

Indicazioni per la misura dell'albumina nelle urine per l'accertamento e il monitoraggio della nefropatia diabetica

Maria Stella Graziani¹, Anna Lucia Caldini² per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Diabete Mellito

¹Laboratorio Analisi, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

²Laboratorio Generale, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

ABSTRACT

Recommendations on the urine albumin measurement for diagnosis and monitoring of diabetic nephropathy.

We present here a recommendation for the urine albumin measurement in diabetic nephropathy. The suggestions are derived from those by the IFCC-National Kidney Disease Education Programme (NKDEP) Working Group on Standardization of Urine Albumin Assays (WG-SAU) and are based on the best available evidence. They cover pre-analytical, analytical, and post-analytical phases.

INTRODUZIONE

La nefropatia diabetica è una delle complicanze croniche del diabete mellito; si manifesta nel 20%-40% dei diabetici ed è la principale causa di nefropatia allo stadio terminale (1, 2). Una diagnosi precoce permette di istituire terapie adeguate volte a rallentare il decorso. D'altra parte, le malattie cardiovascolari sono la causa principale di mortalità e di morbidità nei soggetti diabetici; si stima infatti che i diabetici presentino un rischio di eventi cardiovascolari pari a quelli della popolazione cardiopatica non diabetica. Studi clinici hanno dimostrato che ridurre i fattori di rischio cardiovascolare e istituire terapie adatte può essere una strategia efficace nel prevenire o rallentare le complicanze cardiovascolari nei diabetici (1, 2).

L'albumina urinaria è un marcatore importante per lo sviluppo di nefropatia diabetica, ma anche un fattore di rischio ben noto di sviluppo di patologia cardiovascolare (1-3). La sua misura è quindi indicata nei pazienti diabetici che sono a rischio elevato sia di insufficienza renale, che di eventi cardiovascolari. In particolare, l'incremento dell'escrezione urinaria di albumina aumenta la probabilità di sviluppare insufficienza renale cronica rendendo quindi utile la misura della albuminuria anche dopo l'istituzione della terapia, al fine di valutarne l'efficacia (4).

Le raccomandazioni nazionali e internazionali concordano nel suggerire la misura di albumina nelle urine annualmente sia nei pazienti con diabete di tipo 1 con durata della malattia >5 anni, che in tutti i pazienti con diabete di tipo 2, indipendentemente dalla durata della malattia (1, 2). Per la diagnosi di nefropatia

diabetica, vista l'elevata variabilità biologica di questo parametro, la determinazione dell'albuminuria deve risultare positiva in almeno due campioni su tre, raccolti in un intervallo di 3-6 mesi.

Nonostante la documentata importanza clinica, la standardizzazione della misura dell'albumina urinaria non è ottimale, come evidenziato anche dai risultati di un questionario distribuito e elaborato dal Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL Diabete Mellito pubblicati su questa rivista nel 2007 (5). Per affrontare il problema, è stato costituito un gruppo congiunto tra IFCC e "National Kidney Disease Education Programme" (NKDEP) (all'interno del quale SIBioC è rappresentata da un "Corresponding Member") che sta lavorando sull'argomento (6). Il gruppo di esperti ha fatto il punto sul problema, separando gli aspetti sui quali esiste già un consenso da quelli che richiedono ulteriori approfondimenti (7, 8). In questo documento, se ne riportano le principali indicazioni.

INDICAZIONI

Aspetti preanalitici

Le raccomandazioni in questo ambito sono sufficientemente chiare e omogenee.

Controindicazioni

L'esame non va eseguito se è in corso un'infezione urinaria, se è presente ematuria (micro o macro), se il soggetto ha svolto attività fisica intensa nei due-tre giorni precedenti l'esame o se ci sono episodi febbrili o stato flogistico in atto.

Corrispondenza a: Maria Stella Graziani, Laboratorio Analisi, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Piazzale Stefani 1, 37126 Verona. Tel. 0458122155, Fax 0458122970, E-mail mariastella.graziani@ospedaleuniverona.it

Ricevuto: 20.12.2010

Accettato: 13.01.2011

Tipo di campione

Il campione di urina raccomandato è quello del primo del mattino, sul quale eseguire la misura di albumina e creatinina. Possono essere utilizzati anche altri tipi di campione, come la raccolta delle 24 ore o altri campioni temporizzati. Il primo campione del mattino è preferibile in quanto presenta una variabilità biologica inferiore a quella degli altri campioni e non risente della eventuale interferenza da attività fisica o da proteinuria posturale.

Conservazione del campione

Il campione può essere conservato a +4 °C per qualche giorno (meno di una settimana). Se sono necessari periodi più lunghi di conservazione, è necessario congelare a -80 °C. Il congelamento a -20 °C è sconsigliato.

Trattamento del campione

Il campione conservato sia a +4 °C che a -80 °C deve essere portato a temperatura ambiente e mescolato accuratamente prima dell'analisi. I campioni che all'ispezione visiva risultino torbidi devono essere centrifugati per eliminare precipitati e componenti cellulari.

Aspetti analitici

Sistema di riferimento

Al momento manca un sistema metrologico di riferimento che sia internazionalmente riconosciuto. Il metodo di riferimento candidato è un metodo in cromatografia liquida/spettrometria di massa attualmente in fase di messa a punto negli Stati Uniti presso la "Mayo Clinic". Relativamente al materiale di riferimento, l'unico disponibile attualmente è il CRM 470 ottenibile tramite l'"Institute for Reference Materials and Measurements" (IRMM), che però deve essere opportunamente diluito, essendo un materiale a matrice sierica¹; è tuttavia in preparazione un materiale specifico all'interno di un progetto congiunto tra la Società Giapponese di Chimica Clinica e il "Committee for Clinical Laboratory Standard" (7).

Preliminare al successo di tali progetti è tuttavia la definizione del misurando: è noto infatti che il prerequisito fondamentale per una valida standardizzazione è una accurata definizione dell'analita che si vuole misurare. Per l'albumina urinaria, una definizione accurata non è facilmente ottenibile perché la proteina si trova nelle urine in forme molecolari multiple (frammenti, degradazioni parziali, forme glicate, ecc.). Alcuni anni fa questo problema era apparso particolarmente importante in quanto era stato ipotizzato che l'albumina "modificata" non fosse

riconosciuta dagli antisieri dei saggi immunochimici e che quindi i comuni metodi di laboratorio fornissero marcate sottostime della concentrazione della proteina (9). In realtà, studi successivi hanno potuto dimostrare che gli antisieri policlonali sono in grado di riconoscere anche le forme modificate della proteina e quindi il problema è stato superato (10).

Metodi di misurazione

Albumina. Il gruppo IFCC/NKDEP non ha fornito suggerimenti circa la qualità analitica che la misura di albumina nelle urine deve avere. Le raccomandazioni disponibili non sono quindi recenti, ma risalgono al 2002. Per le metodiche immunochimiche eseguite in laboratorio, il CV dovrebbe essere <15% e il limite di rilevabilità ~2 mg/L (11). Alcune altre indicazioni, basate su osservazioni in studi clinici, suggerirebbero invero un traguardo più stringente per l'imprecisione, che dovrebbe essere contenuta entro il 13% per l'albumina ed entro il 6% per il rapporto albumina/creatinina urinarie (12).

E' indispensabile che il laboratorio si attenga alla procedure di buona pratica, eseguendo il CQI ad ogni seduta analitica e partecipando regolarmente ai programmi di VEQ (5).

I metodi in chimica secca possono essere utilizzati come screening, ma le loro caratteristiche analitiche devono essere attentamente verificate e confrontate con i metodi disponibili in laboratorio, prima del loro utilizzo (13). Il vantaggio dell'utilizzo di metodiche "point-of-care" è dimostrato solo quando le strisce reattive presentano un elevato valore predittivo negativo, in quanto il campione positivo deve essere confermato dalla misura in laboratorio (1, 2, 13).

Creatinina. La determinazione del rapporto albumina/creatinina, essendo basato sulle rispettive determinazioni nelle urine, risente dell'imprecisione e dell'eventuale "bias" di entrambe le determinazioni. È quindi necessario che entrambe le metodiche siano standardizzate. Al momento non è disponibile un materiale di riferimento specifico per la creatinina urinaria e la maggior parte dei metodi commerciali utilizzano per le urine "standard" secondari in matrice sierica.

Aspetti post-analitici

Anche in questo ambito, su molti punti esiste sufficiente consenso (7, 8).

Denominazione dell'analita

È raccomandato l'abbandono del termine "microalbumina" o "microalbuminuria" e il passaggio ad una definizione più standardizzata, indicando l'analita (albumina) e il sistema nel quale questo viene misurato

¹ Tale materiale risulta ora esaurito e recentemente è stato sostituito con una nuova preparazione, denominata ERM-DA 470k/IFCC, che l'IRMM non ha però validato per la standardizzazione della misurazione dell'albumina nelle urine (NdEd).

(urine, U). Il referto deve quindi riportare "U-Albumina" o "Albuminuria" e i prescrittori sono invitati a richiedere "albuminuria" o "albumina urinaria".

Unità di misura

Le unità di misura possono essere µg/mg creatinina (in alternativa mg/g creatinina, che fornisce lo stesso risultato numerico) oppure mg/mmol creatinina, che genera tuttavia un risultato numerico nettamente diverso (quasi dieci volte più basso). Dato che è difficile dimostrare un'utilità superiore delle unità di misura convenzionali (mg) rispetto a quelle SI (mmol), il suggerimento è quello di stabilire una omogeneità di refertazione almeno all'interno della stessa area geografica (ad es., regione).

Livelli decisionali

I livelli decisionali per le nefropatia diabetica sono da tempo definiti e internazionalmente accettati (1, 2). Essi sono riportati nella Tabella 1 suddivisi per tipo di campione. È fortemente sconsigliato refertare l'albumina in mg/L quale unico valore riportato. L'utilizzo clinico di una tale informazione risulta infatti alquanto discutibile, in quanto fortemente dipendente dallo stato di idratazione del soggetto. Il suggerimento è la misura contemporanea della creatinina nel campione fresco con espressione del risultato come rapporto. In alternativa, è suggerita l'adozione del campione temporizzato e l'espressione per unità di tempo (24 ore o min).

Per i soggetti diabetici non è previsto un valore decisionale differenziato per sesso. Se questo possa essere utile per la definizione della malattia renale cronica nei soggetti non diabetici è tutt'ora argomento di dibattito (14).

Relativamente alla associazione della escrezione urinaria di albumina con il rischio cardiovascolare, i valori associati a rischio trascurabile non sono ancora stati concordemente stabiliti, ma studi epidemiologici diversi depongono per una concentrazione molto inferiore a quella identificata per la nefropatia diabetica. Se queste evidenze saranno confermate è possibile che sia necessario riportare nel referto valori decisionali differenti per le diverse motivazioni della richiesta e che

il limite di rivelabilità più sopra suggerito (~2 mg/L) debba essere abbassato per andare incontro a queste nuove esigenze (15, 16).

CONCLUSIONI

Al momento molti aspetti che riguardano la misura dell'albumina urinaria richiedono approfondimenti, così come va colmata l'indisponibilità di materiali di riferimento secondari per albumina e creatinina urinarie (17). Il gruppo IFCC/NKDEP sta lavorando al progetto e sono attesi a breve risultati importanti. Tuttavia, ci sono anche molti punti su cui il consenso degli esperti è unanime. Questi sono riassunti nella Tabella 2. Il recepimento da parte dei laboratori di queste indicazioni, unitamente alla buona pratica di laboratorio, è altamente auspicabile al fine di fornire risultati che siano di effettivo ausilio nella gestione del paziente diabetico.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Prof.ssa Annunziata Lapolla (Padova), la Dott.ssa Daniela Foti (Catanzaro) e la Dott.ssa Grazia Ferrai (Pordenone) per i contributi critici al presente documento.

BIBLIOGRAFIA

1. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010;33:S11-61.
2. Standards italiani per la cura del diabete mellito 2009-2010. http://siditalia.it/documenti/2010_linee_guida.pdf
3. Brantsma AH, Bakker SJ, Hillege HL, et al. Cardiovascular and renal outcome in subjects with K/DOQI stage 1-3 chronic kidney disease: the importance of urinary albumin excretion. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:3851-8.
4. American Diabetes Association. Position statement. Nephropathy in diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:S79-83.
5. Graziani MS, LoCascio C, Caldini AL, et al. Indagine conoscitiva sulla determinazione quantitativa della albumina nelle urine nei laboratori italiani. *Biochim Clin* 2007;31:290-6.
6. Panteghini M. 2009 Annual report of the IFCC Scientific Division (SD). *Biochim Clin* 2010;34:153-8.
7. Miller GW, Bruns DE, Hortin GL, et al. Principali aspetti nella misurazione e refertazione della escrezione urinaria di albumina. *Biochim Clin* 2010;34:337-50.

Tabella 1

Livelli decisionali per la diagnosi di nefropatia diabetica

Unità di misura	Condizione clinica		
	"Normoalbuminuria"	"Microalbuminuria"	"Macroalbuminuria"
<i>Primo campione del mattino</i>			
mg/g creatinina	<30	30-300	>300
mg/mmol creatinina	<3,4	3,4-34	>34
<i>Campione delle 24 ore</i>			
mg/24h	<30	30-300	>300
<i>Campione temporizzato</i>			
µg/min	<20	20-200	>200

Tabella 2*Aspetti relativi alla misura dell'albumina nelle urine sui quali c'è largo consenso di opinioni*

Aspetto	Indicazioni
Quando va eseguito l'esame	Annualmente nei pazienti con diabete di tipo 1 con durata di malattia >5anni Annualmente nei pazienti con diabete di tipo 2 indipendentemente dalla durata della malattia
Controindicazioni all'esame	Infezione urinaria in corso Micro- o macroematuria Esercizio fisico intenso (nei 2-3 giorni precedenti alla raccolta)
Tipo di campione di urine	Raccomandato il primo campione del mattino Accettabili anche la raccolta delle 24 ore o altre raccolte temporizzate
Conservazione del campione	+4 °C (fino a 7 giorni) -80 °C (per periodi più lunghi) Non conservare a -20 °C
Trattamento del campione prima dell'analisi	Portare il campione a temperatura ambiente Centrifugare se torbido
Metodo di misura	Caratteristiche analitiche dei metodi in nefelometria/turbidimetria: CV <15% Limite di rilevabilità ~2 mg/L Il laboratorio deve assicurare adeguate procedure di verifica della qualità analitica: CQI (ad ogni seduta analitica) Partecipazione a programmi di VEQ Metodi in chimica secca ("point-of-care"): Da utilizzare solo per screening dopo verifica delle prestazioni analitiche In ogni caso i campioni positivi devono essere sottoposti all'esame di conferma in laboratorio
Denominazione dell'analisi	Raccomandato l'uso di "Albuminuria" o "U-Albumina" Il termine "microalbuminuria" deve essere abbandonato
Unità di misura	mg/mmol creatinina o mg/g creatinina per il primo campione del mattino mg/24h per la raccolta delle 24 ore µg/min per la raccolta temporizzata È fortemente sconsigliato refertare il risultato in mg/L
Livelli decisionali per nefropatia diabetica	Vedi Tabella 1

8. Miller WG, Bruns DE. Laboratory issues in measuring and reporting urine albumin. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:717-8.
9. Osika TM, Comper WD. Characterisation of immunochemically nonreactive urinary albumin. *Clin Chem* 2004;50:2286-91.
10. Sviridov D, Drake SK, Hortin GL. Reactivity of urinary albumin (microalbumin) assays with fragmented or modified albumin. *Clin Chem* 2008;54:61-8.
11. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48:436-72.
12. Mosca A, Paleari R, Ceriotti F, et al. Biological variability of albumin excretion rate and albumin to creatinine ratio in hypertensive type 2 diabetic patients. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1229-33.
13. Graziani MS, Gambaro G, Mantovani L, et al. Diagnostic accuracy of a reagent strip for assessing urinary albumin excretion in the general population. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1490-4.
14. Vassalotti JA, Stevens LA, Levey AS. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 2007;50:169-80.
15. Ruggenti P, Remuzzi G. Time to abandon microalbuminuria? *Kidney Intern* 2006;70:1214-22.
16. Zamora CR, Cubeddu LX. Microalbuminuria: do we need a new threshold? *J Human Hypertens* 2009;23:146-9.
17. Albertini R, Merlini G. La standardizzazione della misura dell'albumina nelle urine richiede nuove conoscenze. *Biochim Clin* 2010;34:323-5.