



DIAGNOSTICA AVANZATA DELLE
LEUCEMIE MIELOIDI ACUTE
DELL'ADULTO PER UN CORRETTO
INQUADRAMENTO PROGNOSTICO:
LINEE-GUIDA DELLA SOCIETA'
ITALIANA DI EMATOLOGIA
SPERIMENTALE

Versione 3.4

19 settembre 2023



Linea guida pubblicata nel Sistema Nazionale Linee Guida
Roma, 20 settembre 2023

Composizione del gruppo di sviluppo della linea-guida

Autore	Ruolo	Specialità	Istituzione
MECUCCI Cristina	Membro del Panel di Esperti	Ematologia, Genetica Medica	Università di Perugia – Azienda Ospedaliera di Perugia
BOLLI Niccolò	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Università di Milano – Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico
DELLA PORTA Matteo	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Humanitas University - IRCCS Humanitas Research Hospital
VOSO Maria Teresa	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Università di Roma Tor Vergata – Policlinico Tor Vergata. Presidente SIES
VENDITTI Adriano	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Università di Roma Tor Vergata – Policlinico Tor Vergata
MAURILLO Luca	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Policlinico Tor Vergata
ALBANO Francesco	Membro del Panel di Esperti	Ematologia	Università degli Studi “Aldo Moro” di Bari -Azienda Ospedaliero- Universitaria Policlinico - Bari
ISIDORI Alessandro	Comitato Tecnico-Scientifico	Ematologia	Azienda Sanitaria Territoriale Pesaro e Urbino, Ospedale di Pesaro
MUSTO Pellegrino	Comitato Tecnico-Scientifico	Ematologia	Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico - Bari
MARCHETTI Monia	Gruppo di lavoro metodologico	Ematologia, Medicina Interna	UO Ematologia, AO SS Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria
Alessandro Rambaldi	Revisore esterno indipendente	Ematologia	Università di Milano - ASST Papa Giovanni XXIII Bergamo
Antonio Curti	Revisore esterno indipendente	Ematologia	IRCCS Azienda Ospedaliero- Universitaria di Bologna

RACCOMANDAZIONI

N	Raccomandazione	Direzione/forza della raccomandazione
1A	Si raccomanda l'analisi del cariotipo per tutti i pazienti >60 anni con LMA di nuova diagnosi candidabili a chemioterapia di induzione al fine di valutare l'assegnazione a chemioterapia liposomiale dei pazienti con anomalie citogenetiche associate a mielodisplasia anche in assenza di una storia clinica evocativa (emopatie o chemio/radioterapie leucemogene precedenti).	POSITIVA forte
1B	Si raccomanda l'analisi del cariotipo per tutti i pazienti >60 anni con LMA di nuova diagnosi candidabili a chemioterapia di induzione al fine di valutare l'inappropriatezza di gemtuzumab ozogamicin nei pazienti a rischio non-favorevole.	POSITIVA forte
2	Si raccomanda l'analisi della mutazione di FLT3-IT in tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA candidabili a chemioterapia di induzione al fine di assegnare i pazienti al gruppo prognostico più accurato e per ottimizzare le scelte terapeutiche.	POSITIVA forte
3A	La verifica delle mutazioni FLT3-ITD va effettuata in tutti i pazienti con AML e si suggerisce di impiegare l'elettroforesi capillare. La verifica delle mutazioni FLT3-ITD condotta con metodica NGS ha riportato un'elevata accuratezza ma è gravata da una bassa percentuale di falsi negativi	NEGATIVA condizionata
3B	Nei pazienti con LMA la metodica NGS è quella preferita per la verifica di TP53 ^{mut} ; tuttavia, sono raccomandate tutte le metodiche che consentano il raggiungimento della soglia che definisce la categoria diagnostica specifica (VAF ≥10%).	POSITIVA condizionata
4A	Si raccomanda il monitoraggio di PML-RARA (qRT-PCR su sangue midollare) ogni 3 mesi per 36 mesi dal termine del consolidamento in tutti i pazienti con LAP ad alto rischio per indirizzare i pazienti alla terapia di salvataggio prima che si manifesti la recidiva clinica.*	POSITIVA forte
4B	Nei pazienti con LAP a rischio standard trattati con ATO/ATRA, non si raccomanda il monitoraggio di PML-RARA dopo il termine del consolidamento.	NEGATIVA forte
5A	Nei pazienti con LMA NPM1 mutata in remissione completa morfologica dopo 2 cicli di chemioterapia si raccomanda la valutazione molecolare quantitativa della mutazione di NPM1 (qRT-PCR su sangue midollare) al fine di ottimizzare il percorso terapeutico.	POSITIVA forte
5B	Nei pazienti con mutazione NPM1 in remissione molecolare dopo il consolidamento, si raccomanda il monitoraggio molecolare ogni 3-4 mesi su sangue midollare (oppure ogni 2 mesi su sangue periferico) per 2 anni poiché consente di rilevare anticipatamente recidive incipienti.	POSITIVA forte
6	Nei pazienti con LMA a rischio intermedio, senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di cellule staminali allogeniche, si raccomanda l'impiego della citofluorimetria per il monitoraggio della malattia residua misurabile.	POSITIVA forte

7	Nei pazienti adulti con LMA R/R si raccomanda l'esecuzione del test di analisi mutazionale del gene FLT3 al fine di avviare, in caso di positività al test, un trattamento con l'inibitore specifico (gilteritinib).	POSITIVA forte
---	--	----------------

INDICATORI

N	Indicatore	Benchmark	Raccomandazione di riferimento
1	Porzione di pazienti > 60 anni con LMA e candidati a chemioterapia intensiva di induzione che abbiano ricevuto analisi del cariotipo del sangue midollare alla diagnosi	>90%	1A, 1B
2	Porzione di pazienti con LMA e candidabili a chemioterapia di induzione per i quali sia stato determinato lo stato mutazionale di FLT-ITD alla diagnosi.	>90%	2
3	Porzione di pazienti con LMA per i quali sia stata determinata la presenza di mutazione FLT3-ITD.	>10%	3A
4	Porzione di pazienti con LMA per i quali sia stata determinata la presenza di mutazioni di TP53.	>10%	3B
5	Porzione di pazienti con LAP ad alto rischio in remissione completa e molecolare al termine del consolidamento che ha ricevuto almeno 3 valutazioni molecolari di monitoraggio (qRT-PCR su sangue midollare)	>90%	4 B
6	Porzione di pazienti con LMA NPM1 mutata in remissione completa dopo 2 cicli di chemioterapia nei quali sia stata verificata la risposta molecolare (qRT-PCR su sangue midollare)	>90%	5A
7	Porzione di pazienti con LMA NPM1 mutata in remissione molecolare dopo il consolidamento che ha ricevuto almeno 3 valutazioni molecolari di monitoraggio	>90%	5B
8	Porzione di pazienti con LMA a rischio intermedio, senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di cellule staminale allogeniche nei quali siano state effettuate almeno 3 valutazioni citofluorimetriche per il monitoraggio della malattia residua misurabile.	>90%	6
9	Porzione di pazienti con recidiva di LMA nei quali venga effettuata un'analisi mutazionale del gene FLT3	>50%	7

Nota: un benchmark del 70% è stato adottato per le raccomandazioni “condizionate” vs 90% in quelle “forti”

INDICE

Contents

RACCOMANDAZIONI	3
INDICATORI	5
INDICE.....	6
Contents	6
ABSTRACT	11
Introduzione	12
Tabella 1. Rischio citogenetico delle LAM non-LAP	12
Obiettivi della linea-guida.....	13
Target della linea-guida	14
Metodi.....	14
Tabella 2. Le domande cliniche.....	15
Tabella 3. Domande PICO	16
Domanda n. 1	17
Va eseguita l'analisi del cariotipo in tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA, età superiore ai 60 anni ed elegibili a terapia di induzione?.....	17
PICO n. 1A.....	18
Nella popolazione con nuova diagnosi di LMA, di età > 60 anni ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), la ricerca dei marker cariotipici di mielodisplasia (I) migliora l'appropriatezza prescrittiva e l'efficacia del trattamento con CPX 351 (O), rispetto alla mancata analisi del cariotipo (C) con conseguente assegnazione alla terapia standard?.....	18
Tabella 4. Criteri diagnostici di LMA-MR secondo WHO 2016.22.....	18
Tabella 5. PICO 1A.....	19
Tabella 6. Tabella dell'evidenza PICO 1A.....	20
Tabella 7. Raccomandazione PICO 1A	21
PICO n. 1B.....	21
Nella popolazione con nuova diagnosi di LMA, di età > 60 anni ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), l'analisi del cariotipo con l'intento di valutare l'idoneità all'aggiunta di gemtuzumab ozogamicin (attraverso la classificazione prognostica) (I) migliora l'appropriatezza e l'efficacia del trattamento (O), rispetto alla mancata analisi del cariotipo (C) con conseguente assegnazione alla chemioterapia senza gemtuzumab ozogamicin?.....	21
Tabella 8. Valore predittivo della classe di rischio citogenetico.36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47.....	21
Tabella 9. Valore predittivo indipendente del cariotipo nelle LMA candidabili a chemioterapia di induzione.48,49,50.....	22
Tabella 10. PICO 1B.....	23
Tabella 11. Tabella dell'evidenza del PICO 1B.....	24
Tabella 12. Sintesi dell'evidenza per il PICO 1-B	24

Tabella 13. Raccomandazione per il PICO 1B.....	25
Domanda n. 2	26
Nei pazienti adulti con LMA di nuova diagnosi ed elegibili a chemioterapia di induzione intensiva va eseguita la ricerca delle mutazioni di FLT3?.....	26
Tabella 14. Valore prognostico di FLT3-ITD.	27
PICO n. 2	27
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), la ricerca delle mutazioni di FLT3 (I) migliora l'appropriatezza prescrittiva e l'efficacia del trattamento combinato con inibitori di FLT3 (O), rispetto alla mancata analisi del di FLT3 (C) con conseguente assegnazione alla terapia standard (senza combinazione con inibitori specifici)?	27
Tabella 15. PICO 2.	28
Tabella 16. Tabella dell'evidenza per il PICO 2.	28
Tabella 17. Raccomandazioni per il PICO 2.....	29
Domanda n. 3.	30
Nei pazienti con LMA di nuova diagnosi vanno impiegate NGS e PCR tradizionali in modo equivalente per definire la classe di rischio?.....	30
PICO 3-A	31
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA (P), l'esecuzione della ricerca delle mutazioni di FLT3-ITD con metodica NGS (I) identifica appropriatamente i pazienti FLT3-mutati da assegnare a percorsi terapeutici specifici (O) rispetto alla ricerca con PCR seguita da analisi delle dimensioni dei frammenti con elettroforesi capillare (C)?	31
Tabella 18. PICO 3-A	32
Tabella 19. Revisione dell'evidenza relativa al PICO 3-A	32
Tabella 20. tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 3-A.....	33
Tabella 21. Raccomandazioni per il PICO 3-A	34
PICO 3-B.....	35
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA (P), l'esecuzione della ricerca delle mutazioni di TP53 con metodica NGS (I) identifica appropriatamente i pazienti TP53-mutati da assegnare a percorsi terapeutici specifici (O) rispetto alla ricerca con Sanger sequencing (C)?	35
Tabella 22. PICO 3-B	35
Tabella 23. Revisione dell'evidenza per il PICO 3B.....	35
Tabella 24. Tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 3B.....	36
Tabella 22. Raccomandazioni per il PICO 3 B.....	36
Domanda n. 4	37
Nei pazienti con LAP dopo il consolidamento va avviato il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA?.....	37
Tabella 26. Tavola dell'evidenza: il valore prognostico della MRM PML/RARA.	38
Tabella 27. Tavola dell'evidenza: tipologia di campione per la valutazione di MRM PML/RARA (periferico vs midollo)	39
Tabella 28. Tavola dell'evidenza: cinetica delle recidive cliniche e molecolari nella LAP.	41
PICO 4 A.....	41

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LAP ad alto rischio in remissione molecolare dopo terapia di induzione e consolidamento con chemioterapia e ATRA (P), il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA durante il mantenimento (I) identifica la recidiva molecolare preclinica (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?.....	41
Tabella 29. PICO 4 A.....	42
Tabella 30. Tabella dell'evidenza per il PICO 4.....	42
Tabella 31. Raccomandazioni per il PICO 4 A.....	43
PICO 4 B.....	44
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LAP a rischio standard in remissione molecolare dopo terapia di induzione e consolidamento con ATO e ATRA (P), il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA (I) identifica la recidiva molecolare preclinica (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?.....	44
Tabella 32. PICO 4 B.....	44
Tabella 33. Raccomandazioni per il PICO 4 B.....	45
Domanda 5.....	45
Nei pazienti con LMA NPM1-mutata dopo due cicli di chemioterapia va avviato il monitoraggio molecolare? .	45
PICO 5 A.....	46
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA NPM1mutata con risposta ematologica completa dopo due cicli di chemioterapia (P), la verifica della risposta molecolare (I) consente di avviare precocemente strategie di gestione della recidiva incluse quelle trapiantologiche (O) rispetto alla sola verifica della risposta clinica (C)?	46
Tabella 34. PICO 5 A.....	46
Tabella 35. Evidenza relativa al valore prognostico della persistenza molecolare di malattia NPM1.....	48
Tabella 36. Tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 5 A.....	51
Tabella 37. Raccomandazioni relative al PICO 5 A.....	51
PICO 5B.....	52
Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA NPM1-mutata e in remissione molecolare dopo due cicli di chemioterapia (P), la verifica periodica della malattia minima misurabile con metodiche molecolari (I) identifica la recidiva molecolare preclinica e consente la rapida selezione delle strategie di gestione della recidiva incluse quelle trapiantologiche (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?.....	52
Tabella 38. PICO 5B.....	52
Tabella 39. Latenza tra positivizzazione (o aumento 1 log) e recidiva ematologica.....	53
Tabella 40. Evidenza relativa all'efficacia della terapia pre-emptive.....	53
Tabella 41. Sintesi dell'evidenza per il PICO 5-B	54
Tabella 42. Raccomandazioni per il PICO 5-B	54
Domanda n. 6.....	55
Nei pazienti con LMA a rischio intermedio senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di CSE allogene, va monitorata la malattia residua misurabile in citofluorimetria?.....	55
Tabella 43. Evidenza relativa al potere predittivo della MRM in citofluorimetria nelle LMA a rischio intermedio.*	55
PICO 6.....	57

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA a rischio intermedio e senza marcatori molecolari ma candidabile a trapianto di CSE allogeniche (P), la verifica periodica della malattia minima misurabile con metodi citofluorimetrici (I) identifica precocemente la recidiva e consente un avvio precoce delle strategie di gestione della recidiva (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?.....	57
Tabella 44. PICO 6.....	58
Tabella 45. Evidenza relativa agli esiti della strategia (I) di assegnazione al trapianto allogenico “MRM-driven”.....	60
Tabella 46. Evidenza relativa agli esiti della strategia di confronto (C): assegnazione donor-driven (sulla base della disponibilità di un donatore familiare compatibile) al trapianto allogenico.....	60
Tabella 47. Tabella evidence-to-decision. Confronto tra strategie di selezione per trapianto allogenico dei pazienti a rischio intermedio in CR1.....	61
Tabella 48. Raccomandazioni per il PICO 6.....	62
Domanda n. 7.....	62
Nei pazienti con LMA in recidiva va eseguita/ripetuta la valutazione delle mutazioni di FLT3?.....	62
Tabella 49. Shift mutazionale FLT3-ITD dalla diagnosi alla recidiva.....	63
PICO n. 7.....	63
Nella popolazione adulta con recidiva di LMA (P), l’esecuzione/ripetizione della ricerca delle mutazioni di FLT3 (I) identifica correttamente i candidati a terapie mirate anti-FLT3 della recidiva (O) rispetto alla non esecuzione/ripetizione del test (C)?.....	63
Tabella 50. Sintesi dell’evidenza del PICO 7.....	64
Tabella 51. PICO 7.....	64
Tabella 52. Raccomandazioni per il PICO 7.....	66
REVISIONE ESTERNA.....	67
APPLICABILITA’.....	67
AGGIORNAMENTO.....	67
INDIPENDENZA EDITORIALE.....	67
Ulteriori dichiarazioni.....	67
CONCLUSIONI.....	69
Bibliografia.....	70
APPENDICE.....	86
Ricerca Bibliografica – Backbone EMBASE.....	87
Ricerca Bibliografica – PICO 1.....	88
Ricerca Bibliografica – PICO 2.....	90
Ricerca Bibliografica – PICO 3A.....	91
Ricerca Bibliografica – PICO 3B.....	92
Ricerca Bibliografica – PICO 4.....	93
Ricerca Bibliografica – PICO 5.....	95
Ricerca bibliografica PICO 6.....	96
Ricerca Bibliografica – PICO 7.....	97
Griglia GRADE per PICO 1A.....	99

Griglia GRADE per PICO 1B	101
Griglia GRADE per PICO 2	103
Griglia GRADE per PICO 3-A.....	105
Griglia GRADE per PICO 3B	107
Griglia GRADE per PICO 4 A.....	109
Griglia GRADE per PICO 4 B	109
Griglia GRADE per PICO 5-A.....	110
Griglia GRADE per PICO 5-B.....	112
Griglia GRADE per PICO 6	112
Griglia GRADE per PICO 7	114
Abbreviazioni.....	116

ABSTRACT

OBIETTIVI

La Società Italiana di Ematologia Sperimentale ha redatto le presenti linee guida con lo scopo di fornire un consenso e un'indicazione dei livelli minimi di analisi a scopo diagnostico e prognostico nel campo della leucemia acuta mieloide (LAM). Il target di queste linee guida è rappresentato da medici ematologi e personale dei laboratori di diagnostica.

MATERIALI e METODI

Le linee guida sono state redatte secondo il metodo GRADE. A tale scopo, gli autori hanno individuato 7 domande cliniche rilevanti, le quali sono state riformulate in 11 domande “paziente-intervento-comparatore-outcome” (PICO) aventi come obiettivo l'individuazione di fattori diagnostici o prognostici nella LAM.

RISULTATI e CONCLUSIONI

Sono state prodotte 11 raccomandazioni:

- È fortemente raccomandata l'analisi del cariotipo anche in pazienti con più di 60 anni di età al fine di coadiuvare l'identificazione di candidati a chemioterapia liposomiale (1A) o trattamento con gemtuzumab ozogamicin (1B).
- È fortemente raccomandata l'analisi di FLT3-ITD in pazienti con più di 60 anni di età candidati a chemioterapia intensiva al fine di assegnare i pazienti al gruppo prognostico più appropriato e ottimizzare le scelte terapeutiche (2).
- Non è raccomandato l'impiego di metodiche di next-generation sequencing (NGS) per l'individuazione di FLT3-ITD (3A), mentre è preferibile l'utilizzo di NGS per l'identificazione di mutazioni di TP53 (3B).
- Nella leucemia acuta promielocitica ad alto rischio, è fortemente raccomandato il monitoraggio della malattia residua misurabile tramite RT-PCR quantitativa per PML/RARa su sangue midollare ogni tre mesi durante il mantenimento (4A), mentre questo non è richiesto nei casi a rischio standard (4B).
- Nella LAM con mutazioni di NPM1 in remissione morfologica, è fortemente raccomandata la valutazione della malattia residua misurabile tramite RT-PCR quantitativa per NPM1 su sangue midollare dopo due cicli (5A) e per i successivi due anni ogni 3-4 mesi su sangue midollare, oppure ogni 2 mesi su sangue periferico (5B).
- In casi di LAM a rischio intermedio candidabili a trapianto allogenico che non presentino marcatori molecolari, è fortemente raccomandato l'utilizzo della citofluorimetria multiparametrica per verificare la malattia residua misurabile (6).
- Alla recidiva, è fortemente raccomandata la ripetizione dell'analisi di FLT3-ITD al fine di valutare la possibilità di trattamento con inibitori specifici (7).

Introduzione

La Leucemia Mieloide Acuta (LMA) è una neoplasia della cellula staminale emopoietica che si caratterizza per la presenza di una popolazione blastica midollare superiore al 20% e specifiche anomalie cariotipiche e molecolari^{1,2}. Le recenti raccomandazioni della International Consensus Classification inoltre identificano una categoria, definita MDS/AML, nel caso in cui la percentuale di blasti sia compresa tra 10 e 19%².

Ogni anno la LMA colpisce 5.34/100,000 individui adulti in Italia (17/100,000/anno negli individui > 65 anni), pari a oltre 3500 nuovi casi/anno e 11.000 casi prevalenti. La leucemia promielocitica acuta (LAP) ne rappresenta una porzione minore, con un'incidenza di 0.23/100,000/anno e circa 150 casi/anno diagnosticati in Italia.

La sopravvivenza attesa degli adulti con LAP è del 70% a 5 anni, mentre per le LMA non-LAP è del 40% ad un anno e del 20% a 5 anni (AIRTUM rari, 2015).

Al fine di ottimizzare i percorsi terapeutici, i pazienti affetti da LAM non-LAP, vengono stratificati in tre categorie di rischio in relazione alla presenza di specifiche alterazioni genetiche all'esordio di malattia³.

Tabella 1. Rischio citogenetico delle LAM non-LAP

Classe di rischio:	
FAVOREVOLE	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1::RUNX1T1 inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ::MYH11 NPM1 mutato senza FLT3-ITD Mutazioni in-frame del basic leucine zipper (bZIP) di CEBPA
INTERMEDIO	NPM1 mutato con FLT3-ITD FLT3-ITD con NPM1 non-mutato e senza alterazioni genetiche a rischio sfavorevole t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3::KMT2A (la presenza della t(9;11) (p21.3;q23.3) ha la precedenza su rare, concomitanti mutazioni genetiche a rischio sfavorevoli). Alterazioni citogenetiche e/o molecolari non classificate come favorevoli o sfavorevoli
SFAVOREVOLE	t(6;9)(p23;q34.1); DEK::NUP214 t(v;11q23.3); riarrangiamento KMT2A t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR::ABL1 t(8;16)(p11.2;p13.3)/KAT6A::CREBBP inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2,MECOM(EV11) t(3q26.2;v)/MECOM(EV11)-rearranged -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Cariotipo complesso, cariotipo monosomico Mutazioni di ASXL1, BCOR, EZH2, RUNZ1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2 (se non associati ad anomalie prognosticamente favorevoli) Mutazioni di TP53 (VAF > =10%) (significativamente associata a cariotipo complesso e monosomico)

Storicamente le classi prognostiche nelle quali vengono stratificati i pazienti con LAP si basano invece su semplici criteri clinici quali la presenza di leucocitosi e/o piastrinopenia: sono a basso rischio i pazienti con conta leucocitaria inferiore a $10.000 \times 10^6/l$.

Le strategie trapiantologiche sono efficaci nel migliorare la sopravvivenza a lungo termine dei pazienti a rischio sfavorevole e con adeguata fitness, ma richiedono l'induzione preliminare di una buona risposta alle terapie farmacologiche. Inoltre, sono attualmente disponibili alcune terapie mirate, quali gli inibitori di FLT3 (midostaurina e gilteritinib), gli anticorpi monoclonali anti-CD33 (gemtuzumab ozogamicin) e gli inibitori di BCL-2 (venetoclax). Queste strategie terapeutiche hanno riportato benefici in termini di sopravvivenza in gruppi di pazienti selezionati sulla base del cariotipo e della presenza di mutazioni in specifici geni. Per questa ragione, la Società Americana di Ematologia nel 2017 aveva raccomandato di includere la verifica delle mutazioni di FLT3, IDH1, IDH2, TET2, DNMT3A e/o TP53, WT1, RUNX1 nel workup iniziale delle LMA. Inoltre, alcune delle suddette indagini sono fondamentali per la corretta definizione della malattia residua misurabile (MRM) dopo il trattamento⁴. Le raccomandazioni sviluppate in queste linee guida riguardanti la MRM, su base molecolare o citofluorimetrica, si basano su robuste evidenze, attualmente ampiamente condivise da tutta la comunità scientifica e all'origine della generazione di raccomandazioni internazionali. Tuttavia, nell'ambito della MRM applicata alla LMA, restano ancora aperte molte questioni (ad es. diversa sensibilità delle differenti metodiche, timing del monitoraggio in relazione ai trattamenti, individuazione del target, etc.). La risoluzione di questi interrogativi sarà occasione per un aggiornamento delle raccomandazioni attuali.

In un panorama in costante cambiamento, l'approccio diagnostico alla LMA richiede sempre più multidisciplinarietà e conoscenza di tecniche complesse. A questo proposito, una recente pubblicazione ha evidenziato una certa disomogeneità degli approcci diagnostici dei principali centri italiani. Questo sia in termini di quali test eseguire, che in quale modo, e in quali pazienti⁵. Al fine di personalizzare la terapia dei pazienti con LMA garantendo loro l'ottimizzazione degli esiti, risulta quindi necessaria l'implementazione di metodiche diagnostico/prognostiche avanzate che siano uniformemente sempre disponibili nei centri ematologici italiani. La personalizzazione della terapia, sulla base delle caratteristiche biologiche della LAM, oltre che avere un ovvio impatto sull'attività diagnostica e sull'efficacia dei trattamenti, potrà tradursi in un vantaggio sotto l'aspetto della gestione delle risorse economiche destinate alla sanità pubblica.

Obiettivi della linea-guida

La presente linea-guida si propone di definire dei livelli minimi di analisi diagnostica e prognostica delle LMA che siano attuabili sia nei centri ematologici di eccellenza che nei centri senza disponibilità di un laboratorio di analisi citogenetica e molecolare. Le raccomandazioni proposte da SIES intendono essere il presupposto per un'organizzazione funzionale ed equa dei servizi di diagnostica avanzata sul territorio.

Infine, le raccomandazioni proposte intendono armonizzarsi con le indicazioni delle società scientifiche internazionali. Si segnala come le linee guida sono state redatte tra il 2020 ed il 2022, quindi prima dell'uscita delle nuove classificazioni ICC e WHO delle neoplasie mieloidi, e prima delle conseguenti raccomandazioni della European LeukemiaNet (ELN). Tuttavia, nonostante alcune raccomandazioni siano cambiate alla luce di queste nuove pubblicazioni, i quesiti rispetto ai quali vengono emanate raccomandazioni in queste linee guida non sono stati influenzati dai cambiamenti.

Target della linea-guida

Ematologi clinici, Biologi genetisti

Metodi

La linea-guida è stata sviluppata in accordo col metodo GRADE^{6,7,8,9,10}. A tale scopo sono state selezionate 7 domande cliniche rilevanti (Tabella 2) e ciascuna domanda è quindi stata riformulata in 11 domande Paziente-Intervento-Comparatore-Outcome (PICO) (Tabella 3). Tra gli esiti desiderabili sono stati inclusi ove appropriato anche la risposta al trattamento e la sopravvivenza^{11,12}, pur considerando che questi esiti sono solo indirettamente legati al PICO, in quanto dipendenti dall'assegnazione alla migliore terapia disponibile sulla scorta dell'esito del test oggetto del PICO stesso.

Dal momento che le domande sono fondamentalmente mirate all'identificazione di fattori prognostici, in accordo con le indicazioni GRADE, all'evidenza proveniente da studi osservazionali viene assegnata una qualità "alta". La qualità può essere ridotta in base alla presenza di: a) bias statistici; b) inconsistenza tra le fonti di evidenza o tra gli esiti riportati; c) "indirectness" ovvero parziale ma non completa aderenza dell'evidenza alla popolazione o all'intervento analizzati nella domanda; d) bias di pubblicazione. La qualità dell'evidenza può al contrario essere migliorata dalla documentazione di una relazione molto forte tra i fattori prognostici e gli esiti.

Una ricerca bibliografica specifica è stata condotta per ciascun PICO: le stringhe di ricerca e i risultati della ricerca e selezione delle fonti bibliografiche è riportata in appendice. AI e MM si sono occupati della ricerca bibliografica di base. Ciascun esperto ha poi ulteriormente selezionato le fonti informative più rilevanti per il PICO.

Sulla base delle fonti bibliografiche selezionate, sono state completate le tavole dell'evidenza. Dopodiché sono stati considerati gli altri aspetti (es. economici, organizzativi, equità) suggeriti da GRADE. Infine, sono state formulate e approvate le raccomandazioni finali per ciascun PICO. Infine, per ciascuna raccomandazione sono stati proposti degli indicatori per la verifica della qualità.

A supporto delle raccomandazioni, il Panel ha riconosciuto che:

- in base ad un favorevole rapporto tra rischi e benefici, come indicato dalle linee-guida European LeukemiaNet (ELN), dovrebbero essere candidati ad allo SCT in prima remissione quei pazienti il cui rischio di recidiva è >35-40% in assenza di procedura trapiantologica^{13,14}.
- i costi relativi alla diagnostica avanzata nelle LMA risultano essere sensibilmente inferiori ai costi correlati alle ospedalizzazioni, alle terapie di supporto e ai farmaci anti-leucemici; inoltre, per quanto la rimborsabilità dei test di diagnostica avanzata sia eterogenea sul territorio nazionale, queste indagini risultano incluse nei LEA

Il comitato estensore ha valutato che ad alcune raccomandazioni può essere data con forza a fronte di qualità dell'evidenza bassa (PICO 1A, PICO 2, PICO 3A, PICO 5B, PICO 6). Tale scelta in questo setting risulta giustificata da vari fattori. In primo luogo, trattando le nostre LG aspetti di carattere spesso tecnico e non terapeutico, le evidenze in letteratura sono intrinsecamente di minore qualità. Tuttavia, l'intervento spesso è applicabile a parità di risorse e senza pregiudizi per il paziente o per il SSN, e studi con farmaco hanno dimostrato il valore prognostico di una diagnostica molecolare accurata.

Tabella 2. Le domande cliniche

N	Domanda	Razionale
1	Va eseguita l'analisi del cariotipo in tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA, età superiore a 60 anni ed elegibili a terapia di induzione?	<i>La presenza di anomalie cariotipiche consente di classificare il paziente in classi prognostiche passibili di vantaggio di sopravvivenza dall'aggiunta di gemtuzumab ozogamicin* alla chemioterapia di induzione, cui sono candidabili anche pazienti anziani con adeguata fitness. La presenza di anomalie cariotipiche indicative di LMA associata a mielodisplasia consente di optare per formulazioni liposomiali* di chemioterapia di induzione che hanno dimostrato di prolungare la sopravvivenza in questo sottogruppo di pazienti.</i>
2	Nei pazienti adulti con LMA di nuova diagnosi ed elegibili a chemioterapia di induzione intensiva va eseguita la ricerca delle mutazioni di FLT3?	<i>L'identificazione di mutazioni di FLT3 consente di inquadrare meglio la prognosi e decidere se associare alla chemioterapia di induzione una terapia targeted*.</i>
3	Nei pazienti con LMA di nuova diagnosi vanno impiegate NGS o PCR tradizionali in modo equivalente per definire la classe di rischio?	<i>La corretta classificazione molecolare dei pazienti con LMA richiede la verifica di molteplici target molecolari e consente di implementare le strategie terapeutiche (incluse quelle trapiantologiche) ottimali per massimizzare la sopravvivenza del paziente.</i>
4	Nei pazienti con LAP dopo il consolidamento va avviato il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RAR-alfa?	<i>Il riscontro della recidiva molecolare prima delle manifestazioni cliniche consente di avviare trattamenti di seconda linea prima che il paziente sviluppi una condizione emostatica pericolosa e favorisce il successo terapeutico.</i>
5	Nei pazienti con LMA NPM1 mutata va avviato il monitoraggio molecolare della mutazione di NPM1 dopo 2 cicli di terapia?	<i>Il riscontro della recidiva molecolare prima delle manifestazioni cliniche consente di avviare trattamenti di seconda linea prima e di avviare per tempo l'iter trapiantologico.</i>

6	Nei pazienti con LMA a rischio intermedio senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di cellule staminali allogeniche, va monitorata la malattia residua in citofluorimetria?	<i>Il riscontro della recidiva prima delle manifestazioni cliniche consente di avviare trattamenti di seconda linea prima e di avviare per tempo l'iter trapiantologico.</i>
7	Nei pazienti con LMA in recidiva/refrattari, va eseguita/ripetuta la valutazione delle mutazioni di FLT3?	<i>Una porzione di pazienti inizialmente FLT3 non mutati può sviluppare le mutazioni alla recidiva. La verifica di mutazioni trattabili come FLT3 consente di avviare terapie mirate, in monoterapia (gilteritinib*) o in associazione</i>

* rimborsati AIFA nell'indicazione specificata

Tabella 3. Domande PICO

PICO	PAZIENTE	INTERVENTO (test+terapia)	CONFRONTO	ESITI
1A	LMA di nuova diagnosi >60 anni elegibile a chemioterapia di induzione	Studio del cariotipo (sangue midollare) → possibile CPX-351 in LMA-MRC	No cariotipo → possibile CPX -351 solo se LMA correlata a terapia o secondaria	Mortalità a 30 giorni, tasso di risposta completa, sopravvivenza globale
1B	LMA di nuova diagnosi >60 anni elegibile a chemioterapia di induzione	Studio del cariotipo (sangue midollare) → NON assegnazione a Gemtuzumab Ozogamicin dei pazienti a prognosi sfavorevole	Studio del cariotipo (sangue midollare) → possibile assegnazione a Gemtuzumab Ozogamicin anche dei pazienti a prognosi sfavorevole	Mortalità a 30 giorni, tasso di risposta completa, sopravvivenza globale
2	LMA di nuova diagnosi elegibile a chemioterapia di induzione	Ricerca delle mutazioni di FLT3 → assegnazione dei pazienti mutati a terapie combinate inclusive di farmaci mirati (midostaurina) e ottimizzazione del percorso terapeutico	No ricerca di mutazioni FLT3 → nessuna terapia combinata mirata	Corretta classificazione diagnostica e prognostica. Accesso a terapie targeted. Sopravvivenza globale e libera da progressione.
3A	LMA di nuova diagnosi	Determinazione delle mutazioni di FLT3 con NGS	Determinazione di mutazioni di FLT3 con Elettroforesi capillare	Accuratezza del risultato Tempi di refertazione
3B	LMA di nuova diagnosi	Determinazione delle mutazioni di TP53 con NGS	Determinazione di mutazioni di TP53 con Sanger Sequencing	Accuratezza del risultato Identificazioni di marcatori con effetto prognostico
4A	LAP ad alto rischio in risposta completa dopo consolidamento con chemioterapia e ATRA	Monitoraggio ogni 3 mesi di PML-RAR-alfa (Q-PCR midollo)	Solo monitoraggio clinico	Rilevazione recidiva molecolare preclinica

4B	LAP a rischio standard in risposta completa dopo terapia con ATO/ATRA	Monitoraggio ogni 3 mesi di PML-RAR-alfa (Q-PCR midollo)	Solo monitoraggio clinico	Rilevazione recidiva molecolare preclinica
5A	LMA NPM1 mutata in remissione completa dopo 2 cicli di chemioterapia di induzione	Verifica della risposta molecolare	Non verifica della risposta molecolare	Sopravvivenza globale e libera da malattia
5B	LMA NPM1 mutata in remissione molecolare dopo 2 cicli di chemioterapia di induzione	Monitoraggio ogni 3 mesi della mutazione NMP1 (Q-PCR midollo)	Solo monitoraggio clinico	Sopravvivenza globale e libera da malattia
6	LMA rischio intermedio senza marcatori molecolari candidabile a trapianto	Monitoraggio della malattia residua in citofluorimetria (midollo ogni 3 mesi)	Solo monitoraggio clinico	Sopravvivenza globale e libera da malattia
7	LMA in recidiva	Ricerca mutazioni FLT3	Non ripetizione del test	Identificazione candidati a terapia mirata anti-FLT3. Sopravvivenza globale e libera da malattia

Legenda: LMA-MR (LMA correlato a mielodisplasia). t-LMA (LMA secondaria a terapie chemioterapiche o radioterapiche per altre neoplasie). S-LMA (LMA secondaria all'evoluzione di sindrome mielodisplastica o mieloproliferativa cronica).

Domanda n. 1

Va eseguita l'analisi del cariotipo in tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA, età superiore ai 60 anni ed eleggibili a terapia di induzione?

La citogenetica è un approccio diagnostico consolidato nelle emopatie maligne e utilizza tecniche di laboratorio altamente riproducibili. L'analisi del cariotipo può essere effettuata nelle cellule da prelievo midollare, da sangue periferico, versamenti e qualunque altro tessuto infiltrato da blasti leucemici. La percentuale di successo nelle LMA è superiore al 95%; inoltre la metodica risulta standardizzata e i laboratori si sottopongono a periodici controlli di qualità^{15,16,17,18}.

Complessivamente l'incidenza di anomalie cariotipiche nelle LMA è intorno al 50-60% dei casi, con frequenza maggiore nei casi al di sopra dei 60 anni. Le anomalie cariotipiche sono necessarie per l'identificazione di alcune specifiche classi diagnostiche, come ad esempio le LMA correlate a mielodisplasia (LMA-MR), e alle specifiche classi di prognosi che consentono la pianificazione di terapie trapiantologiche di consolidamento della risposta.

Nella popolazione con nuova diagnosi di LMA, di età > 60 anni ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), la ricerca dei marker cariotipici di mielodisplasia (I) migliora l'appropriatezza prescrittiva e l'efficacia del trattamento con CPX 351 (O), rispetto alla mancata analisi del cariotipo (C) con conseguente assegnazione alla terapia standard?

La definizione clinica delle LMA associate a mielodisplasia è basata anche sulle anomalie citogenetiche, sulla base della classificazione WHO 2016 (Tabella 4). Nel 2022 LeukemiaNet ha introdotto una nuova classe di AML con anomalie molecolari associate a mielodisplasia (MDS) che include le mutazioni di ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX2, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ZRSR2¹⁹⁻²¹. Inoltre, i pazienti con sindromi mielodisplastiche e conta blastica superiore al 10% sono stati scorporati dalle mielodisplasie e assegnati sia da LeukemiaNet/ICC che da WHO2022 ad una nuova classe.

Tabella 4. Criteri diagnostici di LMA-MR secondo WHO 2016.²²

Storia di sindrome mielodisplastica o mielodisplastica/mieloproliferativa

Displasia bi/trilineare >50%
Criteri cariotipici (in assenza di mutazioni NPM1 e di mutazioni bialleliche di CEBPA)
Cariotipo complesso (3 o più anomalie)
Traslocazioni bilanciate del cromosoma 5 e del cromosoma 3: t(5;10)(q32;q21.2), t(3;5)(q25.3;q35.1), t(5;17)(q32;p13.2), t(5;7)(q32;q11.2), t(5;12)(q32;p13.2), t(2;11)(p21;q23.3), t(1;3)(p36.3;q21.2), t(3;21)(q26.2;q22.1), t(11;16)(q23.3;p13.3)
Traslocazioni non bilanciate del(12p)/t(12p) idic(X)(q13) del(11q) 13/del(13q) i(17q)/t(17p) del(5q)/t(5q) -7/del(7q)

Le LMA-MR rappresentano oltre il 20% delle LMA insorte in individui > 60 anni²⁰⁻²² e sono gravate da una prognosi sfavorevole per minori tassi di risposta completa alla terapia di induzione intensiva e sopravvivenza mediana inferiore al 12 mesi²⁰⁻²³.

Uno studio ha randomizzato (non in cieco) 309 pazienti (60-75 anni, mediana 68 anni) con LMA secondaria a terapie precedenti (20%), a neoplasie ematologiche precedenti (54%) o con anomalie citogenetiche associate a displasia (26%) a CPX-351 o terapia standard con daunorubicina/citarabina (3+7), sia per l'induzione che per il consolidamento²⁴. Il 34% dei pazienti aveva già ricevuto un precedente trattamento demetilante prima dell'evoluzione in LMA (pazienti con sindrome mielodisplastica). Lo studio ha riportato un aumento significativo della porzione di pazienti che è riuscita ad accedere al trapianto allogenico (dal 12% al 20%) e un prolungamento della sopravvivenza mediana da 5.95 a 9.56 mesi (HR 0.69; 95% CI 0.51-0.90).

Un'analisi post-hoc del sottogruppo di 246 pazienti con anomalie cariotipiche associate a mielodisplasia ha evidenziato che la frequenza di risposte complete era del 48% nei pazienti trattati con CPX-351 rispetto al 33% del gruppo di controllo (OR 1.83). Questo ha determinato una sopravvivenza prolungata da 11.6 a 19.2 mesi (HR 0.58; 95% CI 0.34-0.96) e una maggior porzione di pazienti che hanno ricevuto trapianto allogenico (54% vs 43%)²⁴. Ugualmente a quanto riscontrato nella popolazione globale dello studio, la sopravvivenza post-trapianto è risultata nettamente superiore nei pazienti trattati in precedenza con CPX-351 (HR 0.61).

I dati dello studio suddetto sono stati confermati nella real-life da uno studio retrospettivo francese che ha raccolto 103 pazienti trattati con CPX-351 presso 12 centri e ha confrontato la loro sopravvivenza con i 643 pazienti trattati con chemioterapia intensiva e riportati nel registro di Boreaux e Tolosa DATAML, evidenziando come il vantaggio di sopravvivenza ottenuto con CPX-351 (HR 0.44; 95% CI 0.26-0.75, p=0.002) fosse evidente unicamente nei pazienti > 60 anni²⁵.

Nei suddetti studi il profilo di tossicità di CPX-351 è simile a quello del 3+7 senza differenze significative della mortalità precoce (5.9% CPX-351 vs 10.9% 3+7) ma una maggior durata delle citopenie^{13,14,15}.

Tabella 5. PICO 1A

Pazienti	LMA alla diagnosi >60 anni fit per chemioterapia di induzione
Intervento	Analisi del cariotipo eseguito allo scopo di valutare CPX-351 come chemioterapia di induzione nei pazienti con marker cariotipici di mielodisplasia
Confronto	No analisi del cariotipo nei pazienti > 60 anni idonei a chemioterapia di induzione standard: valutazione di CPX-351 unicamente nei pazienti con storia di emopatia precedente oppure esposti a chemio/radioterapie leucemogene
Scopo del test	Identificazione classe WHO
Ruolo del test	Assegnare i pazienti al trattamento più vantaggioso
Esiti desiderabili	Mortalità a 30 giorni, tasso di risposta completa, sopravvivenza globale
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 6. Tabella dell'evidenza PICO 1A

Esito	Analisi cariotipica e assegnazione pazienti MRC-AML a CPX-351	Assenza di analisi cariotipica; assegnazione dei pazienti MRC-AML a 3+7	HR	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	Studio randomizzato registrativo che ha arruolato 41+37 paz senza MDS precedente ma con LMA-MR ²⁶ Mediana 9.33 9.66 LMA-MR	Studio randomizzato registrativo Mediana 5.95 7.36 MRC-AML	0.70 (0.55-0.91) 0.51 (0.28-0.90) landmak HSCT ²⁷ 0.72 (0.44–1.17) LMA-MR (senza MDS precedente)	Bassa per numerosità del sottogruppo LMA-MR e mancanza di significatività statistica
	1 studio real-life multicentrico di 131 LMA-MR ²⁸ : mediana 21 mesi, 64% ad un anno 1 studio real-life di 54 LMA-MR riporta 54% ad un anno e 39% a 2 anni			
CR			1 network meta-analisi di 4 studi (781 pazienti) riporta vantaggio di CPX-351 (e FLAIG) rispetto a 3+7	Bassa perché riportata parzialmente (abstract) e non seleziona le LMA-MR
Mortalità a 30 giorni	1 studio real-life multicentrico di 131 MRC-AML: 8% 1 studio real-life riporta 7% a un mese e 15% a 2 mesi ²⁹ 1 studio real-life del Moffitt Center riporta 3.3% in 188 pazienti ³⁰			Bassa perché studi non comparativi
Qualità della vita (QOL)			Un'analisi Q-TWIST dei 209 pazienti arruolati nello studio registrativo riporta un miglioramento del 53.6% (cutoff di rilevanza è + 15%) ³¹ Un'analisi time tradeoff basata su 12 vignette ha riportato una disutilità di -0.11 per l'induzione con CPX_351 (-0.15 per terapia standard). ^	Moderata: basata su studio randomizzato. LMA-MR rappresenta sottogruppo rilevante senza prevedibili differenze QOL rispetto agli altri sottogruppi (quindi risultati trasferibili dall'intera coorte). Differenze tra I e C rilevanti.

^ Matza LS, et al. Health state utilities associated with treatment options for acute myeloid leukemia (AML). J Med Econ 2019;22:567-576.

Tabella 7. Raccomandazione PICO 1A

RACCOMANDAZIONE

Si raccomanda l'analisi del cariotipo per tutti i pazienti >60 anni con LMA di nuova diagnosi candidabili a chemioterapia di induzione al fine di valutare l'assegnazione a chemioterapia liposomiale dei pazienti con anomalie citogenetiche associate a mielodisplasia anche in assenza di una storia clinica evocativa (emopatie o chemio/radioterapie leucemogene precedenti).

	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9/9	-	-	-

La griglia GRADE è stata riportata in Appendice.

PICO n. 1B

Nella popolazione con nuova diagnosi di LMA, di età > 60 anni ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), l'analisi del cariotipo con l'intento di valutare l'idoneità all'aggiunta di gemtuzumab ozogamicin (attraverso la classificazione prognostica) (I) migliora l'appropriatezza e l'efficacia del trattamento (O), rispetto alla mancata analisi del cariotipo (C) con conseguente assegnazione alla chemioterapia senza gemtuzumab ozogamicin?

Le anomalie cariotipiche mantengono un valore prognostico fondamentale indipendentemente dai marcatori molecolari (Tabella 1), anche post-trapianto^{32,33} e sono fondamentali nel sistema di classificazione universalmente adottato per definire la classe prognostica dei pazienti con LMA^{2,3}. La revisione sistematica dell'evidenza ci ha consentito di individuare 11 studi longitudinali che hanno validato tale sistema classificativo proposto nel 2017 (Tabella 8). Tale classificazione risulta, tuttavia, prevalentemente applicabile nei pazienti sottoposti a terapia di induzione intensiva^{34,35} (Tabella 9), pertanto la popolazione oggetto del PICO è stata limitata ai soggetti candidabili a chemioterapia standard.

Tabella 8. Valore predittivo della classe di rischio citogenetico.^{36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47}

Studio	N	Caratteristiche	5-yr OS	Mortalità precoce	AUC C-statistics	Qualità dell'evidenza
<i>Herold 2020</i>	1116	18-86 anni CT induzione 40% alto rischio	<60y-≥60y 64% - 37% 42% - 16% 20% - 6%			Studio retrospettivo ampio
<i>Itzkynson 2021</i>	471	R i s c h i o E L N sfavorevole	9.7 mesi 25 mesi		0.63 (0.59-0.68)	Analisi post-hoc di studio prospettico ampio
<i>Keren-Froim 2021</i>	320	Alto rischio kario Int-fav rischio kario Rischio sfav ELN Rischio int ELN Rischio fav ELN		20% 8% , 7% * 20% [OR 6.7; 1.77-25.3] 10% 4%**		Studio retrospettivo singolo centro
<i>Bataller 2022</i>	861	ELN fav ELN interm ELN sfav	70% 46% HR 2.2 23% HR 4.5	8.9% 11.9% 10.2%		Alta qualità
<i>Bill 2021</i>	1612	ELN classi rischio			0.707	Pazienti arruolati in trial CALBG upfront
<i>Orvain 2019</i>	99	>60 anni induzione intensiva	OR 8.8 (1.1-70) rischio sfavorevole	ELN ns	0.66	Retrospettivo singola istituzione
<i>Fleming 2019</i>	2074				Error rate 45%	Qualità moderata
<i>Buccisano 2022</i>	500	Adverse risk class Intermediate risk class	HR			Re-analysis of AML1310 trial

* = p<0.05 ** = p<0.001 ns = non statisticamente significativo

Tabella 9. Valore predittivo indipendente del cariotipo nelle LMA candidabili a chemioterapia di induzione.^{48,49,50}

Studio	N	Caratteristiche	Analisi multivariata per OS	Qualità dell'evidenza
<i>Wang 2019</i>	977	Cariotipo alto rischio	HR 1.48, p=0.001	moderata
<i>Reville 2021</i>	643	ELN sfavorevole	HR 2.27 (1.55-3.21)	moderata
<i>Begna 2021</i>	766	Cariotipo alto rischio	HR 2.9 (1.9-4.9)	moderata

Gemtuzumab ozogamicin (GO) è un farmaco (calicheamicina) coniugato con un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il CD33 che consente di potenziare la risposta alla chemioterapia di induzione. Una meta-analisi di 11 studi randomizzati ha riportato simile efficacia del GO nel ridurre le recidive (0.78; 0.68-0.919 e la malattia refrattaria (HR 0.72; 0.61-0.84) senza aumentare la mortalità precoce (HR 1.25; 0.99-1.57) e senza migliorare la sopravvivenza globale (OS). Le analisi di sottogruppo di 3 studi hanno tuttavia riscontrato un miglioramento significativo della OS unicamente nei pazienti con cariotipo favorevole: HR 0.50 (95% CI 0.28-0.89)⁵¹.

GO, aggiunto in dosi frazionate (3 mg/m² × 3) alla chemioterapia di induzione standard per pazienti con LMA de novo precedentemente non trattata, ha determinato un miglioramento statisticamente significativo e clinicamente rilevante della sopravvivenza libera da eventi (EFS) come riportato dallo studio ALFA-0701. L'EFS mediana è stata di 17,3 mesi (IC al 95%: 13,4; 30,0) rispetto a 9,5 mesi (IC al 95%: 8,1; 12,0) nel braccio Daunorubicina/AraC da solo; hazard ratio (HR) 0,562 (IC al 95%: 0,415; 0,762; p a 2 code=0,0002 mediante test log-rank). Tuttavia, nelle analisi per sottogruppi dello studio ALFA-0701, l'aggiunta di GO alla combinazione chemioterapica standard non ha migliorato l'EFS nel sottogruppo di pazienti con rischio citogenetico avverso (HR 1,11; IC al 95%: 0,63-1,95) e nel sottogruppo di pazienti con rischio ELN 2010 scarso/avverso (HR 0,7; IC al 95%: 0.430-1.50). Analoghi risultati sono stati riportati per la OS (HR 1,553; IC al 95%: 0,878-2,748 e 1,124; IC al 95%: 0,677-1,867, rispettivamente).

Per l'incertezza rispetto all'entità degli effetti nei pazienti con citogenetica sfavorevole GO è rimborsato nel nostro paese nei pazienti con LMA con rischio citogenetico favorevole e intermedio. La terapia con GO può essere pertanto avviata in attesa dell'esito degli esami citogenetici, ma "una volta disponibili i risultati dei test citogenetici si deve valutare se il potenziale beneficio di proseguire il trattamento con MYLOTARG superi i rischi per il singolo paziente."

Tabella 10. PICO 1B

Pazienti	LMA alla diagnosi >60 anni fit per chemioterapia di induzione
Intervento	Analisi del cariotipo seguito da chemioterapia di induzione associata a GO nei pazienti CD33+ non ad alto rischio
Confronto	Assegnazione a chemioterapia di induzione senza GO
Scopo del test	Identificare i pazienti nei quali l'aggiunta di GO può migliorare gli esiti
Ruolo del test	Classificazione prognostica
Esiti desiderabili	Mortalità a 30 giorni, tasso di risposta completa, sopravvivenza globale
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 11. Tabella dell'evidenza del PICO 1B.

Esito	Analisi cariotipica e assegnazione pazienti MRC-AML a GO	Assenza di analisi cariotipica; assegnazione dei pazienti MRC-AML a 3+7	HR	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati	0.91 (0.84-1.00) in induzione 0.50 (0.28-0.89) fav	alta
OS	studio randomizzato registrativo ⁵² 45.6 mesi	studio randomizzato registrativo 26.9 mesi	+12.6-18.7 mesi -0.3-1.5 mesi nel rischio alto	moderata
DFS	studio randomizzato registrativo ⁵² 22.5 mesi	studio randomizzato registrativo 12.2 mesi	+10.3-10.9 mesi -3-5 mesi nel rischio alto	moderata
RFS	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati	0.84 (0.73-0.98)	alta
Recidiva	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati	0.78 (0.68-0.91)	alta
CR	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati	1.21 (0.94-1.55) ^{^^}	alta
Mortalità a 30 giorni	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	1 meta-analisi di 11 studi randomizzati	1.25 (0.99-1.57) [^]	alta

[^] una meta-analisi precedente, che includeva ugualmente 11 studi, riportava una mortalità durante l'induzione significativamente superiore nei pazienti assegnati a gemtuzumab + dauno/araC (p=0.02) e un modesto beneficio di RFS (HR 0.90) senza alcun miglioramento della OS. Mylotarg has potent anti-leukaemic effect: a systematic review and meta-analysis of anti-CD33 antibody treatment in acute myeloid leukaemia Loke J., Khan J.N., Wilson J.S., Craddock C., Wheatley K. Annals of Hematology 2015 94:3 (361-373).

^{^^} si segnala una significativa riduzione dei pazienti con refrattarietà all'induzione.

Tabella 12. Sintesi dell'evidenza per il PICO 1-B

Esito	Evidenza disponibile	GO vs non GO	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	Metanalisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	HR 0.50 (95% CI 0.28-0.89)	moderata
CR	Studio randomizzato ALFA-0701 [^]	81.5% vs 73.5%	moderata
Mortalità a 30 giorni	Metanalisi di 11 studi randomizzati ⁵¹	HR 1.25; 0.99-1.57	moderata
Qualità della vita (QOL)	Stima indiretta ^{^^}	Solo analisi combinate con la sopravvivenza	n/a

[^] Pfizer Inc. (Pfzer). ALFA-0701 (MyeloFrance 3) full clinical study report. Data on fle. 2016a.

^{^^}Pfzer Inc. (Pfzer). Estimating the utility of health states associated with acute myeloid leukaemia (prepared by Laser Analytica). Data on fle. 2016b. Castejón N, Cappelleri JC, Cuervo J, Lang K, Mehta P,

Mokgokong R, et al. Social preferences for health states associated with acute myeloid leukemia for patients undergoing treatment in the United Kingdom. *Health Qual Life Outcomes*. 2018;16:66.

Castaigne S, Pautas C, Terré C, Rafoux E, Bordessoule D, Bastie J-N, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2012 Apr 21;379(9825):1508–16

Tabella 13. Raccomandazione per il PICO 1B.

RACCOMANDAZIONE				
Si raccomanda l'analisi del cariotipo per tutti i pazienti >60 anni con LMA di nuova diagnosi candidabili a chemioterapia di induzione al fine di valutare l'inappropriatezza di gemtuzumab ozogamicin nei pazienti a rischio non-favorevole.				
	POSITIVA forte	POSITIVA forte	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9/9	-	-	-

La griglia GRADE è stata riportata in Appendice.

Domanda n. 2

Nei pazienti adulti con LMA di nuova diagnosi ed elegibili a chemioterapia di induzione intensiva va eseguita la ricerca delle mutazioni di FLT3?

Alla diagnosi di LMA, la prevalenza di FLT3-ITD è del 19% (10.2%-31.6%), e la frequenza di FLT3-TKDs del 4% (1.9% al 8.8%)⁵³, e il 9% dei pazienti con mutazioni di FLT3 riportano sia ITD che TDK⁵⁴.

La valutazione per FLT3-ITD è stata in gran parte ottenuta mediante PCR, seguita dall'analisi delle dimensioni dei frammenti con elettroforesi capillare. La presenza di inserzioni negli esoni 14 e 15 è indicata da picchi aggiuntivi nell'elettroferogramma e il rapporto allelico è determinato quantificando l'area sotto i picchi wild-type e mutanti. Questo approccio rappresenta lo standard attuale per la valutazione di tale mutazione nel work-up diagnostico delle LMA.

Il valore prognosticamente peggiorativo delle mutazioni di FLT3-ITD è stato ampiamente dimostrato nei pazienti trattati con chemioterapia di induzione⁵⁵: il rischio relativo di recidiva e di morte nei pazienti FLT3-ITD mutati è di 1.55 e 1.34, rispettivamente⁵⁶, con un netto vantaggio conferito dal trapianto allogenico di staminali emopoietiche in prima remissione completa⁵⁷. Il valore prognostico di FLT3-TDK non risulta invece significativo⁵⁸. Infine, nonostante la prevalenza di mutazioni di FLT3 è alta anche nel sottogruppo di pazienti con t(8;21)⁵⁹, l'impatto prognostico di FLT3-ITD sovrasta l'effetto favorevole dei CBF e delle mutazioni di NPM1, come risulta confermato dalla classificazione prognostica LeukemiaNet del 2022.

Tabella 14. Valore prognostico di FLT3-ITD.

Studi disponibili	Popolazione	Outcome	HR dei FLT3-ITD vs non mutati (95% IC)	Qualità dell'evidenza
2 meta-analisi di 10+28 studi	LMA alla diagnosi	OS	1.91 [1.59, 2.30] ⁶⁰ 1.94 [1.58,2.39] in NPM1mut ⁶¹ 1.86 [1.30, 2.68] in NPM1wt	BASSA Una meta-analisi dedicata solo a pazienti non elegibili a trapianto.
17 studi retrospettivi	7844 pazienti	OS	Tutti gli studi indicano un HR maggiore per i pazienti con FLT3-ITD (eccetto due studi che selezionavano pazienti candidati a SCT)	BASSA Casistica eterogenea, dati non riportati in maniera uniforme
2 meta-analisi di 10+28 studi	LMA alla diagnosi	PFS	1.64 [1.25, 2.14] 1.70 [1.25,2.31] in NPM1mut 1.64 [0.86, 3.15] in NPM1wt	BASSA Una meta-analisi dedicata solo a pazienti non elegibili a trapianto.
11 studi retrospettivi	5352 pazienti	PFS	Tutti gli studi indicano un HR maggiore per i pazienti con FLT3-ITDs (eccetto due studi che selezionavano pazienti candidati a SCT)	BASSA Casistica eterogenea, dati non riportati in maniera uniforme

PICO n. 2

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA ed elegibile per la chemioterapia di induzione (P), la ricerca delle mutazioni di FLT3 (I) migliora l'appropriatezza prescrittiva e l'efficacia del trattamento combinato con inibitori di FLT3 (O), rispetto alla mancata analisi del di FLT3 (C) con conseguente assegnazione alla terapia standard (senza combinazione con inibitori specifici)?

La disponibilità di inibitori di FLT3 ha consentito di valutare la possibilità di trattare in modo mirato pazienti con ITDs e TKDs alla diagnosi. Nello studio randomizzato vs placebo di fase III RATIFY, 717 pazienti candidabili a terapia intensiva sono stati randomizzati a ricevere un regime di induzione "3+7" con aggiunta di placebo o midostaurina, un inibitore di FLT3 di prima generazione di tipo I, ovvero capace di inibire la proteina nella sua conformazione attiva e attivo nei confronti di FLT3-ITDs e FLT3-TKDs. I pazienti che hanno ricevuto midostaurina hanno mostrato una OS prolungata (63.7% vs 55.7% a 4 anni) rispetto a

placebo⁶². Questo risultato è stato confermato da una recente meta-analisi di 39 studi con FLT3-inibitori in pazienti con LMA. Il rischio relativo di CR nei riceventi FLT3-inibitori è risultato di 0.88 (p=0.04) nei pazienti naive e 0.61 (p<0.01) nei pazienti recidivati-refrattari. Anche la sopravvivenza globale è risultata migliorata dall'esposizione ai FLT3inibitori nei pazienti naive (HR 0.67, p<0.01) e recidivati refrattari (HR 0.60, p<0.01). L'effetto sulla sopravvivenza non era condizionato dal FLT3-ITD ratio. Tra gli inibitori di FLT3 nella network-meta-analisi, gilteritinib si è dimostrato quello associato alla prognosi migliore⁶³.

Al contrario, evidenze preliminari suggeriscono che l'utilizzo di inibitori di FLT3 con ipometilanti in pazienti non candidabili a terapia intensiva non porti ad un beneficio significativo⁶⁴, mentre l'associazione di ipometilanti e venetoclax si è dimostrata efficace (risposte complete 65%, durata mediana della risposta superiore ai 18 mesi)⁶⁵. Inoltre, l'associazione non-mirata di sorafenib alla terapia di induzione (e come mantenimento) nello studio SORAMAL ha riportato una migliore EFS (41% vs 27% p=0.011) e RFS (53% vs 36% a 5 anni; HR 0.64, p=0.035) ma nessun vantaggio significativo in termini di sopravvivenza globale (61% vs 53% HR 0.82, p=0.8)⁶⁶. Pertanto, nel PICO 2 si sono considerati i vantaggi derivanti dalla terapia di associazione con midostaurina specificamente nei pazienti FLT3 mutati e idonei a chemioterapia di induzione, in base a età e performance status. Inoltre, i pazienti con FLT3-ITD risultano candidati a consolidamento con trapianto di cellule staminali emopoietiche in prima remissione completa⁶⁷, in base alle raccomandazioni EBMT 2020⁶⁸. Pertanto, i vantaggi derivanti dalla conoscenza dello stato mutazionale di FLT3 nei pazienti con LMA ed elegibili a terapie intensive risultano multipli, ovvero sia la scelta della terapia di induzione (combinata midostaurina e 3+7) sia la pianificazione del consolidamento trapiantologico.

Tabella 15. PICO 2.

Pazienti	LMA alla diagnosi fit per chemioterapia di induzione
Intervento	Ricerca di mutazioni di FLT3-ITD alla diagnosi
Confronto	Non ricerca di mutazioni a carico di FLT3 alla diagnosi
Scopo del test	Identificare marker molecolare prognostico e specifico
Ruolo del test	Assegnare i pazienti al gruppo prognostico più accurato e ottimizzare le scelte terapeutiche (terapia di induzione combinata con inibitori di FLT3, consolidamento trapiantologico appropriato per la classe di rischio)
Esiti desiderabili	Sopravvivenza globale e libera da progressione.
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 16. Tabella dell'evidenza per il PICO 2.

Outcome	Studi disponibili	Popolazioni	HR dei FLT3-ITD vs non mutati (95% IC)	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	2 meta-analisi di 10+28 studi	LMA alla diagnosi	1.91 [1.59, 2.30] ⁶⁰ 1.94 [1.58,2.39] in NPM1mut ⁶¹ 1.86 [1.30, 2.68] in NPM1wt	MODERATA Consistenti risultati dello studio randomizzato (vs placebo) registrativo e di meta-analisi. Effect size non elevato per HR >0.5
OS	17 studi retrospettivi	7844 pazienti	Tutti gli studi indicano un HR maggiore per i pazienti con FLT3-ITD (eccetto due studi che selezionavano pazienti candidati a SCT)	
OS	Una meta-analisi di 39 studi ⁶³		HR 0.67 (p<0.01)	
OS	Studio randomizzato registrativo		A 4 anni 63.7% con midostaurina vs 55.7% placebo	
PFS	2 meta-analisi di 10+28 studi	LMA alla diagnosi	1.64 [1.25, 2.14] 1.70 [1.25,2.31] in NPM1mut 1.64 [0.86, 3.15] in NPM1wt	MODERATA Una meta-analisi dedicata solo a pazienti non elegibili a trapianto. Casistica eterogenea, dati non riportati in maniera uniforme
PFS	11 studi retrospettivi	5352 pazienti	Tutti gli studi indicano un HR maggiore per i pazienti con FLT3-ITDs (eccetto due studi che selezionavano pazienti candidati a SCT)	
CR	Una meta-analisi di 39 studi ⁶³		Rischio relativo 0.88 (p=0.04)	MODERATA Casistica ampia

Tabella 17. Raccomandazioni per il PICO 2.

RACCOMANDAZIONE				
Si raccomanda l'analisi della mutazione di FLT3-IT in tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA candidabili a chemioterapia di induzione al fine di assegnare i pazienti al gruppo prognostico più accurato e per ottimizzare le scelte terapeutiche.				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9	-	-	-

Domanda n. 3.

Nei pazienti con LMA di nuova diagnosi vanno impiegate NGS e PCR tradizionali in modo equivalente per definire la classe di rischio?

Lo sviluppo delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS) nell'ultimo decennio ha contribuito alla caratterizzazione molecolare delle neoplasie ematologiche, comprese le neoplasie mieloidi. Nella pratica clinica ci si riferisce usualmente a screening mutazionali con pannelli NGS targeted (mirati) che includono comunemente un numero selezionato di geni specifici o regioni codificanti all'interno di geni che sono clinicamente rilevanti nella malattia di interesse (ovvero che contribuiscono alla patogenesi della malattia e/o che hanno un provato effetto prognostico). Concentrarsi su un insieme limitato di geni consente una elevata profondità di copertura ed elevata sensibilità e specificità analitica.

Nel contesto delle LMA, l'utilizzo di tecnologie NGS consente come vantaggio rispetto alla esecuzione di PCR tradizionali la possibilità di includere numerose analisi mutazionali in un unico test; per contro è necessario considerare che i tempi per l'ottenimento dei risultati del sequenziamento sono maggiori (e in alcuni casi non compatibili con le esigenze del processo clinico decisionale). Inoltre, la tecnologia NGS ad oggi offre evidenze meno robuste in termini di standardizzazione e report dei risultati del sequenziamento (analisi dei dati di sequenziamento)^{69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90}.

L'obiettivo dell'analisi dei dati è utilizzare strumenti bioinformatici all'interno di una pipeline di analisi per trasformare i dati grezzi provenienti dal sequenziatore in un elenco di varianti che possono essere visualizzate, filtrate e interpretate. La sfida dell'analisi dei dati include l'enorme numero di strumenti disponibili, le pipeline di analisi in continua evoluzione e la mancanza di consenso su quali strumenti utilizzare. I flussi di lavoro tipici dell'analisi dei dati NGS includono l'identificazione delle basi, l'identificazione delle varianti di allineamento di lettura e l'annotazione delle varianti. Dopo l'analisi dei dati, è necessario eseguire il filtraggio delle varianti per ottenere un elenco di varianti candidate che verranno successivamente classificate, interpretate e riportate.

I sistemi di interpretazione per la classificazione delle varianti sono utili per standardizzare il modo in cui le varianti vengono segnalate ai medici. In risposta alle discrepanze di classificazione che spesso esistono tra i laboratori, l'uso di linee guida unificate è altamente raccomandato. Nelle neoplasie, le varianti somatiche sono valutate per l'impatto diagnostico, prognostico, predittivo e/o terapeutico. L'uso di una terminologia standard specifica (patogena, probabilmente patogeno, significato incerto, probabilmente benigno e benigno) facilita l'uso di sistemi di classificazione, soprattutto per i medici.

Per classificare e annotare correttamente le varianti somatiche rilevate, è possibile utilizzare diversi repository e database genomici attualmente disponibili. In generale, le varianti dovrebbero essere classificate secondo i seguenti criteri: (i) rilevanza del gene alterato in base alla sua actionability, definita come rilevante per la diagnosi/classificazione, la prognosi e/o il trattamento (target terapeutico o correlato alla sensibilità,

tossicità o resistenza alla terapia) della malattia; (ii) presenza della variante nei database clinici e nella letteratura pubblicata che indichi la ricorrenza o la patogenicità della variante identificata; (iii) istologia tissutale e/o tumorale in cui è stata descritta la variante; e (iv) algoritmi predittivi in silico e studi funzionali. Pertanto, la categorizzazione della variante deve essere basata sul suo impatto clinico sulla malattia specifica e sul tessuto oggetto di studio.

In un recente studio⁹¹ è stata testata l'utilità clinica del sequenziamento dell'intero genoma per la valutazione molecolare di pazienti con LMA. I risultati su 263 pazienti hanno mostrato che tale sequenziamento era equivalente o migliore dei test convenzionali, sia in termini di prestazioni analitiche che di applicabilità clinica. Il sequenziamento dell'intero genoma ha rilevato il 100% delle anomalie clinicamente significative che erano state identificate dall'analisi citogenetica e dai test FISH. Inoltre, il sequenziamento ha fornito nuove informazioni genetiche nel 25% dei pazienti, più della metà dei quali sarebbe stata assegnata a una diversa categoria di rischio genetico con i risultati dei test convenzionali. In un confronto delle mutazioni genetiche identificate dal sequenziamento dell'intero genoma vs. quelle identificate da un sequenziamento targeted NGS ad alta copertura (>500 ×) è stata riscontrata una sensibilità dell'84,6% per le varianti a singolo nucleotide e del 91,5% per mutazioni insertion–deletion (indel), con un valore predittivo positivo superiore al 99% per le varianti con una VAF minima del 5%. Questo studio fornisce una evidenza preliminare che il sequenziamento dell'intero genoma può fornire risultati robusti rispetto all'identificazione di diverse alterazioni genomiche clinicamente rilevanti, con l'uso di un singolo test. Inoltre, questo metodo ha il potenziale di fornire informazioni diagnostiche anche ai pazienti con indagini citogenetiche tradizionali fallite, in cui il sequenziamento dell'intero genoma potrebbe avere inoltre un effetto sulla decisione terapeutica. In una prospettiva futura in cui la disponibilità rapida di informazioni sulle caratteristiche molecolari dei pazienti con LMA, utili ai fini diagnostici e terapeutici si dovesse ampliare in modo significativo, queste nuove tecnologie potranno costituire una risorsa per rendere disponibili i risultati di analisi complesse in tempi rapidi e con elevato grado di accuratezza rispetto alle metodiche di riferimento standard attualmente implementate nella pratica clinica.

L'analisi NGS nei pazienti con LMA impiega solitamente cellule da campioni di sangue midollare, tuttavia, l'elevata sensibilità della metodica è stata confermata anche su campioni di sangue periferico^{92,93}.

PICO 3-A

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA (P), l'esecuzione della ricerca delle mutazioni di FLT3-ITD con metodica NGS (I) identifica appropriatamente i pazienti FLT3-mutati da assegnare a percorsi terapeutici specifici (O) rispetto alla ricerca con PCR seguita da analisi delle dimensioni dei frammenti con elettroforesi capillare (C)?

Il confronto tra NGS e metodi di sequenziamento tradizionale in termini di performance è da valutare nel contesto delle singole mutazioni. La valutazione per FLT3-ITD è stata in gran parte ottenuta mediante PCR,

seguita dall'analisi delle dimensioni dei frammenti con elettroforesi capillare. La presenza di inserzioni negli esoni 14 e 15 è indicata da picchi aggiuntivi nell'elettroferogramma e il rapporto allelico è determinato quantificando l'area sotto i picchi wild-type e mutanti. Questo approccio rappresenta lo standard attuale per la valutazione di tale mutazione nel work-up diagnostico delle LMA. In questo caso specifico è intrinsecamente difficile rilevare e quantificare accuratamente FLT3-ITD mediante NGS a causa della loro eterogeneità nelle dimensioni e delle difficoltà che si incontrano nelle diverse pipelines informatiche. Numerosi studi hanno messo a confronto PCR e NGS per questo scopo, ma trattandosi di lavori principalmente tecnici la qualità della letteratura è bassa.

Tabella 18. PICO 3-A

Pazienti	LMA alla diagnosi e/o alla recidiva
Intervento	Applicazione dell'NGS per la verifica della presenza di mutazioni FLT3-ITD
Confronto	Sequenziamento genico di FLT3-ITD con tecnologie PCR e analisi dei frammenti
Scopo del test	Identificazioni di marcatori con effetto prognostico
Ruolo del test	Miglioramento della scelta del trattamento nel singolo paziente (assegnazione di un paziente al trattamento più vantaggioso)
Esiti desiderabili	Riproducibilità
Esiti non-desiderabili	Tempi di attesa per la refertazione
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 19. Revisione dell'evidenza relativa al PICO 3-A

Ref	TEST CONVENZIONALE	PERFORMANCE DEL NGS
Kabari⁹⁴		La sensibilità nel rilevare mutazioni di FLT3-ITD è risultata essere del 100%
Kim⁹⁵	fragment analysis	La concordanza con il metodo tradizionale è risultata essere del 99.6% Anche la carica allelica è risultata altamente correlata con le due metodiche: Spearman correlation coefficient (r)0.757 (95% confidence interval: 0.627-0.846; p < 0.001).
Tung⁹⁶	fragment analysis	Verifica degli strumenti bioinformatici per la rilevazione e la quantificazione di FLT3-ITD in NGS riporta elevate accuratezza dei metodi commerciali disponibili.
Tsai⁹⁷	capillary electrophoresis	La sensibilità e la specificità rispetto al metodo standard sono risultate essere 98.1% e 100%, rispettivamente. La carica allelica determinate con le due metodiche è risultata altamente correlata.

Spencer⁹⁸		La sensibilità e la specificità nel rilevare mutazioni di FLT3-ITD sono risultate essere del 100%
Rosenthal⁹⁹		NGS ha riportato una sensibilità del 99.6% e una specificità del 100%
He¹⁰⁰	fragment analysis	Le due metodiche sono risultate concordanti nel discriminare pazienti ad alta e bassa carica allelica in 128 di 136 casi (94%). Inoltre, in 7 casi NGS ha rilevato mutazioni di FLT3 targettabili da inibitori e non individuate dal metodo tradizionale.
Schumacher¹⁰¹	polymerase chain reaction/ capillary electrophoresis (PCR/CE)	100% concordanza
Schranz¹⁰²	fragment analysis	Conferma in NGS dello stato FLT3-ITD nel 97% dei casi. Il numero di ITD rilevate dal NGS è risultato superiore a quello rilevato dal metodo standard.

Le tempistiche per l'esecuzione dell'analisi NGS possono essere leggermente più tardive rispetto ad altre metodiche diagnostiche, tuttavia, la latenza tra la diagnosi e l'avvio del trattamento nei pazienti con LMA non è correlata alla sopravvivenza. Pertanto, potrebbe essere un approccio fattibile attendere i risultati dei test genetici e di altri test di laboratorio in modo che ai pazienti clinicamente stabili venga assegnata la migliore opzione di trattamento disponibile¹⁰³. Uno studio recente¹⁰⁴ ha infatti arruolato prospetticamente pazienti con nuova diagnosi di AML e ≥ 60 anni con lo scopo di fornire dati citogenetici e mutazionali entro 7 giorni dalla ricezione del campione e prima della selezione del trattamento. Sono stati arruolati un totale di 395 pazienti con LMA: 374 pazienti (94,7%) hanno completato l'analisi genetica e citogenetica entro 7 giorni e 224 sono stati assegnati centralmente a un sottostudio che prevedeva un trattamento mirato basato sulle alterazioni molecolari, mentre i restanti 171 pazienti hanno ricevuto cure standard (induzione con citarabina + daunorubicina (7 + 3 o equivalente) o agente ipometilante), terapia sperimentale o cure palliative. La mortalità a 30 giorni è stata meno frequente e la OS è stata significativamente più lunga per i pazienti arruolati nei sottostudi con assegnazione di un trattamento mirato sulla base del profilo molecolare rispetto a quelli che sono stati trattati con terapie standard. Questo studio dimostra che una strategia terapeutica di medicina di precisione nella LMA è fattibile entro 7 giorni, consentendo a pazienti e medici di incorporare rapidamente i dati genomici nelle decisioni terapeutiche senza aumentare la morte precoce o influire negativamente sulla sopravvivenza globale.

Tabella 20. tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 3-A

Esito	Evidenza disponibile	Risultati per NGS vs analisi dei frammenti	Qualità del corpo dell'evidenza
-------	----------------------	--	---------------------------------

Riproducibilità	Numerosi studi retrospettivi e prospettici	Concordanza tra determinazioni NGS e fragment analysis confermata > 90% in tutti gli studi. Riproducibilità dei risultati NGS confermata anche da studi prospettici [^]	MODERATA Per consistenza tra gli studi e qualità degli studi
Tempi di attesa	Nessuna evidenza per la realtà italiana	La Società Italiana di Genetica medica non raccomanda una specifica tempistica della refertazione NGS (codice prestazione 91.30.3) ^{^^} mentre SIAPEC-PPM ha suggerito tempi di refertazione inferiori ai 10-14 giorni lavorativi. ^{^^^} Inoltre alcune regioni, hanno deliberato tempi di refertazione di NGS per patologie oncologiche inferiori ai 10 giorni.§, §§ I tempi di attesa per referti NGS non sono stati valutati dalla HTA del ministero della Salute.# I tempi di refertazione della determinazione FLT3-ITD (codice prestazione 91.2B.3) con metodica classica sono solitamente inferiori ai 7 giorni.##, §	N/A

[^] Borate U, et al. AML samples show high concordance in detections of mutations by NGS at local institutions versus central laboratories. Blood Adv 2023; Jul 17.

^{^^} https://sigu.net/wp-content/uploads/2022/08/2022_08_07_Referto_ngs-1.pdf

^{^^^} DELIBERAZIONE N. 4/69 DEL 16.02.2023

§§ DELIBERAZIONE N. 4/69 DEL 16.02.2023 ; https://www.legislazionetecnica.it/system/files/fonti/allegati/22-10/9155928/Lm_26092022_7044.pdf

https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_ReportDispositivi_7_documentoInglese_inglese_itemName_0_documentoENG.pdf

<https://www.genetica-medica.it/l-attivita-assistenziale/genetica-oncoematologica>

Tabella 21. Raccomandazioni per il PICO 3-A

RACCOMANDAZIONE				
La verifica delle mutazioni FLT3-ITD va effettuata in tutti i pazienti con AML e si suggerisce di impiegare l'elettroforesi capillare.				
La verifica delle mutazioni FLT3-ITD condotta con metodica NGS ha riportato un'elevata accuratezza ma è gravata da una bassa percentuale di falsi negativi				
POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEUTRA	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte

Voti:	-	-	9	-
-------	---	---	---	---

PICO 3-B

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA (P), l'esecuzione della ricerca delle mutazioni di TP53 con metodica NGS (I) identifica appropriatamente i pazienti TP53-mutati da assegnare a percorsi terapeutici specifici (O) rispetto alla ricerca con Sanger sequencing (C)?

L'acquisizione delle mutazioni di TP53 conferisce una prognosi sfavorevole, e caratterizza un'entità nosografica specifica all'interno delle LMA nella classificazione diagnostica 2022. Le mutazioni di TP53 si osservano principalmente nei pazienti ad alto rischio e nei casi di LMA correlate alla terapia, spesso in combinazione con cariotipi complessi. Le mutazioni di TP53 sono associate a progressione della malattia e a una scarsa risposta alla terapia.

Tabella 22. PICO 3-B

Pazienti	LMA alla diagnosi e/o alla recidiva
Intervento	Applicazione dell'NGS per la verifica della presenza di mutazioni TP53
Confronto	Sequenziamento genico di TP53 con tecnologie tradizionali PCR/Sanger
Scopo del test	Identificazioni di marcatori con effetto prognostico
Ruolo del test	Miglioramento della scelta del trattamento nel singolo paziente (assegnazione di un paziente al trattamento più vantaggioso)
Esiti desiderabili	Riproducibilità
Esiti indesiderabili	Tempi di refertazione
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Usando tecniche di sequenziamento convenzionali, le mutazioni di TP53 si trovano raramente nei pazienti con LMA, per limiti di sensibilità della metodica; mentre l'uso di tecniche di NGS consente di identificare queste mutazioni in un numero significativamente maggiore di casi¹⁰⁵. Tuttavia, trattandosi di lavori di natura tecnica, la qualità della letteratura è bassa.

Tabella 23. Revisione dell'evidenza per il PICO 3B

Ref	PERFORMANCE DEL NGS
Jädersten ¹⁰⁶	Le dimensioni mediane del clone TP53 mutato rilevato in NGS sono del 11% (range 1-54%) che è al di sotto della soglia di sensibilità per il Sanger sequencing
Prochazka ¹⁰⁷	In 98 pazienti l'NGS ha rilevato un totale di 108 mutazioni di TP53 (6.4%): 61 pazienti riportavano cariche alleliche di queste mutazioni superiori al 40% mentre 18 pazienti avevano cariche alleliche inferiori al 20%.

Tabella 24. Tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 3B

Esito	Evidenza disponibile	Risultati per NGS vs sequenziamento	Qualità del corpo dell'evidenza
Riproducibilità	Pochi studi retrospettivi	La metodica NGS si è dimostrata pi sensibile del Sanger ma non è chiaro quale sia la frequenza di rilevanza clinica.	MOLTO BASSA
Tempi di attesa	Nessuna evidenza per la realtà italiana	La Società Italiana di Genetica medica non raccomanda una specifica tempistica della refertazione NGS (codice prestazione 91.30.3) ^^ mentre SIAPEC-PPM ha suggerito tempi di refertazione inferiori ai 10-14 giorni lavorativi.^^^ Inoltre alcune regioni, hanno deliberato tempi di refertazione di NGS per patologie oncologiche inferiori ai 10 giorni.§, §§ I tempi di refertazione consigliati per il sequenziamento di interi geni (non di singoli segmenti genici) risulta essere superiore ai 30 giorni. §	N/A

^ Borate U, et al. AML samples show high concordance in detections of mutations by NGS at local institutions versus central laboratories. Blood Adv 2023; Jul 17.

^^ https://sigu.net/wp-content/uploads/2022/08/2022_08_07_Referto_ngo-1.pdf

^^^ DELIBERAZIONE N. 4/69 DEL 16.02.2023

§§ DELIBERAZIONE N. 4/69 DEL 16.02.2023 ; https://www.legislazionetecnica.it/system/files/fonti/allegati/22-10/9155928/Lm_26092022_7044.pdf

Tabella 22. Raccomandazioni per il PICO 3 B

RACCOMANDAZIONE

Nei pazienti con LMA la metodica NGS è quella preferita per la verifica di TP53^{mut}; tuttavia, sono raccomandate tutte le metodiche che consentano il raggiungimento della soglia che definisce la categoria diagnostica specifica (VAF $\geq 10\%$).

POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEUTRA	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9	-	-	-

Domanda n. 4

Nei pazienti con LAP dopo il consolidamento va avviato il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA?

I pazienti affetti da LAP vengono suddivisi in due categorie di rischio in relazione al numero di globuli bianchi presenti all'esordio di malattia¹⁰⁸: LAP alto rischio se leucociti $> 10,000/\mu\text{L}$, rischio standard se leucociti $< 10,000/\mu\text{L}$. Per i pazienti LAP ad alto rischio, il protocollo AIDA¹⁰⁹ rappresenta la strategia terapeutica di prima scelta, con induzione della remissione completa con ATRA ed idarubicina, seguita da 3 cicli di consolidamento con polichemioterapia e mantenimento con basse dosi di chemioterapia associate ad ATRA¹¹⁰. Per i pazienti LAP a rischio standard, la combinazione di ATO ed ATRA rappresenta attualmente la terapia di prima linea¹¹¹, indicata per l'induzione della remissione e come terapia di consolidamento (4 cicli). Tale trattamento, confrontato con il classico protocollo AIDA, ha dimostrato in questo gruppo di pazienti una superiorità sia in termini di EFS che OS^{112,113}. Dopo il consolidamento, nei pazienti con LAP ad alto rischio le linee guida ELN consigliano una terapia di mantenimento di 2 anni, mentre nei pazienti a rischio standard non è prevista terapia di mantenimento dal momento che il rischio cumulativo di recidiva nei pazienti MRMRM- al termine del consolidamento risulta essere $< 15\%$. Nei pazienti a rischio standard trattati con ATRA/ATO non è prevista terapia di mantenimento, e la probabilità di recidiva dopo il termine della terapia è $< 2\%$ a lungo termine.

Nei pazienti affetti da LAP, trattati sia con la terapia di combinazione ATRA+chemioterapia (schema AIDA) sia con ATRA+ATO, il monitoraggio molecolare della malattia misurabile residua (MMRM), rappresenta un fattore prognostico indipendente molto forte per la recidiva clinica e la sopravvivenza libera da malattia¹¹⁴. Negli ultimi anni, infatti, diversi gruppi cooperativi internazionali, hanno osservato come pazienti che andavano incontro ad una recidiva molecolare, dopo poco tempo sviluppavano inevitabilmente una recidiva morfologica. La ricomparsa del trascritto *PML/RARA* in LAP precedentemente negative, confermata in due analisi successive ad intervallo di un mese, è inevitabilmente seguita da una recidiva ematologica. Per questo motivo la recidiva molecolare della LAP rappresenta un'indicazione assoluta alla terapia, non diversa dalla recidiva ematologica^{115,116,117}. Diversi studi retrospettivi hanno infatti dimostrato come la terapia di salvataggio con ATO, somministrata durante la recidiva molecolare, presenti un vantaggio in termini di sopravvivenza libera da recidiva, rispetto ai pazienti trattati in recidiva morfologica^{118,119}.

Lo sviluppo della tecnica di biologia molecolare quantitativa (qRT-PCR) ha permesso di valutare i livelli di riduzione o incremento del numero di copie di *PML/RARA* e di standardizzare le metodologie applicate dai diversi centri clinici¹²⁰. Il monitoraggio molecolare di *PML/RARA* mediante qRT-PCR, espresso in numero di copie ed effettuata a livello del RNA estratto dal sangue midollare o periferico¹²¹, rappresenta il *gold standard* per la valutazione della MRMM nei pazienti affetti da LAP¹²². E' stato dimostrato infatti come la tecnica della qRT-PCR, che consente un'accurata quantificazione del trascritto *target* durante la fase esponenziale del processo di amplificazione, rappresenti una tecnologia superiore rispetto alla nested RT-PCR, in termini di sensibilità e predittività di un'imminente ripresa di malattia¹²³. In particolare, protocolli standardizzati e ben consolidati hanno dimostrato come, durante la valutazione molecolare della clearance del trascritto di fusione nelle diverse fasi della terapia, la persistenza del riarrangiamento *PML/RARA* o la conversione ad uno stato molecolare positivo alla fine della terapia di consolidamento, sia altamente predittiva della recidiva di malattia¹²⁴. Sulla scorta di questi dati le linee guida ELN suggeriscono il monitoraggio molecolare del trascritto *PML/RARA* durante la terapia di mantenimento (qRT-PCR su sangue midollare ogni 3 mesi per ≥ 2 anni) nei pazienti ad alto rischio, mentre la valutazione della MRMM molecolare può essere interrotta una volta ottenuta la negativizzazione (ovvero l'assenza del trascritto *PML/RARA*) nei pazienti a rischio standard. Trattandosi di lavori metodologici sviluppati all'interno di studi clinici randomizzati, la qualità della letteratura è alta.

Tabella 26. Tavola dell'evidenza: il valore prognostico della MRM *PML/RARA*.

Studi	Disegno	Popolazione	Metodica	MRM+ vs MRM-	Qualità dell'evidenza
Lou 2014 ¹²⁵	Studio osservazionale (Zhejiang University Hangzhou, China)	109 pazienti trattati con ATRA-CHT. Inclusive tutte le categorie di rischio (High=11.9%; Intermediate=43.1%; Low=45%). Per la terapia di consolidamento i pazienti sono stati divisi in 2 bracci: (i) ATRA-CHT-ATO e (ii) ATRA-CHT. Nel gruppo ATRA-CHT-ATO dopo 1 ciclo di consolidamento, 36/39 (92%) raggiungono la mCR. Nel gruppo ATRA-CHT, dopo 2 cicli di consolidamento, 43/52 (63.4%) raggiungono la mCR.	Nested RT-PCR qRT-PCR	Recidive: 7/8 casi (87.4%) MRM+ vs 12/44 (27.3%) MRM-	Alta qualità
Henzan 2020 ¹²⁶	APL Trial	ATRA/CHT (idarubicina) in 27 pazienti a rischio standard e 23 pazienti ad alto rischio Limitazioni della potenza statistica per le dimensioni del campione	qRT-PCR	Incidenza cumulativa di recidiva nei pazienti MRM+ dopo il consolidamento 40% a 5 anni vs 9% dei MRM- (p=0.076) RFS nei MRM+ 60% vs 84.7% MRM- (p=0.102)	Buona qualità
Grimwade 2009 ¹²⁷	Trial MRC AML15	406 pazienti con LAP alto/basso rischio trattati con ATRA + antracicline	qRT-PCR	MRM+ predice la RFS all'analisi multivariata: HR 17.87; 95% CI, 6.88 to 46.41; p<.0001*.	Alta qualità
Diverio 1998 ¹²⁸	GIMEMA AIDA trial	163 pazienti ATRA/idarubicina	RT-PCR	20 recidive cliniche in 21 pazienti in recidiva molecolare HR di recidiva in MRM+ = 31.8 (95% C.I.: 12.9-78.3)	Alta qualità

Chendamarai 2012 ¹²⁹	Studio di fase 2, singolo centro	151 pazienti trattati con solo ATO	qRT-PCR	MRM+ alla fine dell'induzione associata ad elevato rischio di recidiva (relative risk = 4.9, p=0.034). La positivizzazione della MRM nel follow-up di pazienti MRM- ha sensibilità 60% e specificità 93% nel predire la recidiva ematologica.	Alta qualità
--	----------------------------------	------------------------------------	---------	---	--------------

Commento EBM: il corpo dell'evidenza a favore della MRM (determinata con RT-PCR e qRT-PCR) nella previsione di recidiva ematologica è di alta qualità essendo sostenuto da numerosi studi prospettici anche randomizzati e di ottima qualità, da risultati consistenti tra gli studi, e da un effect-size importante.

La letteratura sopra riportata (Tabella 20) utilizza campioni di sangue midollare per la valutazione della MRM. Gli studi che hanno confrontato i livelli di trascritto PML-RARA nel sangue periferico e midollare dei pazienti con LAP hanno verificato una correlazione stretta ma una maggiore sensibilità e precocità di positivizzazione dei campioni midollari (Tabella 21). L'evidenza che confronta direttamente i campioni di sangue midollare e periferico è limitata ma il corpo dell'evidenza va considerato globalmente di qualità moderata a supporto dei campioni midollari quale sorgente cellulare per la misurazione della MRM, in ragione della consistenza dell'evidenza che ha validato le metodiche della MRM su questa tipologia di campioni.

Qualche studio preliminare ha riportato la validità di metodiche alternative come la digital droplet PCR (ddPCR) che ha evidenziato una concordanza del 86% con la qRT-PCR¹³⁰.

Tabella 27. Tavola dell'evidenza: tipologia di campione per la valutazione di MRM PML/RARA (periferico vs midollo)

Studi	Disegno	Popolazione	Terapia	Metodica	Correlazione tra sangue midollare e periferico	Qualità dell'evidenza
C o r t e s 2019 ¹³¹	Retrospettivo singolo centro	223 pazienti	ATO+ATRA +/- GO	qRT-PCR	Correlazione lineare tra la qRT-PCR effettuata a livello del sangue midollare e periferico ($r^2=0.67$, $p=0.048$)	Alta qualità

Grimwade 2009 ¹³²	Trial MRC AML15 (303 pazienti) Real-life (103 pazienti)	406 pazienti	3 0 3 ATO+ATRA +/- GO 8 7 A T R A - C H T 1 6 A T R A - A T O	qRT-PCR	Concordanza dei risultati della qRT-PCR effettuata su midollo e periferico nelle prime fasi di trattamento dopo la diagnosi. La recidiva molecolare midollare precede quella nel periferico in 7 su 12 campioni appaiati: la latenza tra i due è di circa 29 giorni (range 14-72). La valutazione della MRM alla recidiva molecolare, prima di iniziare il trattamento con ATO, mostra una maggiore sensibilità su sangue midollare rispetto al periferico (livelli di PML/RARA nel midollo risultano 1.5 logaritmi superiori al periferico; range, 0.34 to 2.15) .	Alta qualità
-------------------------------------	--	--------------	---	---------	--	--------------

A supporto del valore clinico del monitoraggio molecolare è la latenza documentata tra la recidiva molecolare e quella clinica (Tabella 22) e l'ottima sopravvivenza ottenuta con terapia pre-emptive. Le recidive molecolari e cliniche si verificano quasi esclusivamente nei primi mesi dal termine del consolidamento.

Tabella 28. Tavola dell'evidenza: cinetica delle recidive cliniche e molecolari nella LAP.

Studi	Disegno	Popolazione	Recidive molecolari (pre-cliniche)	Latenza tra recidiva molecolare e clinica	Qualità dell'evidenza
Diverio 1998 ¹³³	G I M E M A AIDA trial	163 pazienti	21 recidive molecolari → 20 recidive ematologiche.	81% delle recidive molecolari avvengono < 6 mesi dopo consolidamento. Tempo mediano alla recidiva clinica dalla recidiva molecolare pari a 3 mesi (range 1-14 mesi)	Alta qualità
Chendamarai 2012 ¹³⁴	Studio di fase 2, singolo centro	151 pazienti trattati con solo ATO	31 recidive molecolari → 30 recidive ematologiche	In 15 casi su 31 con recidiva molecolare (48.4%), la MRM+ precede da 3 a 4 mesi la recidiva clinica.	Alta qualità
Lange 2016 ¹³⁵	IC APL Trial	103 pazienti	Recidiva molecolare identificata precocemente mediante qRT-PCR in 6 pazienti	Mediana tra recidiva molecolare ed ematologica = 138 giorni (range 98-240)	Alta qualità
G r i m w a d e 2009 ¹³⁶	Trial MRC AML15 (303 pazienti) Real-life (103 pazienti)	406 pazienti	L'analisi multivariata dimostra come la positività o la persistenza della MRM+ sia un forte ed indipendente fattore prognostico per la recidiva clinica e la RFS.	A 1 anno la RFS dalla recidiva molecolare è pari al 75% se i pazienti ricevono un salvataggio con ATO.	Alta qualità

In ragione del rischio di recidiva e della strategia di mantenimento, sono state distinte le decisioni di monitoraggio molecolare nei pazienti ad alto piuttosto che a basso rischio. Non ci sono evidenze che la terapia pre-emptiva prolunghi la sopravvivenza nei pazienti con LAP a basso rischio, mentre risulta rilevante clinicamente la latenza tra recidiva molecolare e clinica per i pazienti ad alto rischio di recidiva.

PICO 4 A

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LAP ad alto rischio in remissione molecolare dopo terapia di induzione e consolidamento con chemioterapia e ATRA (P), il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA durante il mantenimento (I) identifica la recidiva molecolare preclinica (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?

La recidiva non è un evento raro nei pazienti ad alto rischio che raggiungono la risposta ematologica completa dopo terapia di induzione e consolidamento. In una casistica di 62 pazienti per i quali erano stati acquisiti una mediana di 8 campioni per il monitoraggio molecolare dopo induzione + consolidamento con ATO+ATRA+/- GO, Cortes et al riportano recidive in 5 di 62 pazienti ad alto rischio con una mediana di 9.4 mesi dopo l'ottenimento della risposta ematologica completa. La recidiva molecolare ha anticipato quella clinica di 3.7 mesi.

La bassa incidenza di recidive cliniche nei pazienti a basso rischio indurrebbe un Number-Needed-to-Test di 99, ovvero andrebbero sottoposti a studio midollare per la ricerca del trascritto PML-RARA 99 pazienti per rilevare una recidiva molecolare. Tale NNT risulta accettabile e comparabile con altre metodiche di

screening/monitoraggio, per quanto invasivo, in quanto proporzionale al beneficio clinico ottenuto dalla prevenzione della recidiva sintomatica.

Tabella 29. PICO 4 A.

Pazienti	LAP ad alto rischio
Intervento	Monitoraggio di PML-RAR in qRT-PCR su sangue midollare ogni 3 mesi per 3 anni dopo il termine del consolidamento
Confronto	Stop monitoraggio dopo il termine del consolidamento
Scopo del test	Identificare le recidive molecolari e avviare la terapia di salvataggio
Ruolo del test	Identificare le recidive precliniche e avviare la terapia di salvataggio prima della manifestazione clinica della malattia
Esiti desiderabili	Diagnosi precliniche di recidiva. Morti da recidiva clinica evitate. Risposta completa dopo terapia di salvataggio.
Esiti indesiderabili	Ansia del paziente. Procedura invasiva.
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 30. Tabella dell'evidenza per il PICO 4.

Esito	Evidenza disponibile	Monitoraggio molecolare oppure solo citofluorimetrico	Qualità del corpo dell'evidenza
Diagnosi pre-cliniche di recidiva	Alcuni studi prospettici e retrospettivi	La recidiva molecolare in RT-PCR (o qRT-PCR) ha un'elevata specificità e sensibilità nel predire la recidiva clinica. Il Number Needed to Treat tuttavia varia in base al rischio di recidiva che è < 5% nelle APL a rischio standard mentre è >10% nei pazienti ad alto rischio.	MODERATA Per concordanza tra studi di buona qualità

Morti da recidiva clinica evitate	Nessuna evidenza diretta	La mortalità precoce all'esordio della malattia è 5-15% e si presume che sia simile anche in caso di recidiva clinicamente manifesta. Si presume che nel tempo di latenza guadagnato dalla diagnosi precoce di recidiva (pre-clinica) possano essere intrapree terapie pre-emptive che prevengano le morti associate alla malattia attiva. La TRM dei pazienti sottoposti a trapianto autologo in CR2 è del 3-6%.^^	MOLTO BASSA
RC dopo terapia di salvataggio	Nessuna evidenza diretta comparativa	La maggioranza (>80%) dei pazienti recidivati riottiene una risposta alle terapie^ e la sopravvivenza a 5 anni dopo consolidamento con trapianto autologo risulta essere superiore al 80%.^^	MOLTO BASSA
Ansia del paziente	Nessuna evidenza	I tempi di attesa per l'esito molecolare sono 7-10 giorni superiori a quelli dell'analisi citofluorimetrica	N/A
Invasività della procedura	Stessa metodica per analisi citofluorimetrica e molecolare		N/A

^ Shigeno K, et al. Arsenic trioxide therapy in relapsed or refractory Japanese patients with acute promyelocytic leukemia: updated outcomes of the phase II study and postremission therapies. *Int J Hematol.* 2005;82:224-229

^^Yanada M, et al. Autologous hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia in adults 25 years of experience in Japan. *Int J Hematol* 2020;111:93-102.

§ Di Bona E, Avvisati G, Castaman G, et al. Early haemorrhagic morbidity and mortality during remission induction with or without all-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2000; 108:689-695

Tabella 31. Raccomandazioni per il PICO 4 A.

RACCOMANDAZIONE				
Si raccomanda il monitoraggio di PML-RARA (qRT-PCR su sangue midollare) ogni 3 mesi per 36 mesi dal termine del consolidamento in tutti i pazienti con LAP ad alto rischio per indirizzare i pazienti alla terapia di salvataggio prima che si manifesti la recidiva clinica.*				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9	-	-	-

*indipendentemente dal mantenimento

PICO 4 B

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LAP a rischio standard in remissione molecolare dopo terapia di induzione e consolidamento con ATO e ATRA (P), il monitoraggio molecolare del riarrangiamento PML-RARA (I) identifica la recidiva molecolare preclinica (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?

La recidiva è un evento raro nei pazienti a rischio standard che raggiungono la risposta ematologica completa dopo terapia di induzione e consolidamento con ATO + ATRA. In una casistica di 223 pazienti per i quali erano stati acquisiti una mediana di 8 campioni per il monitoraggio molecolare, Cortes et al¹³⁷ riportano solo 8 pazienti MRMRM a bassa carica al termine del consolidamento (3.5%) e tutti si sono spontaneamente negativizzati senza alcuna recidiva clinica nel follow-up di 55 mesi. Globalmente le recidive si sono verificate in 5 di 62 pazienti ad alto rischio e 2 di 161 pazienti a basso rischio una mediana di 9.4 mesi dopo l'ottenimento della risposta ematologica completa. La recidiva molecolare ha anticipato quella clinica di 3.7 mesi.

La bassa incidenza di recidive cliniche nei pazienti a basso rischio indurrebbe un Number-Needed-to-Test di 644, ovvero andrebbero sottoposti a studio midollare per la ricerca del trascritto PML-RARA 644 pazienti per rilevare una recidiva molecolare.

Tabella 32. PICO 4 B

Pazienti	LAP a rischio standard trattati con ATO/ATRA senza evidenza di trascritto PML-RARA al termine del consolidamento
Intervento	Monitoraggio di PML-RAR in qRT-PCR su sangue midollare ogni 3 mesi per 2 anni e avvio terapia di salvataggio se conferma su secondo campione
Confronto	Stop monitoraggio e avvia terapia di salvataggio alla recidiva clinica
Scopo del test	Identificare le recidive molecolari e avviare la terapia di salvataggio
Ruolo del test	Identificare le recidive precliniche e avviare la terapia di salvataggio prima della manifestazione clinica della malattia
Esiti desiderabili	Diagnosi precliniche di recidiva. Morti da recidiva clinica evitate. Risposta completa dopo terapia di salvataggio.
Esiti indesiderabili	Ansia del paziente. Procedura invasiva.
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Tabella 33. Raccomandazioni per il PICO 4 B

RACCOMANDAZIONE				
Nei pazienti con LAP a rischio standard trattati con ATO/ATRA, non si raccomanda il monitoraggio di PML-RARA dopo il termine del consolidamento.				
POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEUTRA	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
-	-	1	1	7

Domanda 5

Nei pazienti con LMA *NPM1*-mutata dopo due cicli di chemioterapia va avviato il monitoraggio molecolare?

Circa il 35% dei pazienti con nuova diagnosi di LMA presentano mutazioni del gene *NPM1* (il 50-60% dei pazienti senza anomalie cariotipiche) che rappresentano un elemento prognosticamente favorevole e persistente nel 91% delle recidive¹³⁸. Tali mutazioni (prevalentemente di tipo A, B e D) possono essere rilevabili e quantificabili con metodiche di RT-qPCR impiegando plasmidi commerciali. Pertanto, risulta possibile verificare la risposta molecolare dopo il 2^a ciclo di chemioterapia e durante il periodo successivo di osservazione clinica (monitoraggio molecolare). L'utilità di integrare la verifica della risposta molecolare dopo 2 cicli di chemioterapia consente l'ottimizzazione della terapia post-remissione, identificando coloro che necessitano di un trapianto allogenico perché ad alto rischio di recidiva. Al contrario, consente di non esporre ad un eccesso di trattamento quei pazienti che, in quanto MRM negativi, hanno un rischio significativamente minore di sviluppare recidiva rispetto agli MRM positivi. Per tale ragione ELN raccomanda che nelle LMA *NPM1* mutate la MRM sia valutata nel sangue periferico dopo il II ciclo di chemioterapia, nel midollo alla fine del consolidamento: per i pazienti con copie persistenti di $NPM1 \geq 2\%$ o con riduzione delle stesse $< 4 \log$, dopo terapia di consolidamento, dovrebbero essere considerate delle strategie individualizzate di condizionamento e trapianto allogenico per ridurre il rischio di recidiva. ELN raccomanda inoltre il monitoraggio del trascritto (sangue midollare ogni 3 mesi oppure periferico ogni 4-6 settimane) per i 24 mesi successivi alla fine della terapia.⁴ Nei pazienti con persistenza di copie "low-levels" di *NPM1* ($< 2\%$), viene ritenuto ragionevole un monitoraggio seriato rispetto ad una immediata terapia pre-emptive.

PICO 5 A

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA NPM1 mutata con risposta ematologica completa dopo due cicli di chemioterapia (P), la verifica della risposta molecolare (I) consente di avviare precocemente strategie di gestione della recidiva incluse quelle trapiantologiche (O) rispetto alla sola verifica della risposta clinica (C)?

Tabella 34. PICO 5 A

Pazienti	Pazienti adulti con LMA NPM1 mutata in Remissione Completa dopo 2 cicli di chemioterapia di induzione
Intervento	Verifica del trascritto NPM1 (PCR sangue midollare. RT-PCR o droplet PCR) al termine del consolidamento-> avvio a terapia pre-emptive /trapianto allogenico
Confronto	Nessun monitoraggio molecolare: avvio a terapia e trapianto allogenico alla recidiva ematologica
Scopo del test	Consentire terapie preventive della recidiva clinica
Ruolo del test	Rilevare MRM
Esiti desiderabili	DFS, CIR, OS, Qualità di vita
Esiti indesiderabili	NRM
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Shayegi et al¹³⁹, hanno dimostrato in un'analisi retrospettiva che la persistenza molecolare (NPM1 RT-PCR > 1%) alla fine del trattamento chemioterapico era associata con una più breve durata di "overall" (OS) e "disease-free survival" (DFS). L'impatto prognostico sfavorevole era confermato anche in analisi multivariata, correggendo il modello per la presenza di mutazioni *FLT3-ITD*. Ivey et al¹⁴⁰, hanno confermato, utilizzando una "training" e una "validation cohort" di pazienti con LMA *NPM1* mutata, che la persistenza del trascritto (copie di *NPM1* > 0) nel sangue periferico dopo il secondo ciclo di chemioterapia era associato ad un più frequente rischio di recidiva. Il ruolo prognostico ed indipendente della persistenza del trascritto era confermato nel modello di analisi multivariata. Tiong et al¹⁴¹, hanno dimostrato che, alla fine del trattamento di induzione, dopo ≥ 2 cicli di chemioterapia intensiva, i pazienti con una riduzione delle copie di *NPM1* < 4 log rispetto alla quantificazione basale avevano un più grande rischio di recidiva, dato confermato in analisi multivariata. Infine, Kapp-Schworer et al¹⁴², nel trial randomizzato AMLSG 09-09, hanno valutato prospetticamente la persistenza di trascritto NPM1 tanto nel midollo osseo che nel sangue

periferico. Così facendo, gli autori hanno dimostrato che la persistenza di NPM1 dopo il secondo ciclo di chemioterapia era associato ad una più frequente incidenza di recidive.

La scelta di non monitorare *NPM1*-MRM implica un ritorno a strategie trapiantologiche basate sulla disponibilità di un donatore (approccio “*donor vs no donor*”) piuttosto che sul rischio effettivo di recidiva di malattia (approccio “*transplant no transplant*”). Questo implica un impiego subottimale delle procedure d'intervento terapeutico, inteso come rischio di sotto-trattare pazienti ad alto rischio (NPM1 positivi) e sovra-trattare quelli a basso rischio (NPM1 negativi o NPM1 low-levels). Balsat et al, hanno dimostrato che di 152 pazienti con LMA *NPM1* mutata in prima RC, quelli con una riduzione del trascritto < 4 log nel sangue midollare (MRM positivi) rispetto al controllo d'esordio, avevano un beneficio in termini di OS e DFS se sottoposti a trapianto allogenico¹⁴³. Tale beneficio non era osservabile nei pazienti MRM negativi (riduzione trascritto *NPM1* > 4 log), nei quali prevaleva un effetto di “mortalità legata al trapianto”. Simile esperienza è stata pubblicata da Versluis et al.¹⁴⁴. L'analisi di 547 pazienti trattati nel contesto di protocolli HOVON-SAKK, seppure non specificatamente concentrata sui pazienti NPM1 positivi ma in generale sui soggetti in prima RC ed MRM positivi, dimostrava che la categoria di LMA che si beneficia al meglio dalla procedura allo-trapiantologica è quella degli MRM positivi. È proprio in questa categoria che l'aver ricevuto un trapianto allogenico si traduce in un massimo beneficio in termini di “relapse-free survival” (RFS) e incidenza cumulativa di recidiva.

Tabella 35. Evidenza relativa al valore prognostico della persistenza molecolare di malattia NPM1.

Autore	Disegno dello studio	Numero pazienti o studi	Recidive	OS	DFS	Qualità dell'evidenza
Al Hamed ¹⁴⁵	Retrospettivo	1572 NPM1mut		HR 1.61	HR 1.71	Alta qualità
Balsat ¹⁴⁶	AFLA 0702 (post-hoc)	152	3 yr: 66% se mancata riduzione > 4.5 log	SCT negli MRM+ migliora OS dal 10% al 55%; p=0.047		Alta qualità
Bataller ¹⁴⁷	Retrospettivo	110 CR NPM1mut			Sopravvivenza libera da recidiva molecolare 77% (MRM<5/100ABL1) vs 40%	Alta qualità
Bill ¹⁴⁸	Retrospettivo	51 NPM1mut	2 yr 6% vs 64.7% HR 21.1 P < 0.001	2yr OS: 71.7% vs 38.8 % HR 2.9 P = 0.020		Moderata qualità
Gao ¹⁴⁹	Retrospettivo	93 NPM1mut (no SCT)	Recidive a 2 anni: 1° timepoint: 39% vs 25% p=0.307 Dal 3° timepoint: >52% vs <23% p<0.05*	OS significativamente inferiore se positività sia molecolare che citofluorimetrica a tutti i timepoint	OS significativamente inferiore se positività sia molecolare che citofluorimetrica a tutti i timepoint	Moderata qualità
Heiblig ¹⁵⁰	Retrospettivo	138 NPM1mut	HR 0.23 (p<0.001) in DNMT3A wt patients (ns in DNMT3A mut)			Alta qualità
Ivey ¹⁵¹	AML-17 studio prospettico (post-hoc)	346	(PB) 82% vs 30%	3yr: 24% vs 75%		Alta qualità
Kapp-Schwoerer ¹⁵²	Prospettico	469-611	BM: 67.1% vs. 17% PB: 71% vs. 19%			Alta qualità
Karas ¹⁵³	Retrospettivo	60 NPM1mut	3yr: 6% vs 48%	3yr OS 75% vs 40% HR 3.71 P =0.004	3 yr EFS 72% vs 35%	Buona qualità
Kayser ¹⁵⁴	Retrospettivo	39 NPM1mut	5yr: 6% vs 46%	5 yr OS 89% vs 40%, p =0.007		Moderata qualità
Kovy ¹⁵⁵	Retrospettivo	116 NPM1mut		2 yr: 58 vs 39% (p =0.029) HR 2.1 (1.25-3.74)		Alta qualità
Lambert ¹⁵⁶	Retrospettivo	77 NPM1mut				Buona qualità

Lussana ¹⁵⁷	NILG 02/06 prospettico (analisi post-hoc)	89 NPM1mut		84% vs 45%, p=0.001	DFS 76% vs 44%, p=0.006	Buona qualità
Marumo ¹⁵⁸	Retrospettivo	56 NPM1mut		NR vs 1430 giorni, p= 0.005 ¹⁵⁷	NR vs 485 giorni, p=0.003	Buona qualità
Patel ¹⁵⁹	Retrospettivo	71 NPM1mut			MRM predice EFS p=0.02	Buona qualità
Patkar ¹⁶⁰	Retrospettivo**	83 NPM1mut		HR 3.74 (1.58-8.37) 2yr OS 60% vs15%	RFS 4.8 (2.24-10.28)	Buona qualità
Salehzadeh ¹⁶¹	Retrospettivo	46 CR		Rid -1 log: 100% 1yr OS vs 44%, p=0.05. MRM+ ns	Rid -1 log: 1yr EFS 71% vs 0%, p=0.005	Moderata qualità
Shayegi ¹³⁹	Retrospettivo	174	>80% +1% dopo chemio o +10% post-trapianto predicono recidiva	MRM>10% predice OS	MRM > 1% predice DFS	Alta qualità
Short 2022 ¹⁶² Short 2020 ¹⁶³	Meta-analisi	48 studi [^] 81 studi [^]		InvHR 0.25 (0.13-0.44)	invHR 0.25 (0.15-0.39)	Alta qualità
Tiong ¹⁶⁴	retrospettivo	100 NPM1mut MRM+ (non SCT)			1yr RFS 42%	Alta qualità
Zappasodi ¹⁶⁵	Retrospettivo	201 (116 NPM1mut)		HR 2.18 (1.06-4.47) P=0.005 in NPM1mut treatment prognostic factor for DFS and OS in NPM1-mutated AML	HR 1.94 (1.13-3.34) P=0.024 in NPM1mut	Alta qualità
Zhou ¹⁶⁶	Retrospettivo	59 NPM1mut***	HR 4.36, p <0.001****			Buona qualità

* La doppia negatività della citofluorimetria e dell'esame molecolare consente di discriminare nettamente una popolazione a bassissimo rischio di recidiva, mentre i pazienti con una positività solo all'esame molecolare oppure solo alla citofluorimetria presentano rischi di recidiva simili.

** Concordeza tra NGS e RT-PCR ma maggiore sensibilità del NGS, pertanto differenza statisticamente significativa delle VAF.

*** MRM-NPM1 verificata con NGS.

**** Anche la MRM positività post trapianto predice la recidiva HR, 4.36, P = .002. Combinando MRM pre e post trapianto (in NGS) si ottiene una sensibilità del 83% sulle recidive HR, 5.25; P < .001).

Tabella 36. Tabella di sintesi dell'evidenza per il PICO 5 A.

Esito	Evidenza disponibile	Verifica molecolare vs verifica solo citofluorimetrica di MRM at termine del consolidamento	Qualità del corpo dell'evidenza
DFS	Tabella 34	HR 1.7-4.8 MRM+ vs MRM- HR > 4 in meta-analisi	ALTA
CIR	Tabella 34	Differenze assolute > 40% tra MRM+ e MRM-	ALTA
OS	Tabella 34	differenze assolute di sopravvivenza >20% nei MRM- rispetto agli MRM+ (HR 1.6-3.7; HR >4 in meta-analisi)	ALTA
QOL	Non evidenza disponibile		N/A
NRM	Studi retrospettivi	Nessuna differenza della NRM nei pazienti che vengono sottoposti a HSCT con MRM+ o MRM- pre-trapianto ^ Tuttavia, l'HSCT aumenta la mortalità nei pazienti MRD- (HR 4.37) mentre la migliora nei MRM+ (HR 0.67). ¹⁷¹	MOLTO BASSA

^ Pasic I, et al Influence of FLT3-ITD and NPM1 status on allogeneic hematopoietic cell transplant outcomes in patients with cytogenetically normal AML. Eur J Haematol 2019;102:368-374.

Tabella 37. Raccomandazioni relative al PICO 5 A.

RACCOMANDAZIONE				
Nei pazienti con LMA NPM1 mutata in remissione completa morfologica dopo 2 cicli di chemioterapia si raccomanda la valutazione molecolare quantitativa della mutazione di NPM1 (qRT-PCR su sangue midollare) al fine di ottimizzare il percorso terapeutico.				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	6	3	-	-

PICO 5B

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA NPM1-mutata e in remissione molecolare dopo due cicli di chemioterapia (P), la verifica periodica della malattia minima misurabile con metodiche molecolari (I) identifica la recidiva molecolare preclinica e consente la rapida selezione delle strategie di gestione della recidiva incluse quelle trapiantologiche (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?

ELN raccomanda di seguire nel tempo la ricomparsa di trascritto NPM1 nei pazienti mutati.⁴

Tabella 38. PICO 5B.

Pazienti	Pazienti adulti con LMA NPM1 mutata in Remissione Completa dopo 2 cicli di chemioterapia di induzione e senza evidenza di MRM al termine del consolidamento
Intervento	Monitoraggio del trascritto NPM1 (PCR sangue midollare ogni 3 mesi per 24 mesi)--> avvio a terapia pre-emptive /trapianto allogenico se recidiva molecolare
Confronto	Nessun monitoraggio molecolare e avvio a terapia e trapianto allogenico alla recidiva ematologica
Scopo del test	Consentire una terapia delle recidive in fase preclinica
Ruolo del test	Rilevare MRM
Esiti desiderabili	DFS, CIR, OS, Qualità di vita
Esiti indesiderabili	NRM
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

La ricerca sistematica dell'evidenza ha riportato numerosi studi longitudinali che hanno documentato una bassa incidenza cumulativa di recidiva, con latenza tra la positività molecolare e la recidiva clinica a una mediana di 4 mesi (Tabella 31).

È importante avere la disponibilità di un marker molecolare che, nell'ambito di una categoria a prognosi favorevole, offra la possibilità di individuare un paziente che può beneficiare, nella circostanza della recidiva della malattia, di una terapia trapiantologica che può essere organizzata già in recidiva molecolare.

Tabella 39. Latenza tra positivizzazione (o aumento 1 log) e recidiva ematologica.

Studio	Numero pazienti	Cutoff	Latenza mediana (range)
Shayegi 2013 ¹³⁹	174	>1% ABL1 dopo induzione > 10% ABL1 dopo SCT	4 mesi (2.3-5.7) Dopo trapianto 2.3 mesi
Kapp-Shwoerer 2020 ¹⁶⁷	464	≥200 NPM1mut/10 ⁴ ABL1 copies	3.8 mesi (BM), 3 mesi (PB)
Krönke 2011 ¹⁶⁸	245	≥200 NPM1mut/10 ⁴ ABL1 copies	2.6 mesi (0.4-23.6)
Ivey 2016 ¹⁵¹	346	Non soglie validate	4.4 mesi (BM), 2.9 mesi (PB)
Ommen 2010 ¹⁶⁹	365		3.5 mesi (BM) FLT3ITD pos [50%] 6.5 mesi (BM) FLT3-ITD neg [50%]
Forghieri 2018 ¹⁷⁰	review		1-3 mesi

Tabella 40. Evidenza relativa all'efficacia della terapia pre-emptive.

Studio	Numero pazienti (trattati pre-emptive), terapia	Cutoff	Risposta molecolare	Sopravvivenza	Qualità dell'evidenza
Platzbecker 2018, RELAZA 2 ¹⁷¹	53, AZA	Increase of NPM1mut/fusion transcript/ABL1 ratio >1% in PB or BM*	31/53 patients (58%)	DFS 58% a 6 mesi. DFS 51% a 13 mesi.	Moderata qualità
Bataller 2020 ¹⁴⁷	33 (25) NPM1mut, SCT +/- bridge	NPM1mut/ABL1 ratio above 5% in BM	21/25 (84%)	2yr OS 86%	Moderata qualità
Dillon 2020 ¹⁷²	30 (27) NPM1mut, SCT o chemo	More than 1 log10 increase between two MRM positive samples	16/27 (59%)	2yr OS 63%	Moderata qualità
Fenwarth 2021 ¹⁷³	545 CR1, SCT		NA	HR of death if transplanted being MRM neg: 4.37 (1.71-11.17) while HR 0.67 (0.47-0.96) if transplant offered to MRM+ patients (with KBscore < 40)	Moderata qualità
Lussana 2019, NILG 02/06 ¹⁵⁷	89 NPM1 mut, SCT		NA	MRM- HSCT vs no-HSCT: 89% vs 81% OS 80% vs 75% DFS MRM+ HSCT+ vs no-HSCT: 3yr OS 52% vs 31% (p=0.45) DFS 50% vs 17% (ns)	Moderata qualità
Bataller 2020 ¹⁴⁶	46 recidive NPM1mut	5/100ABL1	NA	2yr OS 86% per I pazienti con recidiva molecolare (33 trattati con pre-emptive)*	Buona qualità

*23 sottoposti a HSCT di cui 15 in MRM+ pre-trapianto: 2yr OS post trapianto 81-90%

Tabella 41. Sintesi dell'evidenza per il PICO 5-B

Esito	Evidenza disponibile	Monitoraggio recidiva molecolare vs monitoraggio solo citofluorimetrico	Qualità del corpo dell'evidenza
DFS	Tabella 339	Le strategie pre-emptive che hano incluso HSCT hanno garantito sopravvivenza libera da recidiva > 50% ad un anno	BASSA
CIR	Tabella 339	Le strategie pre-emptive inclusive di HSCT garantiscono una bassa frequenza di recidive	BASSA
OS	Tabella 339	Le strategie pre-emptive che hano incluso HSCT hanno garantito sopravvivenza a 2 anni > 80% come evidenziato da studi retrospettivi	BASSA
QOL	N/A		N/A
NRM	Studi retrospettivi	Nessuna differenza della NRM nei pazienti che vengono sottoposti a HSCT con MRM+ o MRM- pre-trapianto ^ Tuttavia, l'HSCT aumenta la mortalità nei pazienti MRD- (HR 4.37) mentre la migliora nei MRM+ (HR 0.67). ¹⁷¹	MOLTO BASSA

^ Pasic I, et al Influence of FLT3-ITD and NPM1 status on allogeneic hematopoietic cell transplant outcomes in patients with cytogenetically normal AML. Eur J Haematol 2019;102:368-374.

Tabella 42. Raccomandazioni per il PICO 5-B

RACCOMANDAZIONE				
Nei pazienti con mutazione NPM1 in remissione molecolare dopo il consolidamento, si raccomanda il monitoraggio molecolare ogni 3-4 mesi su sangue midollare (oppure ogni 2 mesi su sangue periferico) per 2 anni poiché consente di rilevare anticipatamente recidive incipienti.				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	6	3	-	-

Domanda n. 6

Nei pazienti con LMA a rischio intermedio senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di CSE allogeneiche, va monitorata la malattia residua misurabile in citofluorimetria?

I pazienti con LMA a rischio sfavorevole hanno una prognosi molto negativa con probabilità di sopravvivenza a lungo termine compresa tra il 5-10%¹⁷⁴. In questo gruppo di pazienti è di solito raccomandato, indipendentemente dai livelli della MRM, l'utilizzo precoce del trapianto allogeneico da donatore familiare o alternativo, trapianto che rappresenta la migliore opzione per il controllo a lungo termine della malattia¹⁷⁵.

I pazienti affetti da LMA a rischio favorevole non sono candidati aprioristicamente al trapianto allogeneico; infatti, il rischio di recidiva senza trapianto (10-20% a due anni) è generalmente considerato troppo basso per giustificare il rischio di un allo SCT. La valutazione della MRM può rifinire questa raccomandazione. Il rischio di recidiva nei pazienti NPM1 mutati / FLT3 negativi e nelle LMA CBF differisce sostanzialmente a seconda che ci sia stata o meno una riduzione di 3 logaritmi o superiore dei trascritti rilevati in PCR dopo i primi due cicli di terapia (25% vs 70%, rispettivamente per le LMA NPM1 mutate e 10-20% vs 50%, rispettivamente per le LMA CBF).¹³⁹ L'utilizzo della MRM valutata in Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (RQ-PCR) per una migliore stratificazione prognostica delle LMA a rischio favorevole è oggetto di studi clinici sperimentali prospettici¹⁷⁶.

Tabella 43. Evidenza relativa al potere predittivo della MRM in citofluorimetria nelle LMA a rischio intermedio.*

Disegno	Popolazione	Metodica x MRM	HR o OR MRM+/MRM-
Meta-analisi ¹⁷⁷	considerate 19 pubblicazioni per un totale di 1431 pazienti in cui è stata valutata la MRM pre- trapianto allogeneico	MPFC (9 studi) cut-point per MRM+ e MRM- 0.1% WT1 PCR (5 studi) MPFC e WT1 PCR separatamente (1 studio) MPFC e WT-1 PCR in combinazione (4 studi)	HR [95%CI] pz MRM+ (escludendo studi con rischio elevato di bias) OS HR 2.19 [1.29-3.72] LFS HR 2.77 [1.39-5.50] CIR HR 2.9 [1.81-4.64] OS HR 4.6 [2.6-8.14] LFS HR 5.14 [3.04-8.72] CIR HR 9.53 [4.48-20.29] OS HR 2.57 [1.52-4.33] LFS HR 2.81 [1.70-4.66] CIR HR 4.53 [2.30-8.92]
Studio retrospettivo monocentrico ¹⁷⁸	810 pazienti totali sottoposti a trapianto allogeneico con condizionamento MAC (n=515) o non-MAC (n=295). Pazienti con rischio citogenetico intermedio 65%, in prima remissione 76%, in seconda remissione 24%	MPFC MRM- = assenza di cellule a fenotipo leucemico; MRM+ = qualunque livello di MRM misurabile; timing pre-TMO e post-TMO (+20-40)	3-years RFS MRM- vs MRM+ 62% (58-65%) vs 21% (15-28%) 3-years OS MRM- vs MRM+ 66% (62-70%) vs 33% (26-41%) 3-years CIR MRM- vs MRM+ 23%(20-27%) vs 65% (57%-72%)

Studio retrospettivo monocentrico ¹⁷⁹	189 pazienti sottoposti a trapianto allogenico con condizionamento MAC (n=1339 o non-MAC (n=56). Pazienti con rischio ELN intermedio 55% (n=104), in prima remissione 86%	MPFC MRM- = assenza di cellule a fenotipo leucemico MRM low = 0.1-0.5% MRM high = >0.5% Timing pre-TMO	5-years OS MRM- vs MRM low vs MRM high 73% (62-82%) vs 61% (44-76%) vs 48% (33-63%) 5-years DFS MRM- vs MRM low vs MRM high. 72% (61-81%) vs 51% (34-68%) vs 33% (20-50%) 5-years CIR MRM- vs MRM low vs MRM high 9% (5-17%) vs 39% (24-57%) vs 63% (38-83%)
Trial prospettico Hovon/Sakk AML 42A1 ¹⁸⁰	517 pazienti età 18-60; 143 pazienti classificati come rischio intermedio Trial no MRM driven	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.1% dopo 2° ciclo di chemioterapia (C2) validato in coorte prospettica	Pazienti a rischio intermedio: 2-years CIR MRM- e MRM+ dopo ciclo 2 30% vs 70%, p<0.001
Studio retrospettivo. Pazienti arruolati ai trials EORTC/ GIMEMA ¹⁸¹	143 pazienti totali; età <60 anni n = 103. 115 pazienti classificati come rischio intermedio Trial AML10, AML12, AML17	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.035% post-consolidamento (C2)	4-years OS MRM- e MRM+ 67% vs 23% (p<0.001) 4-years RFS MRM- e MRM+ 63% vs 17% (p<0.001)
Trial prospettico NCRI AML 17 ¹⁸²	2540 pazienti totali età <60 anni Valutabili 806 pazienti per MRM: 557 pazienti rischio citogenetico intermedio, 466 FLT3-ITD WT, NPM1c WT Trial no MRM driven	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.1% dopo C1 e C2	lo stato MRM- è associato ad una migliore sopravvivenza dopo C1 HR 1.46 (1.16-1.84) dopo C2 HR 1.88 (1.43-2.47) 5-years OS MRM- e MRM+ dopo C2 63% vs 33%, p<0.003 5-years CIR MRM- e MRM+ dopo C2 50% vs 89%, p<0.00001 OS dei pazienti a rischio intermedio NPM-1wt in base alla procedura trapiantologica per valutazione di MRM status dopo C2 MRM- no allograft better HR 1.68 (0.74-3.85) MRM+ allograft better HR 0.72 (0.31-1.69)

*Commento EBM: la qualità dell'evidenza negli studi riportati in tabella 33 è stata giudicata bassa o moderata (3 studi). Gli elementi a favore di una buona qualità sono stati la numerosità, la rappresentatività del sottogruppo a rischio intermedio, la durata del follow-up e il cutoff di MMR impiegato.

La LMA con rischio intermedio rappresenta il gruppo clinico più eterogeneo e più numeroso. Infatti, questa categoria raggruppa casi con cariotipo normale (CN-LMA), così come altri con alterazioni cariotipiche e genetiche, spesso rare, di difficile collocazione prognostica. Sulla base di analisi retrospettive di grandi gruppi cooperativi, le CN-LMA rappresentano il 40-50% delle LMA de novo ed hanno un decorso clinico estremamente variabile, in relazione anche all'espressione di specifici marcatori molecolari^{183,184}. Questi marcatori includono le mutazioni geniche di NPM1, FLT3, CEBPA, IDH1/2, DNMT3A, KIT, TP53, RUNX1 e ASXL1. In questi pazienti non esiste un consenso sulla migliore terapia post-remissionale da eseguire, ma c'è accordo sul fatto che la misurazione della MRM può essere uno strumento affidabile per aiutare nel processo decisionale. Tale legittimazione da parte dell'ELN (consensus 2021) indica che, oltre alla stratificazione del rischio pre-trattamento, la valutazione dinamica della MRM durante il trattamento e il follow-up è uno dei fattori più rilevanti che influenzano l'outcome a lungo termine, una volta ottenuta una RC. Infatti, la misurazione della MRM permette di valutare l'efficacia di un trattamento, efficacia che dipende da una parte dall'eterogeneità delle caratteristiche genetiche della malattia e dall'altra dall'eterogeneità della risposta al trattamento del singolo paziente. La MRM può essere misurata e quantificata utilizzando tecniche come RQ-PCR e la citometria a flusso multiparametrica (MPFC). La RQ-PCR è utilizzabile con attendibilità solo nelle LMA con mutazione di NPM1 e nelle CBF, circa il 30-45% dei casi totali.¹²¹ Le metodiche più moderne come il "whole genome o exon sequencing" e la droplet digital PCR sono in via di sviluppo e standardizzazione. La MPFC rappresenta un approccio alternativo per la valutazione della MRM ed è applicabile in più del 90% dei casi di LMA con una sensibilità di 10⁻⁴-10⁻⁵. Il

crescente utilizzo della MPFC come strumento di valutazione della MRM è dovuto alla sua ampia applicabilità (> 95% di LMA), rapidità, specificità e capacità di distinguere le cellule vitali dai detriti del midollo osseo e dalle cellule morte. Il test si basa sulla identificazione di un fenotipo aberrante, normalmente assente o presente a bassa frequenza nel midollo osseo normale. Un fenotipo può essere aberrante per: espressione di Ag di linea non mieloide, espressione antigenica asincrona (cioè, espressione contemporanea di Ag mieloidi di diverse fasi maturative), iperespressione, ipoespressione o espressione assente di alcuni antigeni (Ag). Per l'identificazione di un fenotipo aberrante è consigliato un pannello diagnostico almeno ad 8 o più colori. Nel tempo si sono consolidati due approcci per valutare la MRM con MPFC: 1) Il rilevamento di immunofenotipi associati alla leucemia (LAIP) o 2) il rilevamento di pattern fenotipici diversi dal normale (DfN). L'utilizzo del LAIP si basa sull'identificazione alla diagnosi di popolazioni immunofenotipicamente aberranti (una sorta di "impronta immunologica" del paziente); queste "impronte immunologiche" vengono quindi utilizzate per tracciare le cellule leucemiche residue dopo il trattamento^{121,185,186,187}. Nella strategia di analisi DfN, le cellule leucemiche residue vengono identificate come popolazioni di cellule aberranti (ovvero LAIP) all'interno di un modello normale di differenziazione utilizzando un pannello di anticorpi fisso. Pertanto, questa strategia di analisi non richiede la definizione di un'impronta immunologica al momento della diagnosi. In sostanza i LAIP, nella maggior parte dei casi, sono essenzialmente anomalie DfN e le differenze tra questi due approcci di analisi possono essere ridotte al minimo se per il rilevamento vengono utilizzati pannelli di anticorpi sufficientemente estesi (≥ 8 colori). Studi recenti suggeriscono che la valutazione della MRM da parte di un pannello a dieci colori insieme all'acquisizione di un numero adeguato di eventi migliora il livello di sensibilità del test citofluorimetrico e riduce la possibilità di perdere popolazioni minori presenti alla diagnosi che possono eventualmente generare recidive. Il gruppo di lavoro ELN MRM consiglia di combinare i vantaggi di entrambi gli approcci per definire al meglio la MRM citofluorimetrica, suggerendo il termine "approccio DfN basato su LAIP" per questa strategia combinata.

PICO 6

Nella popolazione adulta con nuova diagnosi di LMA a rischio intermedio e senza marcatori molecolari ma candidabile a trapianto di CSE allogene (P), la verifica periodica della malattia minima misurabile con metodi citofluorimetrici (I) identifica precocemente la recidiva e consente un avvio precoce delle strategie di gestione della recidiva (O) rispetto al solo monitoraggio clinico (C)?

Una strategia post-remissionale basata sulla disponibilità o meno di un donatore familiare di cellule staminali HLA identico (donor vs donor) piuttosto che sul rischio effettivo di recidiva della malattia ha

portato nei pazienti giovani affetti da LMA da una parte a tassi soddisfacenti di remissione (70-80%) ma allo stesso tempo a deludenti stime di sopravvivenza a lungo termine (30-40%)^{175,188,189}.

Nel trial EORTC/GIMEMA AML-10 la DFS a 4 anni nei pazienti sottoposti ad allo SCT (donor group) e nei pazienti non sottoposti ad allo SCT (no donor group) era 45% vs 48.5%, rispettivamente. L'incidenza di recidiva e l'incidenza di morte in remissione completa (RC) 35% vs 47%, e 20% vs 5%, rispettivamente. La sopravvivenza globale (OS) a 4 anni era 53% vs 54%, rispettivamente. Nel trial SWOG/ECOG la OS a 5 anni dalla RC era 52% per il gruppo allo SCT (donor) e 36% per il gruppo auto SCT (no donor)¹⁹⁰. Nel trial UK MRC AML-10 i pazienti a rischio citogenetico intermedio (ma non i pazienti a rischio favorevole e sfavorevole) avevano un beneficio significativo dall'allo SCT. In questo sottogruppo la DFS e OS del gruppo donor e no donor erano 50% vs 39% (p=0.004) e 55% vs 44% (p=0.02), rispettivamente¹⁹¹. In un più recente lavoro che ha valutato la classificazione di rischio ELN in un numeroso gruppo di pazienti, la relapse-free survival (RFS) dei pazienti classificati intermedio-1 era più favorevole nei pazienti sottoposti ad allo SCT rispetto ai pazienti non trapiantati (94 vs 7.9 mesi, rispettivamente)¹⁹².

La valutazione della MRM dopo C2 migliora notevolmente la selezione dei pazienti a rischio intermedio da assegnare ad allo SCT non più sulla base della disponibilità del donatore ma bensì sulla base del rischio personale di recidiva (citogenetico/genetico + stato di MRM). In un'analisi retrospettiva condotta su 143 pazienti (16% rischio cariotipico favorevole, 80% rischio cariotipico intermedio, 4% rischio cariotipico sfavorevole) sulla base dello stato di MRM dopo consolidamento valutato con MPFC, i pazienti con rischio cariotipico intermedio/MRM neg avevano una significativa migliore RFS e OS a 4 anni rispetto ai pazienti con cariotipo intermedio/MRM pos (63% e 67% vs 17% e 23%, rispettivamente, p<0.0001)¹⁹³. Lo studio prospettico GIMEMA AML1310 ha dimostrato il potenziale valore dell'utilizzo dei dati di MRM nel processo decisionale terapeutico dei pazienti giovani affetti da LMA. Infatti dopo chemioterapia di induzione e consolidamento i pazienti con rischio intermedio erano classificati in MRM pos e MRM neg sulla base di una determinazione citofluorimetrica e ricevevano allo SCT e auto SCT, rispettivamente come terapia post-remissionale. I pazienti MRM neg e MRM pos avevano una OS e DFS a 2 anni del 79% e 70% e 61% e 67%, rispettivamente, suggerendo così che la decisione di offrire un allo SCT possa contribuire a migliorare l'outcome dei pazienti a rischio sfavorevole per positività della MRM¹⁹⁴. Un recente aggiornamento di questi dati a 6 anni conferma il vantaggio a lungo termine di una strategia risk-adapted basata sulle determinazioni di MRM. Infatti, OS e DFS a 6 anni dei pazienti a rischio intermedio MRM neg e MRM pos sono 56.6% vs 62.3% e 51.6% vs 48.6%, rispettivamente¹⁹⁵.

Tabella 44. PICO 6.

Pazienti

Pazienti adulti con LMA a rischio ELN intermedio privi di marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto allogenico

Intervento	Verifica citofluorimetrica della MRM (dopo 2 cicli e durante il follow up) con approccio basato su LAIP e/o DfN (sangue midollare) seguito da trapianto allogenico nei pazienti MRM+
Confronto	Assenza di monitoraggio della MRM e assegnazione a trapianto allogenico di tutti i pazienti con donatore sibling compatibile
Scopo del test	Selezionare i pazienti da inviare a trapianto allogenico
Ruolo del test	Discriminare i pazienti con MRM+
Esiti desiderabili	DFS, CIR, OS, Qualità di vita
Esiti indesiderabili	NRM
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Come riportato nelle linee guida dell'ELN MRM WP, la soglia di positività MRM per MPFC considerata clinicamente affidabile è dello 0.1%. Questa soglia, oltre ad essere la più frequentemente impiegata negli studi clinici, ha due principali vantaggi nella pratica clinica: in primo luogo, è una soglia che garantisce una sensibilità del LAIP, in un midollo normale o rigenerante, al di sopra della frequenza di ogni possibile background; secondo, è più conforme con la richiesta delle agenzie regolatorie per convalidare la MRM nel processo decisionale clinico. L'attuale suggerimento del Food and Drug Administration (FDA) è che, per il processo decisionale clinico, il test dovrebbe essere tecnicamente validato 1 logaritmo al di sotto della soglia scelta. Ciò significherebbe che una soglia dello 0.01% (ovvero 10^{-4}) dovrebbe essere convalidata per la MPFC.

Diversi autori hanno riscontrato che livelli di cut-off inferiori allo 0.1% (es. <0.01%) identificano pazienti con prognosi clinica particolarmente favorevole. D'altra parte, la MRM 0.1% non esclude la persistenza di leucemia. Infatti, il livello di cut-off di 0.1% ha lo svantaggio che i sottogruppi di pazienti a prognosi particolarmente favorevole, non sono distinti da altri pazienti MRM negativi i cui livelli sono vicini (ma ancora inferiori) a 0.1% e che potrebbero avere, quindi, un andamento clinico peggiore. Recentemente una soglia dello 0.035% è stata validata in modo prospettico nel contesto dello studio GIMEMA AML1310¹⁹⁶, e mentre in un altro lavoro qualunque positività di MRM (cioè, assenza di negatività) pre-trapianto è risultata rilevante dal punto di vista prognostico¹⁹⁷. Questi livelli di specificità devono essere ulteriormente esplorati, in particolare in relazione al time-point al quale è valutata la MRM.

Nella pratica clinica, la valutazione della MRM dopo 2 cicli di chemioterapia intensiva (dopo 2 cicli d'induzione o 1 ciclo d'induzione ed 1 di consolidamento - C2) rappresenta un fattore prognostico indipendente molto forte per la recidiva clinica e la sopravvivenza libera da malattia (DFS). La negatività della MRM dopo la prima induzione è altamente predittiva per l'ottenimento della negatività della MRM dopo C2. Altri utilizzi della MRM come nel periodo post-trapianto, nel monitoraggio tardivo dopo la terapia (2 anni) e come surrogato di end-point clinici, non sono ancora stati convalidati in studi clinici prospettici.

Tabella 45. Evidenza relativa agli esiti della strategia (I) di assegnazione al trapianto allogenico “MRM-driven”.

Disegno	Popolazione	Metodica x MRM	MRM+ vs MRM- HR oppure OR
GIMEMA AML1310 trial studio prospettico fase 3 ¹⁹⁴	500 pazienti totali, età <60 anni. 174 pazienti con rischio intermedio (NCCN 2009, versione 1): 127 con LAIP disponibile (valutabili per terapia post consolidamento MRM-driven: MRM- autotrapianto vs MRM+ allotrapianto)	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.035% post-consolidamento	2-year OS MRM- vs MRM+ 79% [95% CI 66-94] vs 70% [95% CI 57-86] (p=0.713) 2-year DFS MRM- vs MRM+ 61% [95% CI 47-80] vs 67% [95% CI 53-83] (p=0.773)
HOVON-SAKK 132 trial studio prospettico fase 3 ¹⁹⁷	780 pazienti totali età 18-65 anni 128 pazienti a rischio intermedio secondo i criteri ELN 2017. Terapia post consolidamento MRM-driven: MRM- autotrapianto vs MRM+ allotrapianto	MPFC per i pazienti a rischio intermedio (PCR solo per i pazienti NPM-1 mut) Cut-point per MRM+ e MRM- 0.1% dopo 2° ciclo di chemioterapia (C2)	4-years OS MRM- e MRM+ 69% vs 64%; HR 1.31; 95% CI , 0.64-2.69; p = 0.46 4-years RFS MRM- e MRM+ 52% vs 50%; HR 1.18; 95% CI, 0.65-2.14, p = 0.59
GIMEMA AML1310 trial studio prospettico fase 3 ¹⁹⁸	445 pazienti totali, età <60 anni. 179 pazienti con rischio intermedio (ELN 2017) 85 con LAIP disponibile per terapia post consolidamento MRM-driven: MRM- autotrapianto vs MRM+ allotrapianto	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.035% post-consolidamento	2-year OS MRM- vs MRM+ 76.5 vs 58.8% (p=0.247)

Tabella 46. Evidenza relativa agli esiti della strategia di confronto (C): assegnazione donor-driven (sulla base della disponibilità di un donatore familiare compatibile) al trapianto allogenico.

Disegno	Popolazione	Metodica x MRM	HR o OR MRM+/MRM-
Studio retrospettivo monocentrico ¹⁹⁹	185 pazienti arruolati ai protocolli EORTC/ GIMEMA AML10 e AML12. Confronto tra una coorte di pazienti avviati ad allotrapianto o autotrapianto sulla base della disponibilità di un donatore familiare HLA-identico (donor vs no donor strategy) ed una coorte di pazienti avviati ad allotrapianto o autotrapianto sulla base della valutazione della MRM (MRM driven-strategy). Pazienti a rischio intermedio N = 131	MPFC cut-point per MRM+ e MRM- 0.035% post-consolidamento	Pazienti a rischio intermedio coorte MRM-driven vs coorte donor-driven 10-years OS 52% vs 20.5%, p=0.0045 10-years DFS 42.8% vs 13.2% , p= 0.0002 10-years CIR 42% vs 76.3% , p = 0.0002 Strategia di trattamento MRM-driven vs donor-driven per OS HR 0.587 [0.396-0.872], p=0.008

EORTC/ GIMEMA AML-10 trial ¹⁷⁵	Pazienti di età 15-45 anni sottoposti ad allo-TMO o auto-TMO sulla base della disponibilità di un donatore (donor vs no donor strategy). Rischio intermedio citogenetico (cariotipo normale e -Y). Gruppo no donor N=441 Auto-TMO N= 66 Gruppo donor N=293 Allo-TMO N= 48 Rischio intermedio: 61 donor (46 allo) , 104 no-donor (64 auto 2 allo)	-	4-years OS donor vs no donor rischio intermedio 53.4% (±6.8%) vs 54.3% (± 5.3%) 4-years DFS donor vs no donor rischio intermedio 45.2% (±6.7%) vs 48.5% (± 5.1%) ma disponibilità di donatore HR 0.78 (0.63-0.97) alla multivariata Cox che include rischio citogenetico 4-years CIR (morte in RC) donor vs no donor rischio intermedio 35.1% (19.7%) vs 46.6% (5%)
ECOG 3489 / SWOG9034 trial ²⁰⁰	Pazienti di età 15-55 anni sottoposti ad allo-TMO o auto-TMO/chemioterapia intensiva sulla base della disponibilità di un donatore (donor vs no donor strategy). 278 pazienti rischio citogenetico intermedio (cariotipo normale, +8,+6, -Y, del(12p) Auto-TMO N= 37 Allo-TMO N= 47	-	5-years OS donor vs no donor rischio intermedio 52% (37-66%) vs 36% (20-52%) 5-years DFS donor vs no donor rischio intermedio, risultati sovrapponibili alle analisi di OS
UK MRC AML10 trial ²⁰¹	Pazienti età <55 anni sottoposti ad allo-TMO o auto-TMO sulla base della disponibilità di un donatore (donor vs no donor strategy). 732 pazienti a rischio citogenetico intermedio Auto-TMO N= 99 Allo-TMO N= 122	-	DFS e OS del gruppo donor e no donor erano 50% vs 39% (p=0.004) e 55% vs 44% (p=0.02), rispettivamente
AML96 trial ¹⁹²	Coorte pazienti età >18 e < 60 anni 2 cicli di induzione (MICE e HDARA-C + amsacrina). Pazienti a rischio intermedio I (N=485) e II (N= 298) secondo classificazione ELN 2010 età <55 anni ricevono allo-TMO se donatore familiare disponibile (N=185) vs 1 cicli di consolidamento e auto-TMO (N=51).	-	OS mediana donor vs no donor rischio intermedio-I NR (95% CI -) vs 13.6 (95% CI 9.8-17.4) mesi ; rischio intermedio-II 109.2 (95% CI 24.3-194.1) vs 18.7 (95% CI 9.6-27.7) mesi RFS mediana donor vs no donor rischio intermedio-I 94 (95% CI -) vs 7.9 (95% CI 6-9.8) mesi ; rischio intermedio-II 104.8 (95% CI 11.8-197.8) vs 39.1 (95% CI 8.4-70) mesi

Tabella 47. Tabella evidence-to-decision. Confronto tra strategie di selezione per trapianto allogenico dei pazienti a rischio intermedio in CR1.

Esito	MRM-based	Donor-based	MRM-based vs Donor-based	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	2 studi prospettici 2y OS 64-69% 4y OS 70-79% p >0.4 non svantaggio x pazienti MRM- non assegnati ad alloSCT	3 studi prospettici 5y OS 52-55% vs 36-44% P<0.05 1 studio prospettico ns svantaggio x pazienti senza donatore	1 analisi post-hoc di 2 studi prospettici 10y OS 52% vs 20.5% p= 0.0045 HR 0.587 [0.396-0.872] p=0.008	Bassa a favore di strategia MRM-based per la quale c'è evidenza moderata che non sia svantaggiosa, ma un solo studio ne ha documentata la superiorità rispetto ad una strategia donor-based sulla base di casistica nella quale, a differenza di altri studi, la strategia donor-based non era vantaggiosa

DFS	2 studi prospettici 2y DFS 61-67% 4y DFS 50-52% p>0.5 non svantaggio x pazienti MRM- non assegnati ad alloSCT	3 studi prospettici risultati simili ad OS 1 studio prospettico ns svantaggio x pazienti senza donatore	1 analisi post-hoc di 2 studi prospettici 10-years DFS 42.8% vs 13.2%, p= 0.0002	Bassa (vedi argomentazioni sopra)
------------	--	---	---	-----------------------------------

Tabella 48. Raccomandazioni per il PICO 6.

RACCOMANDAZIONE				
Nei pazienti con LMA a rischio intermedio, senza marcatori molecolari e potenzialmente candidabili a trapianto di cellule staminale allogeniche, si raccomanda l'impiego della citofluorimetria per il monitoraggio della malattia residua misurabile.				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
Voti:	9	-	-	-

Domanda n. 7

Nei pazienti con LMA in recidiva va eseguita/ripetuta la valutazione delle mutazioni di FLT3?

Circa il 30% di pazienti con diagnosi di LMA presenta la mutazione del gene FLT3, circostanza che rappresenta un fattore prognostico negativo con un 'alta probabilità di recidiva della malattia o refrattarietà al trattamento^{202,203}.

Una meta-analisi di 11 studi di 272 pazienti con 607 pazienti affetti da LMA recidivata-refrattaria testata sia alla diagnosi che alla recidiva per le mutazioni di FLT3 (solo 6 riportavano sia ITD che TDK) ha evidenziato che la frequenza di mutati alla diagnosi (27% + 5%) e alla recidiva (29%+ 4%) era simile, ma un cambio di stato mutazionale era riportato nel 12% dei pazienti. In particolare, lo stato mutazionale alla recidiva è variato da FLT3 negativo a FLT3 mutato nel 7% dei pazienti e da FLT3 mutato a FLT3 negativo nel 5%, mentre il 22% dei pazienti era ITD mutato sia alla diagnosi che alla recidiva. Il 58% dei pazienti resta non mutato sia alla diagnosi che alla recidiva. Al contrario una positività di FLT3 si rileva in almeno un time point nel 41% dei pazienti (alcune positività a bassa carica allelica)²⁰⁴.

Tabella 49. Shift mutazionale FLT3-ITD dalla diagnosi alla recidiva.

Studi	N. pazienti	Diagnosi FLT3+/FLT3-	Recidiva FLT3+/FLT3-	Switch alla recidiva/totale pazienti testati (%)
Kottaridis et al ²⁰⁵	44	20/24	19/25	9/44 (20.5%)
Shih et al ²⁰⁶	108	17/91	24/84	9/108 (8.4%)
Cloos et al ²⁰⁷	80	22/58	22/58	9/80 (11.2%)
Nazha et al ²⁰⁸	324	56/268	21/81	11/102 (10.8%)
Warren et al ²⁰⁹	3555	638/2917	668/2887	42/3555 (1.18%)
Shmalbrock et al ²¹⁰	54	54/0	29/25	25/54 (46%)

PICO n. 7

Nella popolazione adulta con recidiva di LMA (P), l'esecuzione/ripetizione della ricerca delle mutazioni di FLT3 (I) identifica correttamente i candidati a terapie mirate anti-FLT3 della recidiva (O) rispetto alla non esecuzione/ripetizione del test (C)?

Nel paziente R/R affetto da LMA, a causa dell'evoluzione clonale, le mutazioni del gene FLT3, seppur assenti alla diagnosi, possono essere presenti ed esercitare un peso prognostico^{205,206,207,211}. Nel 20% circa dei pazienti affetti da recidiva di LMA la mutazione del gene FLT3 può essere rilevata nei pazienti FLT3 negativi alla diagnosi o risultare assente nei pazienti FLT3+ alla diagnosi²¹². In particolare, le mutazioni FLT3-ITD vengono riscontrate in recidiva più spesso delle mutazioni FLT3-TKD, mentre, al contrario, le mutazioni FLT3-TKD rilevate alla diagnosi possono scomparire in recidiva più spesso delle FLT3-ITD. Questo scenario potrebbe essere correlato alla circostanza che le LMA con le mutazioni FLT3-TKD alla diagnosi siano più chemiosensibili rispetto alle LMA con cloni FLT3-ITD mutati. In alcuni casi un

cambiamento dello stato mutazionale di FLT3 durante l'evoluzione clonale può essere semplicemente messo in relazione al fatto che la mutazione alla diagnosi può essere presente a livelli inferiori rispetto al limite di sensibilità della metodica impiegata. Pertanto, i cloni leucemici FLT3-ITD+, già presenti alla diagnosi ma non rilevati, diventeranno prevalenti, e quindi evidenziabili, alla recidiva della LMA. Il cambio di stato mutazionale in recidiva con l'acquisizione della mutazione FLT3-ITD è molto rilevante dal momento che è stato dimostrato che i pazienti R/R che acquisiscono la mutazione FLT3-ITD hanno una sopravvivenza globale più breve rispetto ai pazienti R/R che conservano lo stato wild-type del gene FLT3.²¹¹ D'altro canto, l'impiego della midostaurina associata alla terapia di induzione nei pazienti LMA FLT3+, quale recente standard terapeutico, ha cambiato lo scenario dell'evoluzione clonale di questa categoria di pazienti. Infatti, è stato riportato che il 46% dei pazienti non mostrava più la mutazione FLT3-ITD alla recidiva²¹². È ipotizzabile che il meccanismo messo in atto dal clone leucemico dopo l'esposizione alla chemioterapia associata alla midostaurina sia basato sulla selezione di una popolazione cellulare leucemica priva della mutazione del gene FLT3-ITD. Pertanto, appare evidente come risulta fondamentale eseguire la valutazione molecolare dello stato mutazionale del gene FLT3 in tutti i pazienti R/R da avviare a trattamento con gilteritinib.

Tabella 50. Sintesi dell'evidenza del PICO 7.

Esito	Studi	Confronti	Risultati	Qualità del corpo dell'evidenza
OS	GOLEAMS ²¹⁴	LAM R/R FLT3: mutate vs non mutate	HR	alta
	ADMIRAL ²¹⁷	LAM R/R FLT3 mutate: gilteritinib sv terapia standard	9.3 vs 5.6 mesi	alta
	Meta-analisi di 28 studi ^{230,231}	LAM R/R FLT3 mutate: FLT3 inibitori vs terapia standard	HR 0.60 (p<0.01)	alta

La prognosi dei pazienti LMA R/R è severa, soprattutto nei pazienti che hanno una recidiva precoce (durata della remissione inferiore a 6 mesi)²¹³. Lo studio GOELAMS ha dimostrato che nei pazienti R/R i tre fattori prognostici più rilevanti ai fini della sopravvivenza globale sono rappresentati dalla recidiva prima dei 12 mesi, lo stato mutazionale FLT3-ITD+ e l'alto rischio citogenetico²¹⁴. La prognosi dei pazienti R/R LMA FLT3+ è particolarmente severa²¹⁵. La valenza prognostica negativa dello stato mutazionale FLT3-ITD viene confermata anche nei pazienti R/R che risultavano essere negativi alla diagnosi^{209,216}. Nel trial ADMIRAL i pazienti R/R con LMA FLT3+ trattati con gilteritinib avevano una mediana di sopravvivenza quasi doppia (5.6 vs 9.3) rispetto ai pazienti che erano sottoposti a regimi terapeutici convenzionali²¹⁷.

Tabella 51. PICO 7

Pazienti

Pazienti con AML adulti recidivati o refrattari al trattamento

Intervento	Analisi mutazionale di FLT3 alla recidiva o alla verifica della refrattarietà con avvio a terapia inclusiva di inibitori di FLT3 per i pazienti mutati
Confronto	Non ripetizione dell'analisi mutazionale FT3 se eseguita alla diagnosi
Scopo del test	Identificare i pazienti candidati a terapia mirata con inibitori di FLT3
Ruolo del test	Identificare i pazienti candidati a terapia mirata con inibitori di FLT3
Esiti desiderabili	Vantaggio di sopravvivenza dei pazienti FLT3-mutati trattati con FLT3 inibitori in monoterapia (non candidati a chemioterapia intensiva, gilteritinib) o in associazione (candidati a chemioterapia intensiva, midostaurina + CHT)
Esiti indesiderabili	Effetti indesiderabili del test sono principalmente l'ansia e il disagio ma non ci sono AE diretti del test
Setting	Ospedaliero II livello
Prospettiva	Singolo paziente

Il trattamento convenzionale per i pazienti FLT3+ recidivati/refrattari (R/R) è rappresentato da un iniziale trattamento di induzione, seguito da un trattamento chemioterapico di salvataggio e successivo trapianto allogenico se presente la elegibilità²¹⁸. I pazienti (R/R) FLT3+ che ricevono una terapia di salvataggio hanno un outcome clinico sfavorevole, caratterizzato da una bassa frequenza di risposta al trattamento e da una breve durata della sopravvivenza globale^{217,219,220,221,222,223}.

L'approvazione della midostaurina, inibitore di prima generazione di FLT3, sulla base del miglioramento della sopravvivenza globale dimostrato nello studio di fase III RATIFY, ha introdotto un nuovo standard di terapia di induzione nei pazienti affetti da LMA de novo rappresentato dall'associazione della chemioterapia (daunorubicina e citarabina) con la midostaurina. Il gilteritinib, inibitore di FLT3 di seconda generazione, è stato approvato in Europa e negli USA quale terapia per i pazienti R/R con LMA FLT3+, sulla base dei dati generati dallo studio di fase III ADMIRAL e di altri 6 studi prospettici e di studi retrospettivi che hanno arruolato globalmente più di 800 pazienti.^{223,224,225,226,227,228,229} Il trattamento con gilteritinib, confrontato con le altre terapie di salvataggio, nei pazienti R/R affetti da LMA FLT3+ era associato a una sopravvivenza più lunga ed a una più alta percentuale di remissione. Globalmente il tasso di risposta completa (+ CRi) con FLT3-inibitori sia di 1° che di 2° tipo è del 35-38%, come riportato da una meta-analisi di 28 studi (1927 pazienti con LMA FLT3+ recidivata refrattaria e MDS alto rischio, età mediana 61.5 anni e una mediana di 3 linee di trattamento precedenti)²³⁰. Questo corrisponde ad un rischio relativo di CR (+ CRi) di 0.60 (p<0.01) [ovvero un risk ratio di 2.09; 1.5-2.90] e un HR di RFS di 0.40 (p=0.01) e di sopravvivenza globale di 0.60 (p<0.01)²²⁴. Inoltre, la sopravvivenza risulta significativamente migliorata (HR 0.83; 0.75-0.91) come evidenziato da una metanalisi di 8 studi clinici e 2656 pazienti trattati con 5 differenti FLT3 inibitori²³¹. Il rischio relativo di eventi avversi di grado 3-4 risulta aumentato dall'esposizione a FLT2 inibitori ma la frequenza assoluta degli eventi è molto bassa; pertanto, la differenza di rischi assoluti è poco rilevante clinicamente. Tuttavia, l'approvazione di gilteritinib in questo setting si è accompagnata a un boxed warning per la sindrome da differenziazione, la sindrome da encefalopatia posteriore reversibile, l'allungamento del QT, la pancreatite e la tossicità embrio-fetale. Il mantenimento con FLT3-inibitori dopo trapianto allogenico ha inoltre dimostrato di migliorare significativamente la sopravvivenza (81.7% vs 65.7% a 2 anni; HR per la

mortalità 0.41; 95% CI 0.26-0.62) ad una recente metanalisi di 21 studi e 809 pazienti²³². Simili risultati sono stati derivati da un'altra metanalisi di 7 studi e 680 pazienti²³³.

Tabella 52. Raccomandazioni per il PICO 7.

RACCOMANDAZIONE				
Nei pazienti adulti con LMA R/R si raccomanda l'esecuzione del test di analisi mutazionale del gene FLT3 al fine di avviare, in caso di positività al test, un trattamento con l'inibitore specifico (gilteritinib).				
	POSITIVA forte	POSITIVA condizionata	NEGATIVA condizionata	NEGATIVA forte
	9	-	-	-

REVISIONE ESTERNA

La presente linea-guida è stata sottoposta a revisione esterna qualitativa: i commenti dei revisori sono stati discussi e una versione aggiornata della linea-guida è stata condivisa allegata ad una lettera inclusiva delle modifiche apportate.

APPLICABILITA'

Le procedure diagnostiche proposte nelle raccomandazioni approvate sono tutte disponibili sul territorio italiano -come dimostrato dal fatto che sono presenti nel tariffario nazionale delle prestazioni di laboratorio-. Laboratori che non avessero implementato uno dei test diagnostici fanno comunque riferimento alla rete diagnostica nazionale GIMEMA LabNet (<https://labnetaml.gimema.it>). Le LG sono quindi applicabili a tutti i centri di ematologia nazionali.

L'applicabilità di ogni singolo PICO è poi riportata nella rispettiva griglia GRADE.

AGGIORNAMENTO

Il gruppo di lavoro precede un aggiornamento delle presenti linee-guida ogni 2 anni al fine di consentire l'integrazione / aggiustamento basato sul rapido sviluppo clinico e farmacologico in questo campo. In particolare, si prevede l'aggiunta di PICO relativi alle metodiche molecolari più avanzate (NGS).

INDIPENDENZA EDITORIALE

La SIES non ha ricevuto finanziamenti esterni per la conduzione della presente linea-guida.

I COI dichiarati da alcuni pannellisti (Bolli, Mecucci e Rambaldi) sono stati valutati dai membri del panel e dai revisori esterni. Dal momento che le raccomandazioni erano volte all'adozione di tecniche diagnostiche e non di particolari terapie, è stato valutato che i COI dei pannellisti non abbiano costituito una fonte di distorsione del giudizio fornito.

Ulteriori dichiarazioni

Tutte le raccomandazioni cliniche della Linea Guida sono in linea con le leggi italiane vigenti, norme e regolamenti delle agenzie regolatorie italiane e del Ministero della Salute, incluse le disposizioni relative ai Livelli Essenziali di Assistenza.

Le linee guida non sono state presentate in pubblico né pubblicate su riviste, né in tutto né in parte prima del completamento del processo di valutazione.

La SIES si impegna a fornire piena collaborazione e ogni documentazione aggiuntiva al CNEC, su sua specifica richiesta, inerente uno o più dei punti sopra delineati.

CONCLUSIONI

Le presenti raccomandazioni rappresentano indicazioni metodologicamente documentate, secondo la modalità PICO, rispetto a quesiti volutamente limitati nel loro ambito di applicazione. Inoltre, i quesiti sono stati scelti per essere risolvibili per quanto possibile in base all'evidenza, e questo limita il loro slancio verso una diagnostica molecolare estesa come raccomandato dalle recenti indicazioni ELN 2022. Di fatto, le linee guida devono essere interpretate come indicazioni di minima per individuare laboratori di diagnostica come qualificati ad eseguire una diagnostica moderna nel campo della LMA.

Nonostante i quesiti fossero stati formulati ben prima delle recenti novità classificative e prognostiche, essi non sono stati influenzati dalle pubblicazioni suddette. Man mano che le nuove raccomandazioni verranno recepite dalla comunità medica è verosimile che alcune di esse verranno considerate nella prima revisione delle presenti linee guida. Inoltre, le nuove terapie disponibili, quali le nuove combinazioni di terapia ipometilante con venetoclax o farmaci "targeted", stanno modificando le indicazioni allo studio del cariotipo o agli studi molecolari, in quanto questi nuovi approcci non risentono dei fattori prognostici negativi classici, quali per esempio il cariotipo MDS-like o le mutazioni di FLT3.

A questo proposito, oltre ai test molecolari alla diagnosi, anche uno studio approfondito della MRM sarà oggetto di revisione non appena le evidenze cliniche saranno concordi. Al momento, infatti, tolti i marcatori molecolari discussi sopra, la MRM molecolare o in NGS non è indicata in casi di AML senza lesioni genetiche ricorrenti a causa del minor grado di evidenza che altre mutazioni/traslocazioni possano avere un ruolo prognostico altrettanto valido²³⁴.

Bibliografia

1. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the WHO classification of hematolymphoid tumors: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. 2022 Jul;36(7):1703-1719.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RR, et al. International Consensus Classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 2022 Sep 15; 140(11):1200-1228.
3. Dohner H, Wei A, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of ELN. *Blood* 2022 Sep 22;140(12):1345-1377.
4. Heuser M, Freeman Sd, Ossenkuppele G, et al. 2021 update on MRM in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRM Working Party. *Blood* 2021 Dec 30;138(26):2753-2767.
5. Voso MT, Ferrara F, Galimberti S, Rambaldi A, Venditti A. Diagnostic Workup of Acute Myeloid Leukemia: What Is Really Necessary? An Italian Survey. *Frontiers in Oncology*. 2022 Feb 17;12:828072.
6. Sistema Nazionale Lingue-Guida. <http://snlg.iss.it>
7. Schunemann HJ, et al. GRADE guidelines: 16. GRADE evidence to decision frameworks for tests in clinical practice and public health. *J Clin Epidemiol* 2016;76:89.
8. GRADE working group. Grading quality of evidence and strength of recommendations *BMJ* 2004; 328: 1490-4. <http://www.gradeworkinggroup.org>.
9. Schunemann HJ, Wiercioch W, Brozek J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks for adoption, adaptation, and de novo development of trustworthy recommendations: GRADE-ADOLOPMENT. *J Clin Epidemiol*. 2017 Jan;81:101-110.
10. Foroutan F, Guyatt G, Zuk V, et al. GRADE guidelines 28: use of GRADE for the assessment of evidence about prognostic factors: rating certainty in identification of groups of patients with different absolute risks. *J Clin Epidemiol* 2020;121:62-70.
11. Norsworthy KJ, Gao X., Ko CW, et al. Response rate, event-free survival (EFS), and overall survival (OS) in newly-diagnosed acute myeloid leukemia (AML): U.S. food and drug administration (FDA) trial-level and patient-level analyses. *J Clin Oncol*. 2022 Mar 10;40(8):847-854.
12. Schlenk RF, Döhner H, Döhner K, et al. Event-free survival is a surrogate for overall survival in patients treated for acute myeloid leukemia. *Blood*. 2015;126(23). Abstract 3744.
13. Dohner H, Estey E, Grimwade D, et al. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424-447.
14. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, et al. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol* 2012,9(10):579-590.
15. Račk KA, van den Berg E, Haferlach C, et al. European recommendations and quality assurance for cytogenomic analysis of haematological neoplasms. *Leukemia*. 2019 Aug;33(8):1851-1867.

16. De Stefano MC, Florida G, Censi F, et al. The Italian National External Quality Assessment Program in Cytogenetics: 4 years of activity (2013-2016) following the introduction of poor performance criteria. *Ann Ist Super Sanita* 2018 Apr-Jun;54(2):109-116.
17. Haferlach C, Rieder H, Lillington DM et al. Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007 May;46(5):494-9.
18. Mikhail FM, Heerema NA, Rao KW, et al. Section E6.1-6.4 of the ACMG technical standards and guidelines: chromosome studies of neoplastic blood and bone marrow-acquired chromosomal abnormalities. *Genet Med*. 2016 Jun;18(6):635-42.
19. Dohner H, Wei A, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of ELN. *Blood* 2022 Sep 22;140(12):1345-1377.
20. Caprioli C, Lussana F, Salmoiraghi S, et al. Clinical significance of chromatin-spliceosome acute myeloid leukemia: a report from the Northern Italy Leukemia Group (NILG) randomized trial 02/06. *Haematologica* 2021 Oct 1;106(10):2578-2587.
21. Bassan R, Intermesoli T, Masciulli A, et al. Randomized trial comparing standard vs sequential high-dose chemotherapy for inducing early CR in adult AML. *Blood Adv*. 2019 Apr 9;3(7):1103-1117.
22. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405.
23. Montalban-Bravo G, Kanagal-Shamanna R, Class C.A, et al. Outcomes of acute myeloid leukemia with myelodysplasia related changes depend on diagnostic criteria and therapy. *Am. J. Hematol*. 2020;95:612–622.
24. Ryan DH, Newell LF, Ritchie EK, et al. Outcomes in Patients with Acute Myeloid Leukemia with Myelodysplasia-Related Changes (AML-MRC) Who Achieved Remission with CPX-351 Versus 7 + 3: Phase 3 Exploratory Analysis. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2020;26:S9–S10.
25. Chiche E, Rahmé R, Bertoli S, et al. Real-life experience with CPX-351 and impact on the outcome of high-risk AML patients: a multicentric French cohort. *Blood Adv*. 2021 Jan 12;5(1):176-184.
26. Tzogani K, Penttilä K, Lapveteläinen T, et al. EMA Review of Daunorubicin and Cytarabine Encapsulated in Liposomes (Vyxeos, CPX-351) for the Treatment of Adults with Newly Diagnosed, Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia or Acute Myeloid Leukemia with Myelodysplasia-Related Changes. *Oncologist*. 2020 Sep;25(9):e1414-e1420.
27. Lancet JE, Uy GL, Newell LF, et al. CPX-351 versus 7+3 cytarabine and daunorubicin chemotherapy in older adults with newly diagnosed high-risk or secondary acute myeloid leukaemia: 5-year results of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Haematol*. 2021 Jul;8(7):e481-e491.
28. Rautenberg C, Stölzel F, Röllig C, et al. Real-world experience of CPX-351 as first-line treatment for patients with acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2021 Oct 4;11(10):164.
29. Legg A, Doubleday P, Reich A, et al. Real-World Study of CPX-351 Treatment Outcomes for Acute Myeloid Leukemia (AML) in England [abstract]. *Blood* 2021, 138 Supplement 1, abstract 2310.
30. Jain AG, Ball S, Sallman DA, et al. Outcomes of Patients Treated with CPX-351 As First Line Therapy for AML Based on Their Antecedent History of Myeloid Malignancy [abstract]. *Blood* 2021 138 Supplement 1, abstract 1251.

31. Cortes JE, Lin TL, Uy GL, et al. Quality-adjusted Time Without Symptoms of disease or Toxicity (Q-TWiST) analysis of CPX-351 versus 7 + 3 in older adults with newly diagnosed high-risk/secondary AML. *J Hematol Oncol*. 2021 Jul 13;14(1):110.
32. Daher-Reyes G, Kim TH, Novitzky-Basso I, et al. Prognostic impact of the adverse molecular-genetic profile on long-term outcomes following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplantation* (2021) 56:8 (1908-1918).
33. Choi Y.; Lee J.-H.; Lee J.-H., et al. Monosomal karyotype affecting outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *European Journal of Haematology* (2020) 105:3 (262-273).
34. Silva P, Badiola J, Martín-Rojas RM, et al. Patients with acute myeloid leukemia on non-intensive therapy: applicability of the European Leukemia Net risk classification. *Blood* 2021;138 (supplement 1): 3382.
35. Gardeney H, Torregrosa Diaz JM, Basle C, et al. Risk stratification of elderly patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia unfit for intensive chemotherapy. *Blood* 2021; 138 (supplement 1): 2294.
36. Herold T, Rothenberg-Thurley M, Grunwald VV, et al. Validation and refinement of the revised 2017 European LeukemiaNet genetic risk stratification of acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2020;34.3161-3172.
37. Itzykson R, Fournier E, Berthon C, et al. Genetic identification of patients with AML older than 60 years achieving long-term survival with intensive chemotherapy. *Blood* (2021) 138:7 (507-519).
38. Keren-Froim N, Heering G, Sharvit G, et al. ELN 2017 classification significantly impacts the risk of early death in acute myeloid leukemia patients receiving intensive induction chemotherapy. *Ann Hematol*. 2022 Feb;101(2):309-316.
39. Bataller A, Garrido A, Gujardo F, et al. European LeukemiaNet 2017 stratification for acute myeloid leukemia: validation in a risk-adapted protocol. *Blood Adv* 2022 Feb 22;6(4): 1193-1206.
40. Boddu P, Kadia TM, Garcia-Manero G, et al. Validation of the ELN-2017 risk classification in younger adult patients with AML [abstract]. *J Clin Oncol* 2018; 36:suppl 1, abstract 7053.
41. Bill M, Mrózek K, Giacobelli B, et al. Precision oncology in AML: validation of the prognostic value of the knowledge bank approach and suggestions for improvement. *J Hematol Oncol* 2021 Jul 6;14(1):107.
42. Silva P, Badiola J, Martín-Rojas RM, et al. Patients with acute myeloid leukemia on non-intensive therapy: applicability of the European LeukemiaNet risk classification [abstract]. *Blood* 2021;138:suppl 1: 3382.
43. Buccisano F, Palmieri R, Picciocchi A, et al. ELN2017 risk stratification improves outcome prediction when applied to the prospective GIMEMA AML1310 protocol. *Blood Adv* 2022 Apr 26;6(8):2510-2516.
44. Orvain C, Tanguy-Schmidt A, Thepot S, et al. Validation of the revised AML-composite model for the prediction of prognosis in older patients receiving intensive induction therapy [abstract]. *Blood* 2019;134 (suppl 1): abstract 1310.
45. Ma TT, Lin XJ, Cheng WY, et al. Development and validation of a prognostic model for adult patients with acute myeloid leukaemia. *EBioMed* 2020 Dec;62:103126.

46. Pogossova-Agadjanyan EL, Moseley A, Othus M, et al. AML risk stratification models utilizing ELN-2017 guidelines and additional prognostic factors. A SWOG report. *Biomark Res.* 2020 Aug 12;8:29. doi: 10.1186/s40364-020-00208-1. eCollection 2020.
47. Fleming S, Tsai CH, Döhner H, et al. Use of machine learning in 2074 cases of acute myeloid leukemia for genetic risk profiling [abstract]. *Blood* 2019; 134 (suppl 1): abstract 1392.
48. Wang H, Chu TT, Han SY, et al. FLT3-ITD and CEBPA Mutations Predict Prognosis in Acute Myelogenous Leukemia Irrespective of Hematopoietic . *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2019; 25(5): 941-948.
49. Begna KH, Ali W, Naseema Gangat, et al. Mayo Clinic experience with 1123 adults with acute myeloid leukemia. *Blood Cancer Journal* 2021 Mar 2;11(3):46.
50. Reville PK, Noguera González GM, Ravandi F, et al. Predictors of early mortality, response, and survival in newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) using a contemporary academic cohort [abstract]. *Blood* 2020; 136(suppl 1):pp 44-45.
51. Guo Y, Deng L, Qiao Y, Liu B. Efficacy and safety of adding gemtuzumab ozogamicin to conventional chemotherapy for adult acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Hematology.* 2022 Dec;27(1):53-64.
52. Lambert J, Pautas C, Terré C et al. Gemtuzumab ozogamicin for de novo acute myeloid leukemia: final efficacy and safety updates from the open-label, phase III ALFA-0701 trial. *Haematologica.* 2019 Jan;104(1):113-119.
53. Lewis J, Robinson NJ, Pandya B, et al. Frequency of FLT3-ITD and FLT3-TKD mutations in patients with acute myeloid leukemia: a systematic literature review and meta-analysis [abstract]. *HemaSphere* 2021; 5 (suppl 2): abstract 674.
54. Reville PK, Sasaki K, Kantarjian HM, et al. Improved outcomes among newly diagnosed patients with FMS-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication mutated acute myeloid leukemia treated with contemporary therapy: Revisiting the European LeukemiaNet adverse risk classification. *Am J Hematol.* 2022 Mar 1;97(3):329-337.
55. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374(23):2209–2221.
56. Gale RE, Green C, Allen C, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2008;111(5):2776–2784.
57. Oran B, Cortes J, Beitinjaneh A, et al. Allogeneic Transplantation in First Remission Improves Outcomes Irrespective of FLT3 -ITD Allelic Ratio in FLT3 -ITD–Positive Acute Myelogenous Leukemia. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2016;22(7):1218–1226.
58. Bacher U, Haferlach C, Kern W, Haferlach T, Schnittger S. Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in AML: the combination matters—an analysis of 3082 patients. *Blood.* 2008;111(5):2527–2537.
59. Srinivasan S, Kumar S., Vijayasekharan K, Agrawal AK. Prevalence and Clinical Outcome of FMS-Like Tyrosine Kinase Mutations Among Patients With Core Binding Factor—Acute Myeloid Leukemia: Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2022 Apr;22(4):e221-e232.
60. Rinaldi I, Louisa M, Ichsan Wiguna F, et al. Prognostic significance of Fms-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication mutation in non-transplant adult patients with acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2020 Oct1; 21(10):2827-2836.

61. Liu H, Zhang H, Li M, et al. The incidence and prognostic effect of Gms-like tyrosine kinase 3 gene internal tandem and nucleolar phosphoprotein 1 genes in acute myeloid leukemia. A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Dec 18;99(51):e23707.
62. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454–464.
63. Xu Q, He S, Yu L. Clinical Benefits and Safety of FMS-Like Tyrosine Kinase 3 Inhibitors in Various Treatment Stages of Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Network Meta-Analysis. *Frontiers in Oncology* 2021 Jun 3;11:686013.
64. Strati P, Kantarjian H, Ravandi F, et al. Phase I/II trial of the combination of midostaurin (PKC412) and 5-azacytidine for patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome: Azacitidine and midostaurin for AML/MDS. *Am. J. Hematol*. 2015;90(4):276–281.
65. Konopleva M, Thirman M, Pratz KW, et al. Results of Venetoclax and Azacitidine Combination in Chemotherapy Ineligible Untreated Patients with Acute Myeloid Leukemia with FLT3 Mutations [abstract]. *Blood* 2020; 136 (Supplement 1): pp 8-10.
66. Röllig C, Serve, Noppeney R, et al. Sorafenib or placebo in patients with newly diagnosed acute myeloid leukaemia: long-term follow-up of the randomized controlled SORAML trial. *Leukemia* 2021. 35(9): 2517-2525.
67. Oran B, Cortes J, Beitinjaneh A, et al. Allogeneic transplantation in first remission improves outcomes irrespective of FLT3-ITD allelic ratio in FLT3-ITD-positive acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016; 22(7):1218-1226.
68. Bazarbachi A, Bug G, Baron F, et al. Clinical practice recommendation on hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia patients with FLT3-internal tandem duplication: a position statement from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 2020 Jun;105(6):1507-1516.
69. McClure RF, Ewalt MD, Crow J, et al. Clinical Significance of DNA Variants in Chronic Myeloid Neoplasms: A Report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn*. 2018;20(6): 717–737.
70. Kuo FC, Mar BG, Lindsley RC, Lindeman NI. The relative utilities of genome-wide, gene panel, and individual gene sequencing in clinical practice. *Blood*. 2017;130(4): 433–439.
71. Duncavage EJ, Tandon B. The utility of next-generation sequencing in diagnosis and monitoring of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol*. 2015;37(Suppl 1): 115–121.
72. Au CH, Wa A, Ho DN, Chan TL, Ma ES. Clinical evaluation of panel testing by next-generation sequencing (NGS) for gene mutations in myeloid neoplasms. *Diagn Pathol*. 2016;11: 11.
73. Kluk MJ, Lindsley RC, Aster JC, et al. Validation and Implementation of a Custom Next-Generation Sequencing Clinical Assay for Hematologic Malignancies. *J Mol Diagn*. 2016;18(4):507–15.
74. Yasuda T, Sanada M, Nishijima D, et al. Clinical utility of target capture-based panel sequencing in hematological malignancies: A multicenter feasibility study. *Cancer Sci*. 2020;111(9):3367–3378.
75. Kim B, Lee H, Jang J, et al. Targeted next generation sequencing can serve as an alternative to conventional tests in myeloid neoplasms. *PLoS One*. 2019;14(3):e0212228.
76. Mačk EKM, Marquardt A, Langer D, et al. Comprehensive genetic diagnosis of acute myeloid leukemia by next-generation sequencing. *Haematologica*. 2019;104(2):277–287.

77. Aguilera-Diaz A, Vazquez I, Ariceta B, et al. Assessment of the clinical utility of four NGS panels in myeloid malignancies. Suggestions for NGS panel choice or design. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227986.
78. Izevbaye I, Liang LY, Mather C, El-Hallani S, Maglantay R Jr, Saini L. Clinical Validation of a Myeloid Next-Generation Sequencing Panel for Single-Nucleotide Variants, Insertions/Deletions, and Fusion Genes. *J Mol Diagn*. 2020;22(2):208–219.
79. Barnell EK, Newcomer K, Skidmore Z, et al. Impact of a 40-Gene Targeted Panel Test on Physician Decision Making for Patients With Acute Myeloid Leukemia. *JCO Precision Oncology*. 2021 Jan 14; 5:191–203.
80. Bačher U, Shumilov E, Flačh J, et al. Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use. *Blood Cancer J*. 2018; 8(11): 113.
81. Ng CWS, Kosmo B, Lee PL, et al. CEBPA mutational analysis in acute myeloid leukaemia by a laboratory-developed next-generation sequencing assay. *Journal of Clinical Pathology*. 2018; 71: 522–531.
82. Spencer DH, Abel HJ, Lockwood CM, et al. Detection of FLT3 internal tandem duplication in targeted, short-read-length, next-generation sequencing data. *J Mol Diagn*. 2013;15: 81–93.
83. Delcourt T, Vannešte K, Soumali MR, et al. NGS for (Hemato-) Oncology in Belgium: Evaluation of Laboratory Performance and Feasibility of a National External Quality Assessment Program. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3180.
84. Steudel C, Wermke M, Schaičh M, et al. Comparative analysis of MLL partial tandem duplication and FLT3 internal tandem duplication mutations in 956 adult patients with acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003;37: 237–251.
85. Zwaan CM, Meshinchi S, Radičh JP, et al. FLT3 internal tandem duplication in 234 children with acute myeloid leukemia: prognostic significance and relation to cellular drug resistance. *Blood*. 2003; 102: 2387–2394.
86. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017;19(1): 4–23.
87. Papaemmanuil E, Gerštung M, Bullinger L, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2016;374(23): 2209–2221.
88. Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways. *Journal of Clinical Oncology*. 2017; 35(9): 934–946.
89. The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2013; 368: 2059–2074.
90. Bean LH, Funke B, Carlšton CM, et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report - a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2020 Mar;22(3):453-461.
91. Duncavage EJ, Schroeder MC, O'Laughlin M, et al. Genome Sequencing as an Alternative to Cytogenetic Analysis in Myeloid Cancers. *N Engl J Med* 2021; 384:924-935
92. Duncavage EJ, Uy GL, Petti AA. Mutational landscape and response are conserved in peripheral blood of AML and MDS patients during decitabine therapy. *Blood*. 2017 Mar 9;129(10):1397-1401.

93. Martin R, Acha P, Ganster C, et al. Targeted deep sequencing of CD34+ cells from peripheral blood can reproduce bone marrow molecular profile in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol.* 2018 Jun;93(6):E152-E154.
94. Kabari R, Qin D, Hussaini M. Technological Advances: CEBPA FLT3 Internal Tandem Duplication Mutations Can be Reliably Detected by Next Generation Sequencing. *Genes (Basel).* 2022 Apr 1;13(4):630.
95. Kim JJ, Lee KS, Lee TG, Lee S, Shin S, Lee ST. A comparative study of next-generation sequencing and fragment analysis for the detection and allelic ratio determination of FLT3 internal tandem duplication. *Diagn Pathol.* 2022; 26;17(1):14.
96. Tung JK, Suarez CJ, Chiang T, Zehnder JL, Stehr H. Accurate Detection and Quantification of FLT3 Internal Tandem Duplications in Clinical Hybrid Capture Next-Generation Sequencing Data. *J Mol Diagn.* 2021 Oct;23(10):1404-1413.
97. Tsai HK, Brackett DG, Szeto D, et al. Targeted Informatics for Optimal Detection, Characterization, and Quantification of FLT3 Internal Tandem Duplications Across Multiple Next-Generation Sequencing Platforms. *J Mol Diagn.* 2020 Sep;22(9):1162-1178.
98. Spencer DH, Abel HJ, Lockwood CM, et al. Detection of FLT3 internal tandem duplication in targeted, short-read-length, next-generation sequencing data. *J Mol Diagn.* 2013 Jan;15(1):81-93.
99. Rosenthal SH, Gerasimova A, Ma C, et al. Analytical validation and performance characteristics of a 48-gene next-generation sequencing panel for detecting potentially actionable genomic alterations in myeloid neoplasms. *PLoS One.* 2021 Apr 28;16(4):e0243683.
100. He R, Devine DJ, Tu ZJ, et al. Correction to: Hybridization capture-based next-generation sequencing reliably detects FLT3 mutations and classifies FLT3-internal tandem duplication allelic ratio in acute myeloid leukemia: a comparative study to standard fragment analysis. *Mod Pathol.* 2020 Mar;33(3):514. doi: 10.1038/s41379-019-0378-6. Erratum for: *Mod Pathol.* 2020 Mar;33(3):334-343.
101. Schumacher JA, Holgard VD, Sial F, Pearson LN, Patel JL, Karner KH. Detection and Quantification of FLT3 Internal Tandem Duplication Mutations Do Not Vary Significantly Between Whole Blood and Blast-Enriched Samples. *Am J Clin Pathol.* 2020 Jan 2;153(2):251-257.
102. Schranz K, Hubmann M, Harin E, et al. Clonal heterogeneity of FLT3-ITD detected by high-throughput amplicon sequencing correlates with adverse prognosis in acute myeloid leukemia. *Oncotarget.* 2018 Jul 10;9(53):30128-30145.
103. Röllig C, Kramer M, Schliemann C, et al. Does time from diagnosis to treatment affect the prognosis of patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia? *Blood.* 2020 Aug 13;136(7):823-830.
104. Burd A, Levine RL, Ruppert AS, et al. Precision medicine treatment in acute myeloid leukemia using prospective genomic profiling: feasibility and preliminary efficacy of the Beat AML Master Trial. *Nat Med.* 2020 Dec;26(12):1852-1858.
105. Bernard E, Nannya Y, Hasserjian RP, et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes. *Nat Med.* 2020 Oct;26(10):1549-1556.
106. Jädersten M, Saft L, Smith A, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol.* 2011 May 20;29(15):1971-9.
107. Prochazka KT, Pregartner G, Rucker FG, et al. Clinical implications of subclonal TP53 mutations in acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2019 Mar;104(3):516-523

- 108.Sanz MA, Montesinos P, Rayón C, et al. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia based on all-trans retinoic acid and anthracycline with addition of cytarabine in consolidation therapy for high-risk patients: further improvements in treatment outcome. *Blood* 2010; 115: 5137–5146.
- 109.Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, et al. Front-line treatment of acute promyelocytic leukemia with AIDA induction followed by risk-adapted consolidation for adults younger than 61 years: results of the AIDA-2000 trial of the GIMEMA Group. *Blood* 2010; 116:3171–3179.
- 110.Mandelli F, Diverio D, Avvisati G, et al. Molecular remission in PML/RAR alpha-positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. Gruppo Italiano-Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto and Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica Cooperative Groups. *Blood* 1997; 90: 1014–1021.
- 111.Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *New Engl J Med* 2013; 369: 111–121.
- 112.Burnett AK, Russell NH, Hills RK, et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups (AML17): results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16: 1295–1305.
- 113.Sanz MA, Fenaux P, Tallman MS, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet. *Blood* 2019; 133: 1630–1643.
- 114.Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003; 17: 2318–2357.
- 115.Lo-Coco F, Diverio D, Avvisati G, et al. Therapy of molecular relapse in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 2225–2229.
- 116.Lo-Coco F, Ammatuna E. Front line clinical trials and minimal residual disease monitoring in acute promyelocytic leukemia. *Current topics in microbiology and immunology* 2007; 313: 145–156.
- 117.Sanz MA, Lo-Coco F. Modern approaches to treating acute promyelocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29: 495–503.
- 118.Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3650–3658.
- 119.Lou Y, Suo S, Tong Y, et al. Outcomes and prognostic factors of first relapsed acute promyelocytic leukemia patients undergoing salvage therapy with intravenous arsenic trioxide and chemotherapy. *Ann Hematol* 2014; 93: 941–948.
- 120.Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003; 17: 2318–2357.
- 121.Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRM Working Party. *Blood* 2018; 131: 1275–1291.

- 122.Grimwade D, Lo Coco F. Acute promyelocytic leukemia: a model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 1959–1973.
- 123.Santamaría C, Chillón MC, Fernández C, et al. Using quantification of the PML-RAR alpha transcript to stratify the risk of relapse in patients with acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2007; 92: 315–322.
- 124.Platzbecker U, Avvisati G, Cicconi L, et al. Improved Outcomes With Retinoic Acid and Arsenic Trioxide Compared With Retinoic Acid and Chemotherapy in Non-High-Risk Acute Promyelocytic Leukemia: Final Results of the Randomized Italian-German APL0406 Trial. *J Clin Oncol* 2017; 35: 605–612.
- 125.Lou Y, Suo S, Tong Y, et al. Outcomes and prognostic factors of first relapsed acute promyelocytic leukemia patients undergoing salvage therapy with intravenous arsenic trioxide and chemotherapy. *Ann Hematol* 2014; 93: 941–948.
- 126.Henzan H, Takase K, Kamimura T, et al. Measurable residual disease after the first consolidation predicts the outcomes of patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and chemotherapy. *Int J Hematol.* 2020 Sep;112(3):349-360.
- 127.Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3650–3658.
- 128.Diverio D, Rossi V, Avvisati G, et al. Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicentre “AIDA” trial. *Blood* 1998;92:784-9.
- 129.Chendamarai E, Balasubramanian P, George B, et al. Role of minimal residual disease monitoring in acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide in frontline therapy. *Blood* 2012;119:3413-9.
- 130.Jiang XW, Chen SZ, Zhu XY, Xu XX, Liu Y. Development and validation of a droplet digital PCR assay for the evaluation of PML-RARAlpha fusion transcripts in acute promyelocytic leukemia. *Mol Cell Probes* 2020;53:101617.
- 131.Cortes J, Kantarjian HM, Kadia TM, et al. value of minimal residual disease (MRM) monitoring using real-time quantitative PCR in patients with acute promyelocytic leukemia (APL) treated with ATRA, ATO, +/- GO [abstract]. *Blood* 2019; 134 (suppl 1): abstract 3851.
- 132.Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3650–3658.
- 133.Diverio D, Rossi V, Avvisati G, et al. Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicentre “AIDA” trial. *Blood* 1998;92:784-9.
- 134.Chendamarai E, Balasubramanian P, George B, et al. Role of minimal residual disease monitoring in acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide in frontline therapy. *Blood* 2012;119:3413-9.

135. Lange EP, Lima AS, Lucena-Araujo AR, et al. The experience of the International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia in monitoring minimal residual disease in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2016; 180:915-918.
136. Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3650–3658.
137. Cortes J, Kantarjian HM, Kadia TM, et al. value of minimal residual disease (MRM) monitoring using real-time quantitative PCR in patients with acute promyelocytic leukemia (APL) treated with ATRA, ATO, +/- GO [abstract]. *Blood* 2019; 134 (suppl 1): abstract 3851.
138. Kövy P, Órfi Z, Bors A, et al. Nucleophosmin1 and isocitrate dehydrogenase 1 and 2 as measurable residual disease markers in acute myeloid leukemia. *PLoS ONE* 2021. 16(6): e0253386.
139. Shayegi N, Kramer M, Bornhäuser M, et al. The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood*. 2013;122(1):83–92.
140. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Eng. J Med*. 2016;374(5):422–433.
141. Tiong IS, Dillon R, Ivey A, et al. Clinical impact of NPM1-mutant molecular persistence after chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2021 Dec 14;5(23):5107-5111.
142. Kapp-Schworer S, Weber D, Corbacioglu A, et al. Impact of gemtuzumab ozogamicin on MMR and relapse risk in patients with NPM1-mutated AML: Results from the AMLSG 09-09 trial. *Blood*. 2020;136(26):3041–3050.
143. Balsat M, Renneville A, Thomas X, et al. Outcome and Benefit From Allogeneic Stem Cell Transplantation in Acute Myeloid Leukemia With NPM1 Mutation: A Study by the Acute Leukemia French Association Group. *J Clin Oncol*. 2017; 35:185-193.
144. Versluis J, Kalin B, Zeijlemaker W, et al. Graft-Versus-Leukemia Effect of Allogeneic Stem-Cell Transplantation and Minimal Residual Disease in Patients With Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission. *JCO Precis Oncol*. 2017; 1(1):1-13.
145. Al Hamed R, Labopin M, Daguindau E, et al. Measurable residual disease, FLT3-ITD mutation, and disease status have independent prognostic influence on outcome of allogeneic stem cell transplantation in NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Cancer Med*. 2022; 11:1068-80.
146. Balsat M, Renneville A, Thomas X, et al. Post induction minimal residual disease predicts outcome and benefit from allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia with NPM1 mutation: A study by the Acute Leukemia French Association Group. *J Clin Oncol*. 2017; 35: 185–193.
147. Bataller A, Onate G, Diaz-Beya M, et al. Acute myeloid leukemia with NPM1 mutation and favorable European LeukemiaNet category: outcome after preemptive intervention based on measurable residual disease. *Br J Haematol*. 2020;191:52–61.
148. Bill M, Grimm J, Jentzsch M et al. Digital droplet PCR-based absolute quantification of pre-transplant NPM1 mutation burden predicts relapse in acute myeloid leukemia patients. *Ann Hematol*. 2018 Oct;97(10):1757-1765.
149. Gao MG, Ruan GR, Chang YJ, et al. The predictive value of minimal residual disease when facing the inconsistent results detected by real-time quantitative PCR and flow cytometry in NPM1-mutated acute myeloid leukemia *Ann Hematol*. 2020 Jan;99(1):73-82.

150. Heiblig M, Duployez N, Marceau A, et al. The Impact of DNMT3A Status on NPM1 MRM Predictive Value and Survival in Elderly AML Patients Treated Intensively. *Cancers (Basel)*. 2021 Apr 29;13(9):2156.
151. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 2016;374(5):422–433.
152. Kapp-Schworer S, Weber D, Corbacioglu A, et al. Impact of gemtuzumab ozogamicin on MRM and relapse risk in patients with NPM1-mutated AML: results from the AMLSG 09–09 trial. *Blood*. 2020;136:3041–50.
153. Karas M, Steinerova K, Lysak D, et al. Pre-transplant Quantitative Determination of NPM1 Mutation Significantly Predicts Outcome of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Normal Karyotype AML in Complete Remission. *Anticancer Res*. 2016 Oct;36(10):5487-5498.
154. Kayser S, Benner A, Thiede C, et al. Pretransplant NPM1 MRM levels predict outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2016 Jul; 6(7): e449.
155. Kovy P, Orfi Z, Bors A, et al. Nucleophosmin1 and isocitrate dehydrogenase 1 and 2 as measurable residual disease markers in acute myeloid leukemia. *PLoS One*. 2021;16:e0253389.
156. Lambert J, Lambert J, Nibourel O, et al. MRM assessed by WT1 and NPM1 transcript levels identifies distinct outcomes in AML patients and is influenced by gemtuzumab ozogamicin. *Oncotarget*. 2014 Aug 15;5(15):6280-8.
157. Lussana F, Caprioli C, Stefanoni P, et al. Molecular Detection of Minimal Residual Disease before Allogeneic Stem Cell Transplantation Predicts a High Incidence of Early Relapse in Adult Patients with NPM1 Positive Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)* 2019 Sep 28;11(10):1455.
158. Marumo A, Wakita S, Morita K, et al. NPM1-mutation-based measurable residual disease assessment after completion of two courses of post-remission therapy is a valuable clinical predictor of the prognosis of acute myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2022 Aug;116(2):199-214.
159. Patel S, Pinkus GS, Ritterhouse LL, et al. High NPM1 mutant allele burden at diagnosis correlates with minimal residual disease at first remission in de novo acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2019 Aug;94(8):921-928.
160. Patkar N, Kodgule R, Kakirde C, et al. Clinical impact of measurable residual disease monitoring by ultradeep next generation sequencing in NPM1 mutated acute myeloid leukemia. *Oncotarget* 2018 Nov 27;9(93):36613-36624.
161. Salehzadeh S, Guerrini F, Pizzano U, et al. The assessment of minimal residual disease versus that of somatic mutations for predicting the outcome of acute myeloid leukemia patients. *Cancer Cell Int*. 2019 Apr 4;19:83.
162. Short NJ, Fu C, Berry DA, Walter RB, et al. Association of hematologic response and assay sensitivity on the prognostic impact of measurable residual disease in acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Leukemia*. 2022 Dec;36(12):2817-2826.
163. Short NJ, Zhou S, Fu C, et al. Association of Measurable Residual Disease With Survival Outcomes in Patients With Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2020 Dec 1;6(12):1890-1899.
164. Tiong IS, Dillon R, Ivey A, et al. Clinical impact of NPM1-mutant molecular persistence after chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Blood Adv* 2021 Dec 14;5(23):5107-5111.

- 165.Zappasodi P, Marbello L, Borlenghi E et al. Molecular remission at the end of treatment is a necessary goal for a good outcome in ELN favorable-risk acute myeloid leukemia: A real-life analysis on 201 patients by the Rete Ematologica Lombarda network. *Ann. Hematol.* 2018 Nov;97(11):2107-2115.
- 166.Zhou Y, Othus M, Walter RB, et al. Deep NPM1 Sequencing Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation Improves Risk Assessment in Adults with NPM1-Mutated AML. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018 Aug;24(8):1615-1620.
- 167.Kapp-Schwoerer S, Weber D, Corbacioglu A, et al. Impact of gemtuzumab ozogamicin on MRD and relapse risk in patients with NPM1-mutated AML: results from the AMLSG 09-09 trial. *Blood.* 2020 Dec 24;136(26):3041-3050.
- 168.Krönke J, Schlenk RF, Jensen KO, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol.* 2011 Jul 1;29(19):2709-16.
- 169.Ommen HB, Schnittger S, Jovanovic JV, et al. Strikingly different molecular relapse kinetics in NPM1c, PML-RARA, RUNX1-RUNX1T1, and CBFβ-MYH11 acute myeloid leukemias. *Blood.* 2010 Jan 14;115(2):198-205.
- 170.Forghieri F, Comoli P, Marasca R, Potenza L, Luppi M. Minimal/Measurable Residual Disease Monitoring in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: A Clinical Viewpoint and Perspectives *Int J Mol Sci* 2018;19:3492.
- 171.Platzbecker U, Middeke JM, Sockel K, et al. Measurable residual disease-guided treatment with azacitidine to prevent haematological relapse in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia (RELAZA2): an open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2018 Dec;19(12):1668-1679.
- 172.Dillon R, Hills R, Freeman S, et al. Molecular MRM status and outcome after transplantation in NPM1-mutated AML. *Blood.* 2020;135:680–8.
- 173.Fenwarth L, Thomas X, de Botton S, et al. A personalized approach to guide allogeneic stem cell transplantation in younger adults with acute myeloid leukemia. *Blood* 2021 Jan 28;137(4):524-532.
- 174.Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute meloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood.* 2000;96:4075-4083.
- 175.Suciu S, Mandelli F, de Witte T, et al. Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention -to-treat analysis of the EORTC / GIMEMA AML-10 trial. *Blood.* 2003;102:1232-1240.
- 176.Jourdan E, Boissel N, Chevret S, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;121:2213-2223.
- 177.Buckley SA, Wood BL, Othus M, et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Haematologica.* 2017 May;102(5):865-873.
- 178.Paras G, Morsink LM, Othus M, et al. Conditioning intensity and peritransplant flow cytometric MRM dynamics in adult AML. *Blood.* 2022 Mar 17;139(11):1694-1706.

179. Klyuchnikov E, Christopeit M, Badbaran A, et al. Role of pre-transplant MRM level detected by flow cytometry in recipients of allogeneic stem cell transplantation with AML. *Eur J Haematol.* 2021 May;106(5):606-615.
180. Terwijn M, van Putten WLJ, Kelder A, et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study. *J Clin Oncol.* 2013 Nov 1;31(31):3889-97.
181. Buccisano F, Maurillo L, Spagnoli A, et al. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to post-consolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia. *Blood.* 2010 Sep 30;116(13):2295-303.
182. Freeman SD, Hills RK, Virgo P, et al. Measurable Residual Disease at Induction Redefines Partial Response in Acute Myeloid Leukemia and Stratifies Outcomes in Patients at Standard Risk Without NPM1 Mutations. *J Clin Oncol.* 2018 May 20;36(15):1486-1497.
183. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood.* 2002;100:4325-4336.
184. Grimwade D, Walker H, Oliver F et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1612 patients entered into the MRC AML10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukemia Working Parties. *Blood.* 1998;92:2322-2333
185. Buccisano F., Maurillo L., Del Principe M.I., et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;119(2):332-341.
186. Maurillo L., Buccisano F., Del Principe M.I., et al. Toward optimization of postremission therapy for residual disease-positive patients with acute myeloid leukemia. *JCO* 2008;26:4944-4951.
187. Venditti A., Buccisano F., Del Poeta G., et al. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia. *Blood* 2000;96:3948-3952.
188. Mandelli F, Vignetti M, Suci S, et al. Daunorubicin Versus Mitoxantrone Versus Idarubicin As Induction and Consolidation Chemotherapy for Adults With Acute Myeloid Leukemia: The EORTC and GIMEMA Groups Study AML-10. *J Clin Oncol.* 2009, 27:5397-5403.
189. Burnett AK, Hills RK, Milligan DW, et al. Attempt to optimize induction and consolidation treatment in acute myeloid leukemia: results of the MRC AML12 trial. *J Clin Oncol.* 2010, 28:586-95.
190. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute meloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood.* 2000;96:4075-4083.
191. Burnett AK, Hills RK, Milligan DW, et al. Attempt to optimize induction and consolidation treatment in acute myeloid leukemia: results of the MRC AML12 trial. *J Clin Oncol.* 2010, 28:586-95.
192. Rollig C, Bornhauser M, Thiede C, et al. Long-term prognosis of acute myeloid leukemia according to a new genetic risk classification of the European LeukemiaNet recommendations: evaluation of the proposed reporting system. *J Clin Oncol.* 2011; 29:2758-2765.
193. Buccisano F., Maurillo L., Del Principe M.I., et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood.* 2012;119(2):332-341.
194. Venditti A, Piciocchi A, Candoni A, et al. GIMEMA AML1310 trial of risk-adapted, MMR-directed therapy for young adults with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Blood.* 2019;134:935-945.

195. Venditti A, Piciocchi A, Palmieri R, et al. results of the 6-year follow-up of the GIMEMA AML1310 trial: a risk-adapted, MMR-directed therapy for young adults with newly diagnosed acute myeloid leukemia [abstract]. *Blood*. 2021; 138 (Supplement 1): 2359.
196. Zhou Y, Othus M, Araki D, et al. Pre- and post- transplant quantification of measurable ('minimal') residual disease via multiparameter flow cytometry in adult acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30(7):1456-1464
197. Löwenberg B, Pabst T, Maertens J, et al. Addition of lenalidomide to intensive treatment in younger and middle-aged adults with newly diagnosed AML: the HOVON-SAKK-132 trial. *Blood Adv*. 2021 Feb 23;5(4):1110-1121.
198. Buccisano F, Palmieri R, Piciocchi A, et al. ELN2017 risk stratification improves outcome prediction when applied to the prospective GIMEMA AML1310 protocol. *Blood Adv*. 2022 Apr 26;6(8):2510-2516.
199. Buccisano F, Palmieri R, Piciocchi A, et al. Use of Measurable Residual Disease to Evolve Transplant Policy in Acute Myeloid Leukemia: A 20-Year Monocentric Observation. *Cancers (Basel)*. 2021 Mar 3;13(5):1083.
200. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood*. 2000;96:4075-4083.
201. Burnett AK, Wheatley K, Goldstone AH, et al. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *Br J Haematol*. 2002 Aug;118(2):385-400.
202. Daver N, Schlenk RF, Russell NH, et al. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia*. 2019;33(2):299–312.
203. Frohling S, Schlenk RF, Breitruck J, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML study group ulm. *Blood*. 2002; 100(13):4372–4380.
204. Silva LT, Campos CC, Salvino MA, et al. Difference in FLT3 Mutational Status between Diagnosis and Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia: A Meta-Analysis [abstract]. *Blood*. 2020; 136 (Supplement 1):28-29.
205. Kottaridis PD, Gale RE, Langabeer SE, et al. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. *Blood*. 2002;100:2393–8.
206. Shih LY, Huang CF, Wu JH, Lin TL, Dunn P, Wang PN, et al. Internal tandem duplication of FLT3 in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse. *Blood*. 2002;100:2387–92.
207. Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, van Oostveen JW, Waisfisz Q, Corthals S, et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia*. 2006;20:1217–20.
208. Nazha A, Cortes J, Faderl S, Pierce S, Daver N, Kadia T, et al. Activating internal tandem duplication mutations of the fms-like tyrosine kinase-3 (FLT3-ITD) at complete response and relapse in patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2012;97:1242–5.

209. Warren M, Luthra R, Yin CC, Ravandi F, Cortes JE, Kantarjian HM, et al. Clinical impact of change of FLT3 mutation status in acute myeloid leukemia patients. *Mod Pathol*. 2012;25:1405–12.
210. Schmalbrock LK, Dolnik A, Cocciardi S, et al. Clonal evolution of acute myeloid leukemia with FLT3-ITD mutation under treatment with midostaurin. *Blood*. 2021 Jun 3;137(22):3093–3104.
211. McCormick SR, McCormick MJ, Grutkoski PS, et al. FLT3 mutations at diagnosis and relapse in acute myeloid leukemia: cytogenetic and pathologic correlations, including cuplike blast morphology. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:1143–51.
212. Breems DA, Van Putten WL, Huijgens PC, et al. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol* 2005;23:1969–78.
213. Ganzel C, Sun Z, Cripe LD, et al. Very poor long-term survival in past and more recent studies for relapsed AML patients: The ECOG-ACRIN experience. *Am J Hematol*. 2018, 93, 1074–1081.
214. Chevallier P, Labopin M, Turlure P, et al. A new leukemia prognostic scoring system for refractory/relapsed adult acute myelogenous leukaemia patients: a GOELAMS study. *Leukemia*. 2011;25:939–44.
215. Cortes JE, Khaled S, Martinelli G, et al. Quizartinib versus salvage chemotherapy in relapsed or refractory FLT3-ITD acute myeloid leukaemia (QuANTUM-R): A multicentre, randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019, 20, 984–997.
216. Kennedy VE, Smith CC. FLT3 Mutations in Acute Myeloid Leukemia: Key Concepts and Emerging Controversies. *Front Oncol*. 2020 Dec 23;10:612880.
217. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or chemotherapy for relapsed or refractory FLT3-mutated AML. *N Engl J Med*. 2019;381(18):1728–1740
218. Ramos NR, Mo CC, Karp JE, et al. Current approaches in the treatment of relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *J Clin Med*. 2015;4(4):665–695.
219. Daver N, Schlenk RF, Russell NH, et al. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. *Leukemia*. 2019;33(2):299–312.
220. Mangan JK, Luger SM. Salvage therapy for relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Ther Adv Hematol*. 2011;2(2):73–82.
221. Xu J, Lv TT, Zhou XF, et al. Efficacy of common salvage chemotherapy regimens in patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study. *Medicine*. 2018;97(39):e12102.
222. Armistead PM, de Lima M, Pierce S, et al. Quantifying the survival benefit for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in relapsed acute myelogenous leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15(11):1431–1438.
223. Hosono N, Yokoyama H, Aotsuka N, et al. Gilteritinib versus chemotherapy in Japanese patients with FLT3-mutated relapsed/refractory acute myeloid leukemia. *Int J Clin Oncol*. 2021 Nov;26(11):2131–2141.
224. Xu Q, He S, Yu L. Clinical Benefits and Safety of FMS-Like Tyrosine Kinase 3 Inhibitors in Various Treatment Stages of Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review, Meta-Analysis, and Network Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021 Jun 3;11:686013.
225. Altman JK, Perl AE, Hill JE, Rosales M, Bahceci E, Levis MJ. The impact of FLT3 mutation clearance and treatment response after gilteritinib therapy on overall survival in patients with FLT3 mutation-positive relapsed/refractory acute myeloid leukemia. *Cancer Med*. 2021 Feb;10(3):797–805.

- 226.Yilmaz M, Alfayez M, DiNardo CD, et al. Outcomes with sequential FLT3-inhibitor-based therapies in patients with AML. *J Hematol Oncol.* 2020 Oct 8;13(1):132. Erratum in: *J Hematol Oncol.* 2021 Feb 23;14(1):34.
- 227.Usuki K, Sakura T, Kobayashi Y, et al. Clinical profile of gilteritinib in Japanese patients with relapsed/refractory acute myeloid leukemia: An open-label phase 1 study. *Cancer Sci.* 2018 Oct;109(10):3235-3244.
- 228.Numan Y, Abdel Rahman Z, Grenet J, et al. Gilteritinib clinical activity in relapsed/refractory FLT3 mutated acute myeloid leukemia previously treated with FLT3 inhibitors. *Am J Hematol.* 2022 Mar 1;97(3):322-328.
- 229.Perl AE, Altman JK, Cortes J, et al. Selective inhibition of FLT3 by gilteritinib in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a multicentre, first-in- human, open label, phase 1-2 study. *Lancet Oncol.* 2017 Aug;18(8):1061-1075. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2017 Dec;18(12):e711. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2018 Jul;19(7):e335. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2019 Jun;20(6):e293.
- 230.Aly MMM, Swaminathan M, Akers KG, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis Comparing Type I and II FLT3 Inhibitors in Relapsed/ Refractory Acute Myeloid Leukemia and High-Risk Myelodysplastic Syndrome[abstract]. *Blood.* 2021; 138 (Supplement 1): 1249.
- 231.Majothi S, Adams D, Loke J, et al. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukaemia: assessment of clinical effectiveness, adverse events and future research—a systematic review and meta-analysis. *Systemat Rev.* 2020; 9 (1): 285.
- 232.Bewersdorf JP, Allen C, Mirza AS, et al. Hypomethylating Agents and FLT3 Inhibitors As Maintenance Treatment for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Transplant Cell Ther.* 2021; 27:12 (997.e1-997.e11)
- 233.Gagelmann N, Wolschke C, Klyuchnikov E, et al..TKI Maintenance After Stem-Cell Transplantation for FLT3-ITD Positive Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol.* 2021 Mar 12;12:630429
- 234.Blaichly JS, Walter RB, Hourigan CS. The present and future of measurable residual disease testing in acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2022;107(12):2810–2822.

APPENDICE

Ricerca Bibliografica – Backbone EMBASE

- 1) “Acute Myeloid Leukemia” and “Karyotype”; publication date 2011-2022; article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English
- 2) “Acute Myeloid Leukemia” and “Cytogenetics”; publication date 2011-2022; article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English
- 3) “Acute Myeloid Leukemia” and “Genetic abnormalities”; publication date 2011-2022; article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English

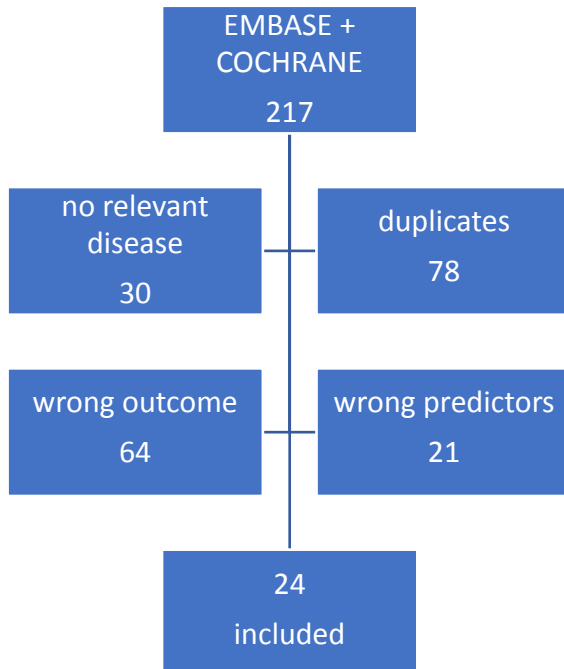
Esclusi:

- 1) case report
- 2) language: not available in English
- 3) papers including other diseases (e.g.: MDS, MPN)
- 4) papers with only molecular data available (and not cytogenetics)
- 5) pediatric subjects (age less than 18 years).
- 6) cell lines

Record risultanti: 186

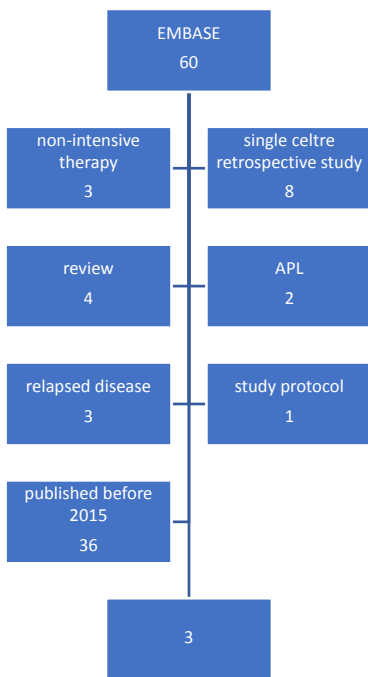
Ricerca Bibliografica – PICO 1

Query EMBASE n. 1: 'ELN' AND 'validation' #217 records



Query Cochrane n. 1: 'ELN' AND 'validation' # 30 trials : 23 included in EMBASE, 5 reported by PubMed (inappropriate), 3 reported by ICTRP (inappropriate)

Query EMBASE n. 2: 'Gemtuzumab ozogamicin' and 'meta-analysis':pt



Query Cochrane n. 2: 'Gemtuzumab ozogamicin'

#216 records, no meta-analysis retrieved

Ricerca Bibliografica – PICO 2

EMBASE QUERY: 'fms like tyrosine kinase 1'/exp OR 'fms like tyrosine kinase 1' OR flt3
AND hr
AND (survival OR os OR pfs)
AND ('article'/it OR 'article in press'/it)
AND (2015:py OR 2016:py OR 2017:py OR 2018:py OR 2019:py OR 2020:py OR 2021:py OR
2022:py)
article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English

Record risultanti dalla query: 150

Criteri di selezione:

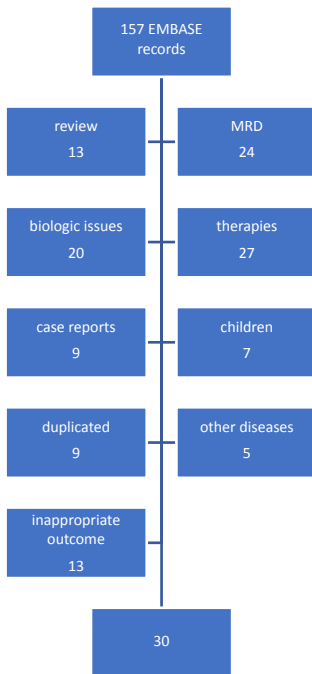
- Numerosità (>100 pazienti o meta-analisi)
- Pazienti adulti
- Non-LAP
- Pazienti newly diagnosed
- Outcome = sopravvivenza

Studi selezionati = 8 meta-analisi e 19 papers

Query COCHRANE: 'FLT3' #692 records (483 included in EMBASE), #105 records da ICTRP or CTgov non appropriati

Ricerca Bibliografica – PICO 3A

EMBASE query: 'high throughput sequencing'/exp AND 'acute myeloid leukemia'/exp AND 'flt 3 ligand'/exp



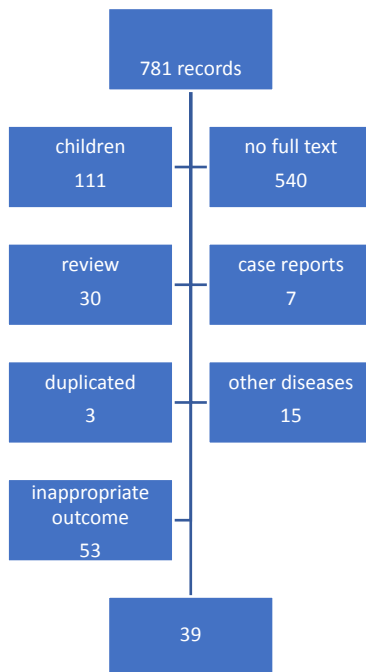
COCHRANE LIBRARY: 'Next generation sequencing' AND 'acute myeloid leukemia'

Risultato = 79 trials

Nessun record aggiunto

Ricerca Bibliografica – PICO 3B

EMBASE query: 'high throughput sequencing'/exp AND 'acute myeloid leukemia'/exp AND 'tp53



COCHRANE LIBRARY: 'Next generation sequencing' AND 'acute myeloid leukemia'

Risultato = 79 trials

Nessun record aggiunto

Ricerca Bibliografica – PICO 4

EMBASE QUERY: “Acute Promyelocytic Leukemia” and “PML/RAR*”; publication date 2011-2022; article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English

Esclusi:

- 1) case report
- 2) lingua non inglese
- 3) inclusione di altre patologie
- 4) analisi dei soli esiti molecolari
- 5) soggetti di età pediatrica
- 6) studi in vitro

Record risultanti dalla query: 62

COCHRANE LIBRARY: ‘PML-RARA’ anno 2011-2022

Risultato = 49 trial clinici e 0 revisioni Cochrane

Record selezionati: 4 (già inclusi nella lista EMBASE)

Referenze aggiunte:

- 1) Grimwade D, Lo Coco F. Acute promyelocytic leukemia: a model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 1959–1973.
- 2) Santamaría C, Chillón MC, Fernández C, Martín-Jiménez P, Balanzategui A, García Sanz R et al. Using quantification of the PML-RARalpha transcript to stratify the risk of relapse in patients with acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2007; 92: 315–322.
- 3) Grimwade D, Diverio D, Harrison G, Wheatley K, Rodgers J L, Coco F, Goldstone AH, Solomon E BA. Detection of minimal residual disease (MRM) in APL by ‘real-time’ RT-PCR: Analysis of cases entered into the UK MRC ATRA trial. *Blood* 1999; 94.
- 4) Grimwade D, Jovanovic J V., Hills RK, Nugent EA, Patel Y, Flora R et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27: 3650–3658.
- 5) Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Breccia M, Gallo E, Rambaldi A et al. Front-line treatment of acute promyelocytic leukemia with AIDA induction followed by risk-adapted consolidation for adults younger than 61 years: results of the AIDA-2000 trial of the GIMEMA Group. *Blood* 2010; 116: 3171–3179.
- 6) Mandelli F, Diverio D, Avvisati G, Luciano A, Barbui T, Bernasconi C et al. Molecular remission in PML/RAR alpha-positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. Gruppo Italiano-Malattie Ematologiche Maligne dell’Adulto and Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica Cooperative Groups. *Blood* 1997; 90: 1014–1021.
- 7) Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *The New England journal of medicine* 2013; 369: 111–121.
- 8) Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Bowen D, Kell J, Knapper S et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups (AML17): results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 2015; 16: 1295–1305.
- 9) Lou Y, Suo S, Tong Y, Tong H, Qian W, Meng H et al. Outcomes and prognostic factors of first relapsed acute promyelocytic leukemia patients undergoing salvage therapy with intravenous arsenic trioxide and chemotherapy. *Annals of hematology* 2014; 93: 941–948.
- 10) Platzbecker U, Avvisati G, Cicconi L, Thiede C, Paoloni F, Vignetti M et al. Improved Outcomes With Retinoic Acid and Arsenic Trioxide Compared With Retinoic Acid and Chemotherapy in Non-High-Risk Acute Promyelocytic Leukemia: Final Results of the Randomized Italian-German APL0406 Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2017; 35: 605–612.
- 11) *Leukemia*. 2020 Mar;34(3):914-918. doi: 10.1038/s41375-019-0589-3. Long-term results of all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in non-high-risk acute promyelocytic leukemia: update of the APL0406 Italian-German randomized trial
- 12) *Front Oncol*. 2020 Nov 11;10:594129. doi: 10.3389/fonc.2020.594129. eCollection 2020. UK Experience of an Alternative ATO Dosing Regimen in APL

Ricerca Bibliografica – PICO 5

EMBASE QUERY: nucleophosmin or NPM1

AND hr

AND (survival OR os OR pfs)

AND ('article'/it OR 'article in press'/it)

AND (2015:py OR 2016:py OR 2017:py OR 2018:py OR 2019:py OR 2020:py OR 2021:py OR 2022:py)

= #123 records

article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English

Selezionati: 27

COCHRANE Query: nucleophosmin or NPM1

#278 records (209 from EMBASE)

Nessun record rilevante aggiunto

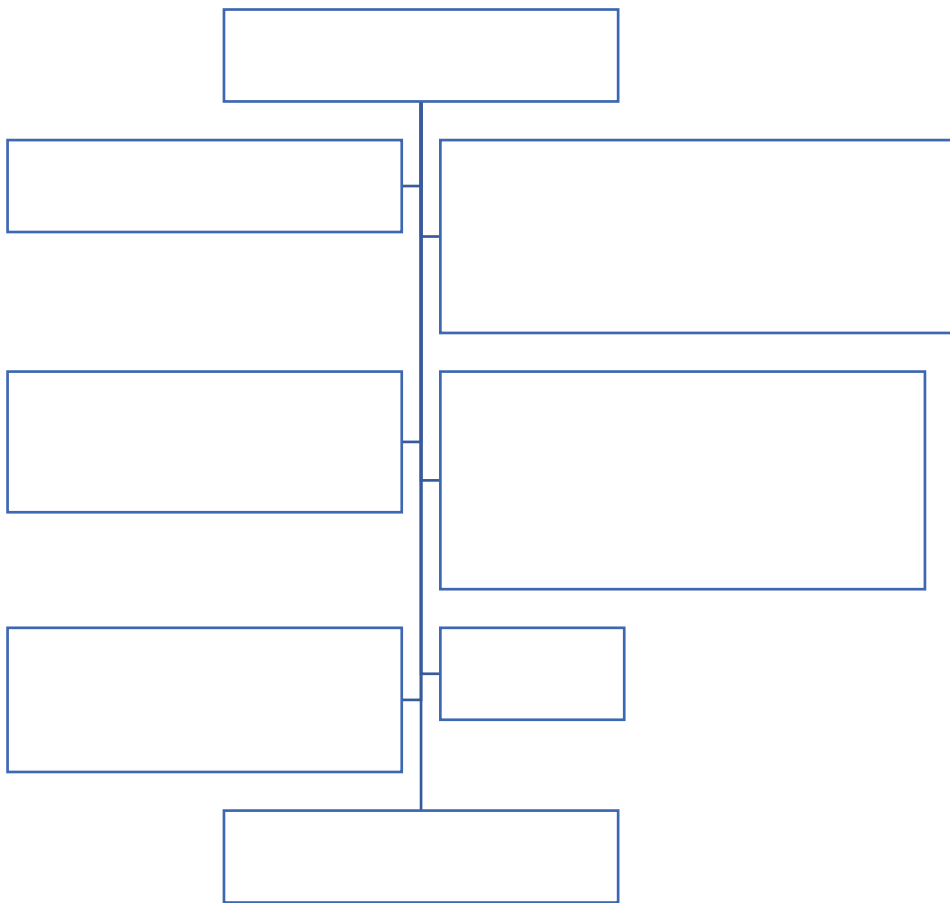
Ricerca bibliografica PICO 6

EMBASE Query: ('minimal residual disease' OR MRD) AND 'flow cytometry' AND 'acute myeloid leukemia'

Anni di pubblicazione: 2011-2022

Publication type: Article OR review

= 452 records



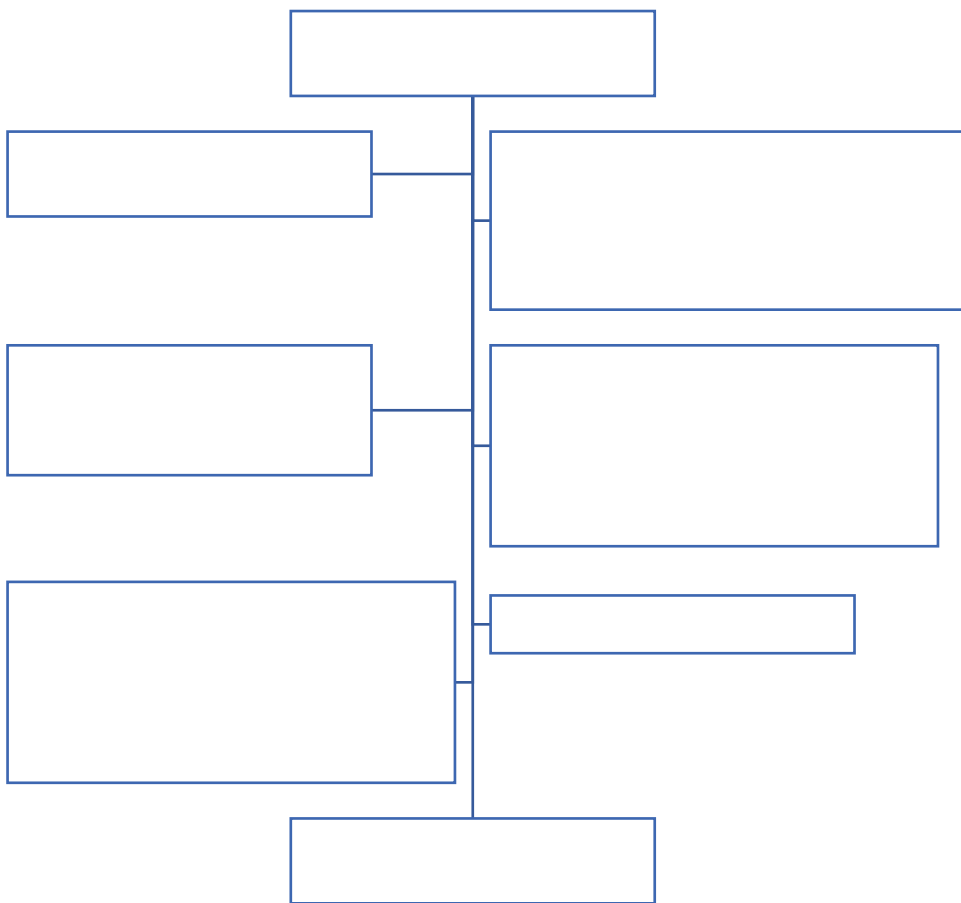
Query COCHRANE: 'acute myeloid leukemia' AND cytometry AND (MRD OR minimal residual disease)

112 records (76 covered by EMBASE), 18 from PubMed not relevant

Nessun record rilevante aggiunto alla ricerca EMBASE

Ricerca Bibliografica – PICO 7

EMBASE QUERY: 'fms like tyrosine kinase 1'/exp OR 'fms like tyrosine kinase 1' OR flt3
AND hr
AND (survival OR os OR pfs)
AND ('article'/it OR 'article in press'/it)
AND (2015:py OR 2016:py OR 2017:py OR 2018:py OR 2019:py OR 2020:py OR 2021:py OR
2022:py)
article type: clinical trial, meta-analysis, RCT, review, systematic review; language: English



Query COCHRANE: #692 records (483 included in EMBASE), #105 records da ICTRP or CTgov non appropriati

Referenze aggiunte:

1. Tiesmeier J, Muller-Tidow C, Westermann A, Czwalińska A, Hoffmann M, Krauter J et al. Evolution of FLT3-ITD and D835 activating point mutations in relapsing acute myeloid leukemia and response to salvage therapy. *Leukemia Res* 2004; 28: 1069–1074.

Griglia GRADE per PICO 1A

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	MODERATI	<p>L'analisi cariotipica è necessaria per classificare i pazienti con LMA nel sottogruppo LMA-MR, in quanto la sola storia clinica non risulta sufficiente.</p> <p>Uno studio randomizzato e una network metanalisi di oltre 700 pazienti riportano significativi vantaggi della terapia con CPX-351 nei pazienti con LMA-MR sia sulla sopravvivenza globale (oltre 8 mesi di prolungamento della sopravvivenza mediana), che sulla sopravvivenza aggiustata per la qualità di vita che sul tasso di risposte complete.</p> <p>Gli effetti desiderabili non sono stati giudicati "grandi" in quanto l'HR non è risultato inferiore a 0.5.</p>	<p>La porzione di pazienti che riesce ad accedere al trapianto allogenico di consolidamento è superiore (+10% ca) in ragione della superiorità di pazienti in risposta completa.</p>
Effetti indesiderabili	PICCOLI	<p>Non si ravvedono effetti indesiderabili dell'analisi cariotipica.</p> <p>Nella real-life la mortalità a 30 giorni nei pazienti trattati con CPX-351 varia dal 3 al 8%. Non risultano evidenti differenze nella mortalità a breve termine tra CPX-351 e 3+7 standard.</p>	<p>Per quanto la durata dell'aplasia è riportata essere generalmente più lunga nei pazienti trattati con CPX-351, questo non incide in modo sostanziale sugli esiti clinici rilevanti.</p>
Qualità delle prove	BASSA	<p>La qualità degli studi che sostengono la prognosi peggiorativa dei pazienti con LMA-MR è elevata, tuttavia, si sono riconosciuti dei limiti nella qualità delle prove che sostengono i vantaggi della terapia con CPX-351.</p> <p>Lo studio randomizzato ha arruolato solo 78 pazienti con LMA-MR senza un'anamnesi evocativa di mielodisplasia precedente: in questo sottogruppo il vantaggio di OS non è risultato statisticamente significativo.</p> <p>Inoltre, negli studi di vita reale (registri) il vantaggio di sopravvivenza è limitato ai pazienti con età superiore ai 60 anni.</p>	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	<p>Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^</p>	

Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL'INTERVENTO	Benché il vantaggio dell'intervento diagnostico (analisi cariotipica) sia indiretto, si considerano i vantaggi della sopravvivenza globale riportati dallo studio registrativo e i vantaggi di risposta completa riportati dalla meta-analisi come clinicamente rilevanti.	Non sono riportati esiti indesiderabili dell'analisi cariotipica o di CPX-351 che possano controbilanciare il beneficio clinico indotto.
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi cariotipica è trascurabile rispetto al costo globale della gestione dei pazienti con LMA.	Per quanto il costo di acquisizione di CPX-351 sia superiore a quello della terapia standard e la durata della degenza possa essere prolungata, questi possibili costi incrementali sono verosimilmente compensati dalla riduzione degli eventi di progressione e/o recidiva.
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche delle analisi cariotipiche o di CPX-351 per la realtà sanitaria italiana.	
Costo-efficacia	NON SO	Non sono riportate valutazioni economiche delle analisi cariotipiche o di CPX-351 per la realtà sanitaria italiana.	Le analisi economiche condotte in Europa e US riportano costo-efficacia incrementale di CPX-351 variabile da €50,000/QALY a oltre \$200,000/QALY. [^]
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	La raccomandazione di impiegare l'analisi cariotipica per tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA potrebbe potenziale l'accesso ai servizi di citogenetica negli ospedali italiani che attualmente sperimentano delle limitazioni.	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi cariotipica non richiede procedure invasive aggiuntive.	La terapia con CPX-351 non richiede procedure specifiche aggiuntive.
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi cariotipica non è disponibile in tutte le strutture ospedaliere, ma tutte le unità ematologiche del territorio hanno accesso al servizio.	CPX-351 è approvato in commercio con l'indicazione aderente allo scenario discusso, pertanto non sussistono barriere regolatorie al suo utilizzo. Possono tuttavia sussistere barriere locali all'acquisizione del farmaco.

[^] Marchetti M, et al. Pharmacoeconomic considerations for acute myeloid leukemia pharmacotherapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2022;23:263-272.

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 1B

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	GRANDI	<p>Le anomalie cariotipiche sono necessarie alla classificazione prognostica delle LMA.</p> <p>Una meta-analisi di buona qualità ha riportato un miglioramento clinicamente significativo nella sopravvivenza globale nel sottogruppo a cariotipo sfavorevole.</p> <p>In ragione della profondità del beneficio nei pazienti con cariotipo favorevole riportati dalla meta-analisi (HR 0.50) gli effetti desiderabili sono stati giudicati grandi.</p>	<p>Il miglioramento della sopravvivenza mediana riportato dallo studio randomizzato ALFA-0701 non è stato confermato unicamente nel sottogruppo a cariotipo sfavorevole.</p>
Effetti indesiderabili	PICCOLI	<p>L'analisi cariotipica non comporta esiti indesiderabili.</p> <p>La meta-analisi non ha riportato un aumento della mortalità precoce nei riceventi di GO.</p>	
Qualità delle prove	MODERATA	<p>Il corpo dell'evidenza a supporto del valore prognostico dell'analisi cariotipica è di qualità elevata in quanto sono consistenti i numerosi studi retrospettivi che riportano un buon potere predittivo della classe citogenetica</p> <p>La qualità del corpo dell'evidenza relativa a GO è moderata in quanto deriva da analisi di sottogruppo di studi di moderata qualità.</p>	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL'INTERVENTO	Benché il vantaggio dell'intervento diagnostico (analisi cariotipica) sia indiretto, si considerano i vantaggi della sopravvivenza globale riportati dallo studio registrativo e i vantaggi di risposta completa riportati dalla meta-analisi come clinicamente rilevanti.	Non sono riportati esiti indesiderabili dell'analisi cariotipica o di GO che possano controbilanciare il beneficio clinico indotto.
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi cariotipica è trascurabile rispetto al costo globale della gestione dei pazienti con LMA.	Per quanto il costo di acquisizione di GO sia superiore a quello della terapia standard e la durata della degenza possa essere prolungata, questi possibili costi incrementali sono verosimilmente compensati dalla riduzione degli eventi di progressione e/o recidiva.
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche delle analisi cariotipiche o di GO per la realtà sanitaria italiana.	

Costo-efficacia	PROBABILMENTE A FAVORE DELL'INTERVENTO	Uno studio di costo-efficacia riportato come abstract stima un consumo di risorse sanitarie simile tra intervento e comparatore a fronte di una migliore sopravvivenza di +0.5 QALY. ^{^^}	Le analisi economiche condotte in Europa riportano costo-efficacia incrementale di GO inferiore a €30,000/QALY [^]
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	La raccomandazione di impiegare l'analisi cariotipica per tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA potrebbe potenziale l'accesso ai servizi di citogenetica negli ospedali italiani che attualmente sperimentano delle limitazioni.	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi cariotipica non richiede procedure invasive aggiuntive.	La terapia con GO non richiede procedure specifiche aggiuntive.
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi cariotipica non è disponibile in tutte le strutture ospedaliere, ma tutte le unità ematologiche del territorio hanno accesso al servizio.	GO è approvato in commercio con l'indicazione aderente allo scenario discusso, pertanto non sussistono barriere regolatorie al suo utilizzo. Possono tuttavia sussistere barriere locali all'acquisizione del farmaco.

[^] Marchetti M, et al. Pharmacoeconomic considerations for acute myeloid leukemia pharmacotherapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2022;23:263-272.

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

^{^^^} Cairoli R, et al. Cost-effectiveness analysis of gemtuzumab ozogamicin for the treatment of de novo CD33-positive Acute Myeloid Leukaemia (AML) in Italy. *BMC health services research* 2023;23:36-

Griglia GRADE per PICO 2

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	MODERATI	<p>Il valore prognostico di FLT3 è confermato da due metanalisi di numerosi studi.</p> <p>Il vantaggio di sopravvivenza e di risposta completa è stato evidenziato in modo consistente dagli studi di moderata qualità (inclusi studi randomizzati di midostaurina vs placebo). Gli effetti desiderabili sono stati giudicati moderati in quanto l'HR della sopravvivenza è stato riportato essere superiore a 0.5.</p>	
Effetti indesiderabili	IRRILEVANTI	<p>Non si riportano effetti indesiderabili dell'analisi di FLT3.</p> <p>Gli eventi avversi correlati a midostaurina sono ampiamente gestibili nella pratica clinica</p>	
Qualità delle prove	MODERATA	La disponibilità di studi randomizzati e meta-analisi di buona qualità e consistenti consente di definire la qualità delle prove come moderata.	
Valori	NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL'INTERVENTO	Benché il vantaggio dell'intervento diagnostico (analisi delle mutazioni di FLT3) sia indiretto, si considerano i vantaggi della sopravvivenza globale riportati dallo studio registrativo e i vantaggi di risposta completa riportati dalla meta-analisi come clinicamente rilevanti.	Non sono riportati esiti indesiderabili di midostaurina che possano controbilanciare il beneficio clinico indotto.
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi di FLT3 è trascurabile rispetto al costo globale della gestione dei pazienti con LMA.	Per quanto il costo di acquisizione di midostaurina aumenti il costo della terapia standard, questi possibili costi incrementali sono verosimilmente compensati dalla riduzione degli eventi di progressione e/o recidiva.
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche delle analisi mutazionali o di midostaurina per la realtà sanitaria italiana.	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	Le analisi economiche condotte in Europa riportano costo-efficacia incrementale di midostaurina in induzione superiore a €30,000/QALY^

Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	La raccomandazione di impiegare l'analisi mutazionale di FLT3 per tutti i pazienti con nuova diagnosi di LMA potrebbe potenzialmente migliorare l'accesso ai servizi di citogenetica negli ospedali italiani che attualmente sperimentano delle limitazioni.	
Accettabilità	SI	L'analisi mutazionale di FLT3 non richiede procedure invasive aggiuntive.	La terapia con midostaurina non richiede procedure specifiche aggiuntive.
Fattibilità	SI	L'analisi di FLT3 non è disponibile in tutte le strutture ospedaliere, ma tutte le unità ematologiche del territorio hanno accesso al servizio.	Midostaurina è approvata in commercio con l'indicazione aderente allo scenario discusso, pertanto non sussistono barriere regolatorie al suo utilizzo.

[^] Marchetti M, et al. Pharmacoeconomic considerations for acute myeloid leukemia pharmacotherapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2022;23:263-272.

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 3-A

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	PICCOLI	La riproducibilità dell'analisi mutazionale di FLT3-ITD con PCR + elettroforesi capillare è elevata, ma risulta elevata anche quella effettuata con NGS.	La concordanza tra le due metodiche non è completa ma estremamente elevata.
Effetti indesiderabili	PICCOLI	Le tempistiche di refertazione della metodica NGS risultano superiori a quelle della PCR/elettroforesi	L'assegnazione ad una terapia mirata basata sull'assetto molecolare entro 7 giorni dalla diagnosi migliora la sopravvivenza dei pazienti. ¹⁰⁴
Qualità delle prove	BASSA	Alcuni studi di confronto tra NGS e metodica standard hanno applicato la PCR + elettroforesi mentre altri hanno utilizzato l'analisi dei frammenti, rendendo le conclusioni meno solide.	Mancano studi di correlazione delle metodiche con gli esiti clinici principali (sopravvivenza)
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti. ^{^^}	
Bilancio degli effetti	NE' A FAVORE Ne' CONTRO L'INTERVENTO	Il vantaggio della metodica impiegata per verificare lo stato mutazionale di FLT3 è indiretto	L'assegnazione ad una terapia mirata basata sull'assetto molecolare entro 7 giorni dalla diagnosi migliora la sopravvivenza dei pazienti. ¹⁰⁴
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi NGS non è significativamente differente da quello della metodica tradizionale considerando che l'NGS include un pannello di geni utili anche ad altre decisioni cliniche	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	Il suggerimento di impiegare l'elettroforesi capillare consente ai pazienti gestiti da centri che non hanno accesso a refertazioni NGS rapide di trattare i pazienti con terapie mirate in tempi adeguati, sfruttando la metodica tradizionale.	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi NGS non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi di FLT3 tradizionale è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. J Geriatric Oncology 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 3B

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	GRANDI	La riproducibilità del test NGS risulta nettamente superiore a quella del sequenziamento poiché le dimensioni del clone mutato sono spesso inferiori al valore soglia delle metodiche tradizionali	La presenza di mutazione di TP53 condiziona un iter prognostico (e spesso terapeutico) specifico nelle LMA
Effetti indesiderabili	PICCOLI	I tempi di refertazione per le metodiche NGS sul territorio nazionale sono solitamente superiori alle 2 settimane. Tuttavia anche i tempi di refertazione delle analisi di TP53 con metodiche tradizionali sono ugualmente superiori alle 2 settimane.	
Qualità delle prove	MOLTO BASSA	Gli studi cross-sectional che hanno contestualmente applicato entrambe le metodiche ai pazienti con MA sono limitati	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti. ^{^^}	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	Il vantaggio della metodica impiegata per verificare lo stato mutazionale di TP53 è indiretto	L'assegnazione ad un iter terapeutico "intensivo" sulla scorta dell'assetto mutazionale TP53 non è univoco e la decisione clinica dipende anche da altri fattori.
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi NGS non è significativamente differente da quello della metodica tradizionale considerando che l'NGS include un pannello di geni utili anche ad altre decisioni cliniche	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	La raccomandazione di impiegare entrambe le metodiche consente ai pazienti gestiti da centri che non hanno accesso a refertazioni NGS rapide di trattare i pazienti con terapie intensive in tempi adeguati, sfruttando la metodica tradizionale.	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi NGS non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi di TP53 tradizionale non è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale, mentre è più facilmente accessibile l'NGS.	

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. J Geriatric Oncology 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 4 A

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	MODERATI	Gli studi prospettici disponibili riportano che le recidive molecolari precedono di circa 3 mesi le recidive ematologicamente rilevabili.	La diagnosi precoce delle recidive consente l'avvio di una terapia "pre-emptive" e delle procedure trapiantologiche appropriate.
Effetti indesiderabili	IRRILEVANTI	L'analisi molecolare sul campione di sangue midollare o periferico impiegato per il monitoraggio ematologico di base del paziente non comporta procedure aggiuntive.	Le tempistiche di refertazione per l'analisi molecolare sono superiori a quelle dell'analisi citofluorimetrica pertanto l'ansia del paziente per l'attesa del responso possono essere prolungati.
Qualità delle prove	ALTA	Le prove sono state fornite da studi randomizzati di ampie dimensioni e ottima qualità	
Valori	NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	Il vantaggio della diagnosi precoce di recidiva di LAP è clinicamente rilevante	La LAP attiva è una patologia potenzialmente rapidamente fatale.
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto ai costi globali della gestione della malattia	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	NESSUN IMPATTO SULL' EQUITA'	I centri ematologici italiani hanno accesso alla metodica molecolare	
Accettabilità	SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

^^ Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 4 B

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE

Effetti desiderabili	IRRILEVANTI	Ci sono solo evidenze indirette relative all'utilità del monitoraggio molecolare nei pazienti che mantengono una risposta molecolare dopo il consolidamento.	La probabilità di recidiva nei pazienti con remissione molecolare è inferiore al 2%
Effetti indesiderabili	IRRILEVANTI	L'analisi molecolare non comporta procedure aggiuntive sul paziente rispetto al monitoraggio clinico standard.	La recidiva molecolare anticipa di ca 3 mesi la recidiva clinica
Qualità delle prove	MOLTO BASSA	Non ci sono studi prospettici o retrospettivi che confrontino modalità di monitoraggio differenti	
Valori	NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DEL CONFRONTO	Il vantaggio della diagnosi precoce di recidiva di LAP è clinicamente rilevante ma risulta remoto nei pazienti a rischio standard in remissione molecolare.	
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto ai costi globali della gestione della malattia	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	NESSUN IMPATTO SULL' EQUITÀ'	I centri ematologici italiani hanno accesso alla metodica molecolare	
Accettabilità	SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

^^ Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. J Geriatric Oncology 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 5-A

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	GRANDI	Una strategia trapiantologica risulta di beneficio nei pazienti con AML NPM1+ con malattia residua minima (MRM), mentre risulta svantaggiosa nei pazienti MRM-neg.	

Effetti indesiderabili	IRRILEVANTI	L'analisi molecolare non comporta procedure aggiuntive sul paziente rispetto al monitoraggio clinico standard.	Al contrario una strategia trapiantologica guidata dalla disponibilità del donatore e non dalla MRM è potenzialmente associata alla tossicità trapiantologica
Qualità delle prove	BASSA	L'analisi post-hoc di studi prospettici e numerosi studi retrospettivi hanno riportato dati consistenti su ampie casistiche di pazienti. Benché sia alta la qualità del corpo dell'evidenza che dimostra il valore prognostico della presenza di MRM+ (NPM1), tuttavia la definizione di MRM è stata eterogenea nei vari studi come anche le strategie terapeutiche.	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	La personalizzazione delle terapie ad alto rischio, come il trapianto allogenico, garantisce il miglior bilancio tra effetti desiderabili e indesiderabili.	
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto ai costi globali della gestione della malattia.	I costi delle procedure trapiantologiche per i pazienti MMR+ prima della recidiva ematologica non sono confrontabili con l'iter terapeutico dopo recidiva ematologica
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	NESSUN IMPATTO SULL'EQUITA'	I centri ematologici italiani hanno accesso alla metodica molecolare	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	In accordo con le linee-guida ELN
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	In accordo con le linee-guida ELN

^ Marchetti M, et al. Pharmacoeconomic considerations for acute myeloid leukemia pharmacotherapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2022;23:263-272.

^^ Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 5-B

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	MODERATI	Gli studi prospettici disponibili riportano che le recidive molecolari precedono di circa 3 mesi le recidive ematologicamente rilevabili.	La diagnosi precoce delle recidive consente l'avvio di una terapia "pre-emptive" e delle procedure trapiantologiche appropriate.
Effetti indesiderabili	PICCOLI	L'analisi molecolare sul campione di sangue midollare o periferico impiegato per il monitoraggio ematologico di base del paziente non comporta procedure aggiuntive.	Le tempistiche di refertazione per l'analisi molecolare sono superiori a quelle dell'analisi citofluorimetrica pertanto l'ansia del paziente per l'attesa del responso possono essere prolungati.
Qualità delle prove	BASSA	Le prove sono state fornite da studi randomizzati di ampie dimensioni e ottima qualità	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	Il vantaggio della diagnosi precoce di recidiva di LAM è clinicamente rilevante	
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto ai costi globali della gestione della malattia	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	I centri ematologici italiani hanno accesso alla metodica molecolare	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

^^ Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 6

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE

Effetti desiderabili	MODERATI	<p>La malattia minima residua può essere verificata e monitorata in citofluorimetria nei pazienti a rischio intermedio e privi di marcatori molecolari e consente di personalizzare le decisioni trapiantologiche.</p> <p>Il vantaggio di sopravvivenza di una strategia trapiantologica basata sulla MRM è netto rispetto ad una strategia più grossolana e basata unicamente sulla disponibilità del donatore.</p>	
Effetti indesiderabili	PICCOLI	<p>L'analisi citofluorimetria non comporta effetti indesiderabili.</p> <p>Il rischio di tossicità trapiantologica risulta elevato ma controbilanciato da una riduzione delle recidive nei pazienti MRM+ pertanto a maggior rischio di recidive</p>	
Qualità delle prove	BASSA	L'evidenza di contro tra strategie trapiantologiche basate sulla MRM rispetto alla disponibilità del donatore conta unicamente di analisi post-hoc di studi prospettici.	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^^	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	Il vantaggio della diagnosi precoce di recidiva di LAM è clinicamente rilevante	
Risorse necessarie	COSTI E RISPARMI IRRILEVANTI	Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto ai costi globali della gestione della malattia	
Qualità delle prove (risorse)	NESSUNO STUDIO	Non sono riportate valutazioni economiche	
Costo-efficacia	NON SO	Nessuno studio disponibile	
Equità	PROBABILMENTE MIGLIORA L'EQUITA'	I centri ematologici italiani hanno accesso alla metodica molecolare	
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

^^ Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555

Griglia GRADE per PICO 7

	GIUDIZI	RICERCA delle PROVE	CONSIDERAZIONI AGGIUNTIVE
Effetti desiderabili	MODERATI	<p>La maggioranza degli studi longitudinali ha confermato che in circa la metà dei pazienti FLT3 mutati alla diagnosi la mutazione non è più rilevabile alla recidiva, mentre il 20% dei pazienti originariamente non-mutati risulta FLT3-mutato alla recidiva.</p> <p>La sopravvivenza risulta quasi raddoppiata dall'impiego di terapie targeted nei pazienti selezionati dall'analisi mutazionale ripetuta alla recidiva.</p>	<p>Dal momento che l'HR della sopravvivenza non è risultato essere inferiore a 0.5 gli effetti desiderabili sono stati giudicati moderati.</p>
Effetti indesiderabili	PICCOLI	<p>Gli inibitori di FLT3 hanno uno spettro di tossicità specifico che tuttavia è associato ad un aumento dei rischi assoluti clinicamente trascurabile.</p>	
Qualità delle prove	ALTA	<p>Studi clinici randomizzati e meta-analisi hanno consistentemente dimostrato che i pazienti con LMA R/R FLT3 mutati hanno un netto vantaggio di sopravvivenza se trattati con terapia biologica mirata (FLT3inibitori).</p>	
Valori	VEROSIMILMENTE NESSUNA	<p>Gli esiti critici considerati sono in linea con le preferenze espresse dai pazienti.^</p>	
Bilancio degli effetti	A FAVORE DELL' L'INTERVENTO	<p>Benché il vantaggio dell'intervento diagnostico (analisi mutazionale alla recidiva) sia indiretto, si considerano i vantaggi della sopravvivenza globale ottenuta trattando i pazienti FLT3 mutati con gilteritinib.</p>	<p>Non sono riportati esiti indesiderabili dell'analisi molecolare che possano controbilanciare il beneficio clinico indotto. Gli eventi indesiderati associati agli inibitori di FLT3 sono clinicamente ben codificati e gestibili.</p>
Risorse necessarie	NON SO	<p>Il costo dell'analisi molecolare è trascurabile rispetto al costo globale della gestione dei pazienti con LMA.</p> <p>Non risulta possibile confrontare il costo di gilteritinib con quello della terapia standard</p>	
Qualità delle prove (risorse)	MODERATA	<p>Un solo studio di impatto sul budget di gilteritinib è stato condotto nella realtà sanitaria italiana.^ Sulla base di una stima basata su un modello ha previsto un aumento della spesa farmaceutica di 6-18 milioni di euro per anno derivante dall'introduzione del farmaco.</p>	

Costo-efficacia	NON SO	Non sono riportate valutazioni economiche delle analisi molecolari e di gilteritinib per la realtà sanitaria italiana.	Negli US il rapporto di costo-efficacia di gilteritinib b per la AMLR/R risulta superiore a \$100,000/QALY
Equità	NESSUN IMPATTO SULL'EQUITA'		
Accettabilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare non richiede procedure aggiuntive.	
Fattibilità	PROBABILMENTE SI	L'analisi molecolare è disponibile a tutte le strutture ematologiche del territorio nazionale	

[^] Marchetti M, et al. Pharmacoeconomic considerations for acute myeloid leukemia pharmacotherapy. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2022;23:263-272.

^{^^} Fiorentino F, et al. Budget impact analysis of gilteritinib for the treatment of relapsed or refractory FLT3+ acute myeloid leukemia in Italy. *Giornale Italiano di Health technology Assessment* 2021;14:4.

^{^^} Jamy OH, et al. Goals, preferences, and concerns of patients with acute myeloid leukemia at time of treatment decision. *J Geriatric Oncology* 2023; 14: article number 101555.

Abbreviazioni

ATO	Triossido di Arsenico	MRM	Malattia Residua Misurabile
CPX351	Formulazione liposomiale di daunorubicina:citarabina	CR	Risposta Completa
HR	Hazard Ratio	NMR	Mortalità non correlata a recidiva
IC	Intervallo di Confidenza	CIR	Incidenza cumulativa di recidiva
		DFS	Sopravvivenza libera da malattia
OR	Odds ratio	LFS	Sopravvivenza libera da leucemia
GO	Gemtuzumab ozogamicin	RFS	Sopravvivenza libera da Recidiva
		OS	Sopravvivenza Globale
SCT	Trapianto di cellule steminali emopoietiche allogeniche	EFS	Sopravvivenza libera da Eventi
LAP	Leucemia acuta Promielocitica		
ATRA	Acido Transretinoico		
FLT3	Fms-like		
LMA	Leucemia Mieloide Acuta		

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominati, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [x]
- 4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [x]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si [] no [x]
- 5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [x]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

- 6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [x]
- 6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [x]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

- 7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [x]
- 7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [x]
- 7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [x]
- 7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [x]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse	Soggetto cui si riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto	Importo del Pagamento o valore monetario	Periodo di riferimento dell'interesse

Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.])	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6 - 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 17/11/2022 Firma Maria Teresa Vano

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede. Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

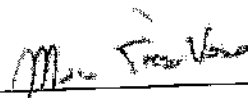
Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 17/11/2022 Firma Maria Teresa Vano

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 17/11/2022

Firma

A handwritten signature in black ink, appearing to read "M. F. V.", is written over a horizontal line.

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto MAURILLO LUCA

Nato A ROMA il 27 gennaio 1968 C.F. MRLLCU68A27H5011

Residente in via di Vigna Stelluti 164 CAP 00191 Città: Roma

Professione: Medico

E-mail luca.maurillo@uniroma2.it Cellulare 3383764591

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza: AOU Policlinico Tor Vergata – Roma

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista altro

_____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA: Diagnostica avanzata delle leucemie acute mieloidi dell'adulto

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "Sì", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

si no

1a Impiego

si no

1b Consulenza

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

si no

2a Sovvenzioni

2b Borse di Studio, grant, fellow-ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc)

si no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto.

si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

si no

3a Linea Guida settore Ematologia

si no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominati, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si no
- 4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si no

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si no
- 5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si no

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

- 6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si no
- 6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si no

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

- 7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si no
- 7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si no
- 7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si no
- 7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si no

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse	Nome	Soggetto cui si	Importo del	Periodo di
[specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego)	Società/Ente/Organizzazione relativa interesse	riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto]	Pagamento o valore monetario	riferimento dell'interesse

Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.))	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

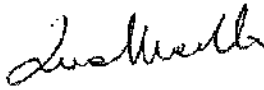
Domande 6 - 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data: 15 novembre 2022

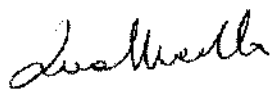
Firma 

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede. Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

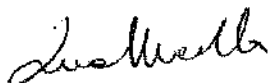
Data: 15 novembre 2022

Firma 

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data: 15 novembre 2022

Firma



si [] no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no

4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si [] no

5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.)]	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	Soggetto cui si riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	Importo del pagamento o valore monetario [si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	Periodo di riferimento dell'interesse [Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]
1b	Jazz Pharmaceuticals	Me medesimo	500 euro	Non attuale (ottobre 2021)

Domande 6 - 7

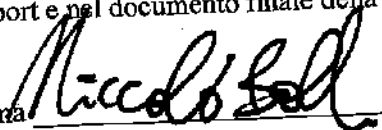
Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 9 febbraio 2022

Firma



DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 9 febbraio 2022

Firma



I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 9 febbraio 2022

Firma



MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a Adriano Venditti
Nato/a a Roma il 16 /03/1960 C.F. VNDDRN60C16H501G
Residente in via leprignano 4 CAP 00191 Città Roma
Professione: Medico
E-mail adriano.venditti@uniroma2.it Cellulare 3388411978
Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza Ematologia- Università di Roma Tor Vergata (Fondazione Policlinico Tor Vergata)
Inquadramento professionale: [] Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico [] Libero Professionista [] altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

[] componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

[] componente Comitato Esterno (CE)

[] Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA Linea guida per la diagnostica avanzata molecolare, citogenetica e citofluorimetrica delle leucemie acute mieloidi dell'adulto

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "Sì", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego

si [] no

1b Consulenza

si [] no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni

si [] no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc)

si [] no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto.

si [] no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia

si [] no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche

si [] no

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominati, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si no
- 4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si no

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si no
- 5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si no

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

- 6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si no
- 6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si no

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

- 7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si no
- 7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si no
- 7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si no
- 7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si no

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse	Nome	Soggetto cui si	Importo del	Periodo di
[specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente)	Società/Ente/Organizzazione relativa interesse	riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto]	Pagamento o valore monetario	riferimento dell'interesse

Medico/Dipendente ASL etc.])	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6 - 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 12/02/2022

Firma *Roberto Venderh*

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede. Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 12/02/2022

Firma *Roberto Venderh*

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 12/02/2022

Firma

Antonio Vindelli

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a MATTEO GIOVANNI DELLA PORTA

Nato/a a BUSTO ARSIZIO (VA) il 29-5-74 C.F. DLLMTG74E29B300M

Residente in PAVIA CAP 27100 Città VIA MAZZINI 10

Professione: MEDICO

E-mail matteo.della_porta@hunimed.eu Cellulare _____

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza IRCCS HUMANITAS RESEARCH HOSPITAL, MILANO

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista
altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA DIAGNOSTICA LEUCEMIE ACUTE MIELOIDI

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "Sì", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego si no

1b Consulenza si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni si no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) si no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia si no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si no

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust con nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [x]
- 4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [x]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospenso) si [] no [x]
- 5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [x]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

- 6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [x]
- 6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [x]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

- 7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [x]
- 7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [x]
- 7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [x]
- 7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [x]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse	Nome	Soggetto cui si	Importo del	Periodo di
[specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente)	Società/Ente/Organizzazione relativa interesse	riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto]	Pagamento o valore monetario	riferimento dell'interesse

Medico/Dipendente ASL etc.])	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6 – 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

9-7-22

Data _____

Firma M. Della Porta

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 9-7-22

Firma M. Della Porta

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 9-7-22

Firma U. Della Porta

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto Albano Francesco Nato a Torino il 29-01-1968 C.F. LBNFNC68A29L219H Residente in Via Chico Mendes 1/17 CAP 70125 Città Bari Professione: Medico – Professore Associato E-mail francesco.albano@uniba.it
Cellulare 3391612153

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza Università degli Studi “Aldo Moro” di Bari

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista
altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA Linee guida (LG) per la diagnostica avanzata delle leucemie acute mieloidi (LAM) dell'adulto

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è “Sì”, è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego

si no

1b Consulenza

si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni

si no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc)

si no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto.

si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia

si no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche

si no

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a** Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [x]
- 4b** Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [x]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a** Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si [] no [x]
- 5b** *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [x]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

- 6a** Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [x]
- 6b** Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [x]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

- 7a** Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [x]
- 7b** Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [x]
- 7c** Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [x]
- 7d** Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [x]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse	Nome	Soggetto cui si riferisce l'interesse	Importo del pagamento o valore monetario	Periodo di riferimento dell'interesse
[specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: Impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL	Società/Ente/Organizzazione relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per	[specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me	[si consiglia di specificare se è un	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non

etc.)]	cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6 - 7

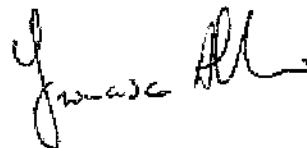
Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 16-2-22

Firma



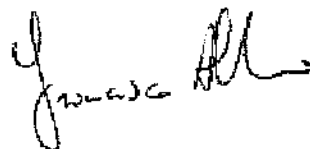
DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede. Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 16-2-22

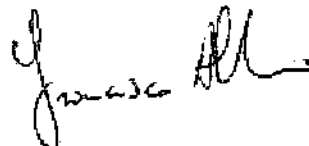
Firma

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Giuseppe All...', written in a cursive style.

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 16-2-22

Firma

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Giuseppe All...', written in a cursive style.

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a MARCHETTI MONIA

Nato/a a PIACENZA il 31 LUGLIO 1971 C.F. MRCMNO71L71G535U

Residente in VOGHERA CAP 27058 Città VOGHERA (PV)

Professione: DIRIGENTE MEDICO ALTA SPECIALIZZ

E-mail monia.marchetti@uniupo.it Cellulare 3470769270

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza AZIENDA OSPEDALIERA SANTISSIMI ANTONIO E BIAGIO E CESARE ARRIGO, ALESSANDRIA

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista
altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA DIAGNOSTICA AVANZATA DELLE LEUCEMIE MIELOIDE ACUTE

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "SI", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego

si no

1b Consulenza

si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni

si no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc)

si no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto.

si no

Supporto fornito a progetti NON relativi alle leucemie mieloidi acute

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia si [] no [X]

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si [] no [X]

Supporto fornito a progetti NON relativi alle leucemie mieloidi acute

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [X]

4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [X]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si [] no [X]

5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [X]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [X]

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [X]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [X]

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [X]

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [X]

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [X]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.)]	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	Soggetto cui si riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	Importo del Pagamento o valore monetario [si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	Periodo di riferimento dell'interesse [Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]
1b: Consulenza	Gilead srl	me medesima	Importo 2 mesi	Non attuale

Domande 6 – 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG

Data 9 febbraio 2022

Firma



DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.



Data 9 febbraio 2022

Firma

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.



Data 9 febbraio 2022

Firma __

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a ALESSANDRO ISIDORI
 Nato/a a FORLÌ il 12.11.1974 C.F. SDRLSU74S1ZD700X
 Residente in VIA RAVALLINI 7 CAP 47035 Città GABETTOLA (FC)
 Professione: MEDICO
 E-mail AISIDORI@GMAIL.COM Cellulare 347 0015894
 Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza AORN - PESARO, EMATOLOGIA
 Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista altro
DIR. MEDICO (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

- componente Componente Working Group (MWG)
- componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperito Metodologo (EM)
- componente Comitato Esterno (CE)
- Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA SIES DIAGNOSTICA LEUCEMIE ACUTE ATRIALI

*Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "SI", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.
 Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (inest come coniuge, convivente, affil e parenti fino al 3 grado).*

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

- 1a Impiego si no
- 1b Consulenza si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

- 2a Sovvenzioni si no
- 2b Borse di Studio, grant, fellow-ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) si no
- 2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ Il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

- 3a Linea Guida settore Ematologia si no
- 3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si no

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

- 4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si no
- 4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si no

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

- 5a Brevetti, marchi registrati e copyright (incluse le domande in sospeso) si no
- 5b Know how e/o diritti di autore relativo ad un medicinale, tecnologia o processo si no

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica

si no

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra

si no

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)?

si no

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits?

si no

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra?

si no

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza?

si no

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse (specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1° Impiego Dirigente)	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse	Soggetto cui si riferisce l'interesse (specificare se si riferisce al soggetto)	Importo del Pagamento o valore monetario	Periodo di riferimento dell'interesse

Medico/Dipendente ASL (etc.)]	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6-7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato,

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 17/11/2022

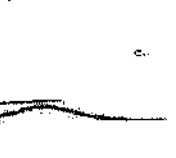
Firma 

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede. Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

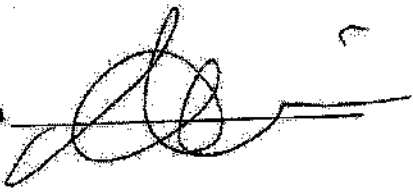
Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 17/11/2022

Firma 

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 17/11/2022

Firma 

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a LEONARDO MUSIO
 Nato/a a LEONARDO (AV) il 2-8-56 C.E. MST PLG 5640266 IL
 Residente in S. GIOV. ROT. CAP 71013 Città VIA A. MORO 105/C
 Professione: ME DICO
 E-mail LEONARDO.MUSIO@UNIBG.IT Cellulare 368 3287324
 Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza UNIVERSITA' DI BARI
 Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista altro
 _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

- componente Componente *Working Group* (MWG)
 componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (BM)
 componente Comitato Esterno (CE)
 Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA NEGRONOSICA AVANZATA NELLE LMA DELL'ADULT

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "SI", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3° grado).

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

- 1a Impiego si no
 1b Consulenza si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

- 2a Sovvenzioni si no
 2b Borse di Studio, grant, fellow-ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) si no
 2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

- 3a Linea Guida settore Ematologia si no
 3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si no

Dirigente Medico/Dipendente ASI etc.))]	[riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	[si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	[Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]

Domande 6 - 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 20.7.2023

Firma 

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 20.7.2023

Firma 

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

La sottoscritta Cristina Mecucci

Nata a Piegaro il 20/08/1953 C.F. MCCCST53M60G601Q

Residente in Strada San Martino dei Colli 2 CAP 06132 Città Perugia

Professione: Professore ordinario

E-mail cristina.mecucci@unipg.it Cellulare

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza Università di Perugia

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA Linee guida (LG) per la diagnostica avanzata delle leucemie acute mieloidi (LAM) dell'adulto

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "Sì", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego si no

1b Consulenza si no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni si no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) si no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. si no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia si no

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si no

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si no

4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si no

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospenso) si no

5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si no

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si no

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si no

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si no

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si no

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si no

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si no

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di	Nome Società/Ente/Organizzazione	Soggetto cui si riferisce l'interesse	Importo del Pagamento o valore	Periodo di riferimento
------------------------------------	-------------------------------------	--	-----------------------------------	---------------------------

domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.)]	relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	[specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	monetario [si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	dell'interesse [Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]
2°, Professore/Dirigente medico	Abbvie,	Ente	Giornaliero	Ultimi 12 mesi
2°, Professore/Dirigente medico	Jazz Pharmaceuticals	Ente	Giornaliero	Ultimi 12 mesi
5°, Professore/Dirigente medico	Brevetto	Me medesimo		Attuale

Domande 6 – 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 20/04/2023

Firma



DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 20/04/2023


Firma



I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 20/04/2023

Firma



MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto **Prof. Alessandro Rambaldi**

Nato a **Bologna** il **22/08/1955** C.F. **RMBL55M22A944D**

Residente in **Via Damiano Chiesa, 11** CAP **24128** Città **Bergamo (BG)**

Professione: **Professore Ordinario di Ematologia presso Università degli Studi di Milano (MI) (Ente di appartenenza) e, per una convenzione tra UNIMI e ASST Papa Giovanni XXIII di Bergamo, Direttore UOC Ematologia e Direttore del Dipartimento di Oncologia ed Ematologia dell'ASST Papa Giovanni XXIII di BG**

E-mail **arambaldi@asst-pg23.it** Cellulare **+39 3484526901**

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza **Università degli Studi di Milano, Via Festa del Perdono 7 – 20122 Milano**

Inquadramento professionale: Dipendente ente privato Dipendente ente pubblico Libero Professionista altro _____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

componente Componente *Working Group* (MWG)

componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA **“Diagnostica avanzata delle leucemie acute mieloidi dell’adulto”**

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è “Sì”, è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego sì no

1b Consulenza sì no

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni sì no

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) sì no

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. sì no

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia si [] no [x]

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si [x] no []

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [x]

4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [x]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospenso) si [] no [x]

5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [x]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [x]

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [x]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [x]

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [x]

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [x]

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [x]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.)]	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	Soggetto cui si riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	Importo del Pagamento o valore monetario [si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	Periodo di riferimento dell'interesse [Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]
1b Consulting or Advisory Role	AMGEN,OMEROS,NOVARTIS,ASTELLAS PHARMA,JAZZ PHARMACEUTICALS, F.HOFFMANN LA ROCHE, JANSSEN,PFIZER,INCYTE, KITE/GILEAD			2021-2022

Domande 6 - 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.



Firma _____

Data 17/11/2022

DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.



Firma

Data 17/11/2022

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.



Firma

Data 17/11/2022

MODULO PER LA DICHIARAZIONE CONFLITTO DI INTERESSI

Il sottoscritto/a CURTI ANTONIO

Nato/a a BOLOGNA il 14-05-1972 C.F. CRTNTN72E14A944S

Residente in Via Laura Bassi veratti, 3 CAP 40137 Città BOLOGNA

Professione: _medico ematologo

E-mail antonio.curti2@unibo.it Cellulare 3282262614

Società/ Associazione/ Istituto/Ente di appartenenza IRCCS AOUBO

Inquadramento professionale: [] Dipendente ente privato [X] Dipendente ente pubblico [] Libero Professionista [] altro
_____ (specificare)

Ruolo nelle LG della Società Italiana di Ematologia Sperimentale:

[] componente Componente *Working Group* (MWG)

[] componente Comitato Metodologico in qualità di coordinatore Linee Guida/Esperto Metodologo (EM)

componente Comitato Esterno (CE)

[] Stakeholder (es. associazioni presenti)

Titolo/Argomento della LINEA GUIDA DIAGNOSTICA AVANZATA DELLE LEUCEMIE MIELOIDI
ACUTE DELL'ADULTO.

Si prega di rispondere a ciascuna delle domande di seguito indicate relative al proprio rapporto con SIES. Se la risposta è "Sì", è necessario fornire maggiori informazioni nelle tabelle in calce al modulo.

Si ricorda che le domande si riferiscono sia al soggetto interessato che ai suoi familiari (intesi come coniuge, convivente, affini e parenti fino al 3 grado)

1. IMPIEGO E CONSULENZA

Negli ultimi 12 mesi ha ricevuto una remunerazione da un ente o organizzazione o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

1a Impiego si [] no [X]

1b Consulenza si [] no [X]

2. SUPPORTO ALLA RICERCA

Negli ultimi 12 mesi Lei o il suo ente/dipartimento/unità di ricerca ha ricevuto una qualche forma di supporto da parte di un ente o organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla LG sopra indicata?

2a Sovvenzioni si [] no [X]

2b Borse di Studio, grant, fellow -ship, o altre forme di finanziamento monetario e non monetario (come ad esempio finanziamento di posizioni lavorative, attrezzature, strutture, missioni etc) si [] no [X]

2c Supporto (incluso compenso) per la partecipazione a conferenze o attività di formazione per un ente o un'altra organizzazione, azienda farmaceutica, con un interesse commerciale relativo alla tematica della LG in oggetto. si [] no [X]

3. PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI

Negli ultimi 12 mesi Lei/ il suo dipartimento/ la sua unità di ricerca è stato coinvolto in progetti supportati da aziende farmaceutiche o nella stesura di linee guida analoghe alla LG sopra indicata?

3a Linea Guida settore Ematologia si [] no [X]

3b Progetti supportati da Aziende Farmaceutiche si [] no [X]

4. INVESTIMENTI

Attualmente e negli ultimi 5 anni ha/ ha avuto degli investimenti in un ente, organizzazione e/o azienda farmaceutica con un interesse commerciale o di altro tipo relativo alla tematica della presente LG?

Si prega di indicare anche investimenti indiretti come partecipazione a trust o holding. Non necessita di comunicazione il possesso di quote in un fondo di investimento o in un fondo pensionistico o in un trust non nominali, ammesso che siano diversificati e su cui non si abbia influenza sulla loro gestione finanziaria.

4a Titoli azionari, obbligazioni, stock option, capitali netti, bonds o altri titoli si [] no [X]

4b Interessi commerciali che derivano da proprietà, partnership, partecipazione a joint venture, partecipazione a Consigli di Amministrazione etc. si [] no [X]

5. PROPRIETA' INTELLETTUALE

Possiede dei diritti derivanti da proprietà intellettuale che potrebbero accrescere o diminuire in base all'esito dell'attività che è chiamato a svolgere?

5a Brevetti, marchi registrati o *copyright* (incluse le domande in sospeso) si [] no [X]

5b *Know how* e/o diritti di autore relative ad un medicinale, tecnologia o processo si [] no [X]

6. DICHIARAZIONI PUBBLICHE

6a Nell'ambito di un processo normativo, legislativo o giudiziario ho fornito un parere una testimonianza di esperto, relativa alla tematica LG, per conto di un ente/organizzazione/azienda farmaceutica si [] no [X]

6b Ha ricoperto un ruolo o posizione, retribuita o non retribuita, per cui ha rappresentato gli interessi o sostenuto una posizione relativamente alla tematica della LG di cui sopra si [] no [X]

7. ULTERIORI INFORMAZIONI

7a Per quanto di sua conoscenza, l'esito dell'attività che è chiamato a svolgere potrebbe beneficiare o influenzare negativamente gli interessi di soggetti terzi con i quali si hanno sostanziali interessi comuni personali, professionali, finanziari o commerciali (come suoi familiari, colleghi, unità amministrative o lavorative)? si [] no [X]

7b Escludendo SIES vi sono persone o altri enti/organizzazioni/ aziende che hanno contribuito in termini monetari o altri benefits? si [] no [X]

7c Ha ricevuto pagamenti (diversi da rimborsi per le spese viaggio o alloggio) o onorari per parlare pubblicamente sul tema delle LG di cui sopra? si [] no [X]

7d Vi è qualche altro aspetto o circostanza passata o presente non ancora menzionata che potrebbe essere percepita come in grado di influenzare indebitamente la sua obiettività o indipendenza? si [] no [X]

Se la risposta ad una qualsiasi delle domande da (1 a 7) è "si" si prega di fornire ulteriori dettagli su ciascun interesse dichiarato, utilizzando la seguente tabella.

In caso di mancata descrizione della natura dell'interesse o di mancata indicazione dell'importo o valore quando necessario, il conflitto sarà considerato significativo.

Domande da 1 a 5 (aggiungere righe se necessario)

Interesse [specificare il n. di domanda e la categoria (es. 1°: impiego Dirigente Medico/Dipendente ASL etc.)]	Nome Società/Ente/Organizzazione relativa interesse [riportare il nome della società, ente, azienda, organizzazione per cui si è prestata l'attività relativa all'interesse]	Soggetto cui si riferisce l'interesse [specificare se si riferisce al soggetto stesso (per es. me medesimo) o a un familiare (es. coniuge) o datore, dipartimento, unità ricerca altro etc.]	Importo del Pagamento o valore monetario [si consiglia di specificare se è un importo giornaliero, mensile o annuale. Se non dichiarato sarà considerato significativo]	Periodo di riferimento dell'interesse [Indicare: "Attuale/ Non attuale". Se "Non attuale" indicare l'anno o il mese (se conosciuto) di cessazione]


Domande 6 – 7

Descrivere l'argomento, le circostanze specifiche, le parti coinvolte, il periodo di riferimento e altri dettagli rilevanti su ogni interesse dichiarato.

N. domanda	Descrizione
n. 6a	
n. 6b	
n. 7a	
n. 7b	
n. 7c	
n. 7d	

CONSENSO ALLA DIVULGAZIONE Compilando e firmando questo modulo, si acconsente alla divulgazione di eventuali conflitti rilevanti durante i meeting, nei report e nel documento finale della LG.

Data 20-04-2023

Firma 


DICHIARAZIONE

Dichiaro che le dichiarazioni qui riportate sono, a mia conoscenza, veritiere e fornite in buona fede.

Se dovessero intervenire cambiamenti, provvederò ad informare prontamente chi di competenza e a compilare un nuovo modulo di dichiarazione che descrive le modifiche verificatesi prima o durante la pubblicazione delle LG.

Sono consapevole che la mancata dichiarazione degli interessi legati all'argomento oggetto di LG può comportare l'obbligo di rassegnare le dimissioni dall'incarico.

Data 20-04-2023

Firma 

I dati personali forniti saranno raccolti da SIES per le finalità e gli scopi perseguiti dalla SIES nonché per finalità di partecipazione al Gruppo del Progetto Linee Guida, ai sensi del d.lgs. 196/2003 e ss.mm. ii e del **Regolamento Europeo 2016/679** concernente la tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e la libera circolazione di detti dati.

Data 20-04-2023

Firma 