

Emocromo



Emocromo

affidabilità

riproducibilità

basso costo

Emocromo

Il campione di sangue viene raccolto in provette contenenti anticoagulante

L'anticoagulante ottimale:

deve essere facilmente solubile nel sangue
non deve modificare la conformazione delle emazie
deve evitare l'aggregazione piastrinica
non deve alterare i leucociti

EDTA

Ossalato di ammonio o di potassio

Eparina

Emocromo

L'esame emocromocitometrico del sangue fornisce:

il numero di cellule ematiche per ml

Emocromo

L'esame emocromocitometrico del sangue fornisce:

il numero di cellule ematiche per ml

la concentrazione di emoglobina

Emocromo

L'esame emocromocitometrico del sangue fornisce:

il numero di cellule ematiche per ml

la concentrazione di emoglobina


la formula leucocitaria, cioè le percentuali relative ai
diversi tipi di globuli bianchi

SANGUE

Tessuto connettivo fluido



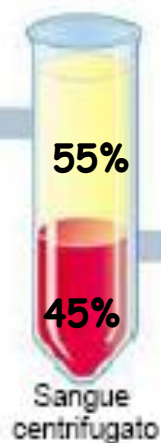
Caratteristiche:







- Colore: rosso rubino-rosso violaceo  quantità di ossigeno legato all'emoglobina
- Viscosità: circa 4 volte superiore a quella dell'acqua
- Peso specifico di 1,041-1,062 g/cm³
- pH (a livello arterioso) di 7,38-7,42.

L'organismo umano contiene 5-6 litri di sangue, pari all'8% circa del peso corporeo.

Composizione Sangue

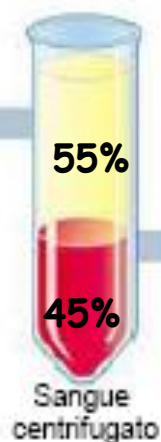
Plasma (55%)	
Componenti	Principali funzioni
Acqua	Solvente per diluire le altre sostanze
Ioni inorganici: Sodio Potassio Calcio Magnesio Cloruro Bicarbonato	Equilibrio osmotico, azione tampone, trasmissione di impulsi nervosi
Proteine plasmatiche: Albumina	Equilibrio osmotico e azione tampone
Fibrinogeno Immunoglobuline	Coagulazione Immunità
Sostanze trasportate dal sangue: Sostanze nutritive Prodotti di rifiuto del metabolismo Gas respiratori (O ₂ e CO ₂) Ormoni	









Elementi cellulari (45%)		
Tipi di cellule	Numero (per mm ³ di sangue)	Funzioni
Eritrociti (globuli rossi) 	5-8 milioni	Trasporto di ossigeno e, in parte, di anidride carbonica
Leucociti (globuli bianchi)	5000-10 000	Difesa e immunità
 Basofili	 Esosinofili	Linfociti
 Neutrofili		
 Monociti		
Piastrine 	250 000- 400 000	Coagulazione del sangue

Composizione Sangue

Plasma (55%)	
Componenti	Principali funzioni
Acqua	Solvente per diluire le altre sostanze
Ioni inorganici: Sodio Potassio Calcio Magnesio Cloruro Bicarbonato	Equilibrio osmotico, azione tampone, trasmissione di impulsi nervosi
Proteine plasmatiche: Albumina	Equilibrio osmotico e azione tampone
Fibrinogeno Immunoglobuline	Coagulazione Immunità
Sostanze trasportate dal sangue: Sostanze nutritive Prodotti di rifiuto del metabolismo Gas respiratori (O ₂ e CO ₂) Ormoni	



Elementi cellulari (45%)		
Tipi di cellule	Numero (per mm ³ di sangue)	Funzioni
Eritrociti (globuli rossi) 	5-8 milioni	Trasporto di ossigeno e, in parte, di anidride carbonica
Leucociti (globuli bianchi)	5000-10 000	Difesa e immunità
 Basofili	 Esosinofili	Linfociti
 Neutrofili		
 Monociti		
Piastrine 	250 000- 400 000	Coagulazione del sangue

FUNZIONI DEL SANGUE



- Trasporta gas disciolti: O_2 dai polmoni ai tessuti, CO_2 dai tessuti ai polmoni;
- Distribuisce sostanze nutritive
- Trasporta i prodotti del catabolismo dai tessuti periferici alle sedi di eliminazione come i reni
- Consegna enzimi e ormoni a specifici organi-bersaglio
- Difende l'organismo da agenti patogeni
- Termoregolatrice (distribuisce il calore)
- Regola il pH e la composizione elettrolitica dei liquidi interstiziali in ogni parte del corpo

Emocromo

La funzione principale degli eritrociti è trasportare ossigeno ai tessuti

Per fare questo il globulo rosso deve essere sufficientemente deformabile per superare i piccoli capillari del microcircolo

Inoltre il globulo rosso deve contenere adeguate quantità del pigmento che lega l'ossigeno, l'eme, che si trova impacchettato in un involucro proteico chiamato globina

Globuli rossi/ Eritrociti

I parametri più importanti da prendere in considerazione

1. numero di globuli rossi espresso come milioni di cellule per microlitro
2. ematocrito ovvero il rapporto tra il volume dei globuli rossi ed il volume totale del sangue
3. quantità di emoglobina espressa in grammi per decilitro
4. indici eritrocitari valori calcolati che definiscono *la grandezza media* dei globuli rossi ed il contenuto di emoglobina di ogni singola cellula

Globuli rossi/ Eritrociti

Gli indici eritrocitari (indici corpuscolari)

Volume cellulare medio (MCV)

rappresenta il volume medio del globulo rosso espresso in femtolitri (fl=10⁻¹⁵ litri). I valori normali sono compresi tra 80 e 100 fl.

Valore dell'ematocrito/numero di globuli rossi

Contenuto cellulare medio di emoglobina (MCH)

espresso in picogrammi (pg=10⁻¹² litri). I valori normali sono compresi tra 26 e 32 pg.

Quantità di emoglobina/numero di eritrociti

Concentrazione cellulare media di emoglobina (MCHC)

calcolato dal contatore elettronico, i valori di riferimento sono 32-36%.

Valore di emoglobina/ematocrito

Emocromo

Il volume ed il contenuto emoglobinico (MCH) delle singole cellule sono parametri importanti ai fini della valutazione delle anemie e delle altre patologie ematologiche

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

Valuta la parte corpuscolata del sangue e il suo rapporto con la parte liquida



Fornisce informazioni **quantitative (numeriche) e qualitative** riguardanti:

- Concentrazione emoglobinica (Hb)
- Ematocrito, ovvero il rapporto tra la massa di globuli rossi e il volume della parte liquida (Ht)
- Quantità degli eritrociti e sulla loro dimensione, forma e contenuto di emoglobina (MCV, MCH, MCHC).
- Quantità totale dei leucociti e sulla percentuale dei vari tipi di leucociti (formula leucocitaria).
- Quantità di piastrine
- Caratteristiche morfometriche e chimiche delle cellule del sangue (dimensioni, densità ecc.)

Può essere propedeutico ad altri esami di laboratorio

Cosa analizziamo . . .



Plasma

come si ottiene:

- Sangue con aggiunta di anticoagulante → eparina, sodio citrato, EDTA, etc.
- Centrifugazione (o sedimentazione della parte corpuscolata)
- Sopranatante è il plasma

Siero

come si ottiene:

- Sangue intero senza aggiunta di anticoagulante (plasma defibrinato)

IDONEITÀ DEL CAMPIONE DA ANALIZZARE



Errori da evitare:

- Pre-analitici: raccolta,conservazione, trasporto,
- Analitici: interferenza analitica (fattori biologici quali assunzione di alimenti e/o farmaci), mancata rilevazione di errori nel controllo di qualità
- Post-analitici: refertazione errata

Metodi di conteggi ematologici



Il conteggio degli elementi corpuscolati del sangue può essere effettuato:

con metodo manuale: con M.O, previa esatta diluizione del sangue in provetta con soluzioni isotoniche e successiva deposizione in camere contaglobuli (Thoma, Burker)

con metodo automatico: impiego di contaglobuli elettronici o di citofluorimetria

Cosa analizziamo nel dettaglio



PARAMETRI			
RBC	RET%/#	PLT	WBC totali
HGB	LFR	MPV	Linf %/#
HCT	MFR	PDW	Mono %/#
MCV	HFR	PCT	Neut %/#
MCH	IRF	P-LCR	Eo %/#
MCHC			Baso %/#
RDW-CV			IG%/#
RDW-SD			LUC
NRBC			

ERITROCITI – Globuli Rossi



4,5-5 milioni/mm³ nella donna e in 5-6 milioni/mm³ nell'uomo

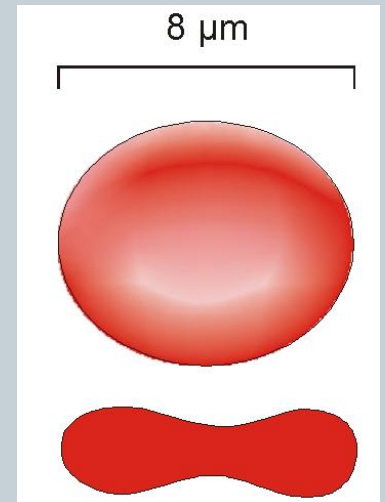
Forma a disco biconcavo

aumenta l'efficienza dello scambio di gas fra citoplasma e plasma ematico e favorisce il suo scorrimento nel flusso ematico.

Il citoplasma del globulo rosso contiene:

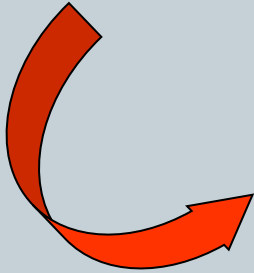
- 66% di acqua
- 33% proteine
 - 95% Hb
 - 5% altre

L'Hb è responsabile della maggior parte del trasporto di ossigeno ed anidride carbonica (circa 280 milioni di molecole di Hb per GR e più di 1 milione di molecole di ossigeno potenzialmente trasportabili da un singolo GR)



ERITROCITI – Globuli Rossi

Vita media 120 giorni



Eliminazione, tramite fagocitosi, negli organi eritrocateretici (milza, fegato, midollo osseo)

Dopo 120 giorni presentano sulla membrana plasmatica alcuni oligosaccaridi che li rendono aggredibili dai macrofagi della milza, del fegato e del midollo osseo (sistema reticolo-endoteliale)

ERITROCITI – Globuli Rossi



PARAMETRI DIRETTI:

- Conteggio Globuli
- Dosaggio Hb
- MCV

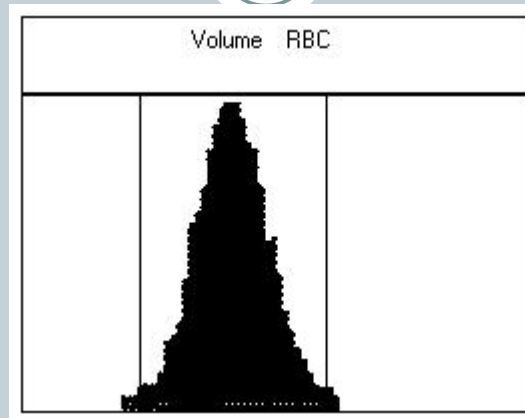
PARAMETRI DERIVATI:

- Ematocrito
- MCH
- MCHC

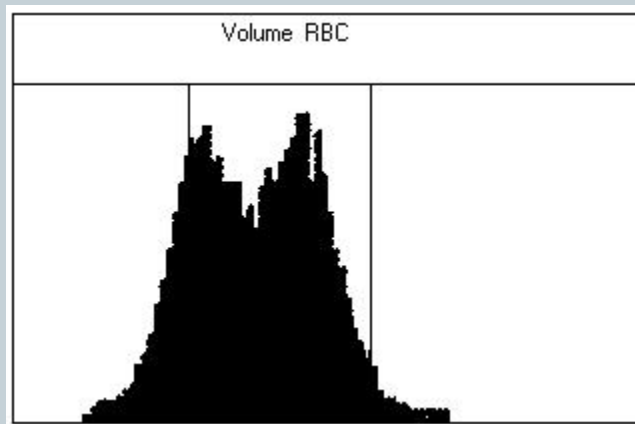
Parametro		valore		unità
		maschi	femmine	
RBC	red blood cell count	4,5 - 5,8	4,2 - 5,2	cellule x 10 ⁶ /mL
MCV	mean corpuscular volume (PCV/RBC)	82 - 92		fL
RDW	red distribution width	11,6 - 14,6		%
CHCM	cellular hemoglobin concentration mean	32 - 36		g/dL
HDW	hemoglobin distribution width	2,2 - 3,5		g/dL
HGB	hemoglobin concentration	13 - 17	12 - 16	g/dL
HCT	haematocrit (RBC x MCV)	40 - 52	37 - 47	%
MCH	mean corpuscular hemoglobin (HGB/RBC)	27 - 31		pg
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (HGB/hct)	32 - 36		g/dL
NRBC	Eritroblasti # %			
PLT	platelet count	150 - 300		cellule x 10 ³ /mL
MPV	mean platelet volume	6,4 - 9,7		fL
PDW	platelet distribution width	44 - 56		%
RET	Reticolociti # %			
PCT	platelet haematocrit (PLT x MPV)	0,16 - 0,24		%

Parametro	valore		unità	
	maschi	femmine		
RBC	red blood cell count	4,5 - 5,8	4,2 - 5,2	cellule x 10 ⁶ /mL
MCV	mean corpuscular volume (PCV/RBC)	82 - 92		fL
RDW	red distribution width	11,6 - 14,6		%
CHCM	cellular hemoglobin concentration mean	32 - 36		g/dL
HDW	hemoglobin distribution width	2,2 - 3,5		g/dL
HGB	hemoglobin concentration	13 - 17	12 - 16	g/dL
HCT	haematocrit (RBC x MCV)	40 - 52	37 - 47	%
MCH	mean corpuscular hemoglobin (HGB/RBC)	27 - 31		pg
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (HGB/hct)	32 - 36		g/dL
NRBC	Eritroblasti # %			
PLT	platelet count	150 - 300		cellule x 10 ³ /mL
MPV	mean platelet volume	6,4 - 9,7		fL
PDW	platelet distribution width	44 - 56		%
RET	Reticolociti # %			
PCT	platelet haematocrit (PLT x MPV)	0,16 - 0,24		%

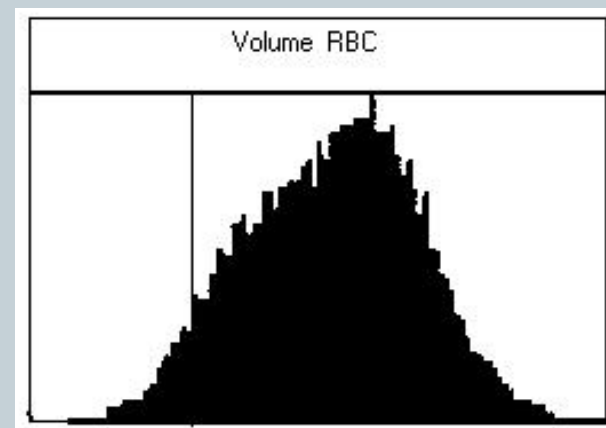
CURVA DI DISTRIBUZIONE DEL VOLUME ERITROCITARIO



Normale



Doppia popolazione eritrocitaria
(Post-trasfusione)



Disomogeneità
volumetrica

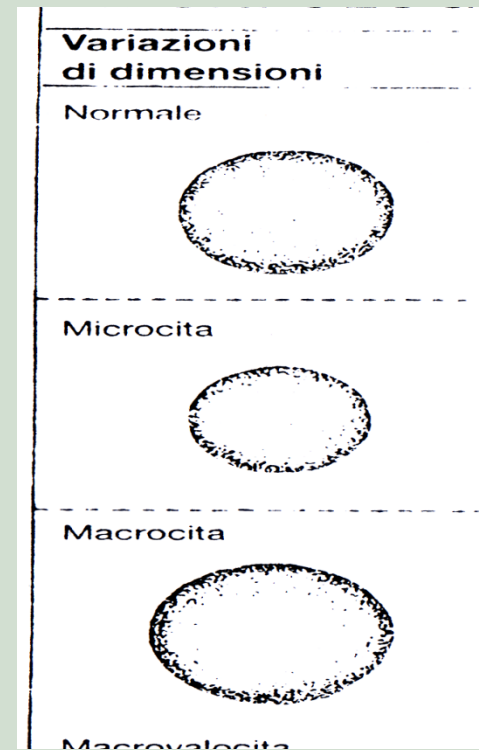
Emocromo

Rispetto al volume (MCV) la cellula può essere definita

Normocita= MCV normale

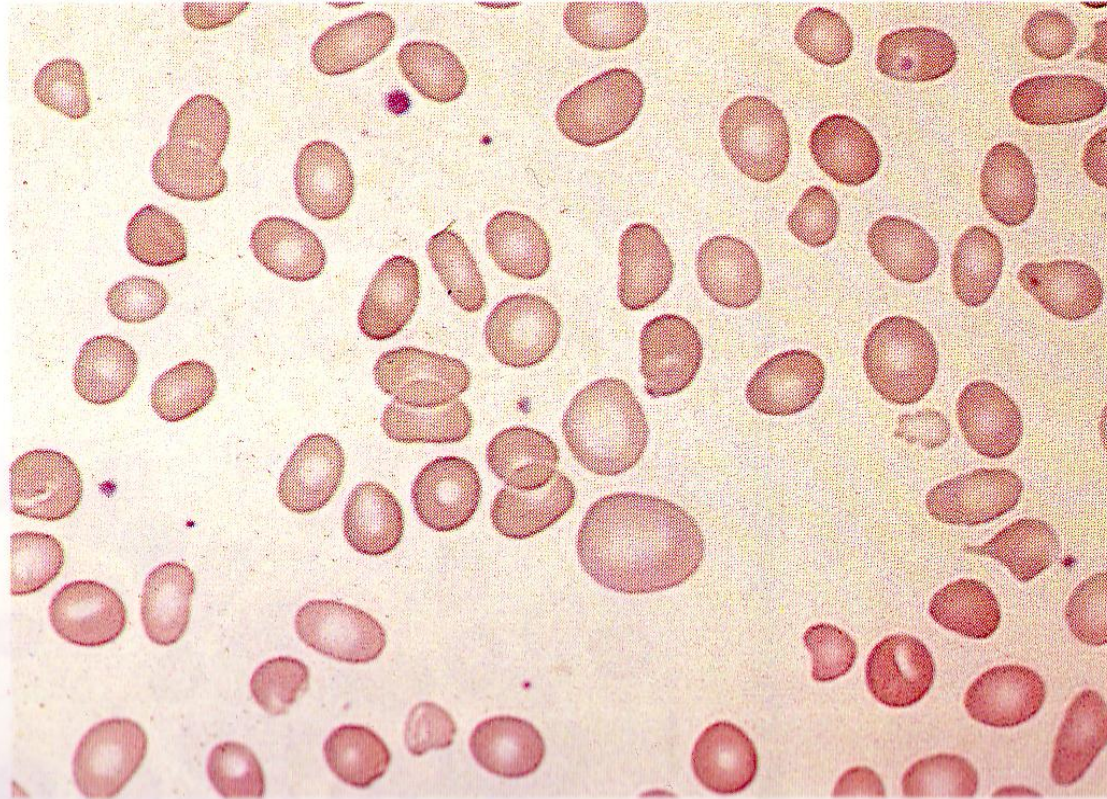
Microcita= MCV più basso del normale

Macrocita= MCV più alto del normale



Emocromo

Macroцитоси



Emocromo

Microcitosi

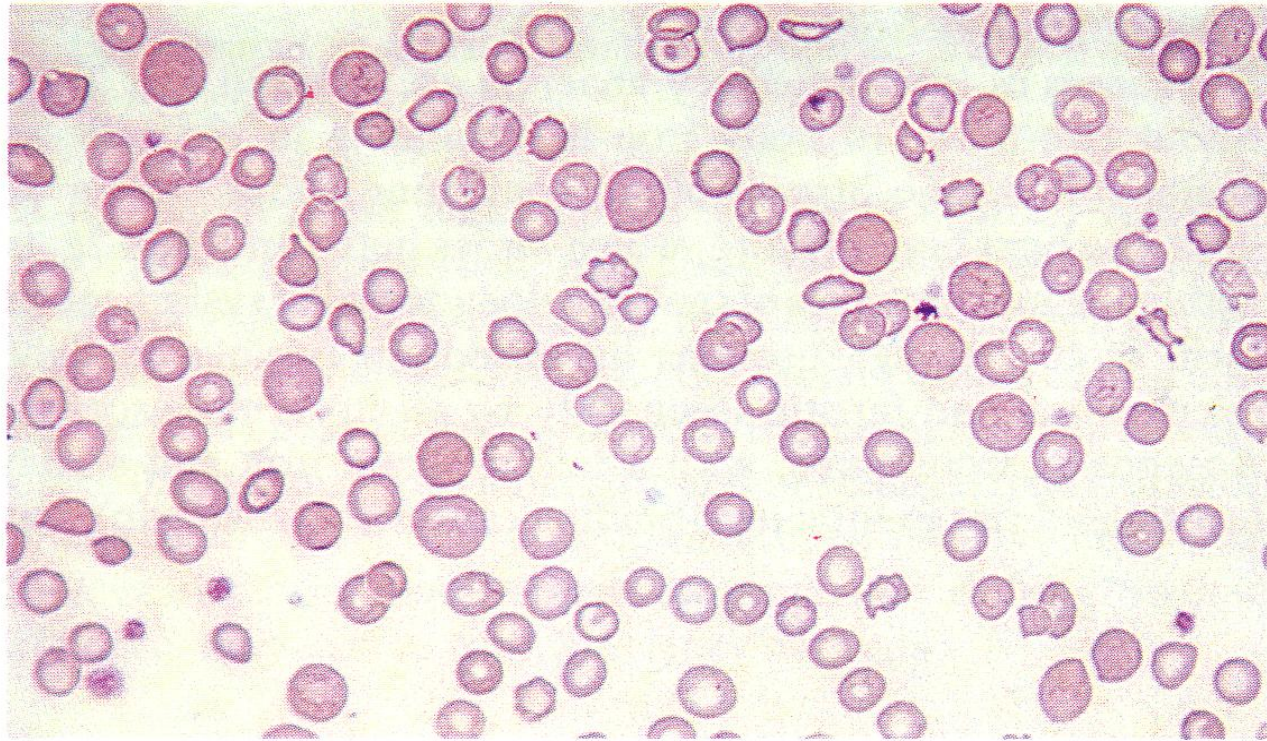


Fig. 2.12

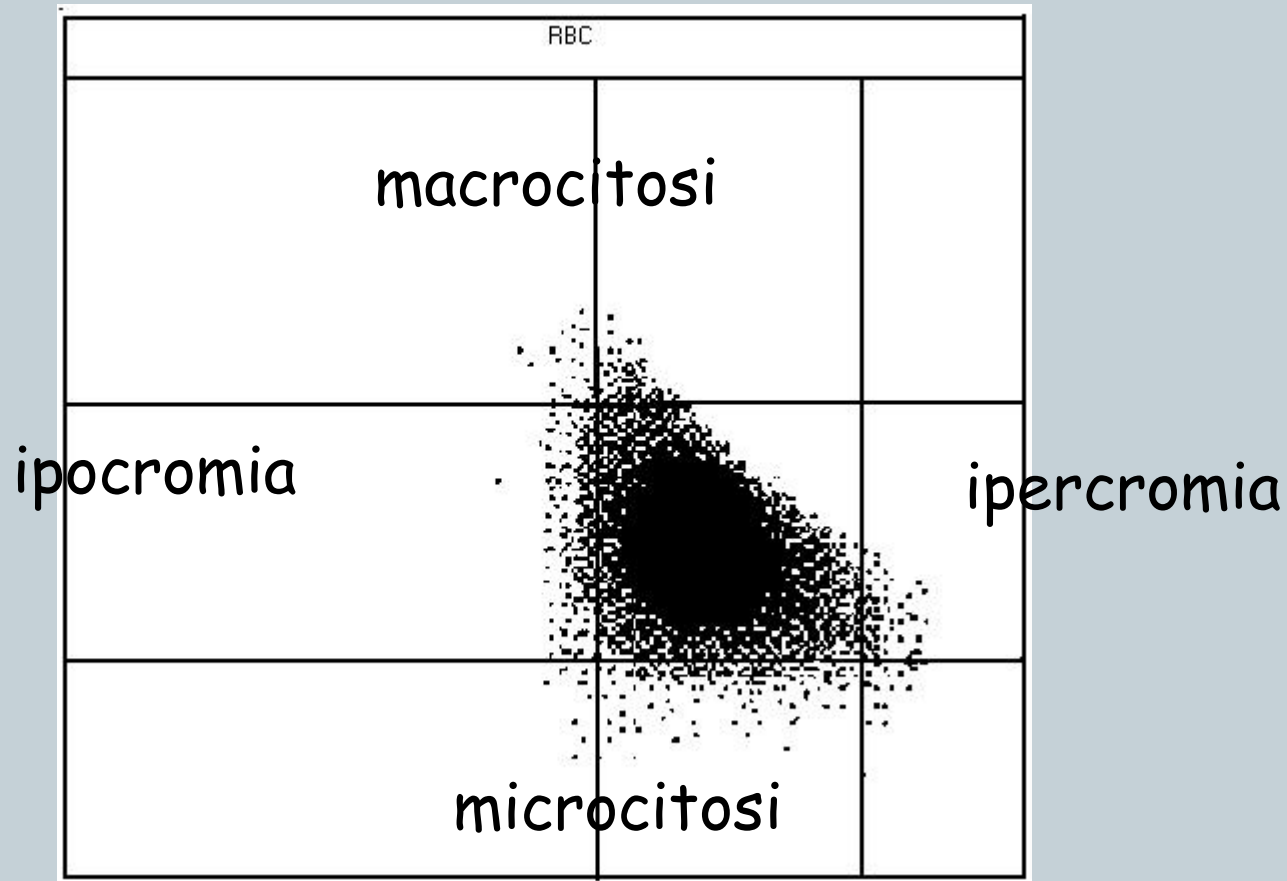
Emocromo

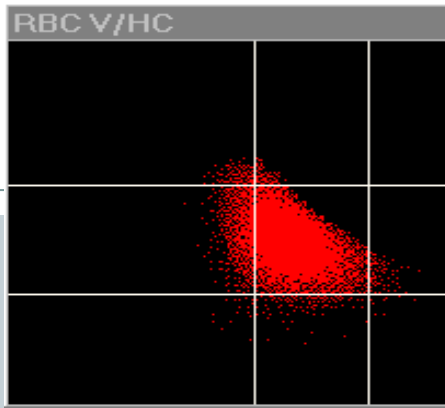
Rispetto allo MCH (grado di emoglobinnizzazione) la cellula può essere definita:

Normocromica= MCH nei limiti della norma

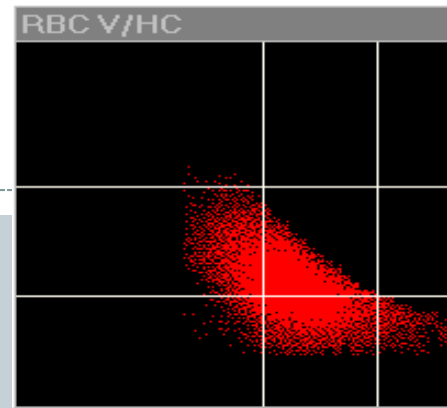
Ipocromica= MCH più basso della norma

CITOGRAMMA ERITROCITARIO DI VOLUME E CONCENTRAZIONE DI EMOGLOBINA

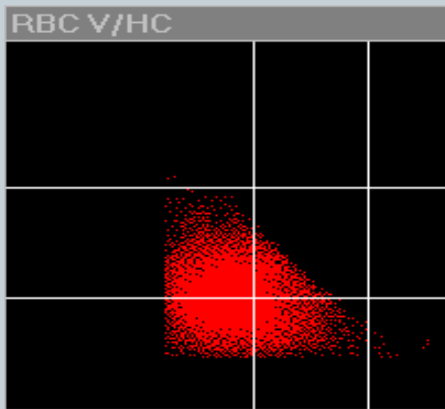




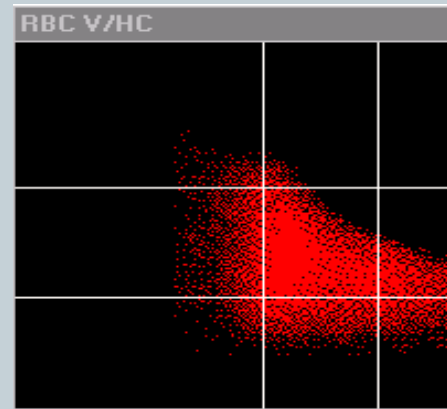
Normale



Tratto β -Talassemico



Anemia sideropenica



Anemia falciforme

HDW indice di distribuzione dell'emoglobina

Le *modificazioni* dell'istogramma HDW forniscono *informazioni precoci e sensibili* delle *variazioni dello stato di emoglobinazione* della popolazione dei Globuli Rossi : rappresentano in modo dinamico lo stato di emoglobinazione a livello midollare.

ERITROCITI – Globuli Rossi

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

CELLULA

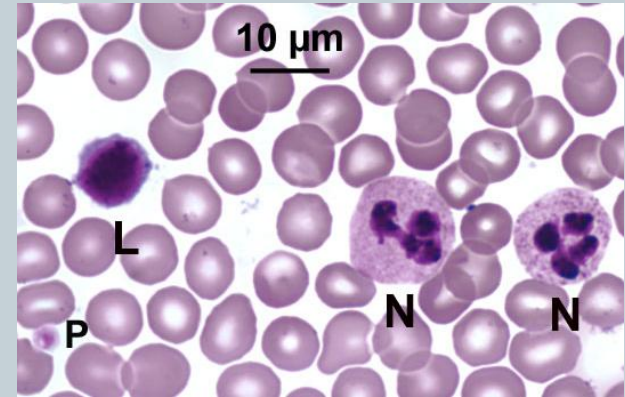
- Dimensioni
- Morfologia

NUCLEO

- Dimensioni
- Posizione
- Morfologia (unico, lobulato, segmentato)
- Colorabilità
- Disposizione della cromatina (densità, omogeneità, tessitura)
- Rapporto N/C
- Nucleoli

CITOPLASMA

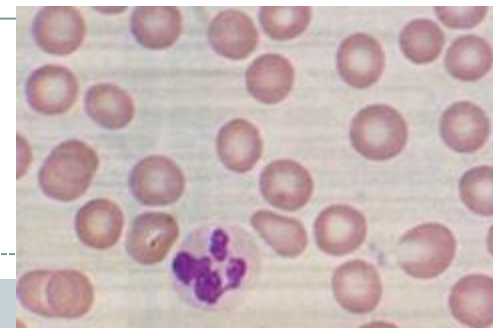
- Dimensioni
- Colorabilità
- Granulazioni



In caso di malattia gli eritrociti presentano delle variazioni nelle dimensioni nella forma, nel contenuto emoglobinico, nella proprietà di colorazione

COLORAZIONE

emoglobinizzazione (colore)



Esprime la quantità di emoglobina contenuta nel GR.

Colorazione utilizzata per lo striscio di sangue periferico: May-Grunwald-Giemsa

Normocromici: Presentano **un'area pallida centrale** grande circa **1/3** del diametro (MCH nella norma).



Se maggiore → **ipocromia** (MCH e MCHC inferiore alla norma),
in anemie sideropeniche e talassemia.

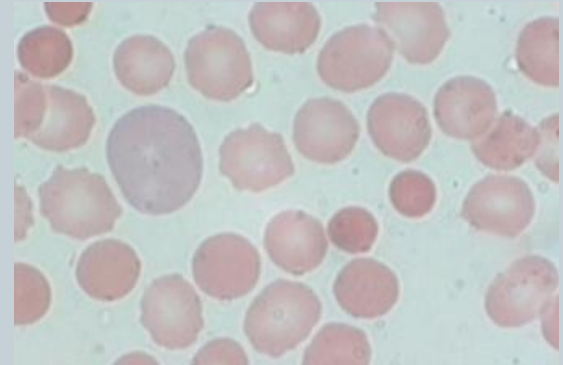


MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI



ANISOCITOSI

variabilità nelle dimensioni degli eritrociti

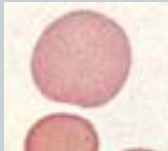






POICHILOCITOSI

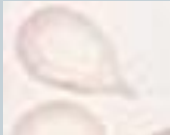



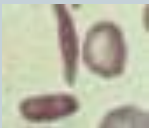
presenza di forme diverse di eritrociti







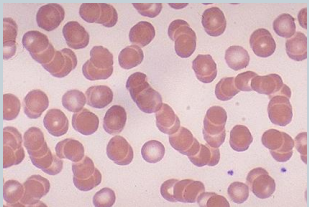
MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

		Aspetto	Cause principali
Macroцити		Volume ↑	Anemie megaloblastiche Epatopatie croniche Eritropoiesi aumentata Alcolismo
Microцити		Volume ↓	Deficit sintesi di Hb
Anulociti		Anello periferico sottile Zona centrale molto ampia	Anemie sideropeniche
Dacriociti		Emazie a lacrima	Talassemie Sindromi mieloproliferative Sindromi mielodisplastiche
Schistociti		Frammenti di GR	Anemie emolitiche CID Morbo di Moschowitz

MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

		Aspetto	Cause principali
Ovalociti		Forma emazie ovalare	Anemie secondarie Ovalocitosi ereditaria
Cellule a bersaglio		Emazie colorate al centro e alla periferia con zona chiara intermedia	Morbo di Cooley Altre emoglobinopatie
Ellissociti		Forma emazie ellittica	Ellissocitosi ereditaria Altre anemie
Sferociti		Forma emazie sferica Diametro e Spessore ↓ ↑	Sferocitosi ereditaria Anemie emolitiche autoimmuni
Drepanociti		Forma emazie a falce (allungata e ricurva)	Anemia falciforme

MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

		Aspetto	Cause principali
Acantociti		Superficie ricoperta di protuberanze disposte irregolarmente e di forma grossolana	α - β lipoproteinemia congenita Malattie epatiche Pz splenectomizzati
Stomatociti		Forma emazie concava con zona centrale chiara lineare	Stomatocistosi
Cheratociti		Superficie emazie con due protuberanze alle estremità	Disturbi della circolazione (CID, malattie emolitiche)
Echinociti		Superficie emazie irregolarmente ricoperta di protuberanze a forma di spina	Alterazione del metabolismo eritrocitario
Rouleaux		Impilamento degli eritrociti (pile di monete)	Tassi elevati di fibrinogeno e globulina nel plasma (elevata viscosità del sangue)

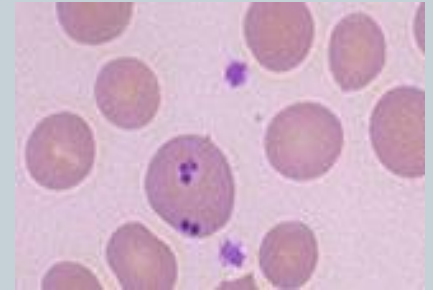
MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

INCLUSIONI ERITROCITARIE



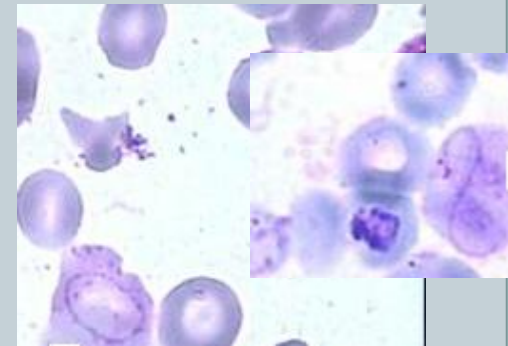
CORPI DI HOWELL-JOLLY:

Frammenti di DNA nucleare alla periferia della cellula.
Possono comparire per incompleta espulsione del nucleo.
Frequenti nei pazienti splenectomizzati, nelle anemie emolitiche e megaloblastiche



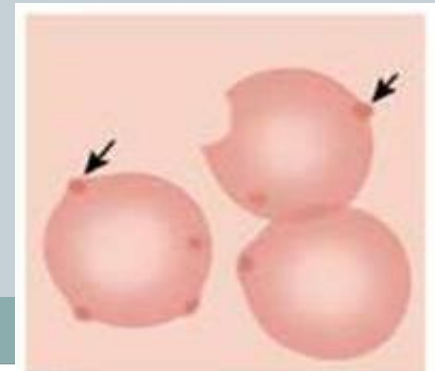
ANELLI DI CABOT:

Strutture ad anello o a forma di otto, costituite da materiale mitotico.
Frequenti nelle anemie emolitiche



CORPI DI HEINZ:

Sono indicativi della presenza di emoglobina denaturata. Visibili in globuli rossi suscettibili allo stress ossidativo



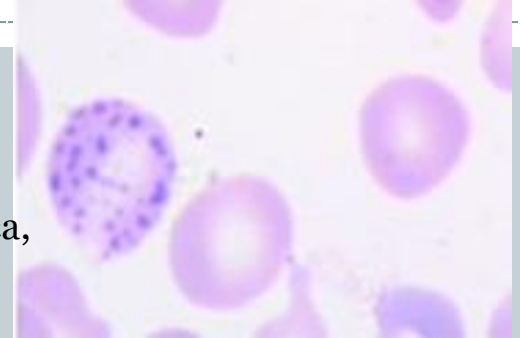
MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

INCLUSIONI ERITROCITARIE



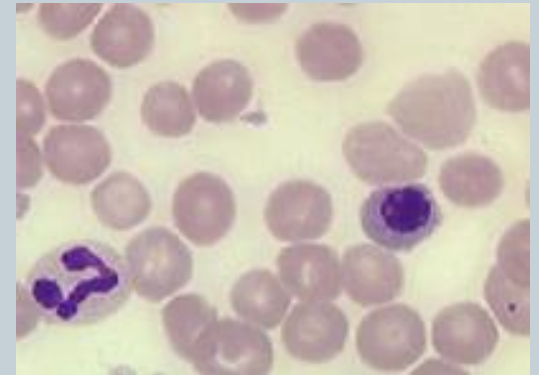
PUNTEGGIATURA BASOFILA:

Si evidenzia quando si ha persistenza di RNA all'interno dei GR.
Frequente nei casi di avvelenamento da Pb, anemia megaloblastica, talassemia



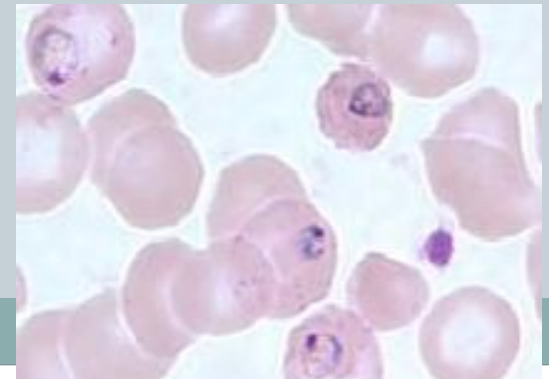
GLOBULI ROSSI NUCLEATI:

Normoblasti=precursori dei globuli rossi maturi.
Presenti in circolo solo nel feto e nei primi gg di vita, rilasciate in circolo cellule immature per intensa attività eritropoietica o per eritropoiesi extramidollare.



GRANULAZIONI MALARICHE:

Fini granuli negli eritrociti che albergano un *P. vivax*.



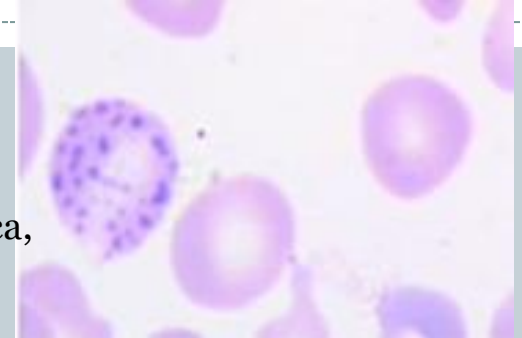
MORFOLOGIA DEGLI ERITROCITI

INCLUSIONI ERITROCITARIE



PUNTEGGIATURA BASOFILA:

Si evidenzia quando si ha persistenza di RNA all'interno dei GR.
Frequente nei casi di avvelenamento da Pb, anemia megaloblastica, talassemia



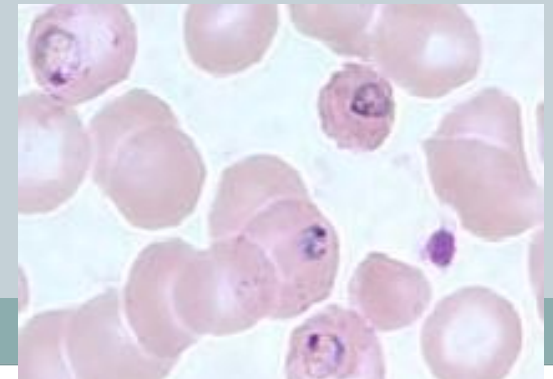
GLOBULI ROSSI NUCLEATI:

Normoblasti=precursori dei globuli rossi maturi.
Presenti in circolo solo nel feto e nei primi gg di vita, rilasciate in circolo cellule immature per intensa attività eritropoietica o per eritropoiesi extramidollare.



GRANULAZIONI MALARICHE:

Fini granuli negli eritrociti che albergano un *P. vivax*.



ALTERAZIONI DEI GLOBULI ROSSI



Anemia: riduzione del patrimonio emoglobinico al di sotto di 13.5 g/dL nell'uomo e nella donna post-menopausa; al di sotto di 11.5 g/dL nella donna in età fertile

LIVELLI DI EMOGLOBINA (g/dl) CHE DEFINISCONO L'ANEMIA

	Uomini	Donne
WHO	< 13.5 g/dL	< 11.5 g/dL
Jandl 1987	< 14.0 g/dL	< 12.0 g/dL
Wintrobe, 1993	< 14.0 g/dL	< 12.0 g/dL
Hoffbrand, 1994	< 13.5 g/dL	< 11.5 g/dL
Hoffman, 1995	< 14.0 g/dL	< 12.0 g/dL
Tura, 1997	< 12.5 g/dL	< 11.5 g/dL

Emocromo

Alterazioni degli eritrociti

La morfologia degli eritrociti può subire numerose modifiche, rappresentando un segnale o una conseguenza di diversi stati morbosi.

Si riconoscono alterazioni

- delle dimensioni
- della forma
- della colorazione

Emocromo

Alterazioni delle dimensioni

Macroцитosi

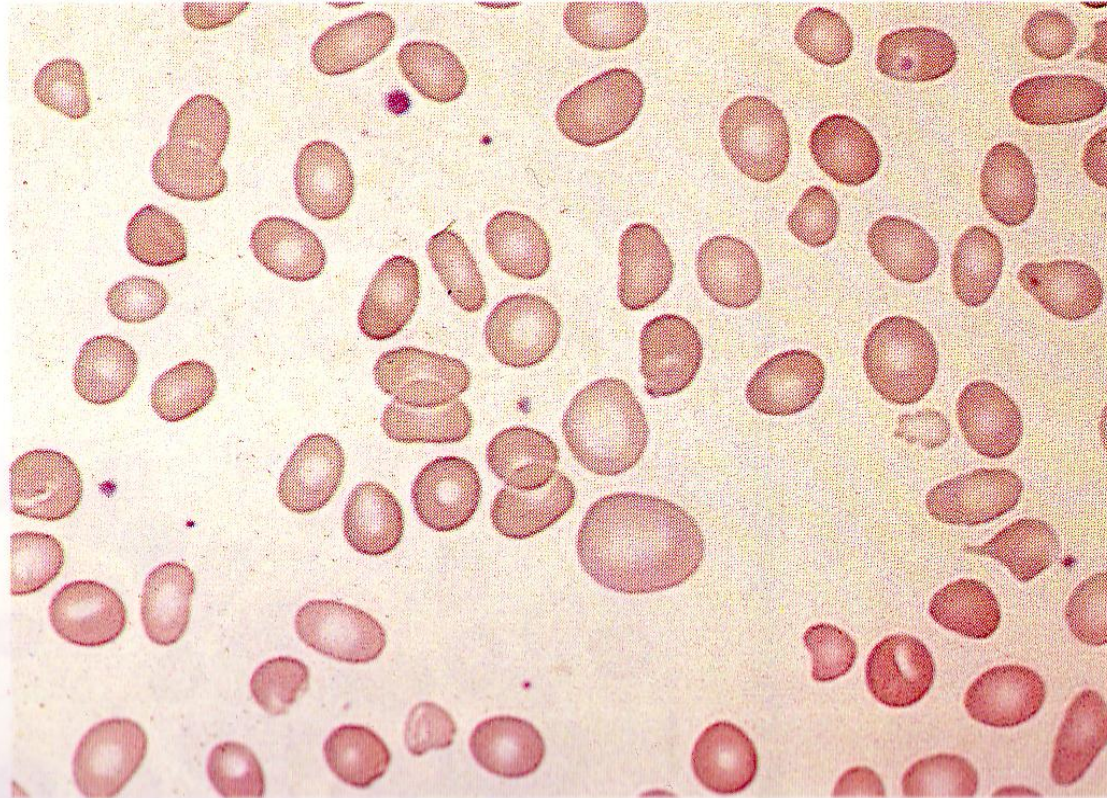
Anemia megaloblastica

Anemia post emorragica

Anemia emolitica

Emocromo

Macroцитоси



Emocromo

Alterazioni delle dimensioni

Microcitosi

Anemia sideropenica

Talassemia

Emoglobinopatie

Emocromo

Microcitosi

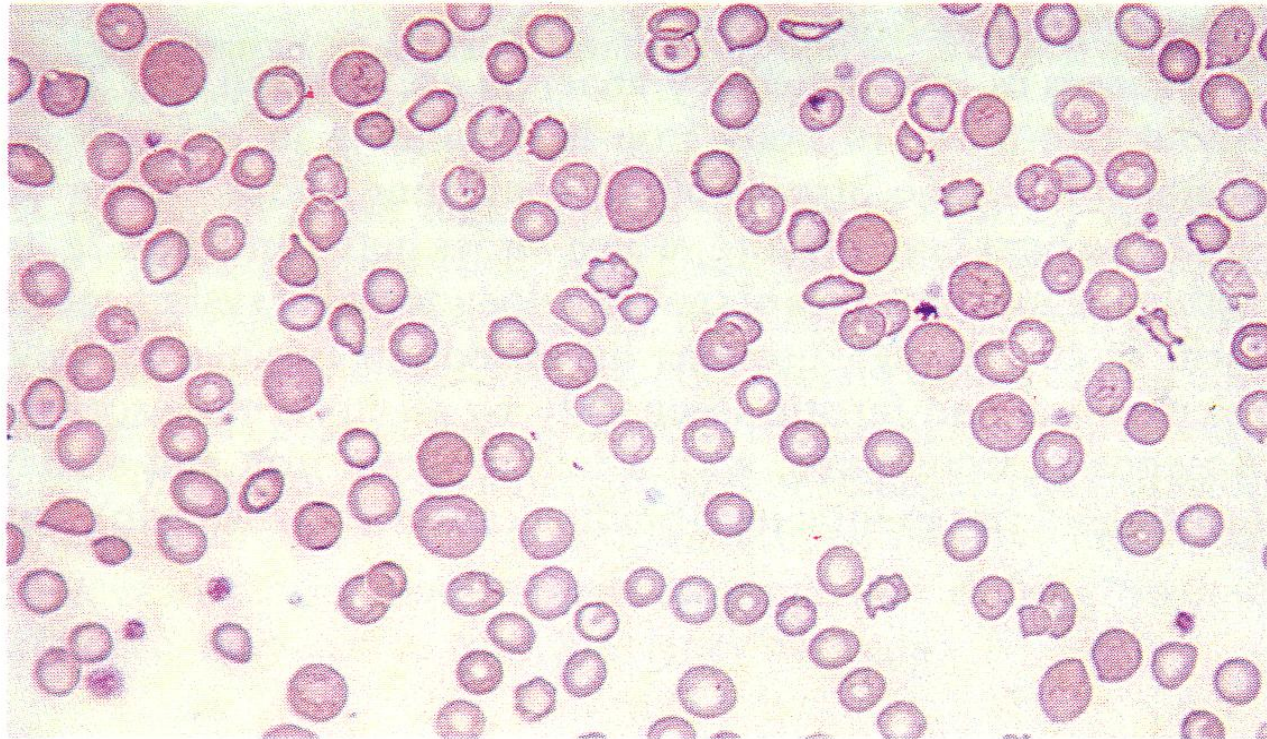


Fig. 2.12

Emocromo

Alterazioni delle dimensioni

Anisocitosi

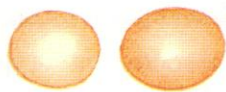
contemporanea presenza di cellule di dimensioni variabili, aumentate o ridotte

alterazioni dell'eritropoiesi

Emocromo

Alterazioni della forma

- sferociti	sferocitosi ereditaria, AEA
- cellule a bersaglio	a.falciforme, talassemia, emoglobinopatie
- stomatociti	m. emolitiche
- ellissociti	sideropenia, talassemia, ellissocitosi
- dacriociti	m.mieloproliferative
- drepanociti	a. falciforme
- schistociti	CID
- acantociti	m. emolitiche
- poichilociti	diverse emopatie
- megalociti	a. megaloblastiche



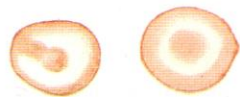
Normali



Crenati



Echinociti



Codociti



Sferociti



A chicco



Drepanociti



Cristalli in HbSC



Cristalli in HbCC



Ellissociti



Stomatociti



Ripiegati



Acromia marginale



Ad elmetto



Pinzati



Dacriociti



A filamento



Triangolari



Poichilosferociti



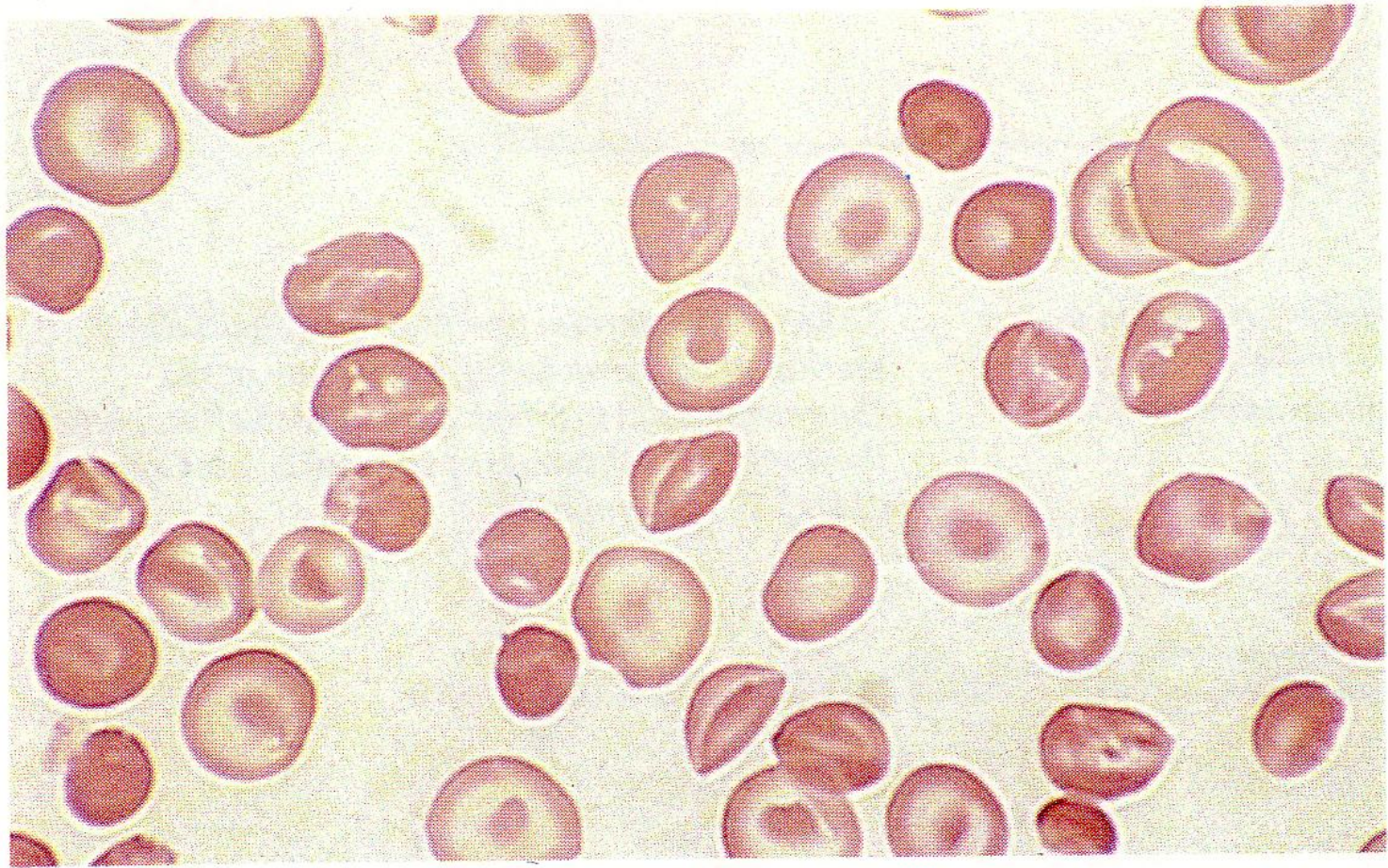
Acantociti



Schistociti

Emocromo

Cellule a bersaglio



Emocromo

Cellule a bersaglio

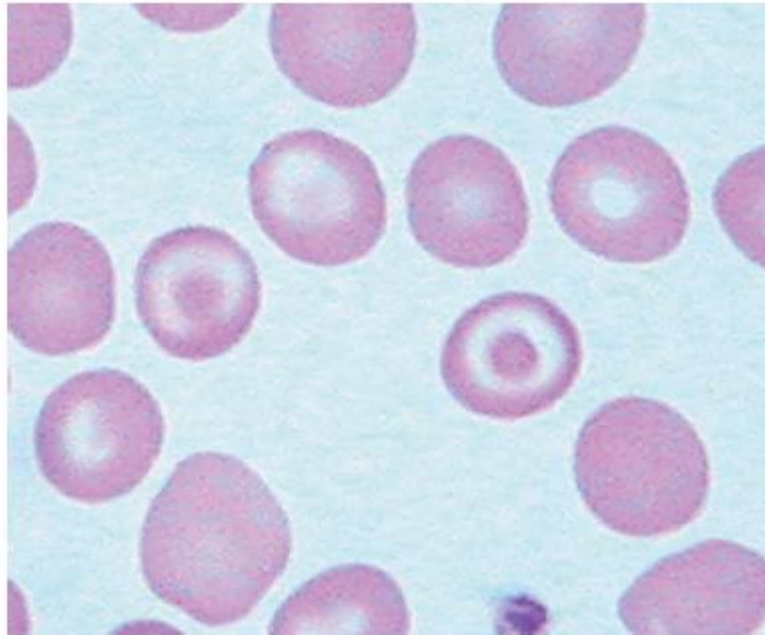
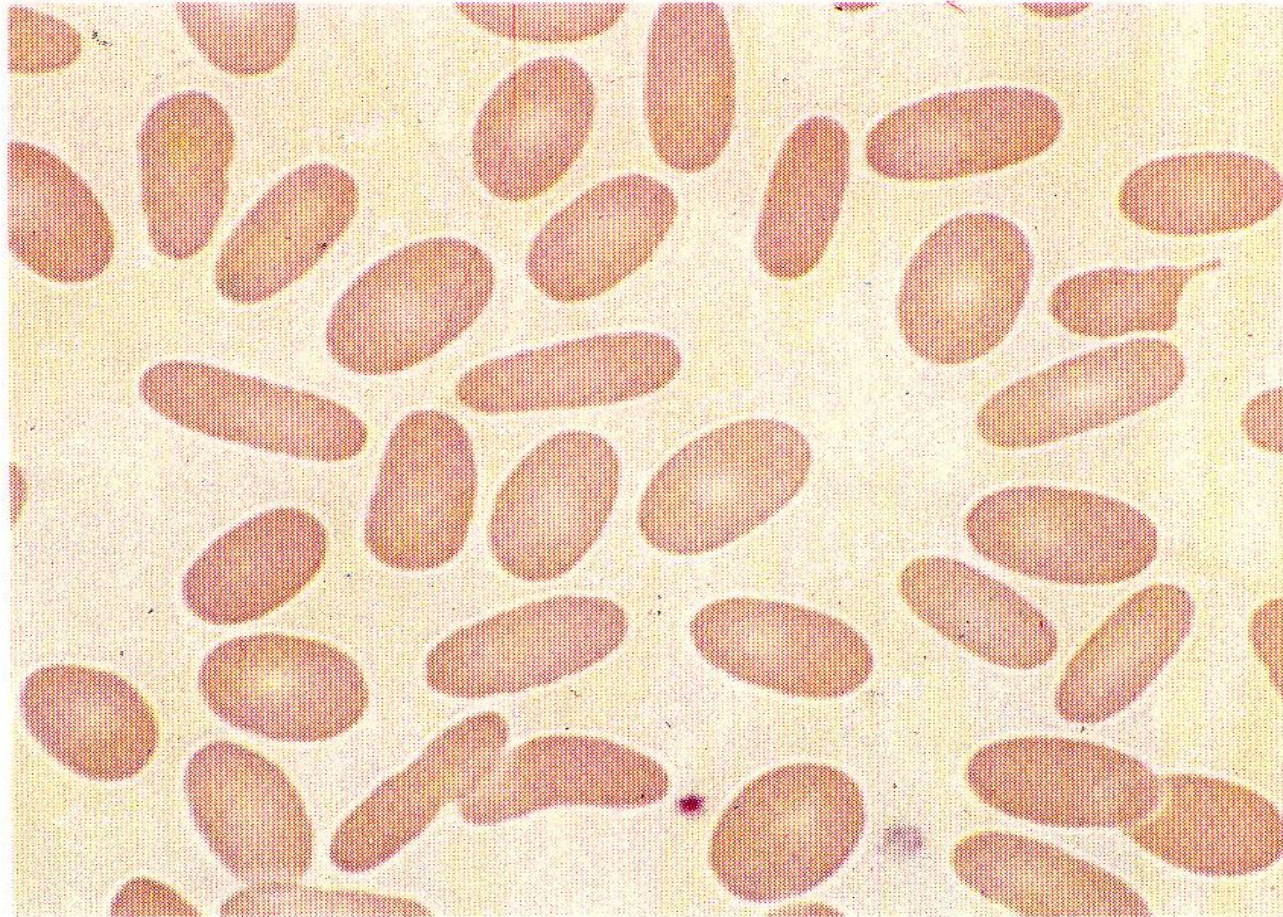


FIGURA 10-22 Striscio di sangue periferico con cellule a bersaglio.

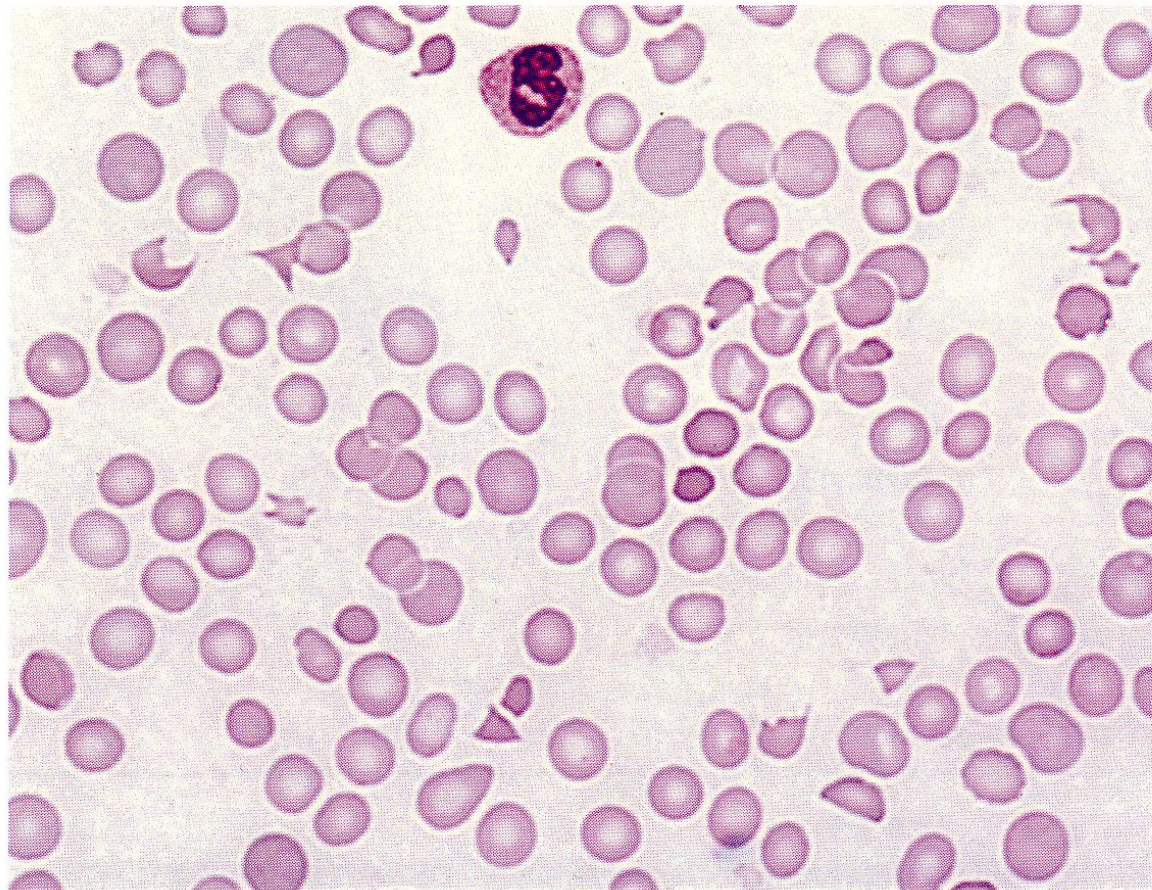
Emocromo

Ellissociti



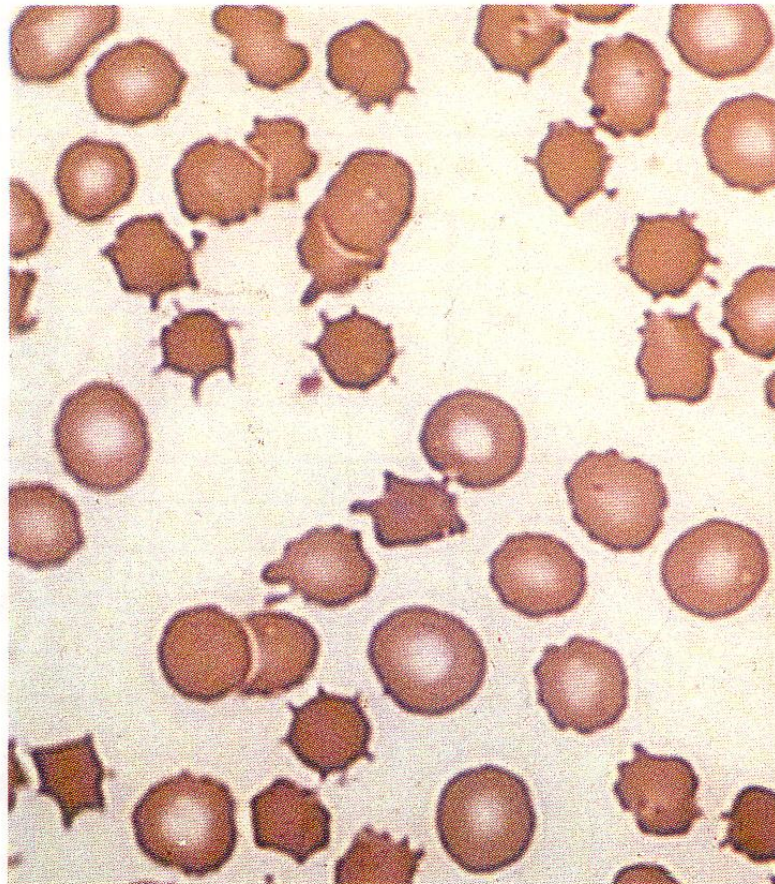
Emocromo

Schistociti



Emocromo

Acantocitosi



Emocromo

Dacriociti e echinociti

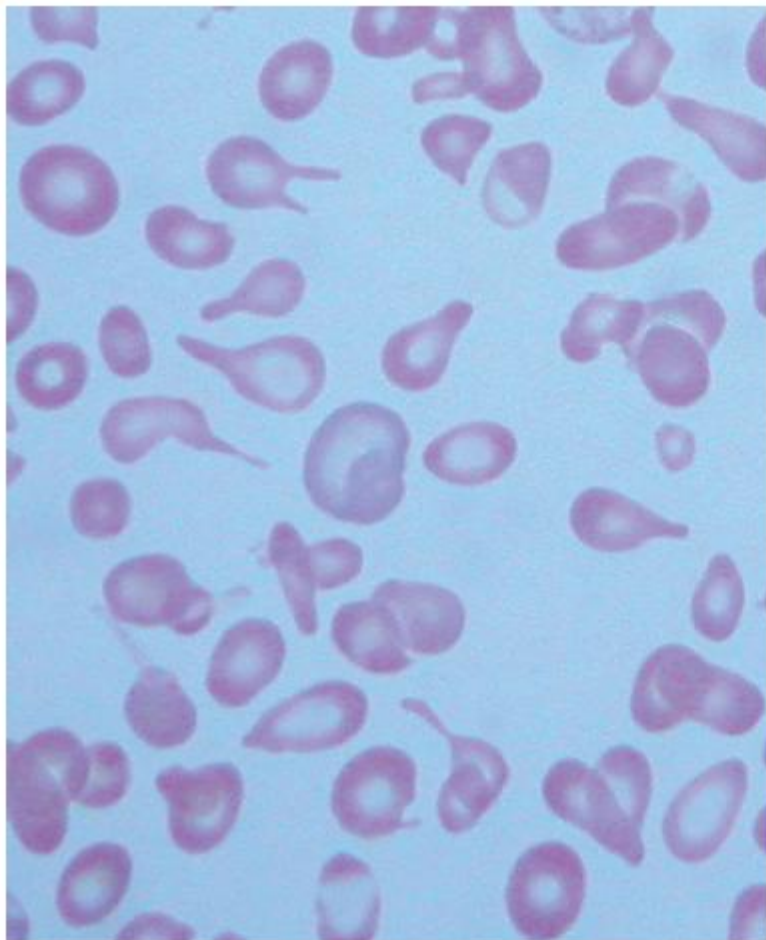


FIGURA 10-7 Striscio di sangue periferico con dacriociti.

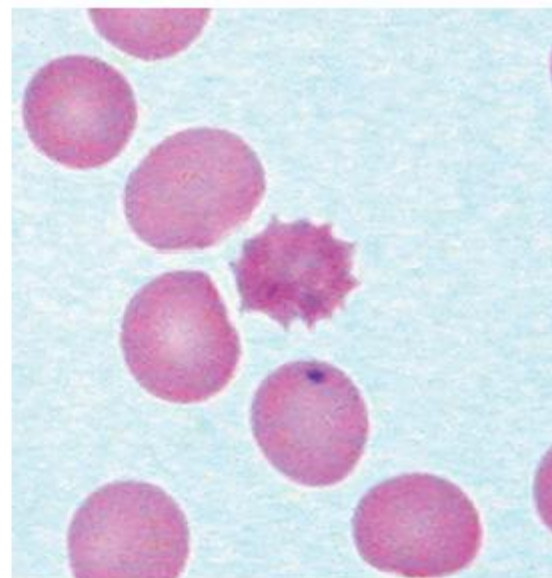


FIGURA 10-8 Striscio di sangue periferico con echinocita.

Emocromo

Ellissociti

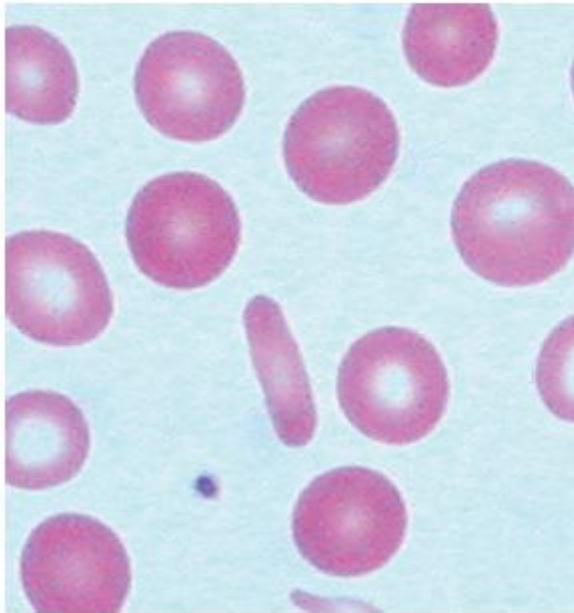


FIGURA 10-15 Striscio di sangue periferico che mostra un ellissocita.

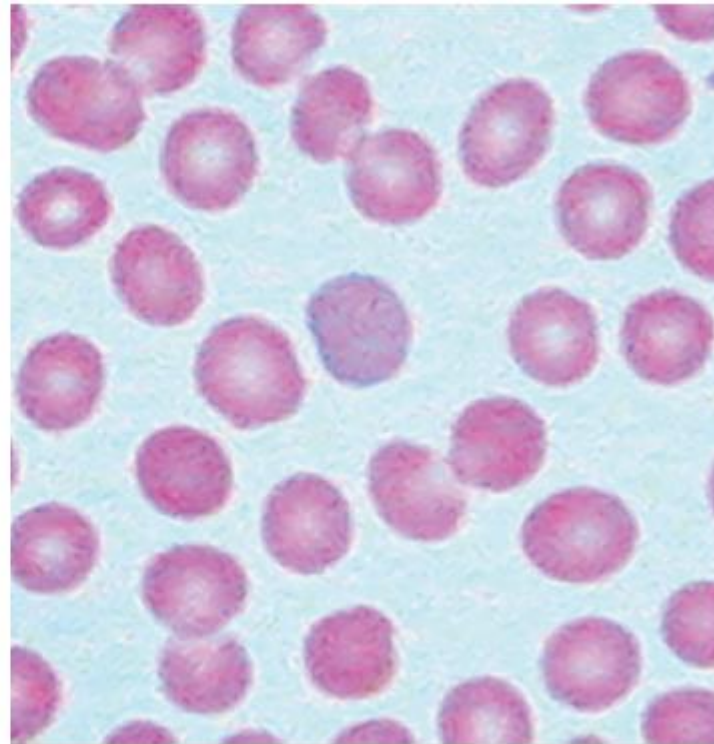


FIGURA 10-16 Striscio di sangue periferico colorato con colorazione di Wright che mostra un reticolocita.

Emocromo

Cellule falciformi

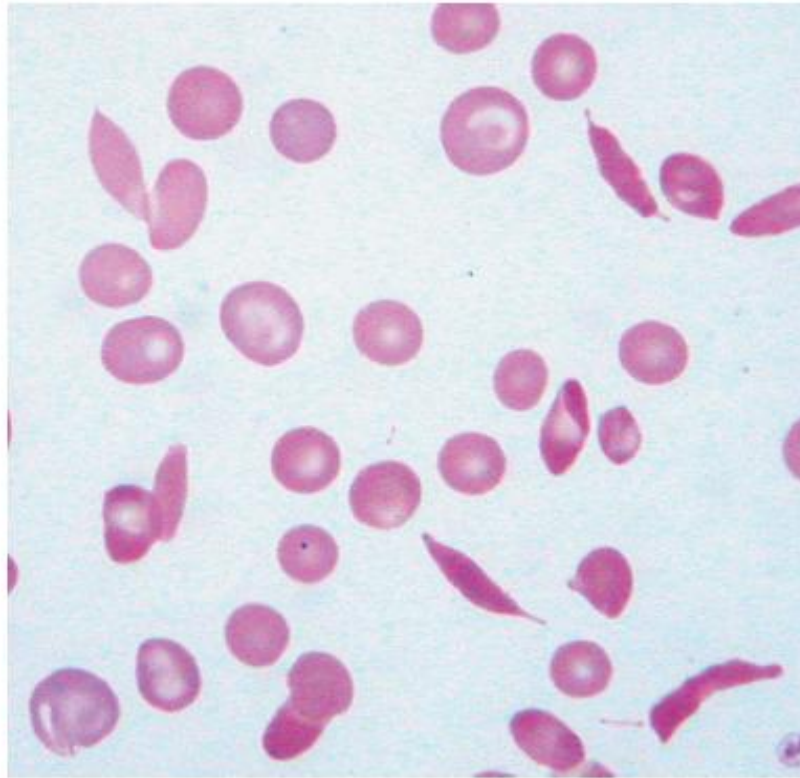


FIGURA 10-19 Striscio di sangue periferico con cellule falciformi.

Emocromo

Sferociti

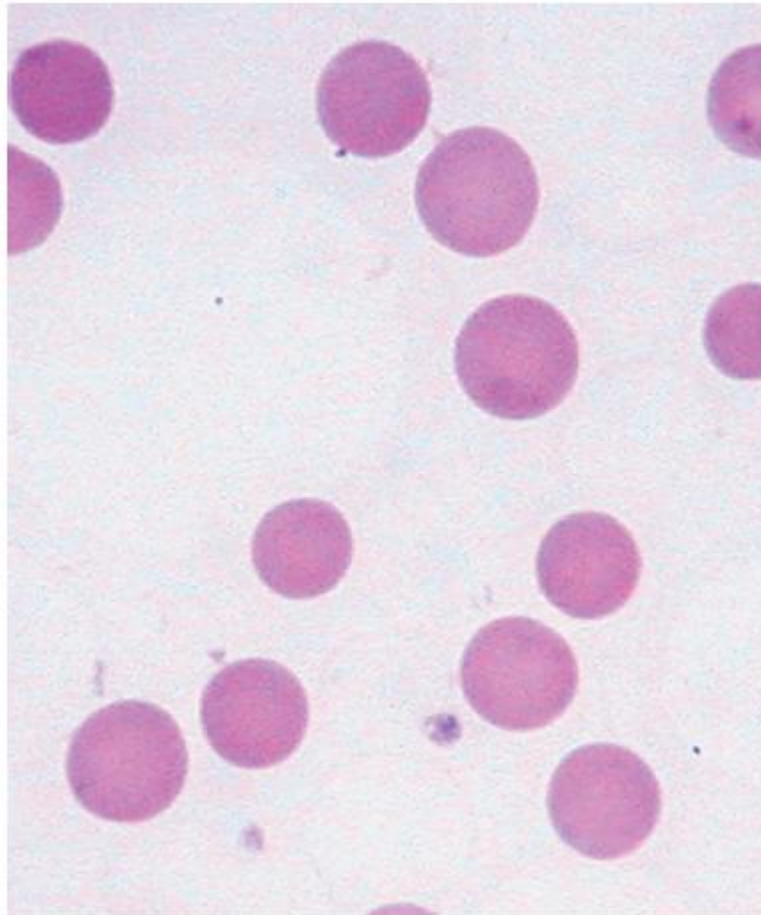


FIGURA 10-21 Striscio di sangue periferico con sferociti.

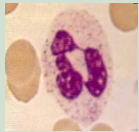
Emocromo

Alterazioni della colorazione

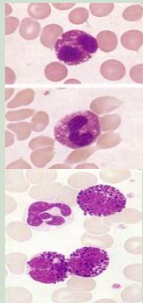
- Ipocromia emazie più pallide del normale per riduzione del contenuto emoglobinico dovuto a deficit di ferro o ad alterata sintesi emoglobinica
- Policromasia presenza in circolo di numerosi reticolociti, le cui caratteristiche tintoriali sono intermedie tra acidofilia e basofilia
- Anisocromia presenza di emazie a colorazione diversa, una normocromica, l'altra ipocromica

Emocromo

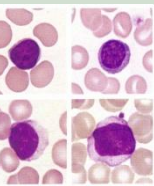
I globuli bianchi hanno funzioni diversificate:



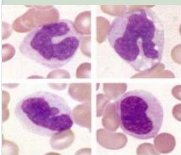
neutrofilo: difesa dell'organismo dalle infezioni, specie batteriche



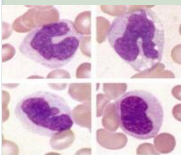
eosinofilo: difesa dell'organismo da alcuni tipi di parassiti. Aumentano anche nelle malattie allergiche



basofilo: la loro funzione non è molto ben nota. Aumentano nelle allergie, contengono istamina



linfocita: comprendono diversi sottotipi (B, T, NK) non riconoscibili al microscopio ottico



monocita: difesa dalle infezioni specie batteriche

Emocromo

emoglobina/globuli rossi

↓
anemia

↑
poliglobulia

leucociti

leucopenia

leucocitosi

piastrine

piastrinopenia

piastrinosi

ALTERAZIONI DEI GLOBULI ROSSI



Tabella 12.3 Classificazione delle anemie secondo MCV e morfologia

Microcitiche (MCV <80 fl)	Normocitiche (MCV 80-100 fl)	Macrocitiche (MCV >100 fl)
<p>Generalmente microcitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sideropenica (deficit di ferro) • Talassemie • Sideroblastosi ereditaria <p>Occasionalmente microcitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Condizioni croniche • Emoglobinopatie 	<p>Generalmente normocitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anemia ipoproliferativa • Anemia second. malignità • Anemia refrattaria mielodisplastica • Anemia emolitica • Emoglobinopatie • Anemia post-emorragica • Condizioni croniche • Sideroblastosi acquisita <p>Occasionalmente normocitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fase precoce sideropenia 	<p>Generalmente macrocitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Deficit di acido folico • Deficit di vitamina B12 • Epatopatie • Anemia emolitica • Anemia post-emorragica <p>Occasionalmente macrocitiche</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anemia ipoproliferativa • Anemia refrattaria



A cura di M. Ciaccio – G. Lippi
Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio

Edises

Cosa analizziamo nel dettaglio



PARAMETRI			
RBC	RET%/#	PLT	WBC totali
HGB	LFR	MPV	Linf %/#
HCT	MFR	PDW	Mono %/#
MCV	HFR	PCT	Neut %/#
MCH	IRF	P-LCR	Eo %/#
MCHC			Baso %/#
RDW-CV			IG%/#
RDW-SD			LUC
NRBC			

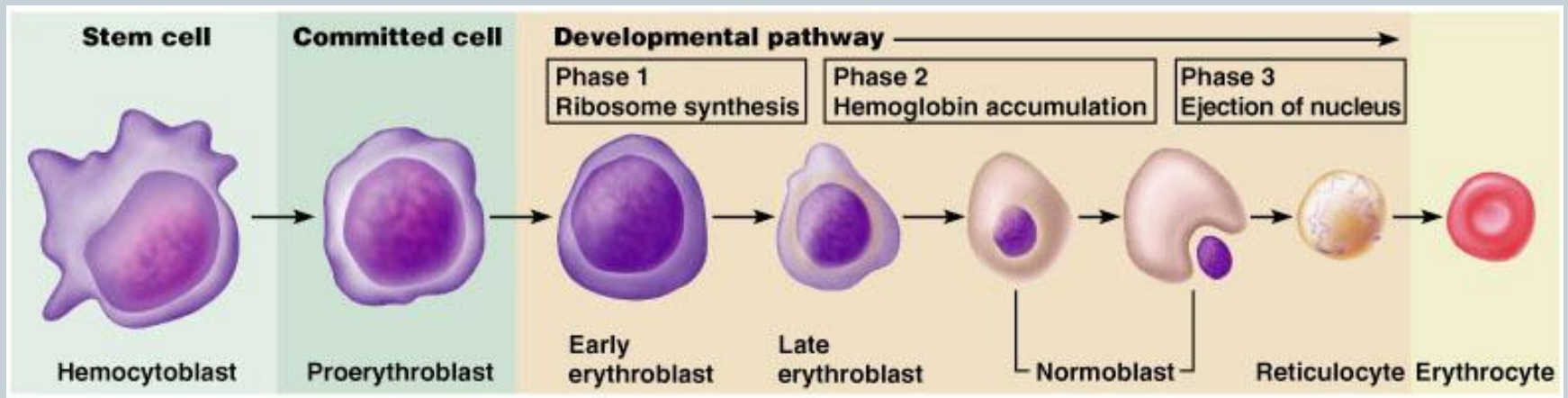
RETICOLOCITI



Rappresentano l'ultima fase della **maturazione eritrocitaria intramidollare**.

Sono eritrociti giovani, appena immessi nel circolo sanguigno e conservano per almeno 24h un esiguo numero di ribosomi.

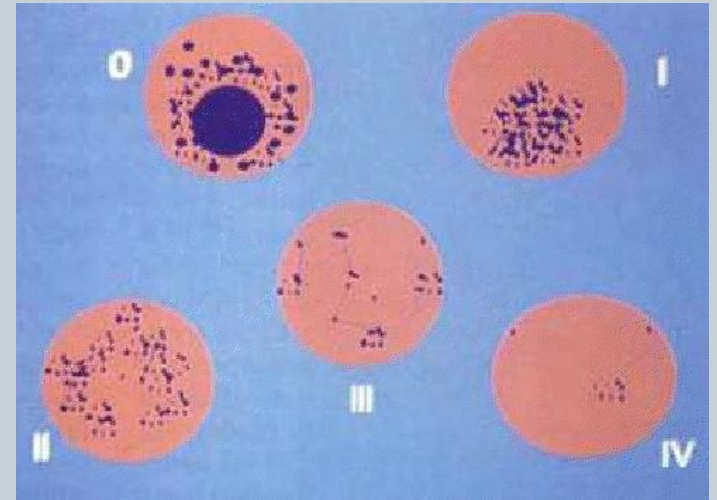
E' proprio questa caratteristica a determinare la loro denominazione. Infatti con una particolare colorazione (coloranti basici) precipitano sotto forma di sostanza granulosa e filamentosa, appunto **reticolare**.



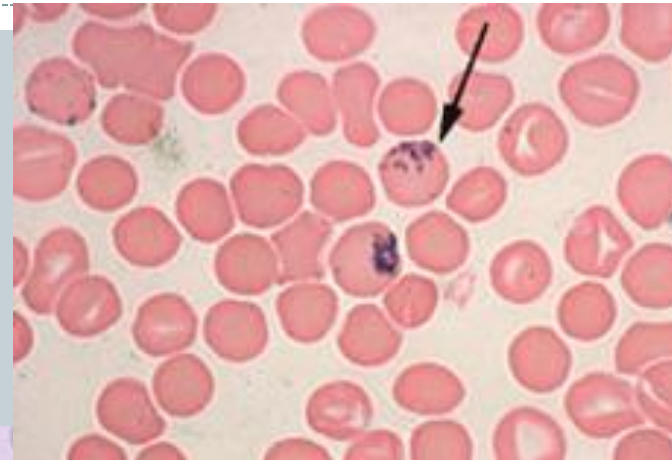
RETICOCOCITI



- Possono essere immessi in circolo prima del completamento maturativo come **risposta ad una aumentata richiesta eritrocitaria**
- Il conteggio del reticolocita nel sangue periferico ha importanza per valutare indirettamente **l'attività eritrocitaria del midollo osseo**
- I reticolociti sono presenti sia a livello **midollare** che nel **sangue periferico**, dove rappresentano lo 0.5-2% dei globuli rossi totali

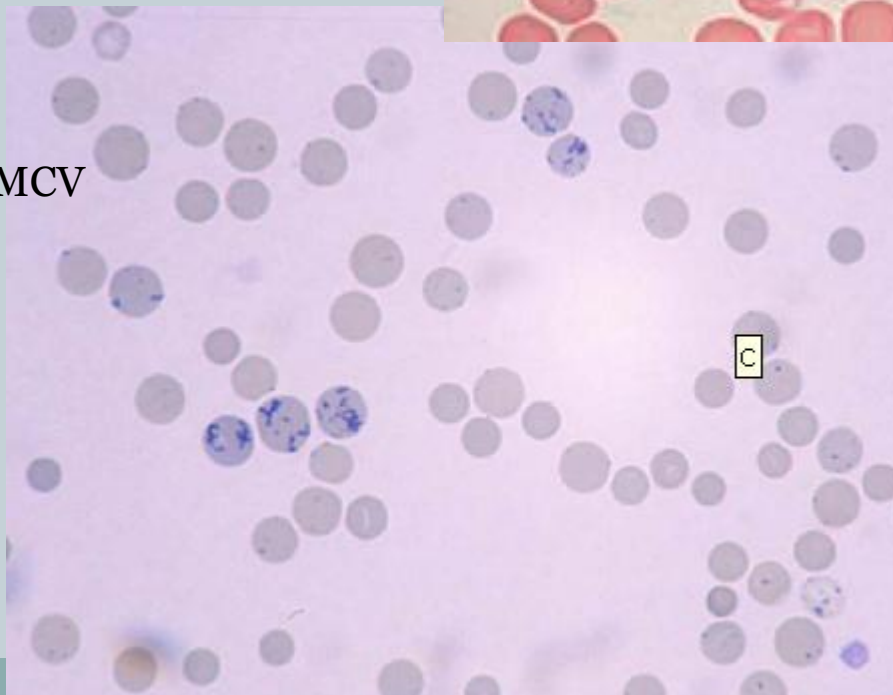


RETICOLOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA



Normalmente < 2.5% dei GR

Se > 2.5% possono determinare \uparrow MCV



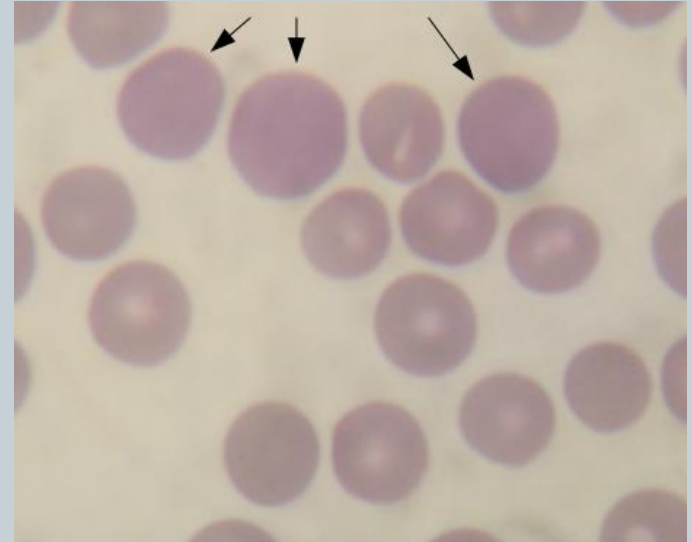
RETICOLOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



Policromatofilia:

Cellule di dimensioni maggiori
(possibile assenza del pallore centrale) e
colorazione diffusa blu/grigio



ALTERAZIONE DEI RETICOCITI



I Reticolociti sono importanti per la diagnosi di anemia

Reticolociti ridotti: **Anemia ipoproliferativa**



- Difetto dei progenitori eritroidi (anemia aplastica)
- Difetto nella produzione di emoglobina (sideropenia, talassemia)
- Difetto nella sintesi DNA (carenza di vitamina B12 e acido folico)
- Anemia da disordine cronico (IL6, IL1, TNF-alfa, EPO, IRC)

ALTERAZIONE DEI RETICOLOCITI

Sono importanti per la diagnosi di anemia

Reticolociti aumentati: **Reticolocitosi**

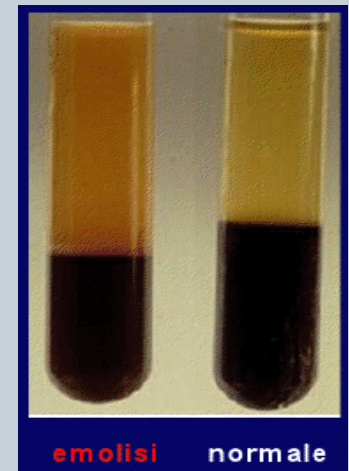
Anemie emolitiche e/o post-emorragiche

Cause intrinseche (difetto congenito)

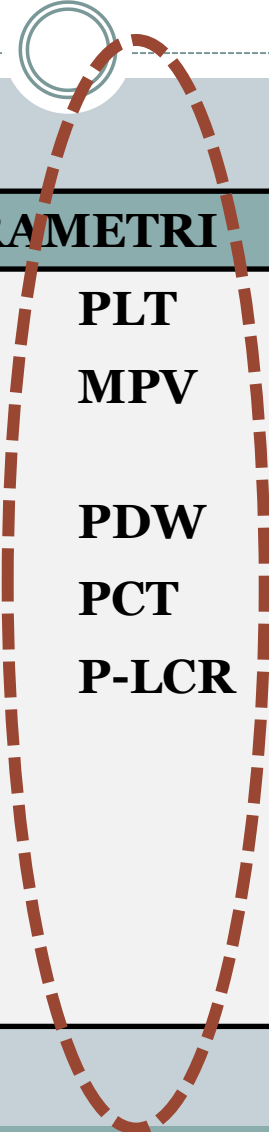
- Emoglobinopatie
- Difetti di membrana
- Difetti enzimatici

Cause estrinseche (difetto acquisito)

- Traumi meccanici
- Insulti fisici
- Anticorpo-mediato



Cosa analizziamo nel dettaglio

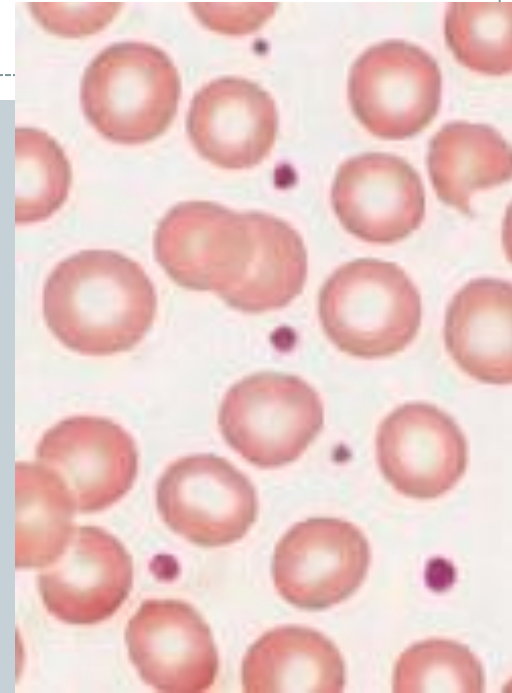
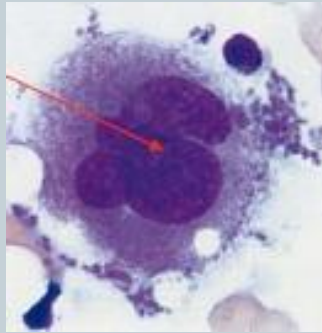


PARAMETRI			
RBC	RET%/#	PLT	WBC totali
HGB	LFR	MPV	Linf %/#
HCT	MFR	PDW	Mono %/#
MCV	HFR	PCT	Neut %/#
MCH	IRF	P-LCR	Eo %/#
MCHC			Baso %/#
RDW-CV			IG%/#
RDW-SD			LUC
NRBC			

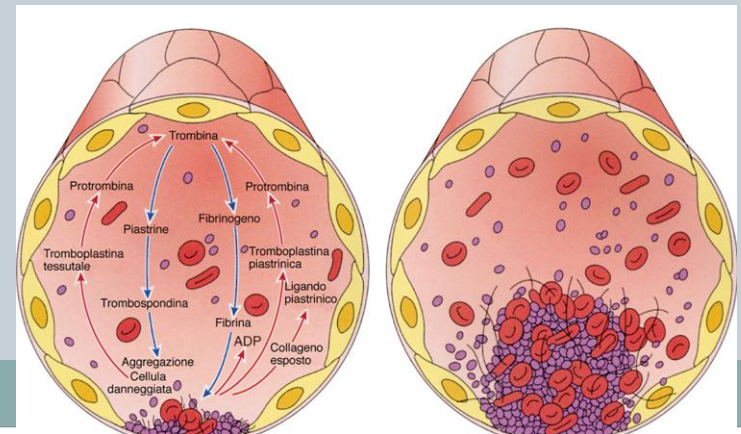
PIASTRINE

Piccole porzioni cellulari che derivano dalla frammentazione del citoplasma di grandi cellule poliploidi del midollo osseo dette **megacariociti**.

Hanno forma discoidale, che diventa sferica dopo attivazione
Sono molto piccole → 3-5 μm di diametro



A seguito dell'attivazione piastrinica si verificano una serie di eventi che portano alla **coagulazione del sangue**



PIASTRINE CONTEGGIO IN AUTOMAZIONE



Importanza di una buona esecuzione del prelievo

EDTA non sempre indicato

Anticoagulante utilizzato: **sodio citrato**



Valori normali 150.000/450.000

valore critico di allarme < 100.000

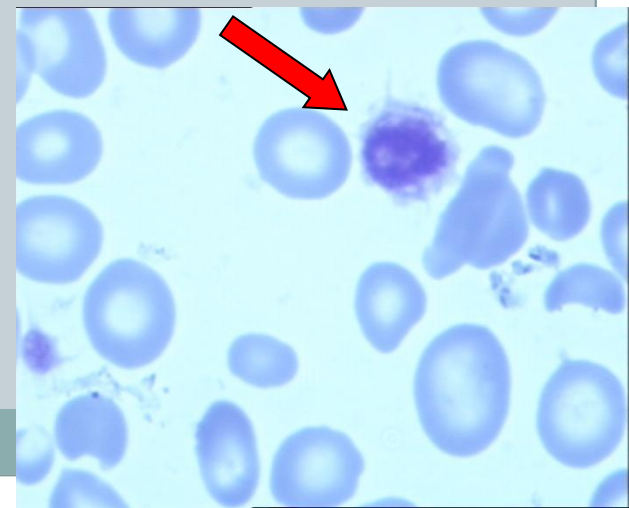
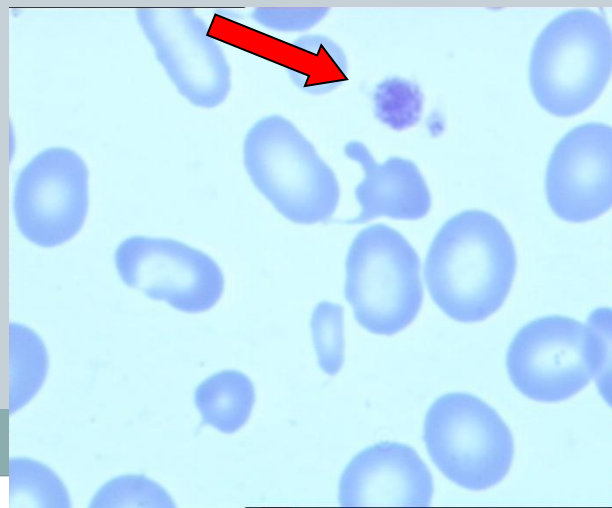
PIASTRINE

CONTEGGIO IN AUTOMAZIONE E VALUTAZIONE MICROSCOPICA



Conteggi piastrinici non attendibili si ottengono in presenza di

- Aggregati
- Piastrine giganti
- Microciti
- Frammenti di eritrociti o leucociti



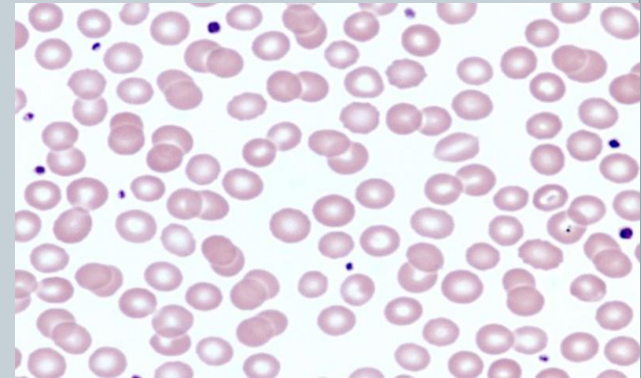
PIASTRINE

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



PIASTRINE NORMALI

Piccoli dischetti tra i GR di color porpora

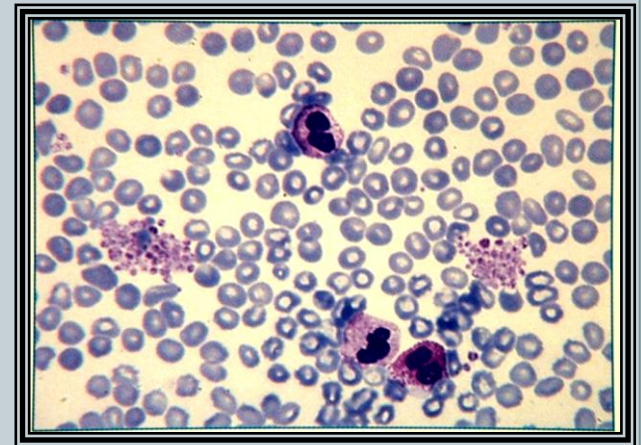


AGGREGATI PIASTRINICI

Gruppi formati da poche unità di piastrine (microaggregati) fino a oltre 50 unità (macroaggregati).

Le cause sono molteplici: prelievo difficile (più frequente), errore nell'utilizzo dell'anticoagulante.

Non è un fatto patologico ma bisogna fare attenzione a non sottostimare il conteggio delle piastrine.



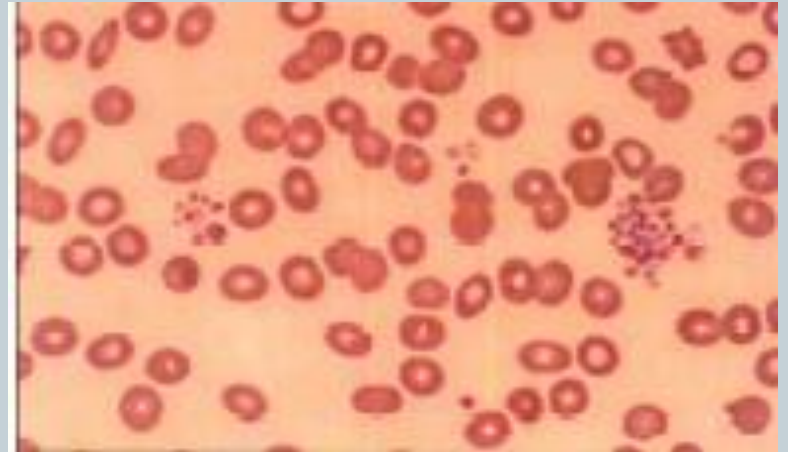
PIASTRINE

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



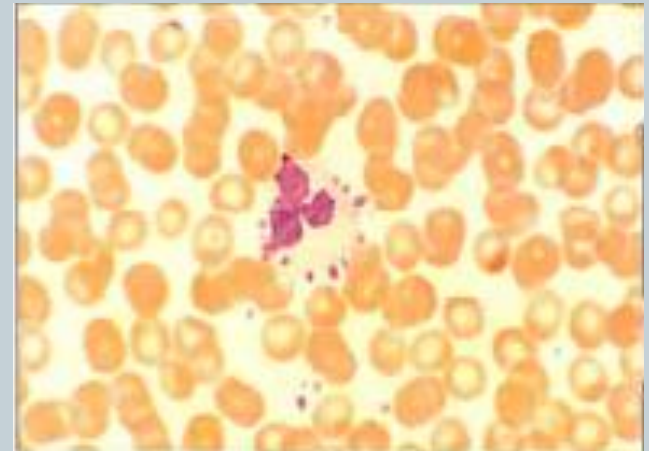
AGGLUTINAZIONE PIASTRINICA

Può verificarsi per la presenza di sostanze che annullano le cariche di superficie (es. presenza di anticorpi)



SATELLITISMO PIASTRINICO

Evidenza non comune, è di solito un fenomeno in vitro che si può verificare anche in soggetti sani. Altre cause possono essere rappresentate da vasculite, lupus o linfomi



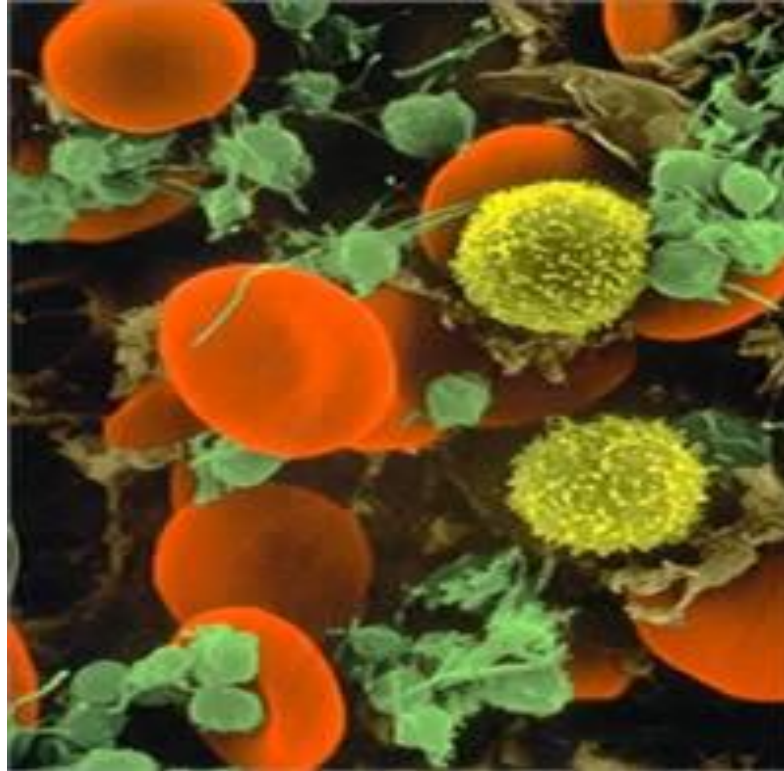
ALTERAZIONI DELLE PIASTRINE



TROMBOCITOPENIA

IMMUNE	NON IMMUNE	RIDOTTA PRODUZIONE	DEFICIT FUNZIONALE
Porpora autoimmune	CID	Infiltrazione m. osseo	Deficit f. Von Willebrand
Farmaco- indotta (eparina)	Porpora trombotica (infezioni, farmaci, carcinomi)	Farmaci	Malattia Bernard-Soulier
Post-Trasfusione	Sd emolitico-uremica	Anemia aplastica	
Neonatale	Ipersplenìa		
Ab-antifosfolipidi			

Emocromo



Emocromo

La riparazione definitiva di una lesione di un vaso richiede innanzitutto che la breccia venga chiusa.

Ciò si verifica per il formarsi di un coagulo costituito da piastrine e da un gel proteico di fibrina

Le piastrine sono frammenti citoplasmatici anucleati dei megacariociti.

Rimangono in circolo circa 10 giorni

La loro produzione può aumentare di 7-8 volte in seguito ad emergenze emostatiche

Emocromo

Svolgono due differenti funzioni:

proteggono l'integrità dell'endotelio vasale

innescano i meccanismi di riparazione quando la parete vasale è danneggiata

L'interazione tra piastrine e parete vascolare è detta emostasi primaria

Gli individui con alterazioni quantitative (piastrinopenia/trombocitopenia) o qualitative (piastrinopatia/trombocitopatia) delle piastrine presentano petecchie disseminate sulla cute e sulle mucose;

questi soggetti, inoltre, riescono solo con difficoltà ad arrestare emorragie conseguenti a lesioni vascolari

Analisi dello striscio di sangue periferico

Spesa: Bassa

Preparazione dello striscio automatica o manuale, seguita da un esame microscopico

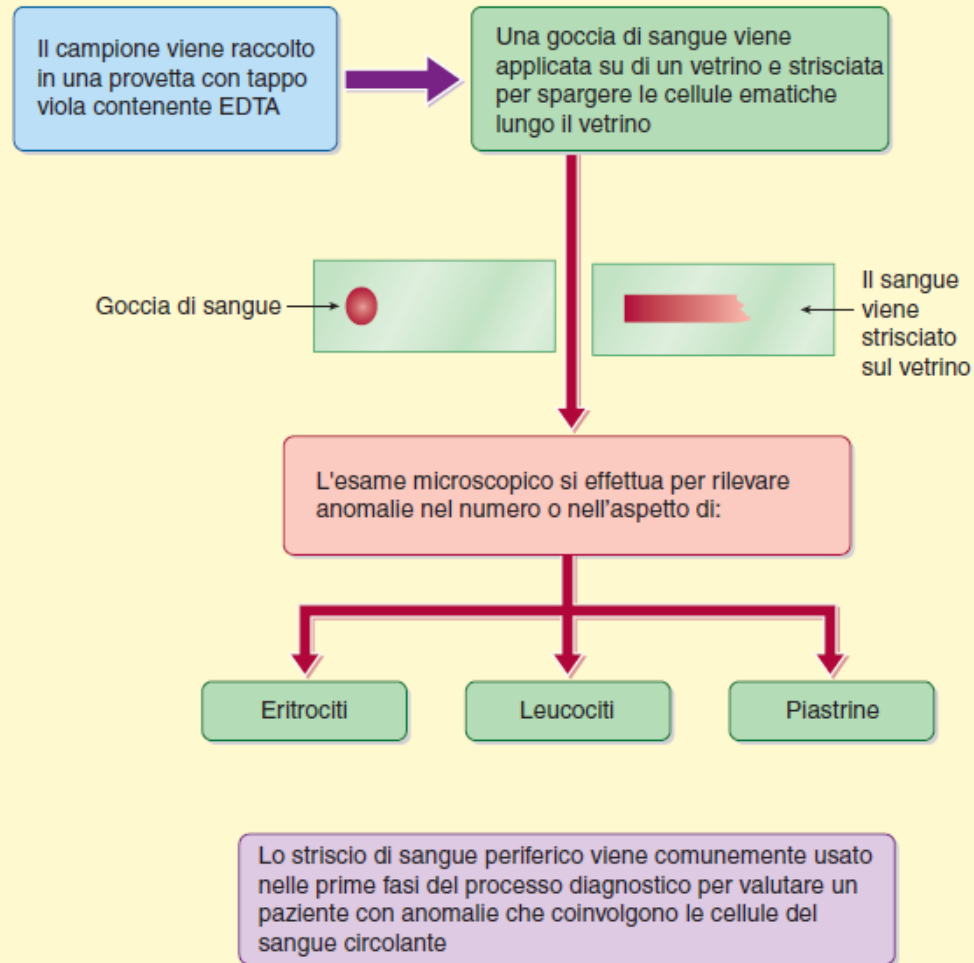
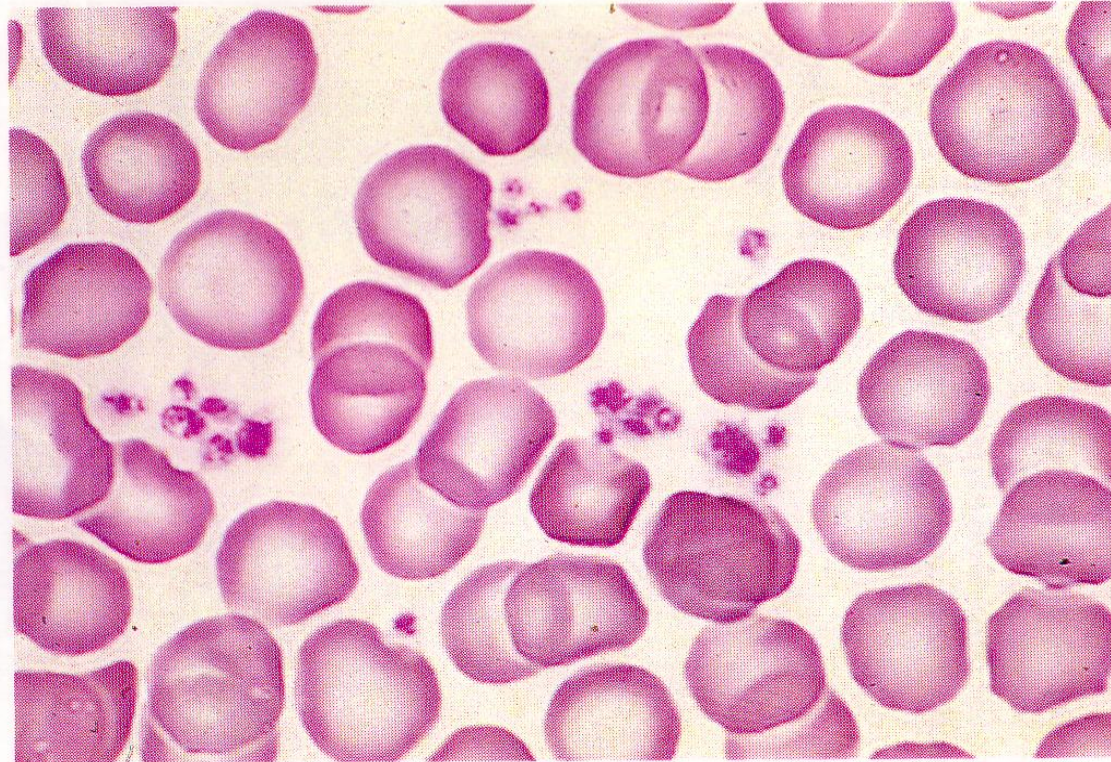


FIGURA 2-13

Emocromo

Piastrine

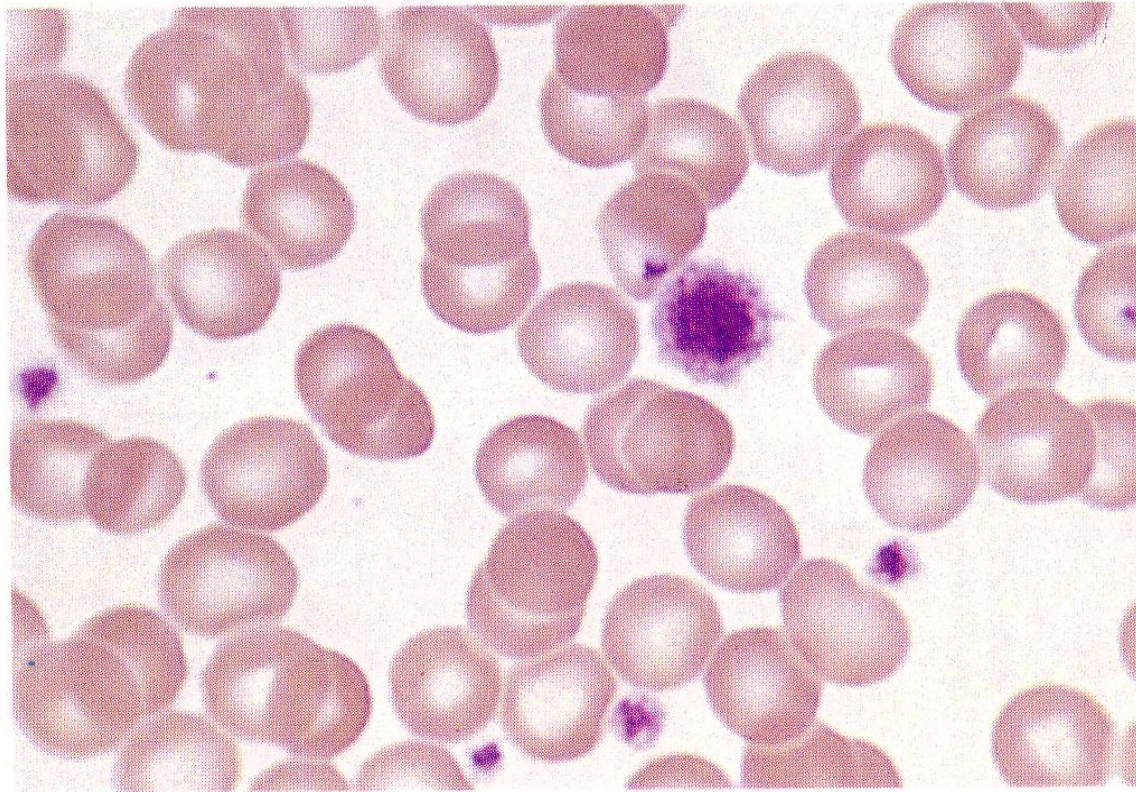


Emocromo



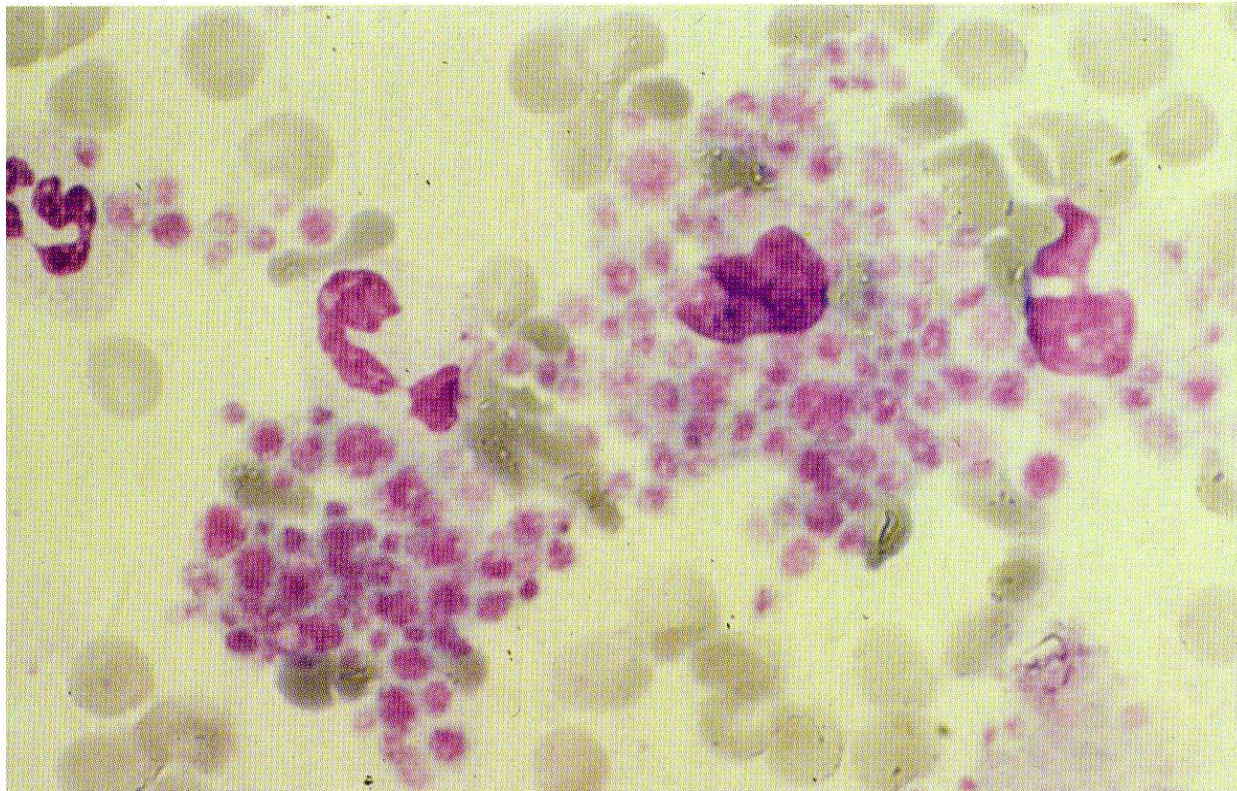
Emocromo

Piastrine giganti



Emocromo

Aggregati piastrinici



Emocromo

I contatori automatici sono in grado di misurare direttamente il numero delle piastrine.

Il numero normale delle piastrine deve essere compreso tra 150000 e 450000/microlitro

Inoltre viene fornito il volume medio (MPV mean platelet volume) che può essere utile nella valutazione delle piastrinopenie: un volume maggiore della norma suggerisce una ridotta sopravvivenza periferica delle piastrine

Emocromo

piastrine

piastrinopenia insufficiente produzione midollare
 aumentata distruzione periferica

piastrinosi fenomeno reattivo ad emorragia o a stati
 infiammatori cronici
 malattia proliferativa delle serie megacariocitaria

Cosa analizziamo nel dettaglio



PARAMETRI			
RBC	RET%/#	PLT	WBC totali
HGB	LFR	MPV	Linf %/#
HCT	MFR	PDW	Mono %/#
MCV	HFR	PCT	Neut %/#
MCH	IRF	P-LCR	Eo %/#
MCHC			Baso %/#
RDW-CV			IG%/#
RDW-SD			LUC
NRBC			

FORMULA LEUCOCITARIA

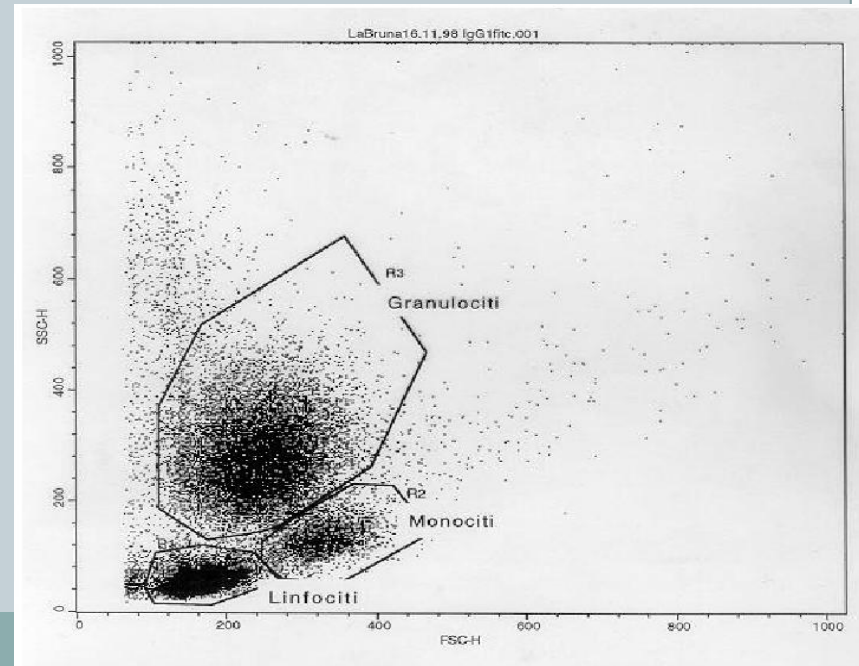
Parametro	valore	
	%	cellule /mCL
WBC white blood cell count		4000 - 10000
Neutrofilii	40 - 75	2000 - 8000
Linfociti	20 - 45	1000 - 4000
Monociti	2 - 10	100 - 800
Eosinofili	1 - 6	0 - 450
Basofili	< 1	0 - 50
LUC large unstained cells		
o LIC large immature cells	0 - 4	0 - 400
ALY atypical lymphocytes	0 - 2.0	
LI lobularity index		1,9 - 3,0
MPXI mean peroxidase activity index	-10 - +10	

LEUCOCITI CONTEGGIO IN AUTOMAZIONE



Permette di:

- Contare le cellule normali
- Evidenziare la presenza di cellule patologiche
- Identificare le cellule patologiche



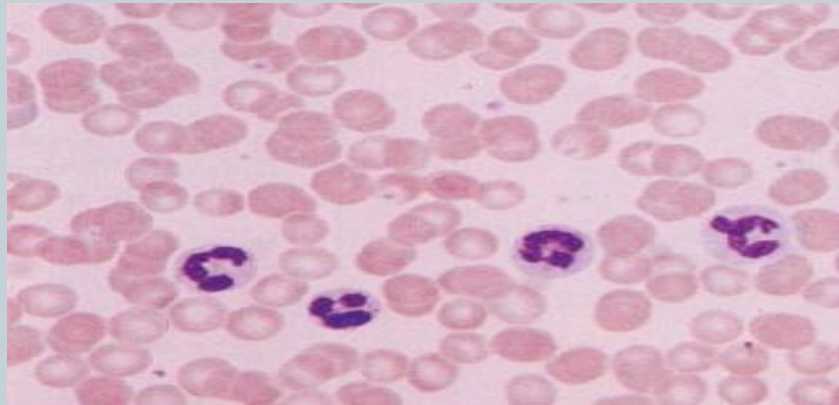
Separazione della popolazione di cellule del sangue umano da soggetto sano.

LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



GRANULOCITI NEUTROFILI



- Costituiscono la maggior parte dei leucociti (60-70%)
- Hanno un diametro di circa 15 μm ed un nucleo che presenta da 2 a 5 lobi tra loro uniti da filamenti di cromatina
- Definiti **polimorfonucleati** a causa del loro nucleo multilobato

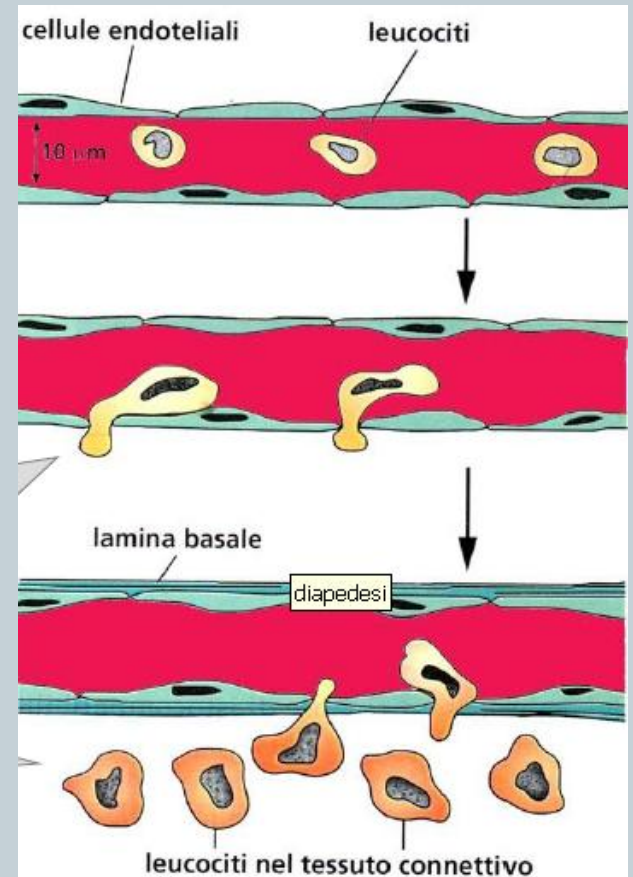
LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



GRANULOCITI NEUTROFILI

La loro funzione è quella di **distruggere i batteri nel connettivo**, grazie alla loro **capacità fagocitaria**



LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



GRANULOCITI NEUTROFILI

Si descrivono delle granulazioni caratteristiche:

- **GRANULI SPECIFICI**

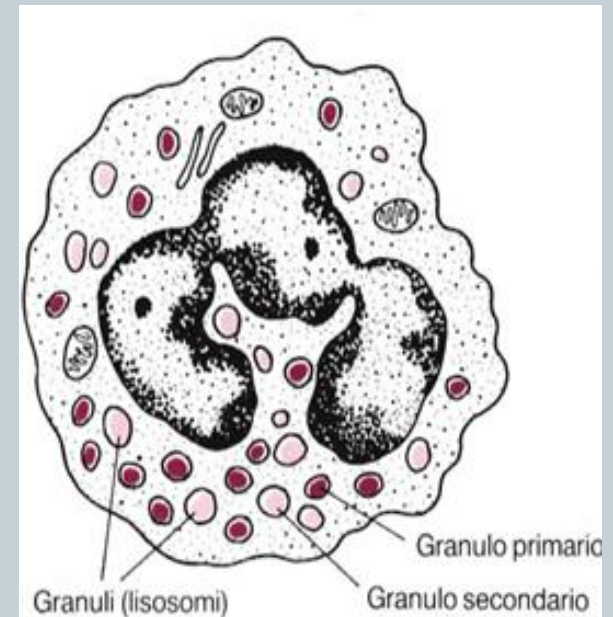
contengono enzimi necessari per la loro funzione antimicrobica come **proteasi, fosfolipasi ed enzimi litici**

- **GRANULI AZZURROFILI**

contengono **idrolasi acide, lisozima, MPO**

- **GRANULI TERZIARI**

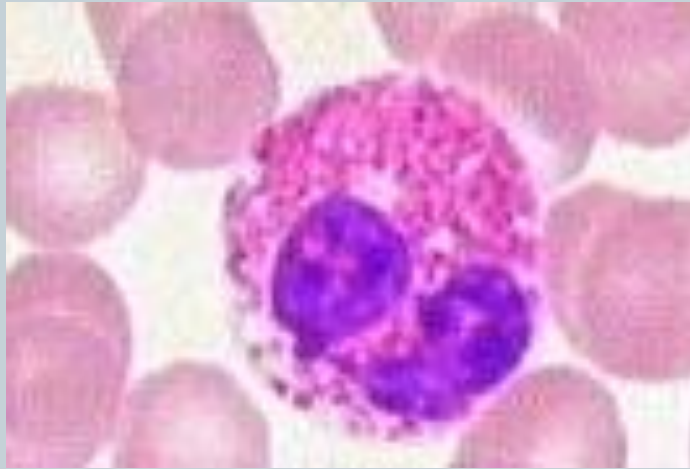
contengono **gelatinasi** che idrolizza la membrana basale permettendo alle cellule di penetrare nel tessuto



LEUCOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA



GRANULOCITI EOSINOFILI



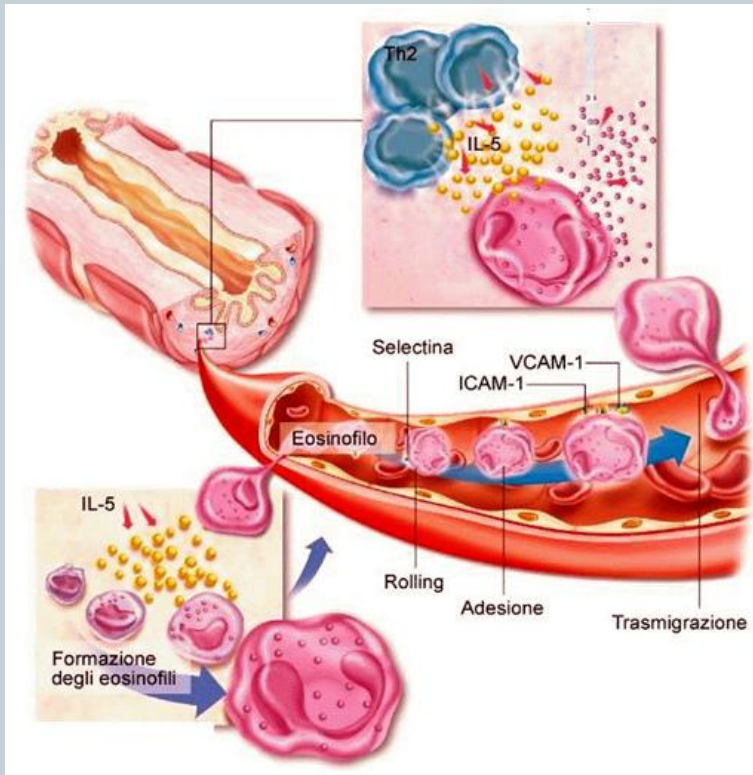
- Poco rappresentati (meno del 4%)
- Hanno un diametro di circa 15 μm ed un nucleo bilobato

LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

GRANULOCITI EOSINOFILI

- Intervengono nelle **reazioni allergiche**
- Svolgono funzione di difesa in caso di infiammazioni causate da **macroparassiti**



LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

GRANULOCITI EOSINOFILI

Si descrivono delle granulazioni caratteristiche:

- **GRANULI PRIMARI**

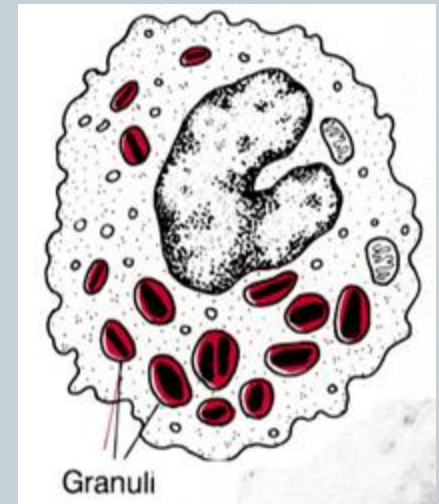
caratteristici delle forme immature e che rimangono solo in piccolo numero nelle forme mature

- **GRANULI SECONDARI (O SPECIFICI):**

presentano un nucleo cristallino circondato da matrice amorfa. Contengono proteine con elevata **attività tossica contro elminti (ECP), neurotossine, perossidasi eosinofila (EPO)**

- **GRANULI TERZIARI**

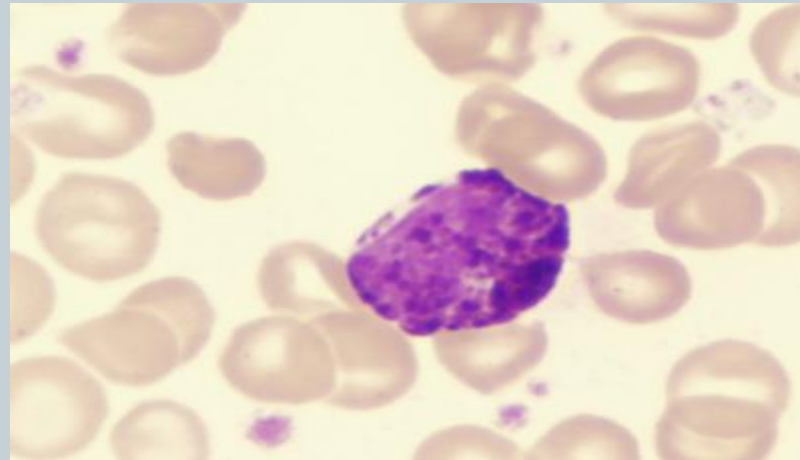
contengono **fosfatasi acida**



LEUCOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA



GRANULOCITI BASOFILI



- Rappresentano meno **dell'1% dei leucociti** totali
- Hanno un diametro di circa 15 μm e possiedono un nucleo ad S mascherato da **numerosi granuli**

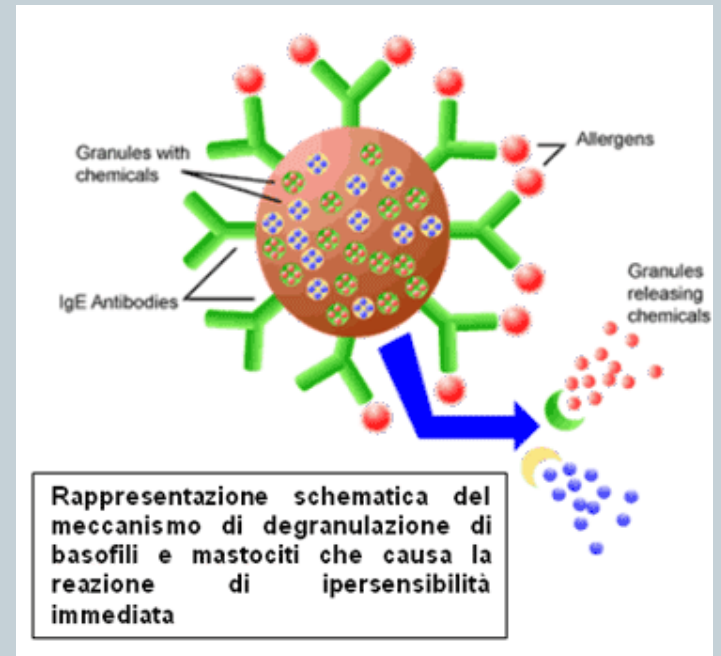
LEUCOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA

GRANULOCITI BASOFILI

Posseggono granuli contenenti **eparina** ed **istamina**

Sia per il contenuto dei loro granuli sia da un punto di vista funzionale sono molto **simili ai mastociti**

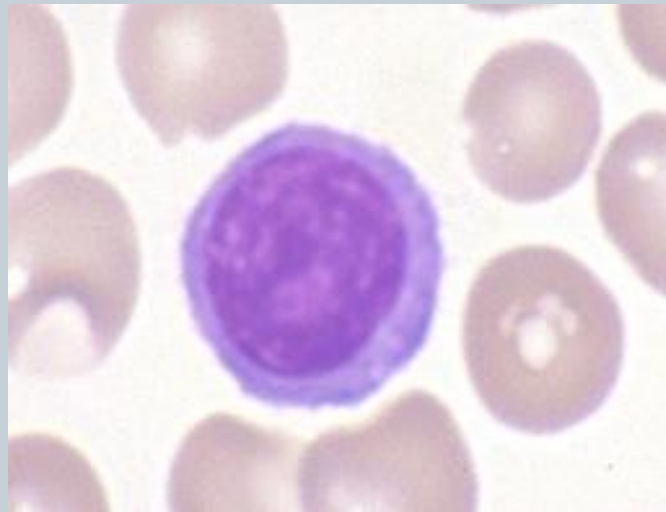
Intervengono, infatti, nelle **reazioni di ipersensibilità**



LEUCOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA



LINFOCITI



Sono il **20-25% dei leucociti totali**

Hanno un nucleo eccentrico, denso che occupa circa il 90% della cellula. Hanno un diametro di circa 8-10 μm e scarso citoplasma

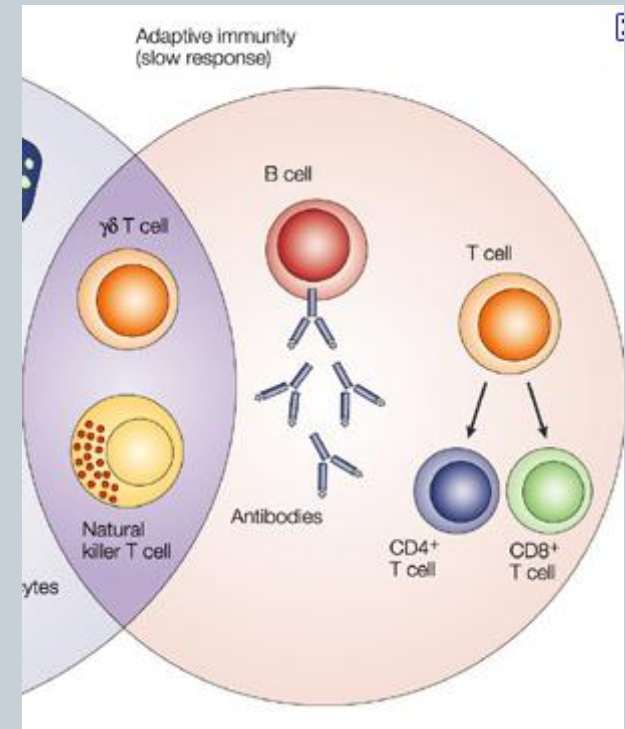
LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

LINFOCITI

Esistono diverse sottopopolazioni di linfociti, non distinguibili al microscopio ottico

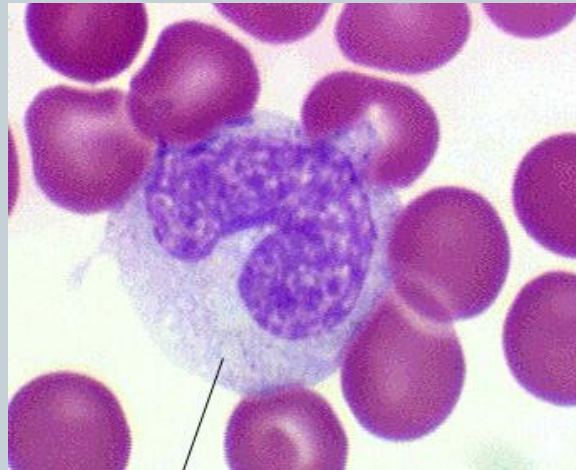
- **Linfociti B**, una volta attivati dall'interazione con l'Ag, si trasformano in **plasmacellule** e producono Ab
- **Linfociti T** vengono distinti in **T-Helper** (coadiuvano i B nella risposta immunitaria) e in **T-Citotossici**, che uccidono cellule infettate da virus o estranee
- **Linfociti Natural Killer** uccidono cellule neoplastiche o infettate da virus



LEUCOCITI VALUTAZIONE MICROSCOPICA



MONOCITI



Sono il **6-8%** dei leucociti totali

Sono le cellule più grandi del sangue avendo un diametro di circa $18\mu\text{m}$. Hanno un nucleo con caratteristica forma a ferro di cavallo o reniforme

LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA

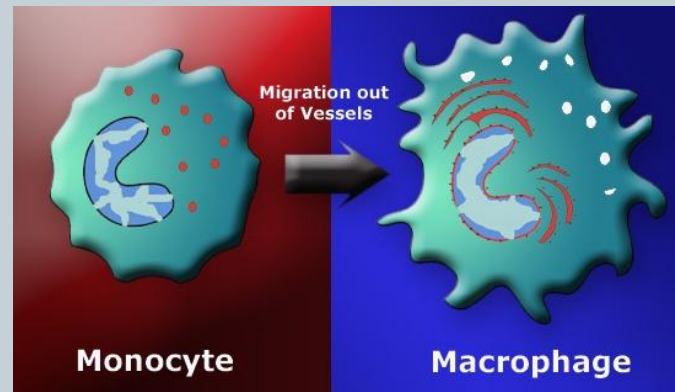


MONOCITI

Rimangono in circolo solo pochi giorni, poi migrano nel connettivo dove differenziano in **macrofagi**

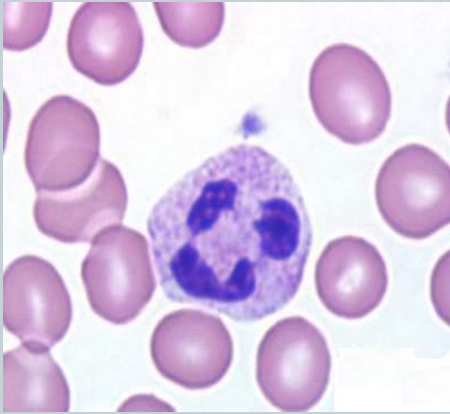
Sono **fagociti** molto efficienti, **eliminano cellule morte o danneggiate, antigeni e batteri**

Rilasciano **citochine** che attivano la risposta infiammatoria, la proliferazione e la maturazione di altre cellule

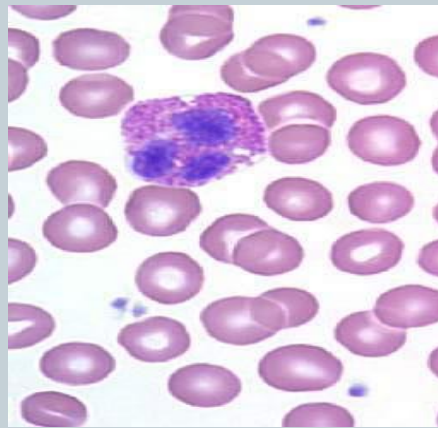


LEUCOCITI

VALUTAZIONE MICROSCOPICA



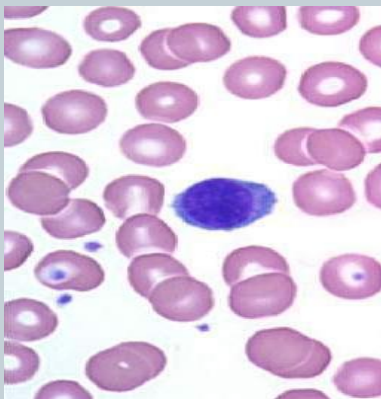
Neutrofilo



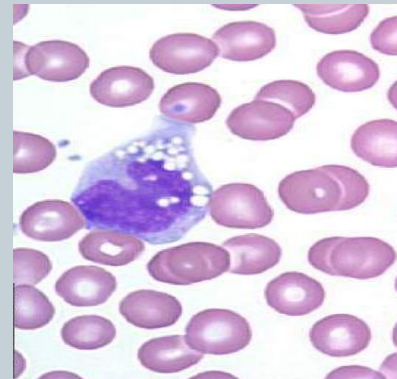
Eosinofilo



Basofilo

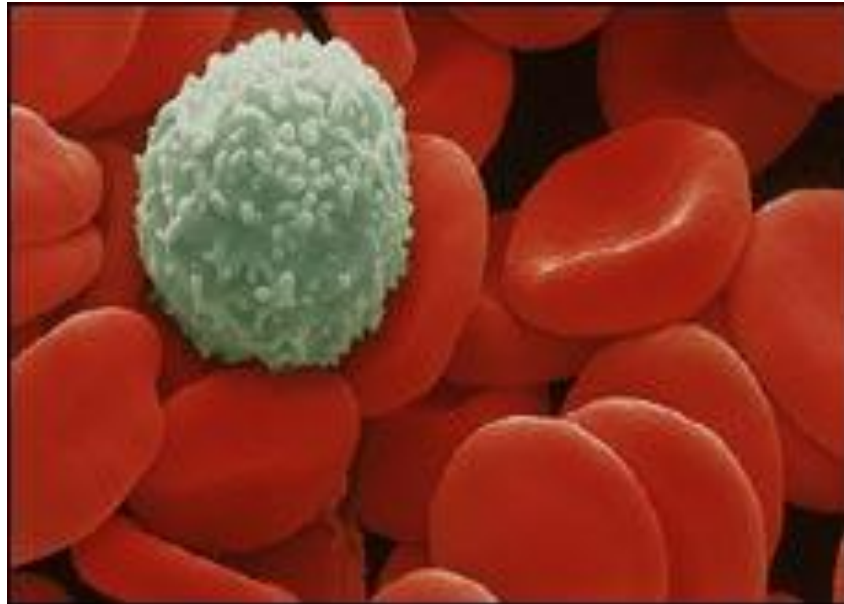


Linfocita



Monocita

Emocromo



Emocromo

Il sangue circolante contiene da 4000 a 11000 globuli bianchi per microlitro

I globuli bianchi si distinguono dai globuli rossi perché hanno il nucleo

Su questa proprietà si basano i metodi di conteggio automatici che contano come globuli bianchi tutte le cellule nucleate

Emocromo

Da un punto di vista morfologico e funzionale si distinguono cinque diverse popolazioni di globuli bianchi (leucociti):

granulociti

neutrofil

eosinofili

basofili

linfociti

monociti

Il conteggio differenziale dei globuli bianchi misura la percentuale dei differenti tipi cellulari che costituiscono la popolazione leucocitaria totale (formula leucocitaria)

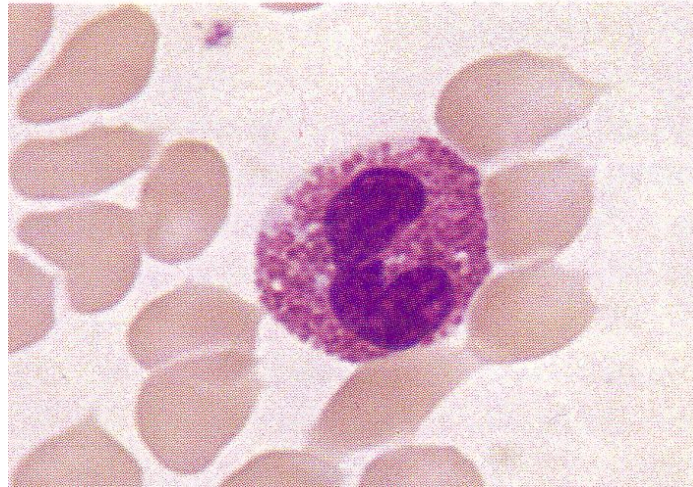
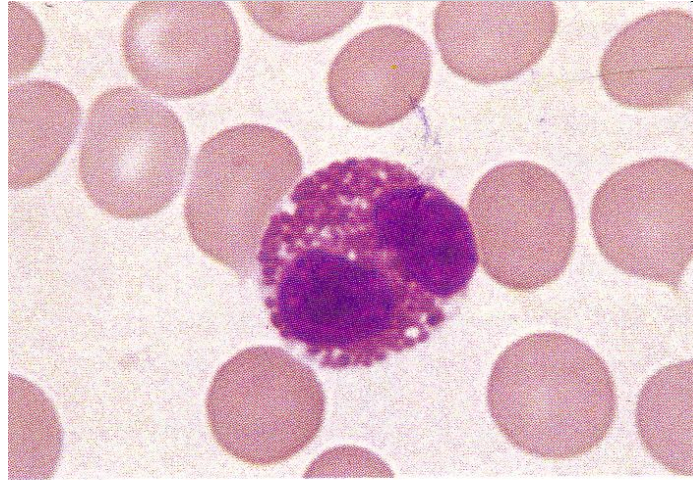
Emocromo

Granulociti neutrofili



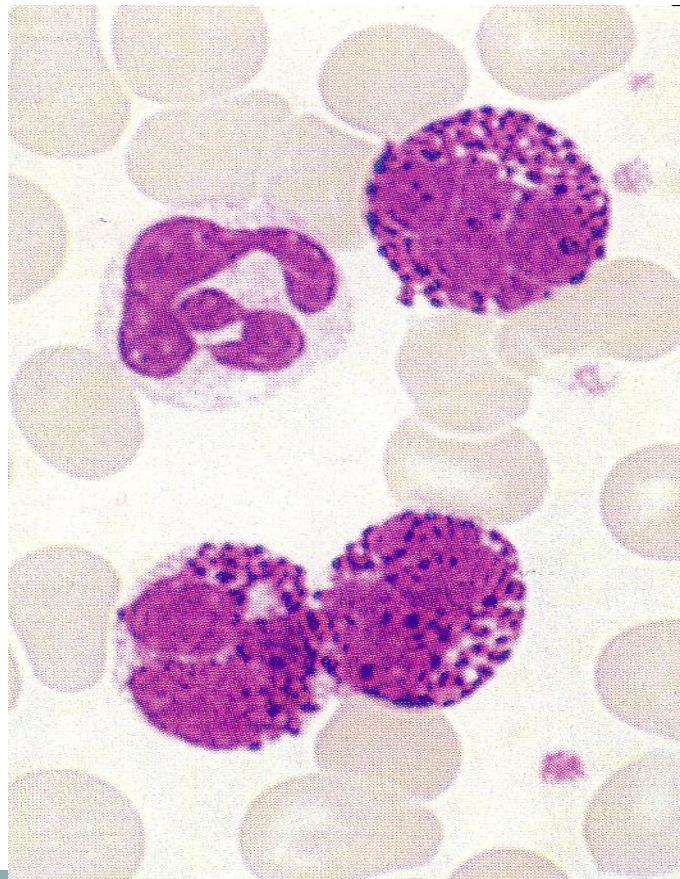
Emocromo

Granulociti eosinofili



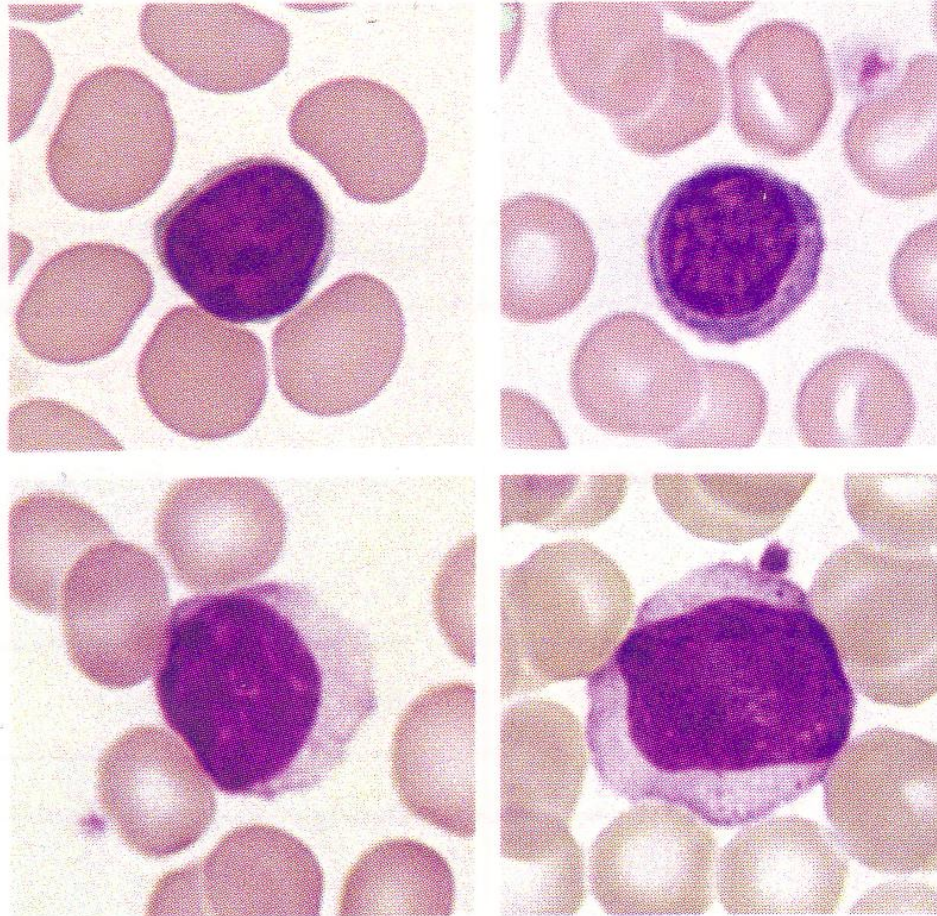
Emocromo

Granulociti basofili



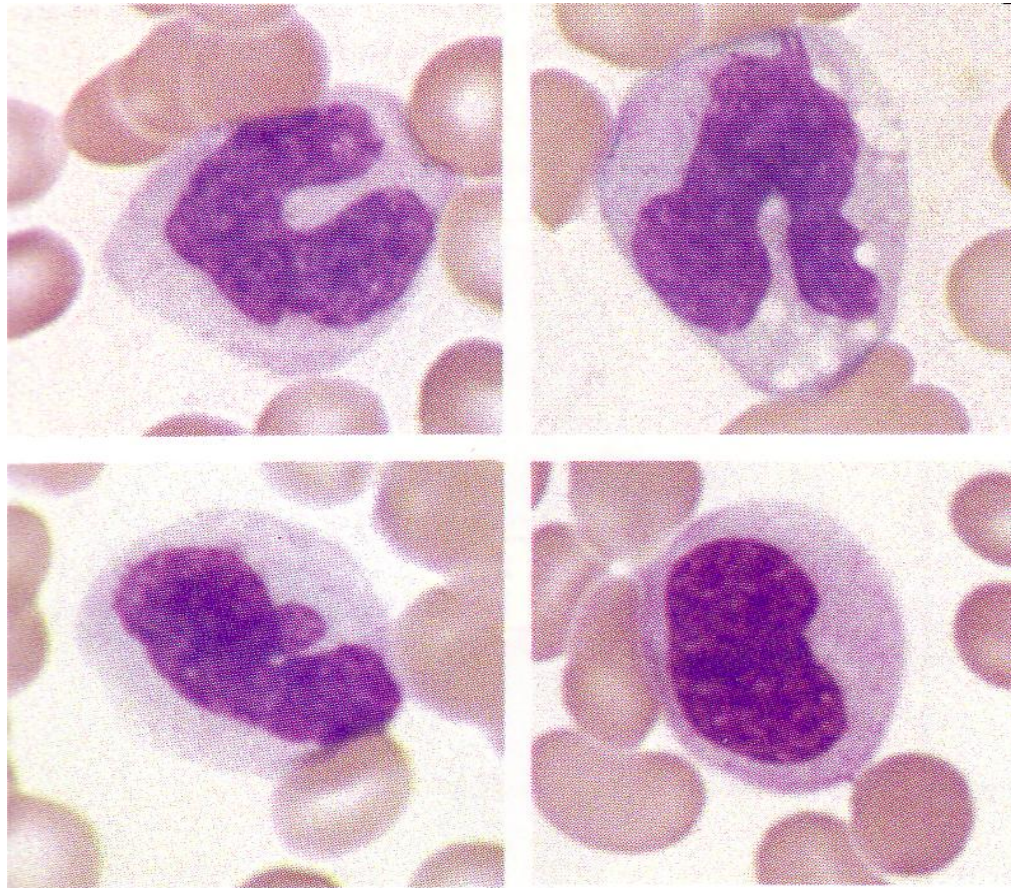
Emocromo

Linfociti



Emocromo

Monociti



Emocromo

leucociti

leucopenia

farmaci citostatici
trattamenti radianti
ipersensibilità a medicinali
insufficienza midollare idiopatica

leucocitosi

processi infettivi in atto
malattie proliferative che interessano in
modo acuto o cronico la serie bianca del
midollo osseo

ALTERAZIONI DEI LEUCOCITI

Modificazioni numero e/o percentuale

Neutrofilia > 8000	Eosinofilia > 250	Basofilia > 50	Linfocitosi > 4000	Monocitosi > 500
Forme mature : Infezioni batteriche, Infiammazioni, Intossicazioni	Malattie allergiche, Parassitosi, Psoriasi	Malattie linfoproliferative (rara)	Infezioni virali, Malattie endocrine, Reazione a farmaci, LLA, LLC	Malattie infiammatorie (sarcoidosi), Malattie autoimmuni (artrite reumatoide), Disordini emopoietici
Forme immature: Malattie mieloproliferative				
Neutropenia < 1800 (critico < 1000)			Linfopenia < 1500/1000	
Infezioni batteriche gravi (setticemia), Infezioni virali, Radiazioni, Farmaci mielotossici			Chemio –Radio terapia, Corticosteroidi, Anemia aplastica, AIDS	

Lo striscio di sangue

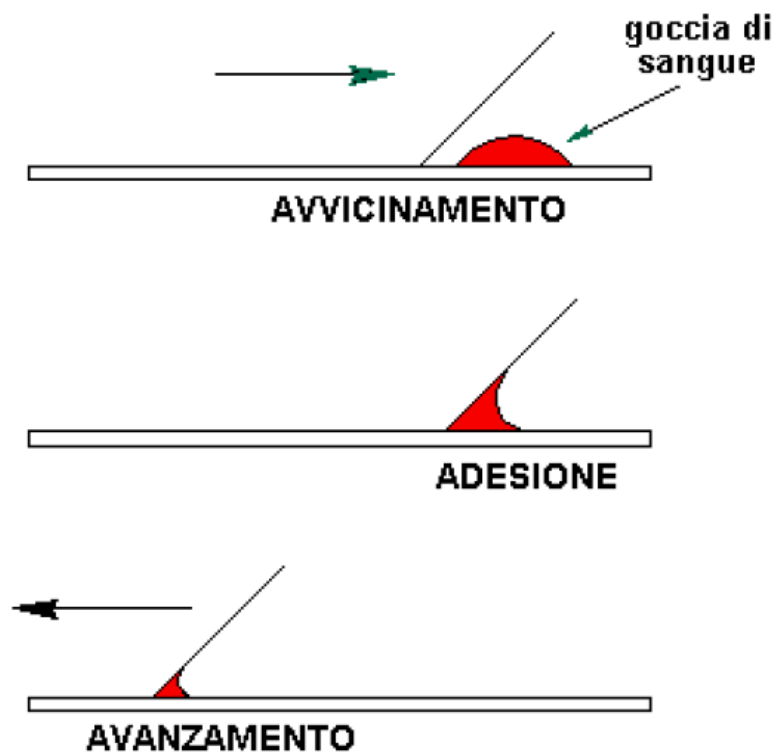
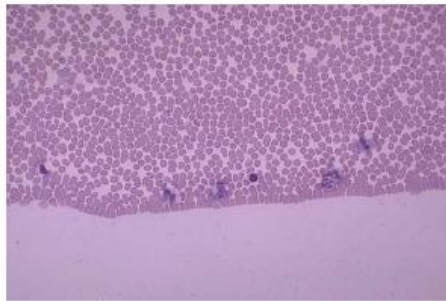
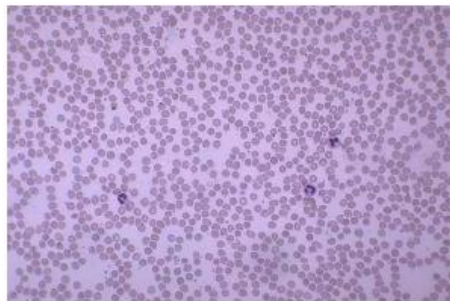
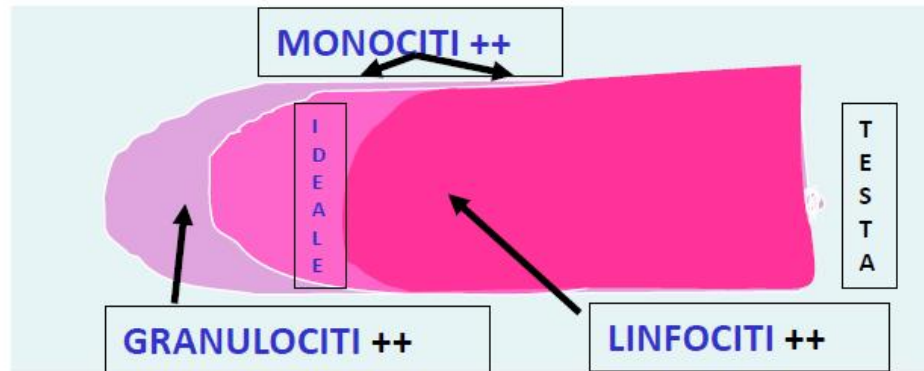


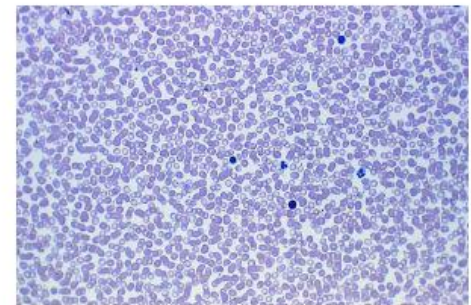
Fig. 7 - Come preparare uno striscio di sangue



Zona marginale



Area sottile



Area densa