



Autore: Dott. Bruno Brando  
Data: 22 Agosto 2022  
Riferimento: UK NEQAS LI

**OGGETTO: esercizio UK NEQAS LI CD34+ Stem Cell Enumeration 222302, Giugno 2022 - Commento del report e analisi del questionario**

Gentile Partecipante,

come riferito in precedenza nella nostra comunicazione del 20 Luglio, il campione 298 - esercizio 222302 - schema CD34+ Stem Cell Enumeration, è risultato povero di elementi CD34+, con aumentata autofluorescenza e una bassa intensità di espressione dell'antigene.

Campioni con queste caratteristiche sono propri di pazienti cattivi mobilizzatori o soggetti con emolisi, mielodisplasie o mielofibrosi in monitoraggio.

Queste comuni patologie suggeriscono a UK NEQAS LI di inviare, di tanto in tanto, campioni di aspetto 'deludente', che di fatto però riflettono situazioni comuni nella quotidianità operativa.

In questo caso, infatti, il campione 298 risultava di fatto privo degli elementi caratteristici attesi; l'esercizio aveva lo scopo di saggiare la specificità del sistema analitico in uso presso il Laboratorio, aspetto altrettanto importante della sua sensibilità.

Cell Population	Your Results (cells/ $\mu$ L)	Robust Mean (cells/ $\mu$ L)	Robust SD (cells/ $\mu$ L)
CD34 Absolute Values		1.17	1.20

  

Cell Population	Your Results %	Robust Mean %	Robust SD %
CD34 Percentage Values		0.02	0.02

È evidente e molto confortante il livello di attenzione critica che rimane attorno all'esercizio CD34, una misura che resta cruciale nella pratica trapiantistica.

La 'sorpresa' di un campione privo di elementi CD34+ non ha causato particolari problemi; piuttosto, la sfortunata concomitanza di un'aumentata autofluorescenza linfocitaria ha richiesto in diversi casi ripetizioni del test o approfondimenti.

Le numerose risposte verbali raccolte fotografano l'ormai consolidata pratica nei conteggi di CD34+ e meritano una lettura: ognuno si ritroverà nelle considerazioni riportate dai colleghi degli altri Centri.

Una serie di interessanti suggerimenti riguardanti i futuri esercizi elettronici è stata infine raccolta: sarà nostra premura trasmetterne una sintesi ai colleghi di Sheffield, allo scopo di migliorare e diversificare ulteriormente anche questo tipo di esercizi, magari con l'introduzione di files di campioni non facilmente distribuibili, come aferesi fresche o scongelate.

Grazie a tutti per la partecipazione!

Restando a disposizione per qualsiasi chiarimento, con l'occasione Vi saluto cordialmente

Dott. Bruno Brando  
Referente scientifico UK NEQAS for Leucocyte Immunophenotyping



**Laboratori italiani iscritti al Programma CD34+ Stem Cell Enumeration: 93 - ricevute risposte da 47 partecipanti.**

**1) Avete avuto difficoltà nel processare il campione n. 298 (trial UK NEQAS CD34 - 222302)?**

%	OPZIONI DI RISPOSTA
35	No
29	Sì al primo impatto, ma poi ho inteso lo scopo dell'esercizio e ho inserito il valore trovato
20	Sì e per sicurezza ho eseguito un secondo set di analisi
10	Altro *
4	Sì e ho approfondito l'analisi
	*
	Sì al primo impatto, ma poi ho inteso lo scopo dell'esercizio e ho inserito il valore trovato. Ho comunque ripetuto l'analisi per confermare il dato
	No, comunque ho fatto eseguire alla collega un secondo set di analisi
	No, ma per sicurezza ho eseguito un secondo set di analisi
	La nostra difficoltà è stata nel riscontro di una forte discrepanza tra il numero di wbc del contaglobuli rispetto a quella del citofluorimetro. in ogni caso abbiamo dato il dato in singola piattaforma.
	Avevo inteso lo scopo di questo tipo di esercizi in cui possono non esserci CD34, ma l'aumentata autofluorescenza mi ha destato perplessità (mio errore di incubazione o altro?) quindi per sicurezza ho eseguito una seconda analisi, dopodiché ho capito che era proprio così ed ho inserito il valore trovato

**2) Ritenete utile che il provider UK NEQAS possa inviare saltuariamente esercizi di questo tipo?**

%	OPZIONI DI RISPOSTA
79	Sì, perché può accadere anche in routine
18	Sì, così da valutare la specificità del sistema analitico
2	Altro *
0	No, perché negli esercizi mi aspetto campioni con quantità rilevanti di cellule CD34+
	*
	Sì, sia perché può accadere anche in routine, sia per valutare sensibilità e specificità del sistema analitico

**3) Se il campione n. 298 provenisse da un paziente in mobilizzazione:**

%	OPZIONI DI RISPOSTA
78	Darei il risultato senza problemi, potendo il paziente essere ancora in fase pre-mobilizzazione
12	Chiederei un altro prelievo per maggiore sicurezza
10	Altro *
	*
	Si darei il risultato ma mi confronterei con il clinico
	Potrebbe trattarsi di un poor mobilizer o di un prelievo basale prima della mobilizzazione
	Mi è capitato in corso di mobilizzazione con Neuroblastomi pediatrici, in particolare, di avere poche o zero CD34, ma sapendo che può succedere di default, ogni giorno già ripetevamo l'analisi. Quindi c'era un monitoraggio molto stretto
	Darei il risultato, potendo il paziente essere in pre-mobilizzazione, previa valutazione eventuali anomalie nei parametri richiesti da ISHAGE
	Mi interfaccerei con il referente clinico per comprendere se il dato è compatibile con la fase di mobilizzazione. Inoltre, per nostra pratica clinica, il pz viene monitorato valutando il timing nei giorni a ridosso della possibile data di raccolta



#### 4) Se il campione n. 298 provenisse da un paziente con sospetto di mielofibrosi o mielodisplasia:

%	OPZIONI DI RISPOSTA
58	Darei il risultato senza problemi, sapendo che gli elementi CD34+ possono risultare assenti nel periferico
27	Chiederei un altro prelievo per maggiore sicurezza
15	Altro *
	* Effettuiamo monitoraggi giorno per giorno, in casi particolari ci viene comunicato da chi fa il prelievo Si darei il risultato ma mi confronterei con il clinico  Il monitoraggio degli elementi CD34+ viene fatto dal primo giorno di presunta mobilizzazione; quindi, valutando l'andamento dei WBC e delle CD34+ in giorni successivi si può dare il risultato con un buon margine di sicurezza  Chiederei un parere al clinico di riferimento per valutare appropriatezza del prelievo  Non vengono trattati questi campioni nel nostro laboratorio (3 risposte)

#### 5) Nel corso dell'anno verrà proposto un esercizio elettronico CD34 con l'invio di files FCS: quali suggerimenti potreste dare a UK NEQAS ?

%	OPZIONI DI RISPOSTA (Possibili più opzioni)
62	Includere files FCS da sangue periferico con concentrazioni molto diverse di CD34+
41	Includere files FCS da sospensioni di staminoafèresi
39	Includere files FCS con elementi CD34+ nel contesto di cellule di accompagnamento di tipo e aspetto molto diversi
10	Altro *
	* FCS in formato standard per la strumentazione corrente (FCS3) con 7-AAD e biglie Analisi di staminoafèresi scongelate (3 risposte) Includere eventuale presenza di ematogoni (vedi sangue midollare)

#### 6) Altri eventuali suggerimenti, proposte o commenti riguardanti lo schema CD34+:

Spesso le nuvole dei campioni di sangue stabilizzato sono "brutte" e pongono problemi di interpretazione cosa che raramente si verifica con il sangue fresco dei pazienti - Per quanto riguarda l'esercizio elettronico in passato avevamo avuto difficoltà nell'elaborazione del dato perché non riuscivamo ad aprire i file FCS con la Worklist (.wkl) del FACSCanto Software, per poterlo elaborare nello stesso modo rispetto ai campioni dei pazienti (noi utilizziamo BD Stem Cell Enumeration Kit con le Trucount). Ricreare manualmente i pannelli ed elaborare il file con il FACSDiva Software ricreando i vari gate di analisi, a nostro parere non sarebbe un vero controllo di qualità dato che per le analisi sui pazienti usiamo un sistema diverso.

Un partecipante precisa: il problema non è stato verificare che non c'erano elementi CD34+, piuttosto il fatto che nel dot plot CD34/SSC era presente autofluorescenza dei linfociti. Era quindi necessario porre attenzione su questo problema tecnico per poi confermare l'assenza di elementi CD34+

Sarebbe auspicabile analizzare campioni reali di staminoafèresi, per la sostanziale diversità con il sangue periferico e la maggiore criticità del risultato.

#### Presentazioni 12° ITALIAN UK NEQAS USERS MEETING Diagnostica oncoematologica ed immunologica in citometria

Le presentazioni sono disponibili online e scaricabili dal sito di FLOW ASSESSMENT



[www.flowassessment.it](http://www.flowassessment.it) -> EVENTI -> ARCHIVIO EVENTI -> UK NEQAS LI – 12° UK NEQAS LI USERS MEETING  
-> PRESENTAZIONI

Link: <https://www.flowassessment.it/eventi/uk-neqas-li-12-uk-neqas-li-users-meeting-citometria/>

**PASSWORD: WEBINAR22**