

## Diagnostica delle infezioni delle vie urinarie mediante UF-100: un anno di esperienza in un laboratorio generale

S. Valverde\*, P. Maturi\*, L. Penzo\*, A. Giacomini\*,  
F. Antico\*, F. Manoni<sup>o</sup>, G. Gessoni\*.

\* Servizio di Medicina di Laboratorio A-ULS 14 "Chioggia". Primario dr. G. Gessoni

<sup>o</sup> Servizio di Medicina di Laboratorio A-ULS 17 "Monselice". Primario dr. F. Manoni

**Summary. Background:** Quantitative urine culture is one of most frequently requested tests in microbiology laboratories, where an automated system which is used for screening purposes is strongly needed to save technical staff time, costs and obtains rapid diagnosis of UTI. The authors report one year experience in diagnosis of acute urinary tract infections by using UF-100 cytometer.

**Methods:** We considered 17,104 urine samples submitted to our laboratory for microbiological examination. Each sample was analysed by UF-100 to assess quantitatively bacteriuria and leukocyturia. Samples with less than 25 leukocyte/mL and/or 3,000 bacteria/ml were considered negative at the screening test and discharged without further examination. Urine samples with leukocytes and/or bacteria over the cut-off values were submitted to culture. A system for revelation of false negative was implemented by a surveillance of resubmitted samples

**Results:** Out of the total 17,104 samples considered we obtained 11,625 (67.97%) negative and 5479 (32.03%) positive results by using the UF-100 screening, in 935 (5.47%) of positive samples by screening test we did not observed significant bacterial growth (false positives) by cultural method. If a physician resubmit to our laboratory, within 48 hours, a new sample of a patients with a negative result obtained by using the UF-100 screening, we performed a full microbiological examination of the sample and if we observed a significant bacterial growth we considered the screening result a false negative of the test. Adopting these criteria we observed 243 false negative samples (1.42%). After statistical evaluation of the analytical performance our protocol sensitivity was 0.95, the specificity was 0.93, the positive predictive value was 0.83, the negative predictive value was 0.98 and the incidence of correctly classified was 0.95.

**Conclusions:** After an year of experience, in our opinion, quantification of leukocytes and bacteria in urine samples by using UF-100 cytometer is an useful method for screening of UTI. Moreover in our laboratory practice this screening is available as a by-product of routine examination of urine.

**Riassunto.** L'urinocoltura è il test richiesto con maggiore frequenza nel Laboratorio di Microbiologia clinica, ciò giustifica l'introduzione di sistemi automatici per lo screening. Infatti la disponibilità di una metodologia di screening affidabile ed in grado di fornire risultati in tempi brevi sarebbe ampiamente auspicabile sia per il risparmio di risorse che per la possibilità di abbreviare i tempi di risposta. Gli autori descrivono nel presente lavoro un anno di esperienza nella diagnosi delle infezioni acute delle vie urinarie utilizzando un citometro UF100.

**Metodi:** Da ottobre 2001 a settembre 2002 abbiamo esaminato 17.104 campioni urinari inviati al nostro laboratorio per un esame colturale. Ciascun campione è stato analizzato con UF100 al fine di ottenere un dosaggio quantitativo della batteriuria e della leucocituria. I campioni presentati meno di 25 leucociti/uL e/o 3000 batteri/ul sono stati considerati negativi e non sottoposti ad ulteriori test. I campioni con leucociti e/o batteri superiori al cut-off sono stati sottoposti a coltura. Mediante la sorveglianza dei campioni reinviati al nostro Laboratorio abbiamo messo a punto un sistema per la rilevazione dei falsi negativi.

**Risultati:** Dei 17.104 campioni considerati 11.625 (66.97%) erano negativi allo screening con UF100 mentre 5.479 (32.03%) erano positivi. In 935 dei campioni positivi (5.47%) non abbiamo osservato una crescita batterica significativa all'esame colturale (falsi positivi dello screening). Nel caso un medico inviasse entro 48 ore al nostro laboratorio un nuovo campione di un paziente risultato negativo allo screening, tale campione veniva direttamente sottoposto ad esame colturale. In caso si evidenziasse una crescita batterica significativa si considerava questo risultato come un falso negativo del test. Secondo questi criteri i falsi negativi sono stati 243 (1.42%). Dopo valutazione statistica la performance analitica del protocollo suggerito era la seguente: sensibilità 0.95, specificità 0.93, valore predittivo positivo 0.83, valore predittivo negativo 0.98 incidenza di ben classificati 0.95.

**Conclusioni:** Dopo un anno di esperienza, secondo i risultati trovati nel nostro studio la quantificazione di batteriuria e piuria mediante UF100 costituisce un ottimale metodo per la diagnosi rapida delle infezioni delle vie urinarie. Soprattutto tenendo conto che nella nostra realtà operativa tale risultato si ottiene come "by product" della routinaria analisi chimico-fisica delle urine dove il test con UF100 ha preso il posto dell'esame microscopico del sedimento.

## Introduzione

L'urinocoltura è l'esame microbiologico maggiormente richiesto nel Laboratorio di Patologia Clinica. Tale esame ben si presta alla applicazione di una diagnostica rapida di screening per le seguenti motivazioni: elevata incidenza di campioni negativi, campione disponibile in discreta quantità e facilmente ottenibile, infezioni abitualmente monomicrobiche ed numero relativamente ristretto di germi responsabili della grande maggioranza delle infezioni [9]. I parametri di norma considerati nello screening delle infezioni urinarie sono la batteriuria e la leucocituria [2,17].

In alcuni precedenti lavori, abbiamo condotto una valutazione preliminare delle possibili applicazioni, nella diagnostica rapida delle infezioni urinarie (IVU), della valutazione quantitativa della leucocituria e della batteriuria condotte utilizzando un citometro a flusso: Sysmex UF-100 (TOA Medical Electronics, Kobe Japan) [12-14,18]. Sugerivamo quindi un diagramma diagnostico utilizzante la determinazione della batteriuria con cut-off a 3000 elementi/uL e della leucocituria con cut-off a 25 elementi/uL [14]. Del resto cut-off simili sono stati proposti anche da altri autori [1,5,11,20]. Secondo il diagramma diagnostico da noi proposto ciascun campione da sottoporre ad urinocoltura veniva testato con UF-100, se la batteriuria e/o la leucocituria risultavano inferiori al cut-off il campione veniva considerato negativo, non era sottoposto ad ulteriori accertamenti e veniva prodotto il relativo referto, che risultava disponibile per il medico curante entro 4 ore dal ricevimento del campione. Se uno dei due parametri considerati eccedeva il cut-off il campione veniva sottoposto alla tradizionale urinocoltura con semina su terreni ad ampia fertilità nonché elettivi e selettivi, si procedeva alla quantificazione della carica batterica, si eseguiva la tipizzazione biochimica dei germi isolati e la determinazione del loro profilo di sensibilità ai chemioantibiotici. Prima di introdurre questo protocollo diagnostico abbiamo messo a punto un sistema per la rilevazione ed il monitoraggio dei campioni "falsamente negativi" allo screening. In pratica considerato lo scarso tempo intercorrente tra la ricezione del campione e la produzione di un referto negativo, in presenza di persistenza di sospetto diagnostico di IVU era semplice per il Medico Curante inviare nuovamente in laboratorio il paziente con un nuovo campione prima di iniziare qualsiasi terapia. Quindi se un paziente si ripresentava presso il nostro laboratorio entro 48 ore dalla consegna di un referto negativo ottenuto con lo screening mediante UF-100, il campione veniva direttamente sottoposto a semina e se si osservava una

crescita batterica significativa, consideravamo questo caso come un risultato falso negativo dello screening.

Sulla base delle esperienze maturate abbiamo deciso di introdurre questo protocollo diagnostico nella routine del nostro Laboratorio di Patologia Clinica. Il presente studio riporta i risultati ottenuti in un anno di esperienza.

## Materiali e metodi

Nei 12 mesi intercorrenti tra l'ottobre 2001 e il settembre 2002 il nostro Laboratorio di Patologia Clinica ha ricevuto 17.104 campioni con richieste di urinocoltura. Di questi campioni 7.985 pari al 46.68% provenivano da pazienti di sesso maschile con età compresa tra 3 mesi ed 88 anni (media 55 anni); 9.119 campioni pari al 53.32% sono stati ottenuti da soggetti di sesso femminile con età compresa tra 1 mese e 92 anni (media 52 anni). Dei prelievi considerati 7.425 pari al 43.41% sono stati ottenuti da pazienti ricoverati, mentre i restanti 9.679 pari al 56.59% sono stati ottenuti da pazienti ambulatoriali. La gran parte di questi prelievi (16.519 pari al 96.58%) sono stati ottenuti con la tecnica del mitto intermedio, 193 campioni pari al 1.13% sono stati ottenuti mediante un catetere endovescicale, 392 campioni (2.29%) infine sono stati ottenuti utilizzando dei dispositivi esterni tipo sacchetto pediatrico. I campioni sono stati raccolti in contenitori sterili ed una aliquota di 12 mL è stata trasferita in una provetta ed analizzata entro 1 ora dalla accettazione del prelievo.

Ciascun campione inviato per analisi microbiologica delle urine è stato sottoposto a screening utilizzando la strumentazione UF-100. L'analizzatore UF-100 esegue un'analisi della frazione corpuscolata delle urine mediante citometria a flusso, vengono analizzati sia i componenti cellulari quali eritrociti, leucociti, cellule epiteliali, come altri componenti quali batteri, miceti, cristalli, cilindri etc. Per la valutazione delle caratteristiche volumetriche, l'UF-100 integra i dati ottenuti da impedenziometria e forward light scatter, mentre le caratteristiche di complessità nucleare e citoplasmatica vengono valutate mediante due distinti fluorocromi uno liposolubile che colora le membrane e l'altro che si lega alle basi del DNA. Gli elementi corpuscolati presenti sono categorizzati in uno spazio bidimensionale definito da assi cartesiani chiamato "scattergram" in base alla forma, alle dimensioni ed alle caratteristiche di colorazione [7,20].

Per quanto attiene il presente studio sono stati considerati positivi allo screening con UF-100 i campioni

con leucocituria superiore ai 25 elementi/uL e/o batteriuria significativa. Per quanto attiene la batteriuria abbiamo considerato come non significativi i valori inferiori a 3000 elementi/uL, come campioni con carica batterica moderata se la conta era compresa tra 3000 ed 8000 elementi/uL, come campioni ad alta carica se la conta era superiore a 8000 elementi/uL. Solo i campioni positivi allo screening (o riproposti come descritto) sono stati sottoposti all'esame microbiologico standard delle urine.

L'esame microbiologico standard delle urine è stato condotto inoculando dei terreni solidi mediante un'ansa monouso calibrata da 0.001 mL entro 4 ore dall'accettazione del campione. I campioni sono stati seminati su un terreno non selettivo come l'Agar CLED (Agar, Cistina, Lattosio carenti in elettroliti) per la quantificazione della crescita batterica; nonché su due terreni selettivi Agar McConkey, per una ottimale evidenziazione delle Enterobatteriacee, e Agar CNA (Agar Sangue addizionato con Colistina ed acido Nalidixico) per migliorare l'isolamento degli Enterococchi. Dopo incubazione per 24 ore a 37° la crescita batterica su CLED Agar è stata quantificata come segue: da 0 a 10 colonie (sotto 10.000 UFC/mL): negativo; da 11 a 100 colonie (da 10.000 a 100.000 UFC/mL) crescita moderata; sopra 100 colonie (sopra 100.000 UFC/mL) crescita elevata. Un esame colturale è stato considerato come contaminato in presenza di 3 o più specie batteriche nessuna delle quali responsabile di almeno l'80% delle colonie evidenziate. Negli esami colturali in cui si era osservata una crescita giudicata significativa (in base al numero di UFC/mL, al germe isolato, al tipo di campione), è stata eseguita l'identificazione biochimica del ceppo batterico isolato e la determinazione del profilo di sensibilità ai farmaci antibatterici utilizzando un sistema automatico dedicato: DADE Microscan (DADE International Inc. Sacramento, CA USA) [1,5,9].

La valutazione della performance analitica del nostro protocollo è stata eseguita mediante determinazione di valori di specificità, sensibilità valore predittivo positivo, valore predittivo negativo e l'incidenza di ben classificati. Per il raffronto delle proporzioni abbiamo utilizzato il test Chi Quadro di Pearson [19].

## Risultati

Abbiamo considerato 17.104 urino-colture ciascuna delle quali è stata sottoposta a screening utilizzando la strumentazione UF-100. Di questi campioni 11.625, pari al 67.97% hanno dato esito negativo. Tutti questi risultati sono stati messi a disposizione

del Medico Curante entro quattro ore dalla accettazione del prelievo.

Utilizzando lo schema diagnostico proposto 5.479 campioni, pari al 32.03% sono risultati positivi, tutti questi campioni sono stati sottoposti ad un esame colturale di routine come sopra descritto. In 935 di questi campioni, pari al 5.47% non è stata osservata una crescita batterica significativa all'esame colturale, tali risultati sono stati considerati come dei falsi positivi del metodo. Per tali campioni il referto è stato disponibile per il Medico curante entro ventiquattro ore dalla accettazione del campione. In 321 di questi pazienti lo screening con UF-100 aveva permesso di evidenziare solo una leucocituria superiore al cut-off, in 432 è stata evidenziato soltanto una batteriuria superiore al cut-off, in 182 era stata evidenziato sia una batteriuria che una leucocituria superiori al cut-off. In questi 935 campioni la batteriuria quantificata con UF-100 era inferiore a 3000 elementi/uL in 321 pari al 34.33%; tra 3000 e 8000 elementi/uL in 452 pari 48.34% e superiore a 8000 elementi/uL in 162 campioni pari al 17.33%.

In 4.544 campioni abbiamo osservato una crescita batterica significativa (veri positivi allo screening con UF-100). In questi pazienti si è proceduto alla identificazione della specie batterica isolata ed alla determinazione del suo profilo di sensibilità ai farmaci antibatterici. Di norma in questi casi il referto definitivo era disponibile per il Medico Curante dopo quarantotto ore dalla accettazione del campione. Le specie batteriche, che nella nostra esperienza sono state isolate con maggiore frequenza sono evidenziate nella tabella I.

Come descritto in precedenza se un Medico Curante riteneva che, non ostante un risultato negativo fornito dallo screening con UF-100, permanesse un fondato sospetto di una IVU e quindi decidesse di inviare un nuovo campione al nostro Laboratorio, tale campione "riproposto", individuato mediante il programma gestionale del Servizio, veniva immediatamente avviato all'esame colturale classico ed in presenza di una crescita batterica significativa veniva considerato un falso negativo del test. Secondo tali criteri i falsi negativi allo screening con UF-100 sono stati 243, pari al 1.42%. Nella tabella I sono riportati i germi isolati più di frequente in questi 243 campioni. Rispetto al gruppo di campioni positivi allo screening con UF-100 si osserva un significativo ( $p < 0.05$ ) aumento delle infezioni da batteri Gram positivi, soprattutto *Enterococcus sp* con una consensuale diminuzione delle infezioni da batteri Gram negativi. Tra questi da segnalare la diminuzione delle infezioni da *Escherichia coli* con un aumento del numero di casi sostenuti da *Pseudomonas sp*, *Proteus sp* ed *Acinetobacter sp*. La quantifica-

zione della carica batterica su CLED agar in questi 243 campioni ha permesso di evidenziare come in 142 pari al 58,44% il numero di UFC evidenziato si situasse tra 10.000 e 100.000. La quantificazione della batteriuria con UF-100, negli stessi campioni dava risultati compresi tra 3000 ed 8000 elementi/mL in 167 campioni, pari al 68,72%.

Il nostro protocollo diagnostico, nelle condizioni operative descritte, ha dimostrato una sensibilità di 0,95, una specificità di 0,93, un valore predittivo positivo di 0,83, un valore predittivo negativo di 0,98, una incidenza di ben classificati pari a 0,95.

## Discussione

Nella pratica del laboratorio clinico l'urinocoltura è senza alcun dubbio l'esame microbiologico richiesto con maggior frequenza. Un gran numero di urine sono quindi quotidianamente sottoposte all'esame colturale standard e la gran parte di queste danno un risultato negativo [9,17]. In questo studio illustriamo la nostra esperienza nella diagnosi delle IVU utilizzando come screening la valutazione quantitativa di batteriuria e leucocituria fornite dal citometro UF-100 durante il procedimento di analisi standard della frazione corpuscolata delle urine che nel nostro laboratorio ha preso il posto dell'esame microscopico del sedimento urinario in corso di esame chimico-fisico delle urine. Il protocollo diagnostico adottato è già stato descritto in un nostro precedente studio ed è schematizzato nella figura 1.

Nei dodici mesi considerati abbiamo processato 17.104 campioni di urine per esame colturale, 11.625 (67,97%) hanno fornito un risultato negativo allo screening con UF100. Per tutti questi campioni il referto è stato disponibile per il medico curante entro quattro ore dalla accettazione del campione. Nella nostra esperienza quindi la prevalenza dei campioni negativi è in buon accordo con quanto riscontrato in precedenza e ben si confronta con i dati riportati in letteratura [3,6,21]. Sembra rilevante far notare come grazie al nostro protocollo, il Medico Curante, ha ricevuto in oltre i due terzi dei pazienti un tempestivo risultato negativo con una pronta indicazione per l'esclusione di una IVU e quindi abbia potuto prendere in considerazione altre alternative diagnostiche oppure evitare di iniziare una terapia antibiotica su base empirica.

Adottando i criteri già descritti, a posteriori, abbiamo osservato come tra questi campioni negativi allo screening vi fossero 243 (1,42%) falsi negativi. Per questi pazienti proprio a causa della tempestività del risultato negativo è stato relativamente semplice per

il Medico Curante avere un approccio critico al dato di Laboratorio che si presentava in contrasto con il quadro clinico del paziente, e quindi decidere di inviare un nuovo campione al fine di ottenere un completo ed accurato esame microbiologico, anche in questo caso prima di iniziare qualsiasi trattamento empirico. Questi campioni "reinvii", individuati dal nostro sistema informatico, sono tutti stati seminati direttamente sui terreni da coltura come sopra descritto, ovviamente il campione è stato considerato come un falso negativo dello screening solo in presenza di una crescita batterica significativa. I risultati relativi alla frequenza dei ceppi batterici isolati in questo gruppo di pazienti è stato considerato separatamente da quelli positivi allo screening. Come dimostrato nella tabella tra questi due gruppi di campioni si possono osservare alcune interessanti differenze nella distribuzione dei ceppi batterici, ad esempio una maggior prevalenza di batteri Gram positivi, soprattutto *Enterococcus sp*, una diminuzione dei batteri Gram negativi, in particolar modo *E. coli* con un aumento degli isolamenti di *Pseudomonas sp*, *Proteus sp* ed *Acinetobacter sp*. Inoltre tra i campioni falsamente negativi allo screening la quantificazione della carica batterica su CLED Agar nel 58,32% dei casi era compresa tra 10.000 e 100.000 UFC/mL, questa prevalenza differisce in maniera statisticamente significativa ( $p < 0.05$ ) da quanto osservato tra i pazienti positivi allo screening (27,49%). La quantificazione della batteriuria con UF 100 in questi stessi 243 campioni dava risultati compresi tra 3000 e 8000 elementi/mL in 167 campioni pari al 68,72%. Tale prevalenza differisce in maniera statisticamente significativa ( $p < 0.05$ ) da quanto osservato nei pazienti positivi allo screening (18,99%). Sembra interessante sottolineare come, pur utilizzando due metodiche totalmente differenti quali la valutazione delle UFC su CLED-Agar (che valuta le cellule batteriche in grado di replicarsi, partendo dal presupposto teorico che ciascuna colonia sia un clone originato da una sola cellula) e la quantificazione della batteriuria su UF-100 (che conta i batteri come particelle, con metodo impedenziometrico, prescindendo dalla loro vitalità), vi sia una sostanziale correlazione per ranghi tra i risultati ottenuti. Ossia vi sia una sostanziale concordanza nel classificare un campione come presentante una carica batterica non significativa, intermedia (UFC tra 10.000 e 100.000, batteriuria tra 3.000 e 8.000) od elevata (UFC oltre 100.000, batteriuria oltre 8.000). Nella nostra realtà operativa non esistono, in pratica, altre strutture diagnostiche diverse da nostro Laboratorio, quindi le possibilità di un drop-out dei pazienti con risultati falsamente negativi che potrebbero essersi rivolti, di propria iniziativa o su in-

**Tabella I: Crescita batterica osservata nei campioni sottoposti ad esame microbiologico**

	UF100 positivi		UF100 negativi	
	Numero	%	Numero	%
<b>Gram positivi</b>				
Enterococcus spp*	669	14.72	63	25.93
Staphylococcus spp	99	2.18	9	3.70
Streptococcus spp	81	1.78	6	2.47
Altri	12	0.26	4	1.65
Totale Gram positivi*	864	19.01	82	33.74
<b>Gram negativi</b>				
Escherichia coli*	2.352	51.76	71	29.22
Klebsiella spp	344	7.56	6	2.47
Proteus spp*	254	5.58	19	7.82
Pseudomonas spp*	252	5.55	23	9.47
Enterobacter spp	174	3.83	11	4.53
Providencia spp	54	.19	2	0.82
Morganella spp	51	1.13	2	0.82
Serratia spp	51	1.13	3	1.23
Citrobacter spp	44	0.96	1	0.41
Acinetobacter spp*	29	0.63	12	4.94
Salmonella spp	18	0.41	1	0.41
Altri	59	1.29	10	4,12
Totali Gram negativi*	3,680	80.99	161	66.16
<b>Totali (Gram positivi and Gram negativi)</b>	<b>4.544</b>	<b>100.00</b>	<b>243</b>	<b>100.00</b>

\* Differenza statisticamente significativa ( $p < 0.05$ )

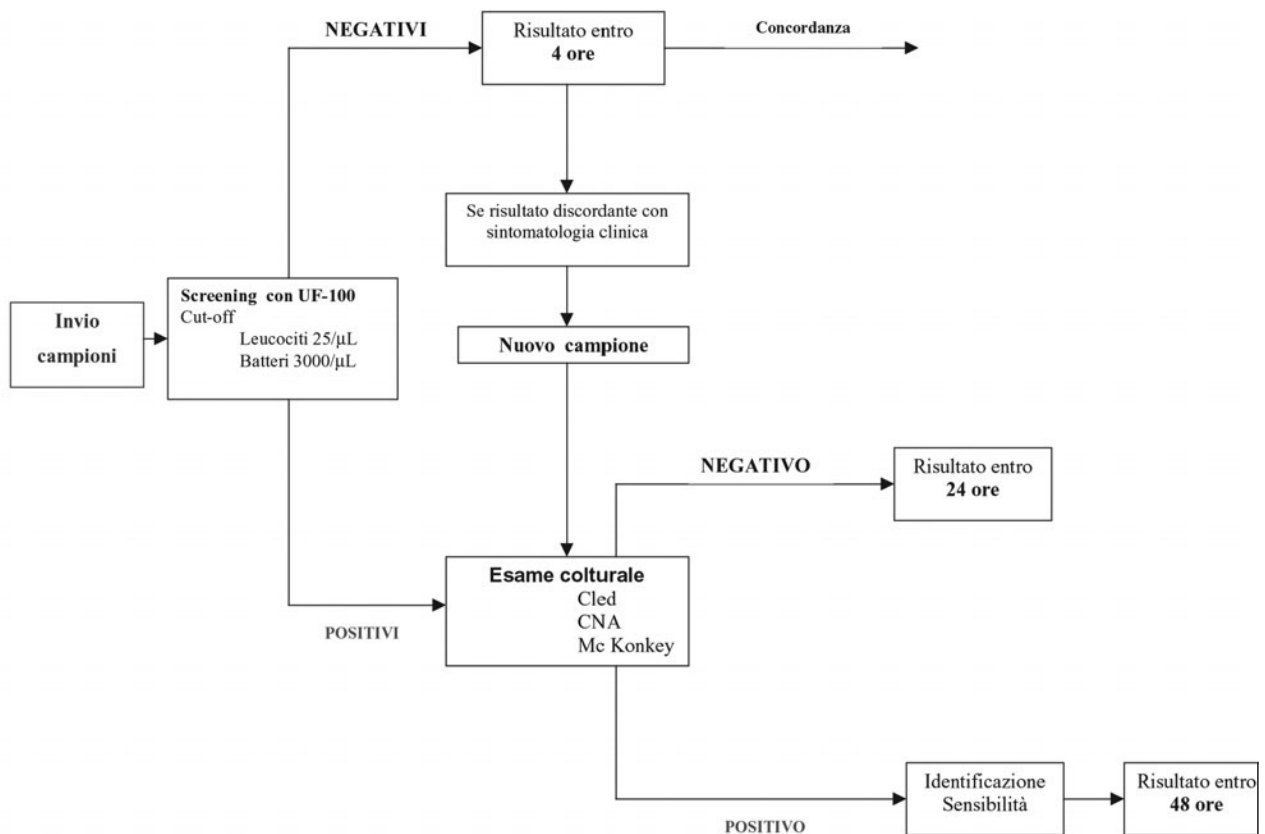
La tabella mostra separatamente le crescite batteriche osservate in 4544 campioni positivi allo screening con UF100 e nei 243 campioni negativi allo screening con UF100.

dicazione del Curante, ad altri Laboratori appare assai remota.

I campioni positivi allo screening con UF-100 sono stati 5.479, pari al 32,03%, di questi 935 pari al 5,47% non hanno dimostrato una carica batterica significativa all'esame colturale e quindi sono stati considerati come dei falsi positivi allo screening con UF-100. Per tutti questi 935 campioni un referto negativo è stato reso disponibile per il Medico Curante 24 ore dopo l'accettazione del campione. In 321 di questi campioni la positività allo screening era sostenuta dalla sola leucocituria, essendo la batteriuria inferiore ai 3000 elementi/uL, 218 di questi campioni (67,91%) provenivano da pazienti di sesso femminile. E' quindi possibile ipotizzare una provenienza dei leucociti dalle mucose genitali piuttosto che dalle vie urinarie. In 432 campioni è stata evidenziata solamente una batteriuria in assenza di una

leucocituria significativa, in questo caso è possibile ipotizzare la possibilità di una crescita batterica dovuta ad una inadeguata metodologia nella raccolta e manipolazione del campione. A riprova di ciò in 317 di questi campioni (73.38%) abbiamo osservato una crescita polimicrobica giudicata non significativa in base a criteri enunciati. In 182 campioni lo screening con UF-100 ha dimostrato la contemporanea presenza di batteriuria e di leucocituria significative in questo caso possono essere avanzate ipotesi differenti, ad esempio la presenza di una flogosi genitale od una infezione urinaria sostenute da germi non coltivabili sui terreni di coltura abituali [9]. Nella valutazione di questi pazienti potrebbe essere utilmente sfruttata la possibilità fornita dalla strumentazione UF-100 di distinguere i leucociti che siano rimasti a lungo nelle urine da quelli più "freschi" [19]. Infatti i neutrofili che hanno soggiornato per

Figura 1: diagramma di flusso illustrante il percorsi diagnostico adottato



Tutti i campioni con richiesta di esame colturale delle urine sono stati sottoposti a quantificazione della batteriuria e della leucocituria con strumentazione UF-100.

In assenza di batteriuria e/o leucocituria significative il campione veniva considerato negativo e non sottoposto ad ulteriori accertamenti, contemporaneamente veniva prodotto il referto che era disponibili entro quattro ore dalla accettazione del campione.

In presenza di batteriuria e/o leucocituria significative si procedeva alla semina del campione. Se l'esame colturale non dava una crescita significativa si considerava questo campione come un falso positivo del test, si produceva un referto negativo che era disponibile entro 24 ore dalla accettazione del campione. In caso di crescita significativa si considerava il campione come un vero positivo del test, si procedeva alla identificazione del germe isolato ed alla determinazione del suo profilo di sensibilità ai farmaci antimicrobici, il referto completo era di norma disponibile 48 ore dopo l'accettazione del campione.

I Medici Curanti erano stati invitati preventivamente ad inviare sollecitamente un nuovo campione in Laboratorio in caso il risultato negativo fornito dal test UF-100 non concordasse con il quadro clinico, un sistema esperto creato appositamente nel nostro software gestionale evidenziava questi campioni (se inviati nuovamente entro 48 ore da un risultato negativo). Tutti questi campioni sono stati sottoposti ad un esame microbiologico completo, in caso di crescita batterica significativa il campione era considerato un falso negativo del test.

poco tempo nelle urine vengono raggruppati in un cluster caratterizzato da alti valori di forward light scatter, questo valore diminuisce mano a mano che si prolunga il tempo di permanenza nelle urine a livello della vescica urinaria [4,10,16].

In 4544 campioni, pari al 26,57% del totale, la positività allo screening con UF-100 è stata confermata all'esame colturale. Questi campioni sono stati considerati come veri positivi allo screening. In tutti questi campioni è stata eseguita l'identificazione biochimica dei ceppi batterici isolati e la determinazione del loro profilo di sensibilità ai farmaci antibatterici. Di norma i referti di questi campioni sono stati nella grande maggioranza dei casi (89%) dispo-

nibili per il Medico Curante entro 48 ore dalla accettazione del prelievo, lo 11% dei campioni ha richiesto ulteriori 24 ore, la tempistica della refertazione rispecchia quanto richiesto dalle Linee Guida Europee [9]. La distribuzione dei ceppi batterici osservata nella nostra esperienza è quella attesa con una larga predominanza di batteri Gram negativi, *Escherichia coli* in primis, tra i batteri Gram positivi il germe isolato con maggiore frequenza ed *Enterococcus faecalis*.

Nella nostra esperienza quindi lo screening condotto con UF-100 ha mostrato 26,57% veri positivi, 5,47 falsi positivi, 1,42 falsi negativi, 66,55% veri negativi. Quindi il nostro protocollo diagnostico, nelle

condizioni operative descritte, ha dimostrato una sensibilità di 0,95, una specificità di 0,93, un valore predittivo positivo di 0,83, un valore predittivo positivo negativo di 0,98, una incidenza di ben classificati pari a 0,95. In particolare sembra assolutamente degno di nota il valore predittivo negativo, il risultato ottenuto sta a significare che un paziente risultato negativo allo screening con UF-100, basato sulla determinazione quantitativa della batteriuria e della leucocituria con i cut-off descritti, ha il 98% di possibilità di essere effettivamente esente da una Infezione delle vie urinarie. Questi risultati sono in accordo con i risultati riportati in letteratura sebbene con alcune eccezioni [8,14,15,17,21].

## Conclusioni

Dalla esperienza maturata presso il nostro Laboratorio risulta evidente che la diagnosi di IVU ottenuta mediante quantificazione della batteriuria e della leucocituria con UF-100 è affidabile quasi quanto la classica coltura che però richiede 24 ore per produrre un risultato negativo, mentre il metodo da noi proposto permette di evidenziare un campione negativo in pochi minuti e di produrre il relativo referto la mattina stessa della accettazione del campione. Nel nostro Laboratorio vengono effettuate ogni anno circa 90000 analisi delle urine, il 20% di queste presentano anche la richiesta di effettuare una urinocoltura. La nostra routine diagnostica vede due strumentazioni automatiche Super Aution (Menarini FI) per effettuare l'analisi chimico-fisica mediante la classica metodologia Dipstik, ciascuno strumento è accoppiato ad un citometro UF-100 che in successione esegue la valutazione della porzione corpuscolata delle urine (usualmente non più del 50% dei campioni viene sottoposto a controllo microscopico di solito per valutare discordanze tra presenza di Hb e di eritrociti dovute alle interferenze da parte di cristalli di ossalato). Nella nostra realtà il costo onnicomprensivo di una analisi effettuata con UF-100 è di 0,69 Euro. In questa fase avviene la quantificazione di batteriuria e leucocituria che quindi non costituiscono un nuovo esame che si va ad aggiungere ad una routine diagnostica già gravosa ma solo un metodo di interpretazione di risultati che scaturiscono come sottoprodotto da un esame già comunque effettuato quale la valutazione della frazione corpuscolata delle urine.

## Bibliografia

1. Balows A, Hausler K, Iseberg H, Shadomy H. Ma-

- nual of clinical microbiology 5<sup>th</sup> edition. American Society of Clinical Microbiology Washington DC 1991.
2. Ben-Ezra J, Bork L, Mc Pherson R. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. Clin Chem 1998; 44: 92-95.
  3. Dimech W, Roney K. Evaluation of an automated urinalysis system for testing urine chemistry, microscopy and culture. Pathology 2002; 34: 170-7.
  4. Fenili D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100). Clin Chem Lab Med. 1998; 36/12: 909-17.
  5. Gavan T, Town M. A microdilution method for antibiotic susceptibility testing. Amer J Clin Pathol 1970; 53: 880-5.
  6. Hannemann-Pohl K, Kampf S. Automation of urine sediment examination: a comparison of the Sysmex UF-100 automated flow cytometry with routine manual diagnosis (microscopy, test strips and bacterial culture). Clin Chem Lab Med 1999; 37: 753-64.
  7. Hyodo T, Kumano K, Haga M, Sakai T. Detection of glomerular red blood cells by automated urinary sediment analyzer. Jpn J Nephrol 1995; 37: 35-43.
  8. Kouri T, Kahkonen U, Malminiemi K, Vuento R, Rowan M. Evaluation of Sysmex UF-100 urine flow cytometer vs chamber counting of supravitality stained specimens and conventional bacterial cultures. Am J Clin Pathol 1999; 112: 25-35.
  9. Kouri T, Fogazzi V, Hallander H, Hofmann W, Guder W. European Urinalysis Guideline. Scabd J Clin Invest 200; 60S: 1-96.
  10. Langlois M, Delalanghe J, Steyaert S, Everaert K, Buyzere M. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. Clin Chem 1999; 45: 118-122.
  11. Lun A, Ziebig R, Hammerr H, Otting U, Filler G, Sinha P. Reference values for neonate and children for the UF-100 urine flow cytometer. Clin Chem 1999; 45: 1879-80.
  12. Manoni F, Valverde S, Antico A, Giacomini A, Salvadego M, Gessoni G. Measurement of urine leukocytes by a second generation flow cytometer; application in the diagnosis of acute urinary tract infections in adult patients. Rivista di Medicina di Laboratorio 2001; 3: 19-27.
  13. Manoni F, Valverde S, Antico F, Salvadego M, Gessoni G. Screening della batteriuria con un citofluorimetro dedicato all'analisi della frazione corpuscolata delle urine. Med. Lab. 1999; 1: 46-50.
  14. Manoni F, Valverde S, Antico F, Salvadego M, Giacomini A, Gessoni G. Field evaluation of a second generation cytometer UF-100 in diagnosis of acute urinary tract infections in adult patients. Clin Microb Infect 2002; 8: 662-8.
  15. Muranaka K. Clinical use of the UF-100 for the diagnosis of urinary tract infection. Sysmex J Int 1996; 6: 46-50.
  16. Rossetti R, Masi R. Impiego dello strumento UF-100 come metodica di screening per la diagnosi delle infezioni urinarie. Microbiologia Medica 2002; 17/3: 312-6.

17. Regeniter A, Haenni V, Risch L, Kochli H, Colombo J, Frei R, Huber A. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, distick chemistry and bacterial culture, resulta a multicenter study. *Clin Nephrol* 2001; 55: 384-92.
18. Valverde S, Antico F, Gessoni G, Giacomini A, Salvadego M, Manoni F. Diagnosi delle infezioni delle vie urinarie mediante quantificazione della batteriuria e della leucocituria con un citometro a flusso. *Bollettino di Microbiologia e Indagini di Laboratorio* 2001; 7: 29-37.
19. Vecchio T. Predictive value of a single diagnostic test in unselected populations. *New Engl J Med* 1966; 274: 1171-3.
20. Yasui Y, Tatsumi N, Park K, Koezuka T. Urinary sediment analyzed by flow citometry. *Cytometry* 1995; 22: 75-9.
21. Zamann Z, Roggeman S, Veerhaegen J. Unsatisfactory performance of flow cytometer UF-100 and urine strips in predicting outcome of urine cultures. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4169-71.