

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

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

Fabio MANONI¹, Gianluca GESSONI², Giovanni Battista FOGAZZI³, Maria Grazia ALESSIO⁴, Alberta CALEFFI⁵, Giovanni GAMBARO⁶, Maria Grazia EPIFANI⁷, Barbara PIERETTI⁸, Angelo PEREGO⁹, Cosimo OTTOMANO¹⁰, Graziella SACCANI¹¹, Sara VALVERDE², Sandra SECCHIERO⁷; per il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine.

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

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

Summary

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

- improvement and standardization of the analytical approach to physical, chemical and morphological urine examination (ECMU)
- Emphasize the value added to ECMU by automated analyzers for the study of the morphology of the corpuscular fraction urine.
- Improvement of the chemical analysis of urine with particular regard to the reconsideration of the diagnostic significance of the parameters that are traditionally evaluated in dip-stick analysis together with an increasing awareness of the limits of sensitivity and specificity of this analytical method.
- Increase the awareness of the 'importance of professional skills in the field of urinary morphology and their relationships with the clinicians.
- Implement a policy of evaluation of the analytical quality by using, in addition to traditional internal and external controls, a program for the evaluation of morphological competence.
- Stimulate the diagnostics industry to focus research efforts and development methodology and instrumental catering to the needs clinical diagnosis.

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

Key Words: Analytical Phase, Guidelines, Urinalysis,

Riassunto

Con queste linee guida il Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine (GIAU) si propone di stimolare i seguenti aspetti:

Migliorare e standardizzare l'approccio analitico all'Esame Chimico e Morfologico delle urine (ECMU).

Sottolineare il valore aggiunto, in termini di informazioni e standardizzazione metodologica, delle nuove tecnologie (citofluorimetria urinaria, cattura digitale di immagini, microscopia automatizzata) adottate dagli analizzatori per lo studio della morfologia della frazione corpuscolata delle urine.

Aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria e delle loro relazioni con la clinica.

Attuare una politica di verifica della qualità analitica che oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni preveda un programma per la valutazione della competenza morfologica.

Stimolare l'industria diagnostica a concentrare gli sforzi di ricerca e messa a punto metodologica e strumentale per aderire alle esigenze clinico-diagnostiche.

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

Parole Chiave: Analisi delle Urine, Fase analitica, Linee Guida,

Abbreviazioni ed acronimi:

ACR= Albumina/Creatinina Ratio

AGREE=Appraisal of Guidelines for Research & Evaluation

CBM= CuvetteBasedMicroscopy

CQI= Controllo di Qualità Interno

CV= coefficiente di variazione

ECLM=EuropeanConfederationof Laboratory Medicine

ECMU= Esame Chimico-fisico e Morfologico delle Urine

eGFR= estimated Glomerular Filtration Rate

EUG= European Urinalysis Group

EUGL= EuropeanUrinalysisGuidelines

GIAU= Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine

GRADE - Grades of Recommendation Assessment, Development and Evaluation

KDIGO= Kidney Disease Improving Global Outcomes

HPF= Hight Performance Field (400x)

IFCC= International Federation of Clinical Chemistry

IVU= Infezione delle Vie Urinarie

LG= Linee Guida

LPF= Low Performance Field (100x)

MRC= Malattia Renale Cronica

MO= Microscopio Ottico

PCR= Proteine/Creatinina Ratio

POCT= Point Of Care Test

RCT= studi controllati randomizzati

SIGN= ScottishIntercollegiateGuidelines Network

THP= Tamm-HorsfallProtein

VEQ= Verifica Esterna di Qualità

VPN= valore predittivo negativo

VPP= valore predittivo positivo

Definizione di Linea Guida

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

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

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

Metodologia per il reperimento delle fonti

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

Strategia di ricerca delle prove di efficacia

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

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

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

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

Livello delle prove di efficacia

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

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

Grado delle raccomandazioni

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

Necessità di una Linea Guida

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

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

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

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

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

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

Le linee guida della fase analitica non si riferiscono a tutti i dosaggi che possono essere eseguiti sulle urine ma soltanto all'ECMU. Non trattano quindi, se non incidentalmente, aspetti microbiologici, dosaggi su raccolte temporizzate ed aspetti farmaco-tossicologici; definiscono inoltre la modalità per il Laboratorio di eseguire al meglio l'ECMU sulle decine o più spesso centinaia di campioni urinari da analizzare con informazioni cliniche spesso carenti o assenti.

Definizione e rilievo dell' ECMU

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

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

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

ispezione visiva: colore ed aspetto [24,31-33];

analisi fisiche: volume (nelle raccolte temporizzate), concentrazione (densità relativa/conduktività/osmolalità) [24,31-33];

analisi chimiche: proteine, albumina, glucosio, chetoni, bilirubina, urobilinogeno, emoglobina, esterasi, nitriti, pH, creatinina, acido ascorbico [24,31-33];

conteggio e morfologia della componente corpuscolata: su analizzatori automatici e/o in microscopia per emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri, batteri, cristalli, miceti, lipidi, parassiti, contaminanti, protozoi, cellule atipiche [24,31-33].

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

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

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

Aspetti Tecnico Diagnostici

Riconoscimento di un liquido da caratterizzare come Urina

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

Le urine appena emesse presentano abitualmente le seguenti caratteristiche [24,31-33]:

- Densità relativa tra 1007 e 1035 (individui che abbiano recentemente ricevuto mezzi di contrasto iodato possono presentare una densità relativa urinaria superiore a 1035).
- pH tra 4.5 e 7.5

- Temperatura tra 32.5 e 37.5
- Creatinina, con una concentrazione 50-100 volte più alta che negli altri liquidi corporei.

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

Raccomandazioni:

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

ESAME FISICO

- **Volume**

Il volume di urina normalmente prodotto nelle 24 ore è compreso tra i 600 ed i 1500 mL. Il dato non riveste importanza nell'ambito dell'ECMU (solo verifica idoneità della quantità del campione da analizzare) ma assume rilievo nel caso delle raccolte temporizzate e nel calcolo delle clearance. La misura della diuresi rientranti normali compiti assistenziali che, con i dispositivi medicali disponibili, è affidabile in ambito ospedaliero, molto meno quando la raccolta è effettuata dal paziente presso il proprio domicilio [24,31-33].

- **Colore:**

Le urine abitualmente presentano una colorazione propria, gialla più o meno marcata, ma possono assumere colorazioni diverse in corso di patologie sistemiche, renali od urologiche: rosso scuro o marsala in corso di emoglobinuria, di mioglobinuria, di porfiria; marrone in corso di ittero e alcaptonuria; blu nella sindrome del pannolino blu per la presenza nelle urine di indolo, un catabolita del triptofano; color lavatura di carne in corso di ematuria macroscopica. Colori diversi legati all'assunzione di alimenti contenenti particolari pigmenti e di farmaci non hanno nessun rilievo patologico (vedi tabella 1) [24,31-33]. Nell' ECMU il colore viene sempre valutato ma viene espresso nel referto solo nel caso di colorazioni anomale con obbligo di commento.

- **Torbidità:**

Le urine normali appaiono limpide; vari gradi di torbidità sono correlati ad un aumento dei corpuscoli in sospensione [24,31-33].

- **Schiuma**

La formazione di schiuma nelle urine è legata a sostanze tensioattive in essa presenti.

La presenza di schiuma abbondante biancastra è spesso legata alla presenza di proteine.

In un soggetto itterico la schiuma può essere colorata in giallo verdastro o arancio scuro.

Raccomandazioni:

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

ESAME CHIMICO

Alla luce delle conoscenze accumulate negli ultimi decenni, oggi possiamo affermare che molti dei parametri abitualmente rilevati nelle urine con l'ECMU sono privi di effettiva utilità clinica o lo sono solo in alcune condizioni cliniche particolari, esulano pertanto da quello che dovrebbe essere un esame mirato principalmente alla valutazione della presenza o meno di patologie dell'apparato urinario [30,34-36]. I dip-stick sono attualmente il metodo più utilizzato nella prassi di Laboratorio, le cui caratteristiche di sensibilità e specificità sono state valutate da numerosi autori; la tabella 2 compendia le caratteristiche dei principali prodotti in commercio.

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

- 1) *La refertazione dei soli parametri clinicamente utili*
- 2) *La misurazione in chimica liquida, delle proteine urinarie con metodi maggiormente sensibili e specifici, (nei laboratori di medie-grandi dimensioni e/o di riferimento territoriale)*

3) *L'analisi su richiesta e con metodi in chimica tradizionale dei parametri utili solo in particolari condizioni cliniche (glucosio, chetoni ecc).*

Possiamo suddividere i parametri dell'ECMU in quattro categorie:

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

Parametri irrinunciabili analiticamente e/o di indubbia utilità clinica

- **Albumina/Proteine:**

Quando la proteinuria supera i limiti fisiologici, indica quasi sempre la presenza di una compromissione della funzionalità ed integrità del rene, o di una patologia sistemica [7,8,24,31-33]. Le recenti linee guida della KDIGO [38,39], sulla scorta di molteplici studi ed evidenze, indicano come la presenza di proteine nelle urine rappresenti un fattore prognostico negativo sia per lo sviluppo di insufficienza renale cronica che per il rischio cardiovascolare già a concentrazioni considerate "fisiologiche" (comprese tra 100 e 300 mg/L di albumina; oppure, utilizzando la ratio albumina / creatinina tra 10 e 30 mg/mmol) e quando ancora l'eGFR risulti normale. Ne consegue che una precoce rilevazione dell' albuminuria (e/o proteinuria) con metodi sensibili ed accurati, può costituire l'arma più efficace per una diagnosi precoce di malattia renale e per la prevenzione cardiovascolare [40-43].

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

- Nella forma funzionale la proteinuria, di solito modesta (sempre < 1,5 g/die) compare dopo che il soggetto ha mantenuto per un certo tempo la postura eretta mentre è assente nelle prime urine del mattino (proteinuria ortostatica) o in corso di stati febbrili, dopo attività fisica, scompenso cardiaco acuto. [24,31-33].
- La forma da sovraccarico è riconducibile ad un aumento della proteine plasmatiche ultra filtrate. Questo aumentato carico di proteine a basso peso molecolare si può avere ad esempio nelle patologie renali da gammopatie monoclonali associate ad eliminazione di catene leggere, nella setticemia severa (in questo caso si tratterà di

proteine della fase acuta), nell'emolisi acuta (emoglobina) o cronica (emosiderina), nei traumi muscolari massivi (mioglobina) [24,31-33].

- La proteinuria glomerulare è la forma di proteinuria più grave e più comune, spesso marcata (>3.5 g/die, cosiddetta proteinuria in range nefrosico), si può associare ad ematuria, nella glomerulonefrite, oppure a lipiduria con ipoalbuminemia e iperlipemia nella sindrome nefrosica. Abitualmente la proteina più rappresentata nelle urine è l'albumina ma mano a mano che la malattia evolve possono comparire altre specie proteiche di più elevato peso molecolare. La presenza di modeste quantità di albumina nelle urine (cosiddetta microalbuminuria) ha assunto un importante valore prognostico in alcune comuni patologie quali il diabete e l'ipertensione e sulla base di ciò viene considerata sufficiente come marker di MRC dalle KDIGO, se riconfermata a distanza di almeno 3 mesi. [24,31-33, 39].
- La proteinuria tubularesi ha quando la normale funzione tubulare di riassorbimento delle proteine viene a mancare; si tratta caratteristicamente di una proteinuria relativamente modesta (<1.5 g/die), caratterizzata da proteine a basso peso molecolare (<35Kd) quali la beta 2 microglobulina, il lisozima, la globulina legante il retinolo, l'alfa 1 microglobulina [24,31-33].

E' opportuno che il dosaggio delle proteine urinarie sia espresso come rapporto con la creatinuria quale indicatore di concentrazione urinaria: PCR o ACR.

Metodi di dosaggio: Per la rilevazione della proteinuria le linee guida della KDIGO danno indicazioni precise [38,39]:

- Il dosaggio delle proteine urinarie deve essere eseguito sul mito intermedio del primo campione del mattino, con metodi sensibili, in chimica liquida ed espresso in rapporto alla concentrazione delle urine [38-43].

In ordine di preferenza vengono suggeriti: ACR (test di prima scelta nell'adulto); PCR (test di prima scelta nel bambino); dipstick [38-43].

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

Molto rilevante è il metodo analitico utilizzato nell'ECMU: l'immunoturbidimetria su analizzatori automatici è quello più attendibile ma anche il meno utilizzato attualmente, a seguire metodi in dry chemistry con coloranti specifici per l'albumina ed espressione in rapporto alla creatinuria; infine, non consigliati, metodi in dry chemistry che valutano la concentrazione delle proteine (quasi esclusivamente albumina) sulla base della variazione

di un indicatore sensibile alle variazioni di pH con marcate interferenze in caso di pH alcalino. Altri metodi, tra i quali la nefelometria, non sono applicabili nella routine. L'accuratezza (e l'armonizzazione) della misurazione dell'albumina e della creatina urinarie è ancora un problema aperto, al punto che l'IFCC è attualmente impegnata per superare al meglio tale criticità. In ogni caso, la scelta della metodica deve garantire la rilevazione, con adeguata sensibilità, sia dell'albumina che delle globuline. Il termine microalbuminuria, coniato per individuare la misurazione dell'albumina in basse concentrazioni, deve essere evitato per non indurre errori sulla natura della proteina ed eventualmente sostituito da termini in grado di evidenziare la sensibilità del dosaggio [38-43]. Nel test eseguito con striscia reattiva non si dovrebbe parlare di proteine ma di albumina. Il metodo utilizzato infatti è sensibile quasi esclusivamente alla presenza di albumina e transferrina, pochissimo alla presenza di globuline, mentre la sensibilità per le catene leggere è praticamente nulla. Alcune strisce multi reattive utilizzano, a fianco del pad basato sul principio sopra esposto, un'area reattiva per la determinazione dell'albumina a bassa concentrazione (circa 100 mg/L). Oltre ai limiti di sensibilità, bisogna ricordare che i dipstick dosano l'albumina in valore assoluto, senza alcuna correlazione con la concentrazione del campione; pertanto, urine molto diluite possono dare albuminurie falsamente negative e, al contrario, urine fortemente concentrate possono rilevare un'albuminuria significativa senza che questa in realtà superi i limiti fisiologici. Per ovviare a questo problema, sono state recentemente immesse nel commercio strisce reattive in grado di rilevare la ratio albumina/creatinina [24,31-33,38-43]. Trattandosi di un metodo semplice, poco costoso e rapido, la chimica secca su dipstick si è diffusa in tutti i laboratori ed attualmente può essere considerata il metodo maggiormente utilizzato per la determinazione delle proteine (albumina) nelle urine. Tuttavia, in considerazione dei numerosi limiti che questo metodo presenta (dosaggio non quantitativo, numerosi interferenti, scarsa o nulla sensibilità per le globuline, mancata rilevazione della proteinuria di Bence Jones) la determinazione della proteinuria con i dip-stick andrebbe limitata a situazioni in cui non sia possibile effettuare una determinazione più accurata in chimica liquida (vedi capitolo sui livelli diagnostici) [44,45]

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

Le urine sono composte per il 97-99% di acqua e per il restante 1-3% da una miscela di soluti. La concentrazione dei soluti nelle urine è un importante indice della capacità di concentrare le urine da parte del rene, oltre che dello stato di idratazione del soggetto. Risulta quindi essere un indicatore di notevole valenza clinica [7,8,24,31-33]. Ha inoltre

rilevanza nell'analisi del sedimento urinario in quanto la concentrazione delle urine condiziona la conservazione degli elementi figurati che possono andare incontro a lisi, in urine poco concentrate e ad alterazioni morfologiche in urine fortemente ipertoniche [7,8,24,31-33].

L'espressione dei soluti nelle urine può essere valutata utilizzando diversi parametri che appaiono differenti per significato e per tipologia dei soluti che si andranno a rilevare: Densità Relativa, Osmolalità, Conduttività, Creatinuria [7,8,24,31-33].

Ciascuno di questi parametri può essere determinato utilizzando metodiche differenti.

Densità Relativa

Misura la densità delle urine in g/L (massa/volume) ed è la determinazione usualmente utilizzata nella pratica clinica. Viene troppo spesso erroneamente indicata come peso specifico che è il rapporto tra il peso e il volume e si esprime in Newton/L [46-49].

Metodi di determinazione: I metodi per la determinazione della densità relativa possono essere diretti o indiretti. I metodi diretti determinano la densità relativa delle urine a prescindere dalla tipologia di soluto presente, in quanto tutti i soluti vengono rilevati e misurati, sia quelli fisiologicamente presenti nelle urine come urea ed elettroliti, sia quelli indicativi di patologia come glucosio e proteine, sia quelli di origine iatrogena come i mezzi di contrasto radiologici. La presenza di proteine o glucosio nelle urine può falsare il significato del test, infatti la glicosuria può ricondurre nella norma un valore di densità relativa pur in presenza di urine patologicamente non concentrate nella poliuria diabetica [7,8,24,31-33].

La densità relativa può essere valutata direttamente utilizzando i seguenti metodi: gravimetrico, non utilizzato in diagnostica routinaria ma comunque considerato il metodo di riferimento; dell'urinometro e della oscillazione armonica, obsoleti; rifrattometrico, poco adatto ad usi di routine ma ancora utilizzabile in casi particolari (es. urine ipercromiche); con strumentazioni automatiche per dry chemistry [24,31-33].

Striscia Reattiva: il metodo utilizzato nei pad reattivi dei dipstick si basa sulla determinazione degli ioni (massimamente Na^+ , Cl^- , K^+ , NH_4^-), non viene invece rilevata la presenza di altre sostanze non ioniche (glucosio, proteine, mezzi di contrasto radiologici).

Si tratta quindi di una metodica in grado di valutare la capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico attraverso il riassorbimento e l'eliminazione selettiva dell'acqua e degli ioni. La variazione del pH nel pad provoca il cambiamento di colore del blu di bromotimolo dal blu al giallo. Il metodo però appare influenzato dal pH (sovrastima a pH

acido e sottostima a pH alcalino) e dalla colorazione delle urine. Nel caso di strip multipads, con contemporanea rilevazione del pH, sarà possibile effettuare la correzione per tale fattore interferente. Si tratta di un metodo facilmente automatizzabile ed adatto alle applicazioni di routine [24,31-33].

Osmolalità: viene determinata sfruttando metodi in grado di valutare le proprietà colligative dei soluti che vanno ad interferire con i cambiamenti di stato della soluzione, tali capacità colligative dipendono solo dal numero delle particelle presenti in soluzione e non dalle loro caratteristiche. Si utilizzano metodi che valutano la temperatura di congelamento o la tensione di vapore; in entrambi i casi si tratta di un metodo di riferimento scarsamente automatizzabile e poco adatto ad applicazioni di routine. Anche in questo caso il valore è influenzato dalla glicosuria e quindi risulta non attendibile nei diabetici scompensati [24,31-33].

Conducibilità: La conducibilità o conducibilità è un parametro noto da molto tempo il cui utilizzo in routine è stato riproposto per la disponibilità su strumentazione automatica che lo rende idoneo per un uso routinario. La conducibilità dipende dalla concentrazione di elettroliti nelle urine (Na⁺, K⁺, Cl⁻, NH₄⁺ etc.) ma non dalla concentrazione di glucosio e proteine, non è influenzata dal pH e dal colore delle urine; è quindi in grado di misurare il risultato dell'azione del riassorbimento e dell'eliminazione selettiva di acqua e di ioni del rene anche in soggetti diabetici [46-49].

- **Creatinina**

La misurazione della creatinina urinaria ha rilevanza in diverse applicazioni: identificazione di un liquido come urina, evidenziazione di adulterazioni, nell'ambito di dosaggi complessi quali la determinazione della clearance della creatinina, o la determinazione della proteinuria o della ionuria in rapporto alla creatinina intesa come indicatore di concentrazione delle urine [24,31-33].

Metodi di dosaggio. Sono disponibili sui comuni analizzatori automatici di biochimica clinica due metodi di misurazione della creatinina urinaria: il metodo enzimatico ed il metodo di Jaffè; quest'ultimo, superato dal metodo enzimatico per la misurazione sierica, si fa preferire per la determinazione della creatinina urinaria, perché ha prestazioni simili sulla matrice urinaria e minor costo [24,31-33].

- **Emoglobina:**

La presenza di emoglobina e/o di eritrociti nelle urine è, insieme alla presenza di proteine, uno dei marker più significativi di possibile patologia dell'apparato urinario; l'ematuria può

costituire l'unica spia della presenza di una patologia glomerulare o urologica, comprese quelle di natura neoplastica [7,8,24,31-33, 50-56].

Con il termine emoglobinuria si intende la presenza di emoglobina libera mentre con il termine ematuria si definisce la presenza di eritrociti nelle urine. In urine poco concentrate (densità relativa < 1010 g/L) o molto alcaline (pH>8.0) le emazie possono andare incontro a lisi liberando l'emoglobina in esse contenuta, solitamente in questi casi residuano i cosiddetti eritrociti fantasma (ghost) oltre ad un numero variabile di eritrociti con maggiore resistenza osmotica [7,8,24,31-33, 50-56]. Oltre a situazioni legate alla fase pre-analitica l'emoglobinuria è espressione di patologie emolitiche intra ed extra eritrocitarie di diversa origine: metabolica, infettiva, immune, meccanica. In queste patologie la crisi emolitica dà luogo ad una marcata pigmentazione delle urine color bruno per effetto della trasformazione in metaemoglobina operata dal pH acido delle urine.

Per il rilievo clinico del parametro la sua misurazione nelle urine è fortemente raccomandata. Metodi di dosaggio: tutti i metodi in dip-stick si basano sulla attività pseudo-perossidasi dell'anello tetrapirrolico completo dell'atomo di ferro centrale (protoporfirina IX); la sensibilità è di circa 0.03 mg/dL, corrispondente a circa 10 emazie/microlitro. Il test risulta reattivo sia per emoglobina che per mioglobina, in quanto entrambe contengono un anello tetrapirrolico. False negatività possono essere ricondotte alla interferenza dell'acido ascorbico, che essendo dotato di un forte potere riducente tende a legare il perossido sottraendolo alla reazione, mentre false positività possono essere ricondotte all'attività di perossidasi batteriche e/o leucocitarie alla contaminazione del campione con sostanze dotate di attività ossidoriducete (detergenti, ipoclorito) [7,8,24,31-33]. La sensibilità non supera l'80-90%; pertanto, non è possibile escludere la presenza di ematuria con l'utilizzo del solo dip-stick, ma è indispensabile che ad esso venga sempre associata la valutazione microscopica e/o strumentale (sedimento automatizzato) [50-56]. L'attuale maggior sensibilità degli analizzatori del sedimento sta facendo emergere una frequenza di discordanze tra esito chimico per l'emoglobina del dip-stick e l'esito per le emazie degli analizzatori maggiore di quanto avvenisse in passato con la lettura microscopica. Al momento non sono presenti in commercio metodi alternativi routinari al dosaggio dell'emoglobina in chimica secca con il metodo della perossidasi; è auspicabile l'introduzione di metodi di maggior sensibilità e specificità applicabili su strumentazione automatica [50-56].

- **pH:**

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

Il rene gioca un ruolo chiave nella regolazione dell'equilibrio acido-base. Il pH urinario può variare da 4.5 a 7.5. Normalmente le urine presentano un pH leggermente acido (tra 5.0 e 6.0) poiché in condizioni basali la produzione endogena di acidi è prevalente e vi è quindi la necessità di procedere alla loro eliminazione. La determinazione del pH ha una notevole importanza per il Laboratorio perché permette di interpretare meglio le altre reazioni chimiche (albumina-proteine) e di valutare correttamente le cristallurie e l'eventuale batteriuria. Per il clinico ha importanza nelle infezioni urinarie, e nella valutazione della funzionalità tubulare. Il pH urinario può influenzare la conservazione degli elementi figurati, ad esempio a pH alcalino si può avere lisi delle cellule e mancata formazione dei cilindri per interazione con la loro matrice proteica [7-9,24,31-33].

Metodi di determinazione: tutti i dip-stick del commercio dispongono di un pad per la rilevazione del pH, con un range variabile da 4.5-5.0 fino a 8.0-9.0; Il pH così misurato (su scala ordinale con step di 0,5 unità) ha una scarsa accuratezza e quindi un modesto rilievo se non per orientare l'interpretazione analitica di cristalli o altro. Nei casi in cui la rilevazione del pH rivesta importanza clinica (calcolosi, nefropatie, monitoraggio terapie acidificanti/alcalinizzanti ecc) è consigliabile che sia effettuata una specifica richiesta di pH urinario (diversa dall'ECMU) con una misurazione mediante pHmetro da parte del Laboratorio o dello stesso reparto come POCT (nefrologia, terapia intensiva). [7-9,24,31-33].

- **Parametri utili e di verifica analitica per il Laboratorio**

- **Esterasi leucocitaria:**

E' un enzima presente nei granuli azzurrofilo dei granulociti ma non nei linfociti [7,8,24,31-33]. La presenza di leucocituria significativa può indicare la presenza di una infezione o di una flogosi delle vie urinarie [56-62]. La positività dei dip-stick si verifica in presenza di esterasi rilasciata dai leucociti in corso di degenerazione. In presenza di leucociti giovani, resistenti alla lisi, con nullo o minimo rilascio di esterasi, si può avere leucocituria nel sedimento con negatività all'esterasi; al contrario, una lisi dei leucociti (dovuta alla bassa concentrazione del campione, all'esposizione a pH molto alcalino, alla cattiva conservazione del campione) può determinare positività per l'esterasi in assenza di leucociti rilevabili al MO o con strumentazione automatica. Pertanto, come per

l'emoglobina, la determinazione dell'esterasi leucocitaria deve essere associata alla ricerca dei leucociti con la microscopia e/o con strumentazione automatica [56-62].

Metodi di dosaggio: tutti i dip-stick del commercio rilevano l'esterasi leucocitaria, con una sensibilità equivalente a circa 20-25 leucociti/microlitro. Tale sensibilità è minore di quella rilevata dagli analizzatori automatici (2-3 elementi/microlitro) e ai limiti di riferimento per i leucociti (10-15/ microL) [7,8,24,31-33].

- **Nitriti:**

Alcuni batteri (prevalentemente Enterobatteriacee ma non altri importanti patogeni urinari come gli enterococchi) sono in grado di convertire in nitriti i nitrati normalmente presenti nelle urine. I nitrati sono introdotti nell'organismo con una dieta ricca in vegetali freschi e la loro riduzione a nitriti da parte del metabolismo batterico richiede un lasso di tempo variabile in funzione della quantità e del tipo di batteri in causa. Pertanto, la mancata assunzione di nitrati con la dieta o la ridotta permanenza delle urine in vescica sono le ragioni per cui, anche in caso di infezioni sostenute da batteri in grado di ridurre i nitrati a nitriti il test dei nitriti nelle urine può risultare negativo. [7,9-11,62-64].

A fronte di una bassa sensibilità, il test è utile in quanto dotato di elevato VPP; il VPN non appare altrettanto elevato per la possibilità che l'infezione sia sostenuta da enterococchi [7,9-11,62-66].

Metodi di dosaggio: tutti i dipstick del commercio rilevano i nitriti urinari mentre non sono disponibili kit per chimica liquida automatizzata [24,31-33].

- **Ascorbato:**

La presenza di ascorbato nelle urine è piuttosto frequente potendo originare sia dalla dieta (agrumi, conservanti) sia dall'assunzione di farmaci con vitamina C. Nelle urine la presenza di acido ascorbico ad una concentrazione di 100 mg/L è in grado di interferire con la determinazione della emoglobina; ad una concentrazione di 250 mg/L dà interferenza con la determinazione dei nitriti e della bilirubina; ad una concentrazione di 500 mg/L si ha interferenza anche con la determinazione del glucosio. Rappresenta pertanto per il Laboratorio un utile indicatore di possibili interferenze; pertanto, alcune aziende hanno dotato le loro strisce reattive di un pad dedicato alla rilevazione della presenza di questa sostanza nelle urine [7-9,24,31-33].

Parametri utili in particolari condizioni cliniche

- **Glucosio:**

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

Tutte le strisce reattive sono dotate di pad per la rilevazione della glicosuria; falsi negativi si possono avere in presenza di ascorbato e nel caso di infezione del tratto urinario, mentre falsi positivi si osservano in presenza di sostanze ossidanti e nelle urine particolarmente acide. Il glucosio può essere determinato in chimica liquida utilizzando un metodo enzimatico specifico (ad esempio esochinasi o glucosio ossidasi) [24,31-33].

Negli ultimi anni l'utilità clinica della determinazione del glucosio nelle urine è stata fortemente ridimensionata; nelle linee guida internazionali, i diabetologi non fanno più alcun riferimento a questo test per la diagnosi ed il monitoraggio del diabete, ormai totalmente basati su test eseguiti su siero (glicemia ed emoglobina glicata) [67,68].

L'analisi del glucosio urinario può tuttavia essere utile in patologie nefrologiche quali le tubulopatie congenite o acquisite (s. di Fanconi) e in corso di tubulo-interstiziopatie a varia eziologia dove può essere specificamente richiesta e determinata in chimica liquida [66-68]. Inoltre, la ricerca del glucosio urinario può essere inserito, insieme ai chetoni e accanto ai parametri irrinunciabili, in un profilo dedicato in modo specifico ai soggetti pediatrici nella prima infanzia, quando le oggettive difficoltà a ricorrere ai prelievi ematici rendono più frequente il ricorso all'esame urine come primo test nel sospetto clinico di diabete [69,70].

- **Chetoni:**

I chetoni sono una famiglia di tre composti- acetone, aceto-acetato, acido beta idrossibutirrico - che derivano dal metabolismo (in carenza di glucosio) degli acidi grassi. La presenza di chetoni nelle urine è per lo più legata al digiuno ed è utile solo in riferimento a specifiche popolazioni di pazienti e in specifiche condizioni cliniche (diabete, ipotermia, febbre, vomito prolungato, complicanze fetali nel post-termine) ma raramente hanno reale utilità clinica, ad eccezione di alcune situazioni in medicina d'urgenza (chetoacidosi diabetica, abuso alcolico) [24,31-33].

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

Parametri non utili

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

La bilirubina e l'urobilinogeno rilevati nelle urine hanno perduto il loro significato, e la letteratura scientifica concorda sulla insufficiente previsione del danno epatico sulla base delle positività urinarie dei pigmenti biliari. Sono rilevati dai comuni dipstick; falsi negativi per la bilirubina si evidenziano in presenza di vitamina C e di nitriti, mentre falsi positivi si riscontrano in presenza dei metaboliti della clorpromazina e, per quanto riguarda l'urobilinogeno, di alcuni farmaci (carbapenem e sulfanilammide). Falsi positivi sono frequenti anche in condizioni di cattiva conservazione delle strisce reattive (umidità) [24,31-3].

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

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandato il dosaggio dell'albumina nelle urine. Nei bambini, è fortemente raccomandato il dosaggio delle proteine totali. In entrambi i casi, e' raccomandato l'utilizzo di metodi quantitativi, ad elevata sensibilità e specificità, che non risentano della influenza del pH ed il cui dosaggio venga normalizzato in funzione della concentrazione delle urine (rapporto albumina/creatinina o proteine/creatinina). La rilevazione della proteinuria con il dipstick dovrebbe essere limitata alle sole situazioni di indisponibilità di strumentazione idonea al dosaggio in chimica liquida.***
- ***E' fortemente raccomandata la determinazione della concentrazione urinaria (densità relativa, conduttività o osmolalità) quale indice dello stato di idratazione o della capacità del rene di gestire l'equilibrio idro-elettrolitico, utilizzando un metodo che non risenta della presenza di altri soluti (ad esempio glucosio e proteine).***

- ***E' fortemente raccomandato il dosaggio della creatinina urinaria sia come indicatore di concentrazione del campione e per l'espressione in termini di ratio dei parametri urinari, ove previsto, sia come garante della natura urinaria del campione.***
- ***E' fortemente raccomandata la ricerca della emoglobina nelle urine; la rilevazione con il dipstick deve sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale del sedimento.***
- ***E' fortemente raccomandata la determinazione del pH urinario, in quanto può dare indicazioni al Laboratorio nell' identificazione delle cristallurie e con un pH fortemente alcalino può suggerire una falsa positività di proteinuria al dip-stick. In casi di reale utilità clinica, è raccomandata la rilevazione con piaccametro.***
- ***E' raccomandata la ricerca dell'esterasi leucocitaria nelle urine; la rilevazione con il dipstick dovrebbe sempre essere associata alla valutazione microscopica e/o strumentale del sedimento.***
- ***E' raccomandata la ricerca dei nitriti nelle urine, per il loro elevato valore predittivo positivo per le infezioni delle vie urinarie.***
- ***E' raccomandato il dosaggio dell'ascorbato per le informazioni utili al Laboratorio circa possibili interferenze sui risultati analitici ottenuti con i dip-stick.***
- ***Non è raccomandata la misurazione della glicosuria. Per finalità specifiche in ambito nefrologico, e nella prima infanzia, se ne raccomanda il dosaggio in chimica liquida.***
- ***Non è raccomandato il dosaggio dei chetoni urinari, tranne che in situazioni di medicina di emergenza/urgenza (chetoacidosi diabetica, intossicazione alcolica). Non è raccomandato il dosaggio di urea, acido urico, ioni; la loro determinazione deve essere effettuata su richiesta, in specifiche condizioni cliniche.***
- ***Non è raccomandato il dosaggio della bilirubina urinaria.***
- ***Non è raccomandato il dosaggio dell'urobilinogeno nelle urine.***

ANALISI DELLA FRAZIONE CORPUSCOLATA

La gerarchia dei processi analitici riconosce quattro livelli:

Livello 1: test rapidi

Livello 2: metodi routinari

Livello 3: metodi qualificati di comparazione

Livello 4: metodi di riferimento

Vedi Tabella 4.

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

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

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

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

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

Principi di Microscopia Manuale del Sedimento Urinario

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

Infine, veniva data indicazione che fosse garantito il riconoscimento e la differenziazione dei seguenti elementi [71-77]:

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

L'importanza di una corretta lettura della frazione corpuscolata delle urine e delle notevoli implicazioni cliniche ad essa correlate sono esemplificate nella tabella 5 [78,79].

Le modalità di osservazione del sedimento urinario in microscopia ottica, enunciate nelle linee guida Europee del 2007, restano ancora oggi valide nei principi generali, anche se l'avvento dei sistemi di analisi automatizzata del sedimento urinario

Valutazione morfologica della frazione corpuscolata mediante microscopia ottica

Identificazione e quantificazione delle Emazie:

Si definisce ematuria la presenza di emazie nelle urine.

Si parla di macroematuria se la quantità di sangue è tale da alterare il colorito delle urine. Sono sufficienti 2 mL di sangue in un litro di urina per causare un cambiamento visibile del colore [24,31-33]. In caso di ematuria macroscopica le urine possono avere vari colori in base alla gravità del sanguinamento e anche alla tempistica con cui è avvenuto. Per esempio un'ematuria franca (color rosso) indica un considerevole sanguinamento in atto, l'ematuria "a lavatura di carne" indica un lieve sanguinamento, l'ematuria color "marsala" o "coca-cola" può indicare emoglobinuria o un sanguinamento pregresso. In presenza di urine colorate di rosso è sempre necessaria la conferma microscopica della presenza di emazie nel campione, in quanto alcune sostanze di origine alimentare ed alcuni farmaci possono conferire alle urine un colore simile a quello determinato dalla presenza di sangue (tabella 1) [24,31-33]. Si parla di microematuria quando la quantità di sangue è modesta e non in grado di alterare l'aspetto delle urine. Non esiste un valore soglia condiviso per definire la microematuria. E' raccomandato che ogni Laboratorio definisca i propri valori di riferimento in relazione alla popolazione ed alla casistica esaminata. Una delle soglie più condivise è quella dell' American Urological Association, che indica come microematuria la presenza di 3 o più emazie per campo microscopico a 400X, equivalenti a 10-12 eritrociti /microlitro con gli analizzatori automatici del sedimento [24,31-33].

Le principali cause di Ematuria sono riportate nella Tabella 6.

Identificazione e quantificazione dei Leucociti

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

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

I granulociti neutrofili costituiscono un riscontro comune in molte patologie infettive e flogistiche, dall'infezione delle vie urinarie alla glomerulonefrite [24,31-33].

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

I linfociti appaiono associati a condizioni di infiammazione cronica e malattie virali; sono presenti nelle urine in corso di rigetto del trapianto renale (sensibilità 80-90%) o in corso di patologie ematologiche (leucemie o linfomi con infiltrazione del rene)[24,31-33].

I macrofagi (istiociti) possono essere presenti in varie patologie infiammatorie croniche, quasi sempre associati ai neutrofili ed in corso di marcata proteinuria. Possono assumere

vari aspetti: dendritico con pseudopodi, poligonale, simile ai granulociti in via di degenerazione, circolare con inclusioni e nucleo evidente. [80-81].

Identificazione e quantificazione dei cilindri

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

I cilindri assumono il significato suggerito dai loro costituenti; si formano soprattutto nell'ansa di Henle e nel tubulo contorto distale, dei quali riproducono la forma [7,8,10,24,31-33,69-75]. In base alla loro costituzione è possibile distinguere i seguenti tipi di cilindri:

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

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

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

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

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

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

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

Cilindri Cerei - Sono gli unici cilindri in cui la matrice proteica prevalente non è THP. Sono compatti e friabili, e solo eccezionalmente presentano elementi inclusi perché la lunga permanenza nei tubuli li porta a completa degenerazione. I cilindri cerei sono quindi espressione di una compromissione renale. Una loro presenza può essere associata principalmente a glomerulonefriti, nefropatia diabetica, amiloidosi renale [8,10,24,31-35,82,83].

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

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

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

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

Identificazione e Quantificazione delle Cellule

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

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

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

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

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

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

Identificazione dei lipidi

Dal punto di vista morfologico esistono quattro categorie di lipidi: goccioline (isolate od in aggregati), corpi ovali grassi, cilindri lipidici, cristalli di colesterolo. La identificazione delle prime tre categorie è facilitata dall'impiego della luce polarizzata che mostra le tipiche "croci di Malta". Questi elementi sono associati a proteinuria marcata [7,8,10,24,31-35].

Identificazione dei Cristalli

La presenza di cristalli nelle urine è significativa solo per quantità consistenti e per alcuni tipi di cristalli [84-89].

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

Nelle urine alcaline si possono ritrovare cristalli di fosfato di calcio e precipitati di fosfati amorfi [84-91].

Alcune cristallurie vengono considerate sempre patologiche; rientrano in questo campo la presenza di cristalli di triplo fosfato (infezioni del tratto genitourinario) cistina (cistinuria) idrossiadenina, tirosina e leucina (patologie ereditarie, epatite, leucemie) colesterolo (patologie renali, sindrome nefrosica) bilirubina (ittero clinicamente rilevabile), emosiderina (emolisi severa, anemie emolitiche, reazioni trasfusionali). Va tenuto presente che anche alcuni farmaci possono dare luogo alla presenza di particolari precipitati nelle urine⁸²⁻⁸⁹.

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

dimensioni e/o formazione di aggregati e/o persistenti in campioni ripetuti, costituisce in questo caso indicazione ad uno studio metabolico più approfondito [87-95].

Microorganismi:

Le linee guida dell'ECLM–EUG, propongono una classificazione degli agenti eziologici di IVU in base: a) alla loro potenziale uropatogenicità; b) all'integrità dell'apparato genito urinario; c) alle condizioni fisiologiche (es. gravidanza); d) alla presenza di malattie sistemiche. Inoltre tale classificazione prende in considerazione la frequenza con cui i diversi microrganismi vengono isolati da campioni urinari. Si definiscono "Patogeni Primari" quei batteri in grado di dare frequentemente infezione in soggetti sani e senza anomalie anatomiche o funzionali dell'apparato urinario (es. *Escherichia coli* e *Staphylococcus Saprophyticus*) e "Patogeni Secondari" quei batteri che pure si riscontrano in soggetti sani ma con minore frequenza. Si tratta spesso di infezioni in soggetti istituzionalizzati o con anomalie funzionali/anatomiche dell'apparato urinario o con patologia sistemica concomitante (es. *Enterococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp.). Vengono poi definiti "Patogeni Condizionali" quei batteri che non sono in grado di dare infezione in soggetti sani ma che rivestono significato patologico in pazienti con anomalie funzionali od anatomiche dell'apparato urinario o presentano patologia sistemica concomitante (es. miceti lievitiiformi, lo *Streptococcus agalactiae* o di gruppo B, gli stafilococchi coagulasi negativi, *Pseudomonas* spp.). Il quarto ed ultimo gruppo è quello dei "Batteri contaminanti" e quindi privi di significato patologico (es. difteroidi e i lattobacilli).

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

Raccomandazioni:

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

Contaminanti

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

- dal soggetto che ha prodotto il campione: eritrociti, leucociti, cellule squamose batteri, protozoi, miceti, spermatozoi di provenienza genitale; peli, parassiti, talco, creme, olii, polveri aspersorie di provenienza cutanea; fibre, cellule, batteri, parassiti e loro uova di provenienza fecale; fibre tessili dagli indumenti, fibre di cellulosa da assorbenti, pannolini, carta igienica;
- dall'ambiente esterno durante la raccolta e conservazione: pollini, cellule vegetali, spore fungine, fibre;
- dal Laboratorio durante la preparazione-esecuzione dell'esame: frammenti di vetro dai vetrini per l'osservazione microscopica, polvere aspersoria dai guanti, bollicine d'aria prodotte dal pipettamento del campione.

Per ridurre il rischio di contaminazione del campione dal soggetto e dall'ambiente è fondamentale attuare quanto raccomandato dalle LG: preliminarmente accurata igiene dei genitali [7,8], raccolta da mitto intermedio [29] con contenitore monouso e dispositivo per provetta sottovuoto¹¹⁹. Il raro reperto di protozoi di origine genitale od elminti (o loro uova) di origine fecale nelle urine non appare indicativo di una infestazione urinaria ma suggerisce una contaminazione; tuttavia trattandosi di elementi indicativi di una infestazione parassitaria genitale o intestinale il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti [7,9,11,12,24,31,34,35]. Per quanto attiene la contaminazione dal Laboratorio, l'utilizzo di lettori automatizzati del sedimento ha notevolmente ridotto la manipolazione dei campioni e quindi il rischio di contaminazioni da esposizione all'ambiente, così come l'utilizzo di dispositivi in plastica multicellette per microscopia (senza vetro) e l'uso di guanti in vinile o nitrile (senza polveri aspersorie) hanno eliminato le relative contaminazioni.

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

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandato dare informazione agli utenti circa le modalità di raccolta dei campioni urinari: preliminarmente accurata igiene dei genitali, raccolta da mitto intermedio, utilizzo di contenitori dedicati e provette sottovuoto.***
- ***E' fortemente raccomandato che gli operatori acquisiscano le competenze per il riconoscimento dei contaminanti, il giudizio di idoneità del campione, e commentino opportunamente i casi in cui ripetere l'esame con raccolta conforme alle LG.***
- ***E' fortemente raccomandato il giudizio di non idoneità del campione urinario con protozoi di origine genitale od elminti (o loro uova) di origine fecale; rivestendo importanza clinica il dato deve essere opportunamente segnalato nel referto per i relativi approfondimenti e/o trattamenti.***

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

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

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

Valutazione della frazione corpuscolata delle urine mediante strumentazione automatizzata.

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

- Microscopia automatizzata
- Cattura di Immagini
- Citofluorimetria

Microscopia automatizzata: Il più diffuso analizzatore per l'analisi della frazione corpuscolata delle urine mediante automazione della microscopia (Cuvettebasedmicroscopy - CBM) è l'analizzatore SediMAX (Menarini) a cui di recente si è

aggiunto un sistema denominato Cobas 6500 (Roche). L'analisi richiede un volume minimo di campione di 2 mL. Una aliquota di 200 μ L viene iniettata all'interno di una particolare cuvetta che, una volta centrifugata, permette la formazione di un sottile film liquido su cui avviene la lettura con videocamera microscopica mediante illuminazione del campione tramite led verde ad elevata potenza. Per ogni campione possono essere analizzati più campi microscopici a 400X, visualizzati attraverso 15 fotografie. Una speciale rete neurale, supportata da un database contenente migliaia di immagini del sedimento, individua gli elementi in base alle loro caratteristiche morfologiche. E' possibile evidenziare gli elementi identificati tramite un acronimo che compare sull'elemento stesso; gli elementi anomali, contigui e sovrapposti modificano l'aspetto morfologico perimetrale, non vengono quindi riconosciuti e vengono esclusi dal conteggio [96-102]. Recentemente è stata rilasciata una nuova versione dell'analizzatore SediMAX, che utilizza la microscopia in contrasto di fase in aggiunta al campo chiaro.

Cattura di Immagini: Il primo analizzatore con tecnologia a cattura di immagini è stato l'analizzatore Iris iQ200 di Beckman. A questo sistema si sono ora aggiunti altri due sistemi, FUS 100 e 200 (Dirui) che ricalcano lo stesso principio di funzionamento. Tali sistemi incorporano un microscopio automatizzato con ottica focalizzata su cella planare a flusso laminare, nella quale le particelle contenute nel campione vengono focalizzate idrodinamicamente. Il flusso laminare consente di presentare il campione all'interno del piano focale dell'obiettivo del microscopio, orientando inoltre le particelle asimmetriche in modo che si presentino in posizione ortodromica per una migliore lettura e classificazione. Una lampada stroboscopica illumina con una frequenza di 24 flash al secondo il campione che transita attraverso la cella a flusso, consentendo ad una camera digitale miniaturizzata di riprendere, isolare e di memorizzare un elevatissimo numero di fotogrammi per campione. Ad ogni singola immagine viene sottratto il valore di fondo (background, sfondo), ripreso e digitalizzato precedentemente, esaltando in questo modo la morfologia della particella ripresa ed il suo confronto con il medium liquido. Le singole immagini di una particella sono isolate all'interno di ogni fotogramma. Il software di riconoscimento delle particelle analizza con una rete neurale ogni elemento e lo confronta con oltre 26.000 immagini univoche; quindi considerando le caratteristiche di dimensione, forma, contrasto e contenuto interno, lo classifica [103-108].

Citofluorimetria: L'unico analizzatore automatizzato della frazione corpuscolata delle urine mediante citofluorimetria è l'analizzatore Sysmex UF, di cui il modello 1000i è l'ultima evoluzione. Sysmex UF-1000i (Dasit) combina la tecnologia impedenziometrica con la

citofluorimetria ed utilizza come fonte luminosa un laser a diodi. Il campione urinario (0,8 – 1,2 mL) viene aspirato nel sistema, viene diluito con un tampone, e viene sottoposto ad un processo di colorazione con due fluorocromi polimetinici di recente concezione, in grado di legarsi agli acidi nucleici. Dopo un processo di focalizzazione idrodinamica, il campione viene fatto passare attraverso due celle a flusso, una dedicata all'analisi dei microorganismi e l'altra dedicata all'analisi di tutti gli altri elementi corpuscolati. Il passaggio delle singole particelle viene riconosciuto con metodica impedenziometrica, che ne permette l'accurata quantificazione e fornisce indicazioni circa le loro dimensioni. Inoltre il passaggio delle particelle sospese nel flusso laminare devia il fascio di luce laser e genera un segnale di diffrazione che viene letto sia da rilevatori per lo scatter frontali (forward, 45°) e laterali (side, 90°) che da un rilevatore di fluorescenza. I parametri misurati vengono convertiti in segnali elettrici che, analizzati attraverso algoritmi matematici, permettono l'identificazione dei diversi elementi presenti nell'urina. Per caratterizzare il campione, viene inoltre misurata la conduttività della soluzione, che è indice della concentrazione di elettroliti nelle urine. Il canale dei batteri funziona analogamente a quello degli altri elementi su specifiche orientate al conteggio e differenziazione dei microorganismi presenti nelle urine [109-115].

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

- Esaminano urina nativa, eliminando così la centrifugazione, l'aspirazione del sovrantante, la risospensione del fondello e l'allestimento del preparato microscopico. Tali passaggi, presenti nella microscopia tradizionale, non solo introducono una notevole variabilità analitica, per la sostanziale assenza di standardizzazione, ma costituiscono dei colli di bottiglia organizzativi, con un ritardo nell'analisi della frazione corpuscolata che può modificare gli esiti analitici a scapito di precisione ed accuratezza. Questo è tanto più rilevante nei laboratori con elevati carichi di lavoro.
- La quantificazione degli elementi corpuscolati effettuata con analizzatori automatici è assai più ripetibile di quella effettuata da un osservatore umano al MO. Inoltre vengono forniti risultati quantitativi espressi in numero di particelle per unità di volume, evitando espressioni descrittive e soggettive quali "rari", "alcuni", "numerosi", etc. La possibilità di quantificare gli elementi per unità di volume esaminato, permette di standardizzare l'analisi e costituisce un indicatore oggettivo per la valutazione clinica.

- La capacità degli analizzatori di identificare correttamente gli elementi corpuscolati delle urine appare soddisfacente per quanto attiene gli eritrociti, i leucociti, le cellule epiteliali squamose, i batteri, i miceti etc. Per contro l'identificazione dei cilindri appare meno soddisfacente, con possibilità di falsi positivi dovuti alla presenza di muco, aggregati cellulari, ammassi di cristalli; in questo caso sarà dirimente la valutazione morfologica. Al riguardo va ricordato che la presenza di muco testimonia nella gran parte dei casi una raccolta del campione scorretta, eseguita da mitto iniziale e non intermedio [105-113].
- La necessità di definire soglie di allarme, griglie per la revisione dei risultati, allarmi per l'anomalia del dato e/o del campione ha permesso di orientare le risorse e le competenze professionali su quei casi che beneficiano di opportuni approfondimenti. Paradossalmente proprio l'introduzione degli analizzatori automatizzati del sedimento sta sempre più valorizzando la competenza morfologica degli operatori, dando un notevole valore aggiunto all'ECMU. Inoltre gli analizzatori automatizzati permettono un agevole controllo di qualità interno, consentendo di tenere sotto controllo i principali parametri del sedimento e di operare sulla scorta di elementi oggettivi.
- Gli analizzatori automatizzati del sedimento al momento non sono in grado di riconoscere i lipidi, i protozoi, numerosi cristalli segnalando generici allarmi, che devono essere colti in fase di revisione, così come non distinguono le cellule tubulari e le transizionali limitandosi genericamente a segnalare piccole cellule rotonde (small round cells) e cellule di grandi dimensioni (large cells).

In conclusione, gli analizzatori automatici per lo studio della frazione corpuscolata delle urine sono uno strumento indispensabile per garantire elevati standard analitici nei Laboratori Analisi rimpiazzando l'esame morfologico tradizionale nei casi di semplice definizione, quantificando gli elementi corpuscolati con precisione ed accuratezza paragonabili a quelli di un microscopista esperto, mediante adeguata tecnologia, metodologia e con carichi di lavoro ridotti e permettendo una selezione efficace dei casi per i quali si rende necessario un approfondimento con la microscopia tradizionale o con altri metodi d'indagine. Sono quindi in grado di focalizzare le risorse da dedicare alla microscopia sui casi clinici meritevoli di approfondimento, contribuendo quindi a migliorare le performances sia dei casi semplici che complessi sotto il profilo diagnostico-clinico [96-115].

Raccomandazioni:

Sono fortemente raccomandati:

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

CQI e VEQ

La verifica di qualità è ormai uno degli elementi connotanti la pratica di Laboratorio. Infatti, contrariamente ad altre branche della Medicina, la messa in discussione del modo di operare, dei risultati ottenuti e perfino delle competenze e capacità diagnostiche degli operatori è costante e rituale. In alcune regioni, la verifica esterna di qualità assume valore fiscale per il mantenimento dell'autorizzazione all'esercizio professionale; la certificazione ISO (9001/2015 e 15189/2012) ed i principali standard per l'accreditamento prescrivono l'adesione a programmi per il controllo di qualità interno ed esterno. Nella fase analitica consideriamo il CQI, l'allineamento, i traguardi analitici; nella fase post analitica la VEQ sia chimica che morfologica [116-125].

Il CQI risponde all'esigenza di verificare la precisione della misurazione eseguita; va eseguito ad ogni seduta di lavoro per validare la serie analitica secondo regole ben definite da Westegard[116-120]. Può e deve essere ripetuto più volte laddove le sedute analitiche siano protratte a lungo. E' opportuno che la matrice dei campioni di controllo sia la stessa dei campioni analizzati ma laddove questo non sia possibile, dovrà avere caratteristiche analoghe. E' raccomandato che il campione di controllo sia di parte terza, prodotto cioè da un fabbricante estraneo alla ragione sociale del produttore della strumentazione e dei reagenti [121-125].

Allineamento: quando in un Laboratorio sono presenti più strumenti per l'ECMU è necessario che questi siano allineati, ovvero che i risultati ottenuti dai diversi strumenti sullo stesso campione non varino oltre quanto accade sul singolo strumento. Per valutare quanto le variazioni siano casuali ed indipendenti dallo strumento utilizzato si può utilizzare il metodo statistico di Bland-Altman [126]. E' importante che il campione utilizzato per la verifica dell'allineamento sia un campione urinario con una concentrazione intermedia di soluti e di elementi corpuscolati.

Traguardi analitici: per traguardi analitici si intendono quelle performance di precisione espresse in CV che devono essere raggiunte in relazione alla variabilità biologica. Fraser ha schematicamente distinto la performance analitica ottenuta in: ottimale, desiderabile, soddisfacente, non soddisfacente. Per poter ottenere questo, la precisione analitica del nostro metodo deve essere tale da non influenzare l'interpretazione clinica del dato. Infatti la precisione necessaria e quindi posta come traguardo, è rapportata alla variabilità biologica; nel caso dell'ECMU, tali traguardi non risultano in modo univoco [116-125].

La VEQ risponde all'esigenza di verificare l'esattezza della misura analitica, rispetto ad un valore vero (ottenuto con metodi di riferimento) o di consenso (risultante cioè da quello determinato da tutti gli utilizzatori con lo stesso metodo o con metodi diversi).

Da qualche anno sono disponibili programmi di VEQ per la quasi totalità degli analiti del profilo biochimico, sia in fase liquida che su dipstick; è anche attiva una VEQ per il sedimento urinario, basata sull'interpretazione di immagini degli elementi corpuscolati, per alcuni dei quali è richiesta una correlazione clinica; nel programma annuale è prevista anche la valutazione di un caso clinico. Nella risposta vengono forniti commenti esaustivi sul significato clinico di ogni elemento proposto; l'analisi delle risposte raccolte in più di un decennio di esperienza su questo tipo di VEQ ne ha mostrato la grande utilità anche in termini educazionali. A tutt'oggi non è ancora disponibile una VEQ per il sedimento automatizzato: vi sono infatti difficoltà ad approntare un materiale tale da garantire la

stabilità e l'integrità morfologica degli elementi in esame e che risulti idoneo all'analisi con tutti i sistemi disponibili sul mercato che utilizzano tecnologie molto diverse tra loro [121,123-125] .

Raccomandazioni:

E' fortemente raccomandato:

- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto alla ECMU sia per la componente chimica che morfologica***113-118
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo.***

L'ECMU : livelli diagnostici

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

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

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

Raccomandazioni:

- ***E' fortemente raccomandato che il livello diagnostico sia in stretta relazione con la tipologia di pazienti valutata, permettendo una diagnosi efficace delle patologie riscontrabili con maggiore frequenza ed un corretto indirizzo di quelle più rare o complesse ad un opportuno approfondimento da effettuarsi***

presso strutture di livello più elevato per disponibilità di attrezzature, di competenze specialistiche e di procedure adottate.

Livello I :

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

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

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

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

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

Raccomandazioni

- ***E' fortemente raccomandata la lettura strumentale della striscia reattiva per eliminare la soggettività nella valutazione della reazione cromatica e la stampa o memorizzazione automatica dei risultati.***
- ***Non è raccomandabile questo livello al letto del paziente nei reparti degli Ospedali dove risulti attivo un Servizio di Medicina di Laboratorio h 24.***
- ***E' raccomandato che la valenza analitica di questo livello sia solo di supporto al sospetto clinico.Laddove l'esito risulti discordante è opportuno che non abbia valore definitivo ma che indirizzi ad ulteriori indagini.***

- ***E' raccomandata la presenza delle tabelle degli interferenti con i test utilizzati nella striscia reattiva per facilitare la comprensione dei risultati, soprattutto quelli inattesi, ed eliminare incertezze nella valutazione del dato.***
- ***E' raccomandata l'archiviazione dei risultati dei test eseguiti: per poterli rivalutare alla luce di modificate condizioni cliniche, per consentire il confronto di esiti successivi, per poter documentare l'attività svolta.***

Livello II:

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

E' raccomandato venga espresso il giudizio di idoneità del campione circa la corretta esecuzione della fase preanalitica relativamente a preparazione del paziente, raccolta, volume, identificazione, tempo e temperatura di conservazione, sicurezza biologica per gli operatori [7-12,27,29,126-133].

Durante la fase analitica è raccomandata la verifica dell'assenza di contaminanti fecali (fibre vegetali o carnee) e genitali (cellule vaginali, spermatozoi); questi elementi sono legati ad una contaminazione non evidente ad occhio nudo ma rilevata da reperti nella componente corpuscolata.[7-12,27,29,126-133].

A questo proposito e' opportuno raccomandare che nella refertazione si evitino sia le omissioni circa la contaminazione, che potrebbero dar luogo ad inopportuni allarmi per una patologia urinaria in realtà inesistente (come nel caso di positività per proteine, leucociti, emazie e batteri presenti nel materiale contaminante), sia le espressioni legate alla natura del contaminante stesso (ad es. spermatozoi), limitandosi ad inserire un commento del tipo: "campione non idoneo per evidente contaminazione, si consiglia di ripetere la raccolta attenendosi alle modalità prescritte dal Laboratorio". Nel caso di parassiti intestinali patogeni, questi vanno segnalati insieme alla contaminazione perché legati ad una evidente parassitosi di cui il curante deve essere messo a conoscenza [7-12,27,29,111-113].

Il criterio di idoneità analitica del campione vale anche per tutti i livelli superiori mentre non risulta praticabile per il Livello I con sola striscia reattiva [7-12,27,29,111-113, 126-133].

✓ All'esame chimico deve essere sempre associata la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata (o su analizzatori automatizzati o in microscopia standardizzata).

Il Laboratorio deve risolvere le possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici [7-12,27,29,113].

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

- ✓ Deve essere attuato un adeguato programma per il controllo e la verifica della qualità analitica [7-12].
- ✓ In conformità con i documenti dei maggiori organismi per la promozione della qualità e della standardizzazione devono essere valutati i seguenti parametri [7-12,27,29,109-111].

- Parametri irrinunciabili e di indubbia utilità: proteine/albumina, creatinina, densità relativa / conduttività, emoglobina, pH.

-Parametri utili e di verifica per il Laboratorio: nitriti, esterasi, ascorbato.

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

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

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

L'espressione dei parametri morfologici in termini di concentrazione impone la definizione di valori di riferimento. Trattandosi di indicatori di lesione, devono esprimere il solo limite superiore (URL) di norma riferito al 95° percentile

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

Rispetto all'esame eseguito al Livello I è possibile acquisire una quota significativa (tra il 12 e 30%) di informazioni aggiuntive relative alla frazione corpuscolata, che il solo esame

su striscia reattiva non è in grado di fornire (ad es. cilindri, miceti, cellule tubulari, contaminanti etc).[7-9,24,31-33,117].

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

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

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

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

L'utilizzo esclusivo dell'esame microscopico della frazione corpuscolata è raccomandato solo per routine di ridotta entità, nei casi in cui il tempo impiegato per l'allestimento dei preparati non pregiudichi la conservazione e l'integrità del campione [109,133].

Nelle routine medio-alte sono raccomandati software esperti in grado di rendere agevole il rilascio veloce dei risultati non patologici e/o congruenti, la gestione delle possibili discordanze tra l'esame chimico e morfologico, l'inserimento di commenti preordinati per le situazioni di frequente riscontro, la selezione dei casi per i quali sia richiesto un più elevato livello per l'approfondimento specialistico laddove possibile e/o necessario [109, 133].

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

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***il giudizio di idoneità del campione***
- ***l'associazione tra l'esame chimico e la valutazione della morfologia della frazione corpuscolata***
- ***la risoluzione, da parte del Laboratorio delle possibili discordanze tra parametri chimici e corrispettivi morfologici***
- ***l'esecuzione di quei parametri fisico-chimici di utilità sia diagnostica che per la pratica di Laboratorio***
- ***che emazie, leucociti, cellule epiteliali, cilindri siano espressi in concentrazione***
- ***l'utilizzo di analizzatori automatici sia per la componente chimica che corpuscolata in routine di media/alta entità***
- ***l'utilizzo di software esperti per il trattamento dei dati ed il collegamento delle strumentazioni al LIS***
- ***che laddove la complessità del caso superi le possibilità diagnostiche di questo livello siano prescritti approfondimenti di livello superiore***
- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità, secondo programmi annuali che tengano conto delle strumentazioni, delle procedure e del personale addetto alla ECMU sia per la componente chimica che morfologica.113-118***
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo.***

Livello III

E' l'approccio specialistico avanzato di Laboratorio: per le tecnologie utilizzate, per la standardizzazione del processo, per le competenze e la pratica degli operatori esprime il più alto livello riferibile all'ECMU; esso prevede [7-9,24,31-33].

- un impegno tecnologico e professionale rilevante,

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

Si raccomanda che l'esame chimico venga eseguito su analizzatori automatizzati con elevato controllo del processo e della qualità analitica e che l'esame della frazione corpuscolata venga eseguito su urina nativa da un analizzatore automatizzato, con produzione di allarmi e segnalazioni che permettano la selezione di casi per gli approfondimenti necessari su base analitica e su base clinica, a cui far seguire la produzione di un commento interpretativo. Sotto il profilo analitico è raccomandato che la misura dell'albuminuria sia accurata e precisa e rapportata alla creatinina urinaria, per la crescente importanza di questo parametro nella valutazione del danno e della funzione renale [7-9,24,31-33].

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

Proteinurie: dosaggio quantitativo di albumina e proteine specifiche.

Cristallurie : microscopio a contrasto di fase e con filtro polarizzato, pHmetria

Ematurie : camere di conta specifiche (FuchsRosenthal).

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

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

Sistemi di registrazione ed archiviazione delle immagini.

Agli operatori già previsti nel II livello vengono richieste competenze professionali che devono prevedere, oltre al riconoscimento morfologico degli elementi comunemente riscontrabili nella routine, la segnalazione della presenza di elementi patologici di non frequente riscontro e la possibilità di effettuare o proporre nella stessa sede l'approfondimento morfologico/ biochimico necessario. In particolare per il III livello morfologico è richiesta la capacità di effettuare una valutazione del quadro microscopico

relazionandolo ad un quadro sindromico laddove richiesto dal clinico o dalla gravità del caso [7-9,24,31-33]. Vedi tabella 8.

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

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

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

- ***una dotazione strumentale che permetta il dosaggio quantitativo di albumina urinaria con sensibilità analitica rapportata alle crescenti esigenze cliniche.***
- ***una dotazione microscopica con contrasto di fase, luce polarizzata, luce trasmessa, archiviazione di immagini.***
- ***l'utilizzo di camere di conta microscopica per le necessarie verifiche e/o approfondimenti.***
che le competenze professionali siano attestate da un percorso formativo-esperenziale, da adeguato aggiornamento e da programmi di verifica della competenza gestiti da enti terzi.
- ***che il Laboratorio esegua il controllo di qualità interno, l'allineamento delle strumentazioni, la verifica esterna di qualità dell' ECMU secondo programmi annuali definiti. 113-118***
- ***che venga eseguito un proficiency test a cadenza periodica (tre/quattro volte l'anno) per valutare la competenza del personale in ambito morfologico ed interpretativo.***

Sono raccomandati:

- ***l'uso di un piaccmetro per le tutte le misurazioni rilevanti analiticamente o clinicamente.***

- ***l'uso di reattivi per rilevare immunologicamente l'emoglobinuria in assenza di ematuria.***

Livello IV

Il quarto livello esprime in modo efficace l'interazione tra medicina clinica e di Laboratorio finalizzata ad uno specifico quesito diagnostico; in questo caso non siamo più di fronte ad un esame schematicamente preordinato, ma ad un accertamento modulato sulle esigenze diagnostiche del paziente ed in base ad una forte interazione con il clinico ed ev. anche con il paziente. E' infatti una indagine diagnostica che procede con l'anamnesi, la raccolta del campione con le modalità, l'esame del campione teso a valorizzare i caratteri patognomonici e gli elementi di diagnostica differenziale su base microscopica e/o strumentale, per concludersi con un referto interpretativo ed un'indicazione clinica [7-9,24,31-33].

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

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

Esempi di Quesiti per il IV Livello

Origine dell'ematuria : ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali; espressione in percentuale delle due popolazioni eritrocitarie, isomorfiche e dismorfiche; e,

nell'ambito di queste ultime, il riconoscimento degli acantociti, che correlano con la presenza di ematuria di origine glomerulare; ricerca di altri elementi caratterizzanti (cilindri ematici, altre tipologie di cilindri, cellule tubulari, cellule dell'epitelio transizionale, cristalli ecc); eventuale dosaggio di albumina/creatinina e/o proteine/creatinina in caso di ematuria glomerulare, eventuale dosaggio dell' α -2-macroglobulina per confermare una ematuria post-glomerulare, eventuale classificazione dell'ematuria (glomerulare/non glomerulare/mista); emissione di un referto commentato.

Origine della proteinuria [pre renale, renale (glomerulare/tubulare/mista) post renale; ECMU con dipstick, diagnostico solo per albuminuria, in minima parte per alcune proteine tubulari, mai per la proteinuria di Bence Jones. L'ECMU con misurazione della PCR: se < 200 mg/g si conclude per proteinuria nella norma. Se PCR > 200 mg/g caratterizzare la proteinuria mediante elettroforesi delle urine e dosaggio di proteine specifiche a cascata: Albumina, α -1-microglobulina, Transferrina, IgG, catene leggere Kappa e Lambda.

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

IVU di difficile inquadramento e/o trattamento: ECMU; valutazione immagini/grafici/scatter/parametri strumentali, con particolare riguardo ai valori di leucociti e batteri; esame microscopico, con ricerca degli elementi significativi utili a confermare e connotare la presenza di IVU e ad escludere una contaminazione (emazie, cilindri leucocitari e batterici, macrofagi, cellule epiteliali squamose, muco ecc); emissione di un referto commentato¹¹⁸.

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

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

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

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

Raccomandazioni

Sono fortemente raccomandati:

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

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

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

L'esame morfologico deve essere sempre effettuato a partire dal livello II. Non è ammissibile la pratica di decidere se eseguire o meno l'esame morfologico sulla base dei risultati dell'esame chimico-fisico e della casistica esaminata in quanto esporrebbe il

Laboratorio ad un numero eccessivo di falsi negativi e ridurrebbe notevolmente l'efficacia diagnostica del test.

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

Raccomandazioni conclusive

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

- ***Migliorare e standardizzare l'approccio analitico all'ECMU della urine con il presupposto di una raccolta ed di un processo preanalitico ben condotto.***
- ***Sottolineare il valore aggiunto, in termini di informazioni e standardizzazione metodologica, delle nuove tecnologie (citofluorimetria urinaria, cattura digitale di immagini, microscopia automatizzata) adottate dagli analizzatori per lo studio della morfologia della frazione corpuscolata delle urine.***
- ***Ricondurre ai soli elementi utili clinicamente o necessari alla pratica analitica i parametri misurati e proposti alla refertazione.***
- ***Migliorare l'analisi chimica delle urine; in particolare, il dosaggio dell'albumina dovrebbe essere effettuato con metodo immunoturbidimetrico ed il risultato dovrebbe essere espresso in rapporto ad indicatori di concentrazione urinaria quali la creatinina, permettendo, attraverso la normalizzazione, una valutazione più attendibile del risultato ed in linea con le esigenze cliniche.***
- ***Aumentare la consapevolezza dell'importanza delle competenze professionali nel campo della morfologia urinaria e delle loro relazioni con la clinica.***
- ***Disporre delle basilari dotazioni tecnologiche per la microscopia a contrasto di fase e a luce polarizzata per valutare adeguatamente elementi di indubbio rilievo clinico: cellule, cilindri, lipidi, cristalli etc.***

- ***Attuare una politica di verifica della qualità analitica che oltre ai tradizionali controlli interni ed esterni preveda un programma per la valutazione della competenza morfologica.***
- ***Misurare ed esprimere in termini quantitativi sia i parametri fisico chimici sia principali elementi corpuscolati.***
- ***Approfondire l'analisi compiuta, ove necessario, con ulteriori indagini fisico, chimiche e morfologiche che permettano di risolvere eventuali incongruenze analitiche o di orientare in maniera più sicura il percorso diagnostico-terapeutico del paziente.***
- ***Stimolare l'industria diagnostica a concentrare gli sforzi di ricerca e messa a punto metodologica e strumentale per aderire alle esigenze clinico-diagnostiche.***

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

Dichiarazione Conflitto di Interessi

Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse

Dichiarazione Etica

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

TABELLA1: PRINCIPALI ALTERAZIONI DEL COLORE DELLE URINE E LORO POSSIBILI CAUSE

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

TABELLA 2: VALUTAZIONE COMPARATIVA DELLA SENSIBILITA' ANALITICA DI ALCUNE STRISCE REATTIVE DEL COMMERCIO

Striscia Reattiva	Albumina	Glucosio	Emazie Emoglobina	Esterasi	Nitriti	Chetoni
AimStick	15 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.3 mg/dL	5 WBC/ μ L	0.09 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 48 mg/dL
AutionSticks	15 mg/dL	50 mg/dL	20 RBC/ μ L 0.06 mg/dL	5 WBC/ μ L	0.09 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Chemistrip	6 mg/dL	40 mg/dL	5 RBC/ μ L -	20 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 9 mg/dL Ac 70 mg/dL
CombiScreen plus	15 mg/dL	40 mg/dL	5 RBC/ μ L -	10 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 50 mg/dL
DiaScreen	5 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.02 mg/dL	20 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Dirui Serie H	15 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/ μ L -	5 WBC/ μ L		Ad 0.5 mmol/LL -
MediTest C9	30 mg/dL	50 mg/dL	10 RBC/ μ L -	-	0.05 mg/dL	- -
Mission	18 mg/dL	25 mg/dL	- 0.018 mg/dL	9 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 2.5 mg/dL -
Multistix	15 mg/dL	75 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.015 mg/dL	5 WBC/ μ L	0.06 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Self Stick	5 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/ μ L -	-	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 100 mg/dL
Uriflet S2	5 mg/dL	10 mg/dL	10 RBC/ μ L 0.03 mg/dL	20 WBC/ μ L	0.08 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
Uriscan	10 mg/dL	50 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.015 mg/dL	2 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 70 mg/dL
Uritest 13G	10 mg/dL	40 mg/dL	- 0.3 mg/dL	15 WBC/ μ L	0.06 mg/dL	Ad 0.5 mmol/L
Uro-Dip 10C	-	100 mg/dL	- 0.05 mg/dL	-	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 100 mg/dL
Uropaper alfa 3-9L	15 mg/L	50 mg/dL	10 RBC/ μ L 0.3 mg/dL	25 WBC/ μ L	0.1 mg/dL	Ad 10 mg/dL -
URS	15 mg/L	100 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.3 mg/dL	10 WBC/ μ L	0.075 mg/dL	Ad 5 mg/dL -
vChem	15 mg/L	45 mg/dL	5 RBC/ μ L 0.2 mg/dL	20 WBC/ μ L	0.05 mg/dL	Ad 5 mg/dL Ac 48 mg/dL

La tabella riporta i dati della sensibilità analitica relativamente ai seguenti parametri: Albumina (mg/dL) Glucosio (mg/dL) , Emazie (RBC/ μ L) ed Emoglobina (mg/dL), Esterasi (WBC/ μ L), Nitriti (mg/dL), Chetoni mg/dL (Ad: acido beta idrossibutirrico, Ac:acido aceto--acetico)
Modificata Da Graff' Textbook of Urinalysis and body Fluids II eds. Mundt L, Shanani K. Lippincott Williams and Wilkins 2010 [32]

TABELLA 3: PRINCIPALI INTERFERENTI CON I DIP-STIK

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

TABELLA 4: TECNICHE DI VISIONE MICROSCOPICA PER IDENTIFICARE E QUANTIFICARE GLI ELEMENTI PARTICOLATI DELLE URINE.

1. Metodi Rapidi: Microscopia estemporanea del campione nativo (livello 1)

2. Metodi di Routine: Esame microscopico standardizzato del sedimento (livello 2)

3. Metodi di Comparazione: Conta degli elementi corpuscolati delle urine in camera citometrica effettuata su campione non centrifugato (centrifugazione opportuna in situazioni in cui è importante ricercare elementi di particolare rilievo clinico, ad esempio: cilindri eritrocitari). Valutazione della flora batterica dopo centrifugazione fissazione e colorazione secondo Gram. (livello III)

4. Metodo di Riferimento: Conta di WBC RBC, cellule epiteliali e cilindri in camera citologia secondo raccomandazione ISLH (livello IV)

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

TABELLA 5: ELEMENTI CORPUSCOLATI NELLE URINE E PRINCIPALI ASSOCIAZIONI CLINICHE

ELEMENTI PRINCIPALI	PRINCIPALI ASSOCIAZIONI CLINICHE
Eritrociti dismorfici e acantociti	Ematuria glomerulare
Eritrociti isomorfi	Ematuria non glomerulare
Leucociti polimorfonucleati	Infezioni urinarie Glomerulonefriti proliferative Nefriti interstiziali acute Contaminazione da secrezioni genitali
Cellule epiteliali renali tubulari	Patologie renali associate a danno tubulare organico (=necrosi tubulare acuta), quali si possono osservare nelle nefropatie tubulotossiche, ischemiche, glomerulonefriti, nefriti intersitiziali ecc.
Cellule transizionali superficiali	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (<u>strati cellulari superficiali</u>)
Cellule transizionali profonde	Patologie associate a danno dell'epitelio di transizione (<u>strati cellulari profondi</u>)
Cellule squamose	Contaminazione da secrezioni generali
Lipidi	Patologie glomerulari associate a proteinuria di grado variabile, ma soprattutto di entità nefrosica.
Cilindri ialini	Soggetto normale (in quantità variabile, isolati o in associazione con cilindri ialino-granulosi). Patologie renali (in associazioni con cilindri patologici)

Cilindri ialino-granulosi	Soggetto normale (in quantità variabile, isolati o in associazione con cilindri ialini). Patologie renali (in associazioni con cilindri patologici).
Cilindri granulosi	Patologie renali Necrosi tubulare acuta
Cilindri cerei	Patologia renale associata ad insufficienza funzionale
Cilindri lipidici	Sindrome nefrosica
Cilindri eritrocitari	Patologia renale acuta, soprattutto glomerulonefriti proliferative e/o necrotizzanti
Cilindri leucocitari	Nefrite interstiziale acuta Pielonefrite acuta Glomerulonefrite proliferativa
Cilindri epiteliali (cellule epiteliali renali tubulari)	Necrosi tubulare acuta Nefrite interstiziale acuta Glomerulonefriti
Cilindri emoglobinici	Patologia renale acuta, soprattutto glomerulonefriti proliferative e/o necrotizzanti Emolisi acuta intravascolare
Cilindri mioglobinici	Rabdomiolisi
Cilindri bilirubinici	Ittero
Cilindri con inclusi batterici o micotici	Infezioni batteriche o micotiche del rene
Cilindri con inclusioni cristalline	Insufficienza renale acuta associata a precipitazione intrarenale (tubulare) di cristalli Nefrolitiasi recidivante
Cilindri a composizione mista	

Modificata Da Graff' Textbook of Urinalysis and body Fluids II eds. Mundt L, Shanani K. Lippincott Williams and Wilkins 2010 [32]

Modificata Da Fogazzi GB e Garigali G Urinalysis. In Johnson R, Feehally J, Floege J Comprehensive Clinical Nephrology 5th edition pp 39-52. Elsevier 2015 [78]

TABELLA 6: CLASSIFICAZIONE DELLE PRINCIPALI CAUSE DI EMATURIA

Cause Urologiche	Cause non Urologiche	Falsa Ematuria
Cistite emorragica	Nefrite interstiziale acuta	Colorazione da Farmaci
Calcolosi	Da anticoagulanti	Colorazione da Alimenti
Neoplasie delle vie urinarie		Mioglobinuria
Traumatismi		Emoglobinuria
Rottura cisti renali		
Manovre diagnostiche invasive		

TABELLA 7: COMPETENZE MORFOLOGICHE INDISPENSABILI PER IL SECONDO LIVELLO DIAGNOSTICO

- Corretta identificazione di Leucociti,

- Corretta identificazione degli Eritrociti,

- Corretta identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione tra Cellule Squamose e non squamose

- Corretta identificazione dei Cilindri e differenziazione tra Cilindri Ialini e non Ialini

- Identificazione di Batteri, Lieviti, Protozoi, uova di parassiti

- Identificazione dei Cristalli più comuni: Urati, Ossalati, Fosfato, Cistina

- Identificazione dei principali contaminanti: nemasperi, peli, artefatti, fibre, amido, materiale fecale.

TABELLA 8: COMPETENZE MORFOLOGICHE INDISPENSABILI PER IL TERZO LIVELLO DIAGNOSTICO

- Identificazione dei leucociti: differenziazione tra granulociti, linfociti, macrofagi

- Identificazione degli eritrociti, connotando l'eventuale dismorfismo

- Identificazione delle cellule di sfaldamento con differenziazione oltre che tra cellule squamose e non squamose, di cellule transizionali (superficiali e profonde) e cellule tubulari .

- Identificazione delle varie tipologie di cilindri: ialini, granulosi, leucocitari, eritrocitari, cerei, lipidici, pigmentati (bilirubinici, mioglobinici, emoglobinici)

- Morfologia dei batteri presenti: cocchi, bastoncelli etc, morfologia dei miceti: lieviti, ife etc., identificazione di protozoi, parassiti e loro uova

- Identificazione dei cristalli di più frequente riscontro: ossalati, urati, fosfato, triplo fosfato, colesterolo, farmaci, cistina, leucina.

- Identificazione dei principali contaminanti endogeni: nemasperi, materiale fecale , ed esogeni : peli, fibre vegetali, tessili, pollini, amido, polveri aspersorie, materiale plastico, vetroso, cartaceo.

- Corretta identificazione dei lipidi: gocce, corpi ovali grassi.

- Identificazione presuntiva di cellule patologiche ad es. cellule di origine vaginale, cellule neoplastiche, enterociti etc.

Bibliografia

1. Grilli R, Penna A, Zola P, Liberati A. Physician's view of practice guidelines. *SocSci med* 1996;43:1283-87.
2. Formoso G, Liberati A, Magrini N. Practice guidelines: useful and «participative» method? Survey of Italian physicians by professional setting. *Arch Int Med* 2001;161:2037-42.
3. Burnand B. Clinical practice guidelines. A public health perspective. *European Journal of Public Health* 1999; 9:83-85.
4. Coomarasamy A. Searching for evidence to inform clinical practice. *Current Obstetrics & Gynaecology* 2004;14:142-6.
5. Lilford R, Richardson A, Stevens A, et al. Issues in methodological research: perspectives from researchers and commissioners. *Health Technol Assess* 2001;15:1-57.
6. Grilli R. AGREE uno strumento per la valutazione della qualità delle linee guida. Dossier 60 Bologna. Agenzia Sanitaria Regionale dell'Emilia-Romagna 2002.
7. ECLM - *European Urinalysis Guidelines*. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60:1-96.
8. CLSI GP-16 A3 Urinalysis and Collection, transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline – third Edition vol.29; n4:4-21, 2009.
9. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A National Clinical Guideline. Edinburgh (Scotland), Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN); July 2006. SIGN publication n. 88.
10. Kuori T, Gyory A, Rowan M. ISLH recommended reference procedure for the enumeration of particles in urine. *Lab Hematol* 2003;9:58-63.
11. Linea Guida Regione Emilia Romagna. Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Dossier 190-2010
12. British Columbia Health Service Guidelines for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. Maggio 2005 www.healthservices.gov.bc.ca/msp/protoguides
13. Atkins D, Best D, Briss P, et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004; 328:1490-5.
14. Guyatt G, Gutterman D, Baumann MH, et al. Grading strength of recommendations and quality of evidence in clinical guidelines: report from American College of chest physicians task force. *Chest* 2006; 129:174-81.
15. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int* 2011;80:17-28. *Kidney Int*.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of chronic kidney disease and associated risk factors – United States, 1999-2004. *MMWR Morb Mortal Weekly Rep* 2007;56(8):161-5. www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5608a2
17. Zoccali C, Kramer A, Jager KJ. Chronic kidney disease and end-stage renal disease – a review produced to contribute to the report “the status of health in the European union: towards a healthier Europe”. *NDT Plus* 2010;3:213-24.
18. Gambaro G, Yabarek T, Graziani MS, et al. Prevalence of CKD in northeastern Italy: results of the INCIPE study and comparison with NHANES. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1946-53.
19. Chacko KM, Feinberg LE. Laboratory screening at preventive health exams: trend of testing, 1978-2004. *Am J Prev Med.* 2007;32:59-62.
20. Woolhandler S, Pels RJ, Bor DH, et al. Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders. I. Hematuria and proteinuria. *JAMA.* 1989;262:1214-9.

21. Pels RJ, Bor DH, Woolhandler S, et al. Dipstick urinalysis screening of asymptomatic adults for urinary tract disorders II Bacteriuria. *JAMA*. 1989;262:1221-4.
22. Yuno T, Hisada Y, Nishimura Y. A review of urinary examination--what medical practice expects now and what urinary examinations have to provide in the future. *RinshoByori*. 2013;61:622-8.
23. Cho BS, Hahn WH, Cheong HI, et al. A nationwide study of mass urine screening tests on Korean school children and implications for chronic kidney disease management. *ClinExpNephrol*. 2013;17:205-10.
24. Brunzel N. *Fundamentals of Urine & Body Fluid Analysis*. Elsevier 3th ed. 2013.
25. Prochazka AV, Lundahl K, Pearson W, et al. Support of evidence-based guidelines for the annual physical examination: a survey of primary care providers. *Arch Intern Med*. 2005;165:1347-52.
26. Simerville J, Maxted W, Pahira J. Urinalysis: A Comprehensive Review. *Am Fam Physician* 2005;71:1153-62.
27. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, et al. Preanalytical quality improvement: in quality we trust. *ClinChem Lab Med*. 2013;51:229-41.
28. McNulty CA, Thomas M, Bowen J, et al. Improving the appropriateness of laboratory submissions for urinalysis from general practice. *FamPract*. 2008;25:272-8.
29. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG, et al. Mid-stream vs first-voided urine collection by using automated analyzers for particle examination in healthy subjects: an Italian multi center study. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2011;50:679-84.
30. Rao PK, Gao T, Pohl M, Jones JS. Dipstick pseudohematuria: unnecessary consultation and evaluation. *J Urol*. 2010;183:560-4.
31. Mc Bride L. *Textbook of Urinalysis and Body Fluids: A Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins 1997
32. Kanbay M, Kasapoglu B, Perazella MA. Acute tubular necrosis and pre-renal acute kidney injury: utility of urine microscopy in their evaluation- a systematic review. *IntUrolNephrol*. 2010;42:425-33.
33. Perazella MA, Coca SG, Hall IE, et al. Urine microscopy is associated with severity and worsening of acute kidney injury in hospitalized patients. *Clin J Am SocNephrol*. 2010;5:402-8.
34. Mundt L, Shanahan K. *Graff's Textbook of Urinalysis and Body Fluids*. Lippincott, Williams & Wilkins 2011.
35. Ross D, Neely A. *Textbook of Urinalysis and Body Fluids*. Appleton & Lange 1982.
36. Braeckman L, Haak E, Peremans L. Routine dipstick urinalysis in daily practice of Belgian occupational physicians. *Arch Public Health*. 2012;70:1-15.
37. Rigby D, Gray K. Understanding urine testing. *Nurs Times*. 2005;101:60-2.
38. Berry J. Microalbuminuria testing in diabetes: is a dipstick as effective as laboratory tests? *Br J Community Nurs*. 2003;8:267-73.
39. Patel HD, Livsey SA, Swann RA, et al. Can urine dipstick testing for urinary tract infection at point of care reduce laboratory workload? *J ClinPathol*. 2005;58:951-4.
40. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International Supplements*. March 2012 Volume 2 Issue 1.
41. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the evaluation and management chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*. January 2013 Volume 3 Issue 1.
42. Ruggenti P, Porrini E, Motterlini N, et al. Measurable Urinary Albumin Predicts Cardiovascular Risk among Normoalbuminuric Patients with Type 2 Diabetes. *J Am SocNephrol* 2012; 23:1717–1724.
43. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). 2013

- ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *Journal of Hypertension* 2013; 31:1281–1357.
44. Graziani M, Lo Cascio C, Caldini A, et al. Indagine conoscitiva sulla determinazione quantitativa della albumina nelle urine nei laboratori italiani. *Biochimica Clinica* 2007;31:290-296.
 45. Graziani M, Caldini A per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Diabete Mellito. Indicazioni per la misura dell'albumina nelle urine per l'accertamento e il monitoraggio della nefropatia diabetica. *Biochimica Clinica* 2011;35:127-130.
 46. Turchetti E, Fasi R, *Elementi di Fisica*, 1^a ed., Zanichelli, 1998.
 47. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, et al. Laboratory diagnosis of renal failure: urine conductivity and tubular function. *Minerva UrolNefrol.* 2009;61:17-20.
 48. Wang JM, Wen CY, Lin CY, et al. Evaluating the performance of urine conductivity as screening for early stage chronic kidney disease. *Clin Lab.* 2014;60:635-43.
 49. Fazil Marickar YM. Electrical conductivity and total dissolved solids in urine. *Urol Res.* 2010;38:233-5.
 50. Sing RI, Singal RK. What is significant hematuria for the primary care physician? *Can J Urol.* 2012 Oct;19 Suppl 1:36-41.
 51. Higashihara E, Nishiyama T, Horie S, et al. Hematuria: definition and screening test methods. *Int J Urol.* 2008 ;15:281-4.
 52. McDonald MM, Swagerty D, Wetzel L. Assessment of microscopic hematuria in adults. *Am Fam Physician.* 2006 May 15;73:1748-54.
 53. Cohen RA, Brown RS. Clinical practice. Microscopic hematuria. *N Engl J Med.* 2003;348:2330-8.
 54. Ma J, Wang C, Yue J, et al. Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. *Clin Lab.* 2013;59:1297-303.
 55. Boven LA, Kemperman H, Demir A. A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. *ClinChem Lab Med.* 2012;50:751-3.
 56. Khasriya R, Khan S, Lunawat R, et al. The inadequacy of urinary dipstick and microscopy as surrogate markers of urinary tract infection in urological outpatients with lower urinary tract symptoms without acute frequency and dysuria. *J Urol.* 2010;183:1843-7.
 57. Aspevall O, Hallander H, Gant V, et al. European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. *ClinMicrobiol Infect.* 2001;7:173-8.
 58. Marschal M, Wienke M, Hoering S, et al. Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. *DiagnMicrobiol Infect Dis.* 2012;72:125-30.
 59. Kouri T, Malminiemi O, Penders J, et al. Limits of preservation of samples for urine strip tests and particle counting. *ClinChem Lab Med.* 2008;46:703-13.
 60. Fabbro C, Darolles J, Rault JP. Preservation of urine samples for UF 1000i analysis. *Ann BiolClin (Paris).* 2011;69:588-92.
 61. Komarova O, van der Meer W, Levchenko E, et al. Effective chemical preservation of morphology of urinary erythrocytes. *PediatrNephrol.* 2003;18:665-6.
 62. Kouri T, Vuotari L, Pohjavaara S, et al. Preservation of urine for flow cytometric and visual microscopic testing. *Clin Chem.* 2002;48:900-5.
 63. del Rosario-Rodríguez M, Rodríguez-Moreno I, León MT, et al. A new chemical preservative that permits analysis of urine sediment for light microscopic examination 12 h after emission. *Nephron.* 1999;82:65-71.

64. Mody L, Juthani-Mehta M. Urinary tract infections in older women: a clinical review. *JAMA*. 2014;311:844-54.
65. Sundvall PD, Gunnarsson RK. Evaluation of dipstick analysis among elderly residents to detect bacteriuria: a cross-sectional study in 32 nursing homes. *BMC Geriatr*. 2009;9:32-8.
66. Kodikara H, Seneviratne H, Kaluarachchi A, Corea E. Diagnostic accuracy of nitrite dipstick testing for the detection of bacteriuria of pregnancy. *Public Health*. 2009;123:393-4.
67. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes – 2015. *Diabetes Care* 2015;38 suppl 1 S1-S94
68. Shivaraj G, Prakash B, Shruthi S, et al. Markers of renal function tests. *N Am J Med Sci*. 2010; 2: 170–173.
69. Edmund L, David J. Kidney function tests. In: Carl AB, Edward R, David E, editors. *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. New Delhi: ElsevierInc; 2006. pp. 797–808.
70. Arvind B, Anurag B, Shina M. Approach to Renal Tubular Disorders. *Indian Journal of Pediatrics* 2005;72: 771-776.
71. Fogazzi GB, Saglimbeni L, Banfi G, et al. Urinary sediment features in proliferative and non-proliferative glomerular diseases. *J Nephrol*. 2005;18:703-10.
72. Emerson JF, Emerson SS. Evaluation of a standardized procedure for microscopic cell counts in body fluids. *J Clin Lab Anal*. 2005;19:267-75.
73. Fogazzi GB, Grignani S. Urine microscopic analysis an art abandoned by nephrologists? *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:2485-7.
74. Fogazzi GB, Cameron JS. Urinary microscopy from the seventeenth century to the present day. *Kidney Int*. 1996;50:1058-68.
75. Fogazzi GB, Cameron JS. The introduction of urine microscopy into clinical practice. *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10:410-3.
76. Tsai JJ, Yeun JY, Kumar VA, et al. Comparison and interpretation of urinalysis performed by a nephrologist versus a hospital-based clinical laboratory. *Am J Kidney Dis*. 2005;46:820-9.
77. Fogazzi GB, Grignani S, Colucci P. Urinary microscopy as seen by nephrologists. *ClinChem Lab Med*. 1999;36:919-24.
78. Fogazzi GB, Garigali G “Urinalysis” in Johnson RJ et al, “Comprehensive Clinical Nephrology 5th edition”, Elsevier Saunders 2014.
79. Fogazzi GB. The Urinary Sediment” An Integrated View - Masson Third edition, 2010
80. Hisano S, Sasatomi Y, Kiyoshi Y, Takebayashi S. Macrophage subclasses and proliferation in childhood IgA glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*. 2001;37:712-9.
81. Shiozawa S. Participation of macrophages in glomerular sclerosis through the expression and activation of matrix metalloproteinases. *Pathol Int*. 2000;50:441-57.
82. Fogazzi GB, Ferrari B, Garigali G, et al.. Urinary sediment findings in acute interstitial nephritis. *Am J Kidney Dis*. 2012;60:330-2.
83. Spinelli D, Consonni D, Garigali G, et al. Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: results of a prospective study. *ClinChimActa*. 2013;424:47-52.
84. Henschkowski J, Vogt B. Crystalluria. *Ther Umsch*. 2006;63:591-4.
85. Baggio B, Giannossi ML, Medici L, et al. X-ray microdiffraction and urine: a new analysis method of crystalluria. *J XraySci Technol*. 2012;20:489-98.
86. van Noord C, Wulkan RW, van den Dorpel MA. Crystalluria. *Neth J Med*. 2012;70:84-87.
87. Verdesca S, Fogazzi GB, Garigali G, et al. Crystalluria: prevalence, different types of crystals and the role of infrared spectroscopy. *ClinChem Lab Med*. 2011;49:515-20.

88. Baumann JM, Affolter B, Meyer R. Crystal sedimentation and stone formation Urol Res. 2010;38:21-7.
89. Marickar YM, Salim A. Photmicrography of urinary deposits in stone clinic. Urol Res. 2009;37:359-68.
90. Fazil-Marickar YM, Lekshmi PR, Varma L, et al. Elemental distribution analysis of urinary crystals. Urol Res. 2009;37:277-82.
91. Daudon M, Jungers P, Lacour B. Clinical value of crystalluria study. Ann Biol Clin (Paris). 2004;62:379-93.
92. Gruppo di Studio Multidisciplinare per la Calcolosi Renale-Percorso diagnostico-terapeutico per il paziente con calcolosi urinaria –Giornale Italiano di Nefrologia Anno 27 N.3,2010,p.282-289
93. C. Scoffone, F. Zattoni Linee Guida 2009 Comitato SIU (Società Italiana di Urologia) Linee Guida.
94. Linee Guida per la CALCOLOSI DELLE VIE URINARIE 2007 AURO.it (Associazione Urologi Ospedalieri Italiani)
95. Goldfarb DS, Arowojolu O. Metabolic Evaluation of First-time and Recurrent Stone Formers Urol. Clin. North Am. 2013;40:13-20.
96. Bottini PV, Martinez MH, Garlipp CR. Urinalysis: comparison between microscopic analysis and a new automated microscopy image-based urine sediment instrument. Clin Lab. 2014;60:693-7.
97. Ma J, Wang C, Yue J, et al. Clinical laboratory urine analysis: comparison of the UriSed automated microscopic analyzer and the manual microscopy. Clin Lab. 2013;59:1297-303.
98. Yüksel H, Kiliç E, Ekinci A, et al. Comparison of fully automated urine sediment analyzers H800-FUS100 and LabUMat-UriSed with manual microscopy. J Clin Lab Anal. 2013;27:312-6.
99. Martinez MH, Bottini PV, Levy CE, et al. UriSed as a screening tool for presumptive diagnosis of urinary tract infection. Clin Chim Acta. 2013;21;425:77-9.
100. Boven LA, Kemperman H, Demir A. A comparative analysis of the Iris iQ200 with manual microscopy as a diagnostic tool for dysmorphic erythrocytes in urine. Clin Chem Lab Med. 2012;50:751-3
101. Zaman Z, Fogazzi GB, Garigali G, et al. Urine sediment analysis: Analytical and diagnostic performance of sediMAX - a new automated microscopy image-based urine sediment analyser. Clin Chim Acta. 2010;411:147-54.
102. Budak YU, Huysal K. Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. Clin Lab. 2011;57:47-52.
103. Akin OK, Serdar MA, Cizmeci Z, et al. Comparison of LabUMat-with-UriSed and iQ200 fully automatic urine sediment analysers with manual urine analysis. Biotechnol Appl Biochem. 2009;53:139-44.
104. Park J, Kim J. Evaluation of iQ200 automated urine microscopy analyzer. Korean J Lab Med. 2008;28:267-73.
105. Mayo S, Acevedo D, Quiñones-Torrelo C, et al. Clinical laboratory automated urinalysis: comparison among automated microscopy, flow cytometry, two test strips analyzers, and manual microscopic examination of the urine sediments. J Clin Lab Anal. 2008;22:262-70.
106. Chien TI, Kao JT, Liu HL, et al. Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy. Clin Chim Acta. 2007;384:28-34.
107. Linko S, Kouri TT, Toivonen E, et al. Analytical performance of the Iris iQ200 automated urine microscopy analyzer. Clin Chim Acta. 2006;372:54-64.

108. Du J, Xu J, Wang F, et al. Establishment and development of the personalized criteria for microscopic review following multiple automated routine urinalysis systems. *ClinChimActa*. 2015;444:221-228.
109. Xiang D, Cong Y, Wang C, et al. Development of microscopic review criteria by comparison urine flow cytometer, strip and manual microscopic examination. *Clin Lab*. 2012;58:979-85.
110. Fabbro C, Darolles J, Rault JP. Evaluation of the performances of the UF-1000i automated urine analyzer. *Ann BiolClin (Paris)*. 2011;69:431-9.
111. Budak YU, Huysal K. Comparison of three automated systems for urine chemistry and sediment analysis in routine laboratory practice. *Clin Lab*. 2011;57:47-52.
112. Kadkhoda K, Manickam K, Degagne P, et al. UF-1000i flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. *DiagnMicrobiol Infect Dis*. 2011;69:130-6.
113. Jiang T, Chen P, Ouyang J, et al. Urine particles analysis: performance evaluation of Sysmex UF-1000i and comparison among urine flow cytometer, dipstick, and visual microscopic examination. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011;71:30-7.
114. Manoni F, Tinello A, Fornasiero L, et al. Urine particle evaluation: a comparison between the UF-1000i and quantitative microscopy. *ClinChem Lab Med*. 2010;48:1107-11.
115. National Health Service. Evidence Review. Automated Urine Screening Systems. CAO 10030 March 2010
116. Westgard JO, Westgard SA. Quality control review: implementing a scientifically based quality control system. *Ann ClinBiochem*. 2016;53:32-50.
117. Harel O, Schisterman EF, Vexler A, et al. Monitoring quality control: can we get better data? *Epidemiology*. 2008;19:621-7.
118. Westgard JO. Design of internal quality control for reference value studies. *ClinChem Lab Med*. 2004;42:863-7.
119. Westgard JO. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Ann ClinBiochem*. 2003;40:593-611.
120. Westgard JO. The need for a system of quality standards for modern quality management. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59:483-6.
121. Ceriotti F, Plebani M, Secchiero S, et al. Linee guida per la gestione dei Programmi di Valutazione Esterna di Qualità. www.sibioc.it/C.
122. Ottomano C, Ceriotti F, Galeazzi M, et al. Linee guida per la gestione dei programmi di Controllo di Qualità Interno. *Biochimica Clinica* 2008; 32: 102-121
123. Schürer-Maly C, Wood WG, Falbo R, et al. An educational web-based external quality assessment outcome and evaluation: first experiences with urinary sediment and hemostaseology. *Clin Lab*. 2013;59:1061-9.
124. Wood WG, Schwarz P, Illigen D, et al. Experience with an alternative form of samples for external quality assessment of urinary sediment (visual sample EQA). *Clin Lab*. 2013;59:875-83.
125. Fogazzi GB, Secchiero S, Consonni D, et al. An Italian external quality assessment (EQA) program on urinary sediment. *ClinChim Acta*. 2010;411:859-67.
126. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;327 (8476): 307–10
127. Manoni F, Caleffi A, Gessoni G, et al. L'esame chimico, morfologico e colturale delle urine: proposta di linee guida per una procedura standardizzata della fase pre analitica. *Rivista Italiana di Medicina di Laboratorio* 2011;7: 25-35.
128. Manoni F, Gessoni G, Alessio MG, et al. Gender's equality in evaluation of urine particles: Results of a multicenter study of the Italian Urinalysis Group. *ClinChimActa*. 2014;427:1-5.

129. Manoni F, Gessoni G, Caleffi A, et al. Pediatric reference values for urine particles quantification by using automated flow cytometer: results of a multicenter study of Italian urinalysis group. ClinBiochem. 2013;46:1820-4.
130. Shayanfar N, Tobler U, von Eckardstein A, et al. Automated urinalysis: first experiences and a comparison between the Iris iQ200 urine microscopy system, the Sysmex UF-100 flow cytometer and manual microscopic particle counting. ClinChem Lab Med. 2007;45:1251-6.
131. Graziani MS, Gambaro G, Mantovani L, et al. Diagnostic accuracy of a reagent strip for assessing urinary albumin excretion in the general population. Nephrol Dial Transplant. 2009;24:1490-4.
132. Camporese A. L'evoluzione della citofluorimetria urinaria in microbiologia, da metodo di screening a insostituibile strumento per la validazione clinica dell'esame delle urine. Riv Ital Med Lab 2014;10:242-6
133. Caleffi A, Manoni F, Alessio MG, et al. Quality in extra analytical phases of urinalysis. Biochimica Medica 2010;20:179-83

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