

Indagine conoscitiva congiunta SIBioC-Medicina di Laboratorio e Associazione Italiana Pneumologi Ospedalieri (AIPO) relativa alla gestione del processo diagnostico del liquido pleurico

Sabrina Buoro¹, Paola Pezzati², Pier Aldo Canessa³, Stefano Gasparini⁴, Gaetano Bernardi⁵, Michela Seghezzi¹, Marcello Ciaccio⁶, Giuseppe Lippi⁷

¹Unità Operativa Complessa SMEL2 Analisi Chimico Cliniche, Azienda Socio Sanitaria Territoriale Papa Giovanni XXIII, Bergamo

²Centro Regionale di Riferimento, Struttura Organizzata Dipartimentale Sicurezza e Qualità, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze

³Divisione di Pneumologia, Azienda Sanitaria Locale 5, La Spezia

⁴Università Politecnica delle Marche, Ancona

⁵Laboratorio di Patologia Clinica e Genetica Medica, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano

⁶Sezione di Biochimica Clinica e Medicina Molecolare Clinica, Dipartimento di Biopatologia e Biotecnologie Mediche, Unità Operativa Complessa e Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Università degli Studi di Palermo

⁷Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale Universitario di Verona

ABSTRACT

Results of a survey produced by the Italian Society of Clinical Biochemistry (SIBioC) and the Italian Association of Hospital Pneumologists (AIPO) concerning pleural fluid analysis. The aim of this paper is to present the preliminary results of a joint project by SIBioC-AIPO working group on "Body cavities fluids". The main purpose of the working group is to achieve a harmonized and shared diagnostic pathway related to pleural fluid (PF) analysis. The multistep project begins with a state of the art analysis. A survey, sent to both laboratory medicine personnel and pneumologists, was conducted between October and December 2016. The questionnaire (21 questions) was made available through the web-based SurveyMonkey platform. Overall, 408 replies were collected, 40.4% from laboratory medicine specialists, 3.2% from laboratory technicians, 49.3% from pneumologists and 7.1% from professionals with non-specified qualification. Regarding the pre-analytical phase, the most critical issue resulted to be the clinical query, due to the lack of structured communication between clinicians and laboratory personnel. While over 76% of laboratory professionals stated that the working diagnosis was unavailable, 87% of pneumologists affirmed that the clinical question had been forwarded to the laboratory. An important issue was the widespread use of inappropriate containers for PF collection (60% of inappropriate tubes). Regarding the panel of tests, a satisfactory agreement was reached on the need to perform macroscopic analysis and cytometric evaluation, along with the assessment of pH, glucose, total proteins, lactate dehydrogenase and the respective ratios between PF and serum concentrations. As expected, the availability of verified or validated analytical methods, notably pH analysis, has emerged as a critical point. The layout of the laboratory report also needs improvements and better harmonization. Despite the many critical issues emerged from this survey, a positive feedback was reflected by a notable general interest on PF analysis, leading thus the way to produce a joint consensus document involving clinicians and laboratory personnel, as suggested by more than 30% of responders.

INTRODUZIONE

La cavità pleurica è uno spazio virtuale compreso tra mesotelio della pleura parietale e viscerale, contenente

un film liquido, detto liquido pleurico (LP), con la funzione di facilitare i movimenti di scorrimento tra le due membrane.

Un aumento dello spazio all'interno della cavità

**Questo articolo è pubblicato simultaneamente da Biochimica Clinica e Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio.*

Corrispondenza a: Buoro Sabrina, UOC SMEL2 Analisi Chimico Cliniche, Azienda Socio Sanitaria Territoriale Papa Giovanni XXIII, Piazza OMS 1, Bergamo 24127. Tel. 0352674550, fax 0352674939, e-mail sbuoro@asst-pg23.it

Ricevuto: 12.01.2018

Revisionato: 04.03.2018

Accettato: 08.03.2018

Pubblicato on-line: 05.04.2018

DOI: 10.19186/BC_2018.022

pleurica, essenzialmente sostenuto dalla presenza di un versamento, può essere dovuto a vari meccanismi, tra i quali iperproduzione di liquido, alterazione del microcircolo capillare e ridotto riassorbimento. In sintesi, le condizioni più comuni che possono causare versamento pleurico sono riconducibili a insufficienza cardiaca, infezioni, infiammazioni pleuriche, neoplasie (es. mesotelioma, tumori primitivi o secondari del polmone), tubercolosi ed embolia polmonare.

L'esame del LP, piuttosto articolato e complesso, è convenzionalmente richiesto per indagare l'eziologia del versamento cavitario (1-13). La classificazione in essudato, trasudato e versamento chiloso è infatti uno degli obiettivi prioritari del percorso diagnostico, in quanto la natura chimico-fisica del campione riflette differenti aspetti fisiopatologici e indirizza quindi verso la possibile *noxa* associata al versamento stesso. L'essudato può formarsi per aumento della permeabilità capillare o diminuzione del riassorbimento linfatico, mentre il trasudato si genera solitamente in seguito ad aumento della pressione idrostatica o diminuzione della pressione oncotica. Infine, il versamento chiloso può originare come conseguenza di traumi o neoplasie, solitamente linfomi, che coinvolgono il dotto toracico.

Le indicazioni sul tipo di indagini di laboratorio da eseguire e sui metodi analitici da adottare, tuttavia, sono tuttora controverse (3, 11-13).

Alla luce dell'importanza che l'analisi dei liquidi cavitari oggi riveste, la collaborazione tra medicina di laboratorio e discipline cliniche è essenziale, poiché è finalizzata a definire, nell'ambito delle fasi preanalitica, analitica e post analitica, procedure e tecniche che garantiscano informazioni idonee a indirizzare un corretto processo decisionale clinico. Sulla base di queste considerazioni, il Gruppo di Studio SIBioC "Liquidi Cavitari" (GdS-LC) e l'Associazione Italiana di Pneumologi Ospedalieri (AIPO), hanno ritenuto opportuno stabilire una collaborazione per arrivare a una definizione standardizzata e condivisa di appropriatezza nell'impiego diagnostico della matrice LP.

La visione attuale delle attività sanitarie, anche di tipo diagnostico e prognostico, esige una stretta integrazione tra un elevato grado di qualità metodologica nelle prestazioni effettuate e l'evidenza delle possibili ricadute cliniche sugli esiti (1-3, 9, 11-14). In quest'ottica, la gestione del LP rappresenta un ambito ideale per l'applicazione di tali fondamenti.

I fattori che compongono lo scenario clinico sono molteplici, e includono le patologie menzionate in precedenza (1-13). E' anche lecito supporre che l'incidenza di queste patologie tenderà ad aumentare progressivamente, in parallelo con l'invecchiamento della popolazione e con l'aumento della sopravvivenza dei pazienti con patologie croniche. In alcune situazioni cliniche, la composizione del LP assume valore patognomonico e nella maggior parte dei casi costituisce comunque un punto di partenza per algoritmi diagnostici anche complessi (1-13). Le problematiche tecniche legate alla specifica matrice, la mancata validazione e standardizzazione dei metodi di misura a essa applicati,

nonché l'arbitrarietà dei pannelli analitici proposti o richiesti sul LP, costituiscono importanti criticità.

Il progetto del gruppo di lavoro intersocietario, basato su un approccio sistematico, inizia dalla ricognizione dello stato dell'arte, i cui risultati sono illustrati in questo articolo, che costituirà la base di partenza per la proposta di un documento di indirizzo condiviso.

MATERIALI E METODI

È stato predisposto un questionario composto da 21 quesiti, 17 dei quali comuni sia a laboratoristi (specialisti di medicina di laboratorio e tecnici sanitari di laboratorio biomedico) sia a pneumologi, mentre 4 quesiti erano specifici per laboratoristi e facoltativi per gli pneumologi.

Nel questionario sono state previste sia risposte di tipo chiuso, che aperto (testo libero). I quesiti sono stati raggruppati in quattro sezioni: informazioni anagrafiche relative al soggetto che compila il questionario (3 quesiti); informazioni di natura organizzativa e relative alla fase pre-analitica (9 quesiti); informazioni sulla fase analitica (4 quesiti), facoltative per i pneumologi; e informazioni relative alla fase post-analitica, soprattutto riguardanti la refertazione (5 quesiti).

Il questionario è stato predisposto sulla piattaforma SurveyMonkey™ (SurveyMonkey Software, SurveyMonkey Inc., USA) Il link per la compilazione online del questionario è stato inviato a tutti i soci SIBioC e AIPO; a tutti i partecipanti è stato garantito l'anonimato. L'elaborazione dei dati è stata eseguita con i software gestionali SurveyMonkey™ (SurveyMonkey Software, SurveyMonkey Inc. USA) e Analyse-it (Analyse-it Software Ltd, Leeds, UK). È stata effettuata un'analisi statistica descrittiva, mediante utilizzo del test chi-quadro di Pearson (χ^2). Il valore di significatività statistica è stato fissato a $<0,05$. Il test del chi-quadro di Pearson è stato applicato su valori assoluti e frequenze assolute, mentre nei risultati, per rendere la lettura più immediata, le frequenze assolute sono state trasformate in frequenze relative.

RISULTATI

Al questionario online hanno partecipato 408 professionisti, 165 (40,4%) specialisti di medicina di laboratorio (SML), 13 (3,2%) tecnici sanitari di laboratorio biomedico (TSLB), 201 (49,3%) pneumologi e 29 (7,1%) operatori che non hanno dichiarato la qualifica professionale (QND). Prima di procedere alla analisi dei dati è stata eseguita una verifica sulla completezza di compilazione, che ha portato all'esclusione di 104 questionari poiché i partecipanti non avevano risposto a nessun quesito o solo ai primi due (qualifica e/o regione di appartenenza). Le categorie SML e TSLB, alla luce del numero esiguo di quest'ultima, sono state accorpate in un'unica categoria denominata laboratoristi.

L'analisi dei dati è quindi effettuata su 304 questionari, 149 (49%) dei quali compilati da pneumologi, 131 (43%) da laboratoristi e 24 (8%) da

Tabella 1*Dati complessivi relativi alle risposte ottenute*

	Numero complessivo	Laboratorista	Pneumologo	Qualifica professionale non dichiarata
Numero risposte totali	20064	8646 (43,1%)	9843 (49,0%)	1593 (7,9%)
Numero di risposte non compilate	3552 (17,7%)	1738 (20,1%)	1423 (14,5%)	391 (24,7%)
Numero di risposte "non lo so"	972 (4,8%)	362 (4,2%)	446 (4,5%)	82 (5,2%)
Numero di questionari compilati interamente	131 (43,0%)	46 (35,1 %)	75 (57,3%)	11 (7,7%)

QND. Solo poco più di un terzo dei questionari (131/304) riporta risposte a tutte le domande. In Tabella 1 sono riassunti alcuni dati sulla compilazione del questionario.

Per quanto riguarda la distribuzione geografica, sono risultate rappresentate tutte le aree geografiche nazionali, mantenendo la proporzione per le qualifiche sopra descritte, come di seguito riportato: regioni del nord, 150 partecipanti (49,3%); regioni del centro, 78 partecipanti (25,7%); regioni del sud, 50 partecipanti (16,4%); Italia insulare, 21 partecipanti (6,9%); area geografica non dichiarata, 5 partecipanti (1,6%).

In Figura 1 è rappresentata la distribuzione dei partecipanti in funzione della numerosità di analisi di LP eseguite annualmente.

Parte organizzativa e pre-analitica

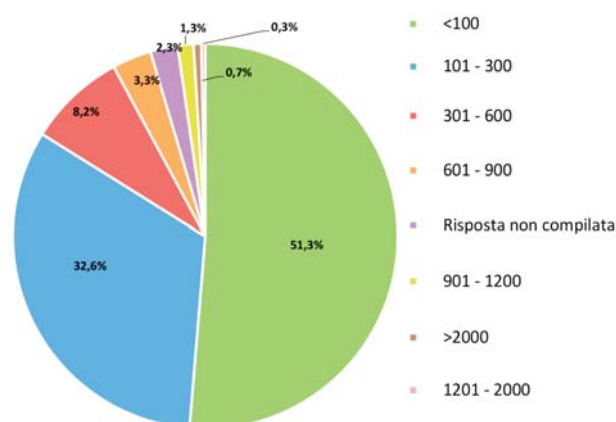
I risultati del questionario relativi alla parte organizzativa sono riportati in dettaglio nelle Tabelle 2 e 3.

Di particolare interesse appaiono le risposte alla domanda "La richiesta di esame di Liquido Pleurico è accompagnata dal quesito clinico?" (Tabella 2), che evidenziano una probabile criticità nella comunicazione. Il 76,3% dei laboratoristi dichiara infatti che il quesito clinico non è disponibile, mentre 86,6% dei pneumologi dichiara il contrario.

Per i quesiti: "Esiste una procedura concordata fra Unità Cliniche e Laboratorio per la raccolta, la conservazione, l'invio e l'analisi dei campioni?" e "Motivazioni per cui viene richiesta l'analisi del Liquido Pleurico" si osserva una sostanziale concordanza fra le risposte, indipendentemente dal profilo professionale. Alla prima domanda il 47% di risposte conferma infatti la disponibilità di una procedura e, per la seconda domanda, il 61,8% conferma che l'obiettivo principale della analisi del LP è la diagnosi differenziale fra essudato, trasudato e altro versamento.

I contenitori maggiormente utilizzati per raccogliere e inviare il LP al laboratorio sono risultati essere contenitore sterile senza additivi (34,5%) per gli esami di biochimica e immunometria, provetta con anticoagulante EDTA (39,5%) per l'esame citometrico e contenitore sterile per emocoltura (13,2%) per l'esame culturale.

I campioni di LP per esame culturale e per biologia molecolare mirata alla ricerca di *Mycobacterium*

**Figura 1**

Distribuzione dei partecipanti in funzione della numerosità di analisi di liquido pleurico eseguite annualmente.

tuberculosis complex, sono raccolti in contenitore sterile, senza additivi, nel 65,8% e 56,9%, dei casi rispettivamente.

Pannello di analisi

I risultati dei quesiti relativi agli analiti richiesti su LP sono descritti nel dettaglio in Tabella 4. Per la maggioranza dei partecipanti al questionario, gli esami che dovrebbero essere eseguiti sempre, ovvero ogni qualvolta sia necessario valutare la composizione del liquido stesso, comprendono la determinazione delle proteine totali, del glucosio e della lattico deidrogenasi (LDH), il pH, l'esame citometrico, la valutazione macroscopica e l'esame citologico. E' evidente un'elevata concordanza fra pneumologi, laboratoristi e QND, caratterizzata da $p > 0,05$ al test χ^2 test (Tabella 4) per la determinazione delle proteine totali, per l'esame citometrico e per l'analisi macroscopica.

Per quanto riguarda la determinazione di trigliceridi, colesterolo e lipasi, la risposta prevalente è che questi esami dovrebbero essere richiesti solo in specifiche condizioni cliniche, previo accordo (Tabella 4). Per la richiesta di amilasi si registrano invece delle difformità, giacché i partecipanti indicano, in uguale proporzione, la

Tabella 2*Fase pre-pre e pre-analitica*

Risposte	Numero (%) (304 questionari)	Pneumologi (149/304)	Laboratoriisti (131/304)	Qualifica professionale non dichiarata (24/304)
Quesito: La richiesta di esame di Liquido Pleurico è accompagnata dal quesito clinico?				
SI	167 (55,0%)	129 (86,6%)	27 (20,6%)	11 (45,8%)
NO	129 (42,4%)	19 (12,8%)	100 (76,3%)	10 (41,7%)
Non compilata	8 (2,6%)	1 (0,7%)	4 (3,1%)	3 (12,5%)
Quesito: Motivazioni per cui viene richiesta l'analisi del Liquido Pleurico				
Diagnosi differenziale fra essudato, trasudato e altro versamento	188 (61,8%)	123 (82,6%)	56 (42,7%)	9 (37,5%)
Diagnosi differenziale fra essudato e trasudato	30 (9,9%)	3 (2,0%)	23 (17,6%)	4 (16,7%)
Non lo so	42 (13,8%)	2 (1,3%)	37 (28,2%)	3 (12,5%)
Altro	36 (11,9%)	20 (13,4%)	11 (8,4%)	5 (20,8%)
Risposta non compilata	8 (2,6%)	1 (0,7%)	4 (3,1%)	3 (12,5%)
Quesito: Il pannello di esami effettuati sul Liquido Pleurico è stato stabilito da:				
Clinico	74 (24,0%)	62 (41,6%)	8 (6,1%)	3 (12,5%)
Specialista di medicina di laboratorio	59 (19,4%)	16 (10,7%)	41 (31,3%)	2 (8,3%)
Protocollo concordato fra laboratorio e clinica	116 (38,2%)	47 (31,5%)	60 (45,8%)	9 (37,5%)
Non è definito un pannello di esami standard	33 (10,9%)	17 (11,4%)	12 (9,2%)	4 (16,7%)
Risposta non compilata	22 (7,2%)	7 (4,7%)	10 (7,6%)	5 (20,8%)
Quesito: Esiste una procedura concordata fra Unità Cliniche e Laboratorio per la raccolta, la conservazione, l'invio e l'analisi dei campioni?				
Esiste una procedura codificata, ma solo del laboratorio	72 (23,7%)	24 (16,1%)	47 (35,9%)	1 (4,2%)
SI	143 (47,0%)	85 (57,0%)	44 (33,6%)	14 (58,3%)
NO	55 (18,1%)	25 (16,8%)	26 (19,8%)	4 (16,7%)
Non lo so	21 (6,9%)	10 (6,7%)	9 (6,9%)	2 (8,3%)
Risposta non compilata	13 (4,3%)	5 (3,4%)	5 (3,8%)	3 (12,5%)
Quesito: Per esami biochimici/immunometrici in quale tipo di provette viene raccolto il campione di liquido pleurico?				
Con anticoagulante EDTA	45 (14,8%)	31 (20,8%)	10 (7,6%)	4 (16,7%)
Con altro anticoagulante	18 (5,9%)	3 (2,0%)	11 (8,4%)	4 (16,7%)
Con gel separatore	22 (7,2%)	7 (4,7%)	14 (10,7%)	1 (4,2%)
Senza additivi, sterile	105 (34,5%)	55 (36,9%)	46 (35,1%)	4 (16,7%)
Senza additivi	77 (25,3%)	35 (23,5%)	36 (27,5%)	6 (25,0%)
Risposta non compilata	37 (12,2%)	18 (12,1%)	14 (10,7%)	5 (20,8%)
Quesito: Per l'esame citometrico completo (con differenziazione cellulare) in quale tipo di provette viene raccolto il campione di Liquido Pleurico?				
Con anticoagulante EDTA	120 (39,5%)	44 (29,5%)	69 (52,7%)	7 (29,2%)
Con altro anticoagulante	14 (4,6%)	10 (6,7%)	4 (3,1%)	0
Con gel separatore	4 (1,3%)	3 (2,0%)	1 (0,8%)	0
Senza additivi, sterile	60 (19,7%)	34 (22,8%)	22 (18,8%)	4 (16,7%)
Senza additivi	51 (16,8%)	32 (21,3%)	15 (11,5%)	4 (16,7%)
Risposta non compilata	55 (18,1%)	26 (17,4%)	20 (15,3%)	9 (37,5%)

Tabella 3*Fase pre-analitica per ricerche microbiologiche e citologiche*

Risposte	Numero (%) (304 questionari)	Pneumologi (149/304)	Laboratoristi (131/304)	Qualifica professionale non dichiarata (24/304)
Quesito: Qualora sia richiesto l'esame microbiologico colturale, il campione viene inviato al laboratorio:				
In contenitore sterile senza additivi	199 (65,5%)	106 (71,1%)	80 (61,1%)	13 (54,2%)
Nel flacone per emocolture per batteri anaerobi	14 (4,3%)	7 (4,7%)	4 (3,1%)	2 (8,3%)
Nel flacone per emocolture per batteri aerobi	27 (8,9%)	20 (13,4%)	8 (5,3%)	0
Non lo so	38 (12,5%)	8 (5,4%)	26 (19,8%)	4 (16,7%)
Risposta non compilata	26 (8,6%)	8 (5,4%)	13 (9,9%)	5 (20,8%)
Quesito: Qualora sia richiesto l'esame colturale per <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> (BK)				
In contenitore sterile senza additivi	200 (65,8%)	126 (84,6%)	62 (47,3%)	12 (50,0%)
Nel flacone per emocolture per batteri aerobi	2 (0,7%)	2 (1,3%)	0	0
Non lo so	53 (17,4%)	10 (6,7%)	37 (28,2%)	6 (25,0%)
Risposta non compilata	49 (16,1%)	11 (7,4%)	32 (24,4%)	6 (25,0%)
Quesito: Per biologia molecolare mirata alla ricerca di <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> (BK)				
In contenitore sterile senza additivi	176 (56,9%)	113 (75,8%)	51 (38,9%)	9 (37,5%)
Non lo so	66 (21,7%)	18 (12,1%)	40 (30,5%)	8 (33,3%)
Risposta non compilata	65 (21,4%)	18 (12,1%)	40 (30,5%)	7 (29,2%)
Quesito: Qualora sia richiesto l'esame citologico il campione viene inviato al Laboratorio:				
In contenitore sterile senza additivi (qualche mL)	125 (41,1%)	73 (49,0%)	43 (32,8%)	9 (37,5%)
Nella sacca di raccolta (tutto il liquido drenato del versamento)	52 (17,1%)	40 (26,8%)	9 (6,9%)	3 (12,5%)
In altri contenitori specificare quali	38 (12,5%)	27 (18,1%)	10 (7,6%)	1 (4,2%)
Non lo so	59 (19,4%)	1 (0,7%)	52 (39,7%)	6 (25,0%)
Risposta non compilata	30 (9,9%)	8 (5,4%)	17 (13,0%)	5 (20,8%)

necessità di eseguire sempre l'esame oppure solo in particolari condizioni cliniche. Risposte simili si rilevano anche per l'esame microbiologico, per il quale il 47% dei partecipanti indica la necessità di esecuzione in qualsiasi condizione clinica, mentre il 30,3% indica che è necessario eseguirlo solo in casi selezionati.

Per i marcatori di neoplasia e per la creatinina, rispettivamente il 31,9% e il 38,8% dei partecipanti afferma che non è necessario eseguire sempre questi dosaggi, mentre il 29,6% e il 24,7%, rispettivamente, indica che è necessario eseguirli solo in casi selezionati.

I marcatori di neoplasia indicati da 63 (22,3%) partecipanti (12,7% QND, 38,1% laboratoristi e 49,2% pneumologi) sono antigene carcinoembrionario (CEA; 26,1%); enolasi neurone specifica (NSE; 19,1%); "cancer antigen 19-9" (CA19-9; 9,5%); "cytokeratin fragment CYFRA 21-1" (CYFRA 21,1; 8,9%); "cancer antigen 125" (CA125; 8,3%); antigene polipeptidico tissutale (TPA; 7,6%); alfafetoproteina (AFP; 5,7%); "cancer antigen 15-3" (CA15-3; 5,1%); antigene prostatico specifico (PSA; 1,3%); cromogranina (0,6%) e

altri (5,1%).

Di notevole interesse il dato relativo alle risposte sul calcolo dei rapporti di concentrazione tra LP e sangue venoso per le proteine totali e LDH. Il 37,8% e 37,2% dei partecipanti risponde che non devono essere richiesti sempre, mentre percentuali molto simili (38,5% e 37,2%) dichiarano l'opposto, ovvero che sono sempre necessari. La quasi totalità (80%) dei pneumologi che hanno risposto alla domanda è però concorde nel dichiarare che il calcolo del rapporto di concentrazione delle proteine totali sia sempre necessario. Il 51% dei partecipanti risponde che non è mai necessario il calcolo del rapporto del glucosio, così come il 55,6% (70% dei quali laboratoristi) risponde che non è necessario il calcolo del rapporto per il colesterolo. Il calcolo del gradiente di albumina è infine ritenuto inutile dal 57,2% dei partecipanti al questionario.

Fase analitica

I quesiti facoltativi sulla fase analitica sono stati compilati solo in parte (Tabella 5). L'analisi delle risposte

Tabella 4*Analiti di interesse*

Quesito: quali analisi/determinazioni sono previste per il Liquido Pleurico?

Analiti	Mai	Sempre	Dopo accordi specifici e motivati clinicamente	Non lo so	Risposta non compilata	χ^2 valore p
Glucosio	28 (9,2%)	195 (64,1%)*	43 (14,1%)	4 (1,3%)	34 (11,3%)	58,05 <0,0001
Proteine totali	4 (1,3%)	259 (85,2%)	13 (4,3%)	2 (0,7%)	26 (8,6%)	19,48 0,0776
Albumina	56 (18,4%)	104 (34,2%)*	73 (24,0%)	7 (2,3%)	64 (21,1%)	28,10 0,0053
Lattico deidrogenasi	10 (3,3%)	235 (77,3%)*	27 (8,9%)	3 (1,0%)	29 (9,5%)	35,36 0,0004
Trigliceridi	66 (21,7%)	28 (9,2%)	140 (46,1%)*	9 (3,0%)	61 (20,1%)	56,08 <0,0001
Colesterolo	65 (21,4%)	29 (9,5%)	136 (44,7%)*	10 (3,3%)	64 (21,1%)	53,86 <0,0001
Amilasi	49 (16,1%)	58 (19,1%)	127 (41,8%)*	10 (3,3%)	60 (19,7%)	24,75 0,0161
Lipasi	68 (22,4%)	19 (6,3%)	124 (40,8%)*	12 (3,9%)	81 (26,6%)	33,24 0,0009
pH	33 (10,9%)	178 (58,6%)*	38 (12,5%)	8 (2,6%)	47 (15,5%)	83,49 <0,0001
Creatinina	118 (38,8%)*	11 (3,6%)	75 (24,7%)	20 (6,6%)	80 (26,3%)	25,75 0,0117
Marcatori di neoplasia	97(31,9%)*	33 (10,9%)	90 (29,6%)*	16 (5,3%)	68 (22,4%)	60,67 <0,0001
Esame citometrico	25 (8,2%)	149 (49,0%)	50 (16,4%)	12 (3,9%)	68 (22,4%)	14,67 0,0659
Esame citometrico completo (con differenziazione cellulare)	32 (10,5%)	130 (42,8%)	83 (27,3%)	14 (4,6%)	45 (14,8%)	19,44 0,0785
Conteggio eritrociti	58 (19,1%)	92 (30,3%)*	70 (23,0%)	16 (5,3%)	68 (22,4%)	25,55 0,0124
Analisi macroscopica include la descrizione dell'aspetto e del colore	30 (9,9%)	201 (66,1%)	17 (5,6%)	6 (2,0%)	50 (16,4%)	11,05 0,5243
Esame citologico	12 (3,9%)	138(45,5%)*	69 (22,7%)	25 (8,2%)	60 (19,7%)	159,04 <0,0001
Esame microbiologico	7 (2,3%)	143 (47,0%)*	92 (30,3%)	15 (4,9%)	47 (15,5%)	91,70 <0,0001
Quesito: Quali dei seguenti parametri calcolati sono richiesti/refertati?						
Rapporto proteine totali	115 (37,8%)*	117 (38,5%)*	32 (10,5%)	7 (2,3%)	33 (10,9%)	95,17 <0,0001
Rapporto lattico deidrogenasi	113*(37,2%)	113 (37,2%)*	36 (11,8%)	9 (3,0%)	33 (10,9%)	116,99 <0,0001
Rapporto glucosio	155 (51,0%)	47 (15,5%)	51(16,8%)	10(3,3%)	41(13,5%)	93,51 <0,0001
Rapporto Colesterolo	169 (55,6%)*	7 (2,3%)	70 (23,0%)	14 (4,6%)	44 (14,5%)	71,53 <0,0001
Gradiente albumina	174 (57,2%)	21 (6,9%)	46 (15,1%)	15 (4,9%)	48 (15,8%)	88,54 <0,0001

*Rapporto: si riferisce al rapporto fra la concentrazione dell'analita nel liquido pleurico e nel siero.**Gradiente: si riferisce alla differenza di concentrazione tra siero e liquido pleurico.* *χ^2 valore p: sono riferiti al grado di concordanza fra pneumologi, laboratoristi e il gruppo con qualifica professionale non dichiarata; le celle in grigio denotano concordanza significativa di risposte fra le diverse figure professionali.***>50% dei pneumologi.****> del 50% dei laboratoristi.*****>70% dei pneumologi e >50% dei Laboratoristi.*

Tabella 5*Fase analitica: la compilazione era facoltativa per i pneumologi*

Risposte	Numero (%) (304 questionari)	Pneumologi (149/304)	Laboratoriisti (131/304)	Qualifica professionale non dichiarata (24/304)
Quesito: La determinazione del pH viene eseguita				
Al momento del prelievo, in reparto/ambulatorio	51 (16,8%)	48 (32,2%)	0	3 (12,5%)
In laboratorio con pH metro	28 (9,2%)	19 (12,8%)	8 (6,1%)	1 (4,2%)
In laboratorio con striscia reattiva o altro sistema	54 (17,8%)	3 (2,0%)	46 (36,6%)	3 (12,5%)
Non viene effettuata	38 (12,5%)	2 (1,3%)	32 (24,4%)	4 (16,7%)
Altro	11 (3,6%)	5 (3,4%)	4 (3,1%)	2 (8,3%)
Non lo so	10 (3,3%)	6 (4,0%)	4 (3,1%)	0
Risposta non compilata	112 (36,8%)	66 (44,3%)	35 (26,7%)	11 (45,8%)
Quesito: L'esame citometrico (conta e differenziazione cellulare) viene eseguito mediante				
Sistema automatizzato	68 (22,4%)	19 (12,8%)	45 (34,4%)	4 (16,7%)
Conteggio e/o differenziazione cellulare a fresco in microscopia ottica con camera di conta	11 (3,6%)	5 (3,4%)	6 (4,6%)	0
Conteggio cellulare a fresco in microscopia ottica con camera di conta e differenziazione cellulare su citocentrifuga	62,0%)	3 (2,0%)	3 (2,3%)	0
Sempre con entrambi i metodi (microscopia ottica e automatizzato)	21 (6,9%)	1 (0,7%)	18 (13,7%)	2 (8,3%)
Screening con metodo di conta automatizzato e conferma in microscopia ottica	16 (5,3%)	1 (0,7%)	13 (9,9%)	2 (8,3%)
Screening con metodo di conta in microscopia ottica e conferma con metodo automatizzato	6 (2,0%)	1 (0,7%)	5 (3,8%)	0
Altro	4 (1,3%)	1(0,7%)	2 (1,5%)	1 (4,2%)
Non lo so	49 (16,1%)	42 (28,2%)	4 (3,1%)	3 (12,5%)
Risposta non compilata	123 (40,5%)	76 (51,0%)	35 (26,7%)	12 (50%)
Quesito: Se l'esame citometrico viene effettuato con metodo automatizzato, quale tipo di strumentazione viene utilizzata?				
Emocitometro con canale di analisi dedicato	45 (14,8%)	3 (2,0%)	37 (28,2%)	5 (20,8%)
Emocitometro senza canale di analisi dedicato	34 (11,2%)	2 (1,3%)	30 (22,9%)	2 (8,3%)
Sistema di analisi automatizzata del sedimento urinario	6 (2,0%)	0	6 (4,6%)	0
Citofluorimetro	12 (3,9%)	4 (2,7%)	8 (6,1%)	0
Altro	3 (1,0%)	0	2 (1,5%)	1 (4,2%)
Non lo so	63 (20,7%)	54 (36,2%)	6 (4,6%)	3 (12,6%)
Risposta non compilata	141 (46,4%)	86 (57,7%)	42 (32,1%)	13 (54,2%)
Quesito: Il metodo automatizzato per l'esame citometrico è stato validato e/o verificato per la matrice specifica?				
SI	70 (23,0%)	21 (14,3%)	43 (32,8%)	6 (25,0%)
NO	17 (5,6%)	2 (1,3%)	14 (10,7%)	1 (4,2%)
In parte	21 (6,9%)	0	20 (15,3%)	1 (4,2%)
Non lo so	61 (20,1%)	42 (28,2%)	14 (10,7%)	5 (4,2%)
Risposta non compilata	135 (44,4%)	84 (56,4%)	40 (30,5%)	11 (45,8%)
Quesito: Per gli esami biochimici/immunometrici (es, proteine totali, glucosio, lattico deidrogenasi) i metodi sono stati validati e/o verificati?				
SI	64 (21,1%)	19 (12,8%)	40 (30,5%)	5 (20,8%)
NO	19 (6,3%)	2 (1,3%)	15 (11,3%)	2 (8,3%)
In parte	25 (8,2%)	0	24 (18,3%)	1 (4,2%)
Non lo so	58 (19,1%)	41 (27,5%)	12 (9,3%)	5 (20,8%)
Risposta non compilata	138 (45,4%)	87 (58,4%)	40 (30,5%)	11 (45,8%)

Tabella 6*Fase post analitica: referto*

Risposte	Numero (%) (304 questionari)	Pneumologi (149/304)	Laboratoriisti (131/304)	Qualifica professionale non dichiarata (24/304)
Quesito: Il referto include				
Il tipo di liquido esaminato				
Si	246 (80,9%)	120 (70,8%)	109 (80,5%)	17 (70,8%)
No	17 (5,6%)	15 (10,1%)	1 (0,8%)	1 (4,2%)
Non lo so	0 (0%)	0	0	0
Risposta non compilata	41 (13,5%)	14 (9,4%)	21 (16,0%)	6 (25,0%)
I risultati della valutazione macroscopica				
Si	200 (65,8%)	101 (67,8%)	84 (64,1%)	15 (62,5%)
No	57 (18,8%)	31 (20,8%)	23 (17,6%)	3 (12,5%)
Non lo so	2 (0,7%)	2 (1,3%)	0	0
Risposta non compilata	45 (14,8%)	15 (10,1%)	24 (18,3%)	6 (25,0%)
Il conteggio cellulare totale				
Si	177 (58,2%)	101 (67,8%)	61 (45,0%)	15 (62,5%)
No	48 (15,8%)	22 (14,8%)	23 (18,9%)	3 (12,5%)
Altro	9 (3,0%)	4 (2,7%)	5 (4,1%)	0
Risposta non compilata	70 (23,0%)	22 (14,8%)	42 (32,0%)	6 (25,0%)
Il conteggio dei leucociti				
Si	212 (69,7%)	107 (71,8%)	90 (68,7%)	15 (62,5%)
No	19 (6,3%)	11 (7,4%)	6 (4,9%)	2 (8,3%)
Altro	9 (3,0%)	6 (4,0%)	3 (2,5%)	0
Risposta non compilata	64 (21,1%)	25 (16,8%)	32 (24,4%)	7 (29,2%)
Il conteggio dei neutrofili				
Si	191 (62,9%)	96 (64,4%)	81 (61,8%)	14 (58,3%)
No	28 (9,2%)	18 (12,1%)	8 (6,6%)	2 (8,3%)
Altro	12 (3,9%)	7 (4,7%)	5 (4,1%)	0
Risposta non compilata	73 (24,0%)	28 (18,8%)	37 (28,2%)	8 (33,3%)
Il conteggio dei linfociti				
Si	186 (61,2%)	96 (64,4%)	75 (57,3%)	14 (58,3%)
No	31 (10,2%)	18 (12,1%)	11 (9,0%)	2 (8,3%)
Altro	13 (4,3%)	7 (4,7%)	6 (4,9%)	0
Risposta non compilata	74 (24,3%)	28 (18,8%)	38 (29,0%)	8 (33,3%)
Il conteggio degli eosinofili				
Si	158 (51,9%)	89 (59,7%)	59 (45,0%)	10 (41,7%)
No	48 (15,8%)	22 (14,8%)	21 (16,0%)	5 (20,8%)
altro	13 (4,3%)	7 (4,7%)	6 (4,6%)	0
Risposta non compilata	85 (28,0%)	31 (20,8%)	45 (34,4%)	9 (37,5%)
Il conteggio di altre cellule non leucocitarie				
Si	101 (33,3%)	55 (36,9%)	39 (29,8%)	0
No	74 (24,3%)	35 (23,5%)	30 (15,3%)	9 (37,5%)
Altro	24 (7,9%)	11 (7,4%)	12 (9,8%)	1 (4,2%)
Risposta non compilata	105 (34,5%)	48 (32,2%)	50 (38,2%)	7 (29,2%)

Tabella 6*Fase post analitica: referto*

Risposte	Numero (%) (304 questionari)	Pneumologi (149/304)	Laboratoristi (131/304)	Qualifica professionale non dichiarata (24/304)
Quesito: Nel referto sono previsti commenti agli esiti?				
Si	94 (30,9%)	42 (28,2%)	45 (34,4%)	7 (29,2%)
No	152 (50,0%)	83 (55,7%)	58 (44,3%)	11 (45,8%)
Non lo so	12 (3,9%)	8 (5,4%)	4 (3,0%)	0
Risposta non compilata	46 (15,1%)	16 (10,8%)	24 (19,6%)	6 (25,0%)
Quesito: Nel referto sono riportati i valori di riferimento?				
Si	166 (54,6 %)	89 (59,7%)	67 (51,1%)	10 (41,7%)
No	88 (28,9%)	42 (28,8%)	40 (30,5%)	6 (25,0%)
Non lo so	7 (2,3%)	4 (2,7%)	1 (0,8%)	2 (8,3%)
Risposta non compilata	43 (14,1%)	14 (9,4%)	23 (17,6%)	6 (25,0%)
Quesito: Nel referto sono riportate soglie decisionali?				
Si	60 (19,7%)	34 (22,8%)	21 (16,0%)	5 (20,8%)
No	176 (57,9%)	89 (59,7%)	76 (58,0%)	11 (45,8%)
Non lo so	15 (4,9%)	10 (6,7%)	3 (2,3%)	2 (8,3%)
Risposta non compilata	53 (17,4%)	16 (10,7%)	31 (23,7%)	6 (25,0%)
Quesito: Come sono stati determinati/scelti i valori di riferimento?				
Sono utilizzati quelli per il sangue periferico	19 (6,3%)	11 (7,4%)	5 (3,8%)	3 (12,5%)
Ripresi da letteratura specifica per il LP	119 (39,1%)	56 (37,6%)	59 (45,0%)	4 (16,7%)
Stabiliti dal laboratorio	30 (9,9%)	25 (16,8%)	3 (2,3%)	2 (8,3%)
Non lo so	70 (23,0%)	39 (26,2%)	24 (18,3%)	7 (29,2%)
Risposta non compilata	66 (21,7%)	18 (12,1%)	40 (30,5%)	8 (33,3%)
Quesito: Come sono stati determinate/scelte le soglie decisionali?				
Sono utilizzate quelle per il sangue periferico	7 (2,3%)	3 (2,0%)	2 (1,5%)	2 (8,3%)
Ripresi da letteratura specifica per il LP	80 (26,3%)	52 (34,9%)	23 (17,6%)	5 (20,8%)
Stabiliti dal laboratorio	17 (5,6%)	12 (8,1%)	2 (1,5%)	3 (12,5%)
Non lo so	99 (32,6%)	53 (35,6%)	40 (30,5%)	6 (25,0%)
Risposta non compilata	101 (33,2%)	29 (19,5%)	64 (48,9%)	8 (33,3%)
Quesito: A fronte di quanto viene fatto nella Tua azienda, cosa riterresti opportuno o necessario implementare nell'analisi del LP?				
Niente di più	134 (44,1%)	69 (46,%)	58 (44,3%)	7 (29,2%)
Le seguenti analisi o procedure	88 (28,9%)	47 (31,5%)	33 (25,2%)	8 (33,3%)
Risposta non compilata	82 (27,0%)	33 (22,1%)	40 (30,5%)	9 (37,5%)

evidenza che il pH è eseguito con il pHmetro solo nel 9,2% dei casi. Il metodo per il conteggio e la differenziazione cellulare più frequentemente usato è il conteggio in automazione (22,4%). In questo caso, la strumentazione più frequentemente utilizzata è l'emocitometro con canale di analisi dedicato (14,8%). Solo il 5,6% dei partecipanti risponde di eseguire

l'esame citometrico con un metodo manuale.

Infine, solo il 23,0% e il 21,1% dei partecipanti dichiara che gli analizzatori e i metodi utilizzati, rispettivamente per l'esame citometrico automatizzato e per gli esami biochimici e/o immunometrici, sono specificamente verificati e/o validati per la matrice LP.

Fase post-analitica

I risultati relativi alla fase post-analitica sono riportati in Tabella 6. Il referto riporta il tipo di materiale esaminato nell'80,9% dei casi, e nel 65,8% dei casi è riportata la descrizione macroscopica del campione.

La cellularità totale è indicata nel 58,2% dei casi, mentre il conteggio dei leucociti nel 69,7% dei casi. La differenziazione cellulare con conteggio dei neutrofili e linfociti è riportata rispettivamente nel 62,9% e nel 61,2% dei casi, mentre il conteggio degli eosinofili solo nel 51,9% dei casi. La quantità di cellule non leucocitarie (cellule mesoteliali o macrofagi) è indicata nel 33,3% dei casi; infine sono inseriti commenti qualitativi prevalentemente di tipo descrittivo nel 30,9% dei casi.

Nel referto sono riportati prevalentemente gli intervalli di riferimento (54,6% dei casi) ripresi dalla letteratura specifica sul LP (39,1%); è interessante notare che per quest'ultimo quesito, ~40% dei partecipanti non fornisce una risposta (21,7% non risponde e 23,0% dichiara di non conoscere la risposta).

Quesito conclusivo

Al quesito "A fronte di quanto viene fatto nella tua Azienda cosa riterresti opportuno o necessario implementare nell'analisi del LP?" la maggior parte dei partecipanti (44,1%) ha risposto che non ritiene opportuno o necessario modificare o integrare il processo di analisi del LP in vigore. Tuttavia, 88 partecipanti (28,9%) hanno fornito alcuni suggerimenti per il miglioramento dell'attività, comprendenti: la stesura di protocolli condivisi fra clinici e laboratoristi (30,7%), l'integrazione nel referto del calcolo dei rapporti di concentrazione (18,2%), l'esecuzione dell'esame citometrico completo corredato da differenziazione cellulare (13,6%), l'allargamento del pannello dei biomarcatori oncologici (11,4%), l'esecuzione della adenosina deaminasi (ADA; 7,9%), una maggiore standardizzazione del referto (4,5%), l'esecuzione del pH (3,4%). È stata registrata infine una miscelanea di risposte (6,8%).

DISCUSSIONE

Il presente questionario rappresenta, per le informazioni attualmente a disposizione del gruppo di lavoro, l'unica fonte di rilevazione della pratica relativa alla gestione del LP. La determinazione nel approfondire uno sforzo congiunto, che coinvolga cioè la medicina di laboratorio e i colleghi clinici, fa parte di un percorso avviato da anni all'interno di SIBioC, teso alla definizione di percorsi condivisi con le società cliniche, armonizzati e basati sulle evidenze disponibili. L'ambito delle matrici inconsuete, e dei liquidi cavitari in particolare, ha rappresentato per anni un settore circoscritto nei laboratori di analisi, che ben si presta ad esemplificare i percorsi metodologici che gli attuali concetti di qualità globale impongono di seguire (14). Dal momento della richiesta, fino alla produzione del referto, il rigore metodologico deve guidare il lavoro di

equipe.

Il questionario, con i limiti intrinseci della bassa numerosità del campione, ha il vantaggio di rappresentare equamente le figure professionali coinvolte nel percorso per l'analisi di LP, facilitando l'avvio di un approccio sistematico e non settoriale, atto ad evidenziare i problemi delle singole fasi del processo diagnostico.

In questa prospettiva, alcuni dati e considerazioni, spesso legati a criticità, appaiono di particolare interesse e possono essere riassunti nel seguente modo:

Quesito clinico. La discordanza relativa alla percezione della disponibilità di questo dato tra laboratoristi e pneumologi è significativa. Questo dato sembra derivare dalla mancanza di una modalità di comunicazione strutturata. I clinici hanno chiaro il problema, ma le informazioni non raggiungono in modo adeguato il laboratorio, compromettendo così la qualità della collaborazione nell'arco del percorso diagnostico.

Gestione della fase preanalitica. Sono evidenti criticità relative ai contenitori da utilizzare per la raccolta e invio al laboratorio dei campioni di LP. L'osservazione di una percentuale inferiore al 40% di uso di contenitori appropriati rappresenta infatti motivo di allarme, in quanto in grado potenzialmente di generare bias nei risultati. Il dato appare inoltre di difficile interpretazione, se integrato con l'affermazione di avvenuta condivisione delle procedure tra laboratorio e clinica, così come dichiarato dal 47% dei partecipanti allo studio. Questo scenario pone enfasi sulle reali conoscenze delle linee guida ad oggi disponibili (1-3).

Appropriatezza per pannello analiti da includere nel pannello standard. I dati raccolti rilevano che più del 50% di partecipanti indica: esame macroscopico, pH, glucosio, proteine totali e LDH. Meno del 50% dei partecipanti indica l'esame citometrico o citometrico con differenziazione cellulare. Il pannello ristretto indicato è parzialmente appropriato ma incompleto almeno per i quesiti clinici di base (diagnosi differenziale tra essudato e trasudato, ad esempio), poiché non si avvale di determinazioni a maggiore contenuto informativo, come l'implementazione dei rapporti di concentrazione di proteine totali, LDH e l'esame citometrico. Importante osservare come i clinici mostrino un sostanziale maggiore interesse per questi parametri, rispetto ai colleghi laboratoristi. Tra i suggerimenti per il miglioramento della gestione del processo, molti partecipanti hanno infatti suggerito di integrare l'analisi del LP con questi esami. In particolare, per l'esame citometrico appare maggiormente evidente un limite oggettivo del laboratorio nell'eseguire l'esame, piuttosto che un'assenza di interesse da parte del clinico.

Appropriatezza pannello analiti di approfondimento per situazioni cliniche specifiche. Il questionario ha palesato un sostanziale accordo sulla necessità di riservare la determinazione di creatinina, colesterolo, trigliceridi e lipasi a casi clinici selezionati dagli pneumologi. Per i biomarcatori di neoplasia, meno del 29,6% delle risposte indica che debbano essere richiesti

solo in casi selezionati, mentre una percentuale analoga (31,9%) indica che questo tipo di analisi non dovrebbe essere mai eseguita. Per contro, tra i suggerimenti di miglioramento del processo, una delle indicazioni più frequenti è l'ampliamento del pannello dei biomarcatori (11,4%). Questo aspetto, a fronte delle indicazioni fornite dalla letteratura, che mostrano scarse evidenze a sostegno dell'utilità di queste determinazioni in liquidi non tradizionali (3, 9), suggerisce la necessità di effettuare una revisione e una condivisione delle evidenze della letteratura attualmente a disposizione, finalizzata a una maggiore appropriatezza della richiesta, ma anche alla necessità di pianificare studi robusti e multicentrici atti a produrre le evidenze per una corretta e appropriata valutazione.

Gestione della fase analitica. Il questionario ha chiaramente evidenziato alcune criticità analitiche, quali l'analisi del pH, parametro necessario per il 58,6% dei partecipanti, ma determinato con il pHmetro solo nel 9,2% dei casi. Ulteriore dato critico emerso dall'indagine è che solo il 21,9% dei partecipanti dichiara di utilizzare metodi validati (o verificati) specificamente per matrice LP. L'utilizzo di metodi non idonei all'analisi del LP è un aspetto cruciale, poiché può portare alla refertazione di risultati poco attendibili, condizione non accettabile in un percorso diagnostico volto alla massima qualità. Il conteggio e lo studio della differenziazione cellulare sono eseguiti con protocolli diversi, non armonizzati. E' verosimile che, analogamente a quanto si rende necessario per altre matrici (10, 14-19), i laboratori debbano procedere alla verifica sperimentale delle analisi automatizzate eseguite su canali dedicati. Lo scarso utilizzo della microscopia ottica, ad oggi "gold standard", potrebbe inoltre avere ripercussioni negative sulla qualità del risultato.

Gestione della fase post-analitica. Il referto, in generale, appare carente e poco armonizzato. Non sono definiti univocamente i contenuti minimi e sono soprattutto scarse o eterogenee le indicazioni a supporto del clinico per l'interpretazione del dato, aspetto particolarmente critico quando le informazioni dovessero essere utilizzate da clinici meno esperti. Il referto appare particolarmente carente in termini di completezza dei dati (conta differenziale dei leucociti, conta di cellule mesoteliali o macrofagi) e della inclusione di eventuali commenti interpretativi, la cui presenza potrebbe avere un'importante ricaduta non solo nella corretta valutazione dei risultati, ma anche nella diffusione della cultura di qualità.

Implementazione e miglioramento del processo. La domanda finale del questionario aveva lo scopo di consentire ai partecipanti di esprimere le proprie necessità professionali. E' emerso un quadro variegato, che conferma tuttavia la necessità di governo del processo. Il 30,7% dei partecipanti propone infatti la produzione di documenti condivisi fra clinica e laboratorio.

Questo questionario rappresenta un primo passo per rispondere a questa necessità di maggiore armonizzazione/standardizzazione del processo e di

integrazione fra laboratorio e clinica. Pur nei suoi limiti metodologici, esso fa emergere alcune criticità sulle quali i professionisti del gruppo di lavoro congiunto si confronteranno per proporre un documento condiviso, finalizzato a indirizzare la pratica verso percorsi sicuri, armonizzati e di qualità, comprendenti anche iniziative formative congiunte.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standard Institute. Body fluid Analysis for Cellular Composition; Approved Guidelines. CLSI document H56-A. 2006 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute.
2. Clinical and Laboratory Standard Institute. Analysis of Body Fluids in Clinical Chemistry; Approved Guideline. CLSI document C49-A 2007 Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute.
3. Block DR, Algeciras-Schimmich A. Body fluid analysis: clinical utility and applicability of published studies to guide interpretation of today's laboratory testing in serous fluids. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013;50:107-24.
4. Bignardi GE. Flow cytometry for the microscopy of body fluids in patients with suspected infection. *Clin Pathol* 2015;68:870-8.
5. Fleming C, Russcher H, Lindemans J, et al. Clinical relevance and contemporary methods for counting blood cells in body fluids suspected of inflammatory disease. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1689-706.
6. Kopicinovic LM, Culej J. Pleural, peritoneal and pericardial effusions a biochemical approach. *Biochemia Medica* 2014;24:123-37.
7. Burgess LJ. Biochemical analysis of pleural, peritoneal and pericardial effusions. *Clin Chim Acta* 2004;343:61-84.
8. Noppen M, De Waele M, Li R, et al. Volume and cellular content of normal pleural fluid in humans examined by pleural lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1023-6.
9. Knight JA, Kjeldsberg CR. Cerebrospinal, Synovial, and Serous Body Fluids. In: McPherson RA, Pincus MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 21st Ed. Elsevier Saunders, 2006: 437-41.
10. Seghezzi M, Buoro S, Manenti B, et al. Optimization of cellular analysis of synovial fluids by optical microscopy and automated count using the Sysmex XN Body Fluid Mode. *Clin Chim Acta* 2016;462:41-8.
11. Mc Grath EE, Anderson PN. Diagnosis of pleural effusion: a systematic approach. *Am J Crit Care* 2011;20:119-28.
12. Romero-Candeira S, Hernandez L, Romero-Brufao, et al. Is it meaningful to use biochemical parameters to discriminate between transudative and exudative pleural effusions? *Chest* 2002;122:1524-9.
13. Seguera RM. Useful clinical biological markers in diagnosis of pleural effusions in children. *Ped Respir Rev* 2004;5:205-12.
14. Lippi G, Plebani M. Opportunities and drawbacks of nonstandard body fluid analysis. *Clin Chem Lab Med* 2017;27:907-9.
15. Bournier G, De la Salle B, George T, et al. International Committee for Standardization in Hematology (ICSH). ICSH guidelines for the verification and performance of

- automated cell counters for body fluids. *Int J Lab Hematol* 2014;6:598-612.
16. Sandhaus LM. Body fluid cell counts by automated methods. *Clin Lab Med* 2015;35:93-103.
17. Buoro S, Mecca T, Azzarà G, et al. Cell population data and reflex testing rules of cell analysis in pleural and ascitic fluids using body fluid mode on Sysmex XN-9000. *Clin Chim Acta* 2016;452:92-8.
18. Buoro S, Mecca T, Azzarà G, et al. Mindray BC-6800 Body Fluid Mode, performance of nucleated cells and differential count in ascitic and pleural fluid. *Int J Lab Hematol* 2016;38:90-101.
19. Buoro S, Apassiti Esposito S, et al. Reflex testing rules for cell count and differentiation of nucleated elements in pleural and ascitic fluids on Sysmex XE-5000. *J Lab Autom* 2016;21:297-304.