

Programma di Valutazione Esterna della Qualità sul riconoscimento morfologico degli elementi del sedimento urinario: risultati ottenuti su campioni uguali proposti in esercizi diversi

Giuseppa Liga¹, Giulia Previtali², Rudi Ravasio², Simona Da Molin¹, Manuela Rizzetto¹, Fabio Pasotti¹, Giovanna Azzarà¹, Oana Lungu¹, Silvia Greco¹, Maria Grazia Alessio², Sabrina Buoro¹

¹Centro Regionale di Coordinamento della Medicina di Laboratorio (CRCMedLab) di Regione Lombardia

²ASST Papa Giovanni XXIII, Ospedale di Bergamo, SC SMeL 2 Analisi Chimico-cliniche, Bergamo (BG)

ABSTRACT

External Quality Assessment on morphological recognition of urine particles: results obtained analysing the same samples proposed in different exercises

Introduction: the Coordination Regional Center for Laboratory Medicine of Lombardy Region provides the External Quality Assessment (EQA) scheme of urine particle evaluation with the aim to verify the inter-laboratory reproducibility of the morphological identification of urine particles. In 2022 we evaluated the concordance between the results obtained testing the same images proposed in two different exercises.

Methods: the EQA material consisted of digitalized images of two urine sediments (Case 1 and Case 2) in phase contrast microscopy, where the recognition of the most relevant elements (maximum 4) and the correlation to a clinical condition were requested. To each correct recognition a score of 1 was assigned.

Results: in the image of Case 1 leukocytes, bacteria, isomorphic red blood cells and aggregated leukocytes, the typical elements of a urinary tract infection, were recognizable. In the image of Case 2 leukocytes, dysmorphic red blood cells and acanthocytes, the typical elements in a haematuria condition in glomerulonephritis, were recognizable. The percentage of recognition increased from the first to the second exercise in both the Cases, although few laboratories obtained a full score and many laboratories did not recognize the most common elements frequently present in a urine sediment.

Discussion: this EQA scheme was very helpful to verify and strengthen basic skills for the recognition of urinary sediment particles in order to support the clinical decision-making process, although there is some work to be done in order to improve the skills of the operators and the culture of quality in this specific field of laboratory medicine.

Parole chiave: VEQ, sedimento urinario, armonizzazione

INTRODUZIONE

La partecipazione a programmi di Valutazione Esterna di Qualità (VEQ) da parte dei Laboratori clinici è stata resa obbligatoria con il DPR del 14 gennaio 1997 sui requisiti minimi per l'esercizio delle attività sanitarie (1). Successivamente, con l'Accordo Stato-Regioni del 23 marzo 2011, Rep. Atti n. 61/CSR "Criteri per la riorganizzazione delle reti di offerta di diagnostica di laboratorio" (2) è stato sancito il ruolo delle Regioni nel definire le modalità con le quali deve essere garantita la partecipazione ai programmi VEQ e nel valutare l'andamento delle prestazioni analitiche dei laboratori.

La letteratura scientifica (3) e la norma EN ISO/IEC 17043:2010 (4) definiscono i requisiti specifici di implementazione e gestione dei programmi VEQ.

Il Centro Regionale di Coordinamento della Medicina di Laboratorio di Regione Lombardia (CRCMedLab) gestisce diversi programmi di VEQ, tra i quali il programma "Esame Urine – Morfologia del sedimento urinario, esercizi Casi clinici", con l'obiettivo di verificare la riproducibilità inter-laboratorio del riconoscimento morfologico degli elementi presenti in un sedimento urinario e della corretta correlazione ad una condizione clinica/analitica a cui è più frequentemente associata la presenza degli elementi identificati. Al programma VEQ partecipano tutti i laboratori clinici presenti sul territorio lombardo.

Nel 2022 sono stati effettuati 12 esercizi VEQ, a cadenza mensile. Per due volte è stata condotta una valutazione di concordanza nelle risposte fornite sottoponendo ai laboratori partecipanti un'immagine

Corrispondenza a: Giuseppa Liga, piazza dell'Ospedale Maggiore, 3; 20162, Milano (MI) E-mail: giuseppa.liga@ospedaleniguarda.it

Ricevuto: 31.03.2023

Revisionato: 24.04.2023

Accettato: 08.06.2023

Publicato on-line: 06.07.2023

DOI: 10.19186/BC_2023.047

già proposta in un esercizio precedente per verificare se la riproposizione della stessa immagine potesse essere utile a confermare e rafforzare le competenze nel riconoscimento degli elementi presenti in sedimento urinario.

METODI

Il materiale di controllo fornito nello schema VEQ consiste in un'immagine digitalizzata ottenuta in microscopia in contrasto di fase. L'immagine è disponibile nel sito web del CRCMedLab a cui ogni laboratorio partecipante accede con le proprie credenziali.

Ai laboratori è richiesto di indicare gli elementi maggiormente significativi e rilevanti da un punto di vista clinico tra quelli riconoscibili, fino a un massimo di 4 risposte possibili, e di effettuare una corretta associazione con la condizione clinica più congrua tra 4 opzioni proposte. Ad ognuno degli elementi correttamente identificati è assegnato uno score di 1 punto, mentre un ulteriore punto è assegnato alla corretta associazione con la condizione clinica. È prevista anche l'assegnazione di un punteggio dimezzato (0,5) ai laboratori che identificano un elemento con la dizione generica (ad esempio emazie) senza indicare il dettaglio morfologico dell'elemento (ad esempio emazie dismorfiche). Lo score massimo ottenibile è di 5 punti.

Le risposte inviate dai laboratori sono confrontate con il risultato atteso assegnato per consenso da un gruppo di esperti, in accordo agli standard EN ISO/IEC 17043:2023 (4) e UNI EN ISO 13528:2022 (5).

La stessa immagine di sedimento urinario (Caso 1) è stata proposta nell'esercizio 4/2022 e nell'esercizio 12/2022 (6). I laboratori partecipanti ad ognuno dei due esercizi sono stati 166. Nell'immagine (Figura 1) erano riconoscibili batteri, leucociti aggregati, leucociti ed

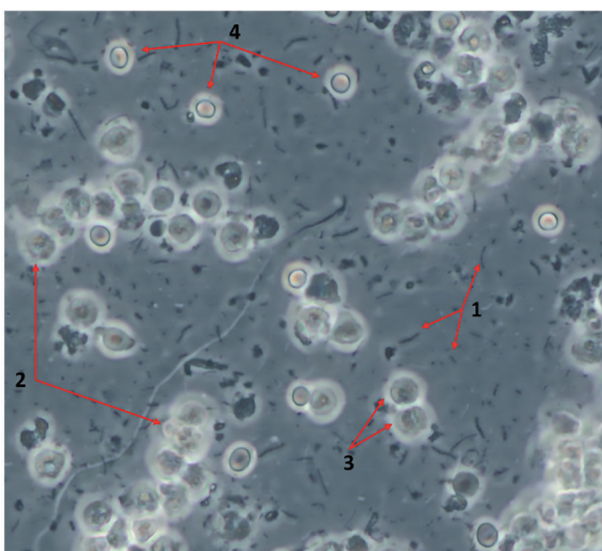


Figura 1
Caso 1 proposto nell'esercizio 4/2022 e nell'esercizio 12/2022. Sono riconoscibili: batteri (1), leucociti aggregati (2), leucociti (3), emazie isomorfiche (4)

emazie isomorfiche, elementi tipicamente riscontrati in corso di infezione delle vie urinarie.

Un'altra immagine di sedimento urinario (Caso 2) è stata proposta nell'esercizio 5/2022 e nell'esercizio 11/2022 (6). I laboratori partecipanti ad ognuno dei due esercizi sono stati 163. Nell'immagine (Figura 2) erano riconoscibili leucociti, emazie isomorfiche, emazie dismorfiche e acantociti, elementi caratteristici della presenza di ematuria in glomerulonefrite. Oltre agli elementi caratterizzanti, nell'immagine erano visibili anche dei batteri, pertanto è stato concordato di assegnare uno score pari a 0,10 punti ai laboratori che li avessero indicati poiché si trattava di elementi effettivamente presenti nell'immagine proposta ma non dirimenti per il riconoscimento della corretta condizione clinica rappresentata.

I Laboratori coinvolti hanno autorizzato l'utilizzo dei dati a scopo scientifico con opportuna richiesta effettuata dopo la chiusura degli esercizi.

RISULTATI

I risultati delle analisi con le percentuali di riconoscimento degli elementi nei due esercizi proposti per i due Casi sono mostrati nelle Figure 3 e 4 e sono sintetizzati nelle Tabelle 1 e 2.

Nelle Tabelle 3 e 4 è riportato il numero e la percentuale di laboratori in base al numero di elementi correttamente identificati nei due esercizi proposti per i due Casi.

Di seguito sono dettagliati i risultati di entrambi i Casi.

Caso 1

La prima volta che è stata proposta l'immagine (esercizio 4/2022), tra tutte le risposte fornite dai laboratori partecipanti, gli elementi con le più alte

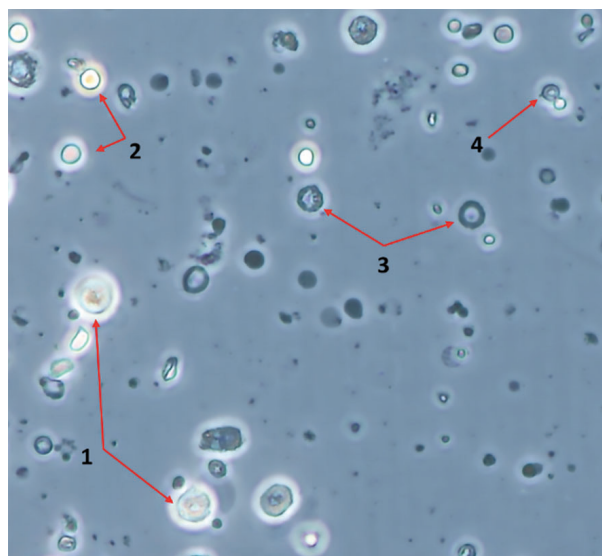


Figura 2
Caso 2 proposto nell'esercizio 5/2022 e nell'esercizio 11/2022. Sono riconoscibili: leucociti (1), emazie isomorfiche (2), emazie dismorfiche (3), acantociti (4).

percentuali di risposta erano quelli effettivamente presenti nell'immagine sottoposta. Sottoponendo la stessa immagine una seconda volta (esercizio 12/2022), le percentuali di corretto riconoscimento degli elementi sono aumentate.

Nel dettaglio, i batteri hanno avuto un incremento di riconoscimento del 3,1% (95% del primo esercizio e 98,1% del secondo esercizio), i leucociti aggregati del 15,5% (70% e 85,5% rispettivamente), i leucociti dell'11,4% (50% e 61,4% rispettivamente), le emazie del 6,7% (91,5% e 98,2% rispettivamente) con un incremento del 21% dei laboratori che hanno utilizzato la dizione specifica di emazie isomorfe.

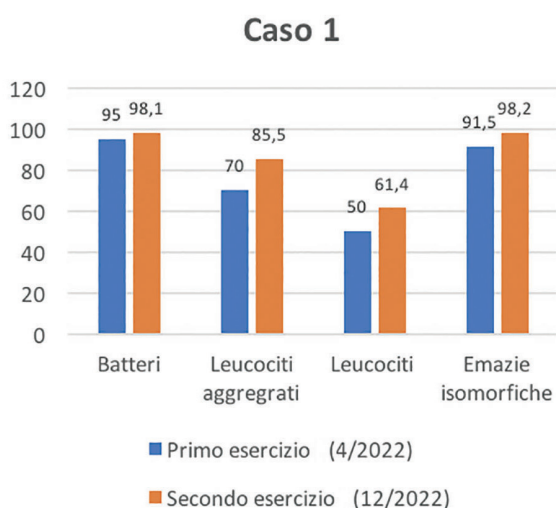


Figura 3
Percentuali di riconoscimento degli elementi

Si è verificato anche un incremento dei laboratori che hanno ottenuto score pieno (16,8% *versus* 39,1%, +22,3%) identificando correttamente tutti e 4 gli elementi presenti, con indicazione del corretto dettaglio morfologico delle emazie, e la condizione clinica corretta; anche l'associazione con la corretta condizione clinica ha avuto un incremento, dal 95,1% al 95,8% (+0,7%).

Caso 2

La prima volta che è stata proposta l'immagine (esercizio 5/2022), tra tutte le risposte fornite dai laboratori partecipanti, gli elementi con le più alte

Tabella 1

Percentuali dei risultati ottenuti per gli elementi del Caso 1 nei due esercizi proposti e incremento percentuale delle corrette identificazioni.

Caso1 Elementi nell'immagine	% di riconoscimento nel primo esercizio	% di riconoscimento nel secondo esercizio	Variazione (%)
Batteri	95	98,1	+3,1
Leucociti aggregati	70	85,5	+15,5
Leucociti	50	61,4	+11,4

Tabella 2

Numero e percentuale di laboratori raggruppati in base al numero di elementi correttamente riconosciuti nell'immagine del Caso 1 nei due esercizi proposti.

Caso 1	Corretto riconoscimento nel primo esercizio (4/2022)		Corretto riconoscimento nel secondo esercizio (12/2022)		Variazione	
	N°	%	N°	%	N°	%
Tutti gli elementi (4)*	40	24,1	80	48,2	+ 40	+24,1
3 Elementi	107	64,5	80	48,2	- 27	-16,3
2 Elementi	10	6	4	2,4	- 6	- 3,6
1 Elemento	9	5,4	2	1,2	- 7	- 4,2
Nessun elemento	0	0	0	0	0	0
Condizione clinica associata	158	95,1	159	95,8	+ 1	+ 0,8

*Tra i laboratori che hanno riconosciuto tutti e 4 gli elementi presenti sono compresi anche quelli che hanno indicato le emazie in maniera generica senza fornire il dettaglio morfologico.

percentuali di risposta erano quelli effettivamente presenti nell'immagine proposta. Sottoponendo la stessa immagine una seconda volta (esercizio 11/2023), le percentuali di corretto riconoscimento degli elementi sono aumentate (Figura 4, Tabelle 3 e 4).

Nel dettaglio, i leucociti hanno avuto un incremento di riconoscimento del 12,3% (71,7% nel primo esercizio e 84% del secondo esercizio), le emazie isomorfe del 15,4% (39,8% e 55,2% rispettivamente) con un decremento del 4,3% di laboratori che ha indicato le emazie in maniera generica, le emazie disomorfe del 6,7% (77,9% e 84,6% rispettivamente) e gli acantociti del 15,3% (56,4% e 71,7% rispettivamente). Diversi laboratori hanno segnalato i batteri presenti nell'immagine a discapito di uno degli altri elementi presenti ma in

percentuale più bassa nel secondo esercizio rispetto al primo (20,2% e 28,2%).

Si è verificato anche un incremento dei laboratori che hanno ottenuto score pieno (12,3% *versus* 33,1%, +20,8%) mentre non sono state osservate differenze importanti nel corretto riconoscimento della condizione clinica associata tra i due esercizi.

DISCUSSIONE

Un programma di VEQ istituzionale deve porsi come obiettivo il miglioramento della qualità dei laboratori ma anche rappresentare un'opportunità per aumentare le competenze degli operatori (7,8). Gli standard

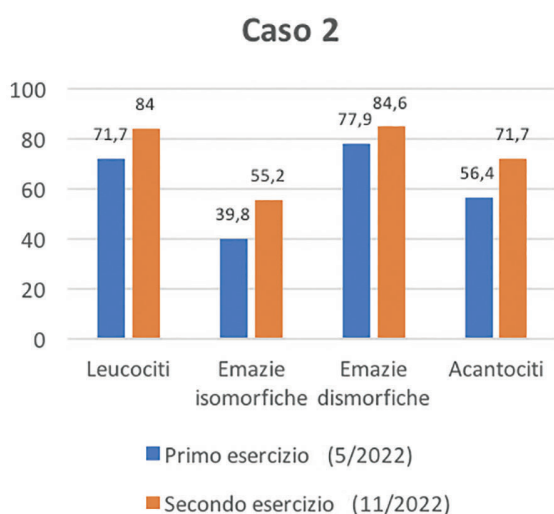


Figura 4
Percentuali di riconoscimento degli elementi del Caso 2 nei due esercizi proposti

Tabella 3

Percentuali dei risultati inseriti per gli elementi del Caso 2 nei due esercizi proposti e incremento percentuale delle corrette identificazioni

Caso 2 Elementi nell'immagine	% di riconoscimento nel primo esercizio	% di riconoscimento nel secondo esercizio	Variazione (%)
Leucociti	71,7	84	+12,3
Emazie isomorfe	39,8	55,2	+15,4
Emazie disomorfe	77,9	84,6	+6,7

Tabella 4

Numero e percentuale di laboratori raggruppati in base al numero di elementi correttamente riconosciuti nell'immagine del Caso 2 nei due esercizi proposti.

Caso 2	Corretto riconoscimento nel primo esercizio (5/2022)		Corretto riconoscimento nel Secondo esercizio (11/2022)		Variazione	
	N°	%	N°	%	N°	%
Tutti gli elementi (4)*	22	13,5	59	36,2	+ 37	+22,7
3 Elementi	73	44,8	64	39,2	- 9	-5,6
2 Elementi	50	30,7	31	19	- 19	- 11,7
1 Elemento	17	10,4	8	5	- 9	- 5,4
Nessun elemento	1	0,6	1	0,6	0	0
Condizione clinica associata	145	89	142	87,1	- 3	- 1,9

*Tra i laboratori che hanno riconosciuto tutti e 4 gli elementi presenti sono compresi anche quelli che hanno indicato le emazie in maniera generica senza fornire il dettaglio morfologico.

internazionali, come la norma UNI EN ISO 15189:2022 (9), valutano le competenze dei laboratori che hanno ricadute nella qualità e sicurezza dei risultati prodotti dai laboratori clinici, indicando come ogni laboratorio debba implementare sistemi non solo per incrementare le competenze degli operatori, ma anche per garantire l'armonizzazione dei risultati tra coloro che si occupano di morfologia (9,10).

In questa ottica, la riproposizione periodica di esercizi precedenti rappresenta uno strumento utile per valutare nel tempo se e quanto il programma di VEQ contribuisca al miglioramento delle competenze, soprattutto in ambito morfologico, dove l'esperienza e le competenze acquisite costituiscono un fattore di grande impatto sulla qualità e sicurezza del risultato finale (10).

Il confronto tra i risultati forniti nelle due valutazioni ha evidenziato un aumento considerevole nelle percentuali di riconoscimento dei diversi elementi riproposti. Inoltre, nelle immagini proposte in seconda battuta è aumentato il numero di laboratori che ha utilizzato la terminologia corretta per il riconoscimento dettagliato della morfologia delle emazie invece di utilizzare il termine generico. Quest'ultimo aspetto è un altro obiettivo che una VEQ sulla morfologia deve porsi, ossia l'utilizzo dei termini di riconoscimento corretti per le varianti morfologiche degli elementi, in quanto queste possono avere significati clinici diversi (11).

Il modello adottato di riproporre la medesima immagine è già stato utilizzato da Van der Meer et al. (6), e nonostante le ricadute positive documentate in questo studio, può introdurre alcuni elementi di criticità: in particolare, la riproposizione delle medesime immagini (e non immagini diverse dello stesso sedimento) nell'arco di pochi mesi può aver determinato un possibile bias in senso positivo nelle percentuali di riconoscimento degli elementi, anche se l'obiettivo dell'esercizio era proprio quello di valutare la concordanza nelle risposte riproponendo le stesse identiche condizioni tra i due esercizi.

Nel primo esercizio del Caso 1 proposto, solo metà dei laboratori (50%) ha correttamente identificato i leucociti, nonostante questi costituiscano uno degli elementi riscontrati con maggior frequenza nel sedimento urinario, e nonostante il contesto indicasse chiaramente come il campione appartenesse ad un soggetto con infezione delle vie urinarie, dove i leucociti sono generalmente ben rappresentati. Nella riproposizione dell'esercizio, la percentuale di riconoscimento è aumentata dell'11,4%, ma la percentuale raggiunta, 61,4% di corrette identificazioni, rimane insoddisfacente ed inferiore di circa 30 punti percentuali rispetto a quella registrata in esercizi analoghi proposti a livello nazionale, superiore al 90% (8,12).

Parimenti, nel primo esercizio proposto del Caso 2 si è registrata una discreta percentuale di risposte corrette per emazie dismorfiche ed acantociti (77,9% e 56,4% rispettivamente). Le emazie isomorfe sono state riconosciute solo da poco più di un terzo dei partecipanti (39,8%) nonostante costituiscano la forma morfologica di maggior riscontro nei sedimenti urinari della routine. Analogamente a quanto avvenuto con la riproposizione

del Caso 1, anche con la riproposizione del Caso 2 si è registrato un miglioramento sostanziale del numero di laboratori che hanno identificato correttamente le emazie isomorfe (+15,4%), ma la percentuale del 55,2% di risposte corrette indica come la metà dei partecipanti non sia stata in grado di individuare uno degli elementi che maggiormente ricorre nei sedimenti urinari, nonostante la partecipazione degli stessi laboratori a un percorso di esercizi didattici monotematici (emazie, leucociti, cilindri, cellule, contaminanti, elementi rari) promosso dal CRCMedLab nella prima fase di implementazione della VEQ sul sedimento urinario nel 2021, in cui sono state sottoposte per ciascun elemento le forme di più comune riscontro.

Le cause che possano spiegare questi risultati sono molteplici: è la prima VEQ morfologica proposta da Regione Lombardia ai laboratori; inoltre, negli ultimi anni c'è stato un ricambio generazionale e sono ormai largamente diffusi sistemi per la valutazione automatizzata del sedimento, che, se da un lato hanno consentito una miglior standardizzazione analitica, dall'altro inducono alcuni laboratori ad una accettazione acritica dei risultati prodotti dallo strumento, siano essi numerici o sotto forma di immagini, bypassando completamente la revisione microscopica, con progressiva perdita delle competenze morfologiche. Inoltre le tecnologie basate sul riconoscimento per immagini non vengono utilizzate come ausilio per l'approfondimento diagnostico (come nel caso della valutazione dello striscio di sangue periferico con microscopi automatizzati) ma per il conteggio stesso e l'analisi degli elementi del campione urinario, contribuendo ad alimentare un senso di falsa sicurezza nell'operatore che può ritenere superfluo valutare al microscopio quanto già "visto" dallo strumento contribuendo ad una preoccupante perdita delle competenze nell'ambito del riconoscimento morfologico. A questo si deve aggiungere il fatto che le immagini proposte dagli strumenti automatizzati non sempre sono ottimali e non danno alcuna possibilità di lavorare sull'immagine come avviene al microscopio (come ingrandimento, messa a fuoco dell'immagine) (8,12).

Le associazioni cliniche sono state indicate correttamente da un buon numero di laboratori, con percentuali superiori all'80%, il che contrasta con la ridotta percentuale di riconoscimento di alcuni elementi presenti nell'immagine. Questo ha determinato una bassa percentuale di laboratori che hanno ottenuto lo score pieno, non superiore al 39%, pur con un raddoppio della percentuale alla riproposizione dell'esercizio (rispettivamente da 16,8% a 39,1% nel Caso 1 e da 12,3% a 33,1% nel Caso 2). Sicuramente il quadro d'insieme aiuta nell'inquadramento diagnostico più della valutazione del singolo elemento, ma non bisogna dimenticare che alcune particelle del sedimento urinario ad alto impatto diagnostico (ad esempio lipidi, cellule tubulari, cristalli di cistina) possono essere presenti in numero molto limitato nel campione, ma il loro riconoscimento è determinante per la diagnosi finale (13).

Valutando le risposte non corrette relative all'identificazione degli elementi, per tutti gli esercizi

proposti dall'inizio del programma, si ha l'impressione di un livello di conoscenze non sempre adeguato da parte degli operatori, e questo, se da un lato deve far riflettere sulla assoluta necessità di formazione continua, dall'altro deve indurci a ricercare nuovi strumenti in grado di migliorare e consolidare le conoscenze necessarie per garantire uno standard di qualità elevato ed uniforme nel contesto regionale.

In conclusione, gli esercizi VEQ si sono dimostrati utili nel verificare e rafforzare le competenze dei partecipanti nel riconoscimento degli elementi presenti nel sedimento urinario e nella corretta traduzione in informazioni clinicamente utili, a supporto del processo decisionale clinico; pur tuttavia, molto rimane ancora da fare per migliorare il percorso verso una miglior qualità dei laboratori nel campo della diagnostica urinaria.

CONFLITTO DI INTERESSE

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

1. D.P.R. 14 gennaio 1997 n.37 (Gazz. Uff. 20 febbraio 1997, n. 42, S.O.). Decreto sui requisiti minimi strutturali, tecnologici ed organizzativi per l'esercizio delle attività sanitarie da parte delle strutture pubbliche e private. <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/1997/02/20/097A1165/sg> (ultimo accesso: giugno 2023).
2. Accordo, ai sensi dell'articolo 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997, n. 281, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento recante "Criteri per la riorganizzazione delle reti di offerta di diagnostica di laboratorio" (Rep. Atti n. 61/CSR del 23 marzo 2011) <http://archivio.statoregioni.it/DettaglioDoc5c99.html?IDDoc=31042&IdProv=9305&tipodoc=2&CONF=CSR> (ultimo accesso: giugno 2023).
3. Miller WG, Jones GR, Horowitz GL, Weykamp C. Proficiency testing/external quality assessment: current challenges and future directions. *Clin Chem* 2011;57:1670-80.
4. International Organization for Standardization (ISO) 17043:2023. Conformity assessment - General requirements for the competence of proficiency testing providers. ISO: Geneva 2023
5. International Organization for Standardization (ISO) 13528:2022. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. ISO: Geneva 2022
6. van der Meer W, van Gelder W, de Keijzer R, Willems H. The divergent morphological classification of variant lymphocytes in blood smears. *J Clin Pathol* 2007;60:838-9.
7. Libeer JC. Role of external quality assurance schemes in assessing and improving quality in medical laboratories. *Clin Chim Acta* 2001;309:173-7.
8. Fogazzi GB, Secchiero S, Consonni D, Sciacovelli L, Zardo L, Garigali G, et al. An Italian External Quality Assessment (EQA) program on urinary sediment. *Clin Chim Acta* 2010;411:859-67.
9. International Organization for Standardization (ISO) 15189:2022. Medical laboratories – particular requirements for quality and competence. ISO: Geneva 2022
10. Fogazzi GB, Garigali G, Pirovano B, Muratore MT, Raimondi S, Berti S. How to improve the teaching of urine microscopy. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:407-12.
11. Fairley KF, Birch DF. Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int* 1982;2:105-8
12. Secchiero S, Fogazzi GB, Manoni F, Epifani M, Plebani M. The Italian External Quality Assessment (EQA) program on urinary sediment by microscopy examination: a 20 years journey. *Clin Chem Lab Med* 2020;59:845-56.
13. Fogazzi GB. The urinary sediment. An integrated view, 3rd ed. Milano: Elsevier; 2010.