Aggiornamento ematologico

Il conteggio differenziale automatico dei sottotipi leucocitari

MQZH 2013-03

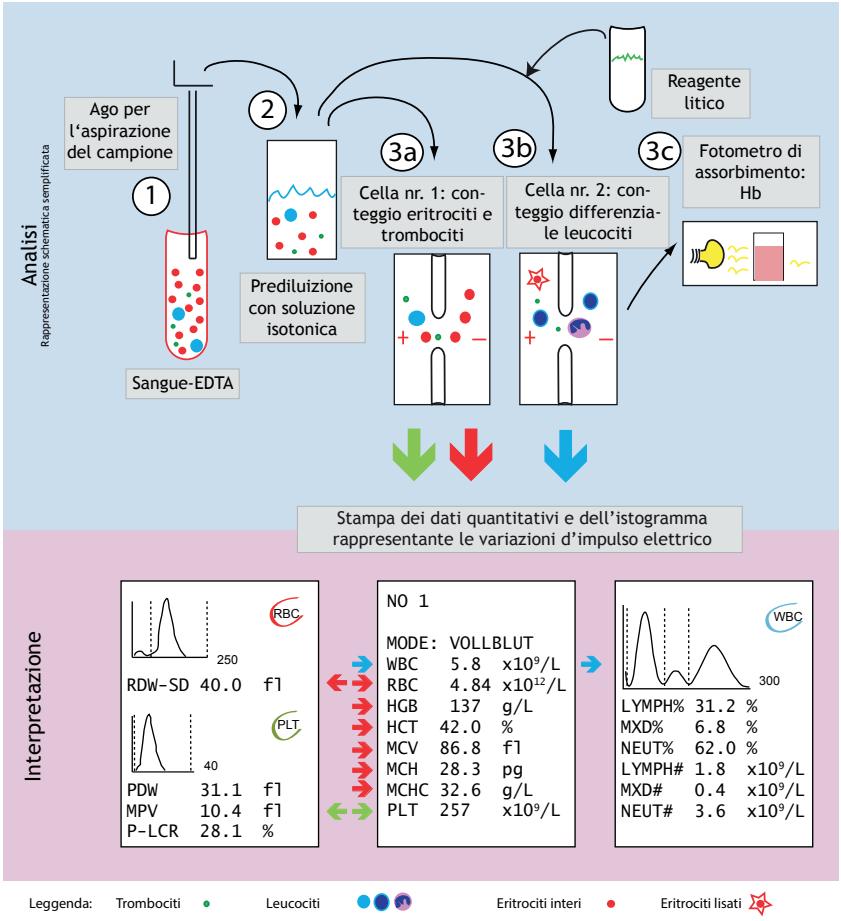
Introduzione

Gli strumenti ematologici piccoli misurano fino a 18 parametri ematologici, fra cui anche il conteggio differenziale dei sottotipi di leucociti in tre gruppi, oltre naturalmente al conteggio cellulare, concentrazione di emoglobina e vari altri parametri. I risultati del conteggio differenziale vengono forniti in percentuale e in valore assoluto (quantitativo) e in una rappresentazione grafica detta „istogramma“. Inoltre vengono forniti commenti (flags) riguardanti possibili errori tecnici di misurazione o risultati indici di patologie.
La validazione tecnica dello strumento è responsabilità dell'utente (tecnico/a in analisi biomediche, assistente di ambulatorio medico). Questo/a deve essere in grado di interpretare correttamente i dati ottenuti, eventualmente integrarli con un esame del campione al microscopio ed informare il medico sul referto finale. È quindi indispensabile conoscere la tecnica di misurazione e l'interpretazione dell'istogramma.

La misura di parametri ematologici con il sistema dell'impedenza

In questa analisi il sangue viene diluito con una soluzione isotonica e trasferito in diverse celle analitiche. Qui le cellule vengono fatte passare singolarmente attraverso un'apertura sulla quale è applicata una corrente continua. Poiché le cellule sono cattivi conduttori, ogni passaggio attraverso l'apertura causa un aumento della resistenza elettrica. In condizioni di corrente costante questo porta a un aumento di tensione fra i due elettrodi, che viene registrato come impulso elettrico: ogni impulso corrisponde ad una cellula, e l'intensità dell'impulso è correlato alle dimensioni della cellula. Le informazioni ottenute dagli impulsi vengono rappresentate graficamente nell'istogramma e stampate insieme ai dati quantitativi. I conteggi cellulari avvengono in due celle diverse (per eritrociti/trombociti e per leucociti).

L'analisi nella cella per i leucociti avviene mediante l'aggiunta di un reagente che lisa gli eritrociti e atrofizza i trombociti. Una parte del campione lisato viene deviato in una cella separata per il dosaggio dell'emoglobina mediante fotometria di assorbimento.



Effetto della lisi sui leucociti

Nel conteggio differenziale, le cellule vengono trattate con un reagente litico, che porta alla lisi degli eritrociti e all'atrofia dei trombociti.
I reagenti utilizzati dai produttori hanno però effetti diversi sulle singole linee cellulari leucocitarie. La conseguenza è che le cellule assumono posizioni diverse negli istogrammi di strumenti diversi. Per una corretta interpretazione degli istogrammi è perciò necessario conoscere il metodo utilizzato.

La membrana citoplasmatica dei leucociti reagisce alla lisi perdendo il contenuto citoplasmatico. L'involucro rimanente si accartoccia intorno al nucleo. L'entità dell'effetto del reagente sulla morfologia cellulare dipende dal tipo di cellula e dal reagente utilizzato. Le dimensioni di singoli sottotipi di leucociti sottoposti a lisi non corrispondono quindi alle dimensioni delle cellule quando queste vengono osservate al microscopio.

Alterazione del volume cellulare

Esempi di linfociti, monociti e granulociti neutrofili.

	Volume pre-lisi	Volume post-lisi
Linfocita		
Granulocita neutrofilo		
Monocita		

Il volume pre-lisi corrisponde alle dimensioni osservate al microscopio.

Il volume post-lisi corrisponde alla ripartizione delle cellule nell'istogramma dello strumento.

Aggiornamento ematologico

«Flags»

Possibili problemi tecnici

Interferenze nella zona del discriminatore inferiore, per es.

- Cospicui aggregati di trombociti
  → *da verificare sullo striscio (pseudo trombocitopenia indotta da EDTA?)*

- Trombociti giganti
  → *da verificare sullo striscio*

- Eritroblasti
  → *da verificare sullo striscio, se più di 5 Ebl/100 Lc, correggere a mano il numero di leucociti*

- Eritrociti resistenti alla lisi
  → *eventualmente effettuare una prediluizione*

Interferenze nella zona del discriminatore superiore, per es.

- Cellule immature, blasti
  → *da verificare sullo striscio*

- Numero troppo elevato di eritrociti
  → *prediluire il campione*

Possibili referti patologici

- Sospetti precursori della granulopoiesi
- Sospetti linfociti anomali
- Sospette cellule immature (blasti)
- Sospetta eosinofilia/basofilia
- Sospetta monocitosi

→ *da verificare sullo striscio*

Referto dal conteggio differenziale quantitativo

%SOTTOTIPO:
quota percentuale su 100 leucociti

#SOTTOTIPO:
numero assoluto (quantità sul numero totale di leucociti)

*Calcolo del valore assoluto: (numero tot. leucociti /100) x %SOTTOTIPO

Colophon
Autrice *Annette Steiger*
Fotografie *Dr. Roman Fried*

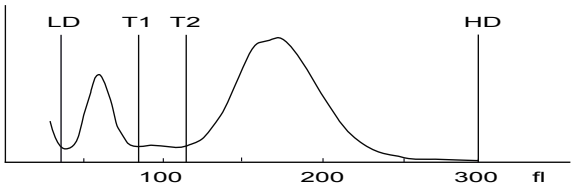
Consulenza scientifica
K. Schreiber, Dr. J. Goede, Klinik für Hämatologie, Universitätsspital Zürich

© 2013 Verein für medizinische Qualitätskontrolle www.mqzh.ch

Classificazione delle sottopopolazioni di leucociti sull'esempio di ABX Micros e Sysmex KX-Serie/ Poch-i

L'ambito di misura dei leucociti nell'istogramma WBC (white blood cells) viene delimitato direttamente dagli strumenti (in Sysmex per es. con i discriminatori fissi LD e DU). L'intera curva dei leucociti deve trovarsi all'interno di quest'ambito. Per mezzo di altri due discriminatori (per es. in Symex T1 e T2) vengono delimitate una dall'altra le tre sottopopolazioni.
A causa di problemi tecnici (interferenze) o con campioni patologici può accadere che non sia più possibile delimitare correttamente gli ambiti per mezzo degli indicatori. In questo caso gli strumenti allegano un «flag» ai risultati (per es. G1 di ABX Micros: sospetta eosinofilia/mielociti/neutrofili ipersegmentati). Tali «flag» sono specifici per uno strumento e sono spiegati nel manuale dello strumento o nel materiale didattico del produttore. Importando i dati direttamente in un sistema elettronico, spesso questi flag non vengono allegati. È quindi particolarmente importante che il tecnico/ la tecnica o assistente di laboratorio esegua una corretta validazione dei risultati e trasmetta le rilevanti informazioni al medico incaricante.

Sysmex KX-21N/PocH-100i



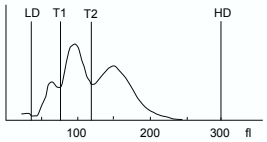
WBC	6.7	[x10³/µL]
LYM%	28.3	[%]
MXD%	17.4	[%]
NEUT%	54.3	[%]
LYM#	1.9	[x10³/µL]
MXD#	1.2	[x10³/µL]
NEUT#	3.6	[x10³/µL]

Linfociti (LYM)

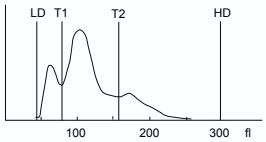
Mixed cells: monociti eosinofili basofili (MXD)

Granulociti neutrofili (NEUT)

a)

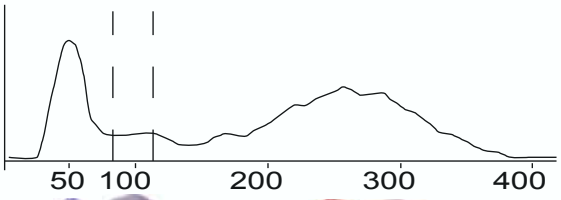


b)



Poiché i monociti e gli eosinofili cadono nella stessa area dell'istogramma, le monocitosi (a) e le eosinofilie (b) producono curve molto simili. In questo caso è necessaria un'analisi microscopica.

ABX Micros



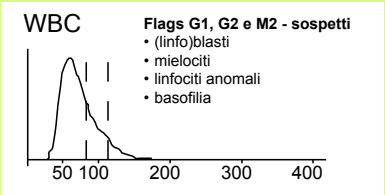
WBC :	7.8	10^9/L
%LYM:	46.5	%
%MON:	5.2	%
%GRA:	48.3	%
#LYM:	3.6	10^9/L
#MON:	0.4	10^9/L
#GRA:	3.8	10^9/L

Linfociti (LYM)

Monociti (MON)

Granulociti (tutti) (GRA)

Esempio d' istogramma ABX Micros: MQZH 2013-03-H3b, leucemia acuta LAM-M0




```
WBC:15.9 H 10⁹/L

WBC Flags : M2 G1 G2
DIFF:
%LYM:59.3 H %
%MON:26.5 H %
%LYM:14.2 L %
#LYM: 9.4 H 10⁹/L
#LYM: 4.2 H 10⁹/L
#LYM: 2.3 H 10⁹/L
```

Flag M2 (sospetti (linfo)blasti, linfociti anomali, mielociti, basofilia (flags G1 e G2 poco chiari).
Microscopia: 81% di blasti, che corrispondono alle popolazioni Micros LYM e MON (85.3%).