

Dalla Mailing List Soci-SIN (ML-SIN): L'esame urine in Nefrologia. Stato dell'arte nel 2006

M. Gai, G. Lanfranco

S.C.U. Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi, A.S.O. S. Giovanni Battista, Torino

Urinalysis in Italy in 2006

Urinalysis and proteinuria testing represent fundamental tests for the clinician, even though they too often lack standardization. Through the Italian Society of Nephrology Mailing List we sent a questionnaire to 282 centers, in order to assess the state of the art in Italy in the year 2006. 82% of the questionnaires were completed (nephrology laboratories: 64%, general laboratories: 36%). The questionnaire dealt with the main steps of preparation, analysis and report of urinalysis, and proteinuria / microalbuminuria measurement.

85% of the centers use first morning urine, and 7% second morning urine; only 57% of the centers supply with written instructions, 189 laboratories (82%) have only one bright field microscope, rate and time of centrifugation are very varied among centers, different units of measurement are used in reports. Few laboratories measure routinely the proteinuria / creatininuria ratio, there is no agreement on the urine sample type for microalbuminuria assay, total urinary proteins are measured through different methods. 92% of the centers is endowed with an internal quality control system, but only 47% participate in an external quality control program.

These data confirm the lack of standardization for urine analysis methods and procedures. (G Ital Nefrol 2007; 24: 70-4)

KEY WORDS: Laboratory methods, Microalbuminuria, Proteinuria, Standardisation, Urinalysis, Urinary sediment

PAROLE CHIAVE: Esame urine, Metodi di laboratorio, Microalbuminuria, Proteinuria, Standardizzazione, Sedimento urinario,

Introduzione

Non è novità di oggi l'importanza dell'esame urine per il clinico medico, nei due aspetti fondamentali del sedimento urinario e dello studio della proteinuria (1, 2). La valutazione scientifica delle urine è iniziata nel Medioevo per proseguire nei secoli fino ai moderni atlanti sul sedimento urinario con immagini al microscopio in contrasto di fase (3-7).

Tuttavia ancora oggi ci capita di riscontrare una scarsa standardizzazione nella preparazione, lettura e refertazione dell'esame urine come già segnalato da Fogazzi et al, che nel dicembre 1996 elaborarono ed inviarono un questionario nazionale, che coinvolse 131 Centri Nefrologici (8). Si sono pertanto creati i presupposti per cui tale esame abbia nel tempo perso il suo significato originario venendo meno la qualità dei risultati forniti dai laboratori e si è ridotta di molto la valenza clinica dello stesso.

È doveroso segnalare che le Linee Guida Europee sull'esame urine (9) riconoscono due livelli dell'analisi delle urine. Un livello "base" in cui è richiesto il riconoscimento dei principali elementi figurati del sedimento e la segnalazione della presenza di proteinuria e un "secondo" livello in cui è necessario studiare il dismorfismo eritrocitario, differenziare i vari tipi di cilindri e di cristalli, individuare la presenza di macrofagi, *decoy cells* o altri elementi specifici e quantizzare/tipizzare la proteinuria. Quello che in ogni caso deve essere garantito dai laboratori per entrambi i tipi di esame è la standardizzazione del test e la qualità del risultato.

L'esame urine di secondo livello

Molti laboratori si sono dunque attivati nella valorizzazione di questo test, che non è più semplice esame di *screening*, ma esame completo utile nel processo diagnostico

TABELLA I - IL QUESTIONARIO SU ESAME URINE E PROTEINURIA INVIATO TRAMITE LA MAILING LIST SIN

Società Italiana di Nefrologia (SIN)
Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBioC, sezione Piemonte)
ESAME URINE E PROTEINURIA
Indagine conoscitiva su esame urine e proteinuria

Centro: Città:
 Data:

Segnare con X la risposta scelta e compilare dove necessario

- | | |
|---|--|
| <p>1) QUALE CAMPIONE DI URINA RICHIEDETE PER L'ESAME CHIMICO FISICO E MICROSCOPICO?</p> <p><input type="checkbox"/> Prime urine del mattino</p> <p><input type="checkbox"/> Seconde urine del mattino</p> <p><input type="checkbox"/> Campione random</p> <p><input type="checkbox"/> Altro:.....</p> <p>2) IL VOSTRO CENTRO/PRESIDIO/STRUTTURA FORNISCE ISTRUZIONI SCRITTE PER UNA CORRETTA RACCOLTA DI CAMPIONI D'URINA SPOT E/O TEMPORIZZATI?</p> <p><input type="checkbox"/> SI (se possibile inviarle in allegato e-mail o per Fax 011 6336941)</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p>3) QUALE CARTINA UTILIZZATE PER L'ANALISI CHIMICO-FISICA DELLE URINE?</p> <p><input type="checkbox"/> Bayer</p> <p><input type="checkbox"/> Roche-BMC</p> <p><input type="checkbox"/> Menarini</p> <p><input type="checkbox"/> Altro:.....</p> <p>4) LA LETTURA DELLA CARTINA È MANUALE O AUTOMATICA?</p> <p><input type="checkbox"/> Manuale</p> <p><input type="checkbox"/> Automatica; tipo di apparecchiatura.....</p> <p>5) QUALE TIPO DI MICROSCOPIO VIENE UTILIZZATO PER L'ESAME MORFOLOGICO DEL SEDIMENTO?</p> <p><input type="checkbox"/> Microscopio in campo chiaro</p> <p><input type="checkbox"/> Contrasto di fase</p> <p><input type="checkbox"/> Contrasto di fase e polarizzatore</p> <p>6) QUALI SONO I TEMPI E LE VELOCITA' DI CENTRIFUGAZIONE DEI CAMPIONI D'URINA?</p> <p>.....minuti; rpm (oppure.....g)</p> <p>7) QUALI VOLUMI INIZIALI E FINALI DI URINE?</p> <p>VolumemL di urine da centrifugare;</p> <p>VolumemL di urine in cui viene risospeso il fondello</p> <p>8) COME VIENE ESPRESSO IL NUMERO DI ELEMENTI FIGURATI:</p> <p><input type="checkbox"/> n. elementi/mL</p> <p><input type="checkbox"/> n. elementi/L</p> <p><input type="checkbox"/> n. elementi/campo microscopico 400 x</p> <p><input type="checkbox"/> n. elementi/campo microscopico 200 x</p> <p><input type="checkbox"/> Altro:.....</p> | <p>9) UTILIZZATE IL RAPPORTO Proteinuria/Creatinuria?</p> <p><input type="checkbox"/> SI;() su urine spot () su urine 24 ore</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p>10) PER LO STUDIO DELLA MICROALBUMINURIA UTILIZZATE?</p> <p><input type="checkbox"/> Dosaggio albumina su urine temporizzate</p> <p><input type="checkbox"/> Dosaggio albumina su raccolta temporizzata notturna</p> <p><input type="checkbox"/> Dosaggio albumina su urine 24 h</p> <p><input type="checkbox"/> Dosaggio albuminuria/creatininuria su urine spot</p> <p><input type="checkbox"/> Nessuno di questi:.....</p> <p>11) CON QUALE REATTIVO DOSATE LE PROTEINE URINARIE SPOT E 24 ORE?</p> <p><input type="checkbox"/> Rosso di Pirogallolo;</p> <p><input type="checkbox"/> Cloruro di Benzetonio;</p> <p><input type="checkbox"/> Biureto diretto;</p> <p><input type="checkbox"/> Biureto indiretto (dopo precipitazione);</p> <p><input type="checkbox"/> Altro:.....</p> <p>12) (Facoltativa) QUALE CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO UTILIZZATE?</p> <p>13) (Facoltativa) QUALE CONTROLLO DI QUALITÀ ESTERNO UTILIZZATE?</p> <p><input type="checkbox"/> NO, non utilizziamo un controllo di qualità esterno</p> <p><input type="checkbox"/> SI; quale?.....</p> <p>QUESTO PREVEDE ANCHE LA VERIFICA DELLA MORFOLOGIA DEL SEDIMENTO?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p>14) AVETE ESPERIENZA DI LETTURA DEL SEDIMENTO CON CITOFLUORIMETRO?</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p><input type="checkbox"/> SI; quale?.....</p> <p>GIUDIZIO?</p> <p><input type="checkbox"/> Positivo</p> <p><input type="checkbox"/> Negativo</p> <p><input type="checkbox"/> Motivazioni:.....</p> <p>.....</p> <p>.....</p> |
|---|--|

delle malattie renali, fino a guidare il Nefrologo nella scelta a volte difficile di procedere all'esame nefrobiotico.

A partire dal 2002 in Piemonte presso l'A.S.O. S. Giovanni Battista di Torino è stato istituito ufficialmente l'esame urine di "secondo livello". Questo prevede la standardizzazione dei vari passi di raccolta e preparazione dei campioni, di analisi chimico-fisica e del sedimento e di refertazione seguendo le principali Linee Guida Internazionali sull'esame urine (9, 10), adattate alle realtà locali e agli strumenti in dotazione.

In particolare i principali punti che vanno presi in considerazione nell'organizzazione di una procedura per l'esecuzione di un esame delle urine di livello avanzato possono essere riassunti come segue:

- Istruzioni scritte per una corretta raccolta e conservazione dei campioni
- Utilizzo della tecnica del mitto intermedio delle prime o seconde urine del mattino
- Esame chimico-fisico e valutazione della proteinuria eventualmente mediante il dosaggio del rapporto proteinuria/creatininuria su campione di urine del mattino
- Standardizzazione della fase di centrifugazione (400 g per 5 minuti), eliminazione del surnatante e risospensione del sedimento
- Analisi del sedimento urinario al microscopio in contrasto di fase con polarizzatore
- Valutazione del dismorfismo eritrocitario: microematuria di origine glomerulare se dismorfismo > 80% o se acantocituria > 5% (11)
- Refertazione standardizzata (N. di elementi/L oppure elementi/campo microscopico 400 x).

Il questionario sull'esame urine della Mailing List SIN

Sulla scorta di una precedente esperienza condotta in Piemonte all'inizio del 2005 che prevedeva l'invio di un questionario a tutti i laboratori che si occupavano di esame urine e che ha ottenuto una buona adesione (74%) ed ottimi risultati in termini di gradimento e ai fini conoscitivi e didattici che si proponeva, abbiamo deciso di proporre il questionario debitamente rielaborato ai Nefrologi Italiani tramite la Mailing List della SIN. Anche in questo caso lo scopo era quello di affrontare i principali problemi di standardizzazione delle metodiche nel tentativo di migliorare, se possibile, la qualità degli esami eseguiti e creare un collegamento tra le varie realtà nazionali. Nella preparazione del questionario (Tab. I) ci siamo attenuti alle principali Linee Guida Internazionali (NCCLS ed europee) (9, 10). Abbiamo pertanto interpellato i Centri Nefrologici che possedevano un laboratorio interno ed abbiamo chiesto ai Centri che ne erano privi di rispondere al questionario sulla base delle procedure del loro laboratorio di riferimento.

L'adesione al questionario è stata ottima: su 282 Centri che ci hanno contattato per avere il questionario, 231 (82%)

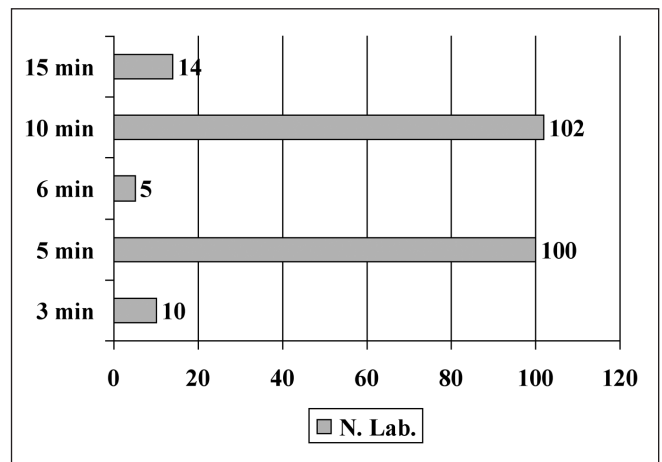


Fig. 1 - Tempi di centrifugazione delle urine (231 laboratori).

ce lo hanno restituito compilato (64% laboratori nefrologici, 36% laboratori generali) e molti ci hanno richiesto di poter sapere i risultati finali della elaborazione. Le risposte ci sono giunte uniformemente da tutto il Territorio Nazionale. L'elaborazione dei dati è avvenuta in maniera anonima.

In breve le risposte al questionario sono state le seguenti: l'85% dei Centri utilizza le prime urine del mattino e solo il 7% le seconde urine del mattino; il 57% fornisce delle istruzioni scritte per la raccolta dei campioni urinari; il 96% esegue una lettura automatizzata delle cartine; purtroppo ben 189 Centri (82%) possiedono solo un microscopio in campo chiaro; i tempi di centrifugazione sono variamente dispersi tra 3 e 15 minuti (Fig. 1); e così anche la velocità di centrifugazione varia tra 800 e 4500 rpm anche se il 43% dei laboratori utilizza una velocità di centrifugazione di 2000 rpm. La maggior parte dei laboratori (187-81%) richiede un campione di urine di 10 mL. Anche per quanto riguarda il volume di risospensione del fondello dopo centrifuga non vi è uniformità di procedura nei vari Centri con variazioni tra 0.2 e 2 ml di urine (Fig. 2); infine la refertazione prevede differenti unità di misura, anche se si ha una prevalenza per il numero di elementi per campo microscopico 400 x (54%) (Fig. 3). Ne deriva che difficilmente gli stessi risultati siano paragonabili nei vari laboratori e le analisi fatte in laboratori differenti non sono tra loro commutabili (12).

Il citofluorimetro per l'analisi delle urine viene utilizzato o è stato sperimentato da 74 laboratori (32%).

La situazione risulta difforme anche per quanto riguarda il dosaggio della proteinuria: solo nel 32% dei casi viene eseguito il rapporto proteinuria/creatininuria che oramai viene raccomandato da quasi tutte le Linee Guida Internazionali (13); non esiste accordo sul campione da utilizzare per il dosaggio della microalbuminuria (Fig. 4); i reattivi utilizzati per il dosaggio delle proteine totali urinarie sono diversi, infatti non è ancora stata individuata dalle

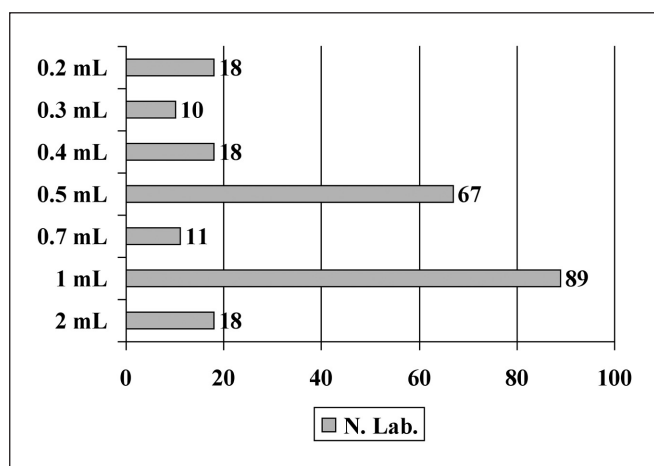


Fig. 2 - Volume finale di urine in cui viene risospeso il fondello.

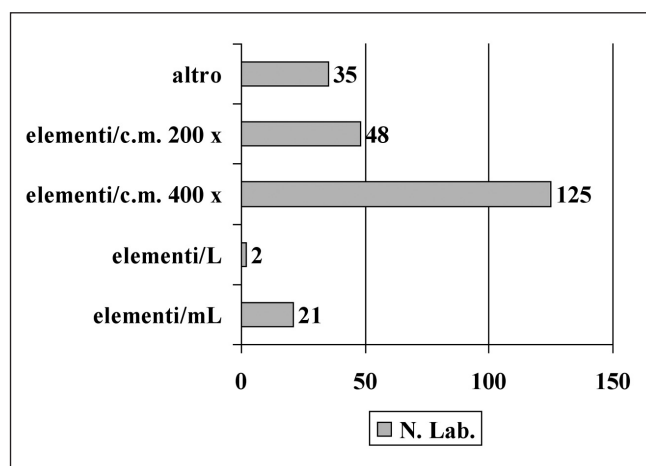


Fig. 3 - Espressione del numero di elementi sul referto dell'esame urine.

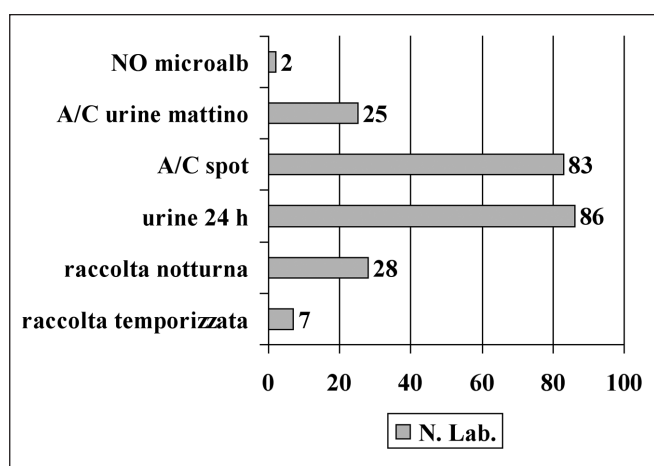


Fig. 4 - Campione utilizzato per il dosaggio della microalbuminuria.

Legenda: A/C rapporto albuminuria/creatininuria; NO microalb: due Centri non prevedevano il dosaggio della microalbuminuria.

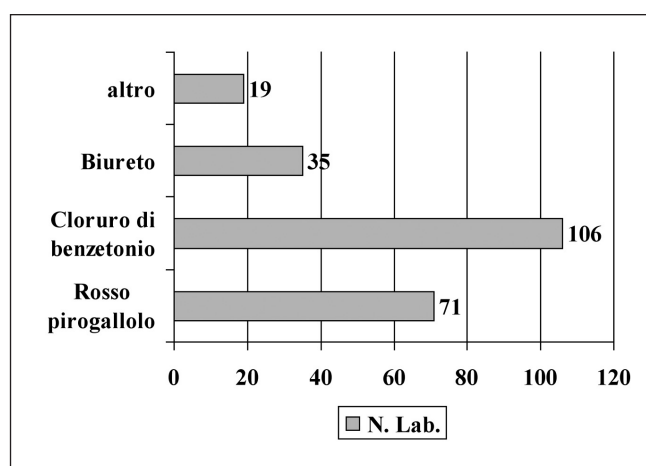


Fig. 5 - Reattivi utilizzati per il dosaggio delle proteine urinarie.

varie Società Scientifiche Internazionali una metodica di riferimento, laddove ad esempio è noto che il Benzetonio sottostima le proteine urinarie rispetto al Rosso di Pirogallolo (14) (Fig. 5).

Il 92% dei Centri ha un controllo di qualità interno, ma solo il 47% prevede la partecipazione ad un controllo di qualità esterno.

Questa indagine pertanto conferma che a distanza di 10 anni dal questionario di Fogazzi et al. la situazione è ancora poco cambiata (8), non vi è standardizzazione nelle procedure e molti Centri non hanno la possibilità di utilizzare strumenti adeguati. Sarebbe auspicabile che le problematiche della medicina di laboratorio tornassero ad essere argomento di interesse e di studio per il Nefrologo clinico in modo da creare quella indispensabile collaborazione con il laboratorio che permetterebbe di valorizzare gli strumenti a nostra disposizione. Ci pare che l'interesse suscitato dal questionario e il dibattito che ne è seguito siano un buon

inizio sulla strada che porta al confronto del lavoro che ognuno di noi svolge quotidianamente e che ci siano i presupposti per la diffusione capillare di metodiche e procedure universalmente testate e per una standardizzazione dei metodi di analisi e refertazione. Ed infine proprio la Mailing List della SIN potrebbe essere lo strumento per la prosecuzione della discussione e per la riproposizione del questionario a distanza di tempo al fine di monitorare i risultati ottenuti.

Riassunto

L'esame urine e la proteinuria sono test fondamentali per il clinico ma spesso mancano di standardizzazione. Per valutare lo stato dell'arte in Italia nel 2006 abbiamo inviato un questionario a 282 Centri tramite la *Mailing List* della Società Italiana di Nefrologia. Ci sono perve-

nuti l'82% dei questionari compilati (64% laboratori nefrologici, 36% laboratori generali). Il questionario faceva riferimento alle principali fasi di preparazione, analisi e refertazione del sedimento urinario e al dosaggio della proteinuria e microalbuminuria. L'85% dei Centri utilizza le prime urine del mattino e il 7% le seconde urine del mattino, solo il 57% fornisce delle istruzioni scritte, 189 Centri (82%) possiedono solo un microscopio in campo chiaro, vi è notevole variazione tra Centri nei tempi e velocità di centrifugazione, per la refertazione vengono utilizzate differenti unità di misura. Pochi laboratori utilizzano il rapporto proteinuria/creatininuria, non esiste accordo sul campione da utilizzare per il dosaggio della microalbuminuria, le protei-

ne totali urinarie vengono dosate con vari tipi di metodiche. Il 92% dei Centri ha un controllo di qualità interno, ma solo il 47% prevede la partecipazione ad un controllo di qualità esterno.

I risultati del questionario confermano una scarsa standardizzazione delle procedure e delle metodiche.

Indirizzo degli Autori:

Dr. Massimo Gai
S.C.U. Nefrologia, Dialisi e Trapianto
Ospedale Molinette
Corso Bramante, 88
10126 Torino
e-mail: massimogai@katamail.com

Bibliografia

1. Guder WG, Kutter D, Bonini P. From uroscopy to molecular analysis-improving diagnostic information from urine analysis. *Clin Chim Acta* 2000; 297: 1-3.
2. Guder WG, Ivandic M, Hofman W. Physiopathology of proteinuria and laboratory diagnostic strategy based on single protein analysis. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36 (12): 935-9.
3. Kurtzman NA, Rogers PW. A handbook of urinalysis and urinary sediment. Charles C. Thomas, Springfield Illinois, 1974.
4. Schumann GB. Urine sediment examination. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, London, 1980.
5. Ross DL, Neely AE. Textbook of urinalysis and body fluids. Appleton-Century-Crofts Norwalk, Connecticut, 1983.
6. Piccoli G, Varese D, Rotunno M. Atlas of urinary sediments. Diagnosis and clinical correlations in nephrology. Raven Press, New York, 1984.
7. Fogazzi GB, Ponticelli C, Ritz E. The urinary sediment. An integrated view. Masson, Second Edition, Milan - Paris - Barcelona, 1999.
8. Grignani S, Fogazzi GB. Urine microscopy in NHS renal units in Italy. *G Ital Nefrol* 1999; 3: 276-81.
9. ECLM, European Urinalysis Group. European Urinalysis Guidelines. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60 (Suppl. 231): 1-96.
10. Urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens; approved guideline. December 1995, GP16-A, Vol. 15 No. 15, NCCLS.
11. Fairley KF, Birch DF. Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int* 1982; 21: 105-8.
12. Miller WG, Myers GL, Rej R. Why commutability matters. *Clin Chem* 2006; 52 (4): 553-4.
13. Gai M, Motta D, Giunti S, et al. Comparison between 24-h proteinuria, urinary protein/creatinine ratio and dipstick test in patients with nephropathy: patterns of proteinuria in dipstick-negative patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2006; 66 (4): 299-307.
14. Orsonneau JL, Douet P, Massoubre C, Lustenberger P, Bernard S. An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. *Clin Chem* 1989; 35 (11): 2233-6.