

La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio Italian Journal of Laboratory Medicine

Flow Cytometric Report. Il Referto Citofluorimetrico.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	RIME-D-15-00027R1
Full Title:	Flow Cytometric Report. Il Referto Citofluorimetrico.
Article Type:	Review (Rassegna)
Section/Category:	Clinical Section
Keywords:	Flow Cytometry; Report; Recommendations Citofluorimetria; Referto; Raccomandazioni
Corresponding Author:	Maria Matilde Ciriello, M.D. Santi Antonio e Biagio e C. Arrigo Hospital Alessandria, AL ITALY
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Santi Antonio e Biagio e C. Arrigo Hospital
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Maria Matilde Ciriello, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Maria Matilde Ciriello, M.D. Giuseppe De Franchis, M.D. Paolo Doretto, M.D. Elisa Cannizzo, M.D. Roberto Caporale, Sc.D. Alessandra Falda, M.D. Giorgio Farina, M.D. Francesca Ferro, Sc.D. Lorella Lanza, Sc.D. Giulia Scalia, Sc.D. Donatella Tanca, M.D. Elena Toniato, Sc.D. Laura Vanelli, Sc.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	<p>In laboratory medicine, the "report " time is a fundamental event in the clinical evaluation of a result, and also signifies 'interpretative judgement' formulated by a laboratory specialist. The report itself must therefore be considered the conclusive act of a technical process that has produced numerical results deriving from the analysis of biological materials (biochemical, hematologic, immunological, etc.). In a quality management system, the report is the conclusive and official written act in a diagnostic workup within the context of a clinical pathway taken in order to benefit the patient. Diagnostic cytofluorimetric applications are heterogeneous, covering a wide range of diseases and substrates for analysis: malignant hemopathy, lymphoproliferative disorders, minimal residual disease, and lymphocytic subpopulations are among the</p>

important fields of cytofluorimetric methods; the substrates are also heterogenous, allowing cytometric studies on many cellular compartments, and on different subcellular constituents.

The aim of cytofluorimetric GdS is to make recommendations for drawing up the cytometric report, which is of extreme importance in the diagnostic and therapeutic course of the patient, but is often compromised by the individual approach of the operator.

In medicina di laboratorio il momento del referto oltre a rappresentare un evento essenziale nella validazione clinica di un risultato, assume anche il preciso significato di "giudizio interpretativo" formulato dallo specialista di laboratorio. Deve quindi essere ritenuto l'atto conclusivo di un processo tecnico, che ha prodotto risultati numerici derivanti da analisi (biochimiche, ematologiche, immunologiche ecc.) eseguite su materiali biologici. In un sistema di gestione della qualità il referto costituisce l'atto scritto conclusivo e ufficiale di un iter diagnostico all'interno di un percorso clinico rivolto al beneficio di un paziente.

Le applicazioni diagnostiche citofluorimetriche sono numerose e riguardano un ampio spettro di patologie e di substrati da analizzare: emopatie maligne, malattie linfoproliferative, studio della malattia minima residua, sottopopolazioni linfocitarie sono solo alcuni importanti campi di utilizzo delle metodiche citofluorimetriche.; molteplici sono anche i substrati analizzabili, potendosi effettuare studi su numerosi comparti cellulari e su diversi costituenti subcellulari.

Il GdS Citofluorimetria intende proporre alcune raccomandazioni per la stesura del referto citometrico, che spesso risente troppo della personalizzazione dell'operatore ed è una fase nevralgica nel percorso diagnostico-terapeutico del paziente.

Conflitti di interesse

Gli autori Maria Matilde Ciriello, Giuseppe De Franchis, Paolo Doretto, Elisa Cannizzo, Roberto Caporale, Alessandra Falda, Giorgio Farina, Francesca Ferro, Lorella Lanza, Giulia Scalia, Donatella Tanca, Elena Toniato, Laura Vanelli dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

Il referto citofluorimetrico

Flow cytometric report

Maria Matilde Ciriello • Giuseppe De Franchis • Paolo Doretto • Elisa Cannizzo • Roberto Caporale
• Alessandra Falda • Giorgio Farina • Francesca Ferro • Lorella Lanza • Giulia Scalia • Donatella
Tanca • Elena Toniato • Laura Vanelli

M.M. Ciriello

Azienda Ospedaliera Santi Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria, Italia

G. De Franchis

GdS Citofluorimetria SIPMeL, Padova, Italia

P. Doretto

Azienda Ospedaliera Santa Maria degli Angeli, Pordenone, Italia

E. Cannizzo

Presidio Ospedaliero San Martino ASL 4, Oristano, Italia

R. Caporale

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze, Italia

A. Falda

Azienda Ospedaliera Santa Maria degli Angeli, Pordenone, Italia

G. Farina

Ospedale dell'Angelo, Mestre, Italia

F. Ferro

Ospedale Cardinal Massaia, Asti, Italia

L. Lanza

ASL 2 Savonese, Savona, Italia

G. Scalia

Ceinge, Biotecnologie Avanzate, Napoli, Italia

D. Tanca

ASL 4 Chiavarese, Lavagna (GE) , Italia

E. Toniato

Università degli Studi G. d'Annunzio, Chieti, Italia

L. Vanelli

Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

M.M. Ciriello 

Azienda Ospedaliera Santi Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Via Venezia 16, 15121 Alessandria

Tel. +39 0131 206960

Fax +39 0131 206185

E-mail: mciriello@ospedale.al.it

Riassunto

In Medicina di Laboratorio il momento del referto, oltre a rappresentare un evento essenziale nella validazione clinica di un risultato, assume anche il preciso significato di “giudizio interpretativo” formulato dallo specialista di laboratorio. Deve quindi essere ritenuto l’atto conclusivo di un processo tecnico, che ha prodotto risultati numerici derivanti da analisi (biochimiche, ematologiche, immunologiche ecc.) eseguite su materiali biologici. In un sistema di gestione della qualità il referto costituisce l’atto scritto conclusivo e ufficiale di un iter diagnostico all’interno di un percorso clinico rivolto al beneficio di un paziente.

Le applicazioni diagnostiche citofluorimetriche sono numerose e riguardano un ampio spettro di patologie e di substrati da analizzare: emopatie maligne, malattie linfoproliferative, studio della malattia minima residua, sottopopolazioni linfocitarie sono solo alcuni importanti campi di utilizzo delle metodiche citofluorimetriche; molteplici sono anche i substrati analizzabili, potendosi effettuare studi su numerosi comparti cellulari e su diversi costituenti subcellulari.

Il GdS Citofluorimetria intende proporre alcune raccomandazioni per la stesura del referto citometrico, che spesso risente troppo della personalizzazione dell’operatore ed è una fase nevralgica nel percorso diagnostico-terapeutico del paziente.

Parole chiave Citofluorimetria • Referto • Raccomandazioni

Summary

In Laboratory Medicine, the “*report*” time is a fundamental event in the clinical evaluation of a result, and also signifies “*interpretative judgement*” formulated by a laboratory specialist. The report itself must therefore be considered the conclusive act of a technical process that has produced numerical results deriving from the analysis of biological materials (biochemical, hematologic, immunological, etc.). In a quality management system, the report is the conclusive and official written act in a diagnostic workup within the context of a clinical pathway taken in order to benefit the patient.

Diagnostic cytofluorimetric applications are heterogeneous, covering a wide range of diseases and substrates for analysis: malignant hemopathy, lymphoproliferative disorders, minimal residual disease, and lymphocytic subpopulations are among the important fields of cytofluorimetric methods; the substrates are also heterogeneous, allowing cytometric studies on many cellular compartments, and on different subcellular constituents.

The aim of cytofluorimetric GdS is to make recommendations for drawing up the cytometric report, which is of extreme importance in the diagnostic and therapeutic course of the patient, but is often compromised by the individual approach of the operator.

Key words Flow cytometry • Report • Recommendations

T1 Introduzione

Il referto, in Medicina di Laboratorio, rappresenta il momento della validazione clinica di un risultato e assume il significato di “giudizio interpretativo” formulato dallo specialista di laboratorio. In altre parole rappresenta l’atto conclusivo di un processo tecnico, che ha prodotto risultati numerici derivanti da analisi (biochimiche, ematologiche, immunologiche ecc.) eseguite su materiali biologici. In un sistema di gestione della qualità il referto costituisce l’atto scritto conclusivo e ufficiale di un iter diagnostico all’interno di un percorso clinico rivolto al beneficio di un paziente. La citofluorimetria, disciplina specialistica di Laboratorio, richiede particolari cognizioni specifiche unite a notevoli abilità ed esperienza da parte dell’operatore. Essa è divenuta negli ultimi anni il *gold standard* per la diagnosi di molte emopatie. Per questo motivo l’esigenza di un referto confrontabile nei diversi Laboratori è molto sentita.

Gli ambiti di applicazione delle metodiche citofluorimetriche, che hanno maggiore interesse nella routine clinica dei Laboratori ospedalieri, sono numerosi. Questa tecnica ha un impatto molto elevato nella diagnostica e nel monitoraggio delle leucemie acute perché è in grado di definire l’origine delle cellule, cioè il *lineage* di appartenenza, ed è complementare e di supporto alla morfologia nella definizione diagnostica. Essa, quindi, rappresenta uno strumento formidabile per orientare il clinico nella classificazione delle leucemie mieloidi, mentre la sua rilevanza diagnostica nelle leucemie linfoidi B si basa sul fatto che la classificazione di tali patologie poggia proprio sulla fenotipizzazione citometrica. Nei linfomi non Hodgkin la citofluorimetria è di ausilio all’istologia, che costituisce il *gold standard* per la diagnosi ed è utile per definire sia la linea di appartenenza (B/T/NK), sia la clonalità nelle linfoproliferazioni di origine B. La citofluorimetria risulta altrettanto essenziale per la valutazione della malattia minima residua, soprattutto nei casi in cui alla diagnosi sia stato possibile identificare un fenotipo leucemia associato. Nelle mielodisplasie permette di rilevare anomalie d’espressione di vari antigeni sulle cellule mieloidi ed eritroidi, che possono essere di aiuto al clinico per la diagnosi. Un’ulteriore possibilità è rappresentata dalla capacità di identificare le sottopopolazioni linfocitarie, in percentuale e in numero assoluto, nell’ambito di range di riferimento, utili nella valutazione dei disordini immunologici e delle terapie immunosoppressive. Recentemente la citofluorimetria ha assunto il ruolo di metodica di riferimento per evidenziare presenza di cloni patogenetici di emoglobinuria parossistica notturna.

T1 Letteratura in tema di referto citofluorimetrico

Sono trascorsi vent’anni da quando nel 1995 Hassett e Parker [1] hanno pubblicato i risultati di un sondaggio condotto negli Stati Uniti in più di 170 Laboratori che effettuavano indagini citometriche in casi di leucemia/linfoma. Già allora sono emerse discordanze nella stesura del referto citofluorimetrico di emopatia maligna, che risultava, nella maggior parte dei casi, risentire troppo della soggettività dell’operatore. Nell’appendice della pubblicazione gli autori hanno presentato un modello di refertazione che riassumeva i risultati del sondaggio e lo hanno proposto come punto di partenza di un processo orientato alla ricerca di consenso verso un tipo di refertazione citofluorimetrica ideale, caratterizzata da modulo computerizzato, formato flessibile e personalizzato contenente un giudizio conclusivo conciso e completo.

Rimanendo nel campo delle emopatie maligne, la pubblicazione dei risultati della *Consensus Conference* di Bethesda del 2006 [2], riguardante le raccomandazioni di un ampio gruppo di esperti statunitensi e canadesi sulla tecnica citofluorimetrica di immunofenotipizzazione, contiene nell’ultima parte un preciso riferimento al referto definito in termini di “comunicazione accurata e informativa dei risultati citofluorimetrici al clinico che ha in carico la cura del paziente”. Deve riportare la percentuale di cellule patologiche identificate, con la descrizione dell’intensità di fluorescenza degli anticorpi espressi (bassa, alta, eterogenea, omogenea) e la distribuzione della fluorescenza di ogni anticorpo utile alla definizione della linea d’origine (negativa, positiva, parzialmente espressa). La pratica di riportare in una tabella i valori percentuali di ogni anticorpo

1 monoclonale utilizzato non descrive in modo appropriato la presenza e il fenotipo delle cellule
2 patologiche, pertanto deve essere scoraggiata.

3 La Società Italiana di Citometria, nel tentativo di armonizzare le linee guida esistenti per la stesura
4 del referto citofluorimetrico, ha coinvolto alcuni dei più illustri esperti italiani di citometria clinica,
5 che hanno prodotto un modello di refertazione dedicato alle leucemie acute [3]. Gli autori hanno
6 individuato 13 punti fondamentali per una refertazione efficace, riportati nella **Tabella 1**.

7 Le linee guida per la standardizzazione dell'analisi midollo osseo pubblicate nel 2008 dal gruppo di
8 lavoro dell'ICSH [4] hanno proposto un referto integrato nel quale i risultati delle diverse analisi
9 morfologiche (sangue periferico, aspirato midollare e biopsia ossea) fossero riportate insieme ai
10 risultati delle indagini ancillari (immunofenotipizzazione, citogenetica e biologia molecolare).

11 Tocca invece un altro ambito della citofluorimetria la pubblicazione di Bulian e Buttarello su
12 RIMEL 2004 [5]: la diagnosi delle malattie linfoproliferative B. Riguardo al referto
13 citofluorimetrico hanno raccomandato una formulazione contenente tutti gli elementi essenziali,
14 cioè quelli indicati dalle Società scientifiche nazionali e internazionali, pesati con giudizio critico, al
15 fine di fornire uno strumento utile al clinico che ha in cura il paziente. Secondo gli autori i grafici
16 non devono essere inseriti nel referto, ma devono essere conservati nell'archivio elettronico del
17 Laboratorio che li ha elaborati.

18 Nell'ambito della citofluorimetria applicata ai disordini immunologici HIV-correlati, nel 2003 il
19 CDC [6] ha formulato le linee guida per la conta assoluta dei linfociti CD4 in singola piattaforma,
20 con l'ausilio di microbiglie a numero noto e ha raccomandato la refertazione, per ogni
21 sottopopolazione linfocitaria identificata, della percentuale rispetto ai linfociti totali accanto al
22 numero assoluto per microlitro, completo di valori di riferimento per singola sottopopolazione.

23 La citofluorimetria è ormai riconosciuta come il *gold standard* per l'identificazione dei cloni di
24 emoglobinuria parossistica notturna. Indicazioni sulla stesura di un referto adeguato, nel quale sia
25 riportata la dimensione del clone identificato sulle diverse popolazioni cellulari (granulociti,
26 monociti, eritrociti) espressa in termini di percentuale, con un giudizio interpretativo a corollario di
27 questi dati numerici, sono riportate nel registro clone PNH [7].

28 Sono di recentissima pubblicazione tre lavori scientifici nei quali compaiono riferimenti sul referto
29 citofluorimetrico, segno che il dibattito sul tema non è ancora concluso: il primo dell'ematologa
30 inglese U. Johansson [8], che raccomanda un referto descrittivo, ma dettagliato e preferibilmente
31 integrato con dati morfologici, citochimici e citogenetici; il secondo pubblicato dal gruppo di
32 ematologi clinici dell'AIEOP-BFM [9], il *Flow Network* che comprende professionisti operanti in
33 Laboratori di Australia, Austria, Repubblica Ceca, Germania, Israele, Italia e Svizzera: essi
34 propongono l'inserimento di un *Flow Diagnostic Essential Code* nei referti utilizzati per i *trials*
35 clinici, cioè un codice standardizzato scritto in inglese e condiviso da tutti i centri che identifica
36 ogni singola leucemia acuta del bambino; il terzo scritto pubblicato su Lettere GIC 2/2014 è del
37 prof. Del Vecchio [10], che suggerisce un modello di referto orientato per patologia.

38 **T1 La proposta GdS citofluorimetria**

39 A distanza di quasi vent'anni, nonostante l'interessamento di vari gruppi e Società scientifiche [2-5],
40 la questione non è ancora risolta. Proprio per queste ragioni il GdS citofluorimetria della SIPMeL
41 intende suggerire alcune raccomandazioni per la stesura del referto citometrico, così importante nel
42 percorso diagnostico-terapeutico del paziente.

43 Le applicazioni diagnostiche citofluorimetriche sono numerose e riguardano un ampio spettro di
44 evenienze: quantificazione e identificazione del *lineage* dei blasti in campioni di sangue periferico
45 e/o aspirato midollare nelle emopatie maligne, definizione della clonalità nelle malattie
46 linfoproliferative, studio della malattia minima residua nel follow-up delle leucosi acute e
47 quantificazione delle sottopopolazioni linfocitarie nei disordini immunologici sono solo alcuni
48 importanti campi di utilizzo di questa tecnica.

49 La nostra proposta prevede che il referto sia strutturato in una parte generale che comprenda la
50 tipologia di esame, il metodo utilizzato (es. citometria multiparametrica a 6/8/10 colori), i dati

1 anagrafici del paziente, le coordinate del reparto/medico richiedente, la data di invio del campione e
2 di esecuzione dell'analisi, i codici di registrazione regionali/locali, il quesito clinico, il *timing* di
3 esecuzione dell'indagine (prima richiesta o follow-up), il tipo di campione (sangue periferico,
4 aspirato midollare, sospensione cellulare da linfonodo ecc.). Tali informazioni dovranno essere
5 esplicitate in tutte le tipologie di referto citometrico, dall'immunofenotipo di un'emopatia
6 all'immunofenotipo linfocitario. La parte successiva, che include la descrizione della formula
7 citometrica e della strategia di *gating* adottata, è irrinunciabile nel caso di emopatie maligne, mentre
8 può essere tralasciata nelle tipizzazioni linfocitarie orientate allo studio dei disordini immunologici.
9 Infine la conclusione diagnostica dovrà essere strutturata in modi differenti: in caso di emopatia
10 maligna essa dovrà riportare la descrizione quantitativa e qualitativa (in termini di espressione dei
11 marcatori e di intensità di fluorescenza degli stessi) della popolazione identificata come patologica e
12 la descrizione delle popolazioni cellulari residue, mentre, in caso di disordine immunologico,
13 riporterà in termini quantitativi (percentuale e numero assoluto) i valori relativi a tutti i *subsets*
14 linfocitari (T, B, NK).

15 Il nostro gruppo ritiene inoltre che non debbano essere inserite immagini strumentali che non solo
16 sono inutili per il clinico, ma rappresentano possibili fonti di confusione per chi non ha elevate
17 abilità e competenze nell'interpretazione delle immagini citometriche. Un modello di refertazione
18 citofluorimetrica così redatto potrà risultare congruente con il sistema informatico del Laboratorio e
19 conforme alle prescrizioni legislative di tracciabilità del dato e conservazione dello stesso nel
20 *repository* aziendale [11, 12].

21 In conclusione possiamo prevedere tre diversi modelli di referto a seconda che si tratti di: 1)
22 immunofenotipo di emopatia acuta o cronica, 2) immunofenotipo linfocitario in corso di disordine
23 immunologico, 3) immunofenotipo dell'emoglobinuria parossistica notturna.

24 **T2** Referto immunofenotipo emopatie

25 Le neoplasie ematologiche per le quali proponiamo un modello di refertazione dedicato
26 comprendono le leucemie acute, le sindromi linfoproliferative croniche, le sindromi
27 mielodisplastiche/mieloproliferative e le emopatie plasmacellulari. Questo modello di referto deve
28 contenere le informazioni generali relative al campione, le informazioni operative, i dati citometrici
29 e un giudizio interpretativo.

30 Le informazioni generali riguardano la tipologia di esame, il metodo impiegato, i dati anagrafici del
31 paziente, le coordinate del reparto e/o del medico richiedente, la data di invio del campione e la data
32 di esecuzione dell'analisi, i codici di registrazione regionali/locali, il quesito clinico, il *timing*
33 dell'esame (prima analisi, monitoraggio ecc.) e il tipo di campione (sangue periferico, aspirato
34 midollare, liquor, sospensione cellulare da linfonodo/massa ecc.).

35 Le informazioni che definiamo "operative" attengono ai dati che riguardano la cellularità del
36 campione (espressa in cellule nucleate/ μ l), la lista degli anticorpi monoclonali utilizzati, il
37 riferimento alla qualità del campione, la conta differenziale citometrica delle popolazioni cellulari,
38 il riferimento alla strategia di *gating* impiegata per le diverse popolazioni.

39 Riteniamo che il referto non debba contenere grafici o *dot plot*, che saranno conservati nell'archivio
40 del Laboratorio a disposizione per eventuale consultazione.

41 I dati citometrici sono relativi alla descrizione quantitativa e qualitativa (in termini di
42 positività/negatività del marcatore, intensità di fluorescenza alta/media/bassa, tipo di espressione
43 antigenica omogenea/eterogenea/bimodale) della/e popolazione/i identificata/e come patologica/he.
44 Riteniamo opportuno riportare anche una sintetica descrizione delle popolazioni cellulari residue.

45 Infine il giudizio conclusivo include la quantificazione delle cellule patologiche identificate e la
46 descrizione del fenotipo con chiaro riferimento alla natura delle stesse (*lineage*) inserendo anche le
47 caratteristiche di espressione antigenica, intensità e modalità di estrinsecazione della fluorescenza, il
48 riferimento esplicito alla clonalità della popolazione patologica nei linfomi B, l'evidenziazione di
49 eventuale fenotipo leucemia associato, utile nel monitoraggio della malattia minima residua, nelle

1 leucosi acute e nel mieloma multiplo, l'eventuale suggerimento a ricercare lesioni molecolari, la
2 firma e l'autenticazione digitale del documento.

3
4 **T2** *Referto immunofenotipo disordini immunologici*

5 In caso di disordini che interessino l'immunità cellulare lo studio citofluorimetrico è basato sulla
6 valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie per le quali il referto, oltre a includere le
7 informazioni generali e le informazioni operative già descritte, contiene dati citometrici delle
8 sottopopolazioni linfocitarie studiate, in termini di percentuale e numero assoluto (cellule/ μ l) con
9 indicazione dei relativi valori di riferimento della popolazione sana (maggiori di 18 anni e per fasce
10 di età da 0 a 18 anni). In alcuni casi si valuterà l'opportunità di includere un giudizio conclusivo,
11 che riteniamo facoltativo.
12
13

14
15 **T2** *Referto immunofenotipo emoglobinuria parossistica notturna (EPN)*

16 In caso di sospetta emoglobinuria parossistica notturna è ormai assodato che la citofluorimetria
17 rappresenta il *gold standard* per la diagnosi. Il modello di refertazione deve esplicitare, oltre ai dati
18 generali, i dati operativi contenenti il numero di eventi acquisiti per ogni popolazione cellulare
19 (sensibilità dell'analisi) e i dati citometrici percentuali delle popolazioni EPN con normale
20 espressione del marcatore o con espressione negativa/difettiva, identificata su granulociti, monociti
21 ed eritrociti. Il giudizio conclusivo è indicativo di presenza/assenza di cloni EPN e può contenere
22 suggerimenti per il monitoraggio di pazienti affetti da aplasia midollare, mielodisplasia ecc.
23
24

25
26 **T1 Conclusioni**

27 Queste raccomandazioni, frutto dell'armonizzazione delle conoscenze della letteratura con le
28 competenze del GdS citofluorimetria che sottendono un bagaglio di esperienza più che ventennale,
29 vogliono essere una traccia e un modello da seguire *in toto* o in parte a seconda delle realtà
30 informatiche locali, indirizzati alla stesura di un referto citofluorimetrico riproducibile e
31 comprensibile, che espliciti tutte le informazioni in modo esaustivo e soprattutto contenga dati
32 citometrici chiari e confrontabili e un giudizio conclusivo descrittivo completo, eventualmente
33 integrato con dati morfologici ove disponibili.
34
35
36
37
38
39

40 **Conflitti di interesse** Nessuno
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Bibliografia

1. Hasset J, Parker J (1995) Laboratory Practices in Reporting Flow Cytometry Phenotyping Results for Leukaemia/Lymphoma Specimens: Results of a Survey. *Cytometry* 22:264-281
2. Wood BL, Arroz M, Barnett D et al (2007) 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry: Optimal Reagents and Reporting for the Flow Cytometric Diagnosis of Hematopoietic Neoplasia. *Cytometry Part B* 72B:S14-22
3. Del Vecchio L, Brando B, Lanza F et al (2004) Recommended reporting format for flow cytometry diagnosis of acute leukemia. *Haematologica* 89:594-598
4. Lee SH, Erber WN, Porwit A et al (2008) ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol* 30:349-364
5. Bulian P, Buttarello M (2004) Le tipizzazioni linfocitarie: osservazioni sulla scelta degli antigeni e sulle caratteristiche del referto nelle malattie linfoproliferative B. *Riv Ital Med Lab* 2:102-105
6. Mandy FF, Nicholson JKA, McDougal JS (2003) Guidelines for Performing Single-Platform Absolute CD4+ T-Cell Determinations with CD45 Gating for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. *MMWR Recomm Rep* 52:1-13
7. Cannizzo E. www.clonepnh.com (Accesso 23 novembre 2015)
8. Johansson U, Bloxham D, Couzens S et al (2014) Guidelines on the use of multicolor flow cytometry in the diagnosis of haematological neoplasms. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol* 165:455-488
9. Hrušák O, Basso G, Ratei R et al (2014) Flow diagnostics essential code: a simple and brief format for the summary of leukemia phenotyping. *Cytometry B Clin Cytom* 86:288-291
10. Del Vecchio L (2014) Modelli di refertazione in citometria ematologica, orientati per patologia. *Lettere GIC* 2:7-12
11. Dlgs. 7 marzo 2005, n. 82: Codice dell'Amministrazione digitale. www.digita-lex.it (Accesso 23 novembre 2015)
12. DPCM 30 marzo 2009 n. 2. Regole tecniche in materia di generazione, apposizione e verifica delle firme digitali e validazione temporale dei documenti informatici. www.digita-lex.it (Accesso 23 novembre 2015)

Tab 1: Elenco delle 13 raccomandazioni che comprendono tutti gli aspetti del report citofluorimetrico di una leucemia acuta (L. Del Vecchio: Haematologica 2004)

1	Dati demografici
2	Ospedale o Divisione committente
3	Tipo di campione (aspirato midollare, sangue periferico, altri fluidi biologici)
4	Prima osservazione o follow up
5	Ipotesi diagnostica
6	Elenco degli antigeni e tipo di analisi effettuata (immunofluorescenza a tre-quattro-colori)
7	Numero assoluto di cellule del campione
8	Qualità del campione (vitalità, stato di conservazione)
9	Descrizione generale delle procedure di gating
10	Immunofenotipo dei blasti
11	Descrizione delle cellule residue
12	Conclusioni diagnostiche
13	Definizione degli antigeni utili allo studio della malattia minima residua