

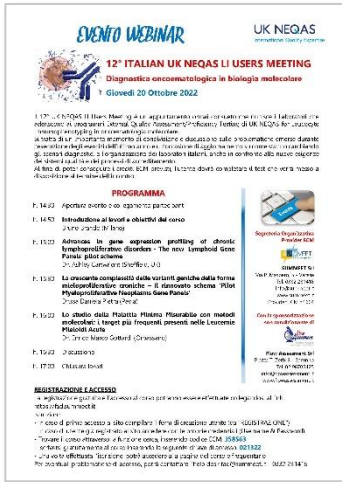


# Newsletter

**UK NEQAS**  
International Quality Expertise

**Autore:** Dr. Bruno Brando  
**Data:** 14 Novembre 2022  
**Riferimento:** UK NEQAS LI

## OGGETTO: Suggerimenti dal "12° ITALIAN UK NEQAS USERS MEETING - Diagnostica oncoematologica in biologia molecolare" – 20 Ottobre 2022



**Introduzione ai lavori - Dr. Bruno Brando:** il continuo progresso delle tecniche di diagnostica molecolare leucemologica e la veloce diffusione che queste analisi stanno avendo in tutto il mondo, hanno generato un forte interesse nei ricercatori e nei laboratoristi italiani. UK NEQAS for Leucocyte Immunophenotyping (LI) ha compiuto enormi sforzi per seguire questa evoluzione, con la regolare implementazione di nuovi schemi EQA molecolari, aperti alle più innovative tecnologie diagnostiche come la NGS e la Droplet Digital. Con questa ricchezza di nuovi argomenti ed il crescente numero di partecipanti è stato necessario dividere il tradizionale Italian users meeting UK NEQAS LI in due distinti incontri, per disporre di tutto il tempo per i necessari approfondimenti: uno svoltosi il 5 Maggio 2022, dedicato alle indagini immunofenotipiche in citometria a flusso e l'altro il 20 Ottobre 2022 dedicato alle indagini molecolari. Questa suddivisione, tuttavia, non deve e non vuole essere vista come un distanziamento tra due diversi settori della diagnostica che al contrario devono continuare a interagire e ad arricchirsi reciprocamente.

L'incontro del 20 Ottobre 2022 ha visto la partecipazione di un centinaio di partecipanti, in rappresentanza di 61 centri ospedalieri italiani diffusi in quasi tutte le regioni.

Un breve sondaggio, distribuito prima dell'incontro, ha mostrato una sostanziale soddisfazione dei partecipanti per l'attuale offerta di schemi EQA/PT, con richieste da parte di un quarto degli iscritti per altri esercizi, quali IDH1-2, NPM1 "A-B-D" quantitativi, CBB/MYH11"A", RUNX1-RUNX1T1, Calreticulina ed altri ancora, a riprova della necessità di disporre di affidabili supporti a linee diagnostiche di grande importanza clinica e in continua evoluzione.



**Lymphoproliferative Diseases, Molecular Genetic Programme Updates and Findings - Dr. Ashley Cartwright:** il Dr. Ashley Cartwright, tra i responsabili della gestione degli schemi UK NEQAS LI molecolari della sede di Sheffield, ha presentato una dettagliata revisione delle metodologie di laboratorio che devono essere applicate nel trattamento dei campioni liofilizzati inviati, ricca di preziosi consigli, utili soprattutto nella gestione ordinaria dei campioni clinici. La sua presentazione costituisce un importante punto di riferimento per la risoluzione dei frequenti problemi di efficienza nell'estrazione degli acidi nucleici che vengono riportati da molti

partecipanti. Ashley ha poi brevemente illustrato i nuovi schemi molecolari pilota che saranno lanciati prossimamente: Malattia minima misurabile della AML, Pannelli genici della LLC, Espansione dei pannelli genici della MDS/AML, Test diagnostici delle malattie mieloproliferative croniche. Nella sua relazione si è potuto apprezzare come la struttura dei nuovi schemi sia stata fin dall'inizio allineata alle nuove classificazioni della quinta linea guida WHO, recentissimamente pubblicata, come ad esempio riguardo ai cambiamenti nel valore interpretativo dell'allelic ratio per FLT3. È stata infine discussa la crescente diffusione dei sistemi di analisi in Droplet Digital, che sembrano fornire prestazioni spettacolari in termini di riproducibilità e semplicità di esecuzione.

### Programma EQA/PT UK NEQAS LI per lo studio dei pannelli genici per le malattie linfoproliferative croniche

Nel nuovo schema pre-pilota sullo studio delle alterazioni genetiche ricorrenti nella B-CLL verrà inviato inizialmente un campione all'anno. Ai partecipanti verrà richiesto di analizzare il campione con il proprio pannello genico di routine per B-CLL e di riportare ogni anomalia genetica reputata clinicamente rilevante ed ogni eventuale alterazione regolatoria come mutazioni puntiformi, piccole inserzioni, delezioni o duplicazioni. Non sarà richiesto di riportare alterazioni maggiori dell'architettura genomica o variazioni del numero di copie (oltre le 50kb). Dal 2022 il programma sarà esteso per comprendere un più ampio spettro di forme linfoidi maligne, il che necessiterà un cambiamento di denominazione: Lymphoid Gene Panels.

*esempio di report allegato alla presente Newsletter*

*Non accontentarti della qualità per crescere ... cresci in formazione per crescere in qualità!*



**La crescente complessità delle varianti geniche delle forme mieloproliferative croniche – Il rinnovato schema 'Pilot Myeloproliferative Neoplasms Gene Panels' - Dr.ssa Daniela Pietra:** la Dr.ssa Daniela Pietra, dell'UOC di Ematologia dell'Ospedale San Matteo di Pavia, ha presentato una relazione dal titolo: 'La crescente complessità delle varianti geniche delle forme mieloproliferative croniche – Il rinnovato schema Pilot Myeloproliferative Neoplasms Gene Panels'. È stato un affascinante racconto dell'evoluzione dei concetti medico-biologici e dell'esplosiva evoluzione delle tecniche diagnostiche, avvenuta solo a partire dal 2005 con la scoperta delle

mutazioni di JAK2 e quindi in sequenza di MPL, JAK2 Esone 12, CALR e delle molte altre minori. È stato enfatizzato il ruolo della NGS per la migliore e più accurata caratterizzazione di queste frequenti neoplasie, tuttavia sottolineando la necessità di una maggiore standardizzazione della metodologia e della leggibilità della refertazione, che tende a diventare sempre più complessa. Un importante richiamo è stato infine dato alla necessità di inquadrare sempre queste patologie con un'accurata valutazione clinica e citomorfologica del midollo, elementi insostituibili per meglio valorizzare i riscontri molecolari, che da soli non sono sempre dotati della sufficiente specificità diagnostica.



## Programma EQA/PT UK NEQAS LI per lo studio dei pannelli genetici per le Sindromi Mieloproliferative Croniche

In questo esercizio, un campione clinico o una linea cellulare con alterazioni genetiche sospette per sindromi mieloproliferative croniche verranno distribuiti, assieme ad uno scenario clinico. Ai partecipanti verrà richiesto di analizzare i campioni per le mutazioni di JAK2 (V617F ed Esone 12), Calreticulina e MPL, procedendo secondo la logica dell'algoritmo sviluppato da Tefferi nel 2014 (Tefferi A and Pardanani A. Genetics: CALR mutations and a new diagnostic algorithm for MPN. Nat Rev Clin Oncol 2014; 11(3): 125-126). Dal 2022 il programma sarà esteso per comprendere un più ampio spettro di forme mieloproliferative croniche, il che necessiterà un cambiamento di denominazione: Myeloproliferative Neoplasm Diagnostic Testing e sarà limitato alla ricerca delle mutazioni di JAK2 p.Val617Phe, JAK2 esone 12, CALR esone 9 e MPL esone 10 varianti. Il pannello esteso di Next Generation Sequencing -NGS- sarà incorporato nel rinnovato schema Myeloid Gene Panels.

*esempio di report allegato alla presente Newsletter*



**Lo studio della Malattia Minima Misurabile con metodi molecolari: i target più frequenti presenti nelle Leucemie Mieloidi Acute - Dr. Enrico Marco Gottardi:** il Dr. Enrico Marco Gottardi, dell'Azienda Ospedaliera Universitaria S. Luigi di Orbassano, ha quindi parlato dello 'Studio della Malattia Minima Misurabile con metodi molecolari: i target più frequenti presenti nelle Leucemie Mieloidi Acute'. La diagnostica molecolare dei pazienti con Leucemia Mieloidica Acuta (LAM), anche alla luce delle nuove raccomandazioni ELN 2022 recentemente pubblicate su Blood (1), riveste

un ruolo sempre più importante per una corretta classificazione della patologia, dei fattori di rischio e del management clinico-diagnostico-terapeutico del paziente stesso. Le raccomandazioni mettono in risalto l'importanza della valutazione molecolare della malattia minima residua soprattutto per alcuni marcatori come NPM1 e CBFβ con indicazioni sui criteri di scelta delle metodologie da utilizzare. La relazione sottolinea l'importanza di percorsi di standardizzazione soprattutto per alcune tecnologie e la necessità di avere specifici materiali di riferimento a titolo noto per alcuni geni ibridi di fusione o mutazioni e contestualmente l'assoluta necessità di poter disporre di programmi di controllo di qualità esterni per un dato molecolare sempre più standardizzato e riproducibile. Tutto questo per un percorso diagnostico all'avanguardia e utile per una medicina di precisione.

1. "Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN". Hartmut Döhner et al Blood. 2022 Sep 22;140(12):1345-1377. doi:10.1182/blood.2022016867.



## Programma EQA/PT UK NEQAS LI per lo studio della Malattia residua misurabile nella Leucemia Mieloidica Acuta (AML) con metodi molecolari

Questo programma è dedicato alla ricerca e valutazione della malattia minima misurabile nelle Leucemie Mieloidi Acute con metodi molecolari. Verrà valutata la capacità dei laboratori di identificare e quantificare accuratamente la MRD per: t(8;21) RUNX1::RUNX1T1, inv(16) CBFβ::MYH11, t(15;17) PML::RARA e le note varianti geniche dell'esone 12 del gene NPM1.

*esempio di report allegato alla presente Newsletter*



# Newsletter

**UK NEQAS**  
International Quality Expertise

La nostra speranza è che il prossimo 13° ITALIAN UK NEQAS USERS MEETING si potrà tenere in presenza, così da poter stimolare il confronto e il dibattito che sono sempre state le peculiarità degli incontri annuali UK NEQAS LI.

Dr. Bruno Brando  
Referente scientifico UK NEQAS for Leucocyte Immunophenotyping



**CASELLA DI POSTA PER INFORMAZIONI SCIENTIFICHE:** [supporto.tecnico@flowassessment.it](mailto:supporto.tecnico@flowassessment.it)

## Presentazioni 12° ITALIAN UK NEQAS USERS MEETING Diagnostica oncoematologica in biologia molecolare

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 Molecolare -> PRESENTAZIONI

**Link:** [www.flowassessment.it/eventi/uk-neqas-li-12-uk-neqas-li-users-meeting-molecolare/](http://www.flowassessment.it/eventi/uk-neqas-li-12-uk-neqas-li-users-meeting-molecolare/)

**PASSWORD: WEBINAR22**