

Allegato Tecnico

“Contenuti del Referto di Medicina di Laboratorio”

Indice

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | INTRODUZIONE | 3 |
| 2 | REFERTO PARTE GENERALE | 4 |
| 2.1 | INTESTAZIONE E PIÙ DI PAGINA DEL REFERTO | 4 |
| 2.2 | CORPO DEL REFERTO | 5 |
| 2.2.1 | Descrizione dell'analisi | 5 |
| 2.2.2 | Modalità di rappresentazione dei risultati quantitativi | 6 |
| 2.2.3 | Unità di misura | 6 |
| 2.2.4 | Intervalli di Riferimento (IR) | 6 |
| 2.2.5 | Valori decisionali | 8 |
| 2.2.6 | Identificazione dei risultati patologici (al di fuori dell'intervallo di riferimento) | 9 |
| 2.2.7 | Metodo analitico | 10 |
| 2.3 | MODALITÀ DI RAGGRUPPAMENTO DEGLI ESAMI NEL REFERTO | 11 |
| 2.3.1 | Patologia Clinica | 11 |
| 2.3.1.1 | Biochimica Clinica e Tossicologia | 11 |
| 2.3.1.2 | Ematologia | 11 |
| 2.3.1.3 | Coagulazione | 12 |
| 2.3.2 | Microbiologia e Virologia | 12 |
| 2.3.2.1 | Batteriologia | 12 |
| 2.3.2.2 | Virologia | 12 |
| 2.3.2.3 | Micologia | 12 |
| 2.3.2.4 | Parassitologia | 12 |
| 2.4 | GESTIONE COMMENTI QUALITATIVI ED INTERPRETATIVI | 13 |
| 3 | REFERTO PARTE SPECIFICA: BIOCHIMICA CLINICA | 14 |
| 3.1 | BIOCHIMICA CLINICA PARTE GENERALE | 14 |
| 3.1.1 | Denominazione analisi | 14 |
| 3.1.2 | Unità di misura | 14 |
| 3.2 | ESAME CHIMICO FISICO E MORFOLOGICO DELLE URINE (ECMU) | 16 |
| 3.2.1 | Contenuti del referto ECMU | 16 |
| 3.2.1.1 | Esame chimico fisico delle urine: parametri da refertare | 16 |
| 3.2.1.4 | Parametri del “sedimento urinario” valutazione morfologica degli elementi corpuscolati | 18 |
| 3.2.1.5 | Unità di misura e intervalli di riferimento | 18 |
| 3.2.6 | Commenti | 19 |
| 3.3 | AUTOIMMUNITÀ | 20 |
| 3.3.1 | Referto test ANA parametri essenziali | 20 |
| 3.3.1.1 | Il commento interpretativo () | 22 |
| 3.3.3 | Referto test Antigeni Nucleari Estraiibili (ENA) | 22 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.4 | SEMINOLOGIA | 23 |
| 3.4.1 | <i>Referto spermioγραμμα: parametri ed informazioni essenziali</i> | 23 |
| 3.4.1.1 | Valutazione Macroscopica..... | 24 |
| 3.4.1.2 | Valutazione Microscopica | 24 |
| 3.4.1.2 | Valutazione Componente Cellulare non Nemaspermica..... | 25 |
| 3.5 | ELETTROFORESI SIEROPROTEINE () | 27 |
| 4 | REFERTO PARTE SPECIFICA: EMATOLOGIA | 28 |
| 4.1 | ESAME EMOCROMOCITOMETRICO | 28 |
| 4.2 | ESAME DEL MIDOLLO OSSEO PER APPOSIZIONE E/O STRISCIO: MIELOGRAMMA | 31 |
| 4.3 | CITOFUORIMETRIA | 32 |
| 4.3.1 | <i>Referto Sottopopolazioni Linfocitarie</i> | 32 |
| 4.3.2 | <i>Referto Caratterizzazione Immunofenotipica delle Popolazioni Cellulari</i> | 32 |
| 4.3.3 | <i>Referto Analisi Citofluorimetrica di Eventi Rari (Emoglobinuria parossistica notturna, Malattia Residua Misurabile, Emorragia Feto-Materna)</i> | 33 |
| 5 | REFERTO PARTE SPECIFICA: COAGULAZIONE | 36 |
| 5.1 | TEMPO DI PROTROMBINA (PT) | 36 |
| 5.2 | TEMPO DI TROMBOPLASTINA PARZIALE ATTIVATO (APTT) | 36 |
| 5.3 | IL TEMPO DI TROMBINA (TT) | 37 |
| 5.4 | FIBRINOGENO | 37 |
| 5.5 | D-DIMERO | 38 |
| 6 | REFERTO PARTE SPECIFICA: MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA | 39 |
| 6.1 | CONCETTI GENERALI PER LA NOMENCLATURA DEI PATOGENI | 39 |
| 6.2 | SIEROIMMUNOLOGIA INFETTIVA | 39 |
| 6.2.1 | <i>Esami sieroimmunologia infettiva con risultati qualitativi</i> | 40 |
| 6.2.2 | <i>Esami sieroimmunologia infettiva con risultati quantitativi</i> | 40 |
| 6.3 | INDAGINI COLTURALI PER BATTERI E LIEVITI | 40 |
| 6.4 | ANTIBIOGRAMMA E ANTIMICOGRAMMA | 41 |
| 6.5 | DIAGNOSTICA MOLECOLARE | 41 |
| 6.5.1 | <i>Esami molecolari con risultati qualitativi</i> | 42 |
| 6.5.2 | <i>Esami molecolari con risultati quantitativi</i> | 42 |
| 6.5.3 | GENOTIPIZZAZIONE | 43 |
| 7. | BIBLIOGRAFIA | 44 |

1 INTRODUZIONE

Il referto costituisce il prodotto finale dell'attività del Laboratorio Clinico. Tutta la complessa serie di processi che iniziano dal prelievo del campione e passano attraverso le varie fasi della sua analisi, convergono poi in un rapporto che non deve limitarsi a contenere numeri o dati, ma deve aggiungere tutte le indicazioni utili e necessarie alla loro corretta interpretazione, trasformando un semplice rapporto di analisi in un referto con una valenza clinica.

La preparazione di un referto di questo tipo rappresenta una sfida piuttosto complessa, data anche la grande varietà di tipologie di analisi che caratterizza la moderna Medicina di Laboratorio. Il referto è inoltre una realtà che, fatti salvi alcuni aspetti strutturali formali, deve evolvere in base allo sviluppo delle conoscenze scientifiche e delle tecnologie analitiche.

Per cercare di rappresentare al meglio le varie sfaccettature e caratteristiche peculiari del referto, il presente documento è suddiviso in vari capitoli: una parte generale, comune a tutte le sotto-branche di laboratorio che riguarda soprattutto alcuni aspetti formali e strutturali, ed una serie di parti dedicate alle diverse branche del Laboratorio Clinico.

Il presente documento fornisce una serie di indicazioni volte a raggiungere i seguenti scopi:

- attribuire il referto in modo univoco e chiaro ad un dato paziente;
- identificare in modo esplicito il laboratorio che ha emesso il referto, definendo pertanto quali sono le informazioni minime necessarie che deve contenere, così da permettere, in caso di necessità, l'interazione tra laboratorio, medico prescrittore e paziente;
- fornire a chi legge (sia medico che paziente) il referto tutte le informazioni necessarie in modo chiaro e scientificamente corretto;
- armonizzare la struttura del referto in modo che referti provenienti da Laboratori differenti siano facilmente confrontabili.

Parte integrante di questo documento sono i seguenti Sub Allegati:

- **Sub Allegato 1** “Tabella di conversione delle Unità di Misura, modalità e tempistica di adeguamento”;
- **Sub Allegato 2** “Fac-simile di documento da distribuire da parte del Laboratorio di Patologia Clinica o Clinici Generali o di Base ai Clinici, ai Medici di Medicina Generale e ai Pediatri di Libera Scelta afferenti al proprio bacino di utenza”;
- **Sub Allegato 3** “Elenco non esaustivo degli Intervalli di Riferimento e/o soglie decisionali”.

Questo documento non diminuisce la responsabilità di ciascun Direttore/Responsabile di Laboratorio Clinico o suo delegato per quanto attiene la gestione, la redazione e la firma del referto.

2 REFERTO PARTE GENERALE

2.1 Intestazione e piè di pagina del Referto

In merito ai contenuti dell'intestazione e del piè di pagina si fa riferimento a quanto previsto dalla normativa nazionale vigente (Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri 29 settembre 2015, n. 178; Decreto del Ministero della Salute del 18 maggio 2022 e s.m.i e il Decreto del Ministro della Salute 07/09/2023 e s.m.i.), alla DGR n. XI/7044/2022 e s.m.i., e infine a quanto previsto dalla Standard Internazionale ISO 15189 "Medical laboratories – Requirements for Quality and competence".

Di seguito sono elencati i contenuti essenziali del formato PDF del referto. Tra parentesi quadre sono indicate le specifiche previste dalle norme nazionali per il referto strutturato che nel formato PDF potrebbero essere omesse. Nello specifico:

- Informazioni relative alla Struttura Sanitaria che eroga la prestazione:
 - Denominazione e Logo della Ente/Struttura Sanitaria di afferenza del Laboratorio Clinico (es. se parte di una Struttura Sanitaria di Ricovero e Cura ecc.);
 - Denominazione dell'eventuale Dipartimento in cui il Laboratorio è collocato e denominazione del Laboratorio;
 - Nome del Direttore (Responsabile) del Laboratorio, numero/i di telefono, indirizzo e-mail, indirizzo dell'Ente/Struttura Sanitaria in cui il Laboratorio opera, eventuale sito web ed altri possibili identificativi (Codice fiscale / partita IVA) (quest'ultimi, possono essere indicati come piè pagina);
- Informazioni relative al paziente/assistito:
 - Nome e Cognome;
 - Data di nascita;
 - Sesso;
 - Codice fiscale;
 - Indirizzo di domicilio/residenza completo [codice Comune, Regione];

- [Numero di tessera sanitaria];
- [Recapiti telefonici ed e- mail ecc.];
- Informazioni relative al medico prescrittore:
 - Unità Clinica / ambulatorio di provenienza del prelievo;
 - [Medico richiedente: cognome, nome, codice fiscale, telefono ed e-mail ecc.];
- Informazioni relative al prelievo:
 - Data [e ora] del prelievo;
 - Data e ora accettazione in Laboratorio;
- Informazioni relative al referto:
 - Codice identificativo univoco (eventualmente anche sotto forma di barcode o QR-code);
 - Data [e ora] del referto;
 - Stato di revisione del referto (prima emissione o correzione);
 - [Tipologia routine/urgenza della richiesta].

Tutte le pagine devono riportare il numero di pagina ed il numero totale di pagine (pagina x di n).

Deve essere presente una nota finale con legenda delle abbreviazioni utilizzate (vedi indicazioni sulle modalità di descrizione degli esami).

Il referto deve sempre contenere la firma digitale o autografa del Direttore/Responsabile o di un suo delegato del Laboratorio che lo ha prodotto.

2.2 Corpo del Referto

2.2.1 Descrizione dell'analisi

I termini riportati sul referto devono esprimere, in maniera chiara e sintetica, scientificamente corretta e comprensibile all'utenza, la "proprietà" misurata o osservata (es. concentrazione di glucosio o presenza del microorganismo ecc.) oggetto dell'analisi, il materiale su cui l'analisi è stata effettuata ed eventuali condizioni accessorie utili per la comprensione del risultato.

Le modalità per esprimere in modo logico, standardizzato/armonizzato, chiaro e non ambiguo questi concetti sono state sviluppate dalla *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) in un sistema detto NPU (Nomenclature, Properties and Units) ^(1,2). Questo sistema prevede che la denominazione dell'analisi sia composta da 3 elementi:

- 1) Sistema: materiale su cui è eseguita l'analisi, in genere abbreviato tramite un prefisso (vedi Tabella 1);
- 2) Componente (misurando): elemento oggetto dell'analisi;
- 3) Tipo di proprietà del misurando: concentrazione, numero, attività catalitica, ecc.

Il terzo elemento, fondamentale dal punto di vista concettuale (ad esempio, noi non misuriamo il glucosio, ma la sua concentrazione) risulta complicato da riportare in modo comprensibile in un referto ed, inoltre, è implicito nell'unità di misura (mmol/L o mg/dL nel caso del glucosio) e quindi la presente raccomandazione non ne prevede l'utilizzo.

Tabella. 1 Elenco non esaustivo dei prefissi da utilizzare per la descrizione del materiale.

| Abbreviazione | Descrizione |
|---------------|---|
| P | Plasma |
| S | Siero |
| Sg | Sangue intero (NB. Se il dispositivo di misura utilizza sangue intero come campione, ma dispone di un sistema interno per la separazione del plasma ed i risultati sono relativi alla concentrazione plasmatica della sostanza il prefisso da utilizzare è P) |
| U | Urina |
| dU | Urina delle 24 ore |
| F | Feci |
| Lcr | Liquido cefalorachidiano |
| Esp | Espettorato |
| Amf | Liquido amniotico |
| Erit | Globuli rossi - eritrociti |
| Leuc | Globuli bianchi - leucociti |
| Lasc | Liquido ascitico – peritoneale |
| Lpl | Liquido pleurico |
| Lsin | Liquido sinoviale |

Per microbiologia e virologia, data la complessità dei materiali, l'argomento sarà trattato nel capitolo dedicato.

2.2.2 Modalità di rappresentazione dei risultati quantitativi

Nel caso di risultati numerici il separatore decimale raccomandato è la virgola. Il numero di cifre dopo la virgola deve essere correlato al livello di precisione e sensibilità del metodo.

2.2.3 Unità di misura

L'unità di misura deve sempre seguire il valore numerico del risultato, dettagli relativi alle unità di misura saranno sviluppati nell'ambito dei capitoli dedicati alle singole branche.

2.2.4 Intervalli di Riferimento (IR) ⁽³⁾

Gli intervalli di riferimento devono sempre accompagnare i risultati numerici, non sono necessari in caso di risultati qualitativi, dove però può essere utile una nota interpretativa.

Quando in letteratura sono disponibili intervalli di riferimento affidabili ovvero ottenuti con un metodo con caratteristiche analoghe o identiche a quello in uso, su una popolazione simile a quella afferente al laboratorio, è raccomandato l'utilizzo di questi intervalli ⁽⁴⁾. In tutti gli altri casi si raccomanda l'impiego degli intervalli di riferimento indicati dal produttore del reattivo, a meno che non siano disponibili dati prodotti dal Laboratorio stesso che ne giustifichino eventuali modifiche.

Intervalli di riferimento separati per sesso sono necessari almeno per la seguente tipologia di analisi:

- Fosfatasi alcalina (ALP);
- Alanina aminotransferasi (ALT);
- Creatina chinasi (CK);
- Gamma-glutamyl transferasi (GGT);
- Creatinina;
- IgM;
- Emocromo: eritrociti, emoglobina, ematocrito;
- Ferro;
- Ferritina;
- Transferrina;
- Urato;
- Ormoni sessuali.

Intervalli di riferimento pediatrici sono necessari almeno per i seguenti analiti ⁽⁵⁾:

- Amilasi;
- Fosfatasi alcalina (ALP);
- Lattico deidrogenasi (LDH);
- Creatinina;
- Fosfato inorganico;
- Emocromo: leucociti, eritrociti, emoglobina, ematocrito, elementi della formula leucocitaria (neutrofili, linfociti, monociti);
- Urato;
- Insulin like growth factor 1 (IGF1).

Nell'ambito dei singoli paragrafi saranno, quando possibile, indicati gli Intervalli di Riferimento.

Nel Sub Allegato 3 è riportata una raccolta di intervalli di riferimento suggeriti, sia per soggetti adulti che in età pediatrica.

2.2.5 Valori decisionali

Nel caso in cui siano definiti formalmente i valori decisionali, si raccomanda di riportare questi ultimi e non gli intervalli di riferimento. Nel referto deve essere sempre chiaramente indicato che si tratta di valori decisionali.

I valori decisionali oggi internazionalmente riconosciuti sono riportati nelle Tabelle 2, 3, 4.

Tabella 2. Valori decisionali (desiderabili) per lipidi e relativo commento da inserire nel referto secondo le linee guida europee ⁽⁶⁾

| Analita | Valori decisionali (desiderabili) | | |
|---|-----------------------------------|---------------------------|-------|
| | mmol/L | mg/dL | g/L |
| Colesterolo Totale | ≤5,00 | ≤190 | |
| Colesterolo LDL | ≤3,00 | ≤115 | |
| Colesterolo non-HDL | ≤3,80 | ≤145 | |
| Colesterolo HDL | ≥1,00 maschi ≥1,20 femmine | ≥40 maschi ≥45 femmine | |
| Trigliceridi | ≤1,70 | ≤150 | |
| Apolipoproteina A-I | | ≥125 | ≥1,25 |
| Apolipoproteina B | | ≤100 | ≤1,00 |
| I valori desiderabili riportati si riferiscono a soggetti a rischio Cardio-Vascolare basso/moderato. Per i soggetti a rischio alto o molto alto i valori desiderabili possono essere inferiori | | | |

Tabella 3. Emoglobina glicata ⁽⁷⁾

| Soglie decisionali | Indicazioni / Significato Clinico |
|------------------------|--|
| <40 mmol/mol | nessun problema di controllo glicemico |
| 40–47 mmol/mol | zona grigia, pre-diabete |
| >47 mmol/mol | diabete |
| <53 mmol/mol | traguardo terapeutico |

Tabella 4. Glucosio ⁽⁷⁾

| Soglie decisionali | Condizione clinica sospetta |
|--|--|
| A digiuno | |
| <5.6 mmol/L (<100 mg/dL) | nessun problema di controllo glicemico |
| 5.6 – 6.9 mmol/L (100-125 mg/dL) | zona grigia, pre-diabete |
| ≥7.0 mmol/L (≥126 mg/dL) | diabete |
| Dopo 2 ore dal carico di 75 g di glucosio | |
| <7.8 mmol/L (<140 mg/dL) | nessun problema di controllo glicemico |
| 7.8 – 11.0 mmol/L (140 – 199 mg/dL) | pre-diabete |
| ≥11.1 mmol/L (≥200 mg/dL) | diabete |

2.2.6 Identificazione dei risultati patologici (al di fuori dell'intervallo di riferimento)

L'identificazione dei risultati patologici nel referto è un argomento controverso, sul quale ci sono opinioni differenti, infatti, non necessariamente un risultato al di fuori dell'intervallo di riferimento è da considerare patologico, così come, al contrario, anche un risultato entro l'intervallo di riferimento potrebbe già essere indicativo di patologia. Tuttavia, si ritiene che il livello di rischio di non notare un risultato altamente patologico da parte del clinico, con conseguente mancato o ritardato intervento sul paziente, sia superiore a quello di creare un ingiustificato allarmismo del paziente per risultati appena al di fuori dell'intervallo di riferimento. Pertanto, è necessario evidenziare adeguatamente i risultati al di fuori dell'intervallo di riferimento, ad esempio con un asterisco o altre forme di evidenziazione grafica.

2.2.7 Metodo analitico

La Tabella 5 riporta l'elenco dei metodi analitici più comunemente utilizzati nei Laboratori Clinici.

Tabella 5. Elenco non esaustivo dei principali metodi analitici utilizzati

| |
|--------------------------------|
| Agglutinazione al lattice |
| Calcolo |
| Citometria a flusso |
| CLIA |
| CMIA |
| Coltura |
| Conduttimetria |
| Conteggio particelle |
| Cromatografia a scambio ionico |
| Cromatografia di affinità |
| ECLIA |
| Elettroforesi capillare |
| Elettroforesi su agarosio |
| ELISA |
| Emoagglutinazione |
| FIA |
| Fissazione del complemento |
| Gas cromatografia |
| HPLC |
| Ibridazione in situ |
| Immunoblotting |
| Immunocromatografia |
| Immunodiffusione radiale |
| Immunofissazione |
| Immunonefelometria |
| Immunoturbidimetria |
| Inibizione emoagglutinazione |
| IRMA |
| MEIA |
| Microscopia |
| Microscopia in fluorescenza |
| Nefelometria |
| Ossimetria |
| PCR |
| Potenziometria |
| Refrattometria |
| RIA |
| RT-PCR |
| Sequenziamento |
| Spettrofotometria |
| Turbidimetria |
| Viscosimetria |
| Westergren |

2.3 Modalità di raggruppamento degli esami nel referto

Non esiste una modalità valida in assoluto per indicare la sequenza con cui riportare gli esami nel referto, infatti in base alla tipologia della richiesta, mirata per patologia o quesito clinico piuttosto che per screening ad ampio spettro, potrebbe essere utile raggruppare gli esami in modo differente. Per omogeneità di lettura di referti provenienti da centri differenti, e data la modalità con cui sono state definite le tipologie di laboratori, si ritiene utile suggerire la seguente organizzazione.

2.3.1 Patologia Clinica

2.3.1.1 Biochimica Clinica e Tossicologia

- a) Metaboliti
- b) Elettroliti
- c) Metalli
- d) Enzimi
- e) Proteine
- f) Lipidi
- g) Biomarcatori Ormonali
- h) Vitamine
- i) Biomarcatori Cardiaci
- j) Biomarcatori Metabolismo osseo
- k) Biomarcatori Tumoriali
- l) Biomarcatori Altri
- m) Urine
- n) Tossicologia
- o) Farmaci
- p) Droghe d'abuso
- q) Allergologia
- r) Autoimmunità
- s) Seminologia

2.3.1.2 Ematologia

- a) Emocromo, Formula Leucocitaria e Conteggio Reticolocitario
- b) Emoglobine patologiche
- c) Emomiелограмма

- d) Citofluorimetria
- e) Diagnostica molecolare e/o citogenetica

2.3.1.3 Coagulazione

- a) Esami di screening o di I livello
- b) Trombofilia
- c) Diatesi emorragica
- d) Farmaci anticoagulanti

2.3.2 Microbiologia e Virologia

2.3.2.1 Batteriologia

- a) Esami colturali
- b) Ricerca antigeni
- c) Esami molecolari
- d) Esami sierologici

2.3.2.2 Virologia

- a) Esami colturali
- b) Ricerca antigeni
- c) Esami molecolari
- d) Esami sierologici

2.3.2.3 Micologia

- a) Esami colturali
- b) Ricerca antigeni
- c) Esami molecolari
- d) Esami sierologici

2.3.2.4 Parassitologia

- a) Esami colturali
- b) Microscopia
- c) Ricerca antigeni
- d) Esami molecolari
- e) Esami sierologici

2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi

Si raccomanda che la maggior parte dei commenti siano codificati, in modo da fornire messaggi armonizzati e riproducibili.

La messaggistica deve essere finalizzata a fornire informazioni aggiuntive, non a ribadire informazioni già chiaramente presenti nei dati (risultati qualitativi e/o quantitativi).

Si raccomanda di utilizzare le indicazioni in merito fornite dalle Società Scientifiche, ad es. per l'ematologia, esame urine, autoimmunità vedi voci bibliografiche (^{8,9,10}).

I commenti devono essere espressi in modo chiaro, con linguaggio semplice e corretto, dal punto di vista scientifico, evitando dizioni gergali o commenti non utili al processo decisionale clinico.

In generale è opportuno, che almeno per i commenti più frequentemente utilizzati, sia disponibile un elenco di commenti codificati condivisi dall'equipe di laboratorio e se possibile condivisi anche con i clinici del bacino di afferenza del laboratorio. L'elenco dei commenti deve essere mantenuto aggiornato e devono essere condivisi i criteri di utilizzo nel referto.

In Tabella 6 è riportato un elenco non esaustivo di commenti al referto di norma privi di utilità clinica, che si suggerisce di non utilizzare.

Tabella 6. Elenco non esaustivo di esempi di note/commenti utilizzati nella pratica routinaria che associati ai risultati quantitativi e/o qualitativi di norma sono privi di significato clinico e/o confondenti per l'utilizzatore finale (medico, paziente/assistito)

| |
|--|
| campione ripetuto |
| campione emolizzato, moderata (o elevata o trascurabile) sovrastima del valore |
| revisione microscopica eseguita / approfondimento microscopico eseguito |
| linfocitosi, anemia, piastrinopenia ecc. |
| presenza di micro-coaguli |
| campione eseguito a caldo o campione riscaldato |
| campione scarso |
| valori alterati a causa di presenza di coagulo |

3 REFERTO PARTE SPECIFICA: BIOCHIMICA CLINICA

3.1 Biochimica Clinica parte generale

3.1.1 Denominazione analisi

Nella denominazione delle analisi nel referto non utilizzare mai solo gli acronimi o abbreviazioni, impiegare sempre il nome per esteso dell'analita, eventualmente seguito dalla sigla (ad es. "Alanina aminotransferasi (ALT)").

Si suggerisce di fare riferimento al "Nome ufficiale" indicato al sito <https://www.labtestsonline.it/>.

3.1.2 Unità di misura

Nel 1967 fu pubblicata dalla IFCC la raccomandazione: "Grandezze e Unità in Chimica Clinica" con le indicazioni sulla modalità di adozione delle unità del Sistema Internazionale (SI) nell'esprimere i risultati delle misurazioni di Laboratorio (¹¹). Queste le raccomandazioni:

- solo il litro dovrebbe essere usato come denominatore in unità di concentrazione che coinvolgono un volume di soluzione;
- dovrebbero essere utilizzati di preferenza multipli interi di unità come potenze di dieci (millimole = 10^{-3} moli, micromole = 10^{-6} moli, ecc.);
- la mole dovrebbe essere utilizzata quando possibile per esprimere la quantità di sostanza nei risultati del Laboratorio Clinico;
- l'uso della mole è da preferire "quando possibile". In molti casi, il peso molecolare o l'omogeneità dell'analita misurato non sono sufficientemente noti, e, pertanto, devono essere ancora utilizzate le unità gravimetriche invece delle unità molari.

Il sistema SI comprende quindi due diversi tipi di unità di concentrazione: concentrazione di massa (g/L, mg/L, µg/L, ecc.) e la quantità di sostanza ("molare") concentrazione (mol/L, mmol/L, µmol/L, ecc.).

Per le sostanze dalla composizione chimica definita (ione, atomo, molecola) è consigliabile utilizzare la quantità di concentrazione della sostanza.

- la concentrazione equivalente (mEq/L), comunemente usata per riportare i risultati delle misure di elettroliti, non fa parte del sistema SI e deve essere sostituita dalla concentrazione molare (mmol/L), per gli ioni monovalenti il valore numerico non cambierà;
- la concentrazione di massa è raccomandata per tutte le misurazioni di proteine e di altre sostanze che non hanno una composizione sufficientemente ben definita. L'unità di misura della concentrazione di massa va espressa in termini di litro (ad es. g/L, mg/L, ecc.).

Il razionale dell'approccio all'uso delle unità SI era quello di fornire rapporti quantitativi più chiari tra le specie molecolari e la possibilità di perseguire una standardizzazione delle basi di dati.

Questi i principali argomenti portati a favore ⁽¹²⁾:

- la maggior parte dei metodi di analisi (spettroscopici, fluorimetrici, immunologici ecc.) sono basati sulla misura della quantità di molecole e non sulla loro massa;
- la concentrazione di uno standard di calibrazione viene determinata in modo univoco, non influenzata dallo stato chimico del materiale utilizzato;
- le relazioni fisiologiche tra sostanze comunemente si verificano su base molare. L'uso di unità molari può aiutare quindi a comprendere più facilmente i meccanismi molecolari dei processi patologici: quando gli analiti sono espressi in unità di concentrazione di massa, per esempio mg, la quantità relativa della sostanza non è immediatamente evidente.

L'analisi del contesto, dei Laboratori Clinici Lombardi, relativa alle unità di misura utilizzate per alcuni analiti chiave, ha però dimostrato che le raccomandazioni pubblicate dalla IFCC, di oltre 55 anni fa, sono state adottate solo in piccola parte ed in particolare l'utilizzo delle moli non è entrato nell'uso comune. Pertanto, quest'ultimo passaggio, seppur auspicabile, non è al momento perseguibile, mentre alcuni degli altri punti elencati possono essere applicati, senza provocare alcuna modifica ai valori numerici presenti nei referti. Ad esempio:

- eliminare i mEq/L per sodio e potassio;
- eliminare il mL come unità di volume (ng/mL diventano µg/L ecc.);

Un ulteriore livello di armonizzazione dei contenuti del referto richiede l'informazione e formazione preliminare dei clinici. Ad esempio: l'eliminazione per le proteine delle unità di misura g/dL e mg/dL (valori che aumentano di 10 volte per la trasformazione da g/dL a g/L e da mg/dL a mg/L o si riducono di 100 volte passando da mg/dL a g/L).

Per gli adeguamenti obbligatori dei contenuti sui risultati quantitativi (valori numerici) e relative tempistiche, si fa riferimento a quanto specificato nel Sub Allegato 1.

Nel Sub Allegato 2 è disponibile un facsimile di nota informativa da inviare ai Clinici, ai Medici di Medicina Generale (MMG) e ai Pediatri di Libera Scelta (PLS) del bacino di utenza del Laboratorio Clinico per informare delle modifiche al referto.

3.2 Esame chimico fisico e morfologico delle urine (ECMU)

Il referto dell'esame chimico fisico e morfologico delle urine (ECMU) si espleta generalmente attraverso un profilo che comprende rispettivamente l'esame chimico-fisico e l'analisi morfologica degli elementi corpuscolati.

Da oltre quarant'anni il referto dell'esame chimico e fisico delle urine è stato incentrato sul profilo dei parametri disponibili nelle strisce reattive (*dipstick*) commerciali comunemente utilizzate per l'esecuzione dell'analisi. Tuttavia, l'attuale evoluzione circa il ruolo dell'ECMU, nel riconoscimento ed inquadramento delle patologie dell'apparato urinario, suggerisce di limitare l'esposizione sul referto dei soli parametri di reale utilità clinica ⁽¹³⁾.

Per questa analisi, il referto dovrebbe riportare, ove possibile:

- l'orario di raccolta e di accettazione del campione, al fine di verificarne l'idoneità a causa della limitata stabilità della maggior parte degli elementi corpuscolati delle urine (max 4 ore);
- il tipo di campione raccolto (primo campione del mattino da mitto intermedio, secondo campione del mattino da mitto intermedio, primo mitto, urina da sacchetto, urina da catetere ecc.);
- il sistema di analisi utilizzato (non la strumentazione) per l'analisi del campione, in tutte le sue parti (es. citofluorimetria, microscopia ottica, ecc.).

3.2.1 Contenuti del referto ECMU

3.2.1.1 Esame chimico fisico delle urine: parametri da refertare

Nella Tabella 7 sono elencati i parametri comunemente forniti dalla strumentazione (o nelle strisce reattive-*dipstick*), per ciascun parametro è specificato se deve essere o meno riportato nel referto e le relative indicazioni operative.

Tabella 7. Parametri dell'esame chimico fisico delle urine

| Parametro (misurando) | Indicazioni | Riportare nel referto |
|--|--|--|
| pH | Il pH non ha particolare valenza clinica se non in casi specifici (calcolosi), tuttavia è rilevante per l'interpretazione dei dati del sedimento (cristalli, eventuale discrepanza fra esame chimico e microscopico - a pH alcalino le cellule sono più fragili -, valutazioni sull'idoneità del campione). | SI |
| Densità relativa <i>(non peso specifico)</i> | La densità relativa può essere sostituita dal parametro conduttività o creatinina urinaria; | SI |
| Emoglobina <i>(non sangue)</i> | L'emoglobina deve essere riportata in valore numerico espresso in mg/L, evitare di esprimerla come + o con termini generici (tracce). | SI |
| Esterasi Leucocitaria <i>(non globuli bianchi)</i> | Refertare come: Presente/Assente | SI |
| Albumina <i>(non proteine)</i> | L'albumina deve essere riportata in valore numerico espresso in mg/L. | SI |
| Nitriti | Refertare come: Presenti/Assenti | SI |
| Glucosio | I chetoni e il glucosio devono essere riportati nel referto nelle due condizioni cliniche in sono di qualche utilità ad esempio: - in pazienti in Pronto Soccorso per coma chetoacidotico; - in pazienti in età pediatrica, sotto i 3 anni, con sospetto diabete, in cui il test consente di individuare i soggetti da inviare al più traumatico e a volte complicato prelievo ematico. | solo in specifiche condizioni cliniche |
| Chetoni | | |
| Aspetto e Colore | Per quanto attiene - all'aspetto delle urine la presenza di torbidità non implica necessariamente che il campione sia patologico, e le urine limpide possono essere fortemente patologiche; - per il colore è consigliata la segnalazione solo in presenza di una colorazione patologica (urine ematiche, lavatura di carne, marsala ecc.), peraltro rilevabile in un limitato numero di casi. | di norma no, tranne per il colore in specifiche condizioni |
| Bilirubina | //// | NO |
| Urobilinogeno | //// | NO |

Se si utilizzano strisce reattive (*dipstick*) in grado di determinare/calcolare il rapporto albumina/creatinina (ACR) e/o proteine/creatinina (PCR), queste devono essere preferite al dato dell'albumina in valore assoluto.

3.2.1.4 Parametri del “sedimento urinario” valutazione morfologica degli elementi corpuscolati

L'analisi del “sedimento urinario” è parte integrante dell'ECMU e non deve mai essere omissa in un contesto laboratoristico e nel referto.

In merito alla valutazione morfologica del “sedimento urinario” sarebbe auspicabile indicare nel referto se l'analisi del sedimento viene effettuata:

- su urina nativa o centrifugata;
- se solo con microscopia ottica manuale. In questo caso gli esiti dell'analisi devono essere riportati come commento a testo libero, o uno, o più commenti codificati, relativo agli elementi clinicamente significativi rilevati all'osservazione microscopica (emazie, leucociti, cilindri, miceti, ecc.).
- se con sistemi/piattaforme automatizzate. In questo caso è consigliabile limitare la refertazione agli elementi di più comune riscontro (emazie, leucociti, batteri, cellule epiteliali) ed integrare il referto con commento libero o codificato quando si rileva, a seguito di eventuale revisione microscopica, la presenza di altri elementi corpuscolati significativi ad esempio cilindri, cristalli ecc.

3.2.1.5 Unità di misura e intervalli di riferimento

- Parametri dell'esame chimico fisico: per questi parametri è necessario utilizzare le espressioni quantitative (mg/L, numero degli elementi per campo microscopico ad alto ingrandimento -400X- elementi/HPF, cellule/ μ L). Non devono essere utilizzati i termini semiquantitativi (1+,2+,3+ ecc.);
- Parametri valutazione morfologica del “sedimento urinario”: per questi parametri è necessario che siano espressi in numero di elementi per μ L o HPF (campo microscopico ad alto ingrandimento - 400x-); devono essere indicati gli intervalli di riferimento, meglio se determinati sulla popolazione del bacino di afferenza del laboratorio. Le espressioni semiquantitative (rari, alcuni, numerosi ecc.) dovrebbero essere utilizzate unicamente per i parametri valutati solo in microscopia ottica manuale.

Gli intervalli di riferimento riportati nelle Tabelle 8 e 9 sono solo indicativi e devono essere valutati anche in funzione delle indicazioni e delle specifiche definite dai diversi produttori dei sistemi analitici e delle strisce reattive (*dipstick*) in uso.

Tabella 8. Esame chimico fisico delle urine

| Misurando | Unità di misura | Intervalli di riferimento |
|------------------------------|------------------|---------------------------|
| pH | // | 4,5 – 7,5 |
| Densità relativa | // | 1,010 – 1,030 |
| Albumina | mg/L | <150 |
| Emoglobina | mg/L | <0,30 |
| Esterasi leucocitaria | Presente/Assente | Assente |
| Nitriti | Presenti/Assenti | Assenti |
| <i>Glucosio</i> | mg/L | Assente |
| <i>Chetoni</i> | mg/L | Assente |
| Creatinina | mg/L | // |
| Rapporto albumina/creatinina | mg/g Cr | // |
| Rapporto proteine/creatinina | mg/g Cr | // |

Tabella 9. Sedimento urinario su campione da mitto intermedio

| Misurando | Unità di misura | Intervalli di riferimento |
|-----------------------------|--------------------|---------------------------|
| Leucociti | n/μL o n/HPF | <20/μL o 6-8/HPF |
| Emazie | n/μL o n/HPF | <10/μL o 3-4/HPF |
| Batteri | Presenti / Assenti | Assenti |
| Cellule epiteliali squamose | n/μL o n/HPF | <20/μL o 6-8/HPF |

3.2.6 Commenti

Gli eventuali commenti di refertazione, devono essere standardizzati/armonizzati, previa condivisione interna dell'équipe del laboratorio e, se possibile, anche con i clinici, inoltre devono esserne definite le modalità di utilizzo. Per la gestione dei commenti si fa riferimento al paragrafo “2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi”.

3.3 Autoimmunità

La ricerca di Anticorpi antinucleo (ANA) in immunofluorescenza indiretta (IFI) rimane il test di riferimento in pazienti con sospetto di Malattie Reumatiche Autoimmuni (MRA) ⁽¹⁴⁾.

Il test ANA è il test di I livello in caso di sospetto di Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e per l'inquadramento diagnostico di patologie autoimmuni come la sindrome di Sjogren, la malattia mista del tessuto connettivo (MCTD), il LES indotto da farmaci, la dermatopolimiosite e la sclerodermia (SSc).

L'utilizzo della linea cellulare HEp-2 (cellule di carcinoma laringeo) come substrato per il test ANA in tecnica IFI presenta un'elevata sensibilità diagnostica in pazienti con MRA, ma ridotta specificità (presenza di risultati positivi in individui sani e in pazienti affetti da patologie non reumatiche autoimmuni).

I contenuti del presente documento fanno riferimento all'iniziativa per il Consenso Internazionale della identificazione di Pattern ANA (*International Consensus on ANA Pattern - ICAP*) ^(15,16).

ICAP è stato inizialmente fondato come *workshop* per discutere e promuovere un consenso per rendere la refertazione delle diverse sfumature di ANA osservate con IFI la più omogenea possibile ^(17,18).

3.3.1 Referto test ANA parametri essenziali

Test ANA con metodo in immunofluorescenza indiretta su cellule Hep-2 ⁽¹⁹⁾. Nel referto deve essere indicato/i:

- il materiale biologico analizzato (siero o altro materiale biologico);
- la diluizione iniziale utilizzata per lo screening, di norma è 1: 80 o 1:160 o 1:40 nel caso di sospetto di Epatite Autoimmune;
- il risultato del test, che deve essere riportato non solo in termini di positività o negatività ma anche in termini di pattern di reattività secondo la nomenclatura del ICAP:
 - AC (Anti-Cell),
 - n° (secondo nomenclatura ICAP);
- gli intervalli di riferimento:
 - negativo <1:160,
 - positivo ≥ 1:160;
- il titolo finale/endpoint, ICAP raccomanda di titolare i campioni positivi fino a 1:640, titoli superiori vanno indicati con >1:640;

- i pattern citoplasmatici. I pattern citoplasmatici devono essere refertati come ANA positivi, con particolare attenzione a quei pattern legati agli anticorpi anti-mitocondrio (proteine del complesso piruvato-deidrogenasi) come la proteina P anti-ribosomiale tipica del LES, alcune sintetasi e altri autoanticorpi specifici per le miositi o il pattern Ring & Rods nei pazienti con HCV trattati con ribavarina;
- i quadri fluoroscopici misti. I quadri fluoroscopici misti rappresentano i pattern multipli, e devono essere indicati singolarmente secondo la nomenclatura ICAP incluso il proprio endpoint.
In Tabella 10 sono riportati gli esempi tipici.

Tabella 10. Esempi di referto di quadri fluoroscopici misti

| Esempio 1 | | Valori di Riferimento |
|------------------------------------|---|--|
| S--Ab ANTI-NUCLEO (Hep-2) (ANA) | Positivo | <i>negativo <1/160 (IFI)</i> <i>positivo ≥1/160</i> |
| S--ANA TITOLO | 1/640 | |
| S--ANA PATTERN 1 | AC1- Nucleare omogeneo | |
| S--ANA TITOLO | 1/320 | |
| S--ANA PATTERN 2 | AC21 - Citoplasmatico reticolare/AMA | |
| S-- Ab ANTI-MITOCONDRIO (AMA) | Positivo | <i>negativo < 1/40 (IFI)</i> |
| S--AMA TITOLO | 1/320 | <i>endpoint 1/640</i> |
| Esempio 2 | | Valori di Riferimento |
| S--Ab ANTI-NUCLEO (Hep-2) (ANA) | Positivo | <i>negativo <1/160 (IFI)</i> <i>positivo ≥1/160</i> <i>endpoint 1/640</i> |
| S--ANA TITOLO | 1/160 | |
| S--ANA PATTERN 1 | AC1- Nucleare omogeneo | |
| S--ANA TITOLO | 1/320 | |
| S--ANA PATTERN 2 | AC4 - Nucleare punteggiato fine | |

3.3.1.1 Il commento interpretativo ⁽²⁰⁾

Riportiamo di seguito alcune situazioni in cui sarebbe opportuno che il referto fosse integrato con un commento interpretativo:

- riscontro di positività per auto anticorpi con scarsa correlazione alla clinica.

Si possono osservare delle positività al test ANA, anche a titolo significativo, la cui associazione con Malattie Reumatiche Sistemiche (MRA) non è dimostrata, come nel caso degli anticorpi anti-DFS70, caratterizzati da un pattern nucleare dense fine *speckled* e fluorescenza anche delle regioni cromosomiche delle cellule in mitosi. In questo caso è necessario indicare che tale riscontro non correla generalmente con malattie autoimmuni, ma eventualmente potrebbe essere correlato a patologie di origine allergica o neoplastica.

- riscontro di positività per auto anticorpi con rilevante correlazione alla clinica. Il riscontro di pattern particolari dovrebbe essere corredato da un commento più esteso: ad esempio ad un riscontro di un pattern mPCNA (*proliferative cell nuclear antigen*), la cui associazione con Malattie Autoimmuni Sistemiche (MAIS) è molto elevata, il referto deve essere integrato da un commento che specifichi che tali anticorpi, anche a basso titolo, si riscontrano in pazienti con MAIS in particolare nel LES.
- riscontro di risultati non concordanti qualora si siano usati due o più metodi per determinare lo stesso auto anticorpo. In molti Laboratori, gli anticorpi anti-dsDNA sono inizialmente determinati con un test immunoenzimatico (ELISA) automatizzato e quantitativo. I sieri risultati positivi vengono successivamente confermati col più specifico metodo IFI su *Crithidia luciliae*. Tutti i casi che presentano un risultato non concordante tra i due metodi (in genere, positivo in ELISA e negativo in IFI) devono essere integrati da un commento con l'indicazione che tale risultato può essere dovuto alla presenza di anticorpi anti-dsDNA a bassa affinità di legame (di dubbia rilevanza clinica) e che solo gli anticorpi anti- dsDNA ad alta affinità correlano con il coinvolgimento renale in corso di LES.

3.3.3 Referto test Antigeni Nucleari Estraibili (ENA)

L'esito per gli antigeni del pannello ENA (SSA, SSB, Scl70, Jo1, Sm) deve essere qualitativo (positivo/negativo) ad eccezione di RNP, per il quale è obbligatoria la refertazione del dato quantitativo.

3.4 Seminologia

Lo **spermiogramma** è l'esame principale di laboratorio per la diagnostica dell'infertilità maschile oltre che per la diagnosi delle altre patologie della sfera uro-genitale. Questo test consente di impostare terapie mediche e/o chirurgiche (flogosi, varicocele), programmare una eventuale crioconservazione preventiva del seme (dispermie ingravescenti, patologie oncologiche) e, nell'ambito dell'infertilità di coppia, indirizzare la coppia a trattamenti di fecondazione assistita.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS in inglese World Health Organization - WHO) e le Società Scientifiche Nazionali ed Internazionali hanno proposto standard di riferimento e predisposto protocolli condivisi di standardizzazione delle procedure di esecuzione e di refertazione dell'esame del liquido seminale.

Questo documento fa riferimento al documento emesso da OMS nel 2021: *"WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen"* e s.m.i. ⁽²¹⁾.

3.4.1 Referto spermiogramma: parametri ed informazioni essenziali

Le seguenti informazioni devono essere riportate sul referto:

- Periodo di astinenza. (la lunghezza del periodo di astinenza eiaculatoria). Unità di misura: giorni;
- Idoneità della raccolta del campione. Indicare se la raccolta è stata eseguita al domicilio o presso il Centro/Punto Prelievi del Laboratorio e se idonea. Se la raccolta e la movimentazione del campione non sono avvenute in conformità alle specifiche indicate dal Laboratorio, nel referto deve essere indicato che il campione non è idoneo all'analisi ed è necessario dare le indicazioni per la ripetizione della raccolta.

Nei casi in cui la raccolta del campione è avvenuta al domicilio dell'utente, nella documentazione del Laboratorio, di accompagnamento al test, deve essere data evidenza delle modalità con cui l'utente ha raccolto, conservato e trasportato il campione fino alla consegna in laboratorio;

- Intervalli di Riferimento. Per quanto riguarda gli intervalli di riferimento è auspicabile riportare nel referto la Tabella 11 ⁽²²⁾ e s.m.i., se non fosse possibile, dovrebbero essere indicati almeno i valori al 5° percentile della popolazione fertile ed inoltre deve essere inserita una nota che specifichi il tipo di intervallo di riferimento riportato, ad esempio "Gli intervalli di riferimento si riferiscono al 5° percentile della popolazione fertile e sono stati determinati dall'Organizzazione Mondiale Sanità 2021". I dati della Tabella 11 e gli eventuali commenti devono essere mantenuti aggiornati nel tempo in funzione delle indicazioni pubblicate dall'OMS;

3.4.1.1 Valutazione Macroscopica

- Volume del campione. Il valore del volume di campione raccolto deve essere accompagnato dall'unità di misura espressa in "mL";
- Aspetto. L'aspetto fisiologico del seme è **grigio/avorio opalescente**, nelle altre condizioni di prevalentemente può essere:
 - **acquoso/trasparente**, di norma può indicare una riduzione della componente nemaspermica (ovvero componente cellulare scarsa);
 - **ematico** in caso di presenza di emazie;
 - **lattescente**, di norma indica che il campione in analisi è costituito prevalentemente da secreto prostatico;
 - **pioide**, in caso di piospermia;
 - **giallastro**, di norma si rileva in presenza di pigmenti di origine ematica o batterica o in seguito ad assunzione di farmaci.
- Fluidificazione. Si indica di norma come:
 - **completa o normale**, se la fluidificazione è avvenuta nella sua completezza e pertanto di norma fisiologica,
 - **irregolare**, se permangono coaguli o filamenti più o meno grossolani, spesso indice di infiammazioni, o finemente irregolare;
- Viscosità. Si indica di norma come:
 - **normale**, se le gocce del campione seminale da una pipetta si staccano una dopo l'altra in maniera ritmica e sequenziale,
 - **aumentata**, se le gocce sono sostituite da un unico filamento,
 - **diminuita**, se le gocce si staccano più rapidamente;
- pH, indicare il valore rilevato;

3.4.1.2 Valutazione Microscopica

- Numero di spermatozoi. Il conteggio degli spermatozoi deve essere riportato sia in concentrazione "n. spermatozoi" $\times 10^6$ /mL, che come numero totale per volume di eiaculato (questo dato si ottiene moltiplicando la concentrazione degli spermatozoi per il volume totale di liquido seminale).
Il termine di azoospermia indica assenza di spermatozoi nell'eiaculato e per definire un liquido seminale azoospermico è indispensabile eseguire l'analisi di tutto il sedimento dopo centrifugazione del campione seminale. Infatti, in caso di assenza di spermatozoi il campione deve

essere centrifugato per poter distinguere tra azoospermia (assenza di spermatozoi anche dopo centrifugazione) e criptozoospermia (presenza di spermatozoi dopo centrifugazione).

- **Motilità.** Le classi di motilità degli spermatozoi di norma sono indicate come:
 - **progressiva** se lo spermatozoo si muove attivamente progredendo, in modo *rapido o lento*;
 - **non progressiva**, se lo spermatozoo non è in grado di progredire nello spazio rimanendo in situ,
 - **assente**, spermatozoi immobili.

Nel referto deve essere indicata la motilità espressa in percentuale:

- **totale** (progressiva + non progressiva)
- **progressiva**, specificando la distinzione in **rapida + lenta**
- **non progressiva**

Si evidenzia che la sola descrizione quantitativa (cioè, percentuale di motilità “totale”) non ha significato prognostico ai fini della fertilità dell’individuo, pertanto, la motilità deve essere sempre definita sul piano qualitativo distinguendola in “progressiva rapida” e “progressiva lenta”.

Nei campioni di liquido seminale in cui viene determinata una motilità progressiva inferiore al 40% è necessario eseguire il “Test di Vitalità nemaspermica” che deve essere riportato nel referto.;

- **Morfologia degli spermatozoi.** La morfologia nemaspermica, valutata su un preparato a fresco e su un preparato fissato e colorato, va indicata nel referto come percentuale di spermatozoi tipici (o nella norma) e atipici (o anormali), specificando le atipie più frequenti;
- **Test di Vitalità nemaspermica** (quando previsto). Il test ha l’obiettivo di discriminare le cellule immobili morte da quelle immobili vitali e si deve riportare nel referto il metodo e la percentuale (%) di spermatozoi vitali.

3.4.1.2 Valutazione Componente Cellulare non Nemaspermica

- **Leucociti.** Se presenti devono essere espressi in concertazione con unità di misura $10^9/L$;
- **Emazie.** Se presenti devono essere espresse in termini qualitativi: rare, presenti, numerose, tappeto e sono sintomo di microemorragie o di patologie flogistiche;
- **Elementi della linea germinativa.** Questi elementi cellulari sono sempre presenti nell’ejaculato, sono rappresentati prevalentemente da: spermatociti e spermatidi, più raramente spermatogoni, e devono essere espressi nel referto in termini qualitativi come; rari, presenti o numerose;
- **Cellule epiteliali di sfaldamento.** Questi elementi cellulari derivano dall'apparato genito-urinario e possono presentarsi o isolati o in piccoli ammassi, e devono essere espressi nel referto in termini qualitativi come; rari, presenti o numerose;

- Spermioagglutinazione. Le zone spermioagglutinazione sono valutate a fresco e devono essere espresse nel referto in termini qualitativi come: rare, presenti o numerose. La presenza di spermioagglutinazione può essere suggestiva di risposta autoimmune anti-spermatozoo;
- Corpuscoli prostatici. Sono rappresentati da materiale non cellulare proveniente dalla prostata, sono da indicare nel referto solo se presenti.

Tabella 11: distribuzione dei risultati del liquido seminale di uomini in coppie all'inizio della gravidanza, ottenuta entro un anno di rapporti sessuali non protetti e che hanno portato a concepimento naturale. Da Campbell et al. (22).

| | Volume | Conc./mL | Numero/ eiaculato | Mortalità progressiva | Motilità totale | Forme tipiche | Test di vitalità |
|----------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------|------------------|---------------------|
| 5° percentile | 1.4 mL | 16 x 10⁶ | 39 x 10⁶ | 30% | 42% | 4% | 54% |
| 25° percentile | 2.3 mL | 36 x 10 ⁶ | 108 x 10 ⁶ | 45% | 55% | 8% | 69% |
| 50° percentile | 3.0 mL | 66 x 10 ⁶ | 210 x 10 ⁶ | 55% | 64% | 14% | 78% |
| 75° percentile | 4.2 mL | 110 x 10 ⁶ | 363 x 10 ⁶ | 63% | 73% | 23% | 88% |
| 95° percentile | 6.2 mL | 208 x 10 ⁶ | 701 x 10 ⁶ | 77% | 90% | 39% | 97% |

N.B. Questi valori non rappresentano un limite tra uomini fertili ed infertili.

3.5 Elettroforesi sieroproteine ⁽²³⁾

La presenza nel referto del grafico elettroforetico, con evidenziata l'eventuale presenza di componenti monoclonali è opzionale, ma si ritiene sia un valore aggiunto importante.

L'eventuale componente monoclonale, alla prima identificazione, deve essere tipizzata mediante immunofissazione o immunosottrazione e quantificata sia in termini assoluti che come valore percentuale (%) delle proteine totali.

La presenza della componente va sempre commentata, anche nel caso di componenti note.

La tipizzazione di componenti monoclonali note va eseguita nuovamente in caso in caso di modifica della posizione di migrazione, e/o comparsa di picchi aggiuntivi ⁽²³⁾.

Qualora non sia possibile inserire il grafico elettroforetico nel referto è necessario che, tutti i casi siano commentati.

Quando non sono rilevate componenti monoclonali il commento suggerito nel documento di armonizzazione del referto ⁽²³⁾ è il seguente *“Nel tracciato elettroforetico non si evidenziano alterazioni relative alla presenza di una componente monoclonale, alla sensibilità del metodo utilizzato”*. Per una serie di ulteriori commenti standardizzati si suggerisce di fare riferimento alla voce bibliografica citata ⁽²³⁾.

Per la gestione dei commenti si richiama quanto specificato al paragrafo “2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi”.

4 REFERTO PARTE SPECIFICA: EMATOLOGIA

4.1 Esame emocromocitometrico

L'Esame emocromocitometrico è un esame multi-parametrico automatizzato comprensivo, quando necessario, dell'approfondimento del campione con valutazione morfologica in microscopia ottica (anche digitalizzata) su striscio di sangue periferico.

Per l'esame emocromocitometrico, l'evoluzione tecnologica ha reso disponibili numerosi nuovi parametri, alcuni già consolidati nella routine diagnostica ad esempio il conteggio degli eritroblasti, la determinazione della frazione immatura reticolocitaria, altri, meno consolidati ad esempio la determinazione della frazione immatura delle piastrine (piastrine reticolate e /o *immature platelet fraction*) il conteggio dei frammenti eritrocitari/schistociti, la determinazione del contenuto o concentrazione media dell'emoglobina reticolocitaria.

In questo scenario è fondamentale definire il contenuto minimo del referto dell'esame emocromocitometrico e le modalità di rappresentazione grafica dei dati di questo test multi-parametrico, al fine di facilitarne la lettura ed interpretazione da parte degli utilizzatori finali.

Attualmente l'esame emocromocitometrico è completamente automatizzato e le piattaforme analitiche (emocritometri), oltre ai dati numerici, forniscono informazioni grafiche sulla distribuzione delle popolazioni cellulari (leucociti, emazie, piastrine) e allarmi sulle sospette alterazioni morfologiche cellulari o altri allarmi di carattere funzionale, ad esempio sulla qualità del campione sottoposto ad analisi ecc. Queste informazioni sono specifiche per piattaforma analitica e sono ad uso esclusivo interno del laboratorio. Sono informazioni necessarie per gli approfondimenti sulla qualità del campione analizzato, per attivare di reflex test di approfondimento inclusa la revisione microscopica del campione su striscio di sangue periferico ⁽²⁴⁾.

Pertanto, i grafici sulla distribuzione delle popolazioni cellulari, gli allarmi sulle sospette alterazioni morfologiche cellulari e/o funzionali generati dagli emocritometri non devono mai essere riportati nei referti.

I parametri quantitativi, fatta eccezione per l'ematocrito, devono essere espressi in accordo con le unità previste dal Sistema Internazionale (SI) ^(25,26). Nel Sub Allegato 1 sono indicati i tempi e le modalità di adeguamento.

Inoltre, parte integrate del referto dell'esame emocromocitometrico sono i commenti in merito alle alterazioni morfologiche cellulari rilevate sulle popolazioni cellulari e confermati con la revisione microscopica del campione su striscio di sangue periferico.

Per la gestione dei commenti si richiama quanto specificato al paragrafo “2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi”. Tuttavia, si evidenzia che è necessario predisporre un elenco di commenti codificati almeno per le alterazioni morfologiche clinicamente rilevanti indicate nelle linee guida/raccomandazioni nazionali ed internazionali e nella classificazione OMS delle patologie oncomentologiche. Qualora sia necessario predisporre un commento personalizzato, il commento deve essere redatto in modo semplice, sintetico, utilizzando un linguaggio scientificamente e tecnicamente corretto ^(27,9).

In presenza del primo riscontro di anomalie morfologiche significative è necessario gestirle come potenziali valori critici ai sensi della DGR n. XI/7044/2022 e s.m.i..

I contenuti del referto dell'esame emocromocitometrico completo sono suddivisibili in quattro parti:

1) Emocromo

I seguenti parametri nell'ordine indicato:

- Leucociti espressi in concentrazione “numero (n.) leucociti” $\times 10^9/L$;
- Emazie espresse in concentrazione “n. emazie” $\times 10^{12}/L$, e intervalli di riferimento suddivisi per età e sesso;
- Emoglobina espressa in concentrazione g/L, e Intervalli di riferimento suddivisi per età e sesso;
- Ematocrito espresso in percentuale (%), e intervalli di riferimento suddivisi per età e sesso;
- MCV (volume cellulare medio) espresso in fL, e intervalli di riferimento strumento dipendente suddivisi per età e sesso;
- MCH (emoglobina cellulare media) espressa in pg e intervalli di riferimento strumento dipendente;
- MCHC (concentrazione emoglobina cellulare media) espressa in concentrazione g/L, intervalli di riferimento strumento dipendente;
- RDW (ampiezza della distribuzione delle dimensioni delle emazie) espressa in funzione di come viene determinato il parametro dalla piattaforma analitica e intervalli di riferimento strumento dipendente;
- Eritroblasti espressi in concentrazione “n. eritroblasti” $\times 10^9/L$, intervallo di riferimento: assenti;
- Commenti. In questo campo possono essere inseriti commenti generali sull'esame emocromocitometrico e sulla morfologia delle emazie e dei loro precursori in genere ⁽²⁸⁾.

La presenza di schistociti deve essere quantificata in valore percentuale (%) e contestualizzata rispetto al quadro complessivo dei dati di laboratorio disponibili e /o dell'eventuale quesito clinico ⁽²⁹⁾.

2) Piastrine

- Piastrine espresse in concentrazione “n. piastrine” $\times 10^9/L$;

- Commenti: in questo campo possono essere inseriti commenti sul conteggio delle piastrine e sulle alterazioni morfologiche delle piastrine.

3) Formula Leucocitaria

- Formula Leucocitaria espressa “in valore assoluto” ossia concentrazione “n. cellule” $\times 10^9/L$, accompagnata dagli intervalli di riferimento suddivisi per età, con il seguente ordine:
 - Granulociti Neutrofili
 - Linfociti
 - Monociti
 - Granulociti Eosinofili
 - Granulociti Basofili
- Formula leucocitaria in valore relativo ossia percentuale (%), priva di intervalli di riferimento, con le popolazioni leucocitarie nel medesimo ordine della formula leucocitaria in valore assoluto;
- Se presenti popolazioni cellulari patologiche, così definite in funzione dei criteri identificativi morfologici universalmente riconosciuti per la differenziazione cellulare in microscopia ottica ⁽³⁰⁾, queste devono essere riportate in concentrazione “n. cellule” $\times 10^9/L$ (valore assoluto), e in percentuale (%) nel seguente ordine e tipo di popolazione cellulare:
 - Blasti (qualsiasi tipo morfologico)
 - Promielociti
 - Mielociti
 - Metamielociti
 - Linfociti atipici (ossia compatibili con un sospetto quadro di proliferazione neoplastica)
 - Linfociti reattivi (ossia compatibili con un quadro infettivo reattivo)
- Commenti: in questo campo possono essere inseriti commenti sulle caratteristiche morfologiche delle popolazioni leucocitarie e sulle alterazioni morfologiche delle stesse. La descrizione dell’alterazione morfologica deve essere riportata quando clinicamente utile alla diagnostica differenziale, ad esempio, la presenza di Blasti granulati o con i corpi di Auer o vacuolati ecc.

È sconsigliato riportare la presenza di cellule leucocitarie atipiche o patologiche in forma solo qualitativa es. presenza di blasti, e in forma semiquantitativa, numerosi blasti.

4) Conteggio reticolocitario

- Reticolociti espressi in concentrazione “n. reticolociti” $\times 10^9/L$ (valore assoluto) accompagnati dai relativi intervalli di riferimento suddivisi per età e sesso;
- Reticolociti in valore relativo ossia percentuale (%);
- Frazione immatura reticolocitaria (*Immature Reticulocyte Fraction* IRF) in valore relativo ⁽³¹⁾.

Per quanto riguarda la refertazione dei parametri reticolocitari e piastrinici di approfondimento quali contenuto o concentrazione emoglobinica media reticolocitaria e la frazione immatura delle piastrine o le piastrine reticolate, si consiglia la refertazione solo in situazioni mirate, previa richiesta specifica del clinico ⁽³²⁾.

Per tutti gli altri parametri di approfondimento sulle caratteristiche cellulari di emazie, leucociti, inclusi gli indici piastrinici e reticolocitari, al momento essendo parametri tecnologia dipendente non ci sono evidenze sufficientemente robuste da suggerirne l'inserimento del referto.

Tuttavia, questi parametri, nella gestione, possono essere assimilati agli allarmi morfologici e funzionali e ai grafici di distribuzione delle popolazioni cellulari, e pertanto utilizzati come criteri decisionali per eventuali approfondimenti e formulazione di commenti nel referto.

Qualora il medico prescrittore richieda espressamente la revisione microscopica del campione su striscio di sangue periferico, nel referto deve essere esplicitata l'esecuzione anche nel caso in cui non siano rilevate alterazioni morfologiche significative delle popolazioni cellulari o altri rilievi clinicamente utili es. presenza di parassiti ecc.

4.2 Esame del midollo osseo per apposizione e/o striscio: Mielogramma

L'analisi del midollo osseo è obbligatoria per la diagnosi, la stadiazione e il monitoraggio di molte malattie con interessamento del sistema ematopoietico.

Il mielogramma è un'analisi citologica che descrive e quantifica le popolazioni emopoietiche riscontrabili in aspirati midollari.

Il referto di un mielogramma dovrebbe riportare in accordo alle linee guida ⁽³³⁾:

- l'indicazione all'esecuzione dell'agoaspirato midollare;
- la sede del prelievo;
- la qualità del materiale prelevato (presenza di numerosi frustoli, assenza di frustoli o presenza di coaguli) indicando anche il grado di cellularità (normale, ridotta, aumentata). Si precisa che l'esame di riferimento per la determinazione della cellularità midollare è la biopsia osteo-midollare (cellularità midollare corretta per età). Il referto di mieloaspirato dovrebbe limitarsi ad una descrizione della quantità di cellule in relazione alla qualità dell'esame;
- il conteggio cellulare differenziale, inclusa la percentuale di blasti (o blasti equivalenti), precursori eritroidi e mieloidi, linfociti e plasmacellule;
- il rapporto mielo-eritroide con range di normalità;

- le valutazioni morfologiche qualitative (anomalie morfologiche, anomalie del processo maturativo, presenza di inclusioni cellulari) delle serie emopoietiche inclusa l'indicazione se presenti in percentuale uguale o superiore al 10% delle cellule della serie in esame (soglia per la diagnosi di sindrome/neoplasia mielodisplastica sec. criteri OMS) ⁽³⁴⁾;
- il numero e la valutazione morfologica dei megacariociti;
- la presenza o meno di infiltrato di elementi linfoidi con aspetto monomorfo, se presente è di norma espressione di coinvolgimento midollare in corso di processi linfoproliferativi;
- l'aumento o meno dei macrofagi, con descrizione di alterazioni morfologiche (emo o eritrofagocitosi, presenza di microrganismi o cristalli), se rilevate;
- la presenza o meno di cellule non emopoietiche (es. metastasi);
- la percentuale di sideroblasti con descrizione della localizzazione dei granuli siderotici (citoplasmatica o peri nucleare) (dopo colorazione con Blu di Prussia o equivalente).

4.3 Citofluorimetria

4.3.1 Referto Sottopopolazioni Linfocitarie

Nel referto dell'analisi delle sottopopolazioni linfocitarie, i dati numerici riportati devono essere facilmente interpretabili, espressi in concentrazioni in unità del SI, così da garantire l'armonizzazione e confrontabilità dei risultati tra i laboratori, e corredati da intervalli di riferimento distinti per età (pediatrica e adulta) ⁽³⁵⁾.

Il referto deve includere, per le principali componenti linfocitarie (T, B, NK, T CD3+ CD4+, T CD3+ CD8+) i valori espressi in concentrazione "n. cellule"×10⁹/L (numero assoluto) seguiti dai valori relativi espressi in percentuale (%) e relativi intervalli di riferimento (Figura 1).

4.3.2 Referto Caratterizzazione Immunofenotipica delle Popolazioni Cellulari

Il referto dell'analisi citofluorimetrica non deve riportare citogrammi, dot plots o immagini strumentali, poco utili per il clinico e possibile fonte di non corretta interpretazione dei risultati ⁽³⁶⁾.

Il referto relativo alla caratterizzazione immunofenotipica deve includere ^(37, 38, 39):

- la tipologia di materiale analizzato (es. sangue periferico, aspirato di midollo osseo, liquor, aspirati cavitari ecc.);
- le caratteristiche generali del campione, come l'eventuale presenza di coaguli, l'emodiluizione, la contaminazione da sangue periferico nei campioni di liquidi biologici (liquor, lavaggio broncoalveolare, liquido pleurico ecc.) e la cellularità;

- il periodo di osservazione (prima diagnosi o follow-up), se disponibile;
- l'ipotesi diagnostica del clinico richiedente l'analisi, se disponibile;
- l'elenco dei marcatori analizzati, specificando, qualora fosse importante la distinzione, se l'anticorpo riportato sia verso un antigene (CD) di superficie (S), citoplasmatico (C), o nucleare (N);
- la procedura/strategia di *gating* utilizzata;
- la conta differenziale delle principali popolazioni cellulari presenti;
- l'identificazione della popolazione cellulare anomala, se presente, espressa come percentuale degli elementi nucleati o delle cellule CD45 positive o espressa in cellule per microlitro nel caso di campioni di liquor o qualora il dato fosse importante per una più corretta classificazione diagnostica (es MBL, T-LGL, CLPD-NK ecc.);
- la descrizione della popolazione anomala;
- commento conclusivo.

Ulteriori indicazioni specifiche. Si raccomanda:

- di citare nel referto ogni variabile preanalitica che potrebbe inficiare il risultato dell'analisi immunofenotipica;
- di non includere nel referto i singoli antigeni clinicamente non rilevanti per la diagnosi ⁽³⁸⁾;
- qualora l'espressione antigenica fosse rappresentata da simboli (+, +-, ++, -) di includere nel referto una nota esplicativa che ne permetta una corretta interpretazione (Figura 2);
- di non includere la lista/tabella delle percentuali di positività degli antigeni analizzati perché fortemente sconsigliata ⁽⁴⁰⁾;
- l'utilizzo di commenti interpretativi armonizzati in accordo con recenti linee guida ^(41, 42), permette la descrizione della popolazione cellulare d'interesse, in modo esplicativo, esauriente e confrontabile tra diversi laboratori. Per la gestione dei commenti si fa riferimento a quanto specificato al paragrafo "2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi".

4.3.3 Referto Analisi Citofluorimetrica di Eventi Rari (Emoglobinuria parossistica notturna, Malattia Residua Misurabile, Emorragia Feto-Materna)

Nelle analisi specifiche in cui è richiesta la caratterizzazione di popolazioni cellulari rare (eventi rari) il referto, oltre a quanto sopra specificato, deve includere i valori dei limiti di rilevabilità (*Limit of Detection* - LoD) e di quantificazione (*Limit of Quantification* - LoQ) del sistema, il numero di eventi analizzati e la dimensione del cluster cellulare individuato ^(43, 44).

| SOTTOPOPOLAZIONI LINFOCITARIE | | | Intervalli di Riferimento |
|-------------------------------|-----|-------------------------|--|
| LINFOCITI T CD3 | | | |
| CD3 % | 80 | % | età (0-2 anni): 52-76 età (2-12 anni): 60-78 età>12 anni: 63-86 |
| CD3# | 1.2 | cell 10 ⁹ /L | età (0-2 anni): 2.2-5.4 età (2-12 anni):1.5-3.7 età>12 anni: 0.7-2.4 |
| LINFOCITI T CD3/CD4 | | | |
| CD4% | 40 | % | età (0-2 anni): 35-66 età (2-12 anni): 31-47 età>12 anni: 30-60 |
| CD4# | 0.6 | cell 10 ⁹ /L | età (0-2 anni): 1.5-3.6 età (2-12 anni): 0.65-2.1 età>12 anni: 0.5-1.8 |
| LINFOCITI T CD3/ CD8 | | | |
| CD8% | 40 | % | età (0-2 anni): 13-29 età (2-12 anni):16-30 età>12 anni: 16-42 |
| CD8# | 0.6 | cell 10 ⁹ /L | età (0-2 anni): 0.5-0.9 età (2-12 anni): 0.5-1.1 età>12 anni:0.3-1 |
| Rapporto CD4/CD8 | 1 | | età (0-2 anni): 1.5-3.8 età (2-12 anni): 1.2-2.9 età>12 anni: 1.2-2.4 |

Figura 1: esempio di referto di sottopopolazioni linfocitarie

| IMMUNOFENOTIPO IN CITOMETRIA A FLUSSO | | | Intervallo di riferimento |
|---------------------------------------|---|---|---------------------------|
| Composizione cellulare CD45+ | | | |
| Granulociti | 20 < | % | 40.0 - 73.0 |
| Linfociti | 80 > | % | 20.0 - 50.0 |
| Monociti | 8 | % | 4.0 - 12.0 |
| Popolazione linfocitaria | | | |
| Linfociti T CD3 | 10 < | % | 60.0 - 86.0 |
| Linfociti T CD4 | 5 < | % | 30.0 - 60.0 |
| Linfociti T CD8 | 5 < | % | 16.0 - 42.0 |
| Rapporto CD4/CD8 | 1 < | | 1.2 - 2.4 |
| Linfociti B | 85 > | % | 5.0 - 22.0 |
| Linfociti NK | 5 | % | 5.0 - 25.0 |
| Marcatori analizzati | CD3, CD4, CD5, CD8, CD10, CD19, CD20, CD23, CD38, CD43, CD45, CD56, CD200, sIg Kappa, sIg Lambda | | |
| Analisi Immunofenotipica | <p>Analisi eseguita su campione di sangue periferico.</p> <p>Espansione del comparto B linfocitario (80% dei linfociti, 68% del totale) a fenotipo atipico CD5+ CD23+ (eterogeneo) CD43+ CD200+ CD38+- (eterogeneo) CD20+- con espressione monoclonale Kappa delle Ig di superficie a bassa densità. Risulta non espresso il marcatore CD10.</p> | | |
| Conclusioni | Quadro di malattia linfoproliferativa B cronica a fenotipo CLL (8000 cellule per microlitro). | | |
| NOTE ANALISI IMMUNOFENOTIPICA | <div></div> <p>++: positivo forte; +: positivo intermedio; +/-: positivo debole; -: assenza di espressione (negativo)</p> | | |

Figura 2: esempio di referto di immunofenotipo in citometria a flusso

5 REFERTO PARTE SPECIFICA: COAGULAZIONE

I risultati relativi ai test dell'emostasi sono strettamente influenzati dal metodo e dalla combinazione del sistema strumento-reagente in uso. Proprio allo scopo di minimizzare queste differenze, la modalità consigliata di refertazione dei test PT, aPTT e TT è quella di rapportare i valori ottenuti sui plasmi dei pazienti a quelli di un pool di plasmi di soggetti di riferimento (Mean Normal Pool plasma - MNPP-). Questo pool dovrebbe essere costituito da almeno 20 campioni freschi (preferibile 40 campioni) provenienti da individui in buona salute, includendo entrambi i sessi (preferibilmente 20 uomini e 20 donne), che non siano sottoposti ad alcun tipo di trattamento farmacologico. È raccomandato raccogliere e analizzare i singoli campioni in almeno in tre sessioni di lavoro in giorni diversi per includere la variazione tra giorni. ⁽⁴⁵⁾. Il valore del pool è rappresentato dalla media geometrica dei risultati ottenuti sui campioni dei singoli soggetti, analizzati con le stesse condizioni con cui sono analizzati i campioni dei pazienti ^(46,47)

5.1 Tempo di Protrombina (PT)

Il tempo di protrombina è un test coagulativo sensibile alla carenza dei fattori della via estrinseca e comune (nello specifico dei fattori II, V, VII, X), dei loro inibitori e del fibrinogeno. Questo test è fondamentale per valutare la sintesi epatica dei fattori della coagulazione ed i deficit di vitamina K.

L'esame, effettuato su coagulometro automatico magneto-meccanico o foto ottico, viene misurato in secondi e il risultato deve essere espresso come "Ratio" (Rapporto) fra i secondi del plasma in esame e quelli del pool di plasmi di soggetti di riferimento (Mean Normal Prothrombin time- MNPT) ⁽⁴⁸⁾.

Se l'esame è effettuato in pazienti in terapia anticoagulante con farmaci anti-vitamina K il risultato deve essere espresso in INR (International Normalized Ratio) (l'INR si ottiene elevando il valore della Ratio all'indice di sensibilità delle tromboplastine (ISI) (Ratio^{ISI})) ⁽⁴⁴⁾.

Negli ultimi anni, le tromboplastine disponibili in Europa presentano ISI uguali a 1 o a valori molto prossimi all'unità e di conseguenza i valori di Ratio e INR risultano essere pressoché sovrapponibili.

5.2 Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (aPTT)

Il Tempo di Tromboplastina Parziale Attivato (aPTT) è un test coagulativo sensibile alla carenza dei fattori della via intrinseca e comune (nello specifico dei fattori VIII, IX, XI, XII e fattori II, V e X), alla presenza dei loro inibitori o alla presenza di anticorpi anti-fosfolipidi.

L'esame viene effettuato su coagulometri magneto-meccanici o foto-ottici, utilizzando reagenti che contengono un attivatore della fase di contatto che può essere silice, caolino, acido ellagico o una combinazione degli stessi e fosfolipidi di diversa origine e concentrazione.

Il risultato è misurato in secondi e il risultato deve essere espresso in Ratio (Rapporto) fra i secondi del plasma in esame e quelli del pool di plasmi di soggetti di riferimento (MNPP per il test aPTT).

5.3 Il Tempo di Trombina (TT)

Il Tempo di Trombina (TT) è un esame di I livello utile alla valutazione della funzionalità del fibrinogeno o della presenza di inibitori della trombina (es. farmaci anticoagulanti ad azione anti-FII o FIIa).

Il test valuta la capacità di conversione del fibrinogeno a fibrina dopo aggiunta di trombina umana o bovina.

Il TT, effettuato su coagulometri magneto-meccanici o foto-ottici, viene misurato in secondi. Anche in questo caso l'espressione del risultato indicata è la Ratio (Rapporto) tra i secondi del plasma in esame e i secondi del pool di plasmi di soggetti di riferimento, allo stesso modo di PT e aPTT.

5.4 Fibrinogeno

Esistono numerosi metodi di determinazione del fibrinogeno: funzionali ed immunologici.

I metodi immunologici (immunoenzimatici e nefelometrici) misurano la concentrazione di fibrinogeno ma non la sua funzionalità. Questi metodi sono utilizzati come diagnostica di secondo livello nella classificazione delle dis o a-fibrinogenemie.

Tra i metodi funzionali si annoverano il PT-derivato e il metodo Clauss. Il metodo PT derivato, nonostante sia semplice e poco costoso, fornisce risultati poco attendibili (^{49, 50}).

Il metodo Clauss è il metodo funzionale per la determinazione del fibrinogeno. Misura la capacità del fibrinogeno a trasformarsi in fibrina dopo aggiunta di elevate concentrazioni di trombina a plasma diluito. Il tempo di conversione da fibrinogeno a fibrina viene misurato in secondi ed espresso in concentrazione (g/L) attraverso una calibrazione specifica.

Nel referto deve essere indicato il valore del fibrinogeno in concentrazione espresso in g/L.

5.5 D-dimero

Il D-dimero è costituito da una miscela eterogenea di prodotti di degradazione della fibrina. Viene principalmente utilizzato per escludere la presenza di patologie quali trombosi venosa profonda (TVP) ed embolia polmonare (EP).

I metodi disponibili per la sua determinazione sono qualitativi, semi-quantitativi e quantitativi (test immunoenzimatici o test in chemiluminescenza).

I test ora disponibili utilizzano anticorpi monoclonali differenti e diretti contro epitopi differenti. Ancora oggi, il problema principale nella determinazione del D-dimero è quello relativo alla standardizzazione e armonizzazione dei metodi, in particolare rispetto al tipo di anticorpo utilizzato e alla specifica calibrazione (⁵¹). Esistono infatti due diversi tipi di calibratori: uno a base di D-dimero purificato con risultati espressi in unità D-Dimero (DDU) e uno con fibrina stabilizzata digerita con plasmina i cui risultati sono espressi in unità di fibrinogeno equivalenti (FEU).

I valori ottenuti in FEU sono all'incirca doppi di quelli con unità di D-dimero. Non essendo disponibile uno standard internazionale le unità di misura, gli intervalli di riferimento e i cut-off non possono essere considerati intercambiabili tra un metodo e l'altro (⁵²).

È pertanto indispensabile che nel referto venga riportato il metodo in uso e l'espressione dei risultati (DDU o FEU esclusivamente rispetto a quanto dichiarato dal produttore). Si raccomanda di usare l'unità di misura in µg/L.

Si consiglia di utilizzare un cut-off validato clinicamente per il metodo in uso.

6 REFERTO PARTE SPECIFICA: MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

6.1 Concetti generali per la nomenclatura dei patogeni

Per i batteri ed i miceti si userà la nomenclatura relativa alla tassonomia corrente.

Nel referto deve essere riportato il nome del microrganismo per esteso secondo le seguenti indicazioni:

- Nome esteso di genere e specie (es. *Escherichia coli*) quando le metodiche utilizzate per l'identificazione microbica permettono di discriminare o identificare la specie;
- *Genere spp* (es. *Corynebacterium spp*) quando le metodiche utilizzate per l'identificazione microbica non permettono di discriminare o identificare la specie;
- Complex (es. *Burkholderia cepacia Complex*) quando le metodiche utilizzate per l'identificazione microbica non permettono una sufficiente discriminazione.

Per i nomi dei virus si possono essere utilizzati gli acronimi, quando di uso comune (es. HIV, CMV etc.).

Per i parassiti deve essere utilizzata la nomenclatura relativa alla tassonomia corrente riportando per esteso genere e specie; quando non è possibile indicare anche la specie, verrà riportato solo il genere.

6.2 Sieroimmunologia infettiva

Il corpo del referto deve indicare in modo univoco l'esame eseguito ed il materiale su cui è stato eseguito il test. Inoltre, dovrebbe essere usata una dizione omogenea per tutte le ricerche anticorpali come di seguito indicato:

- S-Anticorpi anti-XXX (S abbreviazione del materiale biologico in questo caso Siero vedi Tabella 1 XXX si riferisce al microrganismo verso il quale è diretto l'anticorpo ricercato);
- la classe anticorpale, si propone la dizione omogenea: IgG, IgM, IgA o Ig totali;
- l'antigene verso il quale si indirizza la ricerca anticorpale deve essere indicato nel corpo del referto solo quando rilevante dal punto di vista clinico (HBsAg, Epstein Barr Virus-VCA, Antigene S di SARS-CoV-2 etc.).

Se rilevante per l'interpretazione del risultato, dovrà essere riportata la metodica di esecuzione del test. Eventuali notizie aggiuntive potranno essere riportate come commento. Per la gestione dei commenti si fa riferimento a quanto specificato al paragrafo "2.4 Gestione commenti qualitativi ed interpretativi".

6.2.1 Esami sieroimmunologia infettiva con risultati qualitativi

La refertazione, nel campo risultato, riporterà il dato qualitativo: Positivo / Negativo;

È auspicabile che sia riportata la sensibilità analitica del test.

Se è presente una zona grigia/indeterminata (si suggerisce la dicitura indeterminato), nel referto dovrebbe essere inserito un commento con le indicazioni sul percorso diagnostico da seguire per ottenere un risultato dirimente (per esempio ripetizione dell'esame dopo un certo numero di giorni; utilizzo di un saggio alternativo etc.).

6.2.2 Esami sieroimmunologia infettiva con risultati quantitativi

La refertazione, nel campo risultato, riporterà il dato numerico.

Le unità di misura relative al numero dovranno essere sempre presenti a fianco del numero, qualora disponibili, devono essere utilizzate le unità di misura rapportabili Unità Internazionali (UI) (es. UI/mL).

I criteri interpretativi del risultato dovranno essere sempre presenti e avere formato omogeneo. Per esempio:

- < 10 UI/mL: Negativo;
- >15 UI/mL: Positivo;
- tra 10 e 15; indeterminato;

Quando clinicamente rilevante e accettata in modo univoco dalla letteratura scientifica e/o linee guida di riferimento è auspicabile che venga aggiunta l'interpretazione del risultato ottenuto (ad esempio titolo anti-HBs protettivo: > 50 UI/mL). In questo caso dovrebbe essere citata la fonte di tale indicazione.

Se è presente una zona grigia (indeterminato) nel referto dovrebbe essere inserito un commento con le indicazioni sul percorso diagnostico da seguire per ottenere un risultato dirimente (per esempio ripetizione dell'esame dopo un certo numero di giorni; utilizzo di un saggio alternativo etc.).

È auspicabile che venga indicata la LoQ del test qualora essa coincida con l'indicazione di negatività del saggio eseguito.

6.3 Indagini colturali per batteri e lieviti

Per le indagini colturali la descrizione della prestazione nel referto deve indicare in modo univoco:

- l'esame richiesto;
- il materiale (nome esteso) su cui è stato eseguito l'esame; è auspicabile che sia anche indicata la provenienza del materiale (anatomica o altra indicazione rilevante). Ad esempio:
 - per il "tampone auricolare" specificare la sede corporea: orecchio destro o sinistro;

- per il “liquido biologico sterile” specificare la sede anatomica es. addominale, pleurico etc;
- per il campione di “urine” specificare la tipologia di raccolta es. catetere, sacchetto, mitto intermedio, ecc.
- l’esito dell’esame colturale:
 - Se il campione è positivo o negativo per la ricerca di patogeni. Esempio di refertazione: Ricerca patogeni: positiva. A questo seguirà il nome per esteso del microorganismo patogeno isolato. Se la ricerca dei patogeni è mirata, il nome del patogeno ricercato potrà essere codificato e associato alla ricerca (es. Ricerca di *Salmonella spp*: positiva).
 - la carica batterica/fungina (espressa in CFU/mL o con scala semiquantitativa) deve essere aggiunta solo per i materiali in cui essa sia di rilevanza clinica (urine, materiale respiratorio, etc.)
 - il risultato dell’esame microscopico (colorazione di Gram) eseguito sul materiale biologico per tutti i materiali in cui essa sia di rilevanza clinica (materiale respiratorio, materiali da apparato genitale, materiali provenienti da distretti sterili, etc.). L’esame microscopico dovrà essere refertato mediante commenti codificati e, solo in casi peculiari, con commenti liberi aggiuntivi.

6.4 Antibiogramma e antimicogramma

Nel caso di presenza di più patogeni in uno stesso campione, l’antibiogramma deve essere collegato in modo chiaro ed univoco al patogeno di riferimento.

Anche eventuali commenti relativi alla presenza di meccanismi di resistenza per un determinato microorganismo devono essere riconducibili al patogeno di riferimento.

La categorizzazione in classi di sensibilità o resistenza deve essere riportata secondo criteri accettati a livello internazionale; è raccomandato l’uso dei criteri EUCAST ⁽⁵³⁾.

In un commento dovrà essere esplicitata la modalità interpretativa adottata (EUCAST, CLSI, altro) e la versione o l’anno (es. EUCAST 2023) o, in alternativa, l’assenza di criteri interpretativi per la molecola utilizzata contro quel tipo di microorganismo.

6.5 Diagnostica molecolare

Per le indagini molecolari la descrizione della prestazione nel referto deve indicare in modo univoco:

- il materiale su cui si esegue l’analisi
- l’esame eseguito secondo le seguenti specifiche (o assimilabili):
 - Ricerca genoma di XXX (XXX indicare microorganismo);
 - Per pannelli multiplex: Ricerca genoma di patogeni respiratori, intestinali etc.

- l'esito dell'esame molecolare, come di seguito esplicitato:
 - il microorganismo che viene ricercato: "denominazione" seguito dal tipo di materiale genetico ricercato, ad esempio SARS-CoV-2 RNA, HBV DNA, *Chlamydia trachomatis* DNA etc.
 - quale/quali ceppi o quale/quali specifici target genici del genoma del microorganismo viene rilevato dovrà essere specificato solo quando clinicamente rilevante. Per esempio, per *Clostridioides difficile*, specificare se l'indagine ricerca solo il ceppo tossinogenico, se identifica la presenza del gene per la tossina binaria ecc.

Qualora il test non rilevi tutti i microorganismi appartenenti al gruppo di patogeni ricercato è auspicabile che sia specificato quali sono le specie/sierotipi/genotipi rilevabili dal test. Per esempio:

 - ✓ Adenovirus-DNA: **Rilevato**; il test rileva gli adenovirus appartenenti alle specie A, B, D.
 - ✓ Enterovirus-RNA: **Rilevato**; il test rileva gli enterovirus appartenenti alle specie A, B, D (sierotipi 1-18; 68-71 ecc.)
 - il target molecolare (gene o frammento genico) verso il quale si rivolge il test ed eventuali altre notizie aggiuntive potranno essere riportate in un commento preferibilmente codificato;
- Se rilevante per l'interpretazione del risultato, dovrà essere inserito il metodo di analisi utilizzato.

6.5.1 Esami molecolari con risultati qualitativi

La refertazione, nel campo risultato, riporterà il dato qualitativo (rilevato/non rilevato)⁽⁵⁴⁾

È auspicabile l'indicazione della sensibilità analitica del test.

Se il risultato ottenuto è positivo a cicli molto alti (in caso di saggi in Real time PCR) refertare rilevato; dovrebbero essere inoltre inserito un commento possibilmente codificato con le indicazioni sul percorso diagnostico da seguire per ottenere un risultato dirimente (per esempio ripetizione dell'esame dopo un certo numero di giorni; utilizzo di un saggio alternativo etc.).

6.5.2 Esami molecolari con risultati quantitativi

La refertazione, nel campo risultato, riporterà il dato numerico; laddove possibile si consiglia di riportare i risultati in scala logaritmica (\log_{10}).

Le unità di misura relative al numero dovranno essere sempre presenti a fianco del numero.

I risultati dovranno essere espressi in UI per tutti i microorganismi in cui queste sono definite (per esempio HBV DNA, HCV RNA etc.). Per tutti gli altri la quantificazione sarà riportata in copie/mL.

Se il test è positivo ma non quantificabile segnalare la positività con una nota (per esempio: Rilevata una bassa carica virale, fuori dall'ambito di quantificazione)

È auspicabile che sia indicato:

- il LoD e il LoQ del test.
- l'ambito di linearità del test molecolare.

6.5.3 Genotipizzazione

La refertazione, nel campo risultato, riporterà il Genotipo rilevato. Per esempio, nel caso di genotipizzazione di SARS-CoV-2: Genotipo SARS-CoV-2: BQ1.1

Dovrà essere indicato il metodo di genotipizzazione (LiPA, Real-time PCR, sequenziamento SANGER, analisi di sequenza genica massiva parallela ossia *Next Generation Sequencing* -NGS)

Se viene eseguito il sequenziamento deve essere indicato il target della sequenza (frammento genico, gene singolo, geni multipli, WGS).

Laddove clinicamente rilevante, possono essere riportate dettagli sulla sequenza ottenuta (per esempio sostituzioni amminoacidiche critiche).

7. BIBLIOGRAFIA

- ¹ Petersen UM, Dybkær R, Olesen H. Properties and units in the clinical laboratory sciences. Part XXIII. The NPU terminology, principles, and implementation: A user's guide (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem* 2012;84:137-65.
- ² <http://www.npu-terminology.org/> ultimo accesso 14/01/2023
- ³ Ceriotti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference intervals: the way forward. *Ann Clin Biochem* 2009;46:8-17.
- ⁴ Ceriotti F. Prerequisites for use of common reference intervals. *Clin Biochem Rev.* 2007;28:115-21.
- ⁵ Ceriotti F. Quality specifications for the extra-analytical phase of laboratory testing: Reference intervals and decision limits. *Clin Biochem* 2017;50:595-598.
- ⁶ Gulizia MM, Colivicchi F, Ricciardi G, Giampaoli S, Maggioni AP, Averna M, Graziani MS, Ceriotti F, Mugelli A, Rossi F, Medea G, Parretti D, Abrignani MG, Arca M, Perrone Filardi P, Perticone F, Catapano A, Griffo R, Nardi F, Riccio C, Di Lenarda A, Scherillo M, Musacchio N, Panno AV, Zito GB, Campanini M, Bolognese L, Faggiano PM, Musumeci G, Pusineri E, Ciaccio M, Bonora E, Cantelli Forti G, Ruggieri MP, Cricelli C, Romeo F, Ferrari R, Maseri A. ANMCO/ISS/AMD/ANCE/ARCA/FADOI/GICR-IACPR/SICI-GISE/SIBioC/SIC/SICOA/SID/SIF/SIMEU/SIMG/SIMI/SISA Joint Consensus Document on cholesterol and cardiovascular risk: diagnostic-therapeutic pathway in Italy. *Eur Heart J Suppl.* 2017 May;19(Suppl D):D3-D54.
- ⁷ Chamberlain JJ, Rhinehart AS, Shaefer CF Jr., Neuman A. Diagnosis and Management of Diabetes: Synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes. *Ann Intern Med.* 2016;164:542-552.
- ⁸ Gioia, A.L., Balboni, F., Buoro, S. et al. I commenti interpretativi nel referto ematologico di laboratorio. *Biochim Clin* 2016;40(3):255-269.
- ⁹ Buoro S, Da Rin G, Fanelli A, Lippi G. 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 (WGDDH-SIBioC) *Clin Chem Lab Med.* 2018;57:66-77.
- ¹⁰ Manoni F, Gessoni G, Fogazzi GB, Alessio MG, Ravasio R, Caleffi A et al Gruppo Interdisciplinare Analisi delle Urine (GIAU). Esame fisico, chimico e morfologico delle urine: raccomandazioni per la fase postanalitica del Gruppo Interdisciplinare Laboratorio e Clinica Apparato Urinario (GIAU) *Biochim Clin* 2020;44: 086-099.
- ¹¹ Dybkaer K, Jorgensen R. Quantities and Units in Clinical Chemistry. Including Recommendation 1966 of Commission on Clinical Chemistry of IUPAC and IFCC. København: Munksgaard, 1967.
- ¹² Lehman HP, Worth HGJ, Zinder, O. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Education Division, expert Panel on Quantities and Units: a protocol for the conversion of clinical laboratory data. *J Autom Chem* 1989; 5:223-6.
- ¹³ Manoni F, Gessoni G, Fogazzi GB, et. Al. Esame fisico, chimico e morfologico delle urine proposta di linee guida per la fase analitica del Gruppo Intersocietario Analisi delle Urine (GIAU). *G Ital Nefrol* 2016;33:gin/33.6.15.
- ¹⁴ Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(1):17-23.
- ¹⁵ www.anapatterns.org (ultimo accesso 31/01/2023)
- ¹⁶ von Mühlen CA, Garcia-De La Torre I, Infantino M, et.al. How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEp-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. *Immunol Res.* 2021;69:594-608.
- ¹⁷ Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 2015;6:412.
- ¹⁸ Chan EKL, von Mühlen CA, Fritzler MJ, et al. The International Consensus on ANA Patterns (ICAP) in 2021-The 6th Workshop and Current Perspectives. *J Appl Lab Med.* 2022;7:322-330. Erratum in: *J Appl Lab Med.* 2022 Mar 04.
- ¹⁹ Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis.* 2019;78:879-889.
- ²⁰ Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N. Il commento interpretativo degli esami autoanticorpali e del risultato autoanticorpale inatteso. *RIMeL – IJLaM* 2006;2:151-155.
- ²¹ WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 6th edition. Geneva WHO 2021. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/343208/9789240030787-ita.pdf>; ultimo accesso febbraio 2023
- ²² Campbell MJ, Lotti F, Baldi E et al. Distribution of Semen Examination Results 2020 - a follow up of data collated for the WHO semen analysis manual 2010. *Andrology* 2021;9:817-22.
- ²³ Savoia M, Michetti L, Cigliana G, Turra F, Debbia D, Visconti V, et al. Indicazioni per l'armonizzazione del referto dell'elettroforesi delle sieroproteine e della tipizzazione delle componenti monoclonali. *Biochim Clin* 2024. Pubblicato on-line: 30.01.2024
- ²⁴ Pajola R, Manenti B, Giavarina D, Avino D, Ciardelli ML, Cremonesi B et al. Indagine conoscitiva sulla qualità del referto dell'esame emocromocitometrico. *Biochim Clin* 2020; 44(2) 129-142.

- ²⁵ Papa S, Buoro S, Marini A, Balboni F, Fanelli A, Da Rin G, Di Fabio A, Francione S, Gioia M, Pipitone S, Tanca D, Fiorini F, Rocco V, Cocci F, La Gioia A a nome del Gruppo di Studio SIBioC - Medicina di Laboratorio Diagnostica Ematologica. Armonizzazione del referto ematologico con l'impiego di unità di misura conformi al Sistema Internazionale. *Biochim Clin* 2015;39:43
- ²⁶ Brereton M, McCafferty R, Marsden K, Kawai Y, Etzell J, Ermens A; international council for standardization in haematology. Recommendation for standardization of haematology reporting units used in the extended blood count. *Int J Lab Hematol* 2016;38(5):472-82.
- ²⁷ I commenti interpretativi nel referto ematologico di laboratorio DOCUMENTI SIBIOC - SIBioC Documents *Biochim Clin* 2016;40:255-269.
- ²⁸ Ford J. [Red blood cell morphology](#). *Int J Lab Hematol* 2013;35(3):351-7.
- ²⁹ Zini G, d'Onofrio G, Erber WN, Lee SH, Nagai Y, Basak GW, Lesesve JF. International Council for Standardization in Hematology (ICSH). 2021 update of the 2012 ICSH Recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes: Impact and revisions. *Int J Lab Hematol* 2021;43(6):1264-1271.
- ³⁰ Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, Proytcheva M, Machin SJ. [ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features](#). *Int J Lab Hematol* 2015;37(3):287-303.
- ³¹ Piva E, Brugnara C, Spolaore F, Plebani M. Clinical utility of reticulocyte parameters. *Clin Lab Med* 2015;35(1):133-63.
- ³² Buttarello M, Mezzapelle G, Freguglia F, Plebani M. [Reticulated platelets and immature platelet fraction: Clinical applications and method limitations](#). *Int J Lab Hematol* 2020;42(4):363-370.
- ³³ Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2008, 30, 349–364.
- ³⁴ Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2008, 30, 349–364.
- ³⁵ F. Tosato, G. Buccioli, G. Pantano, M. C. Putti, M.C. Sanzari, G. Basso, M. Plebani. Lymphocytes Subsets Reference Values in Childhood. *Cytometry Part A* 87A: 81–85, 2015
- ³⁶ M.M. Ciriello, G. De Franchis, P. Doretto, E. Cannizzo, R. Caporale, A. Falda, G. Farina, F. Ferro, L. Lanza, G. Scalia, D. Tanca, E. Toniato, L. Vanelli. Il referto citofluorimetrico. *La rivista italiana della medicina di Laboratorio*. 2016.
- ³⁷ L. Del Vecchio, B. Brando, F. Lanza, C. Ortolani, G. Pizzolo, G. Semenzato, G. Basso; Italian Society for Cytometry. Recommended reporting format for flow cytometry diagnosis of acute leukemia. *Haematologica*. 2004 May;89(5):594-8.
- ³⁸ U. Johansson, D. Bloxham, S. Couzens, J. Jesson, R. Morilla, W. Erber, M. Macey and British Committee for Standards in Haematology. *British Journal of Haematology*, 2014, 165, 455–488
- ³⁹ M. I. Del Principe, A. Gatti, U. Johansson, F. Buccisano, B. Brando. ESCCA/ISCCA protocol for the analysis of cerebrospinal fluid by multiparametric flow-cytometry in hematological malignancies. *Cytometry*. 2021;100:269–281.
- ⁴⁰ BL. Wood, M. Arroz, D. Barnett D, J. Di Giuseppe, B. Greig, S.J. Kussick, T. Oldaker, M. Shenkin, E. Stone, P. Wallace. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry Part B Clin Cytometry* 2007;72B (Suppl 1):S14–S22.
- ⁴¹ Dworzak MN, Buldini B, Gaipa G, Ratei R, Hrusak O, Luria D et al. on behalf of the International-BFM-FLOW-network. AIEOP-BFM Consensus Guidelines 2016 for Flow Cytometric Immunophenotyping of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2018;94B:82–93.
- ⁴² Hrusak O, Basso G, Ratei R, Gaipa G, Luria D, Mejstrikova E, et al. on behalf of the AIEOP-BFM Flow Network. Flow Diagnostics Essential Code: A Simple and Brief Format for the Summary of Leukemia Phenotyping. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2014; 86B:288–291.
- ⁴³ G.J. Schuurhuis, M. Heuser, S. Freeman, M.C. Béné, F. Buccisano, J. Cloos, D. Grimwade, T. Haferlach, R. K. Hills, C. S. Hourigan, J. L. Jorgensen, W. Kern, F. Lacombe, L. Maurillo, C. Preudhomme, B.A. van der Reijden, C. Thiede, A. Venditti, P. Vyas, B. L. Wood, R. B. Walter, K. Döhner, G. J. Roboz and G. J. Ossenkoppele. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2018; 131(12): 1275-1291.
- ⁴⁴ Gatti A, Del Vecchio L, Geuna M, Della Porta MG, Brando B. Multicenter validation of a simplified method for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria screening. *Eur J Haematol*. 2017;1–9.
- ⁴⁵ WHO Expert Committee on Biological Standardization. 62nd report. Technical Report Series 2013, No. 979.
- ⁴⁶ Mackie I, Cooper P, Lawrie A, Kitchen S, Gray E, Laffan M, British Committee for Standards in Haematology Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Int J Lab Hematol*. 2013;35:1–13.
- ⁴⁷ Favaloro EJ, Lippi G. Laboratory reporting of haemostasis assays: The final post-analytical opportunity to reduce errors of clinical diagnosis in hemostasis? *Clin Chem Lab Med* 2010;48(3):309-21.

-
- ⁴⁸ Morelli B, Montaruli B, Calzoni P, Pradella P, Bellini C, Fontanini E per conto del Gruppo di Studio SIBioC Emostasi e Trombosi. Considerazioni sulle modalità di refertazione del tempo di protrombina e del tempo di tromboplastina parziale attivato. *Biochim Clin* 2024;48:102-3.
- ⁴⁹ van den Besselaar AMHP, van Rijn CJJ, Cobbaert CM, Reijnders GLA, Hollestelle MJ, Niessen R, et al. Fibrinogen determination according to Clauss: commutability assessment of International and commercial standards and quality control samples. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1761–9.
- ⁵⁰ Baker Guidelines on the laboratory aspects of assays used in haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol* 2020;191:347-362.
- ⁵¹ Lippi G, Tripodi A, Simundic AM, Favaloro EJ. International survey on D-dimer test reporting: a call for standardization. *Semin Thromb Hemost*. 2015;41:287–93.
- ⁵² Oude Elferink RFM, Loo AE, Van de Klashorst CGJ, Hulsebos-Huygen M, Piersma-Wichers M, Oudega R. Clinical evaluation of eight different D-dimer test for the exclusion of deep venous thrombosis in primary care patients. *Scand J Clin Lab Invest* 2015;75:230–83.
- ⁵³ www.eucast.org
- ⁵⁴ Payne et al. Toward harmonization of clinical molecular diagnostic reports: findings of an international survey doi.org/10.1515/cclm-2017-1080.