Aggiornamento ematologico

L'eosinofilia nei sistemi ematologici a tre popolazioni

MQZH 2019-1

Introduzione

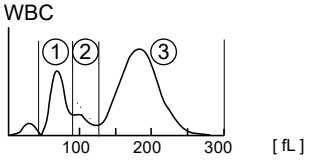
La quantificazione del numero assoluto di eosinofili può essere significativa nell'accertamento di sospette diagnosi o anche nel monitoraggio di malattie come la COPD. I sistemi ematologici a tre popolazioni, spesso in uso negli ambulatori, sono nettamente diversi nel riconoscimento di un'eosinofilia rispetto ai sistemi a cinque popolazioni in uso negli ospedali e nei laboratori privati. In questo aggiornamento parleremo delle possibilità e dei limiti di questi strumenti nella valutazione dell'eosinofilia.
Il preparato 2019-H3B proviene da un paziente con stenosi da trapianto renale e una leggera eosinofilia relativa del 10.6%, il valore assoluto di 0.37 G/l si trova nell'ambito di riferimento.

Tecniche di misura

I sistemi ematologici a tre popolazioni contano il numero totale di leucociti e dividono le cellule in base al volume in tre popolazioni diverse. Il campione di sangue viene diluito e addizionato di un reagente litico che cambia secondo il fabbricante. La lisi degli eritrociti serve a eliminare interferenze e causa la perdita della membrana citoplasmatica (linfociti, misura del volume nucleare), oppure una fuoriuscita del citoplasma seguita dal collasso della rimanente membrana citoplasmatica sulla membrana nucleare e sui granuli citoplasmatici presenti.

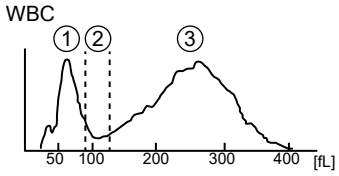
Per la misura viene utilizzata l'impedenza. Attraversando la corrente continua della fessura di misurazione, la cellula provoca un impulso elettrico proporzionale al volume della cellula. I vari volumi cellulari sono riportati sull'istogramma WBC, l'altezza delle curve corrisponde alla quantità e la posizione sull'asse delle ascisse al volume delle cellule. In questo modo si ottengono tre popolazioni: cellule piccole, medie e grandi, definite da discriminatori o fissi o flessibili (all'interno di limiti predefiniti) a seconda del fabbricante.

Strumenti Sysmex: pocH-100i, XP300



- Popolazione 1, linfociti
- Popolazione 2, monociti, eosinofili e basofili
- Popolazione 3, neutrofili
- I discriminatori flessibili vengono posti dallo strumento in base all'andamento della curva, ma possono essere posti anche manualmente.

Altri strumenti, per es. Orphée Mythic, ABX Micros, Microsemi



- Popolazione 1, linfociti
- Popolazione 2, monociti
- Popolazione 3, neutrofili, eosinofili e basofili
- I discriminatori sono fissi.

Messaggi di allarme (flags)

Cellule anomale o immature presenti nel campione vengono contate all'interno delle stesse popolazioni, ma la forma della curva risulta alterata. Gli algoritmi dello strumento riconoscono l'anomalia ed emettono messaggi di allarme (flags), costituiti da codici alfanumerici che appaiono sulla stampata dell'emogramma in aggiunta ai valori determinati automaticamente. In genere non vengono emessi segnali sonori dallo strumento, quindi i codici rimangono l'unica indicazione di un'emogramma anomalo.

Negli strumenti Sysmex è possibile che la differenziazione dei leucociti non avvenga perché lo strumento non riconosce la fine dei picchi in cui posizionare i discriminatori. In questi casi viene riportato solo il numero totale di leucociti.

Granulociti eosinofili

Gli eosinofili sono cellule che ricorrono soprattutto nei tessuti e la cui funzione non è ancora del tutto chiarita.

Il numero di eosinofili nel sangue o nei tessuti può salire in una quantità di patologie, tra cui allergie, infezioni e malattie parassitarie, infettive e neoplastiche.

Gli eosinofili attivati rilasciano mediatori e sostanze che possono essere dannose per diversi tessuti e organi (per esempio tessuti cardiaci e gastrointestinali e apparato respiratorio).

Effetto della lisi sui leucociti

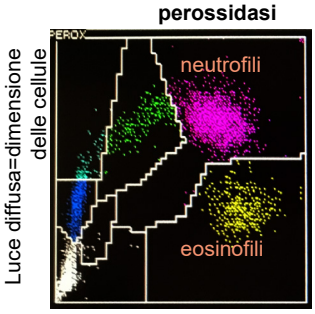
Nella differenziazione leucocitaria le cellule vengono trattate con soluzioni litiche.
La membrana citoplasmatica reagisce alla lisi con una perdita del contenuto citoplasmatico. I frammenti di membrana rimanenti collassano e si depositano in vicinanza della membrana nucleare. L'entità dell'alterazione delle cellule in risposta all'effetto della lisi dipende dal tipo di cellula e dal reagente impiegato.

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

Aggiornamento ematologico

Determinazione degli eosinofili con ADVIA

ADVIA 2120 - colorazione alla perossidasi



Gli eosinofili vengono colorati intensamente ed appaiono quindi tutti sulla destra. Anche se hanno dimensioni simili a quelle dei neutrofili, si trovano più in basso poiché la colorazione diminuisce la quantità di luce diffusa.

Conclusione

Gli analizzatori a tre popolazioni non sono in grado di quantificare gli eosinofili, tuttavia tutti e tre gli strumenti testati hanno riportato deviazioni dei limiti di riferimento o hanno generato un messaggio di allarme (flag).

Il comportamento corretto nel caso di referti simili, per tutti e tre gli strumenti, è quello di condurre un accertamento dell'emogramma differenziale al microscopio.

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

Consulenza scientificaC. Hviid, Dr. C. Widmer, Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie, Universitätsspital Zürich, Dr. J. Goede, Kantonsspital Winterthur

© 2019 Verein für medizinische Qualitätskontrolle www.mqzh.ch

Determinazione dell'eosinofilia negli strumenti a tre popolazioni

Gli analizzatori a tre popolazioni non sono in grado di documentare valori quantitativi di eosinofili, ma possono emettere flags relativi agli eosinofili in caso di impulsi anomalmente alti rispetto ai valori noti in aree definite dell'istogramma. Tali flags elencano in genere diverse possibili cause per il referto anomalo, si rende quindi inevitabile l'analisi microscopica di uno striscio per determinare le cause del flag e valutare altri passi diagnostici.

Il personale di laboratorio è tenuto a notare la presenza di flags e ad informare di conseguenza il medico committente.

Particolarmente problematica è la connessione degli analizzatori ematologici a un sistema informatico di laboratorio o ad un software per ambulatorio medico. Durante l'introduzione del software o in caso di modificazioni va sempre controllato che anche i flag vengano trasmessi correttamente in aggiunta ai risultati.

Confronto di strumenti a tre popolazioni con uno a cinque popolazioni

Abbiamo misurato il campione di sangue MQ 2019-1 H3B anche con un sistema a cinque popolazioni, che dispone di ulteriori metodi con cui determinare gli eosinofili e i basofili. ADVIA 2120 ha fornito i seguenti risultati:

monociti	0.20 G/l	5.8%
eosinofili	0.37 G/l	10.6%
basofili	0.04 G/l	1.2%
neutrofili	1.89 G/l	54.1%

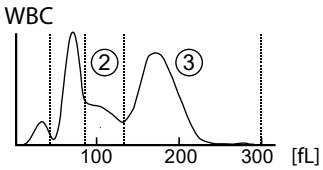
Valori calcolati:

MXD (M+E+B)	0.61 G/l	17.6%
granulociti (E+B+N)	2.3 G/l	65.9%

Sysmex - *XP300*

In questo strumento il numero innalzato di eosinofili ha portato a un valore innalzato (17.3%) della popolazione MXD (cellule medio-grandi). L'anomalia si rende qui evidente, nonostante la leggera eosinofilia, a causa del valore di riferimento generalmente basso per i tipi di cellule considerate (monociti, basofili ed eosinofili). Un flag non è stato generato. La somma di monociti, eosinofili e basofili in ADVIA dà 17.6% e corrisponde quindi molto bene al valore fornito da XP300.

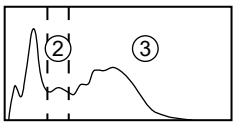
2	MXD	0.60 G/l	17.3%
3	neutrofili	2.0 G/l	55.7%



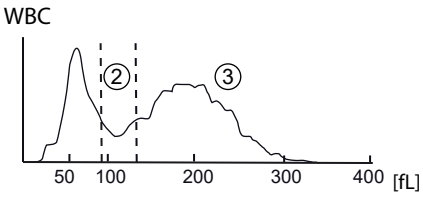
Orphée Mythic

Questo tipo di strumento conta gli eosinofili come cellule grandi assieme ai granulociti basofili e neutrofili. Il valore di riferimento per i granulociti neutrofili è relativamente alto, si tratta della popolazione di leucociti con le percentuali più alte nel sangue periferico normale di persone sane. Una leggera eosinofilia in questo caso passa inosservata. Lo strumento però ha generato un flag FL3. Il numero di granulociti è più basso, quello dei monociti più alto del previsto, per cui probabilmente una parte degli eosinofili è stata contata come monociti.

2	monociti	0.4 G/l	11.1%
3	granulociti	2.3 G/l	59.7%



Microsemi

Anche questo strumento conta gli eosinofili assieme ai neutrofili e basofili, cosicché anche qui non appare un valore percentuale sospetto. Anche questo strumento però ha generato un flag G1/G2.
Il numero di granulociti è più basso, quello dei monociti più alto del previsto, per cui probabilmente una parte degli eosinofili è stata contata come monociti.

2	monociti	0.3 G/l	9.8%
3	granulociti	2.0 G/l	61.4%