria e dei nitriti consentano di coprire ampiamente le necessità di uno screening urinario. In realtà la lunga battaglia pro e contro la microscopia e negli anni '90 il confronto con i metodi citometrici hanno mostrato le numerose limitazioni delle strisce reattive. Ancora nel 1985 CG Fraser e J Zilva[13,14], in due susseguenti articoli sul British Medical Journal, concludevano che i parametri utili clinicamente erano quelli con maggiori limiti analitici e che l'uso dello screening urinario senza un riferimento clinico era del tutto inutile. Nel 2000 Kutter[29], che pure è un convinto assertore della validità delle strisce, riconosce numerose debolezze dei metodi: la sensibilità dell'esterasi leucocitaria è sufficiente per l'uso routinario ma vi sono falsi positivi e negativi da trattamento del campione e del paziente; la sensibilità per eritrociti intatti ed emoglobina è molto diversa e vi sono falsi positivi per idroperossidasi batteriche o da detergenti; il test dei nitriti è specifico per i germi produttori (Escherichia coli, Klebsiella, Proteus), solo se vi è una sufficiente permanenza dell'urina in vescica, ma non è sensibile per la batteriuria in generale; il grande problema della proteinuria consiste nella larga incapacità di determinare le globuline, nella scarsa sensibilità (30 mg/mL) anche per l'al-

Tabella I. Performance delle strisce reattive vs dosaggio quantitativo delle proteine urinarie.

	FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(13) *	5	5				
(30)**	12	2.3	88	97.7	98.2	84.4
(31)***	5.7	5.8	92.2	77.3	91.8	78.1

* da inchiesta in ospedali USA n.1456;
** da VEQ per RAF n.3276;
*** per proteine 0.16 g/L n.665.

Tabella II. Performance della striscia reattiva (pdseudoperossidasi) nel predire la presenza di eritrociti nell'urina.

	FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(32) n 720 mo 3/hpf			93	83	64	97
(33) n.782 mo 2/hpf			91	81	50	98
(34) n.196 mo 5/hpf	0.5	8.4	98	77	53.2	99
(35) n.219						
mo 2/hpf	17	12.3	66	84	68	83
st 2/hpf	6.5	18	78	81	56	93
(36) n.1000 st 5/hpf	3	9.8	86.1	85	65.4	95.8
(37) n.427 IRIS	8.8	17.7	70.8	74.4	55.4	85.3
(30) n.419	17.4	6.7	93	83.5	93.5	85.2
(31) n.449 cam 10/µL	17	7.7	74.3	77.1	86.3	60.2
(38) n.1001 UF-100	5	1	89.8	97	97.6	89.9

mo: microscopia routinara; **st**: microscopia standardizzata; **cam**: camera di conta.

Tabella III. Performance della striscia reattiva (esterasi) nel predire la presenza di leucociti nell'urina.

	FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(32) n 720 mo 7/hpf			90	87	59	98
(33) n.782 mo 4/hpf			82	85	55	95
(34) n.196						
mo 5/hpf	2	6.3	94.4	91.4	84.2	96.6
mo 10/hpf	-	12	100	81.3	68.4	100
(35) n.219						
mo 4/hpf	11	4.8	69	94	79	91
st 4/hpf	1.5	7	91	92	66	98
(37) n.427 IRIS	8.6	3.5	71.9	94.8	86	88.3
(30) n.419	-	4.9	100	98.4	95	100
(31) n.449 cam 20/µL	17	7.7	74.3	77.1	86.3	60.2
(39) kova						
n.204 10/µL	43	6	57	94	91	68
n.136 20/µL	23	9	77	91	81	88
(38) n.1001 UF-100	5	.2	89.8	99.5	99.5	90

mo: microscopia routinara; **st**: microscopia standardizzata; **cam**: camera di conta; **kova** griglia di conta.

Tabella IV. Performance della striscia reattiva (nitriti) nel predire la presenza di batteri nell'urina.

	FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(33) n.782 + esterasi			82	85	55	95
(34) n.196 mo	16.8	1	28	99	86.6	81.7
(37) n.427 IRIS	10	0.6	57	99	94.8	88.7
(39)						
n.90 $5x10^4$ CFU/mL	43	6	57	94	91	68
n.72 10^5 CFU/mL	23	9	77	91	81	88

Tabella V. Performance della striscia reattiva nel predire la presenza di patologia microscopica.

		FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(34) n.1839	a	13	28	70	71	63.5	76.5
	b	3.3	30	92	70	69.6	92.6
(35) n.219							
c	mo	4.3	36	89	64	53	93
st		1.2	50	95	60	40	97
d	mo	8.2	15.7	81	68	58	87
st		.5	37.3	98	67	49	99
(20) n.1506 e		10	19.2	66	78	57.5	85
(37) n.427 IRIS		10	.6	57	99	94.8	88.7

a Multistix; **b** Chemstrip; **c** Clinitek; **d** Urotron; **e** SuperAution;
mo microscopia routinara; **st** microscopia standardizzata

Tabella VI. Performance della striscia reattiva nel predire la presenza di infezione urinaria.

	FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(39)						
n.90 $5x10^4$ CFU/mL	28	23	72	77	46	91
n.72 10^5 CFU/mL	22	25	78	75	39	94
N or LE						
(40) n.479						
10^3 CFU/mL			0	98.3	0	99.1
10^4 CFU/mL			25	98.3	42.9	96.3
10^5 CFU/mL			84	98.3	84	98.3
N and LE						
(41) n.225						
LE			75	72	42.9	91.1
N			19.2	94.9	50	81.7

N nitriti; **LE** esterasi leucocitaria

bumina, insufficiente alla diagnostica delle malattie renali secondarie (diabete, ipertensione) e nell'impossibilità di predire la presenza di cilindri. Di qui la necessità di ridefinire le aree reattive con l'introduzione di aree sensibili alla microalbuminuria, alle proteine totali e alla creatinina.
La capacità delle strisce di predire le alterazioni quantitative e microscopiche singole non è adeguata (Tabella 1,2,3,4).

Ma ciò che più conta è il numero delle informazioni diagnostiche complessivamente perdute (Tabella 5).
Già i detrattori del sedimento a fini di screening ammettevano un numero di discrepanze totali (falsi negativi della striscia rispetto alla microscopia) pari al 2.9%[7], ma nel dibattito dei dieci anni successivi la letteratura fornisce dati molto differenziati, dall'1 al 38%[20]. Recentemente Laine et al. segnalano una perdita di patologia internistica dell'8.9% ,di cui il 3.8% relativo ad infezioni[42].
I confronti tra le caratteristiche biochimiche o microscopiche e la coltura batterica sono sempre molto difficili sia per la incertezza del riferimento (si considera realistico un tasso di falsi negativi intorno al 10%) sia perché il livello decisionale per definire positiva una cultura è assolutamente discriminante. L'incapacità della striscia al riconoscimento delle infezioni urinarie è evidente non solo nella popolazione generale[39,41] ma anche in popolazioni a rischio o sintomatiche[40]. Il problema è importante ai fini di screening. Nel 1999 una metanalisi[43] aveva indicato una performance del dipstick (nitrati più esterasi) simile a quella della colorazione di Gram e superiore alla ricerca microscopica della piuria nello screening di infezioni urinarie nei bambini. Ma nel 2002 un'altra metanalisi più estesa[44] ha ribaltato le conclusioni, riconoscendo alla microscopia (10 leucociti/hpf più la presenza di batteri) la miglior capacità predittiva.
Si deve pertanto riconoscere che la strategia della selezione con striscia reattiva si basa su false premesse e conduce a risultati non corretti e talora pericolosi e va abbandonata. "*Today, however, it is clear*

Tabella VII. Performance di UF-100 nel predire la presenza di eritrociti nell'urina.

		FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(45)	n.319 st	3.9	13.2				
	mo urina nativa	1.8	11.1				
(19)	n.438 mo+dip 10/µL	1.8	3.9	76.6	74.4		
	(46) n.269 cam 10/µL			82	86		
	(47) n.1029 st	5.2	.3				
	n.554 st 20/µL	3.6	.9	58	89		

mo microscopia routinara; **st** microscopia standardizzata

Tabella VIII. Performance di UF-100 nel predire la presenza di leucociti nell'urina.

		FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(45)	n.290 st	0.6	3.8				
(19)	n.438 mo+dip 35/µL	0.7	3.6	84.8	86.9		
(46)	n.269 cam 20/µL			94	91		
(47)	n.1029 st	2.5	3.3				
	n.554 st 20/µL	1.9	.9	82	83		

mo microscopia routinara; **st** microscopia standardizzata

Tabella IX. Performance di UF-100 nel predire la presenza di cilindri nell'urina.

		FN	FP	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(45)	n.290 st	13.7	5.2				
(19)	n.438 mo+dip 35/µL	78	81				
(46)	n.269 cam 20/µL			67	73		
(47)	n.1029 st	7.1 ialini	1				
	n.554 st 20/µL	5.5 altri	0 26.2*				

mo microscopia routinara; **st** microscopia standardizzata; ; **cam**: camera di conta.
* casi non conclusivi

Tabella X. Performance di UF-100 nel predire la presenza di epiteli nell'urina.

		CelluleEpiteliali			Small round cells	
				(19) n.438 mo+dip 2.9/µL 3.6/µL	9.2 9.4	4.1 2.5
(46)	n.269 cam 3/µL	Sens 77	Spec 72	(46) n.269 cam 3/µL	Sens 62	Spec 73
(47)	n.1029 st		FP 4.5 -0.7	(47) n.1029 st		FP 45.8 - 5.4
	n.554 st 30/µL 50/µL		FP 6.3 -1.5	n.554 st 1/µL 2/µL		FP 49 - 9

st microscopia standardizzata; **cam**: camera di conta

that only the obligatory combination of selective test strip examination of the urine and microscopic examination of urine sediment assures adequate sensitivity and specificity in basic urine diagnosis"[19].

Automazione del sedimento urinario

Iniziata quasi 20 anni fa con la proposta di sistemi di riconoscimento di immagine, quali The Yellow IRIS, UA 1000 e 2000 e Seditron, si è di fatto affermata con la citofluorimetria a flusso dello strumento UF-100 Sysmex nella seconda metà degli anni '90. Diverse valutazioni[17,19,45,46,47,48,51] hanno evidenziato le possibilità e limiti di questo approccio, che ricalcano quanto avvenne negli anni '70 relativamente all'ematologia: grande miglioramento della precisione, possibilità di quantificazione più affidabile, affinamento degli intervalli di riferimento, aumento della produttività ma con un importante problema di correlazione con il metodo di riferimento e cioè la microscopia, di cui si sono già detti i limiti intrinseci.

La precisione nel giorno migliora drammaticamente passando, ai livelli critici di 6-10 cellule/µL, dai valori microscopici di CV 47.9-52.7 % per leucociti ed eritrociti rispettivamente a CV di 13.4-17.7%[45] o addirittura di 5.6-6.8%[19]. Più difficile da valutare ma discretamente accettabile è anche la ripetibilità tra giorni [19,46].

L'aumento della precisione e la possibilità di conte

Tabella XI. Performance di UF-100 nel predire la crescita batterica in coltura.

	Sensibilità	Specificità	VPP	VPN
(45) n.290 Bact>1800/µL+Leu>45/µL	88	95	86	96
(19) n.438 Bact>700/µL or Hbact>1500/µL	80	79	73.6	84.8
Bact>600/µL or Hbact>1000/µL 30/µL	96	64	71.1	98.2
Bact>600/µL or Hbact>1500/µL	54	98	97.6	61
(46) n.269 Hbact> 2000/µL +Bact>600/µL or Leu>200/µL	55	90	62.8	86.3
(48) n.266 Hbact>2500/µL or Bact>165/µL or Leu>20/µL or other>800/µL	86	56	59	84

Tabella XII. Revisione microscopica con uso di UF 100.

Anno (rif. bibl.)	**% microscopia senza UF 100**	**% microscopia con UF 100**
1997 (50)	100	49 /27
1998 (45)	100	13.7*
1999 (17)	80	15
1999 (51)	67 / 36**	9/6**
1999 (46)	65	20-35
1999 (19)	100	26-30
2001 (47)	100	40/48

* algoritmo comprendente il dosaggio delle proteine urinarie total
**popolazione ad alto rischio/mista; sono state valutate solo le discrepanze di eritrociti e leucociti

assolute a concentrazioni molto basse consente la ridefinizione degli intervalli di riferimento delle cellule nell'urina normale, separati per sesso e per età [19,48], offrendo al clinico un livello decisionale più sicuro per il trattamento dei casi clinici. È infatti ben conosciuta la babele relativa alle quantità accettate come non patologiche delle cellule urinarie[20].

Nonostante le difficoltà relative al metodo di riferimento, sono state proposte numerose comparazioni tra UF-100 e la microscopia, per valutare la capacità predittiva dello strumento rispetto alle cellule e ai sedimenti microscopici, che si può tentare di sintetizzare come segue (tabelle 7,8,9,10).

Per quanto riguarda la selezione dell'infezioni urinarie diversi autori si indirizzano a valutare UF- 100 quale sostituto della microscopia e della striscia per il rivelamento rapido di infezione[46].

Per quanto riguarda il danno renale è stato notato[19] che la somma delle informazioni provenienti da UF-100 e da dipstick copre un'area di patologia più ampia di quella rilevata dalla microscopia e da dipstick (50.7% vs 47.5%), ma che UF-100 non riconosce sufficientemente le cellule transizionali e renali (SRC: small round cells) ed ha un elevato numero di falsi positivi e falsi negativi per cilindri con una concordanza con la microscopia del solo 20%. Anche Kouri et al[46] segnalano la bassa performance di UF-100 nella rivelazione di cilindri (r = 0.52) e di SRC (Tabelle 9 e 10), ma con una formula multivariata, comprendente i parametri legati al danno renale (cilindri>2.5/µL, cilindri patologici>0.75/µL, SRC>5/µL o eritrociti>99/µL con dismorfici>80% e isomorfici<80%), si ottengono concordanze del 71% per 3 particelle/µL in camera di conta, 86% per 5/µL e 91% per 10/µL. Nella nostra esperienza[49], seppur su un numero limitato di casistica renale selezionata, la efficacia diagnostica di UF-100 è stata dell'88.8 %, con 5% falsi positivi e 5% falsi negativi, un valore predittivo positivo 90.9% e negativo 86.5%.

In conclusione la gran parte degli Autori concorda nel ritenere UF-100 un sensibile e specifico metodo di rilevazione della patologia urinaria con una sovrastima degli eritrociti ed una insufficiente efficienza diagnostica per cilindri, cristalli, miceti e parassiti. Pertanto non ne suggeriscono l'uso in sostituzione della microscopia ma come momento selettivo per indirizzare l'approfondimento microscopico. Delle diverse possibilità di uso con le strisce reattive la visione maggioritaria prevede un uso combinato dei due metodi per rendere più sensibile la selezione: infatti il dipstick rileva l'attività enzimatica delle cellule bianche e rosse anche dopo la loro lisi ed è positivo in situazioni non rilevabili morfologicamente, come l'emoglobinuria e la mioglobinuria, comunque importanti nella diagnostica delle urine. Per la rivelazione del danno renale la determinazione delle proteine è più sensibile ma meno specifica della microscopia, anche se né il metodo routinario né quello in camera di conta raggiungono una ottimale efficienza diagnostica. Emerge la necessità di una esplicita richiesta di sedimento nei pazienti con malattie o sospette malattie renali per indirizzare la strategia diagnostica[17,19,46,48].

In queste condizioni il tasso di campioni da avviare al microscopio può diminuire in sicurezza, anche attraverso la selezione tramite sistemi esperti che incorporano anche altri dati oltre quelli strumentali[17,47].

Resta il problema dell'organizzazione del lavoro per una reale modifica della produttività e della tempestività del referto. In una nostra valutazione[50], tenuto conto dei tempi di esame strumentale sia per striscia che citometrico e dell'approfondimento microscopico quando richiesto, il tempo globale aumenta del 30-40%. Assolutamente diversa l'esperienza di Kouri et al[46] che prevedono una diminuzione di attività del 30%. Molto importante, in questa valutazione, è la scelta se combinare o meno i due sistemi di selezione e le percentuali di microscopia residua, legate alle caratteristiche della popolazione afferente (prevalenza di malattie dell'apparato urinario) e ai livelli decisionali per la verifica dei diversi sedimenti organizzati.

"*The UF-100 analyzer is not a substitute for microscopic sediment examination; however, (when combined with dipstick testing) it can improve the productivity of urinalysis by reducing the numbers of specimens submitted to microscopy*" [38].

Il cambiamento

Alla luce dei progressi tecnologici e della riflessione scientifica relativi all'esame delle urine si impone un cambiamento della strategia diagnostica oggi adottata che può essere articolata in alcuni punti essenziali, il primo dei quali è la ridefinizione degli obiettivi clinici.

Ridefinizione degli obiettivi clinici
Ancora nel 1992 Burlina[52], nell'opera in cui accettava la separazione tra esame fisico-chimico come profilo urinario di base ed esame microscopico come esame di approfondimento "o come conseguenza della positività dei test rapidi biochimici per il sangue, le proteine ed i leucociti nel profilo iniziale o in tutti i casi richiesti specificatamente dal clinico", definiva l'esame standard delle urine come "un profilo veramente organo-metabolico, che esplora oltre allo stato morfofunzionale di un organo, il rene, molti metabolismi, da quello idroelettrolitico a quello glucidico, al protidico, etc.". Questo approccio risente dei tempi in cui la disponibilità di metodi rapidi per lo studio accurato di patologie su sangue o siero non era quella di oggi e le linee-guida per la diagnostica non erano ben definite. Oggi i parametri clinicamente utili e di sufficiente prestazione analitica sono quelli relativi alla rivelazione dell'albumina, seppur migliorata ed integrata, dell'emoglobina, dell'esterasi leucocitaria e dei nitriti. Il peso specifico è molto poco utile e va determinato esclusivamente con rifrattometro. Il pH è accurato ma nelle rare situazioni in cui serve (acidosi tubulare renale) è meglio impiegare un "piaccametro". Per quanto serve alla valutazione dell'adeguatezza del campione, relativamente ad una eccessiva diluizione oppure per prolungata e cattiva conservazione, sarebbe più utile una reazione rapida e quantitativa della creatinina da un lato e la valutazione macroscopica ed organolettica dall'altro. I pigmenti biliari hanno perduto il loro significato, benché Kutter[29] sostenga ancora un ruolo per l'urobilinogeno. Da più di dieci anni la letteratura scientifica ha accettato le conclusione dei medici di El Paso sulla insufficiente previsione di danno epatico sulla base delle positività urinarie dei pigmenti[53]. I chetoni in tracce sono per lo più legati al digiuno. Essi non sono utili come parte di un esame urine generale ma in riferimento a specifiche popolazioni di pazienti per specifiche malattie (diabete, abuso alcolico in emergenza, complicanze fetali nei post-termine). Altrettanto si dica per il glucosio: ormai da tempo le linee guida internazionali basano diagnosi, monitoraggio e trattamento sui dati plasmatici. A livello urinario ciò che conta è la cosiddetta microalbuminuria, che va ricercata sulla popolazione a rischio, con adatti metodi anche in chimica secca.
Correttamente ECLM[22] nella definizione dei *Medical needs for urinalysis Table I* sottolinea come lo scopo sia la diagnosi e il monitoraggio di malattie infettive e non infettive del tratto urinario e renali primitive e secondarie e solo secondariamente di diagnosi o monitoraggio di altri selezionati parametri in pazienti e in situazioni specifiche, come l'emergenza o le situazioni economiche difficili. Al punto 5.3.3 esplicitamente si dichiara "*Test strips with isolated fields to show the presence of glucose and/or ketone bodies, albumin or albumin/ creatinine ratio only are indicated in screening or follow-up of some patients groups, such as certain patients with diabetes mellitus, pregnant women or renal patients… The visual reading of one or two fields on a strip is easier than multiple test strip.*"
L'obiettivo clinico deve essere pertanto chiaro.

L'esame delle urine è finalizzato allo screening, diagnosi e monitoraggio delle malattie del rene e delle vie urinarie. A questo fine è fondamentalmente necessario il sedimento urinario standardizzato, eventualmente integrato da determinazioni chimiche di adeguatezza del campione e di segnale di falsi negativi e la determinazione accurata e quantitativa della proteinuria e di proteine specifiche quando richiesto dal sospetto clinico (diabete, ipertensione) o per la diagnostica dell'origine glomerulare, tubulare e postrenale della proteinuria. La determinazione di specifici parametri può essere utile in particolari situazioni (POCT) e particolari pazienti e va eseguita singolarmente. Queste determinazioni non devono rientrare nell'esame delle urine.
Esse fanno parte della variegata lista degli *esami eseguibili sulle urine*.
In questo senso andrebbe corretto anche il Nomenclatore Nazionale.

Informazioni cliniche
L'esame delle strategie diagnostiche ha messo in luce la necessità di informazioni cliniche per selezionare i percorsi, con risparmio di risorse e più accurata efficacia diagnostica. Tuttavia l'importanza di adeguate notizie cliniche e sul campione è generalmente sottostimata. ECLM[22], nell'Allegato 10.1, in 10.1.2 *Requesting urinalysis examinations* … precisa le informazioni essenziali del paziente generali e specifiche (terapia antimicrobica; segni, sintomi e sospetto clinico) e del campione (tempo, metodo di raccolta, preparazione del paziente) e i…*sieving principles* che prevedono la microscopia:

a) su pazienti selezionati per danno renale per i quali è previsto anche il dosaggio sensibile della proteinuria e
b) sui positivi a dipstick/citofluorimetria su richiesta condizionale;

è prevista anche la segnalazione di coltura condizionale e la segnalazione di non approfondimenti anche in presenza di positività della selezione.
La richiesta di notizie cliniche è sempre stata considerata utopica dai medici di laboratorio. Oggi con la periferizzazione degli esami di base al letto del malato e la pressione per l'appropriatezza vale la pena di riprovarci.

Qualità del campione
È già stato detto come sia assolutamente necessario uno sforzo informativo per persuadere clinici e pazienti che un esame urine su campione contaminato non solo è inutile ma può essere addirittura fuorviante e pericoloso. Pensiamo per esempio ai criteri per la biopsia renale, esclusa con <5eritrocit/hpf, mandatoria con >20/hpf e con attesa corredata da altre indagini nella fascia intermedia. Il mitto intermedio è obbligatorio. Adeguata informazione deve essere data al momento della prenotazione dell'esame. Devono essere preparati comprensibili linee guida scritte per gli utilizzatori. Le figure di ECLM sono un buon esempio di ciò.
Si deve iniziare a scartare i campioni non idonei, come si fa per il siero emolitico o per l'emocromo coagulato.

Standardizzazione delle tecniche
Solo rispettando le regole internazionalmente condivise i risultati della microscopia divengono semiquantitativi, sufficientemente ripetibili, confrontabili longitudinalmente e trasversalmente e credibili dal clinico. La cura nei passaggi quantitativi deve legarsi alla accettazione delle indicazioni che prevedono una migliore capacità diagnostica con l'uso del microscopio a contrasto di fase, anche se alcune esperienze limitano l'importanza di ciò, e di adeguate colorazioni. Oltre alle indicazioni internazionali, per quanto riguarda il campione a fresco, la lettura dovrebbe avvenire in camera o griglia, per stabilire ancor più definitamene la quantità di urina centrifugata che viene esaminata. L'obbligo della standardizzazione, al fine di ridare credibilità clinica ai reperti urinari, ricade interamente sul medico di laboratorio.

Percorsi interni e riorganizzazione dei flussi
All'interno di ogni laboratorio il percorso diagnostico deve essere chiaro e descritto. La motivazione alla scelta di sistemi di selezione deve essere esplicita. L'efficienza diagnostica del percorso deve essere dichiarata. I percorsi interni devono mirare ad esaminare i campioni di urina nei tempi adeguati per la diagnostica (30-60 min., se non refrigerati). Ciò pone problemi di produttività e di articolazione dei passaggi non completamente risolti.
Per la diagnostica di danno renale è indispensabile la richiesta clinica orientativa.
Per l'infezione urinaria l'integrazione dell'area urine è la strada da percorrere[54].
L'eliminazione di tradizionali determinazioni deve essere accompagnata da una adeguata formazione dei clinici e dei pazienti.
Sull'altro fronte l'industria deve essere spronata a riflettere le necessità cliniche e i percorsi interni e non deve determinare le caratteristiche e la qualità delle prestazioni, per esclusive necessità commerciali[55].

Risultati e referto
Secondo ECML[22] l'espressione dei risultati dei parametri utili microscopici (punto 6.1 *Clinically significant particles in urine* e *Table VI Levels of microscopy differentiation in clinical urinalysis*) e chimici (proteine, esterasi leucocitaria, pseudo-perossidasi, nitriti) deve essere quantitativa e semiquantitativa. Le cellule e i sedimenti devono essere espressi come media per campo o microlitro.
Lo scopo del referto è di guidare il clinico ad una razionale diagnosi e trattamento terapeutico. L'espressione dei dati numerici non è spesso sufficiente. I commenti standardizzati che talora si sono messi a punto per trasmettere informazioni globali di solito falliscono l'obiettivo. La probabilità del significato patologico di alcuni parametri va espressamente spiegata in rapporto agli intervalli di riferimento definiti, all'efficienza diagnostica dei mezzi utilizzati e alla qualità del campione. Va esplicitamente riferito il sospetto di contaminazione, le condizioni di diluizione che possono produrre falsi negativi, le discrepanze non spiegate tra tecniche diverse.

Formazione
Le necessità di ridefinire gli obiettivi clinici, di garantire la qualità del campione, di selezionare i percorsi sulla base delle necessità diagnostiche e la descrizione del significato di risultati e commenti prevedono uno sforzo considerevole di formazione dei clinici e dei pazienti. Ma ancora più emergente è la necessità di rendere consapevoli delle tecniche e dei loro limiti i gestori sempre crescenti della chimica secca nelle condizioni periferiche (POCT).
Ma il cambiamento dell'esame urine richiede una autentica rivoluzione culturale, innanzitutto per il medico di laboratorio. Deve abituarsi a vedere l'esame urine come una occasione tecnologica e diagnostica non dissimile da altre discipline morfologiche. La possibilità esiste, la letteratura internazionale è ricchissima. Si tratta di non restare "*the lowest man on the totem pole*".

Bibliografia

1. Free AH, Free HM Urinalisys in Clinical Laboratory Practice. Cleveland: CRC Press; 1975.
2. Voswinkel P From uroscopy to urinalysis. Clin Chim Acta 2000, 297:5-16.
3. Fogazzi GB, Cameron JS The introduction of urine microscopy into clinical practice. Neprhol Dial Trasplant 1995;10:410-3.
4. Addis T The number of formed elements in the urinary sediment of normal individuals. J Clin Invest 1926;2:409-15.
5. Addis T Glomerular nephritis, diagnosis and treatment. New York: Mac Millan; 1948.
6. Kutter D Routine urinalysis yesterday, today, tomorrow. Sysmex J Int 1996;6:1-3.
7. Schumann GB, Greenberg NF Usefulness of macroscopic urinalysis as a screening procedure. A preliminary report. Am J Clin Pathol 1979;71:452-6.
8. Birch DF, Fairley KF Hematuria: glomerular or non-glomerular? Lancet 1979;ii:845-6.

9. Lindner LE, Haber NH Hyaline casts in the urine: mechanism of formation and morphologic transformation. Am J Clin Pathol 1983;80:347-52.
10. Lindner LE, Vacca D, Haber NH Identification and composition of types of granular urinary casts. Am J Clin Pathol 1983;80:353-6.
11. Kesson AM, Talbot JM, Györy AZ Microscopic examination of urine. Lancet 1978;i:809-12.
12. Györy AZ, Kesson AM, Talbot JM Microscopy of urine – now you see it, now you don't! Am Heart J 1980;99:537-8.
13. Fraser CG Urine analysis: current performance and strategies for improvement. Br Med J 1985;291:321-3.
14. Zilva JF Is unselective biochemical urine testing cost effective? Br Med J 1985;291:323-5.
15. Deindoerfer FH, Gangner JR, Laird CW, Ringold RR "The Yellow Iris" urinalysis workstation. The first commercial application of Automated Intelligent Microscopy. Clin Chem 1985;31:1491-9.
16. Yasui Y, Tatsumi N, Park K, Koezuma T. Urinary sediment analysed by flow cytometry. Cytometry 1995;22:75-9.
17. Delanghe JR, Kouri TT, Huber AR, et al. The role of automated particle flow citometry in clinical practice. Clin Chim Acta 2000;301:1-18.
18. Winkel P, Statland BE, Joergensen K Urine microscopy, an ill-defined method, examined by a multifactorial technique. Clin Chem 1974;20:436-9.
19. Hannemann-Pohl K, Kampf SC Automation of urine sediment examination: a comparison of the Sysmex UF-100 automated flow cytometer with routine manual diagnosis (microscopy, test strips, and bacterial culture). Cli Chem Lab Med 1999;37:753-64.
20. Cappelletti P Validità e limiti dell'esame del sedimento urinario oggi. G. Clin Med 1987;68;237-43.
21. Pradella M Standardizzazione delle attività per l'armonizzazione dei risultati. In press.
22. ECLM-European Urinalysis Group. European Urinalysis Guidelines. Scand J Clin Lab Invest 2000;60:Supplement 231.
23. Györy AZ Urine microscopy analysis. Lab Med Int 1999;16:23-5.
24. Györy AZ, Hawkins T, Ross M, McLennon J, Ibels L Clinical value of urine microscopy by manual and automated methods. Lab Hemat 1998;4:211-6.
25. Haber MH Peeved Pisse-Prophet. Am J Clin pathol 1979;71:148.
26. Fogazzi GB, Grignani S, Colucci P Urinary microscopy as seen by nephrologists. Clin Chem Lab Med 1998;36:919-24.
27. Fogazzi GB Urinalysis performance. In http://www.sibioc.it/
28. Walter FG, Gibly RL, Knopp RK, Roe DJ Squamous cells as predictors of bacterial contamination in urine samples. Ann Emerg Med 1998;31:455-8.
29. Kutter D The urine test strip of the future. Clin Chem Acta 2000;297:297-304.
30. White G Twelve months' experience of a quality assessment scheme for urine tests using reagent strips. Ann Clin Biochem 1995;32:589-90.
31. Gambke B, Kouri T, Kutter D, Nagel D, Vukovich T, Wefers A Multicentre evaluation of the urine ansalyzer Miditron Junior. Scand J Clin Lab Invest 1997;57:605-11.
32. Bonard C, Weber E, Koller PU, Willamowski KD, Bachmann F Dtsch Med Wochenschr 1982;107:249-51.
33. Modder CP Tijdschr Ned Ver Klein Chem 1984;9:214-20.
34. Christenson RH, Tucker JA, Allen E Results of dipstick tests, visual inspection, microscopic examination of urine sediment, and microbiological cultures of urine compared for simplifying urinalysis. Clin Chem 1985;31:448-50.
35. Bank CM, Codrington JF, van Dieijen-Visser MP, Brombacher PJ. Screening urine specimen populations for normality using different dipstick: evaluation of parameters influencing sensitivity and specificity. J Clin Chem Clin Biochem 1987;25:299-307.
36. Gleeson MJ, Connolly J, Grainger R McDermott ED, Butler MR. Comparison of reagent strip (dipstick) and microscopic hematuria in urological out-patients. Br J Urol 1993;72:594-6.
37. Bartlett RC, Zern DA, Ratkiewitz I, Tetreault JZ. Reagent strip screening for sediment abnormalities identified by automated microscopy in urine from patients suspected to have urinary tract desease. Arch Pathol Lab Med 1994;118:1096-101.
38. Langlois MR, Delanghe JR, SteyaertSR, Everaert KC, de Buyzere ML. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. Clin Chem 1999;45:118-22.
39. Zaman Z, Borremans A, Verhaegen J, Verbist L, Blanckaert N. Disappointing dipstick screening for urinary tract infection in hospital inpatients. J Clin Pathol 1998;51:471-2.
40. Semenjiuk H, Church D. Evaluation of the leukocyte esterase and nitrite urine dipstick screening tests for detection of bacteriuria in women with suspected uncomplicated urinary tract infections. J Clin Microb 1999;37:3051-2.
41. Van Nostrand JD, Junkins AD, Bartholdi RK. Poor predictive ability of urinalysis and microscopic examination to detect urinary tract infection. Am J Clin Pathol 2000;113:709-13.
42. Laine P, Toivonen E, Eklund K, Hohenthal U, Siren S, Maki T. Rapid dipstick urinalysis in the internal medicine clinic: what is missed? J Int Med 1997;242:271-3.
43. Gorelick MH, Shaw KN. Screening tests for urinary tract infection in children: a neta-analysis. Pediatrics 1999;104.54-61.
44. Huicho L, Campos-Sanchez M, Alamo C. Metaanalysis of urine screening tests for determining the risk of urinary tract infection in children. Pediatr Infect Dis J 2002;21:1-11.
45. Fenili D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100™).
46. Kouri TT, KahkonenU, Malminiemi K, Vuento R, Rowan RM. Evaluation of Sysmex UF-100 urine flow cytometer vs chamber counting of supervitally stained specimens and conventional bacterial cultures. Am J Clin Pathol 1999;112:25-35.
47. Roggeman S, Zaman Z. Safely reducing manual urine microscopy analyses by combining urine flow cytometer and strip results. Clin Chem 2001;116:872-8.
48. Regeniter A, Haenni V, Risch L, Kochli H-P, Colombo J-P, Frei R, Huber AR. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, dipstick chemistry and bacterial culture results – A multicenter study. Clin Nephrol 2001;55:384-92.

49. De Rosa R, Ferrai G, Falcomer F, Presot M, Cappelletti P. Capacità diagnostica di UF-100 nella patologia renale e delle vie urinarie. Med Lab 1997;5:505.
50. De Rosa R, Ferrai G, Doretto P, Presot M, Cappelletti P. Possibilità di utilizzo routinario di UF-100. Med Lab 1997;5:516.
51. Lun A, Ziebig R, Priem F, Filler F, Sinha P. Routine workflow for use of urine strip and urine flow cytometer UF-100 in the hospital laboratory. Clin Chem 1999;45:1305-7.
52. Burlina A. Medicina di laboratorio – Fondamenti di diagnostica. Torino: CG Edizioni Medico Scientifiche; 1992.
53. Binder L, Smith D, Kupka T, et al. Failure of prediction of liver function test abnormalities wirh the urine urobilinogen and urine bilirubin assays. Arch Pathol Lab Med 1989;113:73-6.
54. Schinella M. Approccio integrato alla diagnostica di laboratorio su campioni di urina. In press.
55. Baines AD. Strategies and criteria for developing new urinalysis tests. Kidney Int Suppl 1994;47:S137-41.