

## **I commenti interpretativi del referto ematologico di laboratorio**

Antonio La Gioia<sup>1</sup>, Fiamma Balboni<sup>2</sup>, Sabrina Buoro<sup>3</sup>, Alessandra Fanelli<sup>4</sup>, Maria Gioia<sup>5</sup>,  
Alessandra Marini<sup>6</sup>, Silvia Pipitone<sup>7</sup>, Giorgio Da Rin<sup>8</sup>, Annamaria Di Fabio<sup>9</sup>, Fabiana  
Fiorini<sup>1</sup>, Sara Francione<sup>10</sup> ed Angela Papa<sup>11</sup>

1. U.O. Patologia Clinica Ospedale "F. Lotti", Azienda USL 5, Pontedera, PI
2. Laboratorio Analisi, Istituto Fiorentino di Cura e Assistenza (IFCA), Firenze
3. Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche, A.O. Papa Giovanni XXIII, Bergamo
4. Laboratorio Generale Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
5. Dipartimento di Patologia Clinica A.O. "V. Cervello", Palermo
6. Laboratorio Analisi ASL 12, Viareggio, LU
7. U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Parma
8. Medicina di Laboratorio ASL 3, Bassano del Grappa, TV
9. U.O.C. Patologia Clinica, Ospedale Civile di Avezzano, AQ
10. Laboratorio Analisi, ASL NO, Borgomanero, NO
11. Medicina di Laboratorio, Fondazione G. Monasterio CNR Regione Toscana, Pisa

Corresponding author:

Dr Antonio La Gioia

Via di Ripoli ,127 56035 Casciana Terme – Lari (Pisa)

Tel. 0587350760

Fax 0587350760

E-mail: ant.lagioia@gmail.com

## **ABSTRACT**

### **Interpretative comments on laboratory hematology report.**

Interpretative comments on 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. 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 identical 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: i) reducing the number; ii) standardizing the language; iii) providing an information with a language that could be easily understood by patients and clinicians; iv) increasing the quality of clinical information. For these reasons, 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. We do hope that the adoption of standardized interpretative comments may positively influence patient care and outcomes.

## **INTRODUZIONE**

I commenti di refertazione sono uno strumento di comunicazione tra il laboratorio, l'utente titolare del referto ed il medico richiedente. Variamente formulati, sono finalizzati in genere a chiarire alcuni aspetti interpretativi ed 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 dell'organo sangue e, quindi, del sistema di trasporto ed utilizzo dell'ossigeno, dell'immunità aspecifica e specifica e del sistema coagulativo. Questo fatto è reso possibile dalla struttura “multi parametrica” dell'emocromo che, negli esiti prodotti dai principali analizzatori in uso, è generalmente costituita da oltre 35 risultati diversi, dei quali poco più di 20 sono usualmente riportati nel referto finale (3-4). Inoltre, la successiva osservazione microscopica eventualmente suggerita dagli esiti strumentali aggiunge ulteriori elementi di valutazione, in genere qualitativi, che conferiscono all'intero referto ematologico una considerevole complessità.

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) di Laboratorio di SIBioC – Medicina di Laboratorio (Società Italiana di Biochimica Clinica- e Biologia Molecolare Clinica) ha condotto un'indagine conoscitiva sullo stato dell'arte della diagnostica ematologica nei Laboratori Italiani. Attraverso i dati pervenuti dai 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 tra 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:

- i. ridurre il numero
- ii. standardizzarne il linguaggio
- iii. favorire la comprensione corretta dell'informazione anche da parte del paziente
- iv. 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.

## MATERIALI E 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, quindi suddivisi in tre gruppi:

- a. commenti per alterazioni leucocitarie (WBC): 280
- b. commenti per alterazioni dei globuli rossi (RBC) e piastrine (PLT): 78 e 13 rispettivamente
- c. commenti generici su alterazioni non cellula-specifici o della fase pre-analitica: 52

Le tappe successive del progetto e le metodologie di lavoro impiegate sono state:

- 1) **Analisi preliminare ed 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 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; alcuni scambi mail inter gruppo; riunione collegiale finale.
- 2) **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 Medicina di Laboratorio basata sulle evidenze di SIBioC ha determinato la scelta della impostazione prevista per "Consensus opinion" (6). Le valutazioni sono state basate sui seguenti punti:

- a. il referto di Laboratorio è ritirato, letto ed “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»
- b. 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.
- c. la diagnosi di malattia è il risultato di una valutazione multi professionale 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
- d. 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 ed 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 2 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 (appendice A).

I diversi commenti formulati in accordo con la metodologia adottata 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 (tre)
- b. linfociti atipici (sette)
- c. plasmacellule (quattro)
- d. linfocitosi dell'adulto, commenti generici (sei)
- e. granulociti (cinque)
  - i. immaturi
  - ii. displastici
  - iii. reattivi
- f. monociti (tre)
- g. blasti (sette)
- h. globuli rossi, commenti generici (tredici)
- i. piastrine, commenti generici (cinque)
- j. miscellanea (sei)

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 (appendice A) è costituita dagli stessi gruppi, per ognuno dei quali sono fornite informazioni fisiopatologiche e sul significato clinico ed i suggerimenti per eventuali approfondimenti clinico-diagnostici. Nell'appendice B viene proposto un modello di lettera di accompagnamento del documento per i MMG.

### **A. Gruppo WBC-Linfociti. Commenti di refertazione per linfociti attivati**



### **Commenti proposti (Tabella 1a)**

**Razionale.** I linfociti attivati sono il corrispettivo morfologico di uno stato funzionale di linfociti normali implicati nella risposta immune. Sebbene recentemente per queste cellule sia stato 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 semi quantitativa dei linfociti attivati abbia rilevanza aggiuntiva (diagnostica e prognostico/evolutiva) (10), il commento 1LINF, "presenza di linfociti attivati" appare idoneo a descrivere, al cut-off del 5% (7), le situazioni in cui la loro presenza sia clinicamente utile a fini diagnostici. 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 anche l'Epstein-Barr virus. 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 (esempio: presenza di linfociti attivati e di linfociti apoptotici).

Nella nota una tantum per il MMG viene enfatizzato il significato fisiopatologico "benigno" dei linfociti attivati.

### **B. Gruppo WBC-Linfociti. Commenti di refertazione per linfociti atipici**

#### **Commenti proposti (Tabella 1b)**

**Razionale.** Il recente documento ICSH (International Council for Standardization in Haematology) per la standardizzazione della nomenclatura delle cellule del sangue periferico

(7) 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. 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 alla 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 (Esempio: "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 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 inferiori al 2% ed il loro aumento ha un significato prognosticamente sfavorevole (17-20). Valori superiori al 10% caratterizzano la transizione della CLL verso forme di CLL atipiche. Il 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.

## **C. Gruppo WBC-Linfociti. Commenti di refertazione per plasmacellule**

### **Commenti proposti (Tabella 1c)**

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

Nel caso dei commenti 12LINF e 13LINF il valore percentuale ed assoluto dei linfociti deve essere ricalcolato. Poiché i cut off del 20% e/o di  $2,0 \times 10^9/L$  plasmacellule sono diagnostici per leucemia plasmacellulare (24, 25), il loro superamento deve portare alla 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) (19) e si riferisce a cellule con morfologia intermedia tra il piccolo linfocito e la plasmacellula. 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.

#### **D. Gruppo WBC-Linfociti. Commenti di refertazione generici per linfocitosi dell'adulto**

##### **Commenti proposti (Tabella 1d)**

**Razionale.** I commenti definiti generici si applicano prevalentemente, nell'adulto, a variazioni solo quantitative di linfociti morfologicamente normali. Sebbene gli attuali criteri diagnostici per la CLL prevedano valori di linfociti clonali  $>5,0 \times 10^9/L$ , l'esistenza di anomalie clonali con valori inferiori (B-Linfocitosi Monoclonale, MBL) (26, 27) ha suggerito l'uso di un unico cut-off ( $5,0 \times 10^9/L$ ) per la gestione commentata delle linfocitosi croniche. Con questa premessa, ed 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 ad uno specifico iter diagnostico.

L'aumento nel sangue periferico di grandi linfociti granulari/grandi cellule granulate (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 al di sotto di  $2,0 \times 10^9/L$ , 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 LGC 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 alla riduzione della variabile pre-analitica e quindi 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. (Addizione di una parte di albumina a 4 parti di sangue) (7) appare di difficile attuazione nella routine ematologica della maggior parte dei laboratori.

Sono quindi proposti i commenti 19LINF e 20LINF per l'espressione semi-quantitativa della 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 un 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.

## **E. Gruppo WBC. Commenti di refertazione per granulociti.**

### **i. Granulociti immaturi**

**Commenti proposti:** nessuno

**Razionale.** 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 % 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 granulociti immaturi circolanti è frequente, seppure non chiarita nei suoi aspetti fisiopatologici (33, 34). Tuttavia, nel caso di segnalazione o di conteggio strumentale di granulociti immaturi, 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 NRBC; dacriociti; PLT giganti; altro), si utilizzano commenti associati alle anomalie di riferimento (Vedi Tabelle 2 - 7).

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

## **ii. Granulociti displastici**

### **Commenti proposti (Tabella 2)**

**Razionale.** La segnalazione di displasia granulocitaria deve essere riservata alle tipologie elencate nella tabella WHO 5.03 (piccole o inusuali grandi dimensioni; ipolobulazione [pseudo Pelger]; ipersegmentazione irregolare, riduzione o assenza di granuli; inclusioni pseudo Chediak; presenza di corpi di Auer) (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 granulociti immaturi 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 (MDS)" (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) la cui presenza, oltre alle situazioni precedenti, può orientare per una forma di anemia carenziale (Vitamina B12-Folati) o può essere riconducibile all'effetto citotossico della chemioterapia sui neutrofili. Tenuto anche conto della 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 eritroblasti; 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.

### **iii. Granulociti reattivi**

#### **Commenti proposti (Tabella 2)**

**Razionale.** Le neutrofilie "reattive" sono caratterizzate da ipergranularità (rara l'eventualità di corpi di Döhle) e, spesso, dalla co-presenza di granulociti immaturi. 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 una 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 ad 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 ad 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 il MMG relativa ai granulociti reattivi pone attenzione al ruolo fisiologico di questa popolazione cellulare nei meccanismi della immunità aspecifica cui partecipa, con aumento della quota circolante e con le modificazioni morfologiche descritte.

## **F. Gruppo WBC. Commenti di refertazione per monociti**

### **Commenti proposti (Tabella 3)**

**Razionale.** Il documento WHO 2008 (18) 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. Viceversa, le atipie morfologiche non sono criterio utile nella Leucemia MieloMonocitica Cronica (LMMC) (43), per la cui diagnosi sono sufficienti tre soli 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. 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 la 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 superiori al cut-off di  $1,0 \times 10^9/L$  non associate a presenza di blasti.

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

## **G. Gruppo WBC- Commenti di refertazione per blasti**

### **Commenti proposti (Tabella 4)**

**Razionale.** L'identificazione citologica dei blasti con il solo criterio morfologico è un azzardo tranne che in situazioni particolari determinate da alcune peculiarità pressoché esclusive (Esempio: presenza di corpi di Auer; promielociti della leucemia acuta mieloide (AML) M3 ed M3v) e/o dalla particolare esperienza e perizia del morfologo (45,46). 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 ed il commento sul referto potrebbero di per sé esaurirsi con l'uso del solo termine "blasti".

Tuttavia la segnalazione di alcune caratteristiche morfologiche determina:

- i. 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)
- ii. la percezione che la valutazione morfologica sia stata accurata ed appropriata.

Anche per tali motivi non devono essere utilizzati termini fuorvianti o di "insicurezza" (elementi con morfologia di blasto; cellule blastoidi e simili) che possono determinare una non corretta percezione della gravità clinica.

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

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

I commenti 6BLA e 7BLA descrivono la morfologia dei promielociti leucemici delle AML M3 ed 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.

## **H. Gruppo RBC- Commenti di refertazione per eritroblasti**

### **Commenti proposti: nessuno**

**Razionale.** Nel caso in cui la presenza di eritroblasti ( 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 eritroblasti circolanti determina una variazione del conteggio assoluto e differenziale dei leucociti che sugli analizzatori ematologici vengono automaticamente corretti. In caso di conteggio microscopico, è necessario che la correzione dei valori (totali e differenziali) sia fatta manualmente con l’ausilio di formule di calcolo appropriate (47). Per questi motivi, la valutazione qualitativa di: rari, alcuni, numerosi NRBC non deve essere utilizzata. Non ci sono evidenze che la

segnalazione o la suddivisione delle diverse classi 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 granulociti immaturi, di blasti, anomalie qualitative delle piastrine, altri) 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 eritroblasti sia segnalata solo come popolazione aggiuntiva, spesso senza necessità di ulteriori commenti.

## **I. Gruppo RBC- Commenti di refertazione per anomalie morfologiche eritrocitarie**

### **Commenti proposti (Tabella 5)**

**Razionale.** Il commento 1RBC è riservato alle situazioni in cui la segnalazione di dacriociti aggiunge ulteriori informazioni ad un quadro suggestivo (presenza di granulociti immaturi, NRBC, piastrinosi ed anomalie qualitative PLT), ovvero nei casi in cui rappresenti l'anomalia morfologica prevalente (36).

Le anomalie di forma/volume/cromia (commenti 2RBCe 3RBC) comprendono sia la segnalazione di anomalia prevalente (esempio: presenza di ellissocitosi [o acantocitosi o stomatocitosi; altre]) sia quella delle anomalie complessive (anisocitosi, poichilocitosi; anisopoichilocitosi). La segnalazione di "microcitosi", "macrocitosi" e "ipocromia" dovrebbero essere riservate alle sole situazioni con valori di MCV e rispettivamente MCHC fuori dall'intervallo di riferimento, anche se sono di per sé pleonastiche e ridondanti specialmente nei laboratori i cui valori "fuori ambito" sono segnalati da specifici allarmi. Situazioni con presenze significative ma non prevalenti dovrebbero ricadere sotto l'ambito delle anisocitosi e della anisocromie. La segnalazione di anisocitosi è riservata a contesti

compatibili (valutazione RDW ed 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 emazie normocromiche ed ipocromiche in un contesto di normo-macroцитosi, perché descrittivo della possibile presenza della eritropoiesi difettiva che caratterizza le anemie sideroblastiche (46- 48, 49).

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 anemie ferro carenziali e, rispettivamente, di quella da deficit di Vitamina B12 e 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 ad un riesame microscopico alla ricerca di ulteriori anomalie che portino all'uso integrato dei necessari commenti.

La ricerca di schizociti è riservata ad un contesto clinico che suggerisca l'ipotesi diagnostica di anemia microangiopatica (50). La loro presenza è espressa quantitativamente (commento 8RBC). Il commento 9RBC segnala esplicitamente l'assenza di schizociti che siano stati richiesti con appropriatezza. Non deve essere utilizzato quale risposta a richiesta palesemente inappropriata come, ad esempio, quella fatta in soggetti con un valore normale di piastrine che dovrebbe dettare la non esecuzione della ricerca.

L'uso dei commenti 10RBC ed 11RBC deve essere preceduto dalla verifica di qualità dello striscio (eventuale riesecuzione) che escluda un artefatto, peraltro frequente (51).

La presenza di parassiti malarici (12RBC) è espressa come numero di emazie 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 ad infezione/inflammatione cronica, malattie autoimmuni, neoplasie (sindrome emolitica da agglutinine fredde) (52). L'agglutinazione eritrocitaria segnalata da valori MCHC molto aumentati solo raramente è irreversibile o parzialmente reversibile dopo incubazione a 37 °C: è sufficiente prolungare l'incubazione anche fino a oltre 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 ed ai rari esterni senza reversibilità completa a caldo.

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

## **J. Gruppo PLT- Commenti di refertazione per anomalie morfologiche piastriniche**

### **Commenti proposti (Tabella 6)**

**Razionale.** Le piccole dimensione e la notevole variabilità morfologica delle piastrine normali non consentono una 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: i) piastrinopenia/piastrinosi; ii) anomalie quantitative o qualitative delle altre linee (citopenia; displasia; poliglobulia; presenza di NRBC; presenza di granulociti immaturi; altro). 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 piastrine 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 "norme redazionali" successivamente descritte.

La presenza nel sangue periferico di frammenti (lambi 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 granulociti immaturi, NRBC ed altro. L'uso del commento 4PLT consegue a queste valutazioni complessive, eventualmente valorizzate dagli altri specifici commenti.

Le pseudopiastrinopenie (PTCP) non determinate da indagnosità del prelievo sono causate da una 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 il MMG si propone di ricondurre il fenomeno PTCP nei corretti confini di una "non patologia".

#### **K. Gruppo Commenti di refertazione in miscellanea e modelli redazionali.**



## **Commenti proposti (Tabella 7)**

**Razionale.** Commento 1MIS. 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 dalla esplicitazione di una diagnosi non dovrebbero essere utilizzati. Infatti, la maggior parte delle malattie ematologiche (e non) sono diagnosticabili solo dopo completa valutazione clinico-emeiologica o esami di approfondimento (es. citochimica, biologia molecolare) della quale il laboratorio è solo parte, seppure 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).

L. Gruppo Commenti minimi di refertazione .

**Razionale.** L’indagine conoscitiva del GdS-DE sulla diagnostica ematologica nei laboratori italiani (5) ha evidenziato grandi differenze non sempre ben valutabili negli effetti operativi e di qualità prestazionale. Non in tutti i laboratori, ad esempio può essere assicurata continuativamente 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 document H20- A2 (47) 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, 7BLA

Morfologia eritrocitaria: riconoscimento e quantificazione schizociti (8RBC)

Riconoscimento emazie parassitate da plasmodi della malaria

Piastrine: riconoscimento pseudopiastrinopenia.

## **DISCUSSIONE**

Il linguaggio del laboratorio è quello della medicina informativa, basato sulla capacità di trasmettere informazioni specialistiche, valorizzandole negli aspetti diagnostici ed interpretativi. Questo avviene non solo con la produzione degli esiti analitici ma soprattutto, 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. Il quadro emerso descrive una diffusa inadeguatezza dei commenti utilizzati ad 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 2008 (18), riferito a patologie ematologiche clonali o neoplastiche. Questi commenti risultano influenti o

condizionanti le relazioni tra il paziente ed 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 ed il medico ed 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 (15,16) che può essere assicurato 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 ed 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.

## **Bibliografia**

1. Marques MB, Anastasi J, Ashwood E et al. The clinical pathologist as consultant. *Am J Clin Pathol* 2011;135:11-2.
2. Plebani M, Panteghini M. Promoting clinical and laboratory interaction by harmonization. *Clin Chim Acta* 2014;432:15-21.
3. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell count. *Am J Clin Pathol* 2008;130:104-16.
4. Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hem* 2009; 31:277-97.
5. 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.
6. Burns PB, Rohrich RJ, Chung KC. The levels of evidence and their role in evidence-based medicine. *Plast Reconstr Surg* 2011;128:305-10.
7. 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.
8. George TI. Malignant or benign leukocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012;475-84.
9. Tomkinson BE, Wagner DK, Nelson DL et al. Activated lymphocytes during acute Epstein-Barr virus infection. *J Immunol* 1986;139:3802-07.
10. Taga K, Taga H, Tosato G. Diagnosis of atypical cases of infectious mononucleosis. *Clin Infect Dis* 2001;33:83-8.
11. Kulkarni JD. Apoptotic lymphocyte as clue to infectious mononucleosis. *Blood* 2012;120:708.
12. 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.
13. 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
14. McFarlane A, Aslan B, Raby B, et al. Critical values in Hematology. *Int J Lab Hem* 2015; 37:36–43.

15. Barnes 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.
16. 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.
17. van den Brand M, van Krieken JH. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica* 2013;98:1003-13.
18. Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues 2008, 4th edition IARC, Lyon.
19. 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.
20. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008;111:3941-67.
21. D'Onofrio G, Zini G. *Morfologia delle malattie del sangue*. 1ed. 2013; Verduci Editore, Roma.
22. 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.
23. Naderi N, Yang DT. Lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenström macroglobulinemia. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:580-5.
24. Ribourtout B, Zandecki M. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. *Morphologie*. 2015;99:38-62..
25. Ravinet A, Bay JO, Toumillhac O. Plasma cell leukemia. *Bull Cancer* 2014;101:1048-58.
26. 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.
27. Rawstron AC. Monoclonal B cell lymphocytosis-what does it really mean? *Curr Hematol Malig Rep* 2013;8:52-9.
28. Herberman, RB, Ortaldo JR. Natural killer cells: their roles in defenses against disease. *Science* 1981;214:24-30

29. Chijioke O, Azzi T, Nadal D. Innate immune responses against Epstein Barr virus infection. *Journal of Leukocyte Biology* 2013; 94:1185-90.
30. Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G. et al. The Lymphoproliferative Disease of Granular Lymphocytes: Updated Criteria for Diagnosis. *Blood*. 1997;89:256-60.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. Roehrl MHA, Wang JY. Immature granulocytes in pregnancy: a story of Virchow, anxious fathers, and expectant mothers. *Am J Hematol* 2011;86:307-12.
35. 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;93:1712-17.
36. Cazzola M, Malcovati L, Invernizzi R. Myelodysplastic/Myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;264-72.
37. 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. Ford J. Red blood cell morphology. *Int J Lab Hematol.* 2013;35:351-7.
47. Clinical Laboratory Standards Institute. Reference Leukocyte (WBC) Differential Count (Proportional) and Evaluation of instrumental Methods; approved guideline - second edition. CLSI document H20-A2. Clinical Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2007.
48. 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.
49. Bridges KR, Andrews NC. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood.* 5th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1998.
50. 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.
51. Bakul I, Dala I, Brigden ML. Artifacts that may be present on a blood film. *Clin In Lab Med* 2002; 22:81-100.
52. Berentsen S, Sundic T. Red blood cell destruction in autoimmune hemolytic anemia: role of complement and potential new targets for therapy. *Bio Med Res Int* 2015; (<http://dx.doi.org/10.1155/2015/363278>).

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 Clinical Pathology* 2014;14:19.
55. Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A. 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;50:501-502.

**Tabella 1a Gruppo leucociti: commenti di refertazione per linfociti attivati**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
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 ad una attenta valutazione di contesto e dei dati disponibili (Sintomatologia e quadro clinico se disponibile, quadro sierologico e biochimico).	Palmer et al. (7) Tomkinson et al. (9) Taga et al. (10) Kulkarni et al. (11) Zini et al. (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 ad 1 e 2 se sierologia non già richiesta	

**Tabella 1b Gruppo leucociti: commenti di refertazione per linfociti atipici**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
4 LINF	Rari linfociti atipici	Il commento è riservato alla osservazione di linfocitosi atipiche <5% che non necessitano di correzioni del valore di linfociti totali	Palmer et al. (5) Zini et al. (12) Barnes et al. (13) Elaine et al. (14)
5 LINF	Linfociti atipici...%. Si consiglia approfondimento clinico diagnostico	Per valori di linfociti atipici $\geq 5\%$ . A primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Palmer et al. (7) Zini et al. (12). van den Brand (17) Swerdlow et al. (18) Campo et al. (19) Szczepanski et al (20) d'Onofrio et al. (21)
6 LINF	Linfociti atipici con incisure nucleari ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	
7 LINF	Linfociti atipici a nucleo cerebriforme ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	
8LINF	Linfociti atipici con polimorfismo morfologico ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	
9 LINF	Linfociti villosi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Palmer et al. (7) Zini et al. (12) d'Onofrio et al. (21) Jones et al. (22)
10LINF	Prolinfociti...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Palmer et al. (7) Zini et al. (12) d'Onofrio et al. (21)

**Tabella 1c. Commenti di refertazione per Plasmacellule**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
11LINF	Plasmacellule <0.5%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Naderi et al. (23) Ribortout et al. (24) Ravinet et al. (26)
12LINF	Plasmacellule ...n%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	
13LINF	Plasmacellule e plasmablasti ...n%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	
14LINF	Linfociti plasmacitoidi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico	Non utilizzare mai in un contesto caratterizzato dalla presenza di altri linfociti attivata perché non aggiungono informazione diagnostica. Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	

**Tabella 1d. Commenti di refertazione generici per linfocitosi dell'adulto**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
15LINF	L'elevata linfocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra circa 3 mesi	Utilizzare al primo riscontro di linfocitosi $> 5 \times 10^9/L$ e in assenza di alterazioni morfologiche dei linfociti.	Swerdlow et al. (18) Shanafelt et al. (26) Rawstron et al. (27)
16LINF	La persistenza di linfocitosi elevata consiglia un approfondimento clinico-diagnostico	Utilizzare al secondo riscontro di linfocitosi $> 5 \times 10^9/L$ 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 circa 6 mesi	Utilizzare al primo riscontro di grandi linfociti granulari $> 2 \times 10^9/L$	Swerdlow et al. (18) Semenzato et al. (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 granulari $> 2 \times 10^9/L$	
19 LINF	Alcune ombre di Gumprecht	Utilizzare in presenza di linfocitosi, possibilmente non in associazione con la segnalazione di atipie linfocitarie.	Johansson et al. (31) Gogia et al. (32)
20 LINF	Numerose ombre di Gumprecht		

**Tabella 2 Gruppo leucociti: commenti di refertazione per granulociti (GR)**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
1 GRA	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	Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Mufti et al. (35) Cazzola et al. (36) Goasguen et al. (37) Rauh et al. (38)
2 GRA	Ipersegmentazione nucleare dei neutrofili	Utilizzare se osservati neutrofili con almeno 6 lobi nucleari	d'Onofrio et al. (21) Bain et al. (39)
3 GRA	Neutrofili ipergranulati	Utilizzare solo in casi di aumento delle granulazioni in tutti o nella maggior parte dei neutrofili.	
4 GRA	Alcuni neutrofili con corpi di Döhle		
5GRA	Presenza do 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	

**Tabella 3 Gruppo leucociti: commenti di refertazione per monociti (MO)**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
1MO	L'elevata monocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra circa 3 mesi	Utilizzare al primo riscontro di monocitosi $> 1 \times 10^9/L$ se non c'è displasia	Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Goasguen et al (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 (uni-lineare, o 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 (esempio: l'elevata monocitosi associata alla presenza di eritroblasti consiglia ecc.)	



**Tabella 4 Gruppo leucociti: commenti di refertazione per blasti (BLA)**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
La 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 (15,16)			
1BLA	Rari blasti	Per blasti < 0,5% (conteggio su 200 elementi).	Barnes et al. (14) Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21)
2BLA	Blasti granulati...%		Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Mufti et al. (35)
3BLA	Blasti non granulati...%		Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21)
4BLA	Blasti non granulati...%, con vacuolizzazioni citoplasmatiche		Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21)
5BLA	alcuni (o numerosi) con corpi di Auer	Utilizzare come eventuale continuazione dei commenti 2 e 3 BLA (Blasti granulati 10%, alcuni con corpi di Auer)	Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Mufti et al (35)
6BLA	Blasti con numerosi corpi di Auer "en faggot" ... %.	L'osservazione di blasti in qualsiasi numero con questa morfologia è una emergenza clinica.	Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Mufti et al. (35)
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.	Swerdlow et al. (18) d'Onofrio et al. (21) Mufti et al. (35) Vardiman, et al. (41)

**Tabella 5 Gruppo Eritrociti (RBC): commenti di refertazione per anomalie morfologiche eritrocitarie**

Codice	Commento	Indicazioni /azioni	Referenze
1RBC	Presenza di dacriociti	Commento riservato alle situazioni in cui la segnalazione di dacriociti aggiunge ulteriori informazioni ad un quadro suggestivo (presenza di granulociti immaturi, eritroblasti, piastrinosi ed anomalie qualitative delle piastrine) ovvero nei casi in cui rappresenti l'anomalia morfologica prevalente. Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo.	
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 esempio: presenza di ipocromia, ovalocitosi; acantocitosi; sferocitosi; ipocromia, altre). Sono possibili le associazioni di più caratteristiche (Ad esempio: presenza microcitosi, ipocromia e policromasia eritrocitaria). Valutare la compatibilità con i dati strumentali (osservazione dell'istogramma di HGB, ed RBC; valori MCHC ed RDW; altri parametri strumento-specifici). Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo.	Palmer et al. (7) Barnes et al. (13) d'Onofrio et al. (21) Ford et al. (43)
3RBC	Presenza di emazie a bersaglio	Non utilizzare per anomalie complessivamente trascurabili sul piano quantitativo.	
4RBC	Doppia popolazione eritrocitaria ipocromica normo-	Il commento deve essere riversato alla copresenza di emazie normocromiche ed ipocromiche in un contesto di normo-macrocytosi perché descrittivo della possibile presenza della eritropoiesi difettiva che caratterizza le anemie sideroblastiche	Bridges et al. (45)
5RBC	Doppia popolazione eritrocitaria microcitica normo-	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; con corpi di Howell-Jolly; con corpi di Pappenheimer; con punteggiatura basofila; con altre inclusioni o altre anomalie)	Segnalare anche se osservate in pochi elementi.	Palmer et al. (7) Ford et al. (43)
8RBC	Schizociti .../1000 eritrociti	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)	Zini et al. (46)
9RBC	Non si osservano schizociti	Il commento deve essere utilizzato per segnalare esplicitamente l'assenza di schizociti richiesti	
10RBC	Presenza di rouleaux eritrocitari	Escludere artefatti.	Bakul et al (48)
11RBC	Presenza di emazie falciformi	Escludere artefatti.	Palmer et al. (7) d'Onofrio et al. (21) Ford et al. (43) Bakul et al. (48)
12RBC	Emazie con trofozoiti ad anello.../1000/RBC	Oltre ai trofozoiti ad anello, deve essere segnalata la eventuale presenza di trofozoiti maturi, di schizonti e di gametociti	Ford et al. (43) d'Onofrio et al. (21)
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 ed ai rari esterni senza reversibilità completa a caldo.	

**Tabella 6 Gruppo Piastrine (PLT): commenti di refertazione per anomalie morfologiche piastriniche**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
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".	Palmer et al. (7) d'Onofrio et al. (21) Moreno et al. (50)
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 (15,16)	Palmer et al. (7) d'Onofrio et al. (21)
5 PLT	<p>Il conteggio piastrinico non è stato eseguito per la presenza di agglutinati che determinano pseudoplastrinopenia.</p> <p>Il fenomeno non ha alcuna rilevanza clinica e non determina sintomatologia emorragica. Nel caso si desidera conoscere il valore corretto di piastrine è necessaria una diversa modalità di prelievo che sarà eseguita presentando questa risposta al proprio punto di prelievo.</p>	Eliminare dal referto il conteggio delle piastrine fornito dallo strumento. Valutare le possibili interferenze (tecnologia-dipendenti) sui conteggi WBC totali e/o differenziali	Berkman et al. (52).

**Tabella 7 Gruppo generico: commenti di refertazione in miscellanea (MIS)**

<b>Codice</b>	<b>Commento</b>	<b>Indicazioni /azioni</b>	<b>Referenze</b>
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 i valori di riferimento. Confermata in revisione microscopica e in assenza di altre alterazioni morfologiche	Yasuda et al. (56)
3 MIS	L'associazione di citopenia (o anemia; o leucopenia o piastrinopenia) e displasia mono (bi-tri) lineare consigliano approfondimento clinico-diagnostico	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Swerdlow et al. (10)
4 MIS	I valori elevati di emoglobina e di ematocrito sono descrittivi di un incremento della massa eritrocitaria e consigliano approfondimenti o clinico-diagnostici.	Utilizzare per emoglobina > 185 e 165 g/L rispettivamente per uomo e donna, associati ad aumento dell'ematocrito superiore al 99° percentile del metodo in uso. Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Swerdlow et al. (10)
5MIS	La persistenza da oltre 6 mesi di piastrinosi > 450 × 10 <sup>9</sup> /L consiglia approfondimento clinico-diagnostico.		Swerdlow et al. (10)
6 MIS	La presenza di eritroblasti (di dacriociti; di granulociti immaturi; di piastrinosi; di anisocitosi piastrinica; di megacariociti; di nuclei nudi) consiglia(no) approfondimento clinico-diagnostico.	Al primo riscontro avvisare il medico richiedente (15,16)	Swerdlow et al. (10) d'Onofrio et al. (12)

## ***APPENDICE A.***

### ***Documento per i Medici di Medicina Generale (MMG) ed i Clinici (CL) utenti del Laboratorio.***

Per una più agevole consultazione, il documento è articolato in paragrafi ciascuno dei quali riferito a gruppi di commenti omogenei per tipo di elemento/anomalia. La maggior parte delle informazioni sono complementari o integrative di quelle contenute nel documento di riferimento **“I commenti interpretativi del referto ematologico di laboratorio”** che, per tali motivi, è auspicabile sia trasmesso contestualmente ai MMG ed ai CL. È consigliato altresì il coinvolgimento delle Direzioni Aziendali, invitate a recepire il documento e trasmetterlo come Documento Aziendale finalizzato al miglioramento della efficacia dei percorsi diagnostici e degli esiti di salute per gli Utenti.

## **A. Linfociti. Commenti di refertazione per Linfociti Attivati**

### **Commenti proposti:**

- 1. Presenza di linfociti attivati*
- 2. Presenza di linfociti apoptotici*
- 3. Si consiglia approfondimento sierologico*

*I linfociti attivati sono il corrispettivo morfologico di uno stato funzionale dei linfociti che partecipano alla risposta immunologica quando è presente un'infezione virale (da virus di Epstein-Barr (EBV) da citomegalovirus (CMV); altri) o, più raramente, da altri agenti non virali (Toxoplasma Gondii; Bordetella Pertussis; altri).*

*La quantità di linfociti attivati non correla con la prognosi e l'evoluzione di malattia; per questo motivo la segnalazione della loro presenza è di per sé sufficiente ad indirizzare le altre informazioni clinico-sintomatologiche verso l'ipotesi diagnostica di mononucleosi infettiva o di altra infezione (sindromi simil-mononucleosiche).*

*I linfociti apoptotici rappresentano lo stadio terminale litico della interazione cellula-virus e costituiscono una conferma, sia pure indiretta e non specifica, della natura reattiva della linfocitosi. In base al quadro clinico del paziente può essere utile verificare la presenza di anticorpi IgG ed IgM anti-EBV, anti-CMV o altri (vedi sopra).*

## **B. Linfociti. Commenti di refertazione per Linfociti Atipici**

### **Commenti proposti:**

- 1. Rari linfociti atipici*
- 2. Linfociti atipici...%. Si consiglia approfondimento clinico diagnostico*
- 3. Linfociti atipici con incisure nucleari ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*

4. *Linfociti atipici a nucleo cerebriforme ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
5. *Linfociti atipici con polimorfismo morfologico ...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
6. *Linfociti villosi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
7. *Prolinfociti...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*

*La denominazione "linfociti atipici" descrive linfociti con differenze significative non casuali o sporadiche rispetto alla usuale morfologia linfocitaria. Sebbene non possano essere definiti con sicurezza di natura clonale o neoplastica, la loro persistenza in circolo, associata ad altri fattori (età; adeno/splenomegalia persistenti; lesioni/manifestazioni cutanee; altro) orientano maggiormente verso questa ipotesi e consigliano, oltre alla determinazione citofluorimetrica dell'immunofenotipo, altri approfondimenti clinico-diagnostici appropriati ed, eventualmente, valutazione specialistica ematologica.*

*I linfociti villosi sono l'aspetto morfologico dei linfociti atipici presenti nella leucemia a cellule capellute classica e variante (HCL ed HCLv) e linfoma splenico della zona marginale.*

*La presenza di prolinfociti >2% in una Leucemia Linfatica Cronica (CLL) precedentemente diagnosticata correla con un decorso di malattia più aggressivo... Valori superiori al 10% caratterizzano la transizione della CLL verso forme di CLL atipiche. Percentuali di prolinfociti > 55% permettono la diagnosi di leucemia a prolinfociti da confermare con determinazione citofluorimetrica dell'immunofenotipo ed ulteriori approfondimenti clinico-diagnostici.*

*La determinazione citofluorimetrica dell'immunofenotipo è l'esame di laboratorio che permette di definire l'eventuale natura clonale o neoplastica dei linfociti atipici o dei prolinfociti circolanti nel sangue periferico (17-20). La definizione dei pannelli anticorpali che devono essere utilizzati per la tipizzazione è in genere caso-specifica e viene decisa estemporaneamente dal laboratorio di citofluorimetria cui è consigliabile porre il quesito diagnostico suggerito nel referto-paziente.*



### **C. Linfociti. Commenti di refertazione per Plasmacellule**

#### **Commenti proposti:**

1. *Plasmacellule <0.5%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
2. *Plasmacellule ...n%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
3. *Plasmacellule e plasmoblasti ...n%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
4. *Linfociti plasmacitoidi...%. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico*

*La presenza di plasmacellule nel sangue periferico può essere solo raramente reattiva. Più spesso è segno di discrasia o neoplasia plasmacellulare che necessita di ulteriori approfondimenti. In particolare, se non precedentemente eseguiti e come test preliminari: elettroforesi delle sieroproteine ed immunofissazione per la caratterizzazione di una eventuale componente monoclonale; valutazione della funzionalità renale; determinazione dell'immunofenotipo. Inoltre, una plasmocitosi periferica in un soggetto con diagnosi precedente di patologia plasmacellulare neoplastica depone per una progressione di malattia. Valori di plasmacellule superiori al 20% dei leucociti circolanti ( $>2,0 \times 10^9/L$ ) orientano per una leucemia plasmacellulare. Sebbene non utilizzati in nessuno score prognostico, i plasmablasti (commento 4) correlano con un andamento prognostico più sfavorevole. La presenza di linfociti plasmocitoidi, sebbene possa essere anche di natura reattiva, dovrebbe in prima istanza suggerire, in un contesto plausibile, il sospetto di Macroglobulinemia di Waldenström o di altro linfoma linfoplasmacitico.*

### **D. Linfociti. Commenti di refertazione generici per linfocitosi dell'adulto**

#### **Commenti proposti:**

1. *L'elevata linfocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra circa 3 mesi*
2. *La persistenza di linfocitosi elevata consiglia un approfondimento clinico-diagnostico*
3. *L'elevato numero di grandi linfociti granulati consiglia la ripetizione del conteggio tra circa 6 mesi*

4. *La persistenza di un elevato numero di grandi linfociti granulati consiglia un approfondimento clinico-diagnostico*
5. *Alcune ombre di Gumprecht*
6. *Numerose ombre di Gumprecht*

*Variazioni quantitative anche rilevanti dei linfociti periferici non accompagnati da significative anomalie morfologiche caratterizzano numerose situazioni reattive, in genere transitorie e reversibili con la risoluzione della condizione patologica di base. Lo stesso accade per i Grandi Linfociti Granulati (Large Granular Lymphocytes [LGL]), un'altra popolazione linfocitaria che partecipa alla risposta immunologica. La conferma della persistenza o l'aumento sia dei piccoli linfociti che delle LGL orienta per la loro natura clonale (non reattiva) che necessita della tipizzazione citofluorimetrica. Valori di linfociti clonali valutati mediante citofluorimetria  $> 5,0 \times 10^9/L$  sono criteri diagnostici WHO per leucemia linfatica cronica/linfoma a piccoli linfociti (CLL/SLL). Valori  $< 5,0 \times 10^9/L$  caratterizzano la Linfocitosi B Monoclonale (MBL).*

*Nel caso delle LGC la citofluorimetria non può attualmente distinguere con sicurezza le forme reattive da quelle neoplastiche ma resta comunque uno strumento di conferma della reale espansione, non sempre agevole col solo criterio morfologico. Valori confermati di LGC  $> 2,0 \times 10^9/L$  sono comunque criteri diagnostici per malattie linfoproliferative delle cellule Natural Killer (NK).*

*Per "valore confermato" di linfociti e LGC si intende la persistenza o l'incremento di tali valori dopo 3 mesi e, rispettivamente, dopo 6 mesi.*

*Le ombre di Gumprecht sono il risultato morfologico di una maggiore fragilità delle cellule che, durante l'allestimento del vetrino per l'osservazione microscopica, si rompono e appaiono come "ombre" di colore. Non sono patognomoniche né specifiche della LLC anche se in questa situazione si osservano più di frequente. Studi recenti assegnano all'aumento delle ombre di Gumprecht nella LLC un significato prognostico favorevole.*

***Suggerimento operativo:***

- a. *Presenza di linfociti o di LGL  $>5,0 \times 10^9/L$  e, rispettivamente,  $>2,0 \times 10^9/L$ : ripetizione emocromo dopo 3 e rispettivamente 6 mesi*
- b. *Conferma del conteggio: citofluorimetria (CF)*
- c. *Clonalità dei linfociti o conferma CF dell'espansione LGL: ulteriori valutazioni specialistiche ed approfondimento clinico-diagnostico*

## **E. Commenti di refertazione per Granulociti**

### **i. Granulociti Immaturi**

**Commenti proposti: nessuno.**

*Sebbene non frequente, il passaggio in circolo di elementi immaturi della serie granulocitica (promielociti, mielociti, metamielociti), non accompagnato da altre anomalie emocromocitometriche si può verificare nel caso di sollecitazioni generiche del sistema leucopoietico (infezione o infiammazione, decorso post-chirurgico; neoplasie; ripresa post-chemioterapica; somministrazione di citochine; altre). In tali evenienze la presenza di granulociti immaturi circolanti è in genere transitoria e reversibile con la risoluzione della condizione di base. Anche in gravidanza, particolarmente nel terzo trimestre, possono essere presenti nel sangue periferico percentuali variabili ma in genere non elevate di granulociti immaturi. Si tratta di un evento frequente, conosciuto e di nessun rilievo clinico se isolato e non associato ad altre anomalie.*

### **ii. Granulociti Displastici**

**Commenti proposti:**

1. *Presenza di displasia granulocitaria*
2. *Ipersegmentazione nucleare dei neutrofili*

*Il termine displasia granulocitica descrive sinteticamente una serie di anomalie morfologiche dei Granulociti quali, ad esempio, difetti di segmentazione nucleare o assenza delle granulazioni.*

*Sebbene possa essere presente in alcune situazioni quali il deficit di vitamina B12 ed acido Folico, l'esposizione a metalli pesanti, l'assunzione di antibiotici o altri farmaci ed in alcune infezioni (da HIV, in primis), la displasia dei granulociti, specie se associata a citopenia periferica e/o ad anomalie morfologiche dei globuli rossi (displasia eritroide) e delle piastrine, può dettare il sospetto diagnostico di sindrome mielodisplastica o altra emopatia acuta o cronica e necessita comunque di approfondimenti clinico-diagnostici.*

*La segnalazione di ipersegmentazione nucleare, specie se accompagnata ad aumento dell'MCV (Volume Corpuscolare Medio), alla segnalazione di macro-megalocitosi o ovalocitosi, presenza di emazie con corpi di Howell-Jolly, dovrebbe indurre in prima istanza alla quantificazione dei reticolociti ed alla valutazione di laboratorio dei livelli di Vitamina B12 e di Folati.*

### **iii. Granulociti Reattivi**

#### **Commenti proposti:**

- 1. Neutrofili ipergranulati*
- 2. Alcuni neutrofili con corpi di Döhle*
- 3. Presenza di granulociti fagocitanti miceti (o batteri)*

*La presenza di granulociti con aumento della normale granulosità evidenzia fenomeni di accelerata maturazione eventualmente accompagnata da attivazione delle funzioni specifiche dei granulociti. Tale modificazione morfologica, specie se associata ad aumento dei granulociti circolanti e/o alla presenza di granulociti immaturi, orienta per uno stato di generica "reattività" di questa popolazione cellulare a stimoli infettivi o infiammatori. Come tale riveste carattere di transitorietà e reversibilità. Un'altra causa di ipergranularità è rappresentata dalla risposta a fattori di crescita (granulochine) somministrati in corso neutropenia post-chemioterapica.*

*I corpi di Döhle sono aspetto morfologico di un difetto di maturazione dei granulociti, generalmente associato ad una granulopoiesi accelerata o difettiva, inoltre caratterizzano la morfologia granulocitaria nella rarissima anomalia di May Hegglin*

*Alcune sepsi batteriche o da miceti, specialmente quando presentano una elevatissima carica possono essere evidenziate dalla presenza di granulociti neutrofili che fagocitano uno o più di questi microrganismi. Sebbene infrequente questa eventualità può presentarsi in soggetti defedati o immunocompromessi e soprattutto nei portatori di catetere venoso ventrale ed è segnale di elevatissima criticità clinica.*

## **F. Commenti di refertazione per monociti**

### **Commenti proposti:**

- 1. L'elevata monocitosi consiglia la ripetizione del conteggio tra circa 3 mesi*
- 2. La persistenza di monocitosi elevata consiglia approfondimento clinico-diagnostico*
- 3. L'elevata monocitosi associata a displasia granulocitaria (o piastrinica o alla presenza di eritroblasti e simili) consiglia approfondimento clinico-diagnostico*

*L'aumento del numero di monociti circolanti può essere di origine reattiva (più spesso) o neoplastica. Le patologie neoplastiche che coinvolgono la linea monocitaria sono rappresentate prevalentemente da alcune forme di leucemia mieloide acuta e dalla leucemia MieloMonocitica Cronica (LMMC). Per quest'ultima entità i criteri diagnostici WHO sono rappresentati dal numero di monociti circolanti associati o meno a displasia delle altre linee cellulari. In particolare il sospetto diagnostico di LMMC può essere posto con:*

- a. una monocitosi  $>1,0 \times 10^9/L$  associata a displasia delle altre linee cellulari*
- b. una monocitosi  $>1,0 \times 10^9/L$  stabile (che dura da più di 3 mesi)*

*Per questi motivi, il riscontro di una monocitosi non precedentemente conosciuta deve essere verificato dopo 3 mesi per discriminare la natura reattiva (monocitosi reversibile) dalla evenienza di cui al punto b. In ogni caso le evenienze sopra riportate devono essere seguite da opportuni approfondimenti clinico-diagnostici.*

## **G. Commenti di refertazione per blasti**

## **Commenti proposti:**

1. *Rari blasti*
2. *Blasti granulati...%*
3. *Blasti non granulati...%*
4. *Blasti non granulati...%, con vacuolizzazioni citoplasmatiche*
5. *Alcuni (o numerosi) blasti con corpi di Auer*
6. *Blasti con numerosi corpi di Auer "en faggot" ... %.*
7. *Blasti non granulati (ipogranulati) spesso con morfologia nucleare "a manubrio" o "a clessidra" ... %.*

*La presenza di blasti nel sangue periferico, anche in quantità molto basse (rari) specialmente in soggetti non già conosciuti come affetti da emopatia acuta, necessita di immediati interventi diagnostici poiché sottende la possibilità di leucemia acuta o di sindrome mielodisplastica o di evoluzione di emopatia cronica (anche non precedentemente conosciuta). **Non vi sono situazioni "reattive" o non neoplastiche che comportino la presenza di blasti circolanti nel sangue periferico.***

*Sebbene la classificazione morfologica dei blasti non sia agevole alcuni aspetti possono essere orientativi: i blasti granulati hanno derivazione granulocitica; quelli non granulati possono essere derivati da qualsiasi linea cellulare, inclusa la granulocitica. La presenza di corpi di Auer è conferma della loro origine granulocitica neoplastica o mielodisplastica.*

*I "blasti" con corpi di Auer "en faggot" (a fascina) e quelli ipo/agranulati con nucleo a clessidra o a manubrio sono la descrizione morfologica dei promielociti leucemici della leucemia acuta a promielociti. Sebbene per la conferma di tale situazione sia necessaria la ricerca molecolare e citogenetica del gene PML-RAR $\alpha$  e, rispettivamente, della traslocazione cromosomica t(15;17), la morfologia dei blasti è molto evocativa e giustifica provvedimenti diagnostico terapeutici in emergenza anche in considerazione della frequente presentazione all'esordio con gravissimo quadro emorragico (CID!).*

## **H. Commenti di refertazione per Eritroblasti**

### **Commenti proposti: nessuno**

*La presenza di Eritroblasti circolanti nel sangue periferico (Nucleated Red Blood Cells, NRBC) può essere conseguente a stress reattivo acuto del sistema eritropoietico (es. emorragia o emolisi) o cronico (talassemia; sanguinamento occulto, emolisi ) ovvero può essere segno di difetto dell'emocateresi (splenectomia chirurgica o funzionale). Altre cause sono rappresentate da alterazioni dei meccanismi di dismissione dal midollo osseo e dalla eritropoiesi extra midollare che possono realizzarsi in corso di neoplasie acute o croniche del sistema emopoietico e di sindromi mielodisplastiche. La presenza di eritroblasti circolanti nel sangue periferico deve comunque essere valutata criticamente e necessita si approfondimenti diagnostici.*

## **I. Commenti di refertazione anomalie morfologiche eritrocitarie**

### **Commenti proposti:**

- 1. Presenza di dacriociti*
- 2. Presenza di anisocitosi (microcitosi, macrocitosi, poichilocitosi, anisopoichilocitosi, ovalocitosi, ellissocitosi, acantocitosi, echinocitosi, stomatocitosi, sferocitosi, ipocromia policromasia; altre anomalie forma/volume) eritrocitaria*
- 3. Presenza di emazie a bersaglio*
- 4. Doppia popolazione eritrocitaria normo-ipocromica*
- 5. Doppia popolazione eritrocitaria normo-microcitica*
- 6. Doppia popolazione eritrocitaria normo-macro (megalocitica)*
- 7. Presenza di emazie con (anelli di Cabot; corpi di Howell-Jolly; corpi di Pappenheimer; punteggiatura basofila; altre inclusioni o altre anomalie)*
- 8. Schizociti .../1000 eritrociti*
- 9. Non si osservano schizociti*

10. *Presenza di rouleaux eritrocitari*

11. *Presenza di emazie falciformi*

12. *Emazie con trofozoiti ad anello.../1000 eritrociti (se presenti, rari, alcuni, numerosi schizonti e/o gametociti)*

13. *E' stata osservata agglutinazione eritrocitaria reversibile dopo incubazione a 37°C, verosimilmente dovuta alla presenza di agglutinine fredde. Si consiglia approfondimento clinico-diagnostico.*

*La popolazione eritrocitaria presenta all'analisi morfologica microscopica numerose variazioni di dimensione/volume, di forma e di colorazione spesso diversamente associate. Queste "anomalie", poiché gravate da notevole aspecificità, forniscono in genere informazioni clinico-diagnostiche di modesta entità che, tuttavia possono essere accresciute da una valutazione complessiva di contesto che tenga conto delle anomalie delle altre serie cellulari nel sangue periferico.*

**Glossario delle anomalie morfologiche eritrocitarie:**

- a. **anisocitosi:** dispersione (variabilità) delle dimensioni cellulari. Si tratta di segnalazione aspecifica se non associata ad altre
- b. **poichilocitosi:** coesistenza di diverse anomalie di forma comprese quelle descritte al punto "g", ma senza prevalenza di una di queste che, se presente, è segnalata con il termine specifico (acantocitosi; echinocitosi, ecc.)
- c. **anisopoichilocitosi:** a+b
- d. **anisocromia:** variabilità della colorazione
- e. **microcitosi; macrocitosi; megalocitosi:** variazioni dimensionali descritte dalla etimologia
- f. **normocromia; ipocromia:** normale o ridotta colorazione e, per associazione, normale o ridotto contenuto di emoglobina
- g. **acantocitosi; echinocitosi; ellissocitosi; stomatocitosi; dacriocitosi, emazie falciformi; a bersaglio; sferocitosi; altre:** forme anomale, in genere descritte dall'etimologia
- h. **schizocitosi (o schistocitosi):** frammenti eritrocitari conseguenti a microangiopatia



- i. **corpi di Howell-Jolly; anelli di Cabot; corpi di Pappenheimer; punteggiatura basofila:** inclusioni intracellulari di diversa morfologia. In genere residui nucleari o di inclusioni citoplasmatiche in situazioni di difettosa o accelerata eritropoiesi
- j. **Bite cells; blister cells:** anomalie di forma/dimensione per difetti della membrana eritrocitaria secondari ad anomalie del metabolismo ossidativo cellulare (es. carenza di Glucosio 6-Fosfato Deidrogenasi)

Le diverse anomalie eritrocitarie di dimensione, volume, tintorialità e contenuto solo raramente rivestono dignità di anomalie specifiche o patognomoniche. Più spesso sono associate a diverse forme di anemia (emolitica, ferro carenziale, da carenza di vitamina B12 o di folati). Alcune correlazioni possono essere suggerite da anomalie isolate o diversamente associate:

- a. **anisocitosi-poichilocitosi, microcitosi ed ipocromia:** anemia sideropenica o talassemia (specie se con segnalazione di emazie a bersaglio)
- b. **macro-megalocitosi; corpi di Howell-Jolly; anelli di Cabot:** carenza di B12 e/o folati; epatopatia cronica; ipersplenismo; sindromi mielodisplastiche
- c. **punteggiatura basofila; anisocromia:** anemia emolitica; fase rigenerativa di anemie in trattamento
- d. **dacriocitosi (emazie a goccia)** segnalata in un contesto di scarsa o assente poichilocitosi e/o associata ad anomalie morfologiche delle piastrine e/o presenza di eritroblasti e/o di granulociti immaturi: mielofibrosi
- e. **sferocitosi**, specie se associata ad MCHC aumentato: sferocitosi ereditaria (valutare familiarità)
- f. **cellule falciformi:** associate all'anemia a cellule falciformi (o emoglobinosi S nella forma omo/eterozigote). Tale forma è confermata dal così detto test di falcizzazione e dalla ricerca e quantificazione della emoglobina anomala (HbS)
- g. **schizociti (o schistociti):** frammenti eritrocitari di dimensioni inferiori a quelle dei globuli rossi e di diversa forma (così dette cellule ad elmetto; cheratociti; microsferociti; altre).

*Sebbene possano presentarsi in numerose condizioni cliniche (sepsi; ipersplenismo, alcune forme anemiche) la segnalazione di schizocitosi è riservato alle forme di anemia emolitica microangiopatica (sindrome uremico-emolitica; porpora trombotica trombocitopenica; coagulazione intravascolare disseminata) che si presentano con piastrinopenia grave o ingravescente, sintomatica o meno*

- h. **doppia popolazione eritrocitaria in volume** descrive variazioni nella produzione dei globuli rossi intervenute dopo correzione terapeutica di una anemia o, più raramente, trasfusione recente: normo/microcitica ("nuovi" GR + "vecchi" GR da carenza di ferro); Normo/macro(megalocitica): "nuovi" GR + "vecchi" da carenza di folati (o Vit. B12) ovvero possono essere l'esito di trasfusione recente*
- i. **doppia popolazione in contenuto di emoglobina (normo-ipocromica)**, specie se associata alla segnalazione di displasia granulocitaria o di anomalie qualitative delle piastrine, suggerisce la possibilità di sindrome mielodisplastica*
- j. **la presenza di rouleaux eritrocitari**, cioè di emazie impilate, può essere associata a situazioni di "iperviscosità plasmatica" (iperfibrinogenemia; iper gamma globulinemia policlonale o monoclonale nelle sue diverse associazioni con patologie plasmacellulari)*
- k. l'osservazione di parassiti malarici nei vari stadi maturativi (trofozoiti ad anello; trofozoiti maturi, schizonti, gametociti) è criterio diagnostico di infezione malarica e, con la valutazione quantitativa delle emazie parassitate rapportate a 1000 RBC , è anche criterio prognostico/evolutivo.*
- l. **la presenza di agglutinine fredde** è spesso un rilievo casuale di laboratorio associato a difficoltà di conteggio degli eritrociti ed ad un aumento fittizio della concentrazione media di emoglobina nei GR (MCHC). Sebbene non costante, può essere associata ad anemia emolitica cronica moderata o lieve, spesso evidenziabile solo per modesti aumenti di reticolociti, bilirubina e lattico deidrogenasi, per la riduzione anche notevole di aptoglobina e per la positività del test di Coombs indiretto. Tali dati complessivamente orientano per*

*una delle diverse forme di Anemia Emolitica Autoimmune (AIHA), rappresentate essenzialmente dalla malattia primitiva da agglutinine fredde (e dalla stessa forma da agglutinine calde) e dalla sindrome da agglutinine fredde, spesso secondaria ad infezioni, malattie autoimmuni o neoplasie.*

## **L. Commenti di refertazione per anomalie morfologiche piastriniche**

### **Commenti proposti:**

- 1. Anisocitosi piastrinica*
- 2. Presenza di piastrine giganti*
- 3. Ipo/agranularità delle piastrine*
- 4. Presenza di micromegacariociti (micromegacarioblasti/nuclei nudi megacariocitari)*
- 5. Il conteggio piastrinico non è stato eseguito per la presenza di agglutinati che determinano pseudopiastrinopenia. 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.*

*Le segnalazioni di anomalie morfologiche delle piastrine (anisocitosi; piastrine giganti) sono spesso associate a valori piastrinici  $> 450 \times 10^9/L$ , o a piastrinopenia e ad anomalie delle altre linee cellulari (presenza di NRBC, di granulociti immaturi, displasia granulocitaria, anomalie morfologiche dei globuli rossi; altro). Queste situazioni orientano per possibili disturbi primitivi o secondari della normale trombopoiesi per i quali sono necessari ulteriori approfondimenti clinico-diagnostici. La presenza di micromegacariociti, o micromegacarioblasti o di nuclei nudi, con o senza segnalazione di altre anomalie piastriniche non è mai di natura reattiva e deve essere attentamente valutata dal punto di vista ematologico, poiché correlata con l'ipotesi diagnostica di Mielofibrosi Primitiva o di altra neoplasia mieloproliferativa.*

*Nei soggetti con pseudopiastrinopenia (PTCP) sono presenti anticorpi anti piastrine che si attivano solo in vitro agglutinando le piastrine e falsandone così il conteggio. Il fenomeno non ha alcuna rilevanza clinica poiché le piastrine circolanti “in vivo” hanno una normale funzionalità e l’attività agglutinante degli anticorpi non si manifesta. Tale fenomeno, se conosciuto, può essere inibito in vitro con opportune modifiche delle modalità di prelievo. Pertanto, nel caso in cui si voglia conoscere il valore di piastrinemia è sufficiente richiedere un nuovo prelievo secondo le modalità descritte nel referto.*

#### **M. Commenti di refertazione in miscellanea.**

##### **Commenti proposti:**

- 1. L’aumento dei granulociti basofili consiglia approfondimenti clinico-diagnostici*
- 2. L’associazione di citopenia (o anemia; o leucopenia o piastrinopenia) e displasia mono (bi-tri) lineare consigliano approfondimento clinico-diagnostico*
- 3. I valori elevati di emoglobina e di ematocrito sono descrittivi di un incremento della massa eritrocitaria e consigliano approfondimenti o clinico-diagnostici.*
- 4. La persistenza da oltre 6 mesi di piastrinosi  $> 450 \times 10^9/L$  consiglia approfondimento clinico-diagnostico.*
- 5. La presenza di eritroblasti (di dacriociti; di granulociti immaturi; di piastrinosi; di anisocitosi piastrinica; di megacariociti; di nuclei nudi) consiglia(no) approfondimento clinico-diagnostico.*

*I commenti che precedono rappresentano esempi sicuramente non esaustivi di commenti utilizzati per portare l’attenzione sulla rilevanza diagnostica di alcune anomalie, a volte solo quantitative, a volte anche “nascoste” in un contesto di normalità complessiva (lieve aumento dei granulociti basofili; valori elevati di emoglobina, ematocrito o di piastrine; altro). Un esempio è rappresentato dall’associazione citopenia-displasia, descrittiva di possibile sindrome mielodisplastica. Allo stesso modo, l’aumento dei granulociti basofili, anche di poche decine al di*

*sopra del limite superiore di riferimento, specie se associato alla presenza di granulociti immaturi, può essere segno precoce di leucemia mieloide cronica.*

*Altre neoplasie mieloproliferative possono presentare simili modificazioni, associate ad altre di maggiore specificità quali il valore di emoglobina  $>185$  g/L (165/g/L per le donne) e l'aumento dell'ematocrito per la Policitemia Vera o una piastrinosi stabile da oltre 6 mesi per la Trombocitemia essenziale.*

*L'ultimo esempio è offerto dal polimorfismo delle anomalie presenti nella Mielofibrosi Primitiva in fase avanzata che coinvolge la morfologia piastrinica/megacariocitica, quella eritrocitaria (dacriociti; eritroblasti e granulocitaria).*

## **APPENDICE B.**

Modello per il testo di accompagnamento del documento riservato ai Medici di Medicina Generale ed ai Clinici utenti del Laboratorio.

**Gent. Dott.**

*Il nostro Laboratorio ha recepito le raccomandazioni del Gruppo di Studio Diagnostica Ematologica di SIBioC-Medicina di Laboratorio (Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica).*

*Lo scopo del documento è quello di semplificare e rendere omogenea la refertazione ematologica., L'informazione che in questo modo viene fornita è differenziata su 2 livelli: il primo è riportato direttamente sul referto e tiene conto essenzialmente del fatto che sarà letta in prima istanza dal paziente. Per questo motivo i diversi commenti, pur mantenendo rigerosità terminologica ed aderenza alle diverse possibilità diagnostiche, sono redatti con linguaggio facilmente comprensibile ma non allarmante.*

*Il secondo livello informativo è rivolto direttamente al Medico Curante ed è quello contenuto nella presente comunicazione che potrà quindi essere facilmente consultata al bisogno.*

*Ci scusiamo se la necessità di tradurre il nostro linguaggio tecnico ha prodotto delle semplificazioni o delle ridondanze esplicative. L'intento è quello di trasferire la quantità e qualità di informazione diagnosticamente e clinicamente utile prodotta nel nostro laboratorio in tempi brevi e, ci auguriamo, con la giusta efficacia.*

*I riferimenti frequentemente richiamati per le patologie ematologiche neoplastiche sono tratti prevalentemente da: WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. International Agency for Research on Cancer. 4th Edition. Lyon, 2008.*

*Ulteriori riferimenti sono rappresentati dalle raccomandazioni e Linee Guida dell'International Council for Standardization in Haematology (ICSH).*

*Potrà richiedere informazioni supplementari, segnalarci inesattezze, omissioni o carenze,  
scrivendoci direttamente all'indirizzo .... O telefonando al....*

*Cordiali saluti*

*Il Direttore*