

I commenti interpretativi nel referto ematologico di laboratorio

Antonio La Gioia¹, Fiamma Balboni², Sabrina Buoro³, Alessandra Fanelli⁴, Maria Gioia⁵, Alessandra Marini⁶, Silvia Pipitone⁷, Giorgio Da Rin⁸, Annamaria Di Fabio⁹, Fabiana Fiorini¹, Sara Francione¹⁰, Angela Papa¹¹ a nome del Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio Diagnostica Ematologica

¹U.O. Patologia Clinica, Ospedale "F. Lotti", Azienda USL 5, Pontedera (PI)

²Laboratorio Analisi, Istituto Fiorentino di Cura e Assistenza (IFCA), Firenze

³Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche, Azienda Ospedaliera Papa Giovanni XXIII, Bergamo

⁴Laboratorio Generale, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

⁵Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera "V. Cervello", Palermo

⁶Laboratorio Analisi ASL 12, Viareggio (LU)

⁷U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

⁸Medicina di Laboratorio ASL 3, Bassano del Grappa (TV)

⁹U.O.C. Patologia Clinica, Ospedale Civile, Avezzano (AQ)

¹⁰Laboratorio Analisi, ASL NO, Borgomanero (NO)

¹¹Medicina di Laboratorio, Fondazione G. Monasterio CNR Regione Toscana, Pisa

ABSTRACT

Interpretative comments in the laboratory hematology report. Interpretative comments in the laboratory reports can improve the quality of diagnostic information. The complete blood count with differential (CBC-diff) is one of the hematology laboratory tests with demonstrated clinical usefulness. CBC-diff may include a peripheral blood smear if numerical or morphological review criteria are fulfilled. As such, hematologists need specific skill for interpreting and conveying the diagnostic information to clinicians by using adequate communication approaches. A survey carried out by the SIBioC Diagnostic Hematology Study Group (GdS-DE) showed a heterogeneous situation about the use of the hematological interpretative comments. In each laboratory, different descriptions were used even for the same cell abnormalities. Moreover, some laboratories omit to report relevant morphological abnormalities, such as activated or atypical lymphocytes as well as immature granulocytes, which are often necessary for the diagnosis. Therefore, the GdS-DE has decided to select appropriate comments and to propose a standardized reporting system. First, 423 comments from 13 laboratories were analyzed. These comments were revised with the purpose of: a) reducing the number, b) standardizing the language, c) providing an information in a format that could be easily understood by patients and clinicians, and d) increasing the quality of clinical information. The GdS-DE decided to provide written information for both physicians and patients or for physician's use only. The former is represented by 59 comments using a simple and not frightening language, whereas the latter is a letter for the physician in which more specific information is provided.

INTRODUZIONE

I commenti di refertazione sono uno strumento di comunicazione tra il laboratorio, l'utente titolare del referto e il medico richiedente. Variamente formulati, sono finalizzati in genere a chiarire alcuni aspetti interpretativi e a suggerire possibili implicazioni diagnostiche. Nella maggior parte di questi impieghi, il commento di refertazione rappresenta una sorta di

complemento diagnostico necessario per incrementare il significato e l'utilizzo clinico di un singolo risultato o, più frequentemente, di più risultati che siano legati da interrelazioni fisiopatologiche. Con tale accezione, il commento di refertazione qualifica nella fase post-analitica il livello professionale espresso dal laboratorio clinico che lo ha prodotto (1, 2).

L'esame emocromocitometrico è il principale strumento di valutazione diagnostica sintetica

Corrispondenza a: Antonio La Gioia, Via di Ripoli 127, 56035 Casciana Terme - Lari (PI). Tel. 0587350760, Fax 0587350760, E-mail ant.lagioia@gmail.com

Ricevuto: 10.11.2015

Accettato: 12.11.2015

Pubblicato on-line: 01.08.2016

DOI: 10.19186/BC_2016.030

dell'organo sangue e, quindi, del sistema di trasporto e utilizzo dell'ossigeno, dell'immunità aspecifica e specifica e del sistema coagulativo. Questo è reso possibile dalla struttura "multiparametrica" dell'emocromo che, negli esiti prodotti dai principali analizzatori in uso, è generalmente costituita da più di 35 risultati diversi, dei quali poco più di 20 sono usualmente riportati nel referto finale (3, 4). La successiva osservazione microscopica eventualmente suggerita dagli esiti strumentali aggiunge ulteriori elementi di valutazione, in genere qualitativi, che conferiscono all'intero referto ematologico una complessità considerevole. Per questi motivi, forse più che in altri ambiti specifici, la diagnostica ematologica ha necessità di essere adeguatamente valorizzata in tutti i possibili aspetti interpretativi.

Nel 2014, il Gruppo di Studio Diagnostica Ematologica (GdS-DE) SIBioC - Medicina di Laboratorio ha condotto un'indagine conoscitiva sullo stato dell'arte della diagnostica ematologica nei laboratori italiani. Attraverso i dati pervenuti da 78 laboratori che hanno aderito all'indagine è emerso un quadro abbastanza confuso e contraddittorio sull'utilizzo dei commenti di refertazione. Infatti, sebbene il 96% dei laboratori abbia riferito di farne uso, la maggior parte di questi ha dichiarato che non vengono utilizzati commenti standardizzati o condivisi all'interno dell'equipe (5). Una successiva indagine non formalizzata, condotta in 13 laboratori italiani che hanno accettato di rendere disponibili i propri commenti di refertazione in ematologia, ha confermato una situazione molto confusa e disomogenea. Infatti, è emerso l'uso di una quantità elevata di commenti, spesso ridondanti, descrittivi della medesima situazione con linguaggio diverso, non sempre chiaramente o univocamente interpretabili.

Si è resa quindi evidente per il GdS-DE la necessità di proporre una profonda revisione dell'uso dei commenti di refertazione che avesse lo scopo di:

- ridurre il numero;
- standardizzarne il linguaggio;
- favorire la comprensione corretta dell'informazione anche da parte del paziente;
- aumentare la qualità informativa.

Il risultato della revisione è rappresentato dalla proposta di adozione da parte dei laboratori di un numero più limitato di commenti, idonei comunque alla gestione delle usuali necessità cliniche. Sono state altresì proposte delle "regole redazionali" che, anche nell'eventuale necessità di produrre in testo libero un commento non codificato, permettano di mantenere un uniforme e corretto livello informativo.

METODI

Sono stati acquisiti i commenti di refertazione di 13 laboratori scelti su base volontaria e con garanzia della riservatezza. Tutti i commenti, per un totale di 423, sono stati tabulati preliminarmente in formato excel, e quindi suddivisi in 3 gruppi:

- 280 commenti per alterazioni dei leucociti (WBC);

- commenti per alterazioni dei globuli rossi (RBC) e piastrine (PLT): 78 e 13, rispettivamente;
- 52 commenti generici su alterazioni non cellula-specifici o della fase pre-analitica.

Le tappe successive del progetto e le metodologie di lavoro impiegate sono di seguito riportate.

Analisi preliminare e interventi. Le diverse tipologie di commento sono state assegnate a 3 gruppi di lavoro, ciascuno formato da 3 membri del GdS-DE. È stata eseguita un'analisi preliminare dei commenti e sono stati eliminati tutti quelli che, a prescindere dalle differenze terminologiche, presentassero identico contenuto. Contestualmente, è stato espresso un giudizio sintetico di Accettabilità (A), Modifica (M) e Inaccettabilità (I), che ha comportato un'ulteriore riduzione dei commenti per eliminazione di quelli "3 I" in prima istanza e di numerosi "2 I" in una seconda istanza condivisa. I commenti residui, tutti con giudizio sintetico di "3 A" o "2 A", hanno rappresentato la base dell'ulteriore sviluppo del progetto. Gli strumenti utilizzati sono stati: scambio collegiale di e-mail all'interno di ciascun gruppo, scambi e-mail intergruppo, riunione collegiale finale.

Analisi collegiale, rivalutazione ed edizione. I commenti risultanti dalla fase precedente hanno rappresentato la base di riedizione o formulazione di quelli successivamente proposti. Una valutazione preliminare della letteratura effettuata con il supporto del GdS SIBioC Medicina di Laboratorio basata sulle evidenze ha determinato la scelta della impostazione prevista per "consensus opinion" (6). Le valutazioni sono state basate sui seguenti punti:

- il referto di laboratorio è ritirato, letto e "interpretato" direttamente dal paziente ambulatoriale. I commenti devono quindi utilizzare una terminologia chiara, comprensibile, corretta dal punto di vista della qualità informativa, ma non "allarmante";
- il medico curante è colui che decide eventuali azioni conseguenti, comprensive degli approfondimenti e chiarimenti informativi per il paziente e di eventuali iter clinico-diagnostici. Nei confronti del medico curante il linguaggio di redazione deve essere chiaro, comprensibile, corretto dal punto di vista della qualità informativa, terminologicamente adeguato, allarmante (solo) quando necessario;
- la diagnosi di malattia è il risultato di una valutazione multiprofessionale in grado di valorizzare informazioni, segni e sintomi di diversa provenienza. Seppure alcune osservazioni possano apparire (o essere) conclusive, si è deciso di evitare, nei commenti di refertazione, l'utilizzo di espressioni quali "diagnosi di...; compatibile (o suggestivo o orientativo o simili) con la diagnosi di...". La necessità di incrementare il livello e la qualità informativa del referto di laboratorio non deve interferire con le relazioni medico-paziente;
- i punti precedenti costituiscono anche le regole per la redazione di eventuali commenti non compresi nella presente proposta.

La difficoltà di conciliare tutti i punti di cui sopra ha suggerito di proporre la metodologia del doppio livello

informativo: un primo livello dedicato all'informazione del paziente e un secondo rivolto esclusivamente al medico curante, tale da consentirgli di comprendere pienamente il contenuto sintetico del messaggio posto sul referto. Pertanto, per ciascuna tipologia di commento, sono state proposte due diverse modalità:

- 1) commento nel referto redatto secondo le precedenti regole a) e c);
- 2) documento, da inviare *una tantum* (eventualmente con aggiornamenti periodici) a tutti i medici di Medicina Generale (MMG) del territorio, proposto attraverso i canali istituzionali di ciascuna azienda sanitaria. Questo documento chiarisce, dettaglia e completa con linguaggio tecnico il significato dei commenti riportati nel referto. In questo livello informativo è compresa anche la comunicazione telefonica immediata, quando specificamente prevista ([Materiale supplementare elettronico APPENDICE A](#)).

I diversi commenti formulati in accordo con la metodologia descritta sono stati discussi e validati nella "consensus conference" conclusiva del GdS-DE.

RISULTATI

Dei 423 commenti iniziali, 93 sono stati eliminati nella fase preliminare. Dopo le riduzioni e le riformulazioni nelle fasi successive, i 59 commenti residui (pari al 14,4% di quelli iniziali) sono stati suddivisi per tipo di elemento e/o di anomalia cellulare nei seguenti gruppi omogenei:

- a) linfociti attivati (3)
- b) linfociti atipici (7)
- c) plasmacellule (4)
- d) linfocitosi dell'adulto, commenti generici (6)
- e) granulociti (5)
 - i. immaturi
 - ii. displastici
 - iii. reattivi
- f) monociti (3)
- g) blasti (7)
- h) globuli rossi, commenti generici (13)
- i) piastrine, commenti generici (5)
- j) miscellanea (6)

Per ciascun gruppo omogeneo viene proposto il formato da utilizzare per ogni commento di refertazione e il rationale che ne ha determinato l'adozione. La nota informativa per il medico curante ([Materiale supplementare elettronico APPENDICE A](#)) è costituita dagli stessi gruppi, per ognuno dei quali sono fornite informazioni fisiopatologiche e sul significato clinico e i suggerimenti per eventuali approfondimenti clinico-diagnostici. Nel [Materiale supplementare elettronico APPENDICE B](#) viene proposto un modello di lettera di accompagnamento del documento per i MMG.

Gruppo WBC-Linfociti. Linfociti attivati (Tabella 1)

I linfociti attivati sono il corrispettivo morfologico di

uno stato funzionale di linfociti normali implicati nella risposta immune. Sebbene per queste cellule sia stato recentemente proposto l'uso del termine "reattivi" (7, 8), la vecchia denominazione di "linfociti attivati" (9) risulta maggiormente aderente agli eventi fisiopatologici della risposta immune linfocitaria cui partecipano anche altri piccoli linfociti e grandi linfociti granulari (LGL) non morfologicamente distinguibili da quelli non reattivi. Poiché non c'è evidenza che il numero e l'espressione quantitativa o semiquantitativa dei linfociti attivati abbia rilevanza aggiuntiva (diagnostica e prognostico/evolutiva) (10), il commento 1LINF appare idoneo a descrivere, al cut-off del 5%, le situazioni in cui la loro presenza sia clinicamente utile a fini diagnostici (7). Sebbene in modo non rigorosamente adeguato, il termine "apoptotici" descrive la morfologia di linfociti con aspetti morfologici degenerativi causati dalla interazione con virus citopatici, tra cui l'Epstein-Barr. La comparsa di questi linfociti in degenerazione litica contrassegna uno stadio più avanzato dell'infezione, ma è generalmente associata alla persistenza di altre forme morfologiche attivate (11). Per questo motivo è consigliabile che il commento 2LINF non sia utilizzato come unico commento di una linfocitosi attivata, ma sia associato al precedente. Nella nota *una tantum* per MMG viene enfatizzato il significato fisiopatologico "benigno" dei linfociti attivati.

Gruppo WBC-Linfociti. Linfociti atipici (Tabella 2)

Il recente documento dell'"International Council for Standardization in Haematology" (ICSH) per la standardizzazione della nomenclatura delle cellule del sangue periferico assegna ai linfociti identificati in un precedente documento come "atypical, suspect neoplastic" (12), la denominazione di "abnormal", definiti altresì come cellule di sospetta origine neoplastica o clonale (7). La precedente denominazione "lymphocytes of uncertain nature" non è più stata riproposta. Il GdS-DE ha comunque ritenuto che non vi siano evidenze sufficienti per recepire nella sua proposta di commenti di refertazione una modifica della denominazione "linfociti atipici", poiché essa è comunque descrittiva di anomalie morfologiche linfocitarie e fortemente consolidata dall'uso. Vi è invece accordo nel mantenere distinto l'uso di denominazioni morfologiche peculiari quali, ad esempio, linfociti villosi e prolinfociti (7). Il riscontro di linfociti atipici può essere un dato critico per lo stato di salute e, per questo motivo, deve essere comunicato al medico curante e con modalità adeguate (13, 14).

Il commento 4LINF è riservato all'osservazione di linfocitosi atipiche <5%, che non necessitano di correzioni del valore di linfociti totali (7, 15). Lo stesso commento può essere integrato dalla precisazione dell'atipia, come descritto nei commenti successivi (ad es., "rari linfociti atipici" oppure "rari linfociti atipici con incisure nucleari"). Per valori >5% possono essere utilizzati i commenti 5LINF (senza descrizione morfologica) e 6LINF, 7LINF, 8LINF (con descrizione

Tabella 1*Gruppo WBC-Linfociti: commenti di refertazione per linfociti attivati*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1LINF	Presenza di linfociti attivati	Per valori di linfociti attivati >5%. Per valori <5% la possibilità di segnalare comunque la presenza di linfociti attivati è legata a un'attenta valutazione di contesto e dei dati disponibili (sintomatologia e quadro clinico, se disponibile, quadro sierologico e biochimico)	7, 9-12
2LINF	e di linfociti apoptotici	Da utilizzare solo in abbinamento al commento 1LINF (presenza di linfociti attivati e di linfociti apoptotici)	
3LINF	Si consiglia approfondimento sierologico	Da associare a 1LINF e 2LINF se sierologia non già richiesta	

Tabella 2*Gruppo WBC-Linfociti: commenti di refertazione per linfociti atipici*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
4 LINF	Rari linfociti atipici	Il commento è riservato all'osservazione di linfocitosi atipiche <5%, che non necessitano di correzioni del valore di linfociti totali	5, 12-14
5 LINF	Linfociti atipici...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Per valori di linfociti atipici ≥5%. A primo riscontro avvisare il medico richiedente	7, 12, 17-21
6 LINF	Linfociti atipici con incisure nucleari...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	
7 LINF	Linfociti atipici a nucleo cerebriforme...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	
8LINF	Linfociti atipici con polimorfismo morfologico...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	
9 LINF	Linfociti villosi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	7, 12, 21, 22
10LINF	Prolinfociti...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	7, 12, 21

morfologica) (16). I valori percentuali devono essere sottratti dal totale dei linfociti e devono essere ricalcolati i valori assoluti.

Sebbene alcune peculiarità morfologiche permettano la distinzione tra leucemia a cellule capellute classica (HCL) e variante (HCLv) e linfoma marginale (17-22), il commento 9LINF appare sufficiente a segnalare tutte le patologie caratterizzate da cellule capellute.

La presenza di prolinfociti circolanti (commento 10LINF) può contrassegnare diverse fasi evolutive della leucemia linfatica cronica (CLL). In genere sono <2% e il loro aumento ha un significato prognosticamente sfavorevole (17-20). Valori >10% caratterizzano la transizione della CLL verso forme di CLL atipiche. 55% è il cut-off diagnostico per la leucemia a prolinfociti (LPL). Tutte le transizioni dalle diverse fasi di stato verso forme evolutive a peggiore prognosi (da CLL a CLL atipica a LPL) devono determinare segnalazione telefonica al medico curante (13, 14). Al di là di questa evenienza, la nota nel documento per i MMG è principalmente

orientata a suggerire, in assenza di gravità del quadro clinico, un iter ragionato di approfondimento diagnostico.

Gruppo WBC-Linfociti. Plasmacellule (Tabella 3)

La presenza di plasmacellule circolanti anche in piccole percentuali deve essere valutata con attenzione e comunque segnalata, essendo solo eccezionalmente reattiva (23). L'osservazione casuale anche di rare plasmacellule nel corso della revisione microscopica deve indurre a un prolungamento della osservazione anche oltre i 200 leucociti.

Una volta che la presenza di plasmacellule circolanti sia stata verificata, verrà utilizzato il commento 11LINF. Sebbene sia stato segnalato che la presenza di plasmacellule immature e di plasmablasti sia correlata con un peggior "outcome", questi aspetti morfologici non sono attualmente inseriti in nessuno schema di valutazione prognostica (24). Tuttavia, la presenza di plasmablasti circolanti può essere rappresentativa della

Tabella 3*Gruppo WBC-Linfociti: commenti di refertazione per plasmacellule*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
11LINF	Plasmacellule <0,5%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	23, 24, 26
12LINF	Plasmacellule...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	
13LINF	Plasmacellule e plasmablasti...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	
14LINF	Linfociti plasmacitoidi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Non utilizzare mai in un contesto caratterizzato dalla presenza di altri linfociti attivati perché non aggiunge informazione diagnostica. Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	

Tabella 4*Gruppo WBC-Linfociti: commenti di refertazione generici per linfocitosi dell'adulto*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
15LINF	L'elevata linfocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra ~3 mesi	Utilizzare al primo riscontro di linfocitosi >5x10 ⁹ /L e in assenza di alterazioni morfologiche dei linfociti	18, 26, 27
16LINF	La persistenza di linfocitosi elevata consiglia un approfondimento clinico-diagnostico	Utilizzare al secondo riscontro di linfocitosi >5x10 ⁹ /L o, se disponibili, di precedenti valori elevati e in assenza di alterazioni morfologiche dei linfociti	
17LINF	L'elevato numero di grandi linfociti granulati consiglia la ripetizione del conteggio tra ~6 mesi	Utilizzare al primo riscontro di grandi linfociti granulati >2x10 ⁹ /L	18, 30
18 LINF	La persistenza di un elevato numero di grandi linfociti granulati consiglia un approfondimento clinico-diagnostico	Utilizzare al secondo riscontro di valori di grandi linfociti granulati >2x10 ⁹ /L	
19 LINF	Alcune ombre di Gumprecht	Utilizzare in presenza di linfocitosi, possibilmente non in associazione con la segnalazione di atipie linfocitarie	31, 32
20 LINF	Numerose ombre di Gumprecht		

presenza di questi elementi nel midollo osseo ed è segnalata con il commento 13LINF.

Nel caso dei commenti 12LINF e 13LINF, il valore percentuale e assoluto dei linfociti deve essere ricalcolato. Poiché i cut-off del 20% e/o di 2,0x10⁹/L plasmacellule sono diagnostici per leucemia plasmacellulare (24, 25), il loro superamento deve portare all'integrazione telefonica dell'informazione al medico curante.

La definizione di linfociti plasmacitoidi (LP) è stata inizialmente proposta per la morfologia cellulare che caratterizza i linfociti della macroglobulinemia di Waldenström (MW) e si riferisce a cellule con morfologia intermedia tra il piccolo linfocito e la plasmacellula (19). La stessa morfologia può caratterizzare alcuni linfociti attivati osservabili nelle linfocitosi reattive delle sindromi mononucleosiche, denominati in passato anche cellule di Turk o cellule di Downey tipo I. Sulla base di queste premesse, è ragionevole riservare il commento 14LINF alle situazioni in cui i linfociti plasmacitoidi siano l'anomalia prevalente, prefigurando la possibilità di MW o di altro linfoma linfoplasmacitico. Nel caso in cui LP siano presenti quali componenti di un quadro polimorfo

reattivo (presenza di linfociti attivati), la loro segnalazione non aggiunge informazione diagnostica e deve essere omessa.

La nota *una tantum* porta l'attenzione del medico curante sul significato diagnostico o prognostico-evolutivo di plasmocitosi periferica anche quantitativamente modesta.

Gruppo WBC-Linfociti. Linfocitosi dell'adulto (Tabella 4)

I commenti definiti generici si applicano nell'adulto prevalentemente a variazioni solo quantitative di linfociti morfologicamente normali. Sebbene gli attuali criteri diagnostici per la CLL prevedano valori di linfociti clonali >5,0x10⁹/L, l'esistenza di anomalie clonali con valori inferiori (B-linfocitosi monoclonale, MBL) (26, 27) ha suggerito l'uso di un unico cut-off (5,0x10⁹/L) per la gestione commentata delle linfocitosi croniche. Con questa premessa, e in accordo con i criteri WHO per le neoplasie linfoproliferative, il primo rilievo di linfocitosi cui è riservato il commento 15LINF, deve essere confermato come stato di linfocitosi cronica con secondo prelievo a distanza di 3 mesi. Il commento 16LINF è

riservato alle linfocitosi confermate che possono essere avviate a uno specifico iter diagnostico.

L'aumento nel sangue periferico di LGL è un evento fisiologico connesso alla funzione di queste cellule nella risposta immunitaria, ma non vi è ragione di segnalarlo con specifico commento quando sia ben valutabile il contesto reattivo, rappresentato ad esempio dalla presenza di linfociti attivati (27-30) e si mantenga $<2,0 \times 10^9/L$, valore individuato come cut-off per la possibile natura clonale dell'aumento (18). Anche in questo caso, il primo rilievo di aumento delle LGL oltre il cut-off deve essere confermato come stato cronico, con secondo prelievo a distanza di 6 mesi (commento 17LINF), mentre la conferma di cronicità suggerisce l'uso del commento 18LINF.

Le LGL non sono conteggiate separatamente come popolazione riconoscibile da nessuno degli analizzatori automatici del commercio. Per questo motivo l'attivazione dei commenti 17LINF e 18LINF deve essere obbligatoriamente preceduta, mediante osservazione microscopica, dall'accurata valutazione quantitativa nello striscio periferico di linfociti con le caratteristiche morfologiche delle LGC. Successivamente il valore percentuale deve essere tradotto in valore assoluto per verificare il superamento della soglia di $2,0 \times 10^9/L$.

Le ombre di Gumprecht, spesso identificate in letteratura come "smudge cells", sono da alcuni anni oggetto di rivalutazione quale criterio prognostico-evolutivo della CLL (31, 32). Parallelamente viene sottolineata la possibilità che rotture cellulari di tipo "metodologico" possano determinare inaccuratezza nella quantificazione delle "smudge cells" vere. Per evitare questa possibilità sono stati proposti metodi di allestimento dei vetrini finalizzati al controllo della variabile pre-analitica e quindi alla riduzione della rottura "spuria" del linfocita. Tuttavia, l'adozione di metodi dedicati per la valutazione delle ombre di Gumprecht, quale quello proposto da Palmer et al. (aggiunta di una parte di albumina a 4 parti di sangue) (7), appare di difficile attuazione nella maggior parte dei laboratori. Sono quindi proposti i commenti 19LINF e 20LINF per l'espressione semi-quantitativa della presenza delle ombre di Gumprecht, con il consiglio che l'uso sia riservato a CLL già diagnosticate e sia evitata l'associazione con i commenti per le linfocitosi atipiche.

La nota *una tantum* per il medico curante ha la finalità prevalente di favorire una gestione ambulatoriale autonoma delle linfocitosi croniche dell'adulto prima del loro avvio alla successiva valutazione specialistica.

Gruppo WBC-Granulociti

Granulociti immaturi

Non sono proposti commenti. La presenza di granulociti immaturi (GI) dev'essere quantificata come popolazione aggiuntiva rispetto alla formula leucocitaria (una voce per ciascuno stadio maturativo osservato: promielociti, mielociti e metamielociti). I valori in percentuale devono essere sottratti dal totale dei

granulociti neutrofili (o eventualmente eosinofili) e devono essere ricalcolati i valori assoluti. La presenza isolata e senza anomalie quantitative e/o qualitative anche delle altre linee cellulari non genera alcun commento di refertazione.

Un caso particolare è rappresentata dalla gravidanza, nel corso della quale la presenza di GI circolanti è frequente, seppure non chiarita nei suoi aspetti fisiopatologici (33, 34). Tuttavia, nel caso di segnalazione o di conteggio strumentale di GI, la conoscenza dello stato di gravidanza non deve indurre in comportamenti diversi da quelli usualmente adottati: revisione microscopica i cui esiti saranno adeguatamente commentati.

Nel caso in cui alla presenza in circolo dei GI siano associate altre anomalie, quantitative o qualitative [aumento del valore assoluto di basofili, presenza di eritroblasti (NRBC), dacriociti, PLT giganti, altro], si utilizzano commenti associati alle anomalie di riferimento (vedi Tabelle 5-10).

La nota *una tantum* per MMG si propone di non caricare di significati allarmanti la presenza di GI non accompagnata da altre anomalie qualitative o quantitative.

Granulociti displastici (Tabella 5)

La segnalazione di displasia granulocitaria deve essere riservata alle tipologie elencate nella tabella WHO 5.03 (18).

La formulazione del commento 1GRA per la segnalazione di displasia granulocitaria senza dettaglio morfologico deriva dall'assenza di evidenze che la descrizione analitica dei diversi aspetti displastici o la loro quantificazione nel sangue periferico possano determinare differenti valutazioni clinico-diagnostiche. Anche la displasia in eventuali GI non riveste rilevanza informativa. Si sottolinea la necessità che l'osservazione del contesto rappresenti criterio essenziale di valutazione complessiva, che dovrebbe portare all'esclusione della segnalazione di "pochi, rari o alcuni" granulociti displastici in assenza di citopenia/leucocitosi periferica e di aspetti di displasia a carico della linea eritroide (anisopoichilocitosi, presenza di NRBC) e/o di quella piastrinica (anisocitosi, PLT giganti, presenza di megacariociti o nuclei nudi).

La presenza di displasia granulocitaria (isolata o associata ad altri aspetti displastici) non è di per sé sicuramente indicativa di anomalie primitive dell'emopoiesi. Non può esitare quindi in osservazioni diagnostiche sul referto quali "compatibile (o suggestiva o orientativa) per sindrome mielodisplastica" (35-38). Nel caso in cui il quadro complessivo porti al consolidamento di tale ipotesi diagnostica, la comunicazione telefonica e l'approfondimento conseguente con il medico curante rappresenta lo strumento di maggiore efficacia e tempestività (1, 2, 15, 16).

Un caso particolare è rappresentato dalla presenza di neutrofili ipersegmentati (con almeno 6 lobi nucleari), che, oltre alle situazioni precedenti, può orientare per

Tabella 5*Gruppo WBC-Granulociti: commenti di refertazione*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1GRA	Presenza di displasia granulocitaria	Utilizzare quando siano osservate le anomalie morfologiche elencate nella tabella WHO 5.03 (18): piccole o inusuali grandi dimensioni, ipolobulazione (pseudo Pelger), ipersegmentazione irregolare, riduzione o assenza di granuli, inclusioni pseudo Chediak, presenza di corpi di Auer	18, 21, 35-38
2GRA	Ipersegmentazione nucleare dei neutrofilii	Utilizzare se osservati neutrofilii con almeno 6 lobi nucleari	21, 39
3GRA	Neutrofilii ipergranulati	Utilizzare solo in casi di aumento delle granulazioni in tutti o nella maggior parte dei neutrofilii	
4GRA	Alcuni neutrofilii con corpi di Döhle		
5GRA	Presenza di granulociti fagocitanti batteri (o miceti)	Prolungare l'osservazione microscopica alla ricerca di batteri/miceti anche al di fuori dei granulociti. Emergenza clinica con coinvolgimento immediato dei medici interessati	

una forma di anemia carenziale (vitamina B12/folati) o può essere riconducibile all'effetto citotossico della chemioterapia sui neutrofilii. Tenuto anche conto dell'oggettiva difficoltà di distinguere morfologicamente la "ipersegmentazione nucleare irregolare" descritta da Swerdlow et al. (18) dalla "semplice ipersegmentazione", quest'ultimo aspetto morfologico dei granulociti può avvalersi del commento 2GRA se in presenza di anomalie osservate nella linea eritroide (macro-megalocitosi, emazie con corpi di Howell-Jolly, presenza di NRBC, altro) o piastrinica (piastrinopenia, grandi piastrine).

La nota *una tantum* si propone di orientare l'attenzione del medico curante verso le ipotesi diagnostiche che necessitano di maggiore tempestività operativa.

Granulociti reattivi (Tabella 5)

Le neutrofilie "reattive" sono caratterizzate da ipergranularità (rara l'eventualità di corpi di Döhle) e spesso dalla co-presenza di GI. Lo stesso quadro morfologico è osservabile dopo somministrazione di granulochine, quali l'"human recombinant-granulocyte colony stimulating factor" (HR-GCSF). Le due situazioni (reattiva e post-HR-GCSF) non sono distinguibili sul piano morfologico. Per questo motivo al commento 3GRA non può essere associata la nota di "granulazioni tossiche", che dovrebbe pertanto essere evitata. Per lo stesso motivo, specialmente in assenza di informazioni cliniche, non può essere suggerita la compatibilità con un quadro di sepsi.

I corpi di Döhle sono un particolare aspetto morfologico (parcellare) di asincronismo maturativo. Granulociti con tale anomalia possono essere presenti sia nelle neutrofilie reattive che in quelle neoplastiche della leucemia mieloide cronica e non sono pertanto marcatori specifici di nessuna di queste situazioni (39).

Pertanto, la presenza isolata di corpi di Döhle e l'uso del relativo commento 4GRA dovrebbe essere oggetto di un'attenta valutazione di contesto, finalizzata alla ricerca di segni discriminanti le due situazioni. I corpi di Döhle, inoltre, caratterizzano la morfologia granulocitaria nella rarissima anomalia di May Hegglin (40).

La presenza di granulociti fagocitanti miceti o batteri (commento 5GRA) si riferisce a osservazioni non frequenti, ma caratterizzate da notevole gravità clinica. La possibilità che nel corso di sepsi batteriche o da miceti possano esservi segnalazioni strumentali sugli analizzatori ematologici è stata ben segnalata (41, 42). Sia nelle sepsi batteriche che in quelle da Candida è possibile osservare microscopicamente nel sangue periferico corpi batterici o blastospore extracellulari o fagocitati dai granulociti. Questa osservazione, seppure a bassa sensibilità, è caratterizzata da specificità sufficiente a indurre terapia empirica prima degli esiti colturali. L'immediata comunicazione al MMG, ma anche al reparto ospedaliero (terapia intensiva, oncologia), può essere fattore decisivo, anche *quoad vitam*, per il paziente.

Anche la nota per MMG relativa ai granulociti reattivi pone attenzione al ruolo fisiologico di questa popolazione cellulare nei meccanismi dell'immunità aspecifica cui partecipa, con aumento della quota circolante e con le modificazioni morfologiche descritte.

Gruppo WBC-Monociti (Tabella 6)

Il documento WHO del 2008 contempla la necessità di valutazione delle atipie morfologiche monocitarie quando, nell'ambito di una leucemia acuta che coinvolge la serie monocitaria, sia necessaria la distinzione promonociti/monociti atipici per inclusione dei promonociti nel conteggio dei blasti (18). Viceversa, le atipie morfologiche non sono criterio utile nella leucemia mielomonocitica cronica (LMMC), per la cui diagnosi

Tabella 6

Gruppo WBC-Monociti: commenti di refertazione

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1MO	L'elevata monocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra ~3 mesi	Utilizzare al primo riscontro di monocitosi $>1 \times 10^9/L$ se non c'è displasia	18, 21, 40
2MO	La persistenza di monocitosi elevata consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Utilizzare al secondo riscontro di monocitosi $>1 \times 10^9/L$ o, se disponibili, di precedenti valori elevati	
3MO	L'elevata monocitosi associata a displasia (unilineare, bi- o trilineare) consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Utilizzare anche in assenza di valori elevati precedenti se una monocitosi $>1 \times 10^9/L$ è associata a displasia (displasia granulocitica presenza di eritroblasti, piastrine giganti, micromegacariociti, altro). Aggiungere al testo del commento il tipo di displasia (ad es., l'elevata monocitosi associata alla presenza di eritroblasti consiglia...)	

sono sufficienti 3 criteri diversamente associati: monocitosi $>1,0 \times 10^9/L$, persistenza della monocitosi $>1,0 \times 10^9/L$, monocitosi $>1,0 \times 10^9/L$ associata a displasia uni-multilineare (43). Pertanto, in un contesto di monocitosi anche elevata con blasti, promonociti, monociti atipici e monociti "non atipici", la capacità di riconoscimento dei promonociti e la distinzione di questi dai monociti atipici è utile (indispensabile) per l'enumerazione dei blasti, ma l'esplicitazione con specifico commento della presenza di atipie non aggiunge informazione clinicamente utile (44). I commenti 1MO, 2MO e 3MO sono sufficienti a commentare adeguatamente le monocitosi $>1,0 \times 10^9/L$ non associate a presenza di blasti.

Anche in questo caso, la nota *una tantum* per MMG è principalmente orientata a suggerire, in assenza di gravità del quadro clinico, un iter ragionato di approfondimento diagnostico.

Gruppo WBC-Blasti (Tabella 7)

L'identificazione citologica dei blasti con il solo criterio morfologico è un azzardo tranne che in situazioni particolari determinate da alcune peculiarità pressoché esclusive [ad es., presenza di corpi di Auer, promielociti della leucemia acuta mieloide (AML) M3 e M3v] e/o dalla particolare esperienza e perizia del morfologo (45). Per tali motivi e per l'ovvia implicazione che all'eventuale segnalazione di linea linfoide o mieloide non conseguono atti clinico-terapeutici immediati, il conteggio dei blasti e il commento sul referto potrebbero di per sé esaurirsi con l'uso del solo termine "blasti". Tuttavia, la segnalazione di alcune caratteristiche morfologiche determina un primo orientamento tra blasti "sicuramente mieloidi" (granulati, con corpi di Auer) e blasti privi di caratteristiche morfologiche orientative di linea (non granulati, senza corpi di Auer) e la percezione che la valutazione morfologica sia stata accurata e appropriata. Anche per tali motivi non devono essere utilizzati termini fuorvianti o di "insicurezza" (elementi con morfologia di blasto, cellule blastoidi, ecc.), che possono determinare un'errata percezione della gravità clinica.

Il commento 1BLA è riservato alle situazioni in cui all'osservazione (quasi sempre casuale) di un blasto sia conseguita un'osservazione microscopica ben superiore a 200 elementi e che abbia prodotto un risultato " $<0,5\%$ ".

I commenti 2BLA, 3BLA e 4BLA descrivono le morfologie più frequentemente osservabili nei blasti. Il commento 5BLA può essere associato a ciascuno dei precedenti [ad es., blasti non granulati 5%, alcuni (numerosi) con corpi di Auer].

I commenti 6BLA e 7BLA descrivono la morfologia dei promielociti leucemici delle AML M3 e M3v. Per le peculiarità di tipo clinico-terapeutico sono oggetto di particolare attenzione nella segnalazione *una tantum* al medico curante. Si sottolinea che la percezione di gravità clinica che deve essere trasmessa al clinico anche con immediato contatto telefonico prescinde dal numero di blasti osservati: il significato clinico-diagnostico di "rari blasti", in assenza di ulteriori informazioni, non differisce da quello di ogni altra quantificazione. La nota *una tantum* per il medico curante sottolinea la potenziale gravità clinica e la necessità di interventi conseguenti.

Gruppo RBC-Eritroblasti

Non sono proposti commenti. Nel caso in cui la presenza di NRBC nel sangue periferico sia la sola anomalia osservabile, essa deve essere segnalata quantitativamente come popolazione aggiuntiva alle 5 sottopopolazioni leucocitarie, utilizzando i dati strumentali (se disponibili) ovvero il conteggio microscopico. In quest'ultimo caso, il valore più basso refertabile è 0,5% (valutazione microscopica su 200 elementi). La presenza di NRBC circolanti determina una variazione del conteggio assoluto e differenziale dei WBC, che sugli analizzatori ematologici vengono automaticamente corretti. In caso di conteggio microscopico, è necessario che la correzione dei valori (totali e differenziali) sia fatta con l'ausilio di formule di calcolo appropriate (46). Per questi motivi, la valutazione qualitativa (rari, alcuni, numerosi NRBC) non deve essere utilizzata. Non ci sono evidenze che la segnalazione o la suddivisione delle diverse classi

Tabella 7*Gruppo WBC-Blasti: commenti di refertazione*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni ^a	Riferimenti bibliografici
1BLA	Rari blasti	Per blasti <0,5% (conteggio su 200 elementi).	14, 18, 21
2BLA	Blasti granulati...%		18, 21, 35
3BLA	Blasti non granulati...%		18, 21
4BLA	Blasti non granulati...%, con vacuolizzazioni citoplasmatiche		18, 21
5BLA	Alcuni (o numerosi) con corpi di Auer	Utilizzare come eventuale continuazione dei commenti 2BLA e 3BLA (blasti granulati 10%, alcuni con corpi di Auer)	18, 21, 35
6BLA	Blasti con numerosi corpi di Auer "en faggot"... %	L'osservazione di blasti in qualsiasi numero con questa morfologia è una emergenza clinica	18, 21
7BLA	Blasti non granulati (ipogranulati) spesso con morfologia nucleare "a manubrio" o "a clessidra"... %	L'osservazione di blasti in qualsiasi numero con questa morfologia è una emergenza clinica	18, 21, 35, 44

^aLa presenza di blasti in qualsiasi numero in soggetto non conosciuto come portatore di emopatia è sempre motivo di immediata segnalazione telefonica. La stessa indicazione è applicabile al soggetto in "follow up" che mostri variazioni significative dello stato precedente (remissione citologica) o significativi aumenti di una precedente blastosi a più basso livello.

maturative (ortocromatici e policromatofili o, più raramente, basofili), come pure l'osservazione di alcuni aspetti displastici, aggiunga informazione diagnostica.

In altri casi, la presenza di NRBC può rappresentare una tra altre anomalie quali-quantitative (anisocitosi, poichilocitosi, presenza di GI, di blasti, anomalie qualitative delle piastrine), che dovranno essere segnalate secondo le diverse fattispecie descritte.

La nota *una tantum* offre al MMG gli elementi interpretativi necessari anche in relazione alla possibilità che, con l'uso delle tecnologie più recenti, la presenza di NRBC sia segnalata solo come popolazione aggiuntiva, spesso senza necessità di ulteriori commenti.

Gruppo RBC-Anomalie morfologiche eritrocitarie (Tabella 8)

Il commento 1RBC è riservato alle situazioni in cui la segnalazione di dacriociti aggiunge ulteriori informazioni a un quadro suggestivo (presenza di GI, NRBC, piastrinosi e anomalie qualitative delle PLT) ovvero nei casi in cui rappresenti l'anomalia morfologica prevalente (51).

Le anomalie di forma/volume/cromia (commenti 2RBC e 3RBC) comprendono sia la segnalazione di anomalia prevalente (ad es., presenza di ellissocitosi o acantocitosi o stomatocitosi) sia quella delle anomalie complessive (anisocitosi, poichilocitosi, anisopoichilocitosi). La segnalazione di "microcitosi", "macrocitosi" e "ipocromia" dovrebbe essere riservata alle sole situazioni con valori di volume corpuscolare medio (MCV) e, rispettivamente, MCHC ("mean corpuscular haemoglobin concentration") fuori dall'intervallo di riferimento, anche se sono di per sé pleonastiche e ridondanti, specialmente nel caso in cui i

valori anormali sono segnalati da specifici allarmi. Situazioni con presenze significative, ma non prevalenti, dovrebbero ricadere sotto l'ambito delle anisocitosi e delle anisocromie. La segnalazione di anisocitosi è riservata a contesti compatibili [valutazione RDW ("red cells dispersion width") e istogramma di distribuzione RBC]. La segnalazione di poichilocitosi è riservata alla co-presenza di differenti anomalie di forma. I commenti 2RBC e 3RBC non sono utilizzabili per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo.

Il commento 4RBC è utilizzabile per la co-presenza di RBC normocromiche e ipocromiche in un contesto di normo-macroscitosi, perché descrittivo della possibile presenza della eritropoiesi difettiva, che caratterizza le anemie sideroblastiche (48).

I commenti 5RBC e 6RBC si utilizzano solo in presenza di istogrammi di distribuzione RBC con doppia popolazione, descrittiva della fase riproduttiva post-terapeutica di anemia ferro-carenziale e, rispettivamente, di quella da deficit di vitamina B12 o folati o ancora per recente emotrasfusione.

Le diverse anomalie incluse nel commento 7RBC devono essere segnalate anche se osservate in pochi elementi, perché di per sé descrittive (genericamente) di anomalie eritropoietiche. Si sottolinea l'improbabilità che tali anomalie possano essere presenti isolatamente. Pertanto, la loro osservazione deve indurre a un riesame microscopico alla ricerca di ulteriori anomalie che portino all'uso integrato dei necessari commenti.

La ricerca di schizociti è riservata a un contesto clinico che suggerisca l'ipotesi diagnostica di anemia microangiopatica (49). La loro presenza è espressa quantitativamente (commento 8RBC). Il commento 9RBC segnala esplicitamente l'assenza di schizociti, che siano stati richiesti in maniera appropriata. Non deve

Tabella 8*Gruppo RBC: commenti di refertazione per anomalie morfologiche eritrocitarie*

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1RBC	Presenza di dacriociti	Commento riservato alle situazioni in cui la segnalazione di dacriociti aggiunge ulteriori informazioni a un quadro suggestivo (presenza di granulociti immaturi, eritroblasti, piastrinosi e anomalie qualitative delle piastrine) ovvero nei casi in cui rappresenti l'anomalia morfologica prevalente. Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo	7, 13, 21, 47
2RBC	Presenza di [anisocitosi; poichilocitosi; anisopoichilocitosi; microcitosi; macrocitosi; ovalocitosi; ellissocitosi; acantocitosi; echinocitosi; stomatocitosi; sferocitosi; ipocromia; policromasia; altre anomalie di forma/volume/cromia] eritrocitaria	Utilizzare i termini generici (anisocitosi, poichilocitosi, anisocromia) quando non vi sono variazioni di diametro, forma o cromia prevalenti. Utilizzare i termini specifici in caso di anomalie prevalenti o dominanti (ad es., presenza di ipocromia, ovalocitosi, acantocitosi, sferocitosi, ipocromia). Sono possibili le associazioni di più caratteristiche (ad es., presenza microcitosi, ipocromia e policromasia eritrocitaria). Valutare la compatibilità con i dati strumentali (osservazione dell'istogramma di emoglobina e RBC, valori MCHC e RDW, altri parametri strumento-specifici). Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo	
3RBC	Presenza di emazie a bersaglio	Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo	
4RBC	Doppia popolazione eritrocitaria normo-ipocromica	Il commento deve essere riversato alla copresenza di emazie normocromiche e ipocromiche in un contesto di normo-macrocitosi perché descrittivo della possibile presenza della eritropoiesi difettiva che caratterizza le anemie sideroblastiche	48
5RBC	Doppia popolazione eritrocitaria normo-microcitica	Il commento deve essere utilizzato solo in presenza di istogrammi di distribuzione RBC con doppia popolazione descrittiva della fase riproduttiva post-terapeutica di anemie ferro-carenziali	
6RBC	Doppia popolazione eritrocitaria normo-macro (megalocitica)	Il commento deve essere utilizzato solo in presenza di istogrammi di distribuzione RBC con doppia popolazione descrittiva della fase riproduttiva post-terapeutica da deficit di vitamina B12 e/o folati	
7RBC	Presenza di emazie con [anelli di Cabot; corpi di Howell-Jolly; corpi di Pappenheimer; punteggiatura basofila; altre inclusioni o altre anomalie]	Segnalare anche se osservate in pochi elementi	7, 47
8RBC	Schizociti.../1000 RBC	La ricerca di schizociti deve essere eseguita in un contesto clinico che suggerisca l'ipotesi diagnostica di anemia microangiopatica. La loro presenza deve essere espressa quantitativamente (N/1000 RBC)	49
9RBC	Non si osservano schizociti	Il commento deve essere utilizzato per segnalare esplicitamente l'assenza di schizociti, quando richiesti	
10RBC	Presenza di "rouleaux" eritrocitari	Escludere artefatti	50
11RBC	Presenza di emazie falciformi	Escludere artefatti	7, 21, 47, 50
12RBC	Emazie con trofozoiti ad anello... /1000 RBC	Oltre ai trofozoiti ad anello, deve essere segnalata l'eventuale presenza di trofozoiti maturi, di schizonti e di gametociti	21, 47
13RBC	E' stata osservata agglutinazione eritrocitaria reversibile dopo incubazione a 37 °C, verosimilmente dovuta alla presenza di agglutinine fredde. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico.	Il consiglio di "eseguire nuovo prelievo a 37 °C" dovrebbe essere riservato solo agli utenti ricoverati e ai rari soggetti ambulatoriali senza reversibilità completa a caldo	

MCHC, "mean corpuscular haemoglobin concentration"; *RDW*, "red cells dispersion width".

essere utilizzato quale risposta a richiesta palesemente inappropriata come, ad esempio, quella fatta in soggetti con valori fisiologici di PLT, che dovrebbero dettare la non esecuzione della ricerca.

L'uso dei commenti 10RBC e 11RBC deve essere preceduto dalla verifica di qualità dello striscio (con eventuale riesecuzione), che escluda un artefatto, peraltro frequente (50).

La presenza di parassiti malarici (12RBC) è espressa come numero di RBC parassitate/1000 RBC ed è accompagnata dalla descrizione di stadio maturativo del parassita (usualmente trofozoito ad anello; meno frequentemente trofozoiti maturi, schizonti e gametociti).

L'agglutinazione eritrocitaria da agglutinine fredde (commento 13RBC) non è artefatto di laboratorio privo di significato clinico: essa sottende l'ipotesi diagnostica di anemia emolitica autoimmune (AIHA) da autoanticorpi freddi idiopatica (malattia emolitica da agglutinine fredde) o secondaria a infezione/infiemmazione cronica, malattie autoimmuni, neoplasie (sindrome emolitica da agglutinine fredde) (52). L'agglutinazione eritrocitaria segnalata da valori MCHC molto elevati solo raramente è irreversibile o parzialmente reversibile dopo incubazione a 37 °C: è sufficiente prolungare l'incubazione fino a 2 ore, verificando la normalizzazione di MCHC. Per questi motivi, il consiglio di "eseguire nuovo prelievo a 37 °C" dovrebbe essere riservato solo agli utenti ricoverati e ai rari soggetti ambulatoriali senza reversibilità completa a caldo.

Nelle note specifiche per il medico curante si fa cenno all'ipotesi diagnostica di AIHA.

Gruppo PLT-Anomalie morfologiche piastriniche (Tabella 9)

Le piccole dimensioni e la notevole variabilità morfologica delle PLT normali non consentono un'agevole valutazione delle loro anomalie qualitative (53). Pertanto, i commenti 1PLT e 2PLT per anisocitosi piastrinica dovrebbero essere utilizzati con attenzione e solo in contesti compatibili con piastrinopenia/piastrinosi o anomalie quantitative o qualitative delle altre linee (citopenia, displasia, poliglobulia, presenza di NRBC, presenza di GI). L'uso di questi commenti in un contesto di generale "normalità" non è appropriato.

La "riduzione" delle granulazioni piastriniche presenta maggiori difficoltà di riconoscimento anche rispetto alla "agranularità". Tenendo presente che anche la sindrome delle PLT grigie oltre alla agranularità presenta piastrinopenia con PLT giganti, il commento 3PLT deve essere utilizzato con estrema prudenza e mai in un contesto di "normalità", valutando in questi casi la possibilità di artefatti non piastrinici, quali frammenti citoplasmatici (clasmatosi) o la presenza di crioglobuline, che saranno comunque accompagnati da idoneo commento redatto secondo le indicazioni successivamente descritte.

La presenza nel sangue periferico di frammenti (lembi citoplasmatici, nuclei nudi) o di interi megacariociti, micromegacariociti o megacarioblasti contrassegna fasi avanzate di emopoiesi extra-midollare ed è accompagnata sempre da altre anomalie quali/quantitative delle PLT, da GI, NRBC e altro. L'uso del commento 4PLT consegue a queste valutazioni

Tabella 9

Gruppo PLT: commenti di refertazione per anomalie morfologiche piastriniche

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1 PLT	Anisocitosi piastrinica	Il commento dev'essere utilizzato con attenzione e solo in contesti compatibili e non deve essere utilizzato in un contesto di generale "normalità"	7, 21, 53
2 PLT	Presenza di piastrine giganti	L'osservazione sporadica di piastrine giganti non deve essere segnalata in un contesto di "normalità"	
3 PLT	Ipo/agranularità delle piastrine	Il commento dev'essere utilizzato con estrema prudenza e mai in un contesto di "normalità"	
4 PLT	Presenza di micromegacariociti (micromegacarioblasti/nuclei nudi megacariocitari)	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	7, 21
5 PLT	Il conteggio piastrinico non è stato eseguito per la presenza di agglutinati che determinano pseudoplastrinopenia. Il fenomeno non ha alcuna rilevanza clinica e non determina sintomatologia emorragica. Nel caso si desideri conoscere il valore corretto di piastrine è necessaria una diversa modalità di prelievo che sarà eseguita presentando questa risposta al proprio punto di prelievo	Eliminare dal referto il conteggio delle piastrine fornito dallo strumento. Valutare le possibili interferenze (tecnologia-dipendenti) sui conteggi leucocitari totali e/o differenziali	54, 55

complessive, eventualmente valorizzate da specifici commenti.

Le pseudopiastrinopenie (PTCP) non determinate da indaginosità del prelievo sono causate da un'agglutinazione *in vitro* dipendente dalla presenza di anticorpi anti-piastrine (54, 55). Per questo motivo il termine "aggregazione" non deve essere utilizzato. Il valore PLT in presenza di agglutinati non deve essere refertato. Il commento 5PLT dovrebbe essere l'unico utilizzabile per l'utenza esterna, previa istruzione operativa ai propri punti di prelievo sulla necessità di utilizzare provette contenenti altri anticoagulanti, quali il sodio citrato o il citrato-piridossal fosfato-tris (CPT). L'utenza interna può essere gestita con specifica istruzione operativa rivolta ai reparti di degenza.

Oltre a considerazioni sugli aspetti diagnostici di alcune anomalie piastriniche, la nota *una tantum* per MMG si propone di ricondurre il fenomeno PTCP nei corretti confini di una "non patologia".

Gruppo miscellanea e modelli redazionali (Tabella 10)

Il commento 1MIS rappresenta un modello redazionale per tutte le note tecniche che devono dettare un solo comportamento da parte della struttura (punto di

prelievo, reparto) richiedente l'esame: la ripetizione dell'esame per coagulo, emolisi, smarrimento, errore di identificazione, ecc.

Alla stessa tipologia "di servizio" appartengono commenti non esplicitati nel presente documento, ma di cui 1MIS può essere modello di riferimento. Si tratta di messaggi più che di commenti dettati da condizioni organizzative del laboratorio quali, ad esempio, il differimento della valutazione microscopica ("segue controllo microscopico"; "revisione microscopica in corso") nelle diverse e varie formulazioni di pari significato. Sarebbe auspicabile che tali messaggi fossero utilizzati (eventualmente migliorandone l'espressione scritta) esclusivamente in un contesto di relazione già chiaramente definita con i reparti richiedenti, senza mai coinvolgere l'utenza ambulatoriale rappresentata dal paziente e dal MMG.

I commenti da 2MIS a 6MIS sono modelli redazionali per i commenti così detti "diagnostici". Sebbene non possa essere esclusa *a priori* la possibilità che il solo dato di laboratorio possa essere di per sé "diagnostico", commenti come "Morfologico compatibile con una sindrome mielodisplastica" oppure "Quadro morfologico compatibile con leucemia acuta mieloide" e simili, caratterizzati dall'esplicitazione di una diagnosi, non dovrebbero essere utilizzati. Infatti, la maggior parte

Tabella 10

Gruppo miscellanea: commenti di refertazione

Codice	Commento	Indicazioni/azioni	Riferimenti bibliografici
1 MIS	La presenza di coaguli invalida i valori dell'emocromo: inviare nuovo campione	Modello con cui redarre tutti gli emocromi gravati da ineliminabile errore pre-analitico (emolisi, volume insufficiente, diluito da infusione venosa, altro) Eliminare tutti i valori dell'esame emocromocitometrico dal referto	
2MIS	L'aumento dei granulociti basofili consiglia approfondimenti clinico-diagnostici	Commento da utilizzare con una basofilia che supera il limite superiore di riferimento. Confermata in revisione microscopica e in assenza di altre alterazioni morfologiche	56
3MIS	L'associazione di citopenia [o anemia o leucopenia o piastrinopenia] e displasia mono-[bi- e tri-] lineare consigliano approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	18
4MIS	I valori elevati di emoglobina e di ematocrito sono descrittivi di un incremento della massa eritrocitaria e consigliano approfondimenti clinico-diagnostici	Utilizzare cut-off per emoglobina >185 g/L e >165 g/L, rispettivamente per maschi e femmine, associati ad aumento dell'ematocrito >99° percentile della distribuzione dei valori di riferimento per il metodo in uso. Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	18
5MIS	La persistenza da oltre 6 mesi di piastrinosi >450×10 ⁹ /L consiglia approfondimento clinico-diagnostico		18
6 MIS	La presenza di eritroblasti [di dacriociti; di granulociti immaturi; di piastrinosi; di anisocitosi piastrinica; di megacariociti; di nuclei nudi] consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente	18, 21

delle malattie ematologiche (e non) sono diagnosticabili solo dopo completa valutazione clinico-emeiologica o esami di approfondimento (ad es., citochimica, biologia molecolare) della quale il laboratorio è solo parte, seppur rilevante. Vi è però ugualmente la possibilità che il laboratorio utilizzi a pieno il suo ruolo nel processo diagnostico, con valutazioni appropriate di sintesi, eventualmente completate da approfondimenti telefonici con il MMG.

Gli stessi commenti, inoltre, possono costituire il modello cui fare riferimento quando si presenti la necessità di sottolineare la rilevanza di un dato di laboratorio senza ricorrere a formulazioni quali "valore ricontrollato" o simili, che possono ingenerare percezione di insicurezza. Un esempio è rappresentato dai commenti 2MIS, 4MIS e 5MIS con i quali, come meglio evidenziato nella nota *una tantum* per il medico curante, non viene sottolineato l'aspetto di verifica analitica, ma la necessità di un approfondimento diagnostico per possibile patologia (56).

Commenti minimi di refertazione

L'indagine conoscitiva del GdS-DE sulla diagnostica ematologica nei laboratori italiani ha evidenziato grandi differenze non sempre ben valutabili negli effetti operativi e di qualità prestazionale (5). Non in tutti i laboratori, ad esempio, può essere assicurata continuamente la disponibilità di professionisti con esperienza specifica nella diagnostica ematologica. Questo aspetto rappresenta la norma nel corso dei turni di guardia notturni o festivi e può rappresentare un fattore di grande criticità nelle emergenti organizzazioni a rete integrata tipo "hub" e "spoke" a causa dell'accentramento delle competenze specialistiche.

Queste valutazioni hanno suggerito l'opportunità di estrarre dal complesso dei commenti descritti precedentemente un elenco utilizzabile nelle diverse situazioni locali anche da professionisti non ematologi ai quali è comunque richiesta la conoscenza di base prevista dallo standard CLSI H20-A2 (46) per il riconoscimento almeno delle alterazioni di seguito elencate:

- Linfociti attivati (1LINF);
- Linfociti atipici (5LINF);
- Displasia granulocitaria (1GRA);
- Granulociti (fagocitosi di miceti o batteri) (5GRA);
- Blasti: riconoscimento (1BLA). Auspicabili, per l'elevata criticità clinica, 6BLA e 7BLA;
- Morfologia eritrocitaria: riconoscimento e quantificazione schizociti (8RBC);
- Riconoscimento emazie parassitate da plasmodi della malaria;
- Piastrine: riconoscimento pseudoplastrinopenia.

DISCUSSIONE

Il linguaggio del laboratorio è quello della medicina informativa, basato sulla capacità di trasmettere informazioni specialistiche, valorizzandole negli aspetti

diagnostici e interpretativi. Questo avviene non solo con la produzione degli esiti analitici, ma anche nella fase post-analitica, con l'uso di commenti di refertazione che, opportunamente modulati, possono offrire chiavi interpretative, suggerire algoritmi o, in alcuni casi, prospettare ipotesi diagnostiche (1, 2). I risultati dell'indagine condotta dal GdS-DE ha evidenziato una gestione non ottimale di questo strumento, caratterizzata da un eccesso di commenti (oltre 400), dall'uso di una terminologia non omogenea o non scientificamente adeguata e, spesso, da autoreferenzialità (5). Il quadro emerso descrive una diffusa inadeguatezza dei commenti utilizzati per incrementare la qualità dell'informazione clinicamente utile. Per questi motivi, la riduzione del numero, la standardizzazione, la chiarezza e la rigosità espositiva sono stati gli obiettivi che hanno guidato la proposta di revisione dei commenti di refertazione da parte del GdS-DE.

Un'altra criticità emersa dall'indagine è rappresentata dalla percezione dell'uso frequente di alcuni commenti che possono essere definiti "diagnostici", quali, ad esempio, "osservazione orientativa (o suggestiva, o conclusiva) per...". L'uso dei commenti di refertazione con tale finalità non tiene conto della natura multidisciplinare di un processo diagnostico specie se, come sottolineato nel documento WHO (18), riferito a patologie ematologiche clonali o neoplastiche. Questi commenti risultano influenti o condizionanti le relazioni tra il paziente e il MMG cui compete, tra l'altro, il diritto-dovere sia della gestione clinica delle informazioni che delle relazioni anche familiari ed emozionali con il proprio assistito.

Queste considerazioni hanno guidato la proposta del GdS-DE di formulare commenti di refertazione che rispettino la loro finalità di trasformare un'informazione quantitativa (il risultato) in una "informazione per decidere", clinicamente utile, ma che risultino al contempo di facile lettura, rigorosi sul piano scientifico, chiari ma non allarmanti, che dettino e guidino comportamenti senza modificarne la titolarità. Per questi motivi, la definizione di un doppio livello informativo, uno sul referto per il paziente e il medico e un secondo rivolto al solo MMG o a specialisti ospedalieri, concorre a meglio precisare e rendere più efficaci le relazioni laboratorio-paziente-medico.

La razionalizzazione dell'uso dei commenti di refertazione non esaurisce, tuttavia, le possibilità di corretto ed efficace uso della diagnostica di laboratorio: situazioni di "gravità clinica" e di elevato rischio potenziale per il paziente necessitano anche di una tempestività d'intervento che può essere assicurata dal contatto telefonico. Esso offre infatti la possibilità di uno scambio di opinioni e informazioni cliniche che possano meglio inquadrare e valorizzare in tutti i suoi aspetti applicativi l'informazione fornita dal laboratorio. La relazione telefonica, tuttavia, non può essere sostitutiva della chiarezza e rigosità espositiva del referto, anche a ragione della possibilità che questo accompagni il paziente nei successivi passaggi attraverso strutture sanitarie diverse da quella originaria.

L'abbandono di consuetudini e modelli comportamentali consolidati è spesso difficile e faticoso. Spetta alle società scientifiche la proposta e la gestione di questo cambiamento. Il numero di laboratori che vorranno applicare le regole di commento, le successive proposte di adeguamento dettate dall'uso, la percezione di miglioramento della qualità informativa, il miglioramento delle relazioni professionali con i MMG e i clinici rappresentano gli obiettivi perseguibili. Saranno compiti del GdS-DE sia la verifica del grado di raggiungimento di questi obiettivi che, soprattutto, le azioni di miglioramento che saranno successivamente suggerite dai risultati dell'applicazione delle regole proposte.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

- Marques MB, Anastasi J, Ashwood E et al. The clinical pathologist as consultant. *Am J Clin Pathol* 2011;135:11-2.
- Plebani M, Panteghini M. Promoting clinical and laboratory interaction by harmonization. *Clin Chim Acta* 2014;432:15-21.
- Buttarelli M, Plebani M. Automated blood cell count. *Am J Clin Pathol* 2008;130:104-16.
- Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hem* 2009;31:277-97.
- Buoro S, Apassiti Esposito S, Balboni F et al. Stato dell'arte della diagnostica ematologica nei servizi di Medicina di Laboratorio in Italia. *Biochim Clin* 2015;39:25-40.
- Burns PB, Rohrich RJ, Chung KC. The levels of evidence and their role in evidence-based medicine. *Plast Reconstr Surg* 2011;128:305-10.
- Palmer L, Briggs C, McFadden S et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int J Lab Hematol* 2015;37:287-303.
- George TI. Malignant or benign leukocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;2012:475-84.
- Tomkinson BE, Wagner DK, Nelson DL, et al. Activated lymphocytes during acute Epstein-Barr virus infection. *J Immunol* 1986;139:3802-7.
- Taga K, Taga H, Tosato G. Diagnosis of atypical cases of infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis* 2001;33:83-8.
- Kulkarni JD. Apoptotic lymphocyte as clue to infectious mononucleosis. *Blood* 2012;120:708.
- Zini G, Bain B, Bettelheim P, et al. A European consensus report on blood cell identification: terminology utilized and morphological diagnosis concordance among 28 experts from 17 countries within the European LeukemiaNet network WP10, on behalf of the ELN Morphology Faculty. *Br J Haematol* 2010;151:359-64.
- Lippi G, Caputo M, Banfi G, et al. Raccomandazioni per l'identificazione e la gestione dei valori critici nei laboratori clinici. *Biochim Clin*, 2008;32:209-16
- McFarlane A, Aslan B, Raby B, et al. Critical values in hematology. *Int J Lab Hem* 2015;37:36-43.
- Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, et al. The International Consensus Group for Hematology Review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol* 2005;11:83-90.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood* 2008;112:4384-99.
- van den Brand M, van Krieken JH. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica* 2013;98:1003-13.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2008.
- Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011;117:5019-32.
- Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008;111:3941-67.
- D'Onofrio G, Zini G. *Morfologia delle malattie del sangue*. 1^a ed. Roma: Verduci Editore, 2013.
- Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B. et al. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant. *Br J Haematol* 2011;156:186-95.
- Naderi N, Yang DT. Lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenström macroglobulinemia. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:580-5.
- Ribourtout B, Zandecki M. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. *Morphologie* 2015;99:38-62.
- Ravinet A, Bay JO, Toumilliac O. Plasma cell leukemia. *Bull Cancer* 2014;101:1048-58.
- Shanafelt TD, Kay NE, Call TG, et al. MBL or CLL: which classification best categorizes the clinical course of patients with an absolute lymphocyte count $> \text{or} = 5 \times 10^9/\text{L}$ but a B cell lymphocyte count $< 5 \times 10^9/\text{L}$? *Leuk Res* 2008;32:1458-61.
- Rawstron AC. Monoclonal B cell lymphocytosis-what does it really mean? *Curr Hematol Malig Rep* 2013;8:52-9.
- Herberman, RB, Ortaldo JR. Natural killer cells: their roles in defenses against disease. *Science* 1981;214:24-30.
- Chijioke O, Azzi T, Nadal D. Innate immune responses against Epstein Barr virus infection. *J Leukoc Biol* 2013;94:1185-90.
- Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: updated criteria for diagnosis. *Blood* 1997;89:256-60.
- Johansson P, Eisele L, Klein-Hitpass L et al. Percentage of smudge cells determined on routine blood smears is a novel prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2010;34:892-8.
- Gogia A, Raina V, Gupta R. et al. Prognostic and predictive significance of smudge cell percentage on routine blood smear in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2014;14:514-7.
- Roehrl MHA, Lantz D, Sylvester C, et al. Age-dependent reference ranges for automated assessment of immature granulocytes and clinical significance in an outpatient setting. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:471-7.
- Roehrl MHA, Wang JY. Immature granulocytes in pregnancy: a story of Virchow, anxious fathers, and expectant mothers. *Am J Hematol* 2011;86:307-12.
- Mufti GM, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica* 2008;93:1712-7.
- Cazzola M, Malcovati L, Invernizzi R. Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:264-72.
- Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, et al.; International Working Group on Morphology of MDS (IWGM-MDS).

- Proposal for refining the definition of dysgranulopoiesis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2014;38:447-53.
38. Rauh MJ. Standardizing dysgranulopoiesis in MDS and AML: refining diagnostics and laying the foundation for novel morphological-genetic correlations. *Leuk Res* 2014;38:428-9.
 39. Bain BJ, Ahmad S. Chronic neutrophilic leukaemia and plasma cell-related neutrophilic leukaemoid reactions. *Br J Haematol* 2015;171:400-10.
 40. Fatima S. May Hegglin anomaly: rare entity with review of literature. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2012;28:58-60.
 41. Park DH, Park K, Park J, et al. Screening of sepsis using leukocyte cell population data from the Coulter automatic blood cell analyzer DxH800. *Int J Lab Hematol* 2011;33:391-9.
 42. Kim HR, Park BR, Lee MK. Effects of bacteria and yeast on WBC counting in three automated hematology counters *Ann Hematol* 2008;87:557-62.
 43. Goasguen JE, Bennet JM, Bain BJ, et al. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica* 2009;94:994-7.
 44. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-51.
 45. Bochtler T, Fröhling S, Krämer A. Role of chromosomal aberrations in clonal diversity and progression of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2015;29:1243-52.
 46. Clinical Laboratory Standards Institute. Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved guideline - 2nd ed. CLSI document H20-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2007.
 47. Ford J. Red blood cell morphology. *Int J Lab Hematol* 2013;35:351-7.
 48. Bridges KR, Andrews NC. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, eds. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. 5th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company, 1998.
 49. Zini G, d'Onofrio G, Briggs C. et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol* 2012;34:107-16.
 50. Bakul I, Dala I, Brigden ML. Artifacts that may be present on a blood film. *Clin In Lab Med* 2002;22:81-100.
 51. Robier C, Klescher D, Reicht G, et al. Dacryocytes are a common morphologic feature of autoimmune and microangiopathic haemolytic anaemia. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1073-6.
 52. Berentsen S, Sundic T. Red blood cell destruction in autoimmune hemolytic anemia: role of complement and potential new targets for therapy. *Biomed Res Int* 2015;2015:363278.
 53. Moreno A, Menke D. Assessment of platelet numbers and morphology in the peripheral blood smear. *Clin Lab Med* 2002;22:193-213.
 54. Nagler M, Keller P, Siegrist D, et al. A case of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: simple recognition of an underdiagnosed and misleading phenomenon. *BMC Clin Pathol* 2014;14:19.
 55. Berkman N, Michaeli Y, Or R, et al. EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol* 1991;36:195-201.
 56. Yasuda H, Aritaka N, Ando J, et al. Chronic myelogenous leukemia with mild basophilia as the predominant manifestation at presentation. *Intern Med* 2011;50:501-2.