L'esame chimico, morfologico e colturale delle urine: proposta di linea guida per una procedura standardizzata della fase preanalitica

Fabio Manoni[1], Alberta Caleffi[2], Gianluca Gessoni[3], Maria Grazia Alessio[4], Giuseppe Lippi[2], Sara Valverde[3], Cosimo Ottomano[4], Maria Grazia Silvestri[5], Piero Cappelletti[6], Mauro Ercolin[1], Michele Schinella[7], Graziella Saccani[8] per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Esame Urine

[1]Servizio di Medicina di Laboratorio Interospedaliero Este-Monselice, PD
[2]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Policlinico, Parma
[3]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Chioggia, VE
[4]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedali Riuniti, Bergamo
[5]Servizio di Medicina di Laboratorio, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna
[6]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale S. Maria degli Angeli, Pordenone
[7]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Rovereto, TN
[8]Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Bussolengo, VR

ABSTRACT

Chemical, morphological, and microbiological urine examination: a proposal of guidelines for standardization of preanalytical phase. A correct approach to the preanalytical phase of chemical, morphological, and microbiological urine examination should include accurate information about the patient preparation, together with recommendations for collection, handling, preservation, storage, and transportation of the specimen. Urinalysis should be performed when a specific clinical need is present. The recommended sample for urinalysis is the first morning urine collected by a voided midstream technique. Each clinical laboratory should make available to its stakeholders printed instructions (including illustrations, whenever possible) concerning the appropriate procedure for urine collection. The use of standard devices for collection and of an appropriate labelling system is recommended. Urinalysis should be performed as soon as possible after collection; if examination is delayed for >4 h, then the samples should be refrigerated. The preparation of adequate protocols for handling, transportation, and storage of samples is mandatory. It is necessary to transmit preanalytical information from sample collection sites to the laboratory performing tests. Description of the local skinless and of hierarchical level of urinalysis is also recommended. Finally, the occurrence of violations from the standard operating rules should always be recorded.

METODOLOGIA

Queste linee guida sono state sviluppate da un gruppo di professionisti di Medicina di Laboratorio: medici e tecnici componenti il Gruppo di Studio Intersocietario della Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL) e della SIBioC per l'Esame delle Urine (GSEU). Si tratta di un gruppo di professionisti impegnati a rivalutare l'importanza che l'esame delle urine riveste nella gerarchia dei repertori diagnostici dei laboratori clinici. In particolare, in queste linee guida si sono volute affrontare le problematiche relative alla fase preanalitica (richiesta, istruzioni per i pazienti, tipologia del campione, modalità di raccolta, gestione, trasporto e conservazione) sia per quanto concerne l'esame chimico, fisico e morfologico (ECMU), sia per quanto attiene la valutazione microbiologica mediante esame colturale delle urine (ECU). Sono state quindi identificate una serie di problematiche relative alla fase preanalitica 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 (1, 2): 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 (3). La

Corrispondenza a: Fabio Manoni, Servizio di Medicina di Laboratorio, Interospedaliero Este-Monselice, Via Guglielo Marconi 19, 35043 Monselice (PD). Tel. 0429788256, Fax 0429788560, E-mail fabio.manoni@ulss17.it

Ricevuto: 26.01.2011 Accettato: 27.01.2011

ricerca ha condotto all'identificazione delle seguenti linee guida (4-6), che sono state utilizzate come riferimento nella stesura di questo documento:

- European Confederation of Laboratory Medicine. European urinalysis guidelines. Scand J Clin Lab Invest 2000;231(suppl):1-86;
- CLSI document GP16-A3. Urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens; Approved guideline — 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009;
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A national clinical guideline. Edinburgh: Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN), 2006.

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

Livello delle prove di efficacia

Nell'attribuzione del livello delle prove di efficacia e del grado delle raccomandazioni, si è fatto riferimento ai principi adottati dal gruppo di lavoro "Grades of Recommendation Assessment, Development and Evaluation" (GRADE), distinguendo le raccomandazioni in forti o deboli sulla base di criteri espliciti e condivisi (7). 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 Chest Physicians" (8), secondo la quale 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 (8). 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.

RICHIESTA DELL'ESAME

La richiesta di ECMU ed ECU dovrebbe essere effettuata sulla base di un quesito clinico (9). Tuttavia, tali accertamenti sono spesso richiesti per escludere la presenza di una patologia o come parte di un approccio olistico generale per inquadrare un paziente (9).

La richiesta di ECMU trova un suo razionale nelle seguenti condizioni (4-6):

- sospetto di infezione del tratto urinario,
- sospetto o "follow-up" di malattia renale,
- sospetto o "follow-up" di patologia non infettiva del tratto urinario, primitiva o secondaria a patologie sistemiche, quali malattie reumatiche, ipertensione, tossiemia della gravidanza o effetti collaterali di farmaci,
- formazione ricorrente di calcoli urinari.

Nei pazienti con diabete mellito è oggi raccomandato di monitorare il compenso metabolico mediante dosaggio dell'emoglobina glicata, mentre per valutare la presenza di danno renale si raccomanda il dosaggio della albuminuria con metodi a elevata sensibilità (10, 11).

La richiesta di ECU trova il suo razionale nelle seguenti condizioni (4-6, 12-15):

- sospetto di pielonefrite,
- sospetto di una infezione acuta febbrile del tratto urinario,
- infezione acuta delle vie urinarie in pazienti con malformazioni anatomiche delle stesse, calcolosi ricorrente, malattie sistemiche, come ad esempio il diabete,
- infezione acuta delle vie urinarie "hospital-acquired", per la possibilità che siano sostenute da germi portatori di multiple resistenze ai farmaci antibatterici,
- pazienti in cui si è avuto fallimento del primo ciclo di terapia (recidiva o reinfezione),
- sospetto di infezione acuta delle vie urinarie in pazienti con catetere a dimora,
- sospetto di infezione acuta in un paziente di sesso maschile,
- sospetto di infezione acuta in una donna gravida,
- sospetto di infezione acuta in un bambino o un adolescente,
- screening della batteriuria asintomatica nelle donne gravide (al primo controllo),
- prima di manovre chirurgiche sul tratto urinario.

Raccomandazione (debole)

La richiesta di ECMU ed ECU deve essere effettuata in risposta a uno specifico quesito clinico.

PREPARAZIONE ALL'ANALISI

Il paziente deve essere istruito ad evitare sforzi intensi prima di effettuare la raccolta del campione urinario, così come ad evitare sovraccarichi alimentari. Le donne in età fertile devono evitare la raccolta nel periodo mestruale. Devono essere evitati i rapporti sessuali almeno nelle 12 ore precedenti la raccolta. Devono, di norma, essere raccolte le urine ottenute dalla prima minzione del mattino, a digiuno e prima di intraprendere qualsiasi attività fisica (Tabella 1) (4, 5).

Raccomandazione (debole)

Il paziente deve essere adeguatamente informato circa la preparazione da seguire prima della raccolta del campione urinario per ECMU ed ECU.

RACCOLTA E TIPOLOGIA DEL CAMPIONE

Per l'ECMU è raccomandata l'urina della prima minzione del mattino oppure, come alternativa, un campione di urine che abbiano una permanenza in vescica di almeno quattro ore (Tabella 2) (4-6, 16, 17). Da un lato campioni ottenuti a digiuno e prima di iniziare attività fisica riducono le variabili preanalitiche e dovrebbero permettere una migliore esplorazione dei processi fisiologici di base dell'emuntorio renale, dall'altro un adeguato tempo di permanenza in vescica favorisce l'identificazione di elementi, corpuscolati o solubili, utili a rilevare stati flogistici e/o patologie del rene e del tratto genito-urinario.

L'urina della prima minzione del mattino è abitualmente il campione di scelta per l'esecuzione delle indagini microbiologiche (4-6, 18, 19).

Solo per lo specifico studio della morfologia cellulare ed eritrocitaria, su pazienti selezionati sulla base dell'indicazione clinica, è consigliabile un campione di urina con una permanenza minore in vescica (ciò consente di visualizzare cellule ed eritrociti integri); è quindi raccomandabile la seconda minzione del mattino (4-6, 20, 21).

Il paziente dovrebbe ricevere una corretta informazione circa le modalità di preparazione alla raccolta di un campione di urine su cui verrà eseguito l'ECMU o l'ECU. Questa informazione potrà essere fornita oralmente, ma è preferibile che venga somministrata in forma scritta, avvalendosi anche di illustrazioni e figure. E' quindi raccomandabile che il paziente sia informato sulle corrette modalità di raccolta del campione, sull' utilizzo di idoneo contenitore, sul tipo di esame da eseguire (ricerca microbiologica e/o ECMU) e sul tipo di campione da raccogliere (primo del mattino) (4-6).

Raccomandazione (forte)

Il paziente deve essere adeguatamente informato circa le modalità di raccolta del campione urinario per ECMU ed ECU e per l'esecuzione di altre tipologie di accertamenti.

Con appropriate istruzioni (Tabella 1) si deve raccomandare al paziente di:

- lavarsi le mani e far precedere la raccolta dell'urina da un'accurata pulizia dei genitali, utilizzando un sapone non antisettico e abbondante acqua per il risciacquo,
- asciugarsi,
- eliminare il primo mitto, raccogliendo il mitto intermedio in un contenitore a bocca larga, sterile, evitando contatti tra contenitore e genitali (4-6),
- raccogliere almeno 15-30 mL di urina,
- chiudere ermeticamente il contenitore e inviarlo al laboratorio nel più breve tempo possibile,
- segnalare sempre eventuali patologie o interventi urologici maggiori,
- in presenza di urine con pigmenti anomali, segnalare l'assunzione di farmaci o alimenti particolari.

Oggi, grazie a presidi di nuova concezione, si può ottenere una quantità idonea di urina per l'ECMU (7-10 mL) con un contenitore secondario, provetta sottovuoto sterile, senza aprire il contenitore di raccolta (20).

Il mitto intermedio

Il campione ottenuto da mitto intermedio risulta essere il più idoneo per l'esame microbiologico e per la valutazione chimico-fisica e morfologica; esso infatti è solo minimamente influenzato dalla presenza di secrezioni uretrali e di muco; quest'ultimo è infatti un importante elemento di disturbo nella valutazione chimico-morfologica delle urine, potendo indurre false positività nella valutazione delle proteine e, su strumentazione automatica, della cilindruria (21-26).

Raccomandazione (forte)

Nel paziente adulto, continente e cooperante, il campione di scelta per l'esecuzione di ECMU ed ECU è quello raccolto con la tecnica del mitto intermedio, correttamente eseguita.

Tipo di contenitore

Se si utilizza il contenitore unico sterile con tappo a chiusura ermetica e predisposizione a raccolta sottovuoto, si ottengono ulteriori vantaggi: contemporaneità di raccolta, minor possibilità di contaminazione dell'urina, disponibilità di uno stesso campione sia per l'indagine microbiologica sia per l'ECMU, minor rischio biologico per gli operatori grazie all'utilizzo di materiale a circuito chiuso, maggiore praticità per il paziente. E' inoltre auspicabile che ogni laboratorio predisponga un kit di prelievo e relative istruzioni per l'uso e lo renda disponibile ai propri utenti (Tabella 3) (4, 5).

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

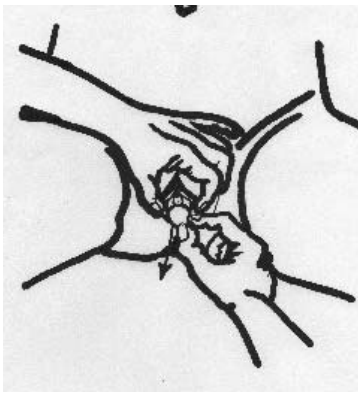
Dopo la raccolta, è prevista una corretta etichettatura comprendente dati anagrafici, tipologia di campione (prima o seconda minzione del mattino, campione estemporaneo o temporizzato), ora e metodo di raccolta

Tabella 1
Preparazione del paziente e raccolta del campione di urine

La preparazione del paziente per la raccolta di un campione di urine ottimale dovrebbe iniziare la sera precedente la raccolta e dovrebbe attenersi il più possibile a condizioni di uniformità in maniera tale da consentire una interpretazione corretta dei risultati ottenuti. In particolare, si raccomanda di:
- non fare sforzi fisici e astenersi dai rapporti sessuali nelle 12 ore antecedenti la raccolta
- per le donne in età fertile, evitare la raccolta nel periodo mestruale
- raccogliere preferibilmente le prime urine del mattino o, in alternativa, urine che abbiano soggiornato in vescica almeno 4 ore
- osservare il digiuno dalla mezzanotte ed effettuare la raccolta al risveglio, prima della colazione e prima di intraprendere attività fisica
- segnalare eventuali patologie rilevanti dell'apparato urinario o interventi uro-genitali.

Per la raccolta del campione seguire le istruzioni riportate di seguito:

Procedura nel sesso femminile



Lavarsi le mani

Con una mano allargare leggermente le grandi labbra della vagina

Lavare i genitali con abbondante acqua corrente

Asciugare i genitali con un fazzolettino di carta pulito (tipo "kleenex")

Cominciare ad urinare sul vater in modo da svuotare all'incirca la metà del contenuto della vescica

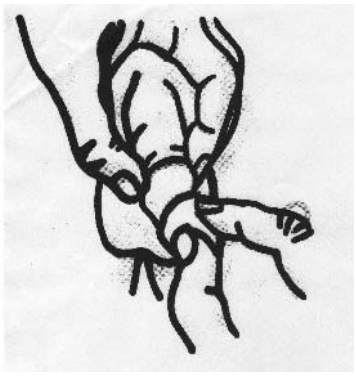
Effettuare la raccolta senza smettere di urinare evitando di toccare l'interno del contenitore

E' sufficiente raccogliere circa 10 mL di urina

Eliminare quindi l'ultima parte della minzione

Chiudere il contenitore senza toccarlo all'interno

Procedura nel sesso maschile



Retrarre il prepuzio in modo da liberare la punta del glande

Lavare il glande con acqua corrente

Asciugare il glande con un fazzolettino di carta pulito

Cominciare ad urinare sul vater in modo da svuotare all'incirca la metà del contenuto della vescica

Effettuare la raccolta senza smettere di urinare evitando di toccare l'interno del contenitore

E' sufficiente raccogliere circa 10 mL di urina

Eliminare quindi l'ultima parte della minzione

Chiudere il contenitore senza toccarlo all'interno

Tabella 2
Tipologia del campione di urine

Tipologia	"Timing"	Raccomandazioni
Mitto intermedio	Prima urina del mattino	Esame chimico-fisico e morfologico (ECMU) Esame colturale (ECU)
Mitto intermedio	Seconda urina del mattino	Studio morfologico emazie
Raccolta temporizzata	-	Proteinuria
Raccolta estemporanea	Estemporaneo	Screening tossicologico
Raccolta mediante "device" pediatrico	-	Utilizzabile per ECU ed ECMU
Raccolta da catetere	Estemporaneo	Utilizzabile per ECU ed ECMU
Puntura sovrapubica	Estemporaneo	Utilizzabile per ECU ed ECMU

Tabella 3
Tipologia dei contenitori

E' auspicabile poter disporre di un'unica tipologia di contenitori per la raccolta dei campioni di urine sia per l'esame chimico fisico e morfologico che per l'esame microbiologico standard. Tale contenitore dovrebbe inoltre permettere una agevole raccolta del campione con la tecnica del mitto intermedio, riducendo al minimo le necessità di manipolazione e quindi abbattendo le possibilità di contaminazione del campione urinario. Si raccomanda quindi l'uso di un contenitore unico sterile.

Contenitore primario (per la raccolta del campione)

- Apertura larga (almeno 5 cm di diametro)
- Chiusura ermetica del coperchio (tappo a vite)
- Capacità di almeno 50 mL
- Ampia base di appoggio
- Predisposizione al campionamento di provette sotto vuoto
- Pareti di materiale plastico trasparente
- Costruzione in materiale che non vada a modificare i costituenti biologici delle urine

Contenitore secondario (provette per attività analitica)

- Sistema di provette sotto vuoto con codice colore per diverse destinazioni: esame standard, esame microbiologico, esami in chimica liquida, ecc.
- Capacità di circa 7-10 mL
- Pareti di materiale plastico trasparente
- Costruzione in materiale che non vada a modificare i costituenti biologici delle urine
- Dimensioni delle provette e tipologia dei tappi compatibili con la maggior parte dei sistemi preanalitici e analitici di laboratorio
- Evidenza in etichetta dell'eventuale utilizzo di additivi o conservanti; questi dovrebbero essere atossici e di maneggevole utilizzo

Si raccomanda di inviare al laboratorio di competenza il campione urinario già trasferito nelle provette sotto vuoto.
Se i campioni di urine dovessero essere trasportati, bisognerà utilizzare dei contenitori adiabatici, infrangibili e in grado di proteggere i campioni dalla luce solare.

(se diverse da quelli abituali), eventuali conservanti utilizzati (con i relativi simboli di pericolo, informazioni ausiliarie, interventi urologici, ecc.). E' importante che l'etichetta non impedisca una chiara visione del campione; essa va inoltre sempre apposta sul contenitore e non sul coperchio. In caso di trasferimento ad altro laboratorio, è necessario aggiungere etichette di rischio biologico e l'imballaggio deve essere conforme allo standard europeo EN829 (27).

Raccomandazione (forte)

L'etichetta apposta sul contenitore deve riportare tutti i dati necessari alla identificazione certa del paziente, del campione e degli accertamenti da eseguire.

CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI (TABELLA 4)

Conservazione

ECMU ed ECU devono essere eseguiti nel più breve tempo possibile. Se si prevede che il campione urinario non possa essere esaminato entro 4 ore è raccomandata la conservazione refrigerata a +4-8 °C. In alternativa si potranno utilizzare degli agenti conservanti. Il borato è dotato di azione batteriostatica (sembra in grado di prevenire la replicazione batterica durante la conservazione) ed è quindi potenzialmente utile in caso non sia possibile eseguire tempestivamente l'ECU. Esistono degli agenti preservanti a base di alcoli superiori in grado di conservare la morfologia degli elementi corpuscolati delle urine così da permettere l'esecuzione di un esame microscopico del sedimento anche a distanza di alcune ore dalla raccolta del campione (27-30). L'utilizzo di conservanti deve però essere preceduto e condizionato dalla verifica delle possibili interferenze (di natura analitica) sulla prestazione dei sistemi diagnostici in dotazione ai singoli laboratori. Il "gold standard" rimane l'urina fresca esaminata entro breve tempo dalla raccolta (31-33).

Raccomandazione (forte)

ECMU ed ECU devono essere eseguiti nel più breve tempo possibile. Nel caso si preveda possano trascorrere oltre 4 ore tra la raccolta del campione e l'esecuzione dell'esame è raccomandata la conservazione del campione a +4-8 °C.

Arrivo in laboratorio

E' auspicabile l'invio in laboratorio del campione con le provette necessarie per eseguire tutti gli esami richiesti (ad es., ECMU, ECU o dosaggi particolari come l'albuminuria). In alternativa può essere utilizzato un unico contenitore con 20-50 mL di urina da cui campionare, mediante sistema sottovuoto, tutte le provette necessarie per i diversi dosaggi (34, 35).

Da un punto di vista tecnico-strumentale, la progressiva diffusione dell'automazione del sistema di analisi porta a considerare possibili e auspicabili evoluzioni della strumentazione che possano permettere l'aspirazione con ago campionatore da provetta chiusa, migliorando considerevolmente il grado di sicurezza, operatività ed efficienza (15, 36). E' inoltre auspicabile che le provette utilizzate per le analisi su urine siano normalizzate per tipologia e dimensioni con quelle

Tabella 4
Raccomandazioni su conservazione e trasporto dei campioni

I tempi di raccolta devono essere documentati.
I tempi che superano i limiti specificati (>4 ore a temperatura ambiente; > 6 ore a +4-8 °C) devono essere registrati nei documenti.
E' raccomandabile che chi è addetto all'accettazione del campione segnali ogni anomalia rispetto alle indicazioni contrassegnandole come non conformità.
In Laboratorio è raccomandabile verificare i tempi di trasporto prima dell'esecuzione delle analisi.
E' raccomandata la conservazione del campione a +4-8 °C, se è previsto che non venga esaminato entro 2 ore dalla raccolta.
E' raccomandabile esprimere un criterio di non idoneità del campione se questo viene inviato oltre le 4 ore dalla raccolta senza adeguata refrigerazione (+4-8 °C). In questi casi si dovrà generare nel referto un giudizio di campione "non idoneo" oppure prevedere una riduzione degli esami richiesti, motivando le decisioni con una nota esplicativa.
Per quanto attiene l'esame microbiologico delle urine, la centralizzazione analitica impone che si allestiscano dei sistemi di trasporto refrigerati o, in alternativa, che si utilizzino conservanti (ad es., borato) per la stabilizzazione della carica batterica. E' in ogni caso raccomandabile verificare sempre le eventuali interferenze del conservante sugli esiti degli esami.

utilizzate per i campioni ematici, così da poter essere processate assieme a queste sulla strumentazione preanalitica e analitica (37).

Il laboratorio dovrebbe sempre esprimere un parere circa l'idoneità e l'accettabilità del campione ricevuto; in base al tipo di non conformità (NC) eventualmente riscontrata, potranno essere eseguite solo le analisi non influenzate dalla NC oppure dovrà essere richiesto l'invio di un nuovo campione. In entrambi i casi, le motivazioni di tale scelta dovranno essere adeguatamente esplicitate con una nota nel referto (38-42).

Raccomandazione (forte)

Il laboratorio deve valutare l'idoneità del campione pervenuto per ECMU/ECU in merito all'identificazione, al volume, ai tempi e al trasporto. In relazione all'eventuale anomalia riscontrata, si valuterà la non idoneità in toto o parziale (volume) all'analisi, notificandola nel referto e richiedendo, se possibile, l'invio di un nuovo campione.

LIVELLO ANALITICO EROGABILE

E' raccomandabile che ciascun laboratorio dichiari, in base alle specifiche competenze, alla tecnologia disponibile, alla tipologia di pazienti che afferiscono, il livello diagnostico erogabile (4-6, 9, 10),

Livelli diagnostici dell'esame urine

1° livello

Non specialistico, utile quando non sia accessibile un accertamento specialistico e sia necessaria una conferma a un sospetto clinico che richieda una decisione non procrastinabile. Competenze/attrezzature indicate: sanitarie di base/"dip-stick" a lettura visiva.

2° livello

Specialistico di base, indicato in situazioni prive di complessità in cui siano quindi sufficienti piattaforme tecnologiche e competenze di base. In questa casistica rientra la larga maggioranza dei pazienti ambulatoriali, la medicina preventiva e pazienti in cui non siano presenti patologie o complicanze dell'apparato urinario. Competenze/attrezzature indicate: sanitarie specialistiche/strumentazioni specifiche per "dip-stick" integrate da lettura della componente corpuscolata microscopica o strumentale di base.

3° livello

Specialistico di approfondimento, indicato in situazioni complesse, necessita di piattaforme tecnologiche e competenze avanzate. Livello appropriato ad una casistica nella quale rientrano molti pazienti ospedalizzati, in particolare in ambito urologico e nefrologico, e pazienti ambulatoriali con affezioni dell'apparato urinario. Competenze/attrezzature indicate: sanitarie specialistiche con specifica competenza/strumentazioni specifiche per chimica secca o liquida integrate da lettura strumentale automatizzata della componente corpuscolata; approfondimento, in tutti i casi in cui si renda utile, con microscopia (contrasto di fase) pHmetria, osmometria.

4° livello

Specialistico ad orientamento clinico, indicato per rispondere a specifiche richieste di diagnosi e monitoraggio, necessitano competenze superspecialistiche e tecnologie dedicate. Livello appropriato a definire l'origine delle ematurie, la natura delle cristallurie, la composizione e l'origine delle proteinurie, e la citologia, in pazienti ricoverati e ambulatoriali. Competenze/attrezzature indicate: sanitarie specialistiche con specifica comprovata competenza ed esperienza/attrezzature dedicate in relazione alle indagini praticate: microscopio contrasto di fase, microscopio a luce polarizzata, pHmetro, elettroforesi, nefelometria, immunofissazione, colorazioni specifiche.

Raccomandazione (debole)

Ciascun laboratorio dovrebbe esplicitare il livello analitico erogabile in base alle competenze professionali e alle risorse tecnologiche disponibili.

CONCLUSIONI

L'utilizzo di nuove tecnologie, se da un lato ha migliorato la significatività clinica del referto urinario, dall'altro ha evidenziato le criticità della fase preanalitica in misura maggiore rispetto a quanto percepito con tecnologie meno sensibili ed accurate. Si rende quindi necessario un ulteriore sforzo per uniformarsi nella standardizzazione delle fasi del processo, attenendosi alle linee guida e alle indicazioni che derivano dalla conoscenza delle nuove piattaforme tecnologiche. I processi di consolidamento dei laboratori presenti in ambito territoriale hanno inoltre palesato difformità nelle procedure delle fasi preanalitiche, che devono pertanto essere rese omogenee. In quest'ottica diventa non più procrastinabile il ricorso a nuovi dispositivi/modalità di raccolta e conservazione che preservino le caratteristiche chimiche, la morfologia degli elementi cellulari e la vitalità dei batteri. L'impegno prioritario deve essere finalizzato a una comunicazione sempre più capillare e intelligibile, rivolta a operatori e utenti, consapevoli che tale processo è assai dispendioso in termini di energie e tempo. Solo scrivendo e divulgando informazioni per una corretta gestione della fase preanalitica, definendo i livelli di risposta in base alla correttezza della raccolta, inserendo note di commento per eventuali non conformità nel referto e decidendo di non eseguire un esame se non rispetta parametri essenziali (ad es., volume insufficiente, contaminazione significativa) si potrà valutare correttamente l'andamento di un determinato parametro urinario. L'analisi per fasi del processo costringe gli operatori ad uno sforzo culturale e metodologico, uniformando i comportamenti e le procedure per rinnovarsi nel rispetto della sicurezza per il malato e nella prospettiva di un continuo miglioramento delle prestazioni analitiche.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia Giacomo Lanfranco per il contributo dato con una rilettura critica del testo e con osservazioni frutto della sua pluriennale specifica esperienza.

APPENDICE

MODALITÀ DI RACCOLTA DELLE URINE IN SPECIFICHE CONDIZIONI

Mitto intermedio

Della prima minzione del mattino si elimina la porzione iniziale che dilava le secrezioni, le cellule e i batteri eventualmente presenti in uretra. Si raccoglie la porzione intermedia dopo accurata detersione dei genitali esterni evitando, per quanto possibile, la contaminazione da parte della flora batterica residente mediante divaricazione delle grandi labbra nella donna e retrazione del prepuzio nel maschio. I campioni raccolti con questa metodica sono idonei per l'esame standard delle urine e per la ricerca di batteri aerobi e miceti (43-51). Questo campione può essere ottenuto da pazienti in grado di collaborare.

Raccolta con sacchetto di plastica adesivo ("device" pediatrico)

I campioni raccolti con questa metodica sono idonei per l'esame standard delle urine e per la ricerca di batteri aerobi e miceti. Questa metodica viene utilizzata per neonati o pazienti incontinenti. Per la facilità di contaminazione del campione urinario con materiale fecale o perineale il ricorso a tale metodica deve essere limitato a casi particolari. Non lasciare *in situ* per più di 30 min il sacchetto. Se il paziente ha difficoltà a urinare, procedere alla sostituzione dello stesso ogni 30 min dopo aver ripetuto la detersione (52, 53).

Catetere a permanenza

I campioni raccolti con questa metodica sono idonei per l'esame standard delle urine e per la ricerca di batteri aerobi non esigenti ed esigenti, e di miceti. Chiudere il catetere con una pinza, al di sopra del raccordo con la sacca, per il tempo necessario a raccogliere una quantità di urina sufficiente. Disinfettare un tratto del catetere appena al di sopra della giunzione del tubo di raccordo. Aspirare con siringa sterile alcuni mL di urina (~10) e immetterli nell'apposito contenitore sterile. Non raccogliere l'urina direttamente dalla sacca (6, 14, 15).

Cateterizzazione vescicale estemporanea

Data la frequenza di infezioni urinarie conseguenti a questa pratica, se ne raccomanda l'impiego solo in casi particolari (ad es., impossibilità di evitare la contaminazione del campione mediante altre tecniche di raccolta, pazienti incapaci di collaborare, problemi di valutazione di basse cariche microbiche). E' indicata nel caso di infezioni recidivanti nelle donne e/o in caso di ripetuti esami colturali di dubbia interpretazione (polimicrobismo, basse cariche microbiche, presenza di microrganismi probabili contaminanti). Lavare accuratamente la regione dell'uretra. Introdurre sterilmente il catetere e lasciare defluire l'urina (54, 55).

Puntura soprapubica

I campioni raccolti con questa metodica sono idonei per l'esame chimico-fisico e morfologico e per la ricerca di batteri aerobi non esigenti ed esigenti, di batteri anaerobi e di miceti. Il campione è utile per accertare un'infezione delle vie urinarie in soggetti in cui il risultato di precedenti colture sia dubbio, per pazienti in età pediatrica quando non sia possibile la minzione spontanea e la raccolta da mitto intermedio. L'urina è raccolta dal medico mediante puntura soprapubica con siringa, seguendo le normali norme di asepsi, e successiva immissione in un contenitore sterile (4-6, 14, 15).

Ricerca dei micobatteri nelle urine

Si consiglia di inviare 3 campioni raccolti in 3 giorni successivi. Raccogliere le urine della minzione notturna o del primo mattino in un contenitore preferibilmente sterile (volume minimo richiesto 40-50 mL). L'intervallo tra l'ultima minzione e la raccolta deve essere

di almeno 6 ore. Conservare il campione a +4-8 °C fino all'invio in laboratorio (entro 24 ore) (56, 57).

Ricerca schistosoma

Raccogliere le urine su campione estemporaneo (minimo 40-50 mL) preferibilmente ottenuto in tarda mattinata, dopo aver effettuato 25 piegamenti sulle gambe (58).

BIBLIOGRAFIA

1. Coomarasamy A. Searching for evidence to inform clinical practice. Curr Obstet Gynaecol 2004;14:142-6.
2. Lilford R, Richardson A, Stevens A, et al. Issues in methodological research: perspectives from researchers and commissioners. Health Technol Assess 2001;15:1-57.
3. Grilli R. AGREE. Uno strumento per la valutazione della qualità delle linee guida. Bologna: Agenzia Sanitaria Regionale dell'Emilia-Romagna, 2002.
4. European Confederation of Laboratory Medicine. European urinalysis guidelines. Scand J Clin Lab Invest 2000;231(suppl):1-86.
5. CLSI document GP16-A3. Urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens; Approved guideline — 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.
6. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A national clinical guideline. Edinburgh: Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN), 2006.
7. Atkins D, Best D, Briss P, et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. Br Med J 2004;328: 1490.
8. Guyatt G, Gutterman D, Baumann M, 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.
9. Kouri T, Gyory A, Rowan M. ISLH recommended procedure for the enumeration of particles in urine. Lab Hemat 2003;9:58-63.
10. Aspewall O, Hallander H, Gant V, et al. European guidelines: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. Clin Microb Infect 2001;7:173-8.
11. British Columbia Guidelines and Advisory Committee. Protocol for macroscopic and microscopic urinalysis and investigation of urinary tract infections. 2004. http://www.bcguidelines.ca/gpac/pdf/urinalysis.pdf
12. Fogazzi G, Garigali G, Pirovano B, et al. How to improve the teaching in urine microscopy. Clin Chem Lab Med 2007;45:407-12.
13. Kouri T, Malminiemi O, Penders J, et al. Limits of preservation of samples for urine strip tests and particle counting. Clin Chem Lab Med 2008;46:703-13.
14. Agenzia Sanitaria e Sociale Regionale. Infezioni delle vie urinarie nell'adulto. Linea Guida Regionale. 190 – 2010. www//asr.regione.emilia.romagna.it/wcm/asr/collana_dossier/doss190.htm
15. Bertolissi A, Lanzafame P, Screm M, et al. Azienda Ospedaliera Santa Maria della Misericordia. Linee guida: la diagnosi microbiologica delle infezioni urinarie. http://www.ospedaleudine.it
16. Gillespie T, Fewster J, Masterton R. The effect of specimen processing delay on borate urine preservation. J Clin Pathol 1999;52:95-8.
17. Meers P, Chow C. Bacteriostatic and bactericidal actions of boric acid against bacteria and fungi commonly found in urine. J Clin Pathol 1990;43:484-7.
18. Watson P, Duerden B. Laboratory assessment of physical and chemical methods of preserving urine specimens. J Clin Pathol 1977;30:532-6.
19. Laurer B, Reller B, Mirrett S. Evaluation of preservative fluid for urine collected for culture. J Clin Microbiol 1979; 10:42-5.
20. Froom P, Bieganiec B, Ehenrich Z, et al. Stability of common analytes in urine refrigerated for 24 h before automated analysis by test strips. Clin Chem 2000;46: 1384-6.
21. Eriksson I, Lindmann R, Thore M. Microbiological evaluation of a commercial transport system for urine samples. Scand J Clin Lab Invest 2002;62:325-35.
22. Keuzer M, Brandts R. Flow cytometer and the urine laboratory: field evaluation of the Sysmex UF-100. Sysmex Intern Journ 1997;7:117-22.
23. Ottiger C, Huber A. Quantitaive urine particles analysis: Integrative approach for the optimal combination of automation with UF-100 and microscopic review with KOVA cell chambre. Clin Chem 2003;49:617-23.
24. Lamchiagdhase P, Preechaborisutkull K, Lomsomboon P, et al. Urine sediment examination method and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. Clin Chim Acta 2005;358:167-74.
25. Wah D, Porntip K, Butch A. Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using Fuchs-Rosenthal cell chambers. Am J Clin Pathol 2005;123:290-6.
26. 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;41:147-54.
27. European Committee for Standardization. In vitro diagnostic system: transport packages for medical and biological specimens. Bruxelles: CEN, 1996.
28. Manoni F, Valverde S, Caleffi A, et al. Stability of common analytes and urine particles stored at room temperature before automated analysis. RIMeL/IJLaM 2008;4:192-8.
29. Manoni F, Valverde S, Caleffi A, et al. Esame delle urine: è tempo di cambiare. RIMeL/IJLaM 2010;6:52-8.
30. Tencer J, Thysell H, Andersson K, et al. Stability of albumin, protein HC, immunoglobulin G, kappa- and lambda-chain immunoreactivity, orosomucoid and alpha 1-antitrypsin in urine stored at various conditions. Scand J Clin Lab Invest 1994;54:199-206.
31. Kierkegaard H, Feldt-Rasmussen U, Hoerder M, et al. Falsely negative urinary leukocyte counts due to delayed examination examination. Scand J Clin Lab Invest 1980; 40:259-61.
32. Ampalahan M, Birch D, Becker G. Chemical preservation of urine sediment for phase contrast microscopy examination. Nephron 1994;68:180-3.
33. Porter J, Brodie J. Boric acid preservation of urine samples. Br Med J 1969;2:353-5.
34. Grosso S, Bruschetta G, De Rosa R, et al. Improving the efficiency of preanalytical and analytical work flow of urine cultures with flow cytometry. New Microb 2008:31:501-5.
35. Roggeman S, Zaman Z. Safely reducing manual urine microscopy analyses by combining urine flow cytometer and strip results. Am J Clin Pathol 2001;116:872-8.
36. Fuller C, Threatte G, Henry J. Basic examination of the urine. In: Henry JB, Davey FR, Herman CJ, eds. Clinical

diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001.
37. Miller J. A guide to specimen management in clinical microbiology. Washington: American Society for Microbiology, 1996.
38. Addis T. The number of formed elements in the urinary sediment of normal individuals. J Clin Invest 1926;2:409-15.
39. Gadeholt H. Quantitative estimation of urinary sediment with special regard to source of errors. Br Med J 1964;1:1547-9.
40. Fairley K, Birch D. Microscopic urinalysis in glomerulonephritis. Kidney Int 1993;42:S9-12.
41. 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. Clin Chem Lab Med 2007;45:1251-6.
42. Regeniter A, Haenni V, Risch L, et al. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, dipstick chemistry and bacterial culture results-a multicenter study. Clin Nephrol 2001;55:384-92.
43. Kass E. Asymptomatic infections of the urinary tract. Trans Assoc Am Phys 1956;69:56-63.
44. Kass EH. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract; with observations on the use of methionine as a urinary antiseptic. Arch Intern Med 1957;100:709-14.
45. Lohr J, Donowitz L, Dudley S. Bacterial contamination rates for non–clean-catch and clean-catch midstream urine collections in boys. J Pediatr 1986;109:659-60.
46. Lohr JA, Donowitz LG, Dudley SM. Bacterial contamination rates in voided urine collections in girls. J Pediatr 1989;114:91-3.
47. Lifshitz E, Kramer L. Outpatient urine culture: does collection technique matter? Arch Intern Med 2000; 160:2537-40.
48. Prandoni D, Boone M, Larson E, et al. Assessment of urine collection technique for microbial culture. Am J Infect Control 1996;24:219-21.
49. Morris R, Watts M, Reeves D. Perineal cleansing before midstream urine, a necessary ritual? Lancet 1979;2:158-9.
50. Leisure M, Dudley S, Donowitz L. Does a clean-catch urine sample reduce bacterial contamination? N Engl J Med 1993;328:289-90.
51. Wheldon DB, Slack M. Multiplication of contaminant bacteria in urine and interpretation of delayed culture. J Clin Pathol 1977;30:615-9.
52. Rogers J, Saunders C. Urine collection in infants and children. Nurs Times 2008;104:40-2.
53. Koneman E, Allen S, Dowell V, et al. Testo atlante di microbiologia diagnostica. Roma: Antonio Delfino, 1987.
54. Cheng Y, Wong S. Diagnosing symptomatic urinary tract infections in infants by catheter urine culture. J Paediatr Child Health 2005;41:437-40.
55. Gilljam B, Svensson M. In-out catheterization of young children with suspected urinary tract infection: a retrospective journal study. Pediatr Nurs 2008;34:241-5.
56. Metchock BG, Nolte FS, Wallace RJ. Mycobacterium. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, eds. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 1999:399-437.
57. Peter J, Green C, Hoelscher M, et al. Urine for the diagnosis of tuberculosis: current approaches, clinical applicability, and new developments. Curr Opin Pulm Med 2010;16:262-70.
58. Anosike J, Okere A, Nwoke B, et al. Endemicity of vesical schistosomiasis in the Ebonyi Benue river valley, south eastern Nigeria. Int J Hyg Environ Health 2003;206:205-10.