



# **Recomendaciones del Grupo Español de Citometría de Flujo Hematológica (GECFH) para la elaboración de los informes de CMF**

GECFH de la Sociedad Española de Hematología y  
Hemoterapia (SEHH)



## **Objetivos:**

1. Diseñar y consensuar los informes de resultados de citometría de las diversas patologías, considerando las necesidades de los facultativos clínicos como destinatarios de dichos informes
2. Recomendaciones «abiertas» que incluyan una mínima información que se considere imprescindible

## **Integrantes del grupo:**

- Amparo Sempere, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia
- Enrique Colado, Complejo Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo
- Beatriz Álvarez, Centro Nacional Investigaciones Cardiovasculares, Madrid
- David Cruz, ICO Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona

## ¿Cómo realizar un informe de HPN en citometría de flujo?

El diagnóstico correcto y completo es esencial para un manejo clínico de los pacientes. La citometría de flujo (CMF) se ha convertido en el método de referencia para diagnosticar y monitorizar los pacientes con Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN) y enfermedades relacionadas. Sin embargo, se debe de recordar que la CMF no establece por sí misma el diagnóstico y clasificación de la enfermedad, ya que debe de ser correlacionada con datos clínicos.

Con el fin práctico de clarificar la terminología y armonizar la emisión de los informes, el Grupo Español de Citometría de Flujo Hematológica ha elaborado una serie de recomendaciones basadas en la literatura existente y la actividad de los laboratorios clínicos. Además de la información relativa al paciente y origen de la muestra, en el informe específico de citometría se deben de recoger los siguientes puntos:

1. Se recomienda incluir una nota breve sobre el motivo de estudio, antecedentes de transfusión y el tratamiento recibido que debe ser aportada por el médico solicitante.
2. Se debe de incluir el panel de estudio. Se recomiendan paneles validados (por ejemplo los indicados en ICCS/ESCCA PNH [Guidelines](#)) (Sutherland et al. 2018; Teri et al. 2017; Illingworth et al. 2018; Marinov et al. 2013; Illingworth et al. 2019)
3. Se recomienda incluir el recuento celular de la muestra al menos de las siguientes poblaciones: linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos/otras células nucleadas ya que puede haber discrepancias con el conteo en el [autoanalizador](#).
4. Se debe de informar el tamaño clonal en los neutrófilos y monocitos de forma global (tipo II + III, deficiencia parcial y completa de proteínas ligadas a grupos [glicosilfosfatidilinositol](#) (GPI) respectivamente). Con algunos ensayos (por ejemplo, basados en CD157 y FLAER) se pueden identificar células tipo II y tipo III, su valor pronóstico no está establecido, por lo que se puede reportar esta información como nota adicional. (Illingworth et al. 2018; Villegas et al. 2016; Patriquin et al. 2019; Parker et al. 2005; Illingworth et al. 2019; Richards et al. 2022)
  - 4.1. Se recomienda informar el tamaño clonal en cifras absolutas en neutrófilos y monocitos por la información adicional aportada al estudio de HPN. (Morado et al. 2016)
  - 4.2. Se puede informar sobre el tamaño del clon en eosinófilos, aunque la bibliografía al respecto es escasa y su cuantificación puede ser más inexacta que para neutrófilos y monocitos. (Richards et al. 2022)
5. Se debe de informar el tamaño clonal en hematíes, así como los porcentajes de células tipo II y tipo III, ya que presenta repercusión clínica. (Richards et al. 2020; Villegas et al. 2016; Illingworth et al. 2018; Morado et al. 2016; Illingworth et al. 2019; Richards et al. 2022)
  - 5.1. En ocasiones, no puede ser posible realizar una discriminación correcta entre las células tipo II y tipo III, debiendo de ser informadas conjuntamente e indicando en una nota adicional el motivo.
  - 5.2. Si se efectúa el estudio en reticulocitos, se debe de informar de la misma manera.
6. La nomenclatura estándar en la línea diagnóstica cuando se detectan células deficientes en proteínas asociadas a GPI en cualquier población es “clon HPN” para aquellos casos que el

porcentaje sea superior al 1%, cuando la proporción represente entre 0,1 y 1% de un compartimento celular se prefiere “clon HPN de pequeño tamaño” y finalmente, si la frecuencia es inferior a 0,1% se recomienda el término de “escasas células con fenotipo HPN”. (Illingworth et al. 2018; Illingworth et al. 2019)

7. Se debe de informar sobre el límite de detección (LOD) y límite inferior de cuantificación LLOQ. (Illingworth et al. 2018; Illingworth et al. 2019). Aunque no hay reglas definitivas para establecer un umbral de normalidad (ya que se pueden encontrar células deficientes en proteínas GPI en donantes sanos en el rango de 1 célula por 100.000), con el fin de evitar artefactos, se recomienda un número mínimo de 20 eventos. Por lo tanto, el límite de detección en porcentaje (LOD%) sería 20x100/células adquiridas excluyendo [debris](#) y dobletes. De la misma forma, para calcular el límite inferior de cuantificación se requiere un mínimo de 50 eventos, por lo que el LLOQ% sería 50x100/células adquiridas.
  - 7.1. Aquellas poblaciones en las que se el porcentaje se encuentre entre el LOD y el LLOQ se informarán como “detectable pero no cuantificable”.
  - 7.2. Es fundamental indicarlo en todos los estudios, dado que un LLOQ elevado, por ejemplo, superior a 1% implica que la presencia de un clon HPN de pequeño tamaño no puede ser excluido en esa muestra en particular.
8. La conclusión del informe para los casos de diagnóstico debe indicar claramente si existe un clon HPN o si se descarta. Se deben evitar frases que induzcan confusión, especialmente con los términos “positivo” y “negativo” referidos a antígenos individuales únicamente ya que la “negatividad” de expresión es equivalente a la “detección positiva” de células HPN. (Illingworth et al. 2018)
9. La conclusión del informe para los casos de seguimiento debe incluir lo referido en el punto 8 y comparar la evolución del clon con los análisis previos en el laboratorio, indicando la evolución de los clones. (Illingworth et al. 2018; DeZern y Borowitz 2018)

El informe debe indicar el intervalo recomendado para la repetición del estudio de citometría.

En general, el seguimiento del clon de los pacientes con HPN y evidencia de hemólisis debe ser cada seis meses durante los dos primeros años tras la detección, con valoraciones anuales si la enfermedad se mantiene estable. (DeZern y Borowitz 2018; Killick et al. 2016; Villegas et al. 2016; Sahin et al. 2016) Especialmente, si se ha iniciado tratamiento con inhibidores del complemento se puede realizar controles cada 3 a 6 meses disminuyendo la frecuencia según clínica y evolución del clon. (Kulasekararaj et al. 2023) En lo que respecta a la aplasia medular, se recomienda la reevaluación del clon cada 3 o 6 meses durante dos años después del diagnóstico según se detecten o no células de HPN, con seguimientos anuales cuando el clon permanezca estable.<sup>1</sup> Finalmente, el clon debe ser reevaluado cuando se observe algún cambio clínico o analítico sugestivo de actividad o progresión de la enfermedad. (Illingworth et al. 2018; Parker et al. 2005; Villegas et al. 2016; Killick et al. 2016; DeZern y Borowitz 2018; Kulasekararaj et al. 2023)

# Informe HPN con detección de clones

LOGO LABORATORIO / HOSPITAL...

Nombre y Apellidos:

Tipo de muestra: **Sangre periférica**

Procedencia de la muestra: **Centro:** **Servicio:** Médico peticionario:

Información clínica previa:

## **ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO EN SANGRE PERIFÉRICA**

**PANEL:** Indicar panel para el estudio de HPN

### **LEUCOCITOS:**

Recuento celular:

▪ **Linfocitos:** % **Monocitos:** %; **Neutrófilos:** %; **Eosinófilos:** % **Basófilos:** %

Se detecta un clon HPN/pequeño clon HPN/ células raras con fenotipo HPN en los compartimentos de neutrófilos y monocitos con las frecuencias recogidas en la tabla.

Poblaciones de estudio	Tamaño de la clona				LOD%	LLOQ%
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tamaño total clon		
Neutrófilos	5,19	4,00	90,81	<b>94,81</b>	0,02	0,05
Monocitos	7,09	9,86	83,05	<b>92,91</b>	0,04	0,1

### **Notas adicionales serie mieloides (recomendado)**

**Texto libre:** Por ejemplo: se observan células inmaduras que representa el % del total de la celularidad,

Otras alteraciones en la serie mieloides: Indicar presencia de poblaciones con alteración en la dispersión de luz, alteración en la expresión de antígenos,...

### **HEMATÍES:**

Se detecta un clon HPN/pequeño clon HPN/ células raras con fenotipo HPN en los compartimentos de hematíes y reticulocitos con las frecuencias recogidas en la tabla.

+

Poblaciones de estudio	Tamaño de la clona (porcentaje)				LOD%	LLOQ%
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tamaño total clon		
Hematíes	64,10	27,85	8,07	<b>35,92</b>	0,003	0,0075
Reticulocitos	5,2	3,9	90,8	<b>94,7</b>	0,0015	0,0038

**Notas adicionales hematíes:** Indicar el motivo por el que los hematíes tipo II y III no se discriminan

## **CONCLUSIONES:**

*Si es estudio inicial:*

El estudio inmunofenotípico se detecta un clon HPN/pequeño clon HPN/ células raras con fenotipo HPN en los compartimentos indicados en la tabla.

LOGO LABORATORIO / HOSPITAL...

Si es posible, se debe de dar el subtipo de HPN: Por ejemplo: Dado el tamaño de los clones detectados y la información clínica disponible estos resultados son compatibles con una HPN Clásica/HPN asociada a fallo medular/HPN subclínica asociada a fallo medular, no obstante, estos resultados deberán considerarse dentro del contexto clínico del paciente (hemoglobinuria, trombosis, hemólisis entre otros...) para confirmar esta sospecha clínica.

Se recomienda repetir el estudio en meses o antes si se observan cambios clínicos o analíticos de progresión.

*Si es seguimiento:*

El estudio inmunofenotípico de paciente en seguimiento, un clon HPN/pequeña población HPN/ células raras con fenotipo HPN en los compartimentos indicados en la tabla. Con respecto a los estudios previos de este paciente, el clon está aumentando/estable/descendiendo.

Se debe de repetir el estudio en meses o antes si se observan cambios clínicos o analíticos de progresión.

# Informe HPN sin detección de clones

LOGO HOSPITAL/LABORATORIO...

Nombre y Apellidos: |

Tipo de muestra: **Sangre periférica**

Procedencia de la muestra: **Centro:** **Servicio:** Médico peticionario:

Información clínica previa:

## **ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO EN SANGRE PERIFÉRICA**

**PANEL:** Indicar panel para el estudio de HPN

Recuento celular:

• **Linfocitos:** % **Monocitos:** %; **Neutrófilos:** %; **Eosinófilos:** % **Basófilos:** %

### **ESTUDIO DE CÉLULAS DEFICIENTES DE GPI:**

**Neutrófilos (seleccionados por ):** No se detecta clon HPN/células con fenotipo HPN con un límite de detección de % y un límite inferior de cuantificación de %.

**Monocitos (seleccionados por ):** No se detecta clon HPN/células con fenotipo HPN con un límite de detección de % y un límite inferior de cuantificación de %.

**Hematies (seleccionados por ):** No se detecta clon HPN/células con fenotipo HPN con un límite de detección de % y un límite inferior de cuantificación de %.

### **CONCLUSIONES:**

El estudio **inmunofenotípico** no detecta ningún clon de células deficientes de GPI o fenotipo de Hemoglobinuria Paroxística Nocturna. Si el paciente presenta un diagnóstico previo de aplasia medular, se debe de repetir el estudio en 6 meses o antes si existen cambios clínico-biológicos que lo justifiquen.

## **Integrantes del grupo:**

- Carlos de Miguel, Hospital Universitario de Álava (Txagorritxu)
- Diego Robles, Hospital Universitario de Álava (Txagorritxu)
- Natalia Lloveras, ICO Hospital Dr. Josep Trueta, Girona
- María Teresa Orero, Hospital General Universitario, Valencia
- Olga Pérez, Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla
- Carmen Alonso, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia
- Teresa Caballero, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla
- María Belén Vidriales, Hospital Universitario de Salamanca
- Taida Martín, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife

## **Integrantes del grupo:**

- Carlos de Miguel, Hospital Universitario de Álava (Txagorritxu)
- Diego Robles, Hospital Universitario de Álava (Txagorritxu)
- Natalia Lloveras, ICO Hospital Dr. Josep Trueta, Girona
- Olga Pérez, Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla
- Teresa Caballero, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla
- María Belén Vidriales, Hospital Universitario de Salamanca
- Inmaculada Pérez, Hospital Virgen de la Victoria, Málaga



## **Integrantes del grupo:**

- Ana Yeguas, Hospital Universitario de Salamanca
- Ana Lerma, Hospital Nuestra Señora del Pardo, Toledo
- Tamara Castaño, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- Cristina Serrano, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- José Antonio García, Hospital Universitario de Getafe, Madrid
- Marc Sorigue, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona
- Neus Villamor, Hospital Clínic de Barcelona
- Beatriz Álvarez, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid

Logotipo / nombre del laboratorio-hospital

Nombre: \_\_\_\_\_ Tipo de muestra: \_\_\_\_\_  
Apellidos: \_\_\_\_\_ Hospital/Servicio de procedencia: \_\_\_\_\_  
NHC: \_\_\_\_\_ Médico peticionario: \_\_\_\_\_

## INFORMACIÓN CLÍNICA PREVIA E INDICACIONES DE ESTUDIO

Nota breve comentario clínico

## ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO EN MÉDULA ÓSEA

**Calidad de la muestra\***: Aceptable/ Hemodiluida/Coagulada/Hemolizada/Otros (escribir comentario) **Eventos celulares analizados valorables\***:

**Protocolo Euroflow (panel LMA/SMD)\***: Si/No

**Protocolo alternativo (si no protocolo Euroflow)\***: indicar anticuerpos y fluorocromos utilizados

**DISTRIBUCIÓN DE POBLACIONES (sobre celularidad total)\***:

--Población/es leucémica/s: \_\_\_\_\_ %

--Precusores **CD34 POSITIVOS\***:

Mieloides: \_\_\_\_\_ % Linfoides: \_\_\_\_\_ % --Poblaciones **mayoritarias\***:

Serie roja: \_\_\_\_\_ % Serie granulocítica: \_\_\_\_\_ % Serie linfoide: \_\_\_\_\_ % Células monocíticas: \_\_\_\_\_ % Eosinófilos:

\_\_\_\_\_ % Basófilos: \_\_\_\_\_ %

--Poblaciones **minoritarias**:

Mastocitos: \_\_\_\_\_ % Células dendríticas: \_\_\_\_\_ % Células plasmáticas \_\_\_\_\_ % Células mesenquimales: \_\_\_\_\_ %

### SERIE MIELOIDE

#### ■ GRANULOCÍTICA:

División madurativa (del total de la celularidad/del total de lo granulocítico)\*:

Promielocitos: \_\_\_\_\_ %; Mielocitos: \_\_\_\_\_ %; Metamielocitos: \_\_\_\_\_ %; Neutrófilos maduros: \_\_\_\_\_ %.

Patrón SSC/FSC\*: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

Patrón de maduración\*:

CD13/CD16: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

CD13/CD11b: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

CD16/CD10: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

#### ■ MONOCÍTICA:

División madurativa (del total de la celularidad/del total de las células monocíticas)\*:

Monoblastos \_\_\_\_\_ %; Promonocitos: \_\_\_\_\_ %; Monocitos maduros: \_\_\_\_\_ %

Patrón SSC/FSC\*: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

Patrón de maduración\*:

CD14/CD35: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

CD14/CD300: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

### SERIE ERITROIDE:

Logotipo / nombre del laboratorio-hospital

División madurativa (del total de la celularidad/del total de la serie eritroide)\*:

Proeritroblastos \_\_\_\_\_ %\*; Estadio I: \_\_\_\_\_ %; Estadio II: \_\_\_\_\_ %; Estadio III: \_\_\_\_\_ %

Patrón SSC/FSC\*: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

Patrón de maduración\*:

CD71/CD36: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

CD36/CD105: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable

CD71/CD105: Sin alteraciones significativas/Alterado/No valorable.

**SERIE LINFOIDE MADURA (del total de la celularidad total/del total de la serie linfoide)\***:

Linfocitos T: \_\_\_\_\_ %; Linfocitos B: \_\_\_\_\_ %; Linfocitos NK: \_\_\_\_\_ %

**POBLACIÓN/ES LEUCÉMICAS MIELOIDE/S\*: X%**

Esta población es de (describir tamaño y complejidad) que expresa el siguiente perfil inmunofenotípico:

**Marcadores positivos (% de la población, intensidad y patrón de expresión)**: CDX, CDX, CDX, CDX, CDX, CDX, CDX, CDX...

Patrón de expresión: normal, sobreexpresado, infraexpresado, bimodal, homogéneo, heterogéneo

Cruces: + (normal), ++ (sobreexpresado), +/- (débil o infraexpresado)

**Marcadores negativos**: CDX, CDX, CDX...

Si hay segunda clona, diferenciar bien: POBLACIÓN 1, POBLACIÓN 2 (seguir estructura previa).

Si sólo hubiera una clona, en población 2 poner: No aplica

### COMENTARIO:

**Calidad de la muestra adecuada/inadecuada** (con escasa celularidad en aquellos casos concretos en los que consideremos necesario). **Valoración de displasia** (indicar stop madurativo si necesario). **Comentario de la población patológica** (% de infiltración, tipo de línea y grado de maduración/diferenciación). **Comentario sobre marcadores terapéuticos\*/clasificación**. **Comentarios de otras poblaciones** (ej: mastocitos...)

### CONCLUSIÓN:

Estudio inmunofenotípico compatible/s con el diagnóstico de una leucemia aguda mielóide sugestiva de...A correlacionar en el contexto clínico del paciente y con el resto de pruebas complementarias.

NOTA:

Esta propuesta de informe recoge los aspectos mínimos que se ha consensado incluir en los informes que recibirán los médicos solicitantes del estudio.

Alguna información más específica (como panel utilizado, eventos adquiridos y analizados sin debris, celularidad de la muestra/mcr, precusores CD117+ CD34+ ...) puede tener interés para el citometrista, sobre todo si el paciente procede de otro centro, por lo que se podría incluir dicha información.

En cuanto al formato del informe, tan sólo es una propuesta para facilitar la inclusión de los diferentes apartados, por lo que cada centro podrá adaptarlo según sus necesidades o requerimientos específicos.

\* Información RECOMENDABLE que debería aparecer en el informe consenso diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda (LMA).

Fecha informe:  
Firma facultativo:

## **Integrantes del grupo:**

- Dolly Viviana Fiallo, Hospital Universitario Dr. Negrín, Gran Canaria
- Tamara Castaño, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- José Antonio García, Hospital Universitario de Getafe, Madrid
- Clara Martínez, Hospital Sant Pau, Barcelona
- Angelina Lemes, Hospital Dr. Negrín, Gran Canaria
- Fabián Tarín, Hospital General de Alicante
- Marc Sorigue, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona
- Teresa Caballero, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla



# ERM de LLA-B

## **Integrantes del grupo:**

- Marc Sorigue, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona
- Cristina Serrano, Fundación Jiménez Díaz, Madrid
- José Antonio García, Hospital Universitario de Getafe, Madrid
- Fabián Tarín, Hospital General de Alicante
- Amparo Sempere, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia



# **Recomendaciones del Grupo Español de Citometría de Flujo Hematológica (GECFH) para la elaboración de los informes de CMF**

GECFH de la Sociedad Española de Hematología y  
Hemoterapia (SEHH)

