

Screening delle infezioni delle vie urinarie mediante un algoritmo decisionale derivato dall'esame chimico-fisico delle urine e dall'analisi automatizzata del sedimento urinario*

Tommaso Suppa¹, Giovanbattista Lobreglio¹, Davide Turco¹, Luca Leo¹, Paolo Colazzo¹, Antonio Maurantonio²

¹U.O. Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera "Cardinal Panico", Tricase (LE)

²Instrumentation Laboratory, Milano

ABSTRACT

Screening of urinary tract infections through a decisional algorithm derived from urinalysis and examination of urinary sediment by an automated imaging system. Many laboratories use urinalysis and microscopic examination of sediment as preventive screening test for bacteriuria and urinary tract infection (UTI). Particularly, an urine sample clinically significant for UTI at the microscopic examination of sediment is characterized by bacteriuria, leucocyturia or leucocytic aggregates, pyuria, and presence of nonsquamous epithelial cells. In our study we evaluated 750 urine samples by an automated digital imaging system for urine sediment examination (IRIS IQ200) and carried out a decisional algorithm through the Logical Analytical Microbiological Flow (FLAM) to show a pathophysiological correlation among different elements identified, i.e. leucocyturia, pyuria, bacteriuria and cellular elements, and to introduce the approach of "clinically significant specimen", meaning specimen eligible to be appropriately addressed to the urine culture with an effective suspicion of UTI. Comparing FLAM report with urine culture as reference method, we found that 658 (87.7%) samples were concordantly negative, 59 (7.9%) concordantly positive, 8 (1.1%) samples were falsely positive and 25 (3.3%) falsely negative. The screening of UTI through FLAM can decrease microbiological examinations, shorten turnaround time, and reduce work and costs, even if a number of incorrect results was obtained, including 3.3% of false negative results corresponding to a 70.2% sensitivity for the screening test.

INTRODUZIONE

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) rappresentano una patologia di frequente riscontro, che può essere inquadrata da un punto di vista anatomico in due categorie: infezioni delle basse vie urinarie, comprendenti uretriti, cistiti e prostatiti, e infezioni delle alte vie, rappresentate prevalentemente dalla pielonefrite acuta (1). Da un punto di vista epidemiologico si possono ulteriormente suddividere in infezioni associate all'uso di cateteri o a manovre strumentali (nosocomiali) e infezioni che insorgono spontaneamente in ambiente extraospedaliero. Queste ultime sono le più frequenti e per ragioni anatomiche interessano prevalentemente il sesso femminile. In età scolare l'incidenza è pari al 1-3% e presenta un incremento con l'inizio dell'attività sessuale (2). Un terzo delle donne adulte presenta almeno una volta nella vita sintomi di tale patologia, mentre circa il 5% presenta una batteriuria asintomatica, la cui prevalenza aumenta nei soggetti anziani in relazione alle condizioni di vita e allo stato funzionale dell'apparato urinario. Va precisato che la sola presenza di microrganismi in un campione di urine non sempre è predittiva d'infezione, ma spesso è indice di contaminazione (3).

L'esame batteriologico delle urine rappresenta il carico di lavoro più rilevante per il Laboratorio di Microbiologia ed è noto che una grande percentuale di richieste (70-85%) risulta negativa all'esame colturale (4). Pertanto, molti laboratori clinici si sono orientati ad utilizzare l'esame chimico-fisico e microscopico delle urine come indagine di screening per la batteriuria e l'infezione delle vie urinarie. Questo approccio è motivato anche dalla volontà di cercare metodologie che permettano di differenziare rapidamente i campioni di urine potenzialmente positivi da quelli negativi, evitando così la semina diretta di questi ultimi sui terreni di coltura. All'esame microscopico del sedimento urinario, un campione clinicamente significativo per IVU è caratterizzato non solo dalla presenza di batteriuria, ma anche di leucocyturia o aggregati leucocitari, piuria e di elementi cellulari provenienti dall'epitelio non squamoso delle vie urinarie (NSE) (4). Utilizzando un analizzatore per immagini del sedimento urinario, abbiamo strutturato un algoritmo decisionale, denominato "flusso logico analitico microbiologico" (FLAM) che, sulla base della correlazione fisiopatologica e semeiotica tra leucocyturia, piuria, batteriuria, elementi di piccole dimensioni (EPD) e NSE, permette di definire il "campione clinicamente significati-

*Questo lavoro è stato in parte presentato al 40° Congresso Nazionale SIBioC, 28-31 ottobre 2008, Rimini, sotto forma di poster (*Biochim Clin* 2008;32:493), ricevendo, nella persona del suo primo autore (T. Suppa), il premio SIBioC destinato ai 4 migliori poster presentati.

vo", vale a dire di identificare il campione da inviare all'esame microbiologico per sospetta IVU (Figura 1). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di validare questo approccio gestionale alla richiesta di esame colturale delle urine, attraverso il quale si potrebbero differenziare con un'indagine di screening, costituita dall'esame chimico-fisico delle urine e dall'analisi per immagini del sedimento, supportata da un processo decisionale logico, i campioni di urine negativi da quelli più probabilmente positivi, in modo da ottenere una riduzione del carico di lavoro e l'abbattimento dei costi di gestione del Laboratorio di Microbiologia Clinica.

MATERIALI E METODI

Da dicembre 2007 ad agosto 2008 sono stati analizzati 750 campioni di urine con richiesta di esame colturale provenienti sia da pazienti ambulatoriali che ospedalizzati. La parte residua di ciascun campione, subito dopo la semina nelle piastre per urinocoltura, è stata resa opportunamente anonima e processata con AutionMax AX4280 (Menarini) e con IRIS IQ200 (Instrumentation Laboratory), rispettivamente, per l'esame chimico-fisico e del sedimento urinario per immagini. L'analizzatore IRIS IQ200 analizza il campione di urina nativo mediante tecnologia automatizzata a riconoscimento di immagine, in cui il campione, focalizzato idrodinamicamente sotto forma di lamina racchiusa fra due strati di fluido, è presentato ad un microscopio, accoppiato ad una camera digitale che cattura più di 500 fotogrammi per campione. Il riconoscimento delle particelle isolate avviene mediante una rete neurale (APR, "auto particle recognition") che utilizzando le informazioni relative alle caratteristiche degli elementi (dimensioni, forma, contrasto e contenuto) li classifica in 12 categorie: globuli rossi, leucociti, aggregati leucocitari, cilindri ialini e con

inclusioni, cellule epiteliali, cellule epiteliali squamose e non squamose, batteri, miceti, cristalli, muco e spermatozoi. Lo strumento fornisce le immagini microscopiche degli elementi presenti nel campione in esame direttamente al video del sistema, consentendo all'operatore di classificare in ulteriori 27 sottocategorie, gli elementi rilevati nel campione e di validare il risultato (5).

Le informazioni prese in esame nel nostro studio comprendono la valutazione quali/quantitativa dei batteri, la conta degli EPD, il conteggio dei globuli bianchi e degli aggregati leucocitari e il conteggio delle NSE. Oltre a questi parametri del sedimento urinario sono stati valutati anche alcuni risultati dell'esame chimico-fisico; in particolare, esterasi, pH e nitriti. Sono stati considerati i seguenti cut-off per l'esame del sedimento e dell'esame chimico-fisico: globuli bianchi $>18/\mu\text{L}$; aggregati leucocitari $>3/\mu\text{L}$; EPD >3000 ; NSE $>3/\mu\text{L}$; esterasi $>25/\mu\text{L}$.

L'esame batteriologico è stato eseguito adottando il metodo della semina su terreno solido con ansa calibrata da $1\mu\text{L}$. Per la conta delle colonie è stato utilizzato terreno differenziale cromogeno URI-4 (BioRad). Dopo 24 ore di incubazione a 37°C sono state valutate le piastre e nel caso fosse evidenziata una crescita significativa maggiore o uguale a 100.000 unità formanti colonie/mL, il campione veniva considerato positivo. I campioni positivi sono stati infine processati mediante sistema Vitek 2 (bioMérieux) per l'identificazione e il relativo antibiogramma. Il risultato dell'urinocoltura è stato utilizzato come riferimento per la classificazione dei risultati e per il calcolo dei relativi indici di efficienza diagnostica, cioè sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (VPP) e valore predittivo negativo (VPN).

RISULTATI

All'esame colturale delle urine 666 (88,8%) campioni risultavano negativi, mentre i restanti 84 (11,2%) erano refertati positivi. I risultati dell'indagine di screening ottenuti applicando il processo logico decisionale FLAM mostravano 683 (91,1%) campioni negativi, nei quali si riteneva quindi di poter escludere una IVU, dei quali 658 (pari all'87,7% di tutti i campioni analizzati) erano veri negativi e 25 (3,3%) erano falsamente negativi. 67 (8,9%) campioni risultavano positivi allo screening descritto e, pertanto, da avviare all'esame colturale. Di questi, 59 (pari al 7,9% di tutti i campioni analizzati) erano veri positivi, mentre 8 (1,1%) risultavano falsamente positivi. I 25 campioni falsamente negativi, pur non ottemperando a tutti i criteri semeiotici previsti dal FLAM (leucocituria, piuria, NSE, batteriuria, EPD), erano comunque caratterizzati da modesta batteriuria e da positività ai nitriti.

Sulla base di questi risultati erano calcolati gli indici di efficienza diagnostica del metodo di screening proposto, che presentava una sensibilità pari a 70,2% (95% intervallo di confidenza (IC): 59,8-79,0), una specificità uguale a 98,8% (95%IC: 97,6-99,4), un VPN di 96,3% (95%IC: 94,7-97,5) e un VPP di 88,1% (95%IC: 78,2-93,8), con un'accuratezza diagnostica di 95,6% (95%IC: 93,9-96,9).

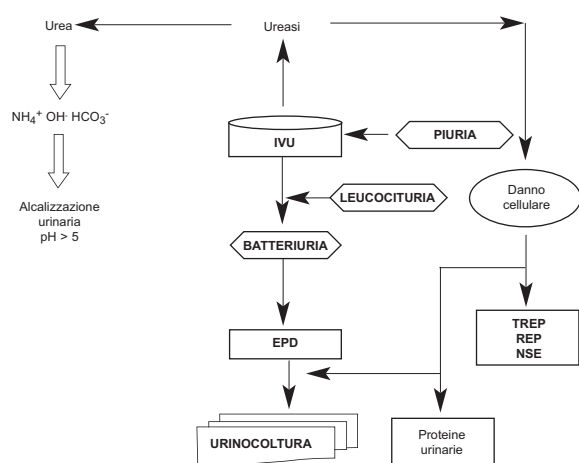


Figura 1

Flusso logico analitico microbiologico (FLAM). La valutazione di leucocituria, piuria, cellule provenienti dall'epitelio urinario (NSE, TREP, REP), batteriuria ed elementi di piccole dimensioni (EPD) crea una correlazione tra segni clinici e malattia (infezione delle vie urinarie, IVU), identificando il campione come clinicamente significativo da inviare all'esame batteriologico.

DISCUSSIONE

Nella pratica quotidiana un elevato numero di campioni urinari richiede l'esame batteriologico, ma solo una minore percentuale di questi risulta positiva e quindi clinicamente significativa per una IVU. Come riportato dalla letteratura (4) e confermato dalla nostra esperienza, almeno il 75% di tutte le urinocolture eseguite risultano negative. Per questo motivo, ma anche per il continuo aumento dei costi gestionali e l'aumento del carico di lavoro, molti laboratori clinici si sono indirizzati verso un approccio alternativo che cerchi di ottimizzare l'esecuzione dell'esame batteriologico delle urine. Tale approccio è basato su uno screening preventivo delle batteriurie che possa distinguere rapidamente i campioni negativi per IVU da quelli positivi (6). Nella nostra esperienza abbiamo utilizzato un processo logico decisionale denominato FLAM che mette in relazione l'esame microscopico del sedimento urinario con il sospetto clinico di IVU. Valutando la presenza di leucociti, piuria, cellule [NSE, cellule epiteliali transizionali (TREP), cellule epiteliali renali (REP)], batteriuria e EPD, abbiamo distinto il campione con segni di laboratorio significativi per IVU, da sottoporre a esame batteriologico, dal campione non significativo dopo l'analisi di screening. Il campione semeiologicamente significativo è caratterizzato da leucociti e aggregati leucocitari, che insieme rappresentano un efficace segno di flogosi, cellule transizionali renali, che sono indice di flogosi e di danno alla mucosa delle vie urinarie e si ritrovano in piccole quantità in urine normali e in quantità maggiori in pazienti con IVU, e batteriuria che, se associata al quadro semeiologico prima indicato, ad una attenta analisi anamnestica e a sintomatologia clinica, è significativa per IVU. Contrariamente, il campione clinicamente non significativo non è caratterizzato dalla presenza della parte corpuscolata sopra citata, nonostante possa presentare, seppur in quantità minori, i leucociti (7).

In base ai nostri risultati, possiamo affermare che lo screening preventivo delle batteriurie e la valutazione del sedimento delle urine attraverso il FLAM può rappresentare un metodo sufficientemente accurato per indirizzare verso un sospetto di IVU.

BIBLIOGRAFIA

1. Stamm WE. Urinary tract infection and pyelonephritis. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th ed. New York: McGraw-Hill, 1998:817-22.
2. Faro S, Fenner DE. Urinary tract infections. Clin Obstet Gynecol 1998;41:744-54.
3. Hooton TM, Stamm WE. Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. Infect Dis Clin North Am 1997;11:551-81.
4. Camporese A. L'esame microbiologico dell'urina. Riv Med Lab-JLM 2002;3:38-43.
5. De Rosa R, Zannier L, Ferrai G, et al. IQ200 nuovo sistema di microscopia automatizzata delle urine: valutazione preliminare. Riv Med Lab-JLM 2004;5(suppl):259.
6. Cerroni F, Mancinelli F, Cipriani P, et al. Modello statistico quale supporto dell'indagine strumentale nella valutazione d'infezione urinaria. Biochim Clin 2007;31:406.
7. European Urinalysis Guidelines: Summary. Scand J Clin Lab Invest 2000;60:1-96.