

Autore: Dr. Bruno Brando & Dr. Marco Rosetti
Data: 28 Ottobre 2024
Riferimento: UK NEQAS LI&H

OGGETTO: Spunti e aggiornamenti dal "14° ITALIAN UK NEQAS LI&H USERS MEETING – L'incrocio delle competenze nella diagnostica delle neoplasie ematologiche" – 15 Ottobre 2024

Presentazioni 14° ITALIAN UK NEQAS LI&H USERS MEETING – L'incrocio delle competenze nella diagnostica delle neoplasie ematologiche

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



www.flowassessment.it -> EVENTI -> ARCHIVIO EVENTI -> UK NEQAS LI&H – 14° ITALIAN UK NEQAS LI&H USERS MEETING - L'incrocio delle competenze nella diagnostica delle neoplasie ematologiche -> PRESENTAZIONI

PASSWORD: WEBINAR24



Introduzione ai lavori - Dr. Bruno Brando: Questo webinar voleva per la prima volta presentare delle letture di aggiornamento comuni ai due grandi gruppi dell'Ematologia di Laboratorio e della Citometria a Flusso. Di sicuro c'è stato grande interesse in questa iniziativa, testimoniato dall'alto numero di Partecipanti collegati (370). È difficile tracciare confini precisi tra le diverse discipline che compongono il mosaico della diagnostica ematologica: pensiamo che sia utile e corretto favorire il massimo livello di integrazione possibile, mettendo ogni specialista nella

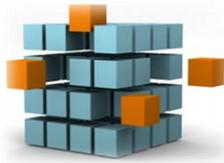
condizione di apprendere e apprezzare le problematiche dei colleghi impegnati nelle discipline correlate. Grande rilievo è stato dato alla descrizione delle nuove classificazioni delle neoplasie ematologiche secondo i due gruppi 'secessionisti' di WHO 5th e ICC. Le presentazioni fatte su questo molto ostico argomento costituiscono un prezioso riferimento per tutti gli operatori, poiché in molte circostanze è oggi richiesto di refertare certe patologie con la doppia dizione, mettendo il clinico nella migliore condizione per operare le sue scelte terapeutiche. Diciamo che questa controversia non ci voleva, ma è importante sottolineare che i partecipanti agli schemi UK NEQAS possono accedere a riferimenti di prima mano e di alta qualità che facilitano il loro lavoro e aumentano le loro competenze.

Assieme alle nuove classificazioni anche la morfologia cellulare in qualche modo cambia e si evolve nelle sue definizioni. Molto lavoro è stato fatto sull'analisi del liquor nelle emopatie maligne, cercando di favorire internazionalmente l'adesione alle linee-guida ESCCA/ISCCA recentemente pubblicate. L'analisi citometrica della malattia minima misurabile nella LAM continua ad essere un problema globale, con alcuni recenti tentativi tesi a validare l'aumento di sensibilità dei metodi. Anche nell'analisi della malattia minima misurabile del mieloma la pratica e la familiarità con i metodi di analisi citometrica mettono gli operatori in grado di eseguire con confidenza analisi di elevata accuratezza e sensibilità.



La diagnostica con le nuove classificazioni WHO-ICC: Neoplasie mieloidi e leucemie acute - Dr. Giovanni Marconi: Questa presentazione esplora le nuove classificazioni WHO e ICC delle neoplasie mieloidi e delle leucemie acute, con particolare attenzione alla leucemia mieloide acuta (AML) e alla mielodisplasia (MDS). Viene illustrato il ruolo delle analisi morfologiche, immunofenotipiche, citogenetiche e molecolari, che forniscono una classificazione funzionale e dalle implicazioni terapeutiche. Si evidenzia come mutazioni specifiche, come

FLT3, NPM1 e TP53, influenzano la prognosi e la gestione clinica dell'AML. Viene discusso l'aggiornamento 2022 della classificazione WHO e ICC, mettendo in risalto le relative differenze.



La diagnostica con le nuove classificazioni WHO-ICC: Neoplasie mature linfoidi - Dr. Alessandro Broccoli:

In relazione alle nuove classificazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (5a edizione WHO 2022) e International Consensus Classification (ICC 2022) delle neoplasie linfoidi mature, sono state selezionate alcune tematiche dotate di particolare rilevanza dal punto di vista diagnostico e con importanti risvolti sul piano clinico. 1) I linfomi a cellule B ad alto grado: il concetto di double hit, come paradigma di malattia ad altissima aggressività; 2) Il

linfoma mediastinico della zona grigia, per le sue sovrapposizioni con il linfoma di Hodgkin classico e il linfoma primitivo del mediastino; 3) I linfomi associati ai deficit immunitari, sottolineando il ruolo dell'immunodeficit nella patogenesi e i risvolti terapeutici peculiari; 4) I linfomi dei siti immuno-privilegiati, categoria di nuova introduzione nelle più recenti classificazioni; 5) La scomparsa della leucemia prolinfocitica B e della leucemia a cellule capellute variante dalla classificazione WHO, pur rimanendo entità distinte ed in vigore nella classificazione ICC; 6) Il linfoma di Hodgkin/linfoma a cellule B a prevalenza linfocitaria nodulare, declinato nelle sue varianti morfologiche che ne ricapitolano l'aggressività clinica; 7) I linfomi T-linfocitari, con particolare focus sulle forme a cellule T-helper follicolari e sui linfomi a presentazione intestinale.



La morfologia ha ancora un ruolo? - Dr. Giovanni Poletti:

Nella vita quotidiana l'immagine rappresenta una delle modalità più rapide e immediate per trasmettere informazioni. Anche nel campo della medicina differenti modalità d'immagine sono utilizzate ai fini diagnostici e di monitoraggio. Grazie all'acquisizione di continui progressi tecnologici ed alla conoscenza di un numero crescente di meccanismi patogenetici molecolari delle emopatie, l'utilizzo della morfologia in ematologia è sicuramente ridimensionato, pur restando, ad oggi, il riferimento in alcuni

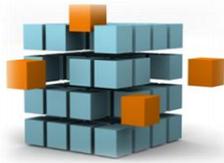
momenti della diagnostica e del follow-up dei disordini ematologici. La buona qualità dell'immagine rappresenta un requisito indispensabile affinché la morfologia possa riconoscere l'informazione da trasmettere. Quest'ultima può essere descrittiva o critica. Nel primo caso le limitate competenze cliniche e di laboratorio consentono all'osservatore di descrivere solo aspetti morfologici senza ipotesi cliniche, mentre la competenza dell'osservatore critico può indicare gli aspetti morfologici più significativi riconducibili a un 'pattern' che suggerisca i contesti clinici più probabili. Le nuove classificazioni dei disordini ematologici neoplastici hanno incrementato il ruolo della caratterizzazione genetica ribadendo tuttavia l'importanza di integrare queste informazioni con la clinica e la morfologia. Insostituibile è il valore della morfologia adottata nel work-up ematologico per indirizzare la diagnosi e la scelta appropriata di eventuali altri esami. Persiste il suo ruolo come riferimento nella quantificazione di blasti, plasmacellule, mastociti o entità della displasia. L'esclusione di artefatti di laboratorio potrebbe sfuggire anche alle nuove strumentazioni ma essere facilmente rilevabile all'esame morfologico. Rare ma di estrema utilità clinica possono essere patologie riscontrate inaspettatamente dall'esame morfologico, come infezioni, disordini neoplastici o ereditari. L'utilità di queste informazioni morfologiche deve essere considerata non solo in fase diagnostica ma anche in corso di follow-up. Non esistendo uno 'standard morfologico', la competenza dovrebbe far riferimento alla letteratura scientifica cercando aiuto nell'esperienza sul campo e nell'impiego di esercizi di verifica della qualità come strumenti oggettivi di formazione. Negli ultimi anni la tecnologia ha messo a disposizione sistemi di acquisizione di immagini digitali caratterizzati da un'elevata qualità dell'immagine e dalla possibilità di rendere più agevole il consulto anche a distanza, la standardizzazione e formazione degli operatori e la gestione di archivi. L'intelligenza artificiale sarà sicuramente il prossimo strumento a nostra disposizione ma solo il controllo di una mente competente ed equilibrata potrà garantire la qualità dei risultati.



Schema EQA/PT UK NEQAS H di morfologia delle cellule ematiche, conta differenziale manuale dei leucociti, ricerca dei parassiti ematici e morfologia digitale

Ognuno degli otto esercizi annuali consiste nell'analisi microscopica di due strisci di sangue periferico fissati e colorati con May-Grünwald-Giemsa. In occasione di quattro degli otto esercizi, ai due strisci destinati alla valutazione morfologica del sangue periferico, si aggiungono due strisci di sangue periferico, colorati con May-Grünwald-Giemsa o altra idonea colorazione specifica (es. colorazione di Field) per la ricerca di parassiti ematici. Per ogni campione di sangue periferico è richiesto il riconoscimento degli aspetti morfologici più significativi a carico degli elementi figurati presenti (le caratteristiche morfologiche da segnalare devono essere indicate secondo i codici specifici riportati sul retro del foglio di accompagnamento dell'esercizio). In occasioni alterne si richiede anche la conta differenziale manuale dei leucociti (e di eventuali altri elementi nucleati) su uno dei vetrini destinati alla valutazione morfologica. Bisogna esprimere le concentrazioni delle popolazioni leucocitarie identificate come valori percentuali e numerici assoluti, a partire dal conteggio automatico grezzo dei leucociti, che viene fornito sempre sul foglio di accompagnamento dell'esercizio. Il programma di morfologia digitale offre a cadenza bimestrale immagini ad alta risoluzione al fine di educare gli operatori di tutti i livelli a valorizzare gli elementi morfologici diagnostici più importanti di ogni caso clinico e permette nel tempo la costruzione di un archivio personalizzato di casistica ematologica commentata e consultabile.

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



Analisi citometrica del liquor nelle malattie oncoematologiche - Linee guida e mondo reale

Maria Ilaria Del Principe
Ematologia, Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione
Università degli studi di Roma Tor Vergata
Roma, Italia

Analisi citometrica del liquor nelle malattie oncoematologiche - Linee guida e mondo reale – Prof.ssa Maria Ilaria Del Principe: Alla luce dell'indagine recentemente pubblicata da Debliquis et al. in Cytometry Part B: Clinical Cytometry sull'aderenza dei citometristi francofoni alle raccomandazioni ESCCA/ISCAA (Del Principe et al. 2021) pubblicate anche esse su questa rivista qualche anno fa, abbiamo voluto estendere l'indagine a un maggior numero di laboratori in tutto il mondo. L'indagine che ha coinvolto 113 laboratori in tutto il mondo è stata possibile grazie al

supporto di UK NEQAS for Leucocyte Immunophenotyping programs e delle società di citometria ESCCA/ISCAA. Sebbene i risultati dell'indagine abbiano mostrato in generale una buona aderenza tra le raccomandazioni pubblicate e la pratica clinica, l'indagine ha anche rivelato aree in cui l'accordo e l'armonizzazione non sono pienamente raggiunti. I punti di maggiore discordanza sono la metodica per quantificare i globuli bianchi nel liquor cefalorachidiano, l'adeguatezza dei campioni ricevuti e la soglia per definire come sede di malattia ematologica il liquor cefalorachidiano. La discordanza dimostrata dall'indagine internazionale suggerisce che un dato campione potrebbe essere refertato in modo potenzialmente molto diverso, a seconda del laboratorio che lo ha trattato e analizzato. Ciò evidenzia l'utilità del nostro studio e giustifica la necessità di continuare ad aumentare l'interazione tra i diversi laboratori e di armonizzare questo strumento. Tant'è vero che ormai, come risulta dalla nostra indagine, spesso i clinici mandano campioni di liquor cefalorachidiano ai laboratori senza una diagnosi di malattia ematologica certa ma solo in presenza di campioni iper-cellulari e di sintomatologia neurologica.



Schema EQA/PT UK NEQAS LI per l'Immunofenotipizzazione delle cellule del Liquor

È distribuito un campione di leucociti stabilizzati risospesi in un medium che riproduce le caratteristiche del liquor, assieme ad un'immagine digitale di un citospin, utile per una valutazione morfologica preliminare all'analisi fenotipica. Non sono forniti vetrini di citospin. Si precisa inoltre che i campioni stabilizzati distribuiti non sono adatti all'allestimento di preparati per analisi morfologiche, potendo generare artefatti. Ai partecipanti è richiesto di analizzare il campione utilizzando le proprie metodologie di routine, per definire l'eventuale presenza di un certo tipo di contaminazione leucemica. Vengono raccolti i dati di conteggio cellulare assoluto, di valutazione morfologica e di analisi immunofenotipica in citometria.

L'incrocio delle competenze nella diagnostica delle neoplasie ematologiche

Martedì 15 Ottobre 2024

WEBINAR
14° ITALIAN UK NEQAS LI&H USERS MEETING



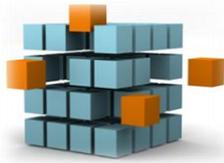
L'analisi della malattia residua misurabile nelle Leucemia Acute Mieloidi - Dr.ssa Patrizia Mancuso: Nei pazienti con Leucemia Acuta Mieloide (LAM), la presenza di Malattia Misurabile Residua (Misurable Residual Disease - MRD) dopo chemioterapia è un fattore prognostico negativo, sia in termini di Overall Free Survival che di Disease Free Survival.

Ad oggi le principali tecnologie per valutare la MRD sono la biologia molecolare e la citometria a flusso, ma la mancanza di standardizzazione per la quantificazione della MRD, rende il confronto dei risultati ottenuti va i vari centri variabile e di difficile interpretazione. Per questa ragione, lo European Leukemia Net ha stilato nel 2018 e aggiornato nel 2021 un elenco di raccomandazioni da seguire per la processazione, l'analisi e la refertazione dei prelievi di sangue midollare di pazienti affetti da LAM in diagnosi e dopo chemioterapia. Scopo di questa presentazione è rivedere i requisiti richiesti per la standardizzazione del metodo citofluorimetrico per la valutazione della MRD nelle LAM, e procedere all'analisi di un file elettronico di MRD (MRD 232403) rilasciato da UK NEQAS all'inizio dell'anno in corso. Infine, rivediamo assieme l'esercizio UK NEQAS Leukaemia 232404, perché il consenso relativo alla diagnosi finale ha dato risultati non uniformi.



Schema EQA/PT UK NEQAS LI per la verifica della malattia residua misurabile nella Leucemia Mieloide Acuta (AML)

Questo programma distribuisce campioni per la determinazione del livello di MRD in citometria a flusso in pazienti con AML. I campioni non sono adatti all'analisi della MRD con metodi molecolari. Ogni invio include un campione di riferimento, rappresentativo del fenotipo della malattia all'esordio e due campioni di follow-up, che simulano prelievi effettuati in momenti diversi dell'iter clinico.



L'analisi della malattia residua misurabile nel mieloma multiplo - Problemi, interferenze e riscontri clinici - Dr.ssa Vittorio Emanuele Muccio:

La citofluorimetria ben si presta allo studio delle plasmacellule e del mieloma multiplo. L'International Myeloma Working group ha stilato criteri per classificare la risposta alla terapia che però non ha un diretto riscontro con la sopravvivenza dei pazienti. Pertanto, sono necessarie metodiche più sensibili per la valutazione della malattia residua, in particolare con metodiche di biologia molecolare e citofluorimetria. La

citofluorimetria ha avuto un'evoluzione nella valutazione della MRD nel mieloma, sviluppando la Next Generation Flow. La MRD ha notevole valenza prognostica a prescindere dalla terapia, è estremamente efficace nel monitoraggio della terapia ed è in grado di anticipare di molto la recidiva clinica. Ci sono, però alcune difficoltà nella valutazione della MRD rappresentate dall'eterogeneità clonale delle plasmacellule patologiche, dall'utilizzo degli anticorpi monoclonali che agiscono sul CD38, dall'emodiluizione del sangue midollare che può dare falsi negativi. Esercitarsi nella valutazione della MRD nel mieloma è essenziale per acquisire maggior confidenza in queste circostanze e la partecipazione a programmi di EQA può dare una mano. Ciò è reso evidente dall'osservazione dell'andamento degli esercizi UKNEQAS nel tempo, dove si osserva che le discordanze nella risposta così come gli outlier in termini di percentuale di plasmacellule patologiche e di loro espressione di marcatori di superficie si riduce nel tempo.



Schema EQA/PT UK NEQAS LI per la verifica della malattia residua misurabile nel Mieloma Multiplo (PCM)

In ciascun esercizio saranno presenti tre diversi campioni: un campione di assieme a due campioni di follow-up. I due campioni di follow-up rappresentano diversi stadi di malattia misurabile registrabili in corso di trattamento, e sono diretti a valutare l'abilità di riconoscere e quantificare la condizione, da definire come percentuale di plasmacellule mielomatose sul totale della popolazione cellulare.

Seguiranno a stretto giro maggiori informazioni riguardo ai prossimi eventi (sia italiani che inglesi).

La partecipazione ed il continuo confronto tra colleghi devono necessariamente continuare ad essere il motore principale di questi incontri.

Dr. Bruno Brando
Referente scientifico UK NEQAS
for Leucocyte Immunophenotyping

Dr. Marco Rosetti
Referente scientifico UK NEQAS
for Generale Haematology



CASELLA DI POSTA PER INFORMAZIONI SCIENTIFICHE: supporto.tecnico@flowassessment.it