



Corso di Aggiornamento

**Aggiornamenti in Ematologia Diagnostica:
la valutazione microscopica normale patologica**

Milano, 14 – 15 Marzo 2013
Centro Convegni EDMED

Osservazione del sangue periferico al microscopio:
quello che gli strumenti non sempre vedono

Luca Germagnoli

Unilabs Ticino Lugano

Schistociti e microangiopatie trombotiche

- ❧ **gli schistociti sono frammenti di emazie o emazie che hanno perso porzioni di citoplasma**
- ❧ **sono generalmente assenti nei soggetti sani**
- ❧ **la loro presenza nel sangue periferico deve indurre la ricerca di patologie caratterizzate da anemia emolitica microangiopatica**
- ❧ **le caratteristiche morfologiche, le modalità di ricerca nel vetrino e di refertazione sono state definite a livello internazionale (Int J Lab Hem 2011)**

Microangiopatie trombotiche

- **è gruppo eterogeneo di sindromi cliniche**
- **2 principali situazioni cliniche, rappresentate dalla Porpora Trombotica Trombocitopenica (TTP) e da Sindrome Emolitico-Uremica (HUS)**
- **elevata mortalità in assenza di terapia appropriata e tempestivamente messa in atto**

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

TTP

- ✓ **patologia rara , prognosi severa (mortalità > 90%), PEX entro 4-8 ore**
- ✓ **diagnosticata in presenza di : ↓PLT, MAHA, sintomi neurologici e renali, febbre.
Le linee-guida (2006) : il sospetto clinico solo con ↓PLT e anemia emolitica microangiopatica**
- ✓ **sintomi neurologici nel 35% dei pazienti**
- ✓ **anormalità renali e febbre non preminenti**
- ✓ **diagnosi differenziale complicata**
- ✓ **laboratorio molto importante**

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

TTP

• Sottogruppi di TTP

- **TTP congenita → rara (circa 100 pz descritti)**
- **TTP acuta idiopatica → è la forma più comune, patogenesi autoimmune**
- **TTP HIV associata → puo' essere evento di esordio, oppure in caso di low CD4.**
- **TTP associata a terapia farmacologica → circa il 15% di tutti i casi, piu' spesso chinino, ticlopidina, clopidogrel, trimethoprim, peg-interferon**
- **microangiopatia trombotica (TMA) associata a neoplasia → adenocarcinomi.**

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

TTP

Sottogruppi di TTP

- **TTP associata a gravidanza**

5-25% di tutti i casi, esordio tardivo di una forma congenita, o di forma acuta idiopatica (gravidanza come causa scatenante), livelli normali pre-gravidanza

Table IV. Typical features in pregnancy-associated microangiopathies.

	MAHA	Thrombo cytopenia	Coagulo pathy	HBP	Abdominal symptoms	Renal Impairment	Neurological symptoms
PET	+	+	±	+++	±	±	++
HELLP	+	++	±	+	+++	+	±
TTP	++	+++	—	±	+	++	+++
HUS	+	++	±	++	+	+++	±
AFLP	±	+	++++	+	+++	++	+
SLE	+	+	±	+	±	++	+
APLS	+	++	±	±	±	±	±

PET, pre-eclampsia; HELLP, haemolysis, elevated liver enzymes and low platelets; TTP, thrombotic thrombocytopenia purpura; HUS, haemolytic-uraemic syndrome; AFLP: acute fatty liver of pregnancy; SLE, systemic lupus erythematosus; APLS, Antiphospholipid syndrome (catastrophic), MAHA, microangiopathic haemolytic anaemia; HBP, hypertension.

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

TTP

Sottogruppi di TTP

- (TTP) Microangiopatia associata a trapianto (TAM) → ↓PLT e MAHA associata a trapianto di midollo osseo, patogenesi sconosciuta, sono fattori di rischio il sesso F.
- Criteri diagnostici recentemente definiti (Haematologica 2007)

Table 3. The definition of transplant-associated microangiopathy (TAM) by the International Working Group.

All of the following present

- Increased percentage (>4%) of schistocytes in peripheral blood
- *De novo*, prolonged or progressive thrombocytopenia (platelet count less than $50 \times 10^9/L$ or a 50% or greater decrease from previous counts)
- Sudden and persistent increase in LDH
- Decrease in hemoglobin concentration or increased red blood cell transfusion requirement
- Decrease in serum haptoglobin concentration

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

• Sottogruppi di TTP

- (TTP) **Sindrome Emolitico Uremica →**
- **HUS con diarrea (D+), associata a diarrea ematica indotta da tossine Shiga-like**
- **HUS (D-), 20% circa dei casi, sintomatologia simile a TTP, principale differenza è la frequente presenza di interessamento renale**

Sindromi con anemia emolitica microangiopatica

- **laboratorio molto importante**
- **piastrinopenia, da consumo all'interno di trombi ricchi in PLT**
- **anemia, da frammentazione meccanica dei RBC nel passaggio attraverso vasi**
- **riduzione aptoglobina, aumento RET, DAT negativo, ↑LDH**
- **screening coagulazione e fibrinogeno non alterati ADAMST13**
- **presenza di schistociti all'osservazione dei preparati di sangue periferico**

schistociti: come si identificano?

in base a criteri morfologici ben definiti

- sono sempre **più piccoli** rispetto a RBC intatto
- possono essere frammenti di varia forma :
 - con spigoli o spine, di forma triangolare, con bordo rotondeggiante ad un lato, generalmente con colorazione intensa, scura
- Helmet cell: RBC danneggiati con un'area amputata con contorno netto
- Keratociti → con 2 spine separate da un segmento concavo di membrana
- microsferociti → RBC di forma sferica, iperdensi (intensamente colorati), di piccole dimensioni, prive di area centrale pallida.

Questi elementi sono secondari al fenomeno di frammentazione .
Sono da contare come schistociti se copresenti alle precedenti forme

International Journal of Laboratory Hematology

The Official Journal of the International Society for Laboratory Hematology



ORIGINAL ARTICLE

INTERNATIONAL JOURNAL OF LABORATORY HEMATOLOGY

ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes

G. ZINI*, G. D'ONOFRIO†, C. BRIGGS‡, W. ERBER§, J. M. JOU¶, S. H. LEE**, S. MCFADDEN††, J. L. VIVES-CORRONS¶, N. YUTAKA††, J. F. LESEVE§§

schistociti: come identificarli?

Devono essere identificati

- **mediante osservazione al microscopio ottico di preparati da sangue periferico colorati con procedura standardizzata (ICSH 1984)**
- **i preparati ematici da strisciatori automatici sono accettabili**
- **Esprimere il risultato in %, dopo conteggio di ≥ 1000 RBC, con immersione, se necessario. Referto solo qualitativo.**
- **la presenza di schistociti in percentuale $> 1\%$ indica TMA**
- **gli schistociti devono rappresentare la principale alterazione morfologica presente, talvolta con segni di eritropoiesi accelerata (policromasia, punteggiatura basofila, nRBC)**

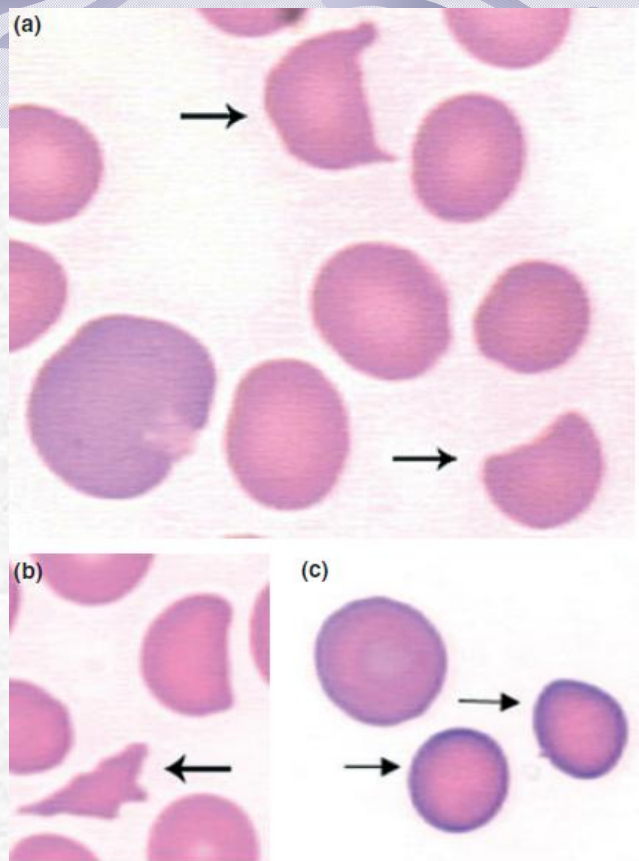


Figure 1. Typical shapes for specific identification of schistocytes. (a) keratocyte (upper arrow) and helmet cell (lower arrow), close to a polychromatophilic erythrocyte in the left lower corner; (b) a triangle schistocyte (arrow) with a helmet cell on the upper right; (c) two microspherocytes (arrows); they are derived, in a context of thrombotic microangiopathic anemia, from schistocytes.

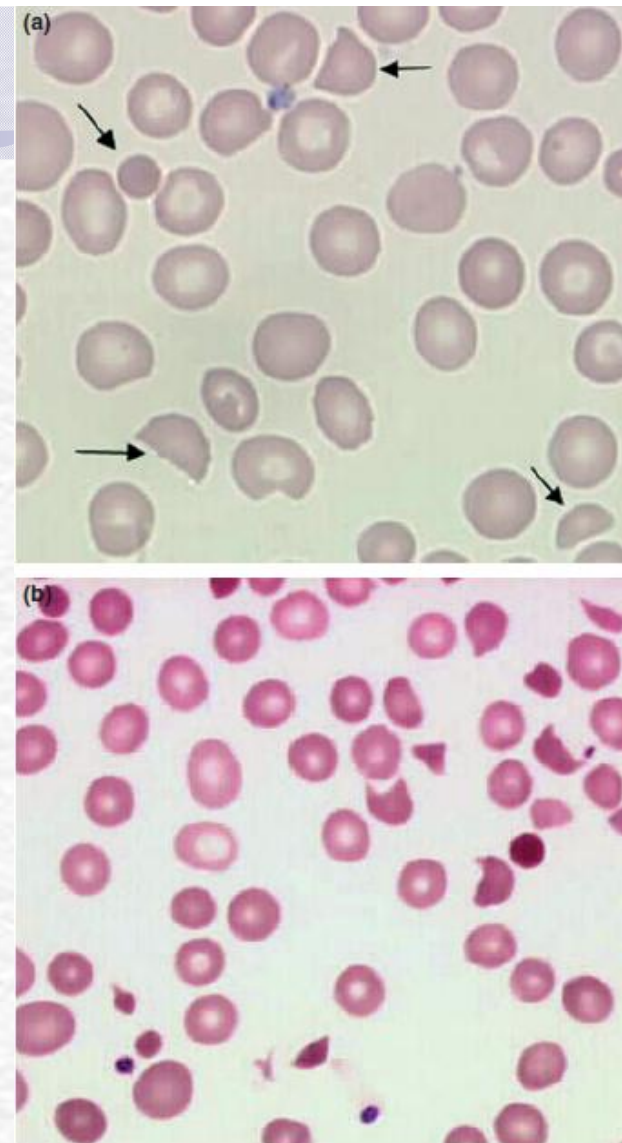
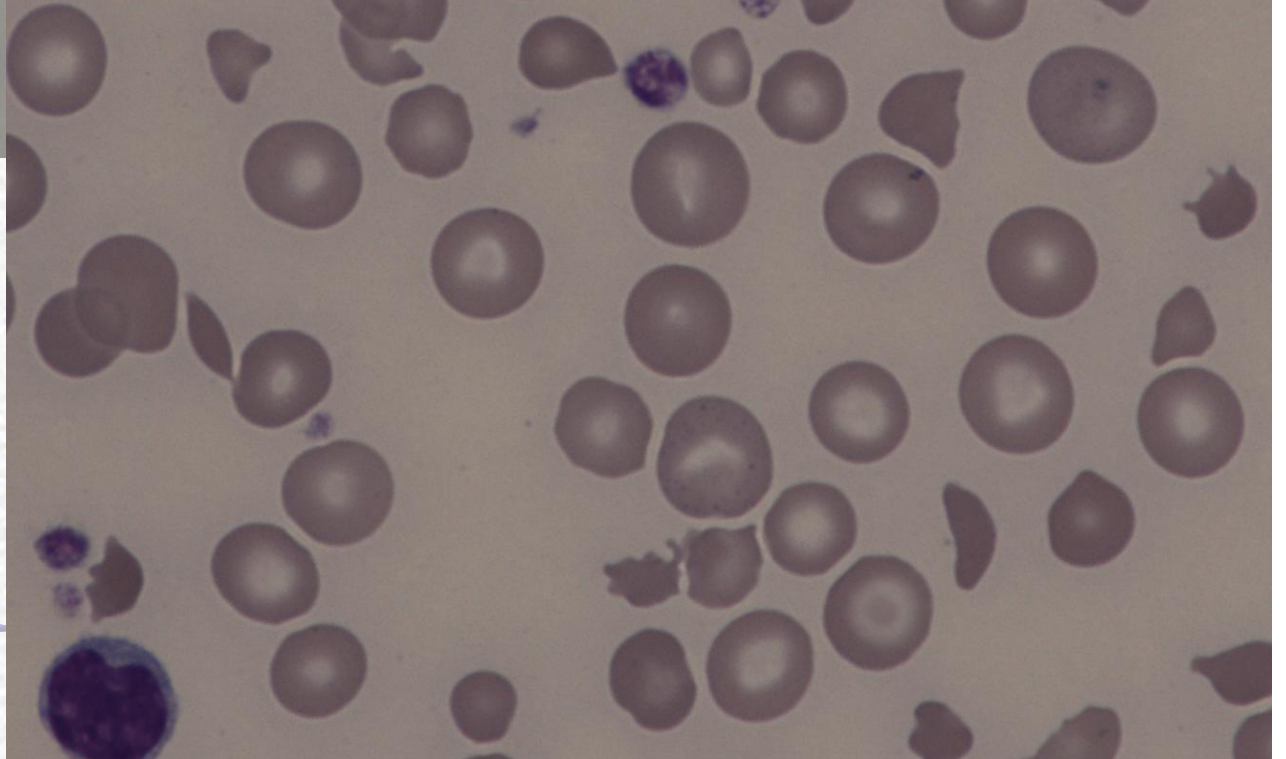
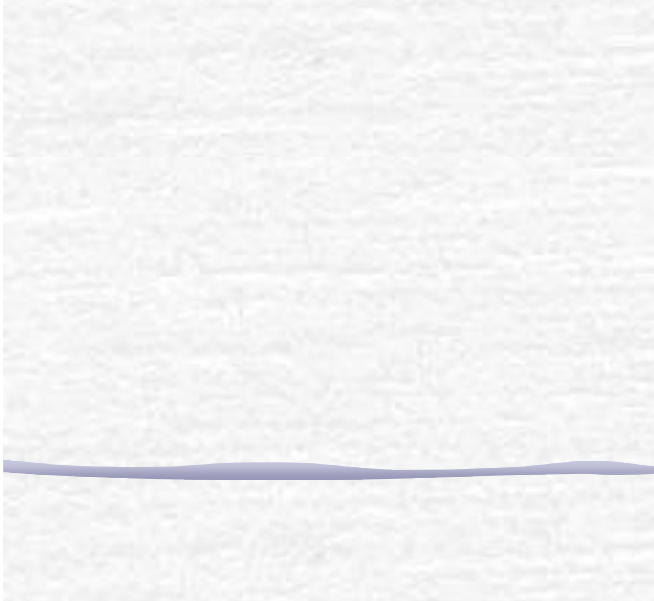
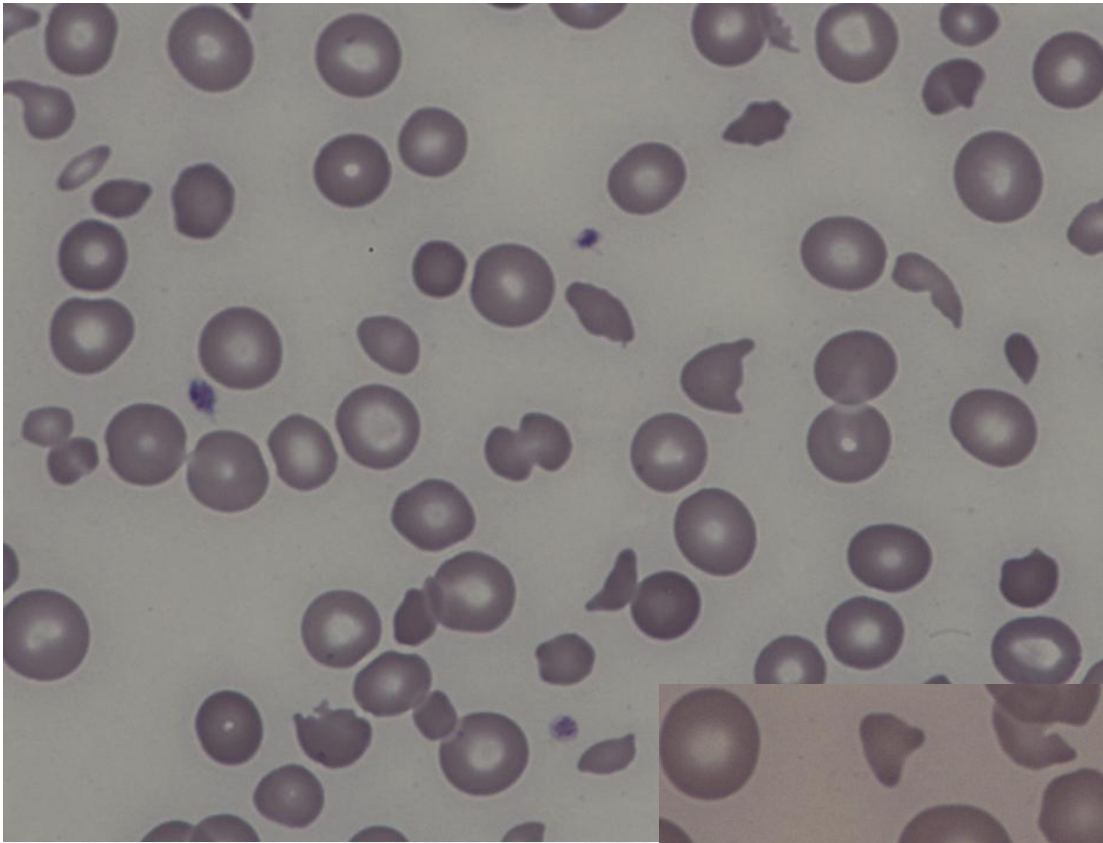
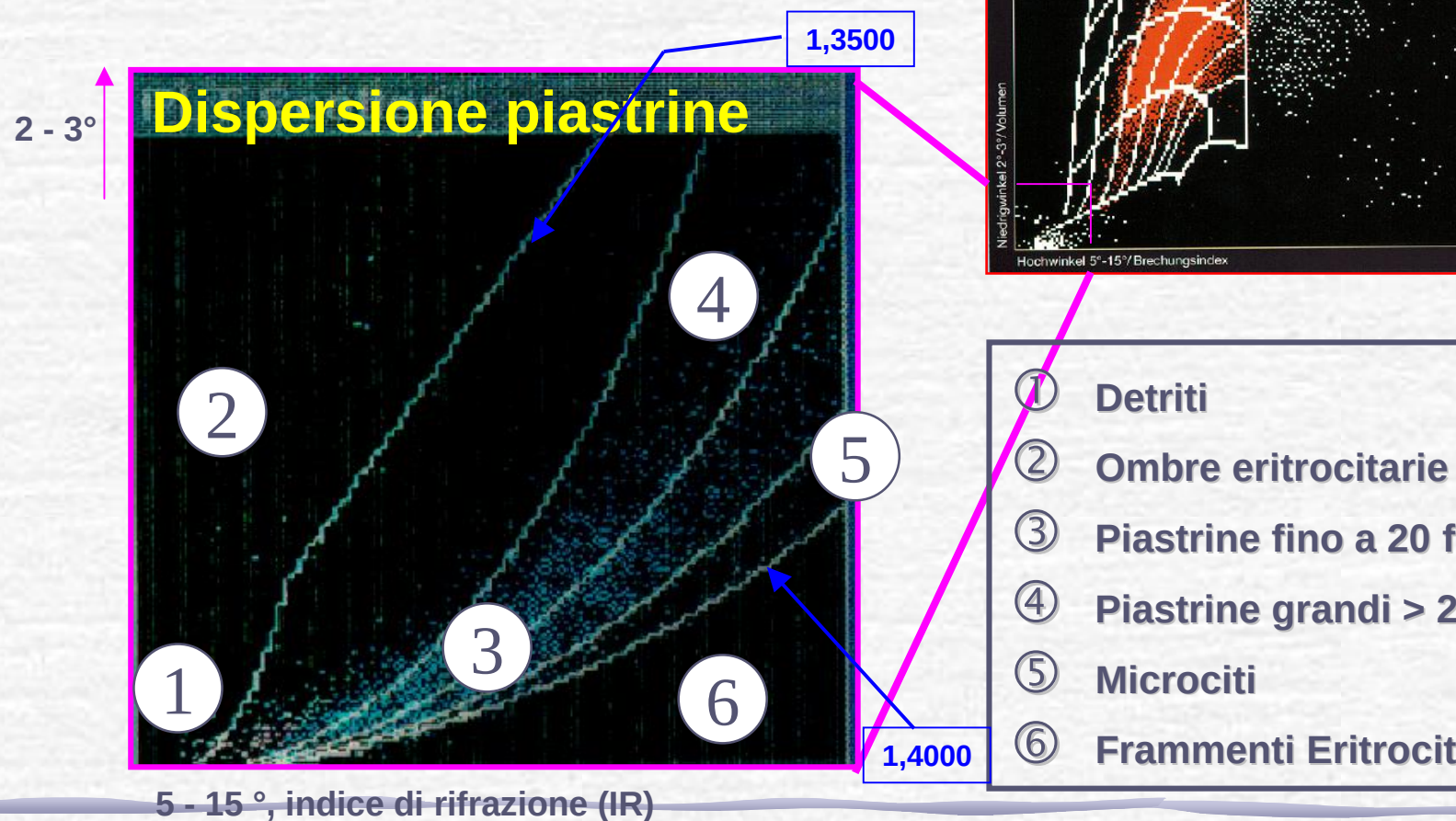


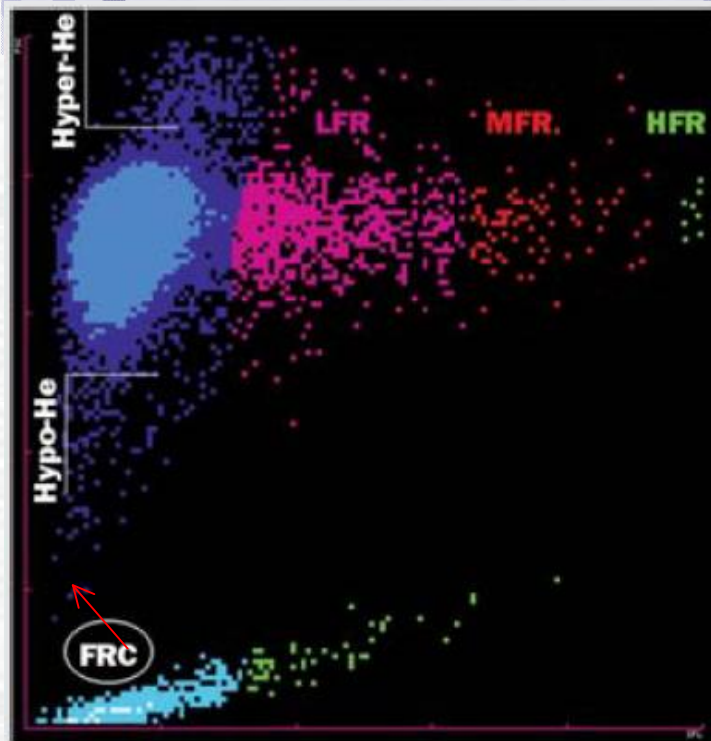
Figure 2. Peripheral blood smear from a case of thrombotic thrombocytopenic purpura. (a) arrows indicate a helmet cells (lower left), a microspherocyte (upper left), a keratocyte (center top), and a microcrescent (lower right angle); (b) morphological abnormalities include microspherocytes, keratocytes, helmet cell, and several crescent and triangular schistocytes.



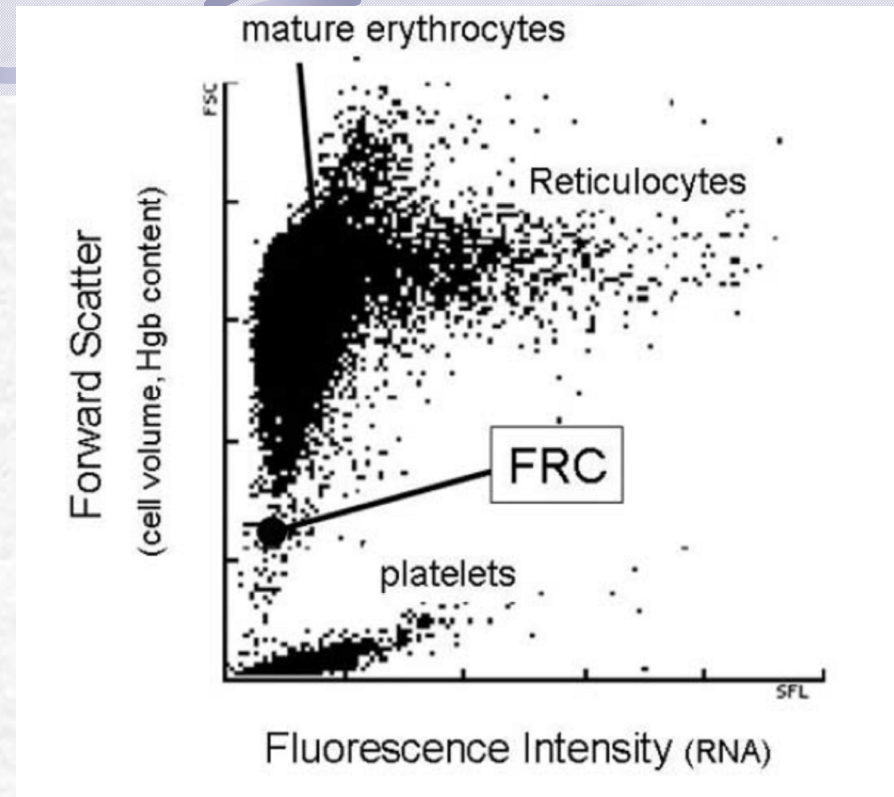
SIEMENS



Analisi Reticolociti



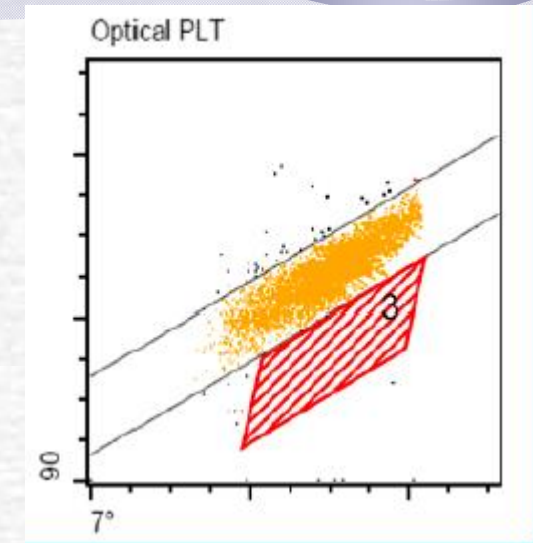
FSC
SFL



- Colorazione con un reagente fluorescente (polymethine – contenuto in RNA) e costruzione dello scattergram con forward scatter in asse Y (volume) ed intensità di fluorescenza laterale in asse X
- Lo studio della popolazione RBC consente di indicare la presenza di frammenti eritrocitari (**FRC**), espressi in % e #

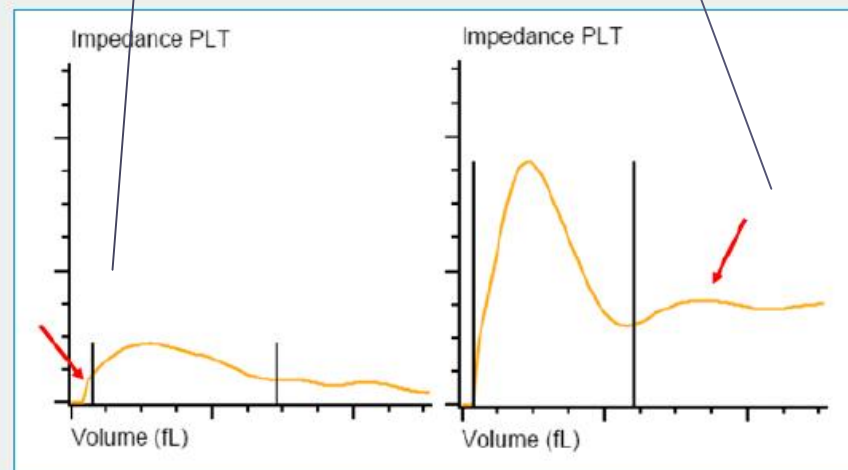
Conteggio PLT-O

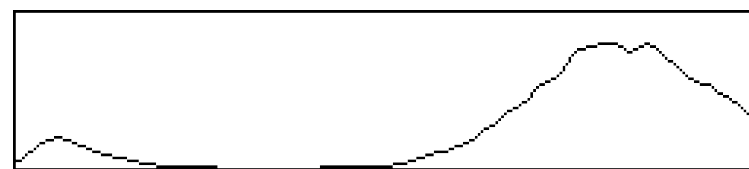
- ✓ I discriminanti dinamici si adattano alle variazioni dimensionali e segnalano il cluster a maggiore densità
- ✓ Eventi differenti da PLT possono comparire nello scatterplot:
 - ✓ Regione 3 – più spesso frammenti RBC e WBC
 - ✓ non esiste un flag specifico per schistociti



Frammenti, grandi PLT, microciti, particelle non ematiche

Frammenti, particelle non ematiche

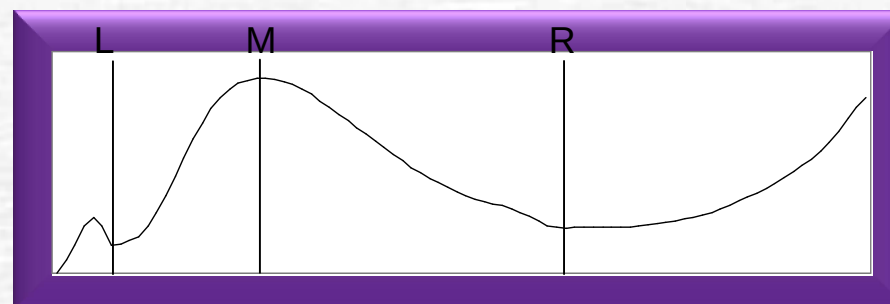




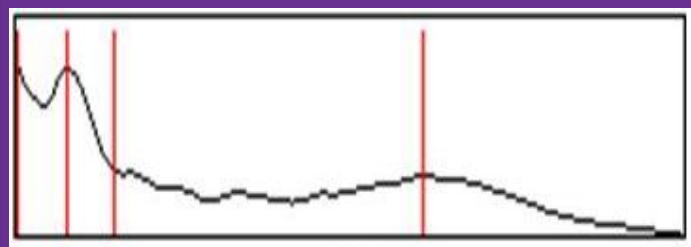
PLT Extended

256 Channel histogram including platelets and RBC

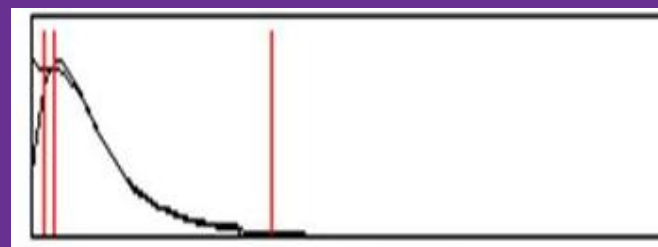
- specific flag per schistociti
- generata da algoritmi da
 - curva complessiva PLT-RBC
 - istogramma WBC
 - dati del modulo NRBC



WBC



PLT Average Histogram



Schistociti e contaglobuli automatici

- Gli strumenti di ultima generazione analizzano i campioni per la presenza di schistociti/frammenti eritrocitari
- 2 tecnologie (Siemens Advia e Sysmex XE-2100) sono ampiamente studiate e descritte in letteratura
- Parametro apparentemente dotato di **elevata sensibilità** ma **poco sensibile** (pari circa al 20%) per interferenza da parte di PLT, anisopoichilocitosi, frammenti differenti da schistociti e noise in generale. Descritta per Sysmex interferenza da IPO-He
- Buon accordo statistico con l'osservazione al MO, ma **generale tendenza ad una sovrastima degli analizzatori**, piu' evidente per Advia a bassi valori di FRC, all'opposto per Sysmex
- limiti di riferimento: 0.03-0.58% (Jiang 2001)
per Advia: valori medi/mediani 0.2-0.4%
per Sysmex: 0.3-1.1%
(Int J Lab Hem 2012; 34: 566)
- **parametro SEMPRE da verificare al MO**

Eritroblasti nucleati (nRBC)

è necessario riconoscere la presenza di nRBC

in campo neonatologico

- fornire un conteggio WBC corretto in situazioni di fisiologica presenza di nRBC
- come fattore prognostico in condizioni di prematurità e per asfissia e ipossia fetale
- come fattore prognostico e predittivo del rischio nei neonati pretermine per emorragia cerebrale

Reference (first author)	Sample number	NRBC/ μ L [$\bar{x} \pm 1$ SD]	Time after birth	Gestational age
Naeye[2]	84	919 $\pm$ 1425	1 h	term
		560 $\pm$ 771	6 h	term
Green[3]	102	400 $\pm$ 1300	12–24 h	37–41 weeks
Green[4]	26	2900 $\pm$ 3600	$\leq$ 24 h	23–26 weeks
	37	1200 $\pm$ 1800	–“–	27–29 weeks
	86	1000 $\pm$ 900	–“–	30–32 weeks
Buonocore[5]	47	8521 $\pm$ 1620	birth (cord blood)	24–27 weeks
	185	4548 $\pm$ 473	–“–	28–36 weeks
	105	1689 $\pm$ 290	–“–	37–41 weeks

Table 1 : Reference values from healthy neonates corresponding to time after birth and gestational age

Eritroblasti nucleati (nRBC)

in età pediatrica e nell'adulto

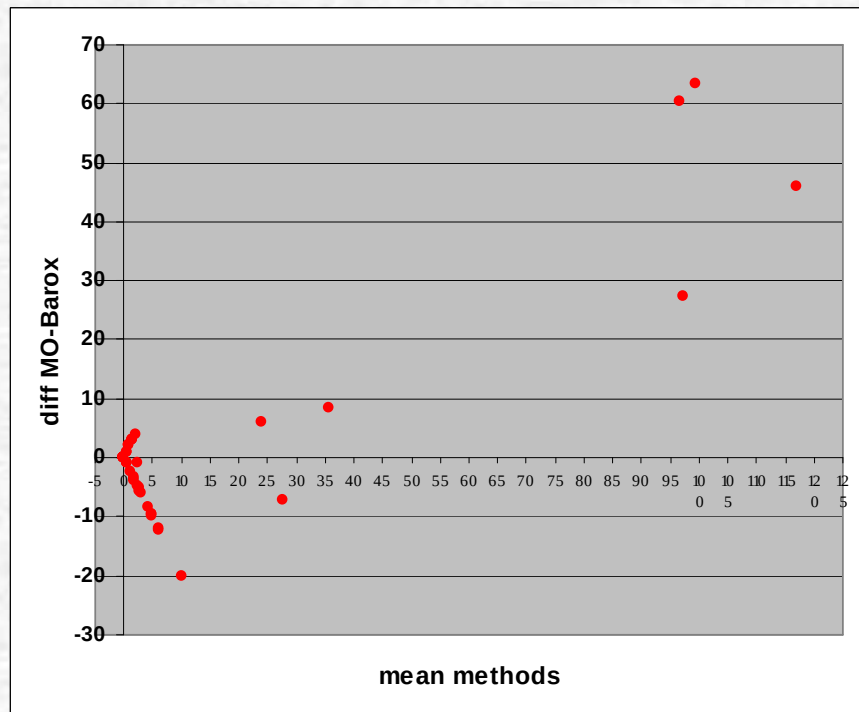
- fornire un conteggio WBC corretto in presenza di nRBC
- escludere la presenza di patologie ematologiche e di alterazioni ematopoietiche
- nelle sindromi talassemiche per il monitoraggio della condizione di eritropoiesi inefficace e di stress midollare allo scopo di modulare la terapia trasfusionale (Lab Hematol 1997;3:129-CCLM 2009;47:1539)
- nRBC in terapia intensiva è fattore prognostico negativo per mortalità
- nRBC è fattore prognostico negativo per mortalità in cardiocirurgia, **nei grandi ustionati**, in chirurgia toracica dopo trapianto di midollo

Eritroblasti nucleati (nRBC)

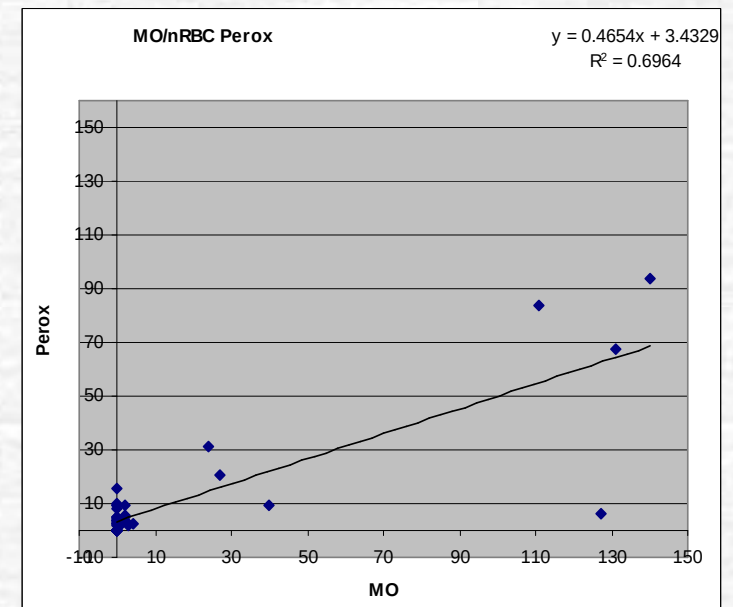
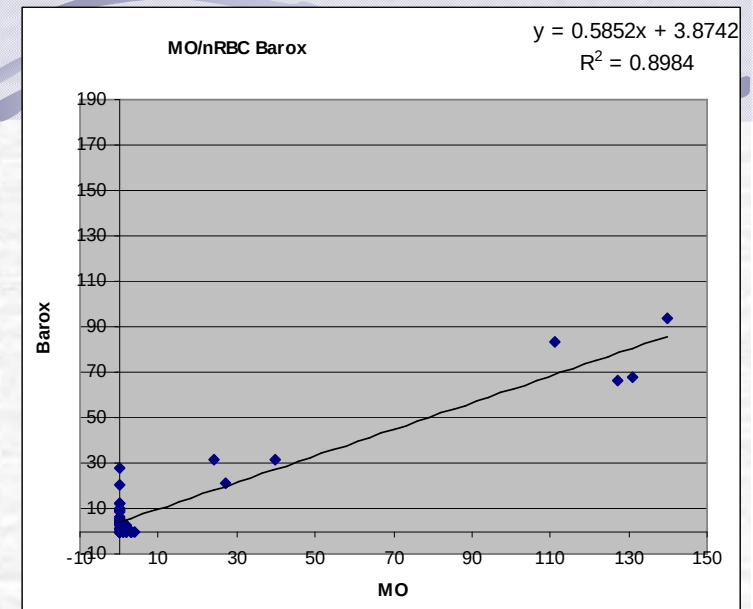
- **Gli analizzatori di ultima generazione forniscono il conteggio nRBC, di qualità accettabile**
- **Per il conteggio di nRBC si utilizzano tre principi analitici**
 - fluorescenza → Abbott Sapphire, ABX Pentra 120, Sysmex XE-2100/5000
 - volume , conduttività e scatter → Beckman Coulter LH700 e DxH800
 - volume, densità nucleare e citochimica automatizzata → Siemens Advia
- **L'accordo con il MO è discreto**
- **il conteggio con la fluorescenza sembra migliore**
- **Il solo allarme da migliore performance , rispetto al risultato quantitativo**

Eritroblasti nucleati: qualche performance strumentale

- **Advia vs Microscopio Ottico**
- 47 campioni scelti in base alla presenza di flag Advia 120, 2 operatori, 2 preparati differenti, 400 RCB totali
- valutazione di conteggio BAROX% e Perox%



	Barox		Flag		Perox
sens	50	sens	75	sens	100
spec	39	spec	23	spec	48

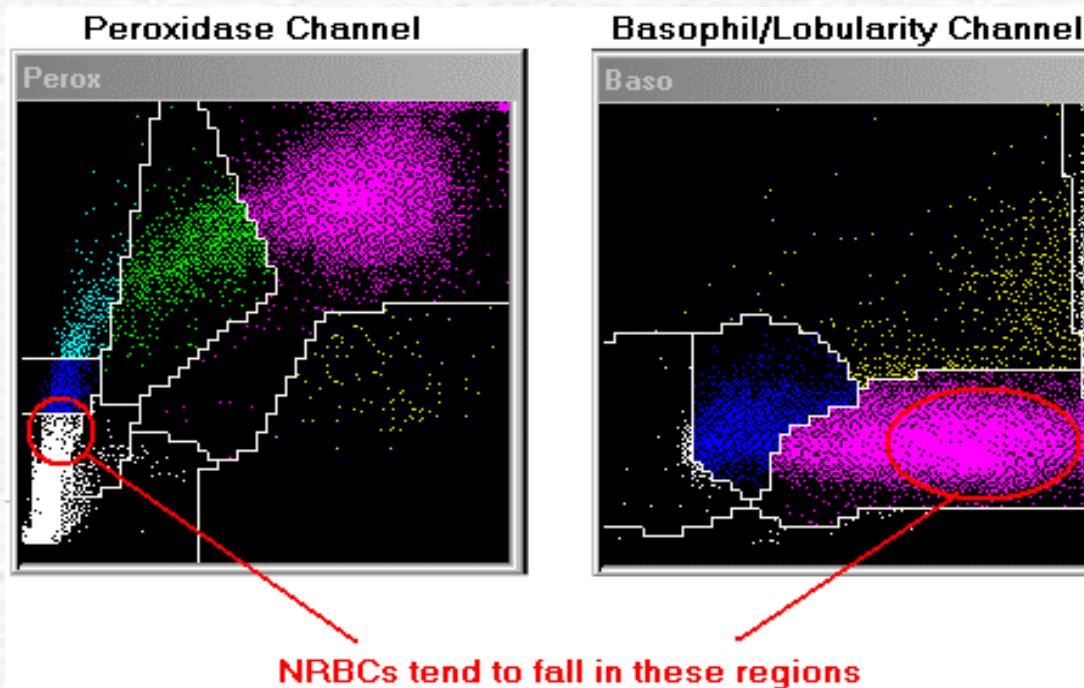


Metodo NRBC ADVIA 2120

Il metodo nRBC è basato sulle caratteristiche fisiche degli eritroblasti:

- la dimensione
- le caratteristiche citochimiche (Perox NEG)
- la densità dei nuclei degli nRBC

Più piccoli dei
linfociti
Più grandi della
maggioranza
delle piastrine



Più densi dei
nuclei dei
mononucleati

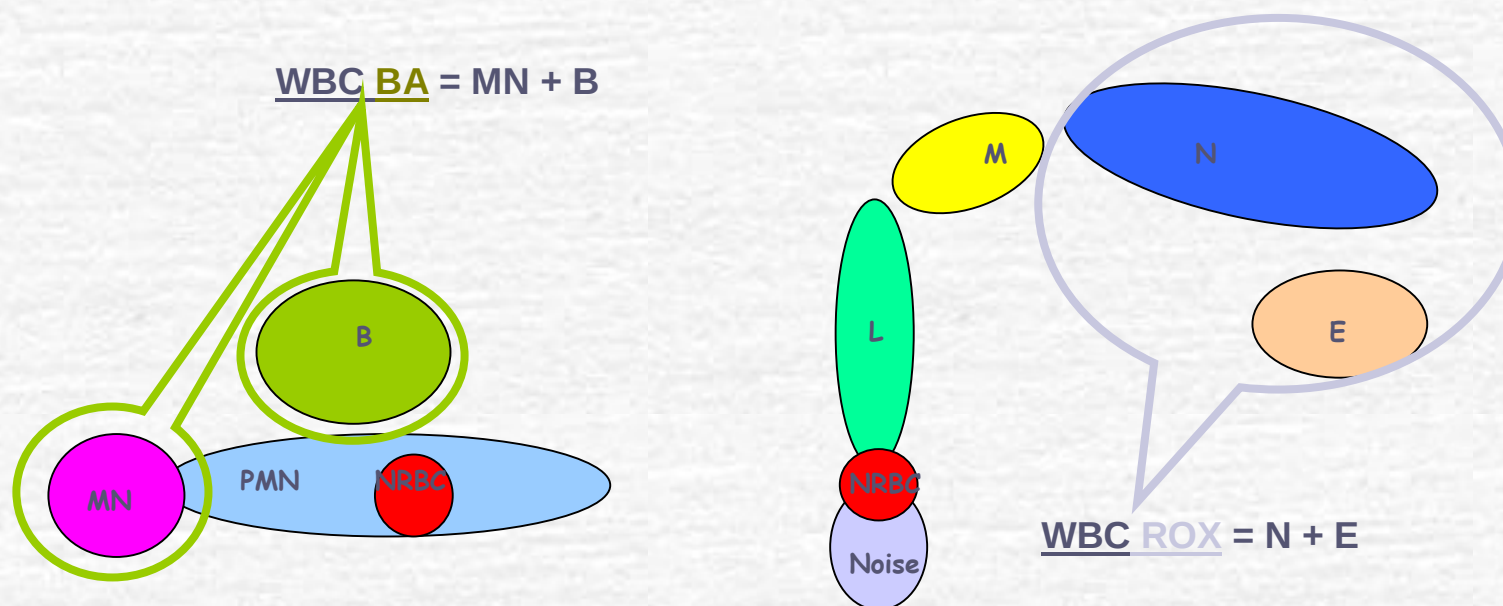
Quattro conteggi indipendenti di nRBC (3 Perox, 1 Barox)

- nRBC / μL sono almeno 200
- nRBC almeno 2% con WBC almeno 3.000 / μL

Analisi Citogramma :Conteggio BAROX nRBC

Il conteggio nRBC **BAROX** è calcolato combinando i conteggi assoluti dalla regione della Perossidasi e il canale Basofili/Lobularità.

$$\text{nRBC} = \text{WBCB} - (\# \text{ Neu} + \# \text{ Eos}) - (\# \text{ Baso} + \# \text{ MN})$$



I veri WBC sono considerati come la somma - canale Baso (BA)- dei Basofili e dei Mononucleati, e - canale Perox (ROX)- dei Neutrofili e degli Eosinofili :

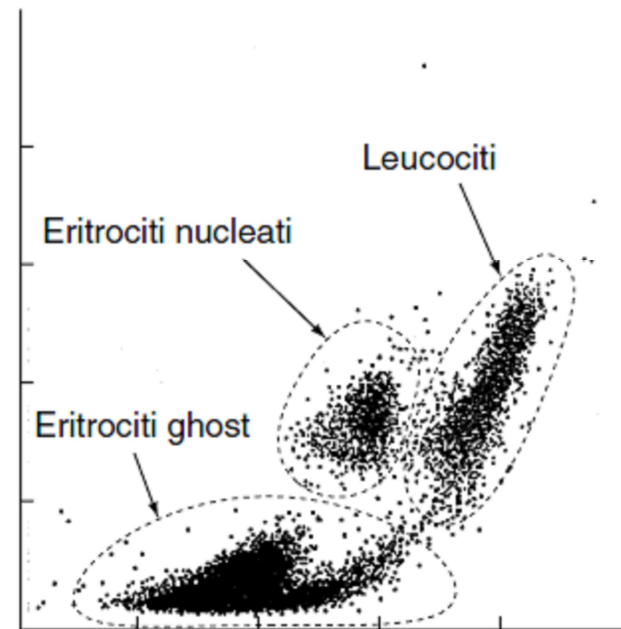
tutti questi cluster non subiscono l'interferenza di eventuale presenza di eritroblasti

NRBC come da strumenti Dasit

- Metodo in citometria a flusso in fluorescenza con laser a semiconduttore
- Costruzione di uno scattergram con distribuzione bidimensionale della luce diffusa frontalmente e della luce a fluorescenza laterale
- Dopo l'analisi vengono visualizzati cluster corrispondenti a ghost RBC, leucociti e nRBC



7. Scattergram NRBC





Flow Cytometric Digital Morphology

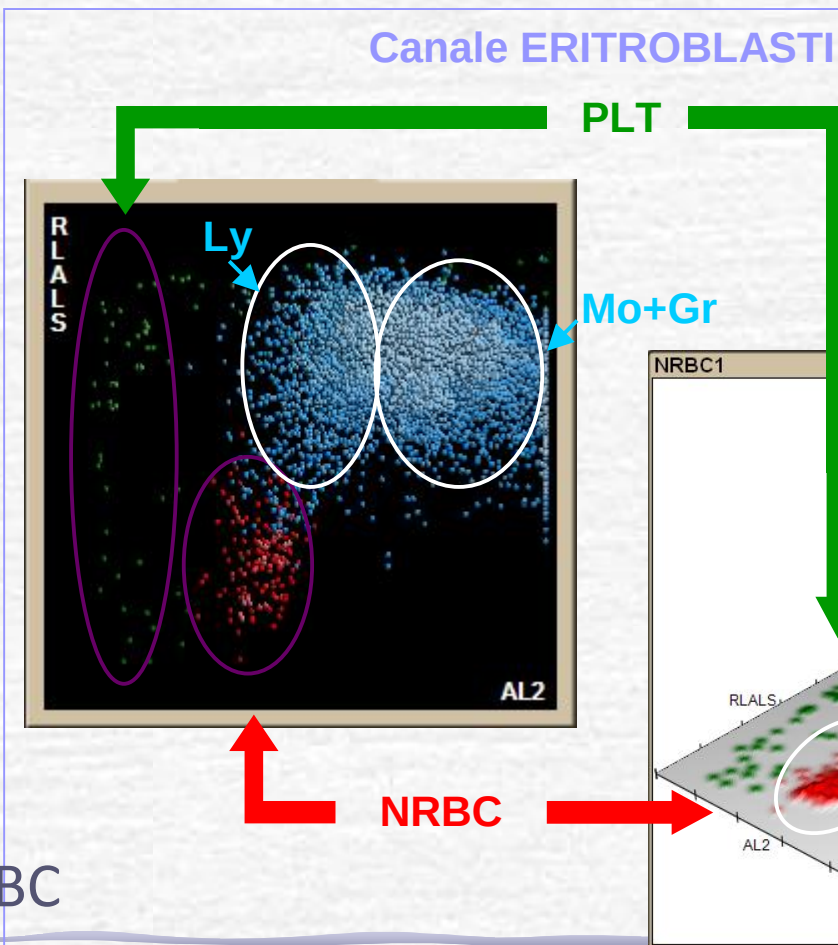
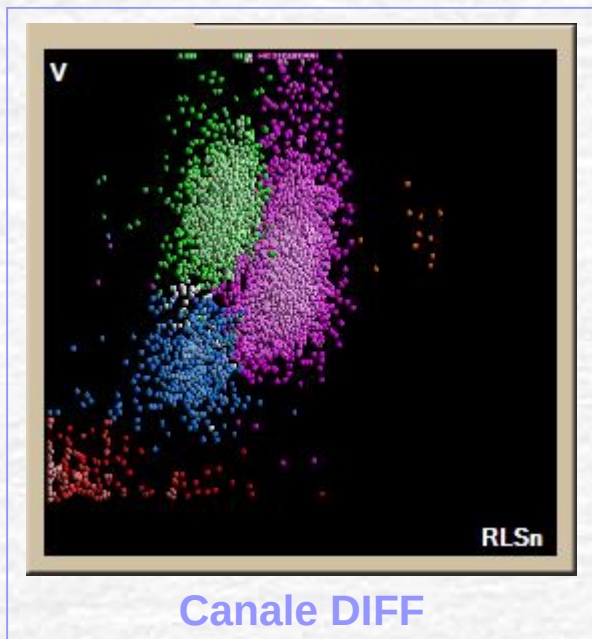
Eritroblasti

Reagenti specifici

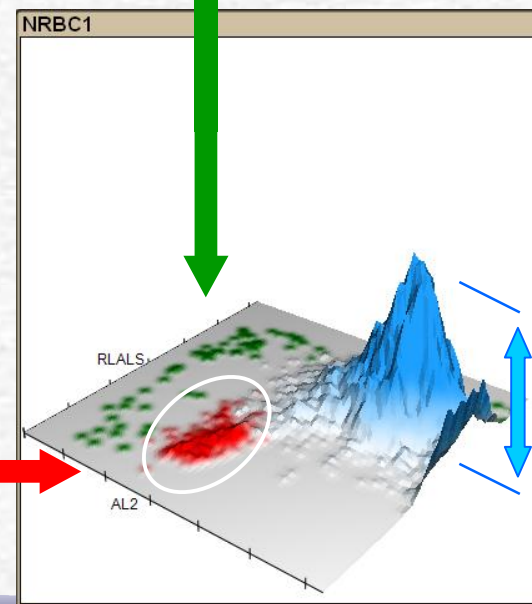
Determinazione DIRETTA con CANALE DEDICATO

Analisi NRBC

NRBC	Rossa
Altri*	Verde
WBC	Blu



RBC, PLT, detriti

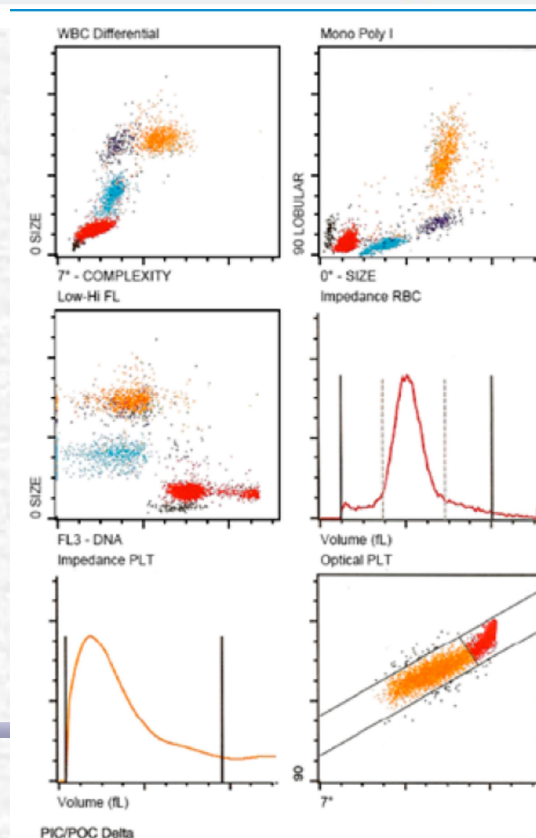
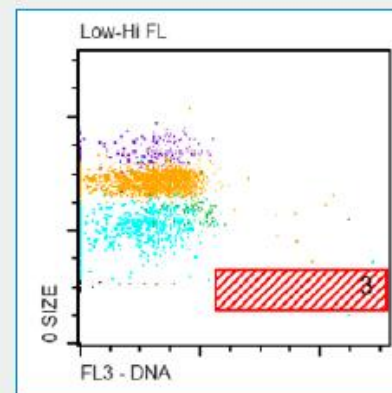
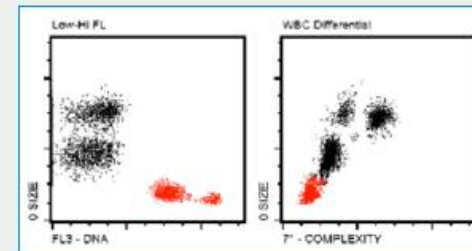


56 parametri modulo NRBC

Step 2: identification of NRBC and non-viable WBC

Using a scatter plot of 0° (size) against FL3 (DNA), the algorithm identifies NRBC as small sized fluorescent events. Fluorescent events of larger size are considered as non-viable WBC. Figure 1.4B demonstrates this step. If present, NRBC are colored red in the scatterplots; non-viable WBC get the color of the cell type which they belong to. NRBC's are excluded from all following steps.

- nRBC letti in fluorescenza (630 nm, FL3)
- evidenziati in differenti scatterplot
- meglio evidenziati in Low-Hi FL (size/FL3 DNA), ben differenziati rispetto alle cellule non viable



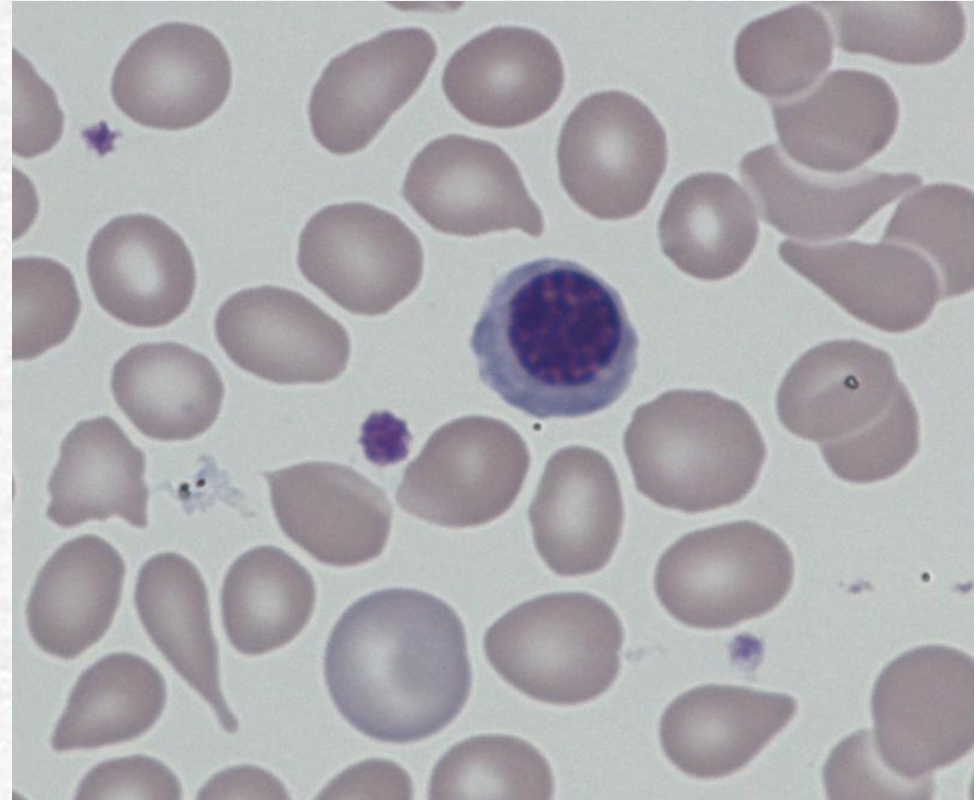
Eritroblasti nucleati

allarme poco specifico

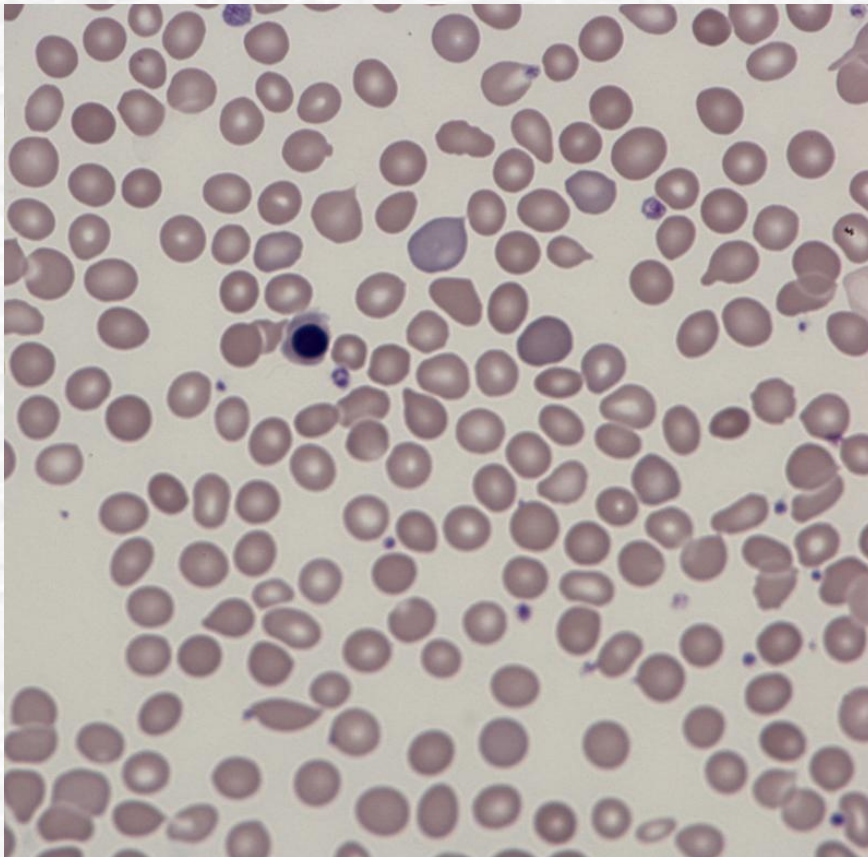
- eterogeneità morfologica di nRBC
- nRBC possono essere inclusi nella zona di noise (PLT clumps, parassiti della malaria, RBC resistenti alla lisi...)
- migliore specificità, ma non ottimale
- costo ridotto
- tempi brevi
- conte WBC e differenziale leucocitaria corrette, esenti dall'interferenza da nRBC

NO materiali per IQC e EQC

parametro SEMPRE da verificare al MO



Eritroblasti nucleati



Sferociti e sferocitosi ereditaria

- **Gruppo eterogeneo di disordini per severità clinica, tipo di difetto di membrana e modalità di trasmissione genetica**
- **è la più frequente causa di emolisi cronica congenita in Europa e in Nord America (1/2000 nati)**
- **l'alterata morfologia RBC e la ridotta sopravvivenza sono causate dalla carenza o dall'alterazione delle proteine strutturali di membrana spectrina, anchirina, banda 3 e proteina 4.2**
- **apparente correlazione tra clinica e fenotipo proteico**

Sferociti e sferocitosi ereditaria

- La severità clinica varia da forme asintomatiche a ittero severo
- HS può essere di difficile individuazione nelle forme mild (no anemia e no $\uparrow$ bilirubina) e nei carrier, talvolta in assenza di sferociti, di alterazione degli indici RBC e di $\uparrow$ di RET
- Più spesso diagnosticata nei bambini e nel giovane adulto; nel 75% positivo riscontro in famiglia
- Diagnosi differenziale: con anemia emolitica autoimmune - DAT +, con i difetti enzimatici, ipofosfatemia, ustioni estese e con altre forme di alterazione di membrana cellulare, in presenza di morfologia atipica:(serve?)
 - Acantociti, presenti nel 8-15% delle HS
 - Pincerred RBC in pazienti non splenectomizzati con alterazione della banda 3
 - Ovalociti e stomatociti in pz con carenza di proteina 4.2
 - Importante diagnosi differenziale con la stomatocitosi ereditaria

Sferociti e sferocitosi ereditaria

Diagnosi

Anamnesi familiare, storia clinica, esame obiettivo (splenomegalia, ittero)

Laboratorio (bilirubina, emocromo completo, reticolociti), indici eritrocitari, presenza di sferociti allo striscio

MCHC elevato (> 34-35 g/dL)

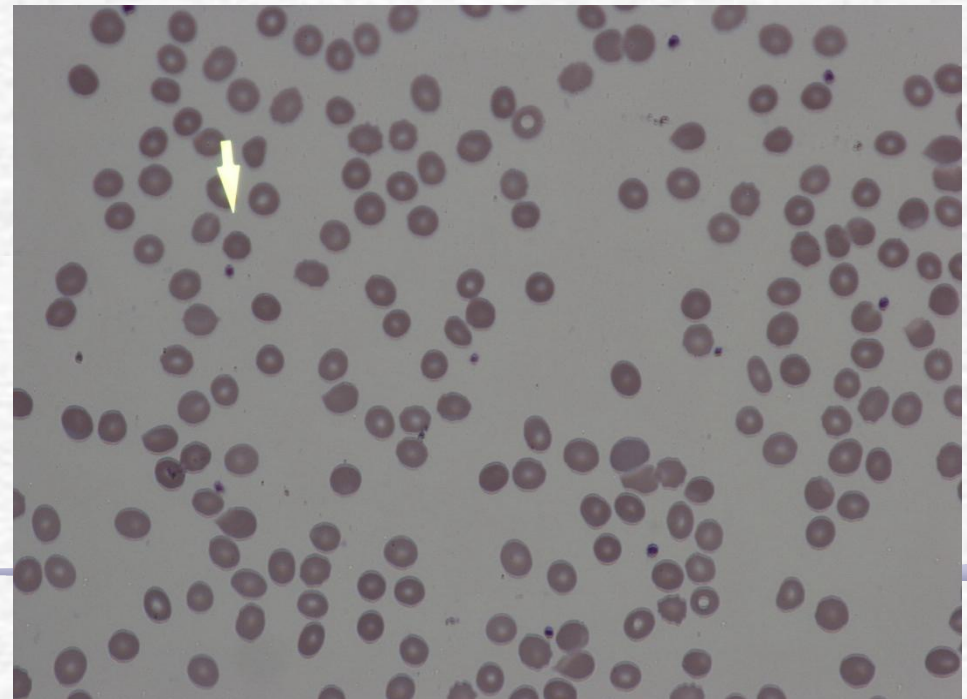
Table IV. Diagnostic parameters for hereditary spherocytosis.

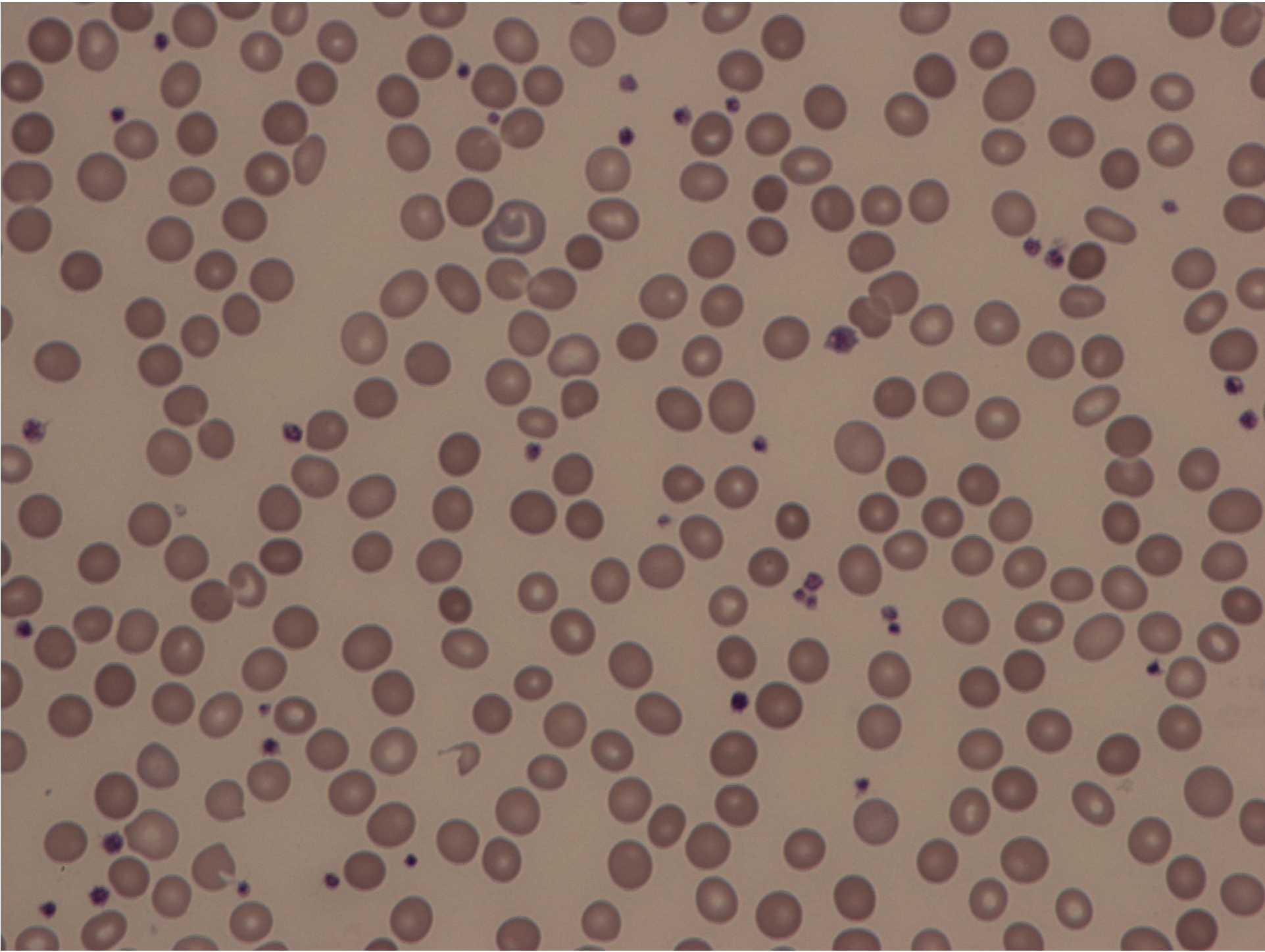
Parameter	Features
Clinical features	Splenomegaly almost always
Laboratory red cell indices	(↓Hb, ↓MCV, ↑MCHC, ↑% hyperdense cells, ↑RDW, ↑reticulocyte count)
Blood film	Abnormal morphology – spherocytes
Direct antiglobulin test	Negative
Evidence of haemolysis	Raised bilirubin; reticulocytosis

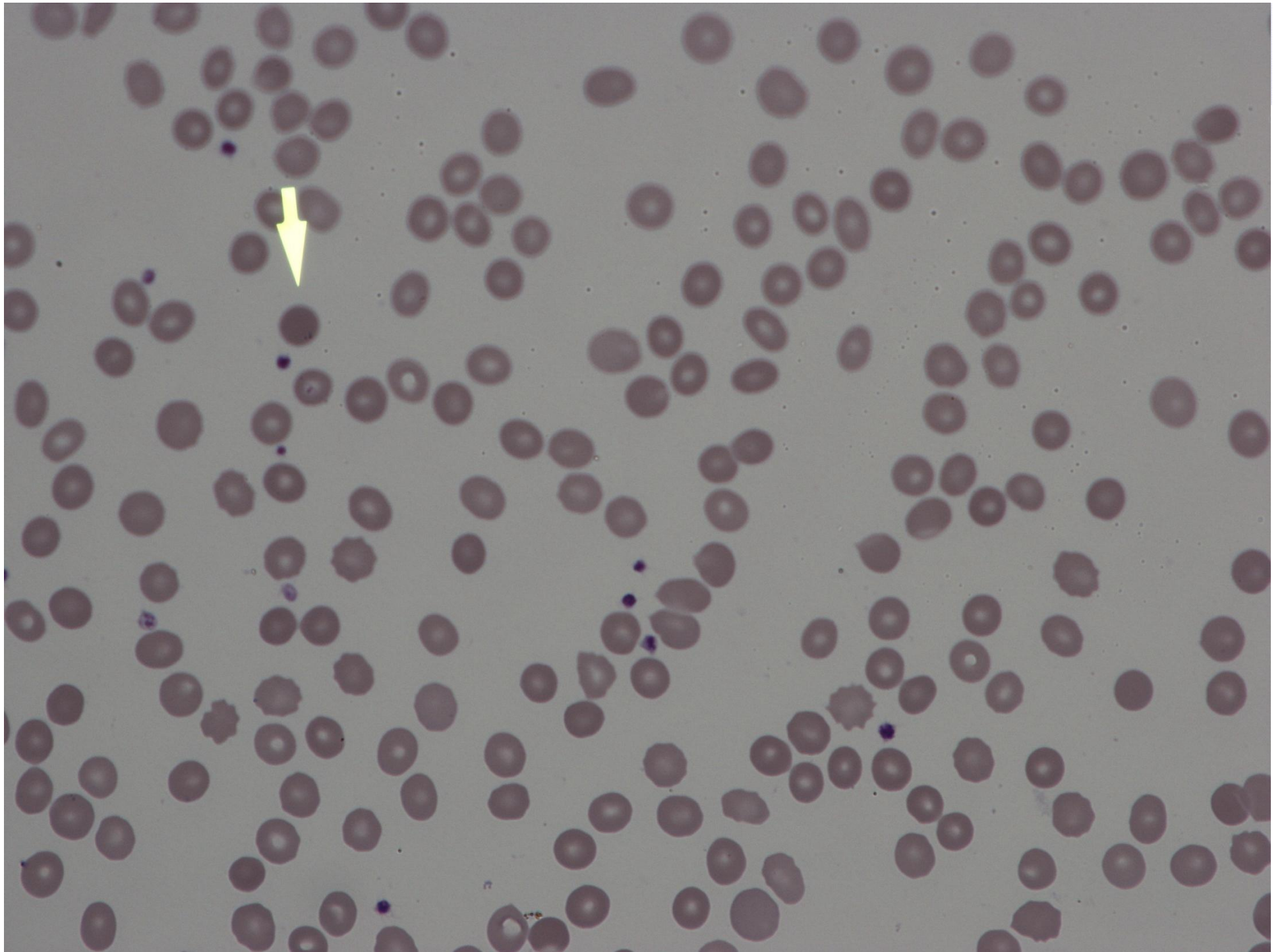
MCV, mean cell volume; MCHC, mean cell Hb concentration; RDW, red cell distribution width.

Sferociti e sferocitosi ereditaria

- ✓ **Sono RBC densi, di colore omogeneo, di forma rotonda, con contorno liscio e regolare, privi dell'area chiara centrale**
- ✓ **RBC con diametro ridotto, ma con volume, espresso come MCV, normale o poco ridotto**
- ✓ **La loro percentuale varia in rapporto alla eterogeneità dell'espressione clinica**
- ✓ **La loro presenza non permette diagnosi univoche**

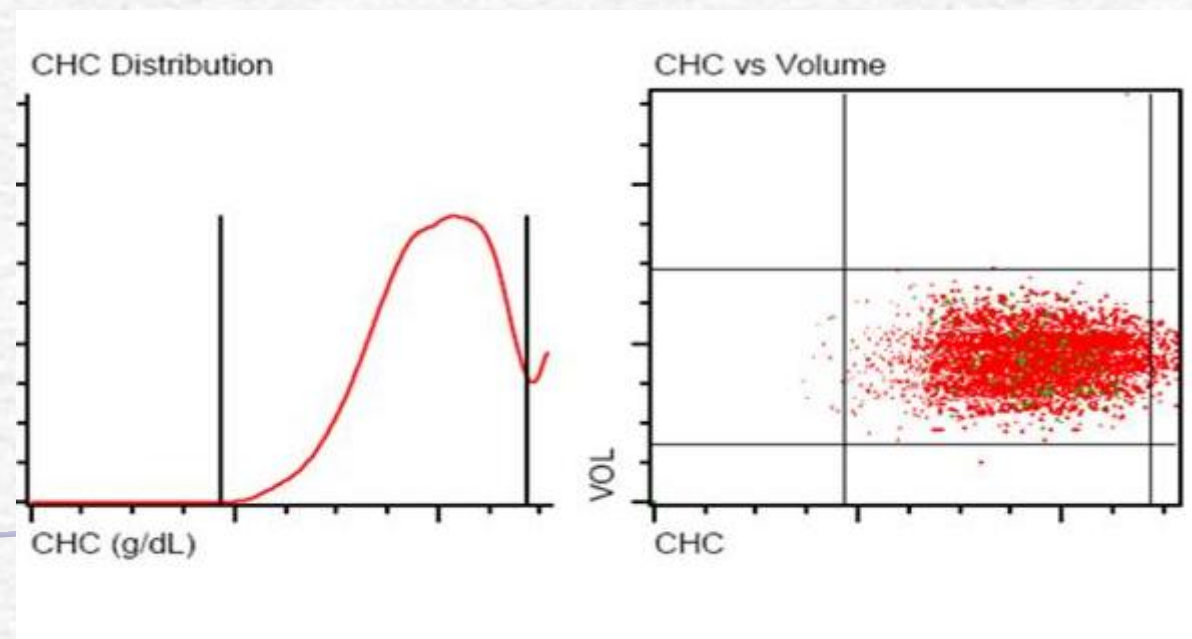
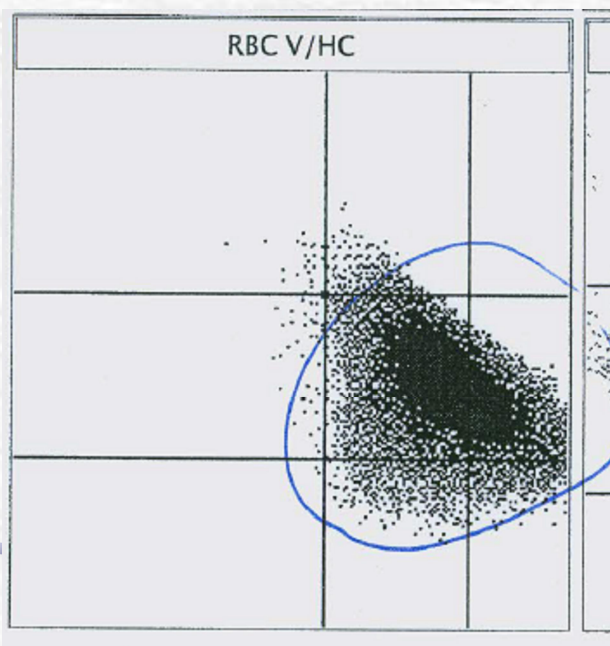






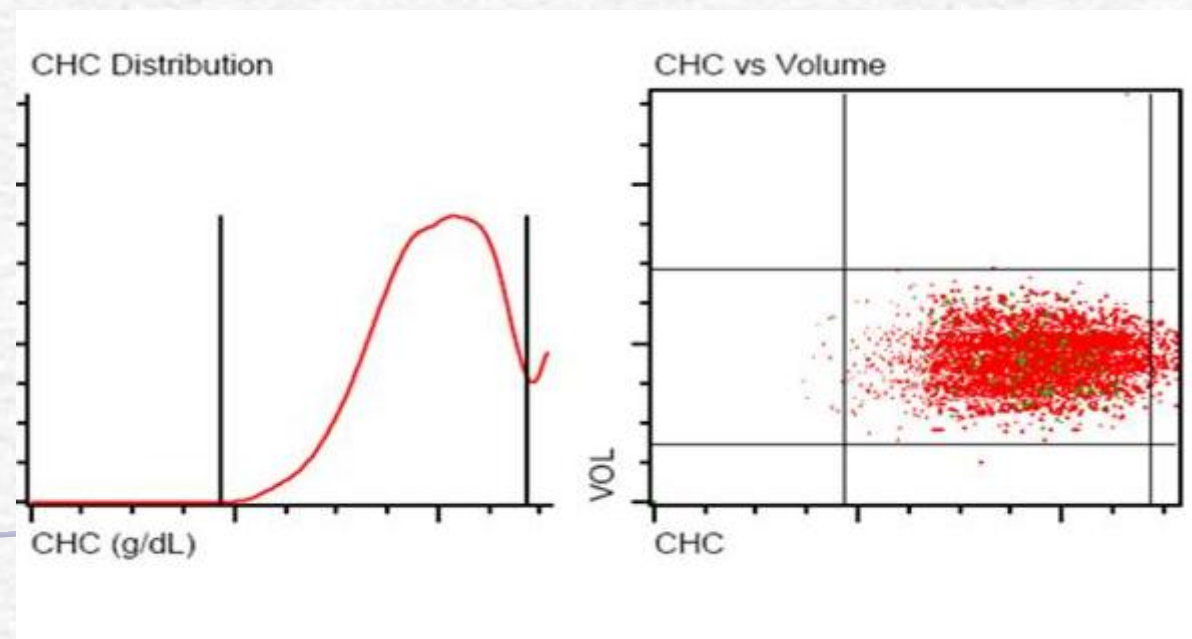
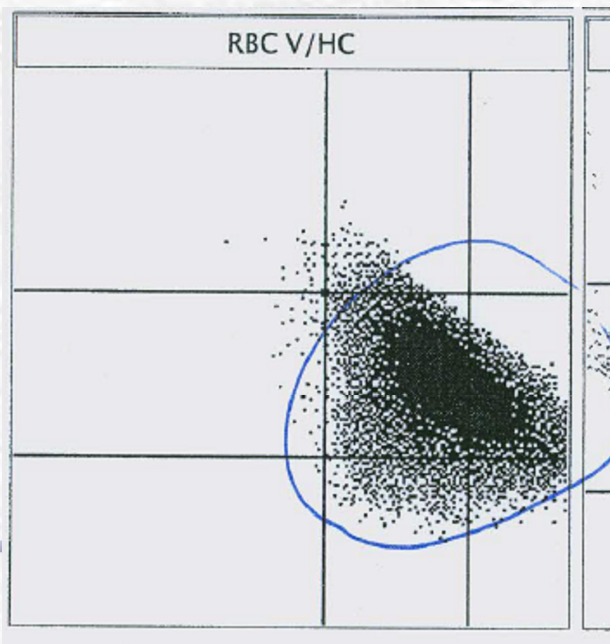
Sferociti e sferocitosi ereditaria

- **Tecnologia Siemens** → $\uparrow$ MCHC, $\uparrow$ CHCM (direttamente misurato), la popolazione RBC in citogramma V/HC evidenzia delle emazie IPO (che sono aumentate), prevalentemente normocitiche e in parte microcitiche



Sferociti e sferocitosi ereditaria

- **Tecnologia Siemens** → $\uparrow$ MCHC, $\uparrow$ CHCM (direttamente misurato), la popolazione RBC in citogramma V/HC evidenzia delle emazie IPO (che sono aumentate), prevalentemente normocitiche e in parte microcitiche
- **Tecnologia Abbott** → modificazioni in gran parte sovrapponibili (sfericizzazione isovolumetrica e sulla teoria di Mie)
In metodo ottico, i segnali di scatter a 0, 7 e 90° vengono analizzati e utilizzati per costruire il citogramma CHC (Vol/concentrazione Hb) con aumento di RBC %HPO e di CHCM



Sferociti e sferocitosi ereditaria

Tecnologia Coulter → RBC in soluzione ipo-osmotica con sfericizzazione e calcolo del volume medio di RBC e RET (MSCV).

I normali RBC hanno normale espansione osmotica (MSCV > MCV), gli sferociti, invece, raggiungono un volume osmotico critico con conseguente riduzione di MSCV (MSCV < MCV, ad indicare la ridotta resistenza osmotica di HE).

Con Delta (MCV-MSCV) > 9,6 fL, SPEC 90,6% e SENS 100% (per HS) (Int J Lab Hem 2010;32:519)

Tecnologia Sysmex → su Sysmex XE-5000 in canale RET, misurazione di IRF%, Hypo-He (<17pg), Hyper-He (>49pg), MicroR (<60fL) e MacroR (>120fL).

Sviluppo di 2 regole:

- 1) Parametro di screening, basata su RET e IRF
- 2) Parametri «di severità clinica», MicroR e MicroR/Hypo-He (Ann Hematol 2010,)

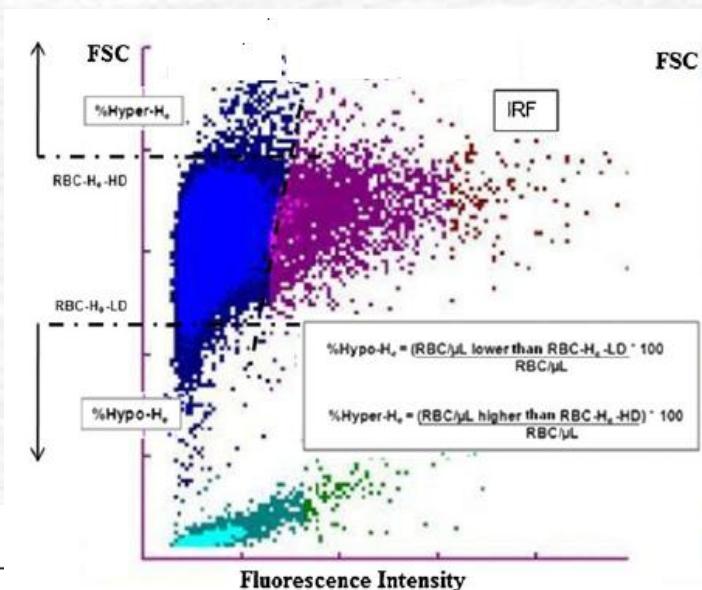
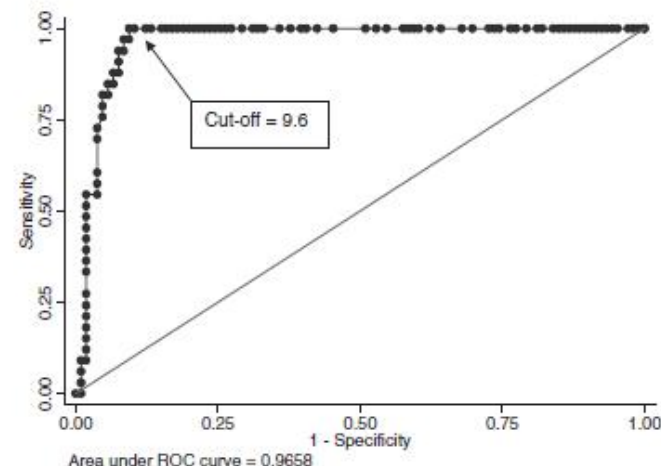


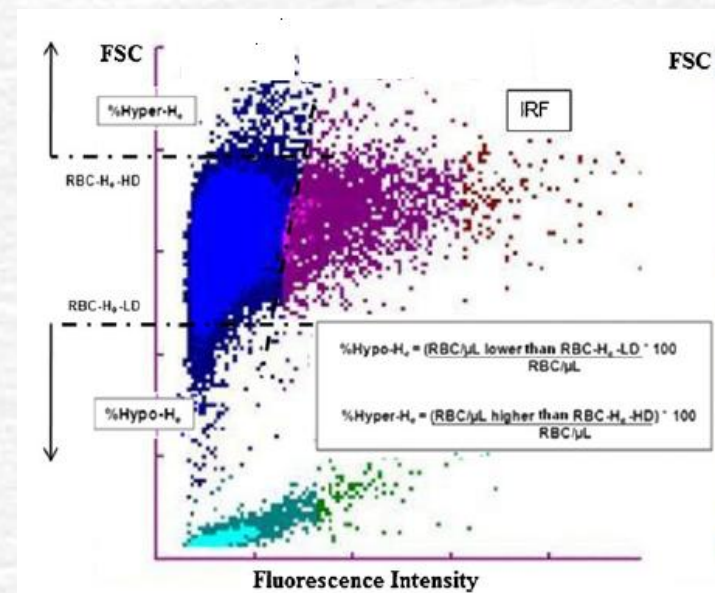
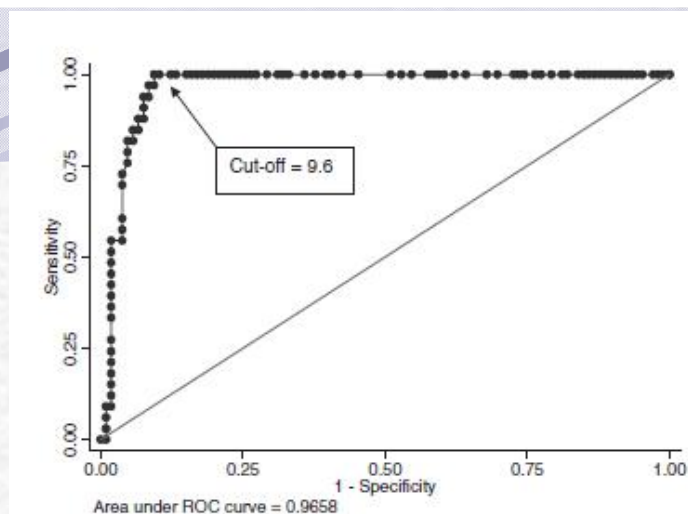
Table 2 Hereditary spherocytosis diagnostic tool

Rule		Parameters		
Rule 1	Precondition	Ret $\geq 80,000/\mu L$ and Ret/IRF >7.7		
Rule 2	Severity	Trait or mild HS Hb >12 g/dl Ret/IRF ≥ 19	Moderate HS 8 g/dl $\leq$ Hb ≤ 12 g/dl MicroR $\geq 3.5\%$ and MicroR/Hypo-He ≥ 2.5	Severe HS Hb <8 g/dl MicroR $\geq 3.5\%$ and MicroR/Hypo-He ≥ 2

Ret reticulocytes (/μL), IRF immature reticulocytes fraction (%), HS hereditary spherocytosis, Hb haemoglobin, MicroR microcytic erythrocytes (%), Hypo-He hypochromic erythrocytes (%)

Sferociti e sferocitosi ereditaria

- Tecnologia Sysmex
 - Sysmex XE-5000 in canale RET,
 - misurazione di IRF%,
 - Hypo-He ,
 - Hyper-He ,
 - MicroR e MacroR .
- Sviluppo di 2 regole:
- Parametro di screening, basata su RET e IRF
 - Parametri «di severità clinica», MicroR e MicroR/Hypo-He
- (Ann Hematol 2010,)



POCHE PAROLE DI EBM

“Evidence based medicine is the conscientious, explicit, and judicious use of current best evidence in making decision about the care of individual patients.”

“Best available clinical evidence means clinically relevant research, often from the basic sciences of medicine, but especially from patient centred clinical research into the accuracy and precision of diagnostic tests, the power of prognostic markers.....”

Sackett, 1996

POCHE PAROLE DI EBM

Questa definizione può (e deve) essere applicata alla medicina di laboratorio, considerando:

- **che la richiesta di un test diagnostico è parte del processo di decision-making**
- **la rilevanza della situazione clinica**
- **la necessità di una valutazione critica delle evidenze in termini di qualità**
- **la continua evoluzione delle evidenze**

POCHE PAROLE DI EBM

Così come la validazione di un nuovo test necessita di una ricerca primaria, la raccolta dei dati provenienti da diversi studi in una revisione sistematica può fornire ulteriori benefici

Una revisione sistematica delle evidenze disponibili e lo sviluppo di una meta-analisi può identificare delle carenze metodologiche

POCHE PAROLE DI EBM

Table A. Summary of the strength of evidence addressing Key Questions

Key Question	Strength of Evidence	Summary, Comments, and Conclusions
Key Question 2. What is the diagnostic test accuracy of newer markers of iron status as a replacement for or an add-on to classical laboratory markers?	Low/ Insufficient (depending on the test comparisons, study populations, or test performance outcomes)	- Among adult HD CKD patients, there is a low level of evidence that: - CHr has similar or better overall test accuracy compared with TSAT or ferritin to predict a response to IV iron treatment. Data from two studies suggest that CHr (with cutoff values of <27 or <28 pg) has a better sensitivity and specificity in predicting iron deficiency than classical markers (TSAT <20 or ferritin <100 ng/mL). %HYPO has similar or better overall test accuracy compared with TSAT, and better overall test accuracy compared with ferritin to predict a response to IV iron treatment. Data suggest that %HYPO (with cutoff values of >6% or >10%) has a better sensitivity and specificity to predict iron deficiency (as defined by a response to IV iron treatment) than classical markers (TSAT <20% or ferritin <100 ng/mL). - sTfR has a similar test performance compared with classical markers (TSAT or ferritin) to predict a response to IV iron treatment. - There is insufficient evidence regarding: - Test performance of newer markers of iron status as an add-on to older markers. - Test performance comparing ZPP and hepcidin to predict a response to IV iron treatment in adult HD CKD patients. - Test performance comparing newer with classical laboratory markers to predict a response to IV iron treatment, in adult PD CKD and ND CKD patients, and in pediatric CKD patients.



AHRQ
Agency for Healthcare Research and Quality
Advancing Excellence in Health Care • www.ahrq.gov



AHRQ Pub. No. 12(13)-EHC140-1
October 2012

Table B. Research gaps and suggestions for future research

Key Question	Research Gaps	Suggestions for Future Research
Key Question 2. What is the diagnostic test accuracy of newer markers of iron status as a replacement for or an add-on to classical laboratory markers?	Insufficient evidence for the test performance of newer markers of iron status as an add-on to older markers	It is important to use an independent reference standard when assessing the test performance. See “Cross-cutting issues” for the research gaps for establishing a reference standard for iron deficiency.
	Many existing studies are at a high risk of bias, limiting their utility in informing clinical practice	- General principles for the design of studies of diagnostic tests include the use of an appropriate reference standard, adequate description of the index and reference tests, blinded interpretation of test results, and independence of the index and reference standard tests.⁴⁸ - Studies assessing diagnostic accuracy should instead aim to enroll patients representative of the spectrum of disease typically seen in clinical practice. - Future studies should provide details about the study base and sampling methods.

Messaggi da portare a casa

- Parametri a volte sottovalutati, se ben osservati e inquadrati possono essere di valido aiuto nella diagnostica di patologie ematologiche non routinarie.
- Lo strumento ci dà la segnalazione ma questa deve essere valutata al MO.
- Imparare ad usare con familiarità il MO deve essere un "must" per un dirigente di laboratorio.