



	NOME	FUNZIONE	DATA
<b>REDAZIONE</b>	Gianfranco Avveduto	RAQ	06/05/2021
<b>VERIFICA</b>	Alessandro Terreni	Responsabile Produzione	06/05/2021
<b>APPROVAZIONE</b>	Paola Pezzati	DIRETTORE SOD	06/05/2021

Per la numerosità degli iscritti al programma consultare: [www.aou-careggi.toscana.it/crrveq](http://www.aou-careggi.toscana.it/crrveq)

## **MORFOLOGIA CELLULARE**

### **Analiti**

### **Materiali di controllo**

### **Conservazione / Trattamento materiali**

### **Ciclo di controllo**

### **Analisi dei risultati**

### **Analiti**

Conteggio differenziale manuale dei leucociti

Morfologia delle cellule ematiche

### **Materiale di controllo**

Il prodotto è costituito da vetrini di strisci di sangue periferico colorati su cui eseguire la lettura microscopica della formula leucocitaria e lo studio della morfologia cellulare.

I vetrini sono colorati con metodica May-GrünwaldGiemsa, secondo le Linee Guida del Gruppo di lavoro per l'Ematologia dell'EQALM (EuropeanCommittee for ExternalQuality Assurance Programs in Laboratory Medicine)

I vetrini non colorati sono fissati in metanolo, e possono essere coloratiseguendo i protocolli in uso nel laboratorio partecipante.

La Ditta fornitrice attesta che i materiali sono negativi ai test di ultima generazione per la ricerca dell'HBsAg, dell'Ab anti-HCV e dell'Ab anti-HIV.

Si raccomanda tuttavia di trattare i controlli con le medesime precauzioni usate per i campioni prelevati da pazienti.



Il prodotto deve essere smaltito secondo le normative vigenti riguardanti i rifiuti ospedalieri potenzialmente infetti.

Durante il ciclo di controllo verranno proposte via web anche 4 immagini digitali di striscio di sangue periferico per lo studio della morfologia cellulare.

## **Conservazione e trattamento materiali**

Vedi allegato *IL/1481/04 "Istruzioni per le corrette modalità di trattamento e conservazione dei campioni"*

## **Ciclo di controllo**

Nel corso di ogni ciclo saranno effettuate, 4 spedizioni di 1 vetrino ciascuna, accompagnate da informazioni clinico anamnestiche. Le risposte devono essere inviate via web.

Durante il ciclo di controllo verranno proposte via web anche 4 immagini di striscio di sangue periferico per lo studio della morfologia cellulare.

## **Analisi dei risultati**

I risultati vengono pubblicati su sito web nei 20 giorni successivi dalla data d'invio risultati. Viene inviato ai partecipanti avviso di pubblicazione via mail.

Per ogni vetrino di striscio di sangue periferico sono richiesti:

-la conta differenziale manuale dei leucociti e di eventuali altri elementi nucleati. La differenziazione va effettuata su 100 cellule ed il risultato deve essere espresso in %. La conta non è richiesta per gli esercizi digitali.

-Il riconoscimento degli aspetti morfologici più significativi a carico degli elementi figurati presenti. Un tipo morfologico deve essere segnalata unicamente se chiaramente osservata.

Ogni partecipante deve indicare, complessivamente per le tre linee cellulari, al massimo sei caratteristiche morfologiche principali.

Le caratteristiche morfologiche da segnalare devono essere indicate secondo i codici specifici riportati nella tabella di anomalie cellulari (vedi Anomalie cellulari e commento alla refertazione) e che sono organizzate in "anomalie leucocitarie", "anomalie eritrocitarie" ed "anomalie piastriniche".

Può essere comunicata la descrizione libera dell'orientamento diagnostico che il partecipante fornirebbe al clinico curante del caso.



**Anomalie Cellulari e commento alla refertazione**

Leucociti		Eritrociti		Piastrine	
Neutrofilii con nucleo ipersegmentato	<input type="checkbox"/>	Anisocitosi e/o Poichilocitosi	<input type="checkbox"/>	Aggregati piastrinici	<input type="checkbox"/>
Granulociti ipo/agranulati	<input type="checkbox"/>	Anisocromia/Ipocromia	<input type="checkbox"/>	Anisocitosi piastrinica	<input type="checkbox"/>
Neutrofilii ipergranulati	<input type="checkbox"/>	Dacriociti	<input type="checkbox"/>	Plastrine Macrocitiche	<input type="checkbox"/>
Neutrofilii con anomalia di Pelger	<input type="checkbox"/>	Emazie a bersaglio (Target Cells)	<input type="checkbox"/>	Satellismo Piastrinico	<input type="checkbox"/>
Neutrofilii con corpi di Dohle	<input type="checkbox"/>	Schistociti	<input type="checkbox"/>	Piastrine ipo/agranulate	<input type="checkbox"/>
Linfociti atipici	<input type="checkbox"/>	Emazie con inclusioni	<input type="checkbox"/>	Micromegacariociti	<input type="checkbox"/>
Linfociti attivati	<input type="checkbox"/>	Rouleaux Eritrocitari	<input type="checkbox"/>	Senza anomalie	<input type="checkbox"/>
Grandi linfociti granulati (LGL)	<input type="checkbox"/>	Ovalociti/Ellissociti	<input type="checkbox"/>		
Proinfociti	<input type="checkbox"/>	Echinociti	<input type="checkbox"/>		
Linfociti villosi	<input type="checkbox"/>	Emazie a falce	<input type="checkbox"/>		
Plasmacellule	<input type="checkbox"/>	Eritroblasti (NRBC)	<input type="checkbox"/>		
Granulociti immaturi (Promielociti, Mielociti, Metamielociti)	<input type="checkbox"/>	Parassiti intraeritrocitari	<input type="checkbox"/>		
Blasti	<input type="checkbox"/>	Senza anomalie	<input type="checkbox"/>		
Ombre nucleari	<input type="checkbox"/>				
Senza anomalie	<input type="checkbox"/>				

L'elaborazione dei risultati prevede per ciascun campione:

**a) Report dati quantitativi**

numero e la percentuale di risposte per le varie forme cellulari; vari indici centrali della distribuzione (moda, mediana, media) secondo le caratteristiche e/o numerosità dei valori; la D.S. e i risultati inviati. Di seguito si riporta esempio

Risposte ricevute: 210

	Cont. =0	N. Valutati	Indici statistici relativi a conteggio > 0					D.S.	Risultato inviato
			% valutati	Moda	Mediana	Media			
Neutrofili	26	184	87.6%	18	17	17.0	3.9	34.0	
Eosinofili	77	133	63.3%	1	1	1.2	0.4	2.0	
Basofili	180	30	14.3%	1	1	-----	-----	1.0	
Linfociti	25	185	88.1%	80	78	78.1	4.6	60.0	
Monociti	31	179	85.2%	2	3	3.5	1.8	3.0	
Blasti	194	16	7.6%	2	2	-----	-----		
Promielociti									
Mielociti	209	1	0.5%	-----	-----	-----	-----		
Metamielociti	209	1	0.5%	-----	-----	-----	-----		
Eritroblasti ogni 100 leucociti	208	2	1.0%	-----	-----	-----	-----		
Plasmacellule	208	2	1.0%	-----	-----	-----	-----		

**Legenda:**

Cont.=0 : Conteggio elementi = 0  
 ----- : N° valutati <=10

**N.B. La Media e la S.D. sono riportate quando la distribuzione lo permette**



### b) Report della morfologia cellulare

I risultati inviati sono classificati in base alla frequenza delle risposte (Ranking). Vengono riportate le prime 10 anomalie più numerose segnalate dai partecipanti, le anomalie individuate dal singolo partecipante e la relazione tra queste ultime ed il ranking generale. Di seguito si riporta esempio

		<b>Qualità del materiale</b>	<b>Numero</b>	
		Nessuna risposta:	8	
		Insoddisfacente:	31	
		Accettabile:	121	
		Adeguate:	47	
Risposte ricevute: 210				
<b>Prime dieci anomalie riportate</b>				
Cod.	Elemento	Anomalia	Posizione	Nr.
09	Leucociti	Ombre nucleari	1	171
70	Eritrociti	Senza anomalie	2	160
54	Leucociti	Linfociti atipici	3	150
71	Piastrine	Senza anomalie	4	124
72	Leucociti	Prolinfociti	5	40
21	Piastrine	Anisocitosi piastrinica	6	35
78	Piastrine	Plastrine Macrocitiche	7	19
05	Leucociti	Granulociti ipo/agranulati	8	18
11	Leucociti	Linfociti attivati	9	12
90	Leucociti	Blasti	9	12
<b>Tuoi risultati</b>				
Cod.	Elemento	Anomalia	Posizione	Nr.
70	Eritrociti	Senza anomalie	2	160
78	Piastrine	Plastrine Macrocitiche	7	19
56	Leucociti	Senza anomalie	16	4

Vengono riportate inoltre tutte le anomalie individuate dai partecipanti classificate in base alle linee cellulari Leucociti, Eritrociti e Piastrine. Di seguito si riporta esempio



**ANOMALIE CELLULARI**

<b>Leucociti</b>		<b>Nr.</b>
09	Ombre nucleari	171
54	Linfociti atipici	150
72	Prolinfociti	40
05	Granulociti ipo/agranulati	18
11	Linfociti attivati	12
90	Blasti	12
03	Neutrofili con nucleo ipersegmentato	8
52	Grandi linfociti granulati (LGL)	5
55	Linfociti villosi	5
91	Granulociti immaturi (Promielociti, Mielociti, Metamielociti)	4
56	Senza anomalie	4
74	Neutrofili con anomalia di Pelger	3
73	Neutrofili ipergranulati	0
75	Neutrofili con corpi di Dohle	0
14	Plasmacellule	0
<b>Eritrociti</b>		<b>Nr.</b>
70	Senza anomalie	160
23	Anisocromia/Ipocromia	6
22	Anisocitosi e/o Poichilocitosi	5
36	Emazie con inclusioni	1
58	Ovalociti/Ellissociti	1
59	Echinociti	0
60	Emazie a falce	0
57	Rouleaux Eritrocitari	0
24	Dacriociti	0
27	Emazie a bersaglio (Target Cells)	0
34	Schistociti	0
77	Eritroblasti (NRBC)	0
93	Parassiti intraeritrocitari	0
<b>Piastrine</b>		<b>Nr.</b>
71	Senza anomalie	124
21	Anisocitosi piastrinica	35
78	Piastrine Macrocitiche	19
17	Aggregati piastrinici	1
79	Satellismo Piastrinico	0
80	Piastrine ipo/agranulate	0
19	Micromegacariociti	0

Al solo scopo di contestualizzare l'esercizio viene fornita la storia clinica con diagnosi finale, e gli esiti di eventuali ulteriori esami diagnostici. Di seguito si riporta esempio

**Esame emocromocitometrico e diagnosi clinica**

**VEQ ciclo**

Parametro	Risultato	Unità misura
Globuli Bianchi	19,2	$\times 10^9/L$
Globuli Rossi	5,04	$\times 10^{12}/L$
Emoglobina	15,0	g/dl
Ematocrito	46	%
MCV	91,3	fL
MCH	29,8	pg.
MCHC	32,6	g/dl
RDW (range normalità da 11 a 14) )	12,8	%
Piastrine	93	$\times 10^9/L$

Neutrofili	14.0 %
Linfociti	82.0 %
Monociti	4.0 %
Eosinofili	0 %
Basofili	0 %

**Paziente affetto da**

**Leucemia Linfatica Cronica**

**Storia clinica**

Uomo di 47 anni al quale è stata casualmente riscontrata una leucocitosi durante esami di laboratorio di routine. Il paziente non lamenta alcun malessere, né riferisce episodi febbrili recenti o perdita di peso. L'esame fisico non ha evidenziato niente di significativo. L'esame emocromocitometrico evidenzia quanto segue:

aumento del numero dei globuli bianchi, globuli rossi nella norma e conta piastrinica leggermente ridotta. La formula leucocitaria mostra una linfocitosi assoluta. I linfociti non presentano eterogeneità morfologica, sono di piccole dimensioni e aspetto maturo associati alla presenza di frequenti ombre nucleari.

L'analisi di citometria a flusso su sangue periferico mostra cellule B positive per CD19 e CD20, co-esprimenti CD5 e CD23 e con un piccola espressione di catene leggere kappa.

L'esame del midollo osseo presenta fino all'80% di infiltrazioni di linfociti con le stesse caratteristiche morfologiche dei linfociti circolanti. Viene posta diagnosi di Leucemia Linfatica Cronica.



Si riporta infine un commento di un esperto del settore con descrizione vetrino e considerazioni sulle anomalie individuati dai partecipanti. Il commento è articolato in: descrizione del vetrino, percorso diagnostico e commento dei risultati dei partecipanti. Possono essere inserite anche voci bibliografiche rilevanti per il caso. Di seguito si riporta esempio

### **Commento**

**1-Descrizione del vetrino** L'analisi microscopica evidenzia la presenza di piccoli linfociti monomorfi con caratteristiche morfologiche di maturità: sottile bordo citoplasmatico e nucleo con cromatina parzialmente azzollata, senza nucleoli visibili. Sono inoltre presenti ombre nucleari.

**2-Percorso diagnostico** Il riscontro di una significativa linfocitosi in un adulto deve essere oggetto di approfondimento circa le cause. La integrazione di notizie cliniche e lettura dello striscio di sangue periferico con la immunofenotipizzazione, è necessaria per il corretto inquadramento del paziente. Nel presente caso l'esame citofluorimetrico ha evidenziato monoclonalità dei linfociti B con positività per CD19 and CD20, co-espressione di CD5 and CD23, suggerendo quadro di Leucemia Linfatica Cronica.

### **3-Commento dei risultati dei partecipanti**

Numerosi laboratori (171) hanno correttamente individuato la presenza di ombre nucleari. In questo contesto la segnalazione delle ombre nucleari insieme alla linfocitosi è rilevante. Quattro laboratori hanno correttamente segnalato "linfociti senza anomalie" ma solo 1 ha anche segnalato le ombre nucleari.

150 laboratori su 210 hanno segnalato la presenza di linfociti atipici. Nella leucemia linfatica cronica a cellule B non sono presenti linfociti morfologicamente atipici e la segnalazione di linfociti atipici può essere fuorviante, anche se individua un vetrino patologico che suggerisce un approfondimento diagnostico.

### **4-Bibliografia**

1. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features 02 March 2015 <https://doi.org/10.1111/ijlh.12327>
2. Harmonization of interpretative comments in laboratory hematology reporting: the recommendations of the Working Group on Diagnostic Hematology of the Italian Society of Clinical Chemistry and Clinical Molecular Biology (WGDH-SIBioC) Clin Chem Lab Med. 2018 Dec 19;57(1):66-77.
3. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>