

# L'esame emocromocitometrico



# Esame emocromocitometrico



- Conta strumentale
- Valutazione citologica dello striscio di sangue:
  - morfologia eritrocitaria
  - morfologia leucocitaria e conta differenziale
  - stima piastrinica

# Esame emocromocitometrico

RBC
Hgb
Hct
MCV
MCH
MCHC
RDW
reticolociti

WBC
Neut
Neutr b
Eosinofili
Basofili
Monociti
Linfociti

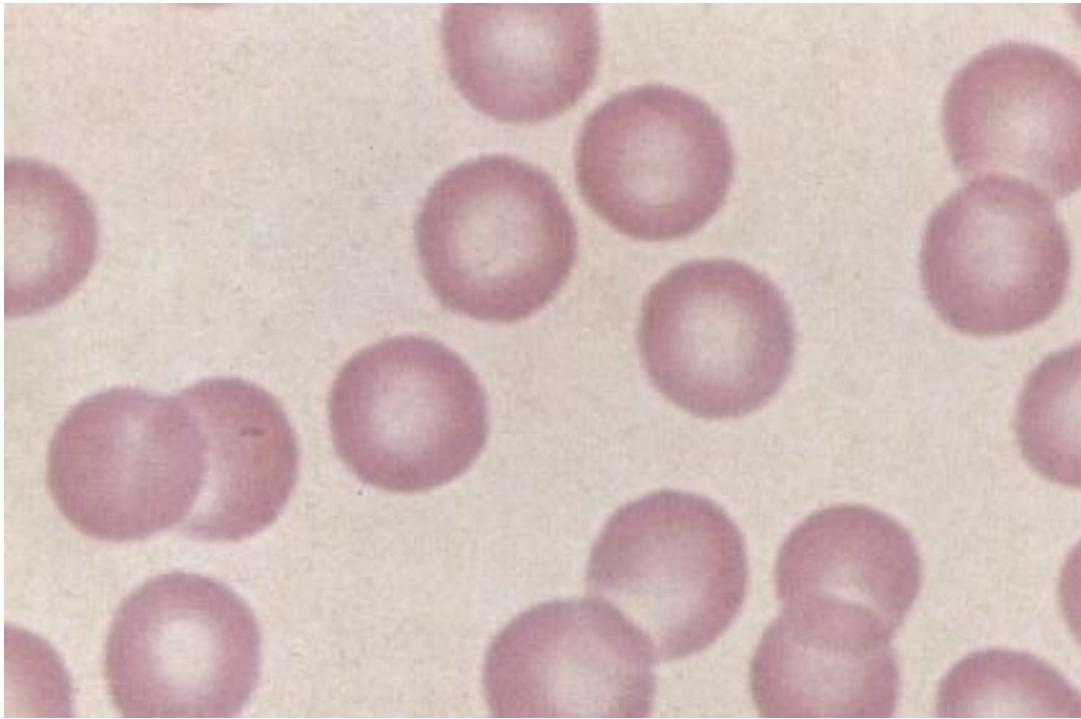
Plt
Mpv
pct





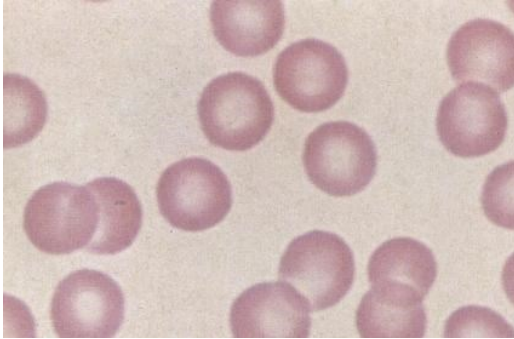
# GLI ERITROCITI

- Gli eritrociti vengono prodotti nel midollo osseo
- Raggiungono la maturità in circa 6-8 gg
- La durata della vita degli eritrociti circolanti varia nelle singole specie (2-5 mesi)

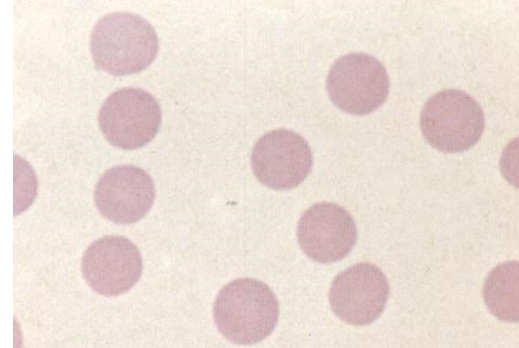


Il tipico eritrocita maturo dei mammiferi è una cellula tondeggiante, anucleata ed omogenea che, con le comuni colorazioni di laboratorio, assume un colore variabile dal rosa al salmone al rosso

Le dimensioni variano da una specie all'altra



cane



gatto

Specie	Media (micron)	Limiti (micron)
Cane	7,0	6,9-7,3
Suino	6,0	4,0-6,0
Gatto	5,8	5,4-6,5
Cavallo	5,8	4,0-8,0
Bovino	5,8	4,0-9,6
Ovino	4,5	3,5-6,0
Caprino	3,2	3,0-4,2

# Il conteggio del numero totale varia in relazione alla specie

n°RBC		cane	gatto	cavallo	bovino	Pecora	suino
M/mcl		6,8 5,5-7,9	7,5 5,3-9,9	9 6,5-13	7 5-10	12 9-15	6,5 5-8

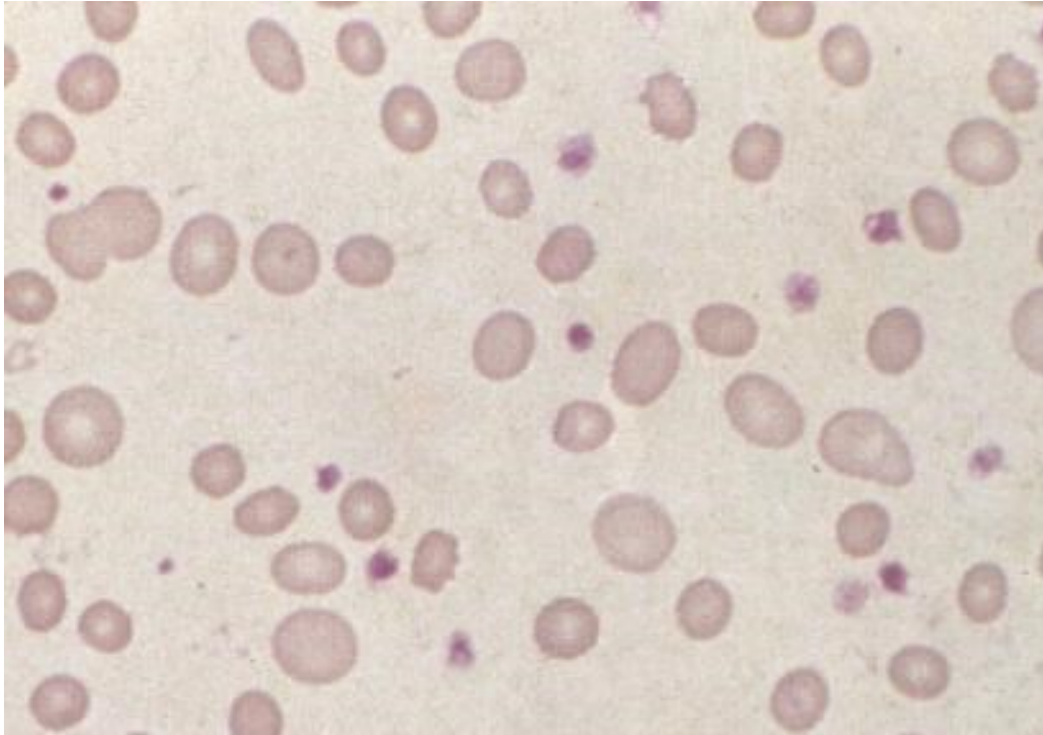
# Anomalie eritrocitarie

Variazioni di:

- dimensione
- forma
- citoplasma

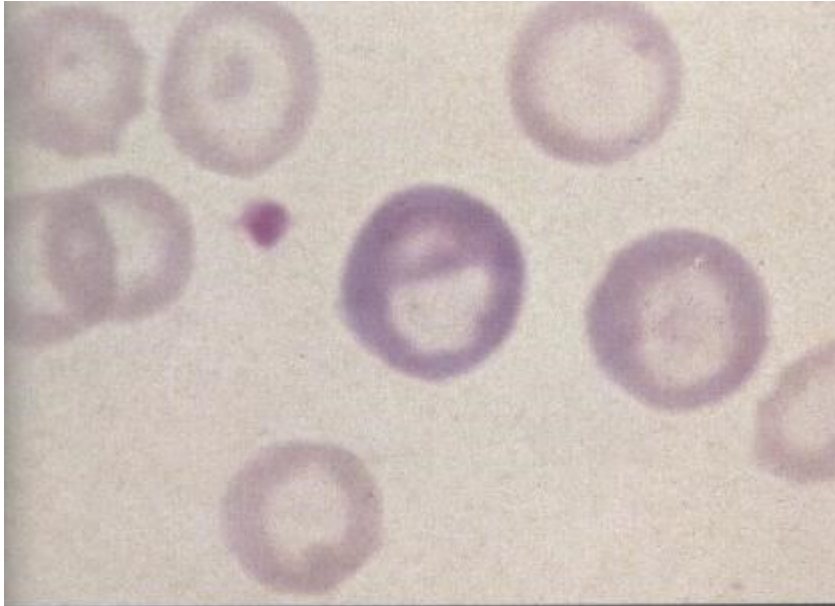
Sono elementi importanti da valutare durante l'osservazione microscopica di uno striscio di sangue periferico in quanto possono aiutare la formulazione della diagnosi in corso di alcune patologie

# Anisocitosi



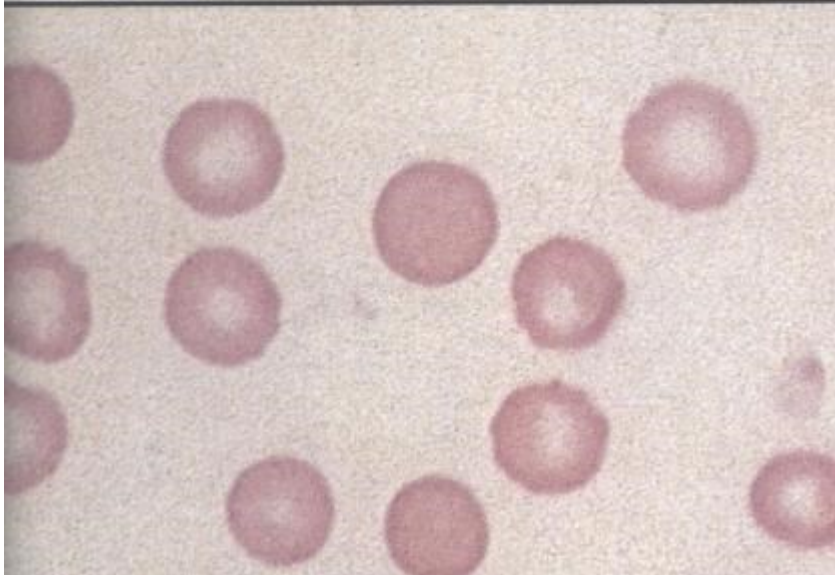
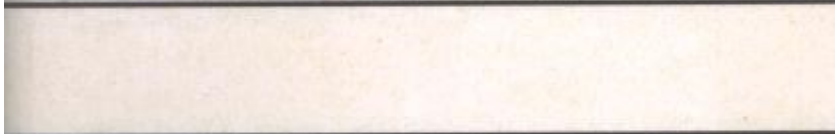
Presenza di eritrociti di dimensioni diseguali in uno striscio ematico

Osservata comunemente in molti tipi di anemia; gli RBC più grandi sono quelli più giovani rilasciati dal midollo osseo a seguito dell'aumentata produzione eritrocitaria



## Macroцитоси

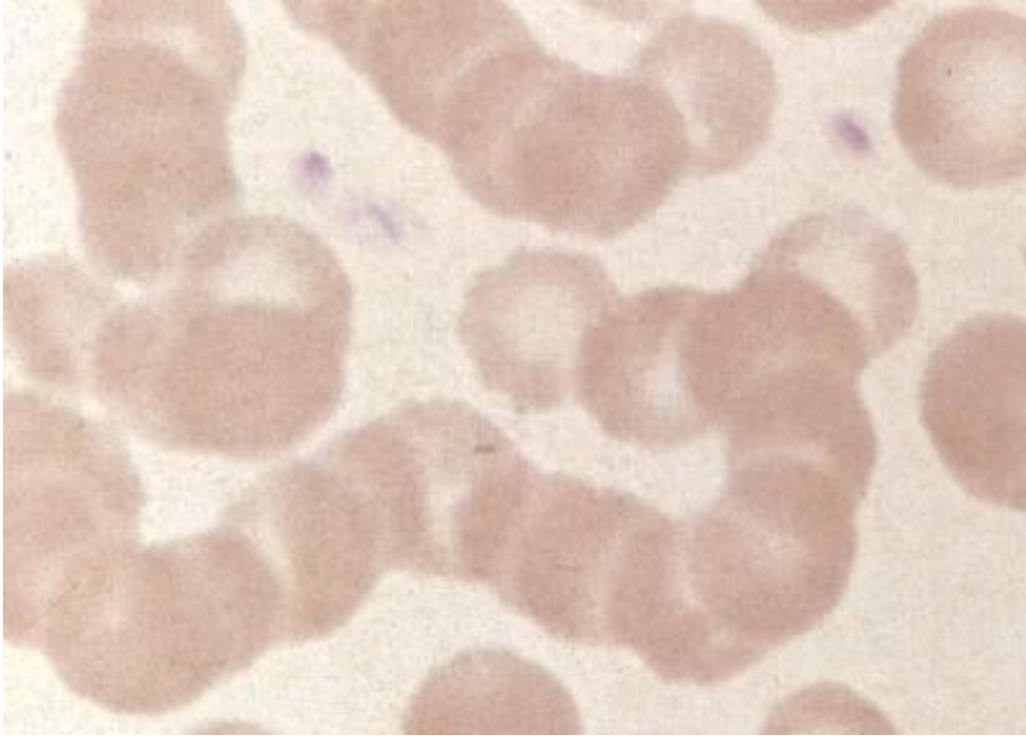
- RBC più grande ed immaturo, indice di un midollo osseo attivo
- talvolta indica un difetto maturativo che si osserva nell'anemia da deficienza di Vit. B12 e/o acido folico
- reperto normale nel barboncino



## Microцитоси

- RBC più piccoli
- anemie da carenza di Fe
- anemie croniche
- reperto normale nel cane Akita

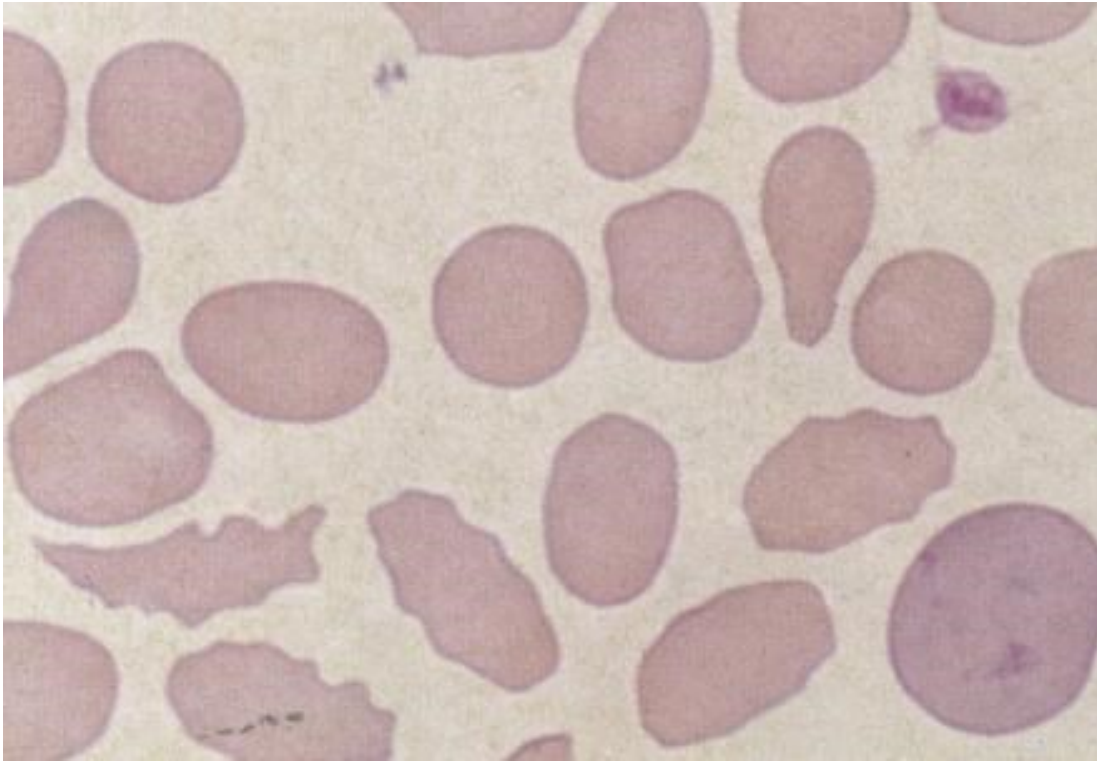
# Rouleaux



Disposizione degli RBC in fila o in colonna, con le superfici più piatte che si toccano come una pila di monete

- E' normale nel cavallo
- Può essere un segno di difettosa eritropoiesi da deficienza nutrizionale di vitamina B, proteine, ferro, disturbi metabolici esogeni od endogeni

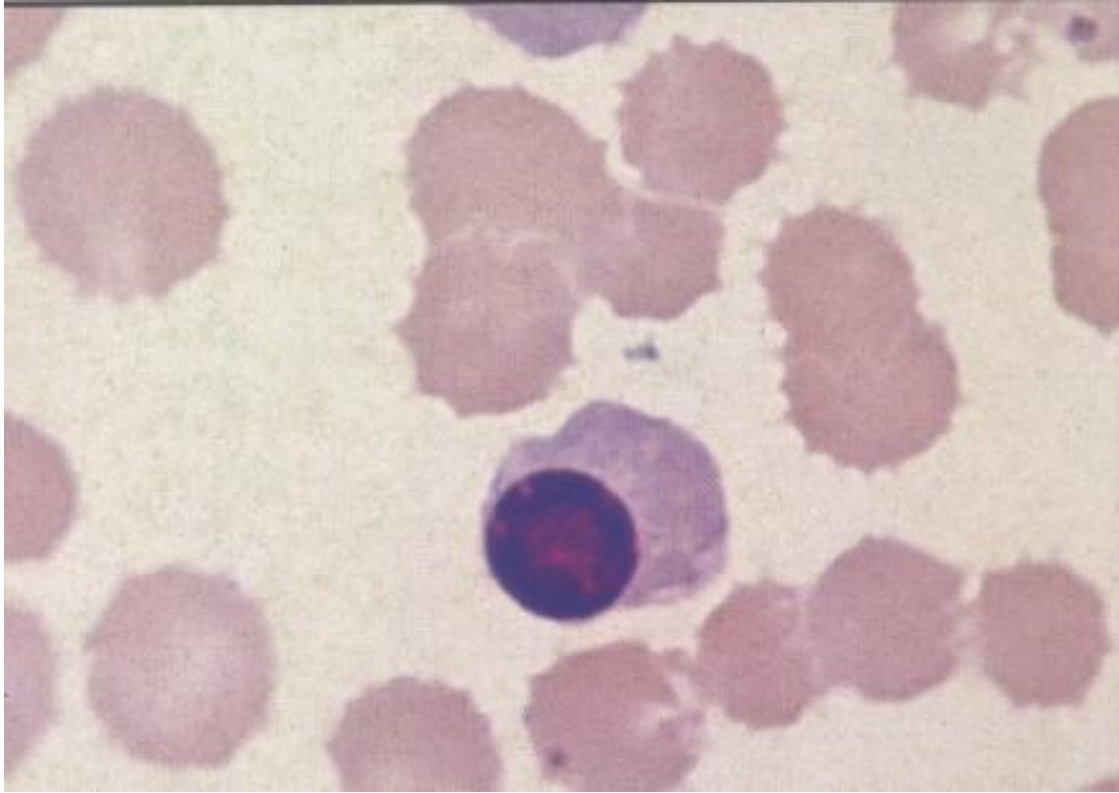
# Variazioni di forma



Il termine generico per indicare la presenza di eritrociti di qualsiasi forma anomala in circolo è **POICHILOCITOSI**

Descriviamo alcuni dei tipi più comuni di poichilociti.....

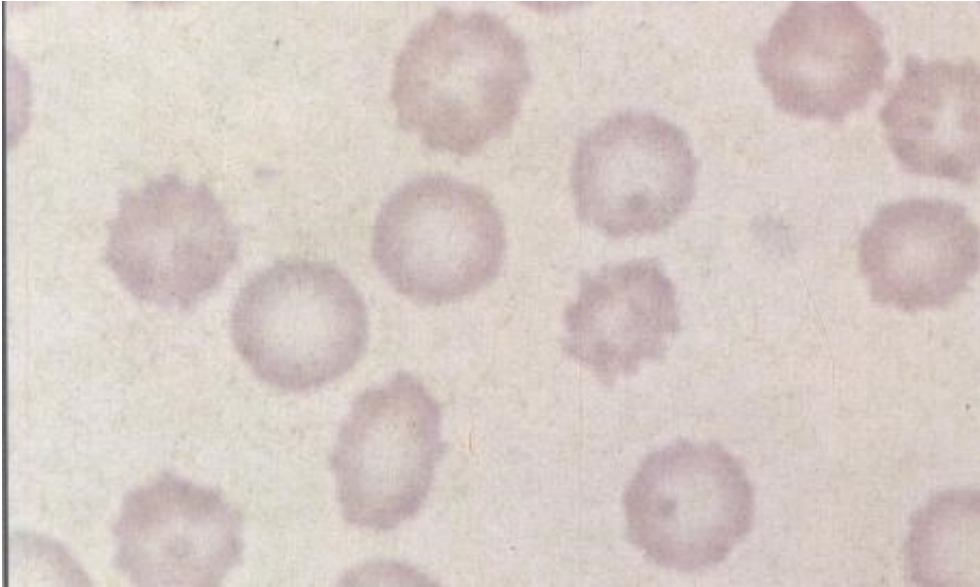
# Acantociti



Cellula spinosa, la membrana presenta numerose proiezioni irregolarmente distanziate, su tutta la superficie

- danno della membrana cellulare per una tecnica errata di preparazione del campione
- nel cane: emangioma, emangiosarcoma splenico, epatopatie diffuse, grave insufficienza epatica

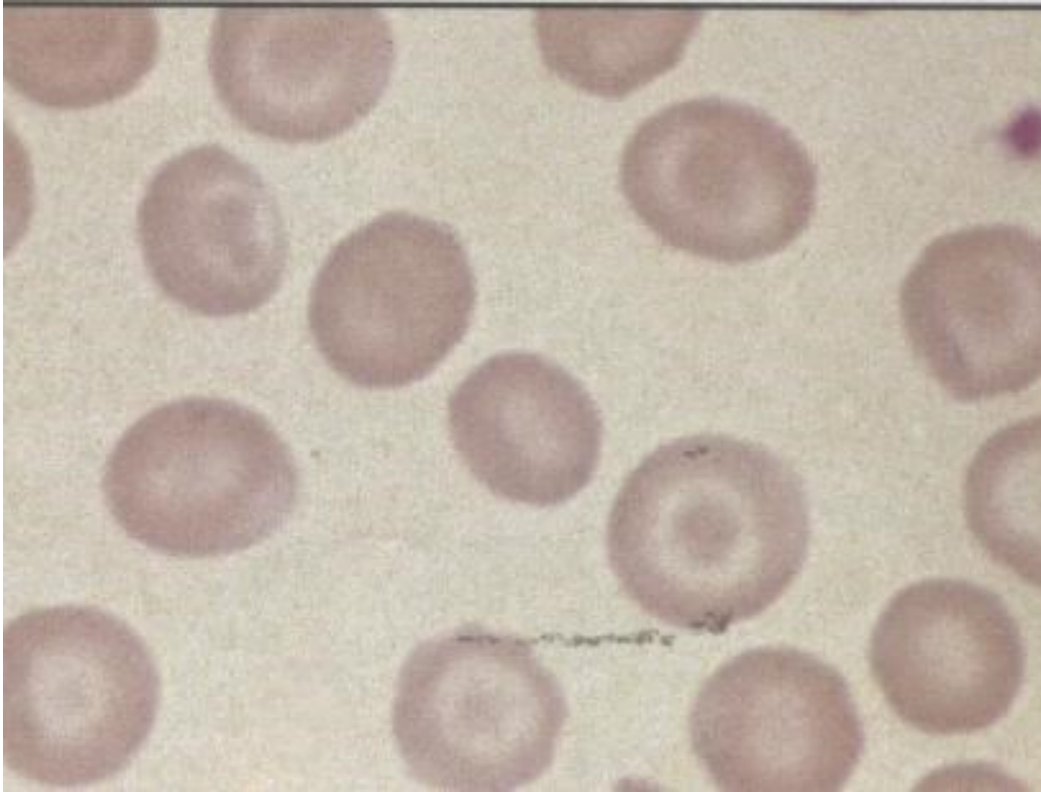
# Echinociti (eritrociti crenati)



RBC con corte proiezioni  
equamente distribuite  
sull'intera superficie

- artefatto abituale presente nel sangue conservato a lungo
- linfoma, glomerulonefrite

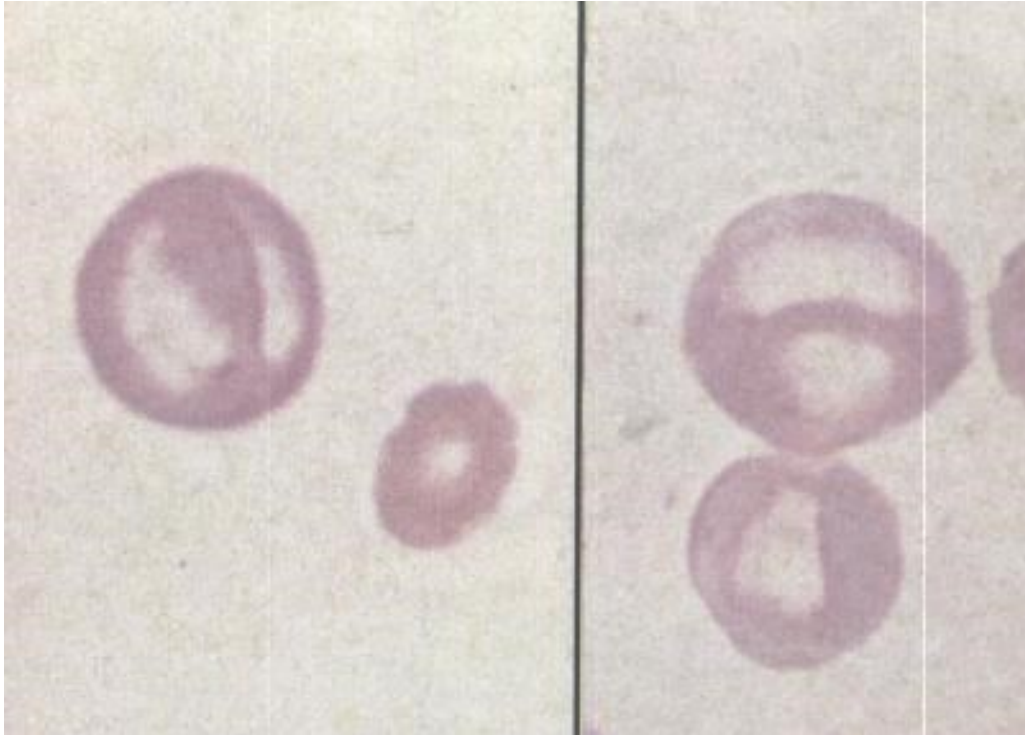
# Cellule bersaglio



RBC con area centrale circondata da materiale pigmentato a sua volta circoscritto da una zona chiara senza pigmento, e quindi da un anello di citoplasma vicino alla periferia

- Nel cane indica una ipoplasia midollare da uremia, da malattie epatiche o da deficienza di ferro
- Può essere anche un artefatto dello striscio da ipertonicità dei coloranti

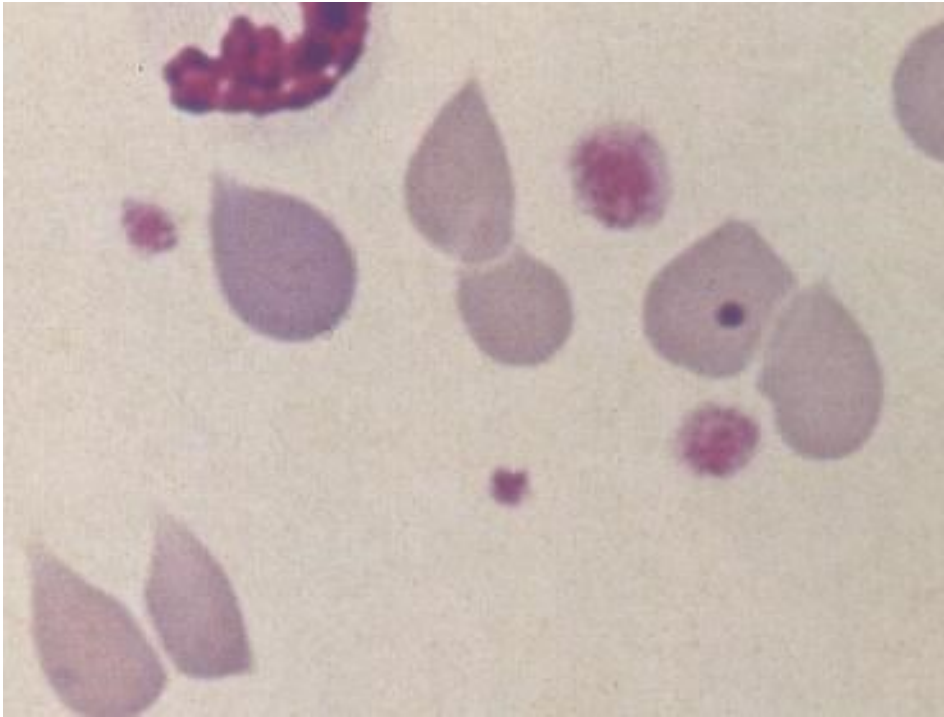
# Cnizociti



RBC con due depressioni centrali separate da una linea

Compare nelle anemie rigenerative del cane

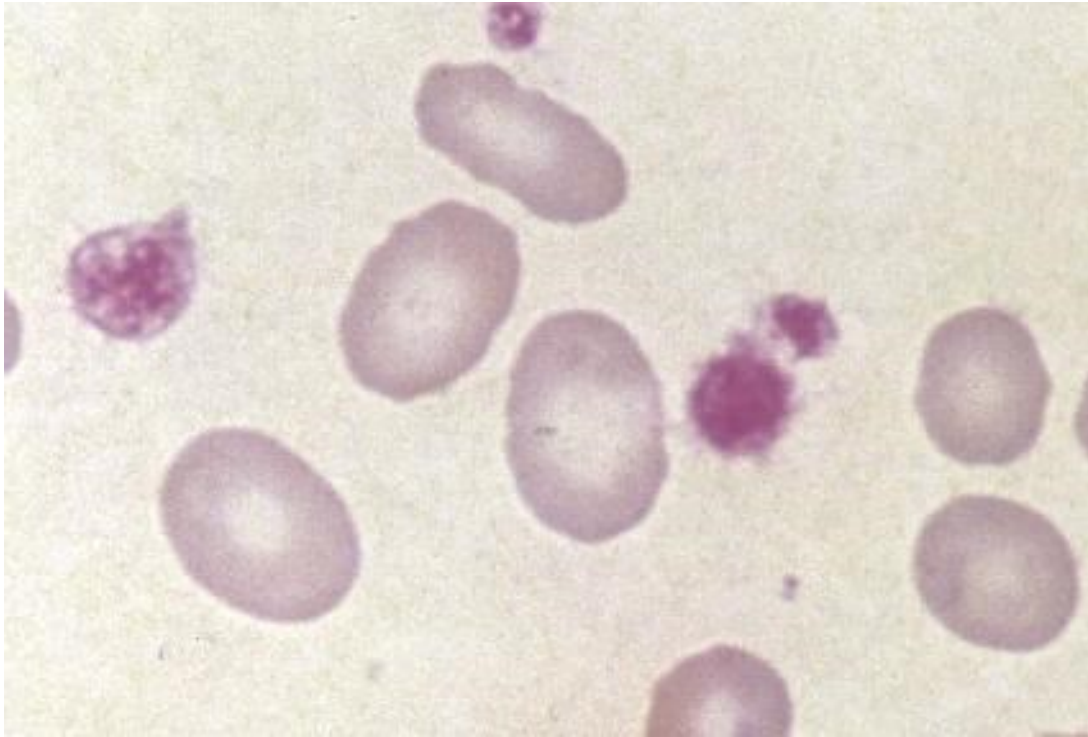
# Dacriociti



RBC a forma di goccia

- Compaiono nel cane e nel gatto con disordini mieloproliferativi, nell'ipersplenismo
- Sono reperto normale nei capretti

# Elliptociti

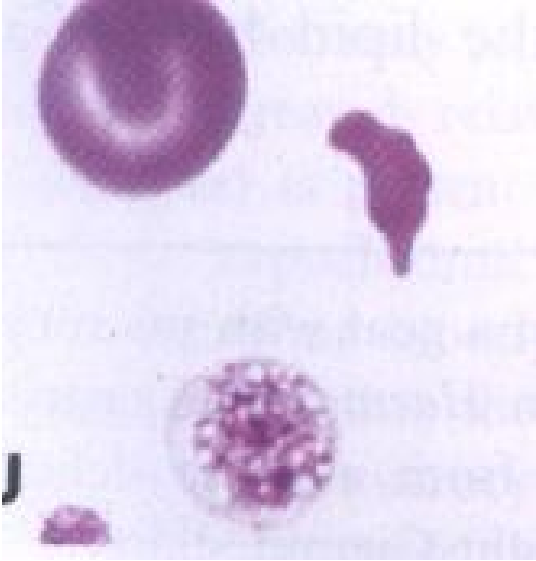


RBC di forma ovale

Reperto normale nel cammello

Gli ovalociti nucleati sono caratteristici degli uccelli, dei pesce e dei rettili

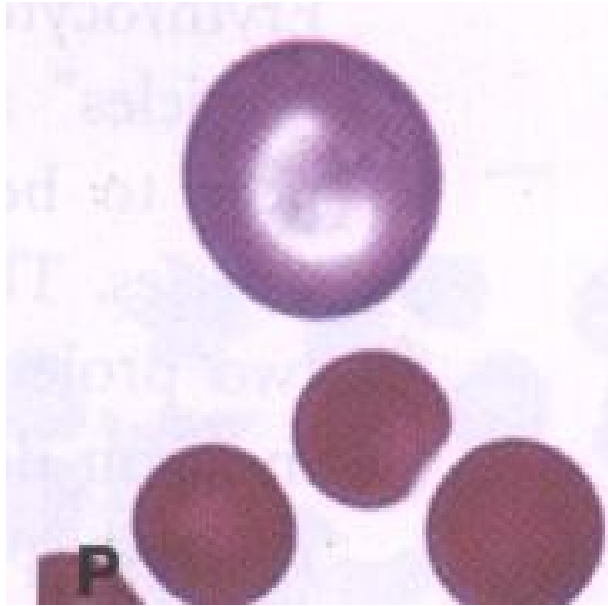
# Schistociti



RBC conformati irregolarmente e frammentati

- invecchiamento
- anemia emolitica microangiopatica
- CID
- emangiosarcoma
- glomerulonefrite
- neoplasie
- mielofibrosi

# Sferociti



RBC sferoide di diametro diminuito  
in rapporto al volume

Si repertano nelle anemie emolitiche autoimmuni o immunomediate

Ematocrito

(Hct o PCV = Packed cell volume)

# Ematocrito

(Hct o PCV = Packed cell volume)

E' la frazione di sangue occupata dagli eritrociti e non include i leucociti e le piastrine

Si esprime come %

# Metodica del Microematocrito

- Impiega un particolare capillare
- consente di utilizzare una piccola quantità di sangue
- Occorre una particolare centrifuga (Microematocrito) capace di sviluppare 12.000 rpm per 3 minuti
- dopo la centrifugazione il capillare presenta:
  - in alto il plasma
  - strato intermedio bianco (buffy coat) costituito da:
    - a) trombociti, strato superiore colorato di crema
    - b) leucociti, strato intermedio grigio
    - c) emazie nucleate, che se presenti producono una tinta rossastra
  - strato più in basso di colore rosso scuro, costituito da eritrociti
- il valore dell'ematokrito si ottiene ponendo il capillare su un nomogramma e leggendo la percentuale della parte corpuscolata (rossa) risultante dalla intersezione sul grafico della linea di separazione tra plasma e parte corpuscolata



Hematocrit tube

Plasma

Buffy coat

Packed Red Cells

Wax plug



# Utilizzo di macchinari specifici:

## Contaglobuli



Hct	cane	gatto	cavallo	bovino	pecora	suino
%	45	37	44	35	35	42
	37-55	26-48	32-53	24-46	27-45	32-50

# Cause di variazione del valore ematocrito

## Aumento dell'Hct

Disidratazione	Ipertiroidismo
Paura/eccitazione	Somministr. Anaboliz.
Shock	Altitudine
Attività muscolare intensa	Artefatti (evaporazione o contatto prolungato con EDTA)
Policitemia assoluta	

## Diminuzione dell'Hct

Anemia	Artefatti : eccesso di EDTA; diluizione; coaguli; impiego inappropriato del contaglobuli
Gravidanza a termine	
Impiego di tranquillanti e anestetici	
Emolisi durante e dopo il prelievo	

Emoglobina (Hgb)

Unità di misura g/L o g/dL

L' emoglobina trasporta l'ossigeno dai polmoni ai tessuti ed anidride carbonica in direzione opposta per mezzo dell'unità funzionale che è costituita da una soluzione di Hgb posta negli eritrociti

L'emoglobina è sintetizzata negli eritrociti immaturi del midollo osseo.

Hgb	cane	gatto	cavallo	bovino	pecora	suino
g/dL	15 12-18	12 9-15	16 12-19	11 8-15	11,5 9-15	13 10-16

# Cause di variazione della concentrazione dell'emoglobina

## Aumento:

- disidratazione
- paura ed apprensione ( indotta dalla contrazione splenica transitoria)
- shock (contraz. Splenica e spostamento dei liquidi verso gli organi viscerali)
- lavoro muscolare prolungato
- policitemia
- artefatti (evaporazione del campione, sangue mal conservato)

## Diminuzione :

- anemia
- tarda gravidanza
- artefatti (diluizione del campione, presenza di coaguli)
- sedazione farmacologica ( deposito o sequestro di RBC dalla circolazione alla milza)

# Indici corpuscolari medi

## Volume corpuscolare medio

(volume medio degli eritrociti nel campione)

MCV:  $Hct (\%) \times 10 / n^{\circ} RBC =$

Cane: 60 - 76 fL

Gatto: 39-55 fL

Cavallo: 34-50 fL

Bovino: 40-60 fL

Pecora: 28-48 fL

Suino: 50-68 fL

# Indici corpuscolari medi

## Concentrazione Emoglobinica corpuscolare media

(concentrazione dell'Hgb entro il volume degli eritrociti impacchettati nell'ematocrito)

MCHC:  $\text{Hgb}(\text{g/dl}) \times 100 / \text{Hct} (\%) =$

Cane: 32 - 39 g/dl

Gatto: 30-36 g/dl

Cavallo: 32-39 g/dl

Bovino: 30-36 g/dl

Pecora: 31-34 g/dl

Suino: 30-34 g/dl

# Indici corpuscolari medi

## Emoglobina Corpuscolare Media

(contenuto di Hgb nell'eritocita medio del campione)

MCH:  $\text{Hgb (g/dl)} \times 10 / \text{n}^\circ\text{RBC} =$

Cane: 20 - 25 Pg

Gatto: 13-18 Pg

Cavallo: 13-20 Pg

Bovino: 11-17 Pg

Pecora: 8-12 Pg

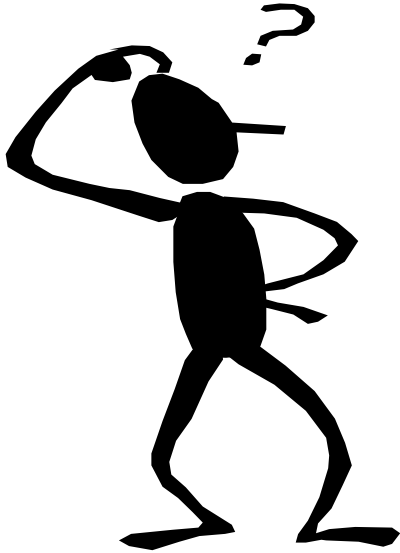
Suino: 17-21 Pg

# DEFINIZIONE DI ANEMIA

L'anemia è un disordine ematologico caratterizzato da un numero dei RBC o da valori dell' Hct e/o dell'Hgb diminuiti rispetto ai valori di riferimento stabiliti per ciascuna specie

L'anemia è una manifestazione clinica di una patologia primitiva

E' quindi necessario ricercarne l'origine, poiché' solo il trattamento della causa può portare a guarigione il paziente



# PATOGENESI

- eccessiva perdita di globuli rossi (emorragie)
- eccessiva distruzione dei globuli rossi (emolisi)
- insufficiente produzione dei globuli rossi (patologie midollari)
- ridotta sintesi di Hb

Una corretta diagnosi dell'anemia prevede:

- anamnesi
- esame clinico
- esami di laboratorio

# ESAMI DI LABORATORIO

- esame emocromocitometrico:
  - conta eritrocitaria
  - ematocrito
  - emoglobina
  - indici eritrocitari
  
- esame dello striscio ematico
- stima piastrinica

# ALTRI ESAMI DI LABORATORIO

- conta piastrinica ( funzionalità del midollo)
- conta dei reticolociti
- esame del puntato midollare

**Il valore dell'ematocrito fornisce una rapida indicazione della gravità dell'anemia**

<b>Specie</b>	<b>Leggera</b>	<b>Moderata</b>	<b>Grave</b>	<b>Gravissima</b>
<b>Cane</b>	<b>30-37</b>	<b>20-29</b>	<b>13-20</b>	<b>&lt; 13</b>
<b>Gatto</b>	<b>20-26</b>	<b>15-19</b>	<b>10-14</b>	<b>&lt;10</b>
<b>Cavallo</b>	<b>26 -31</b>	<b>17-25</b>	<b>12-16</b>	<b>&lt;12</b>

# CLASSIFICAZIONE

Le principali classificazioni dell'anemia si basano:

- indici eritrocitari corpuscolari medi (MCV e MCHC)
- risposta eritropoietica (rigenerativa, scarsamente rigenerativa, non rigenerativa)

*... importante considerare anche*

## Anemie fisiologiche

- giovane età
- estro

## Anemie da diluizione

- somministrazione di fluidi
- ingestione eccessiva di acqua
- gravidanza (↓ proteine plasmatiche totali)

## Anemie da sequestro

- ipersplenismo

# Indici corpuscolari medi

## Volume corpuscolare medio

MCV:  $\text{Hct (\%)} \times 10 / \text{n}^\circ \text{RBC} = 60 - 76 \text{ fL}$

## Concentrazione Emoglobinica corpuscolare media

MCHC:  $\text{Hgb(g/dl)} \times 100 / \text{Hct (\%)} = 32 - 38,5 \text{ g/dl}$

## Emoglobina Corpuscolare Media

MCH:  $\text{Hgb (g/dl)} \times 10 / \text{n}^\circ \text{RBC} = 20 - 27 \text{ Pg}$

# CLASSIFICAZIONE SECONDO GLI INDICI CORPUSCOLARI MEDI

<b>Indici eritrocitari</b>	<b>MCHC aumentato</b>	<b>MCHC normale</b>	<b>MCHC diminuito</b>
<b>MCV normale</b>	<b>Normocitica Ipercromica</b>	<b>Normocitica Normocromica</b>	<b>Normocitica Ipocromica</b>
<b>MCV aumentato</b>	<b>Macrocitica* Ipercromica</b>	<b>Macrocitica Normocromica</b>	<b>Macrocitica Ipocromica</b>
<b>MCH diminuito</b>	<b>Microcitica Ipercromica</b>	<b>Microcitica Normocromica</b>	<b>Microcitica Ipocromica</b>

## Anemia macrocitica normocromica

- carenza di vitamina B12

## Anemia macrocitica ipocromica

- anemia rigenerativa

## Anemia normocitica ipercromica

- rara

## Anemia normocitica normocromica

- a. non rigen. (soppressa eritrop.)
- a. rig. iperacuta

## Anemia normocitica ipocromica

- carenza iniziale o leggera di Fe, rame, vit B6

## Anemia microcitica ipercromica

- a. emolitica immunomediata iperacuta

## Anemia microcitica normocromica

- fasi iniziali o finali di deficienza di Fe, rame, Vit B6

*(durante le fasi iniziali MCV ↓ prima dell'MCHC; durante la guarigione l'MCHC può tornare all norma prima dell'MCV)*

## Anemia microcitica ipocromica

- deficienze protratte di Fe, rame, vit B6

# CLASSIFICAZIONE DELLE ANEMIE SECONDO LA RISPOSTA ERITROPOIETICA

Le anemie sono classificate come

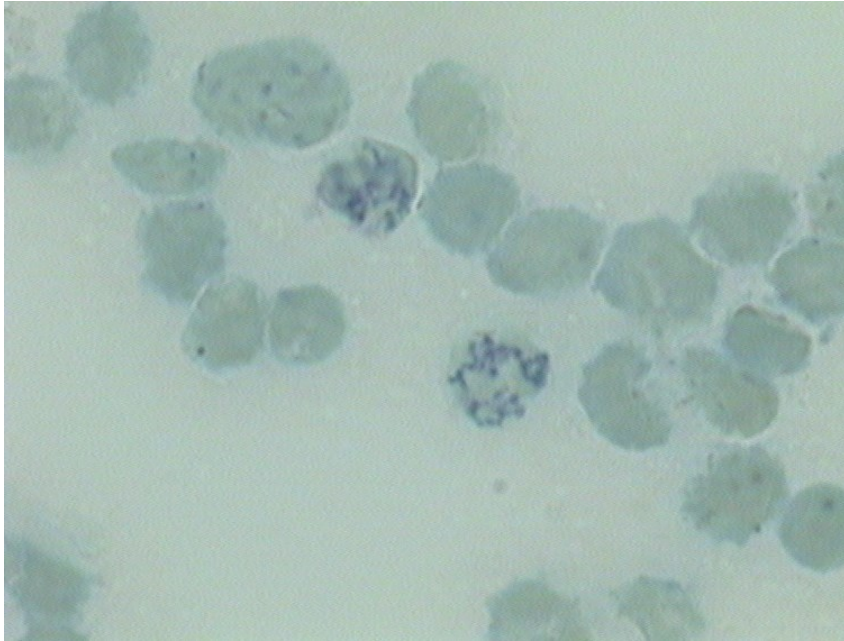
- rigenerative
- scarsamente rigenerative
- non rigenerative

in relazione alla risposta eritropoietica  
rilevata nel sangue periferico o in  
campioni di midollo osseo

*Segni di risposta eritropoietica possono essere valutati all'esame dello striscio di sangue periferico:*

- eritrociti policromatofili
- anisocitosi
- punteggiatura basofila
- eritrociti nucleati
- corpi di Howell-Jolly
  
- **RETICOCITOSI**

# Reticolociti



Sono visibili sullo striscio di sangue solo con la colorazione Nuovo blu di metilene o Cresil blu brillante.

Il reticolocita è leggermente più grande dell'eritrocita maturo, presenta una rete irregolare (reticolo) di colore scuro, residuo dell'RNA ribosomiale, ancora presente nelle cellule in via di sviluppo

Nel cane e nel gatto il grado di intensità della risposta rigenerativa eritropoietica può essere determinata dal conteggio dei reticulociti

Nel cavallo e nel bovino i reticulociti non si osservano

La conta reticolocitaria è il mezzo più affidabile per valutare la risposta midollare

Si esegue contando la percentuale di reticolociti rispetto a 500-1000 globuli rossi normali (1000x)

1% → condizione normale  
> 3-5% → rigenerazione

## Indici reticolocitari

### a) Correzione Percentuale Reticolociti (CPR)

$$(\text{conta reticulociti}\%) \times \text{Hct}$$

Hct normale della specie (45% cane, 37% gatto)

### b) Conta Reticolociti Assoluta

$$\frac{(\text{conta reticulociti in}\%) \times (\text{conta RBC del paziente})}{100}$$

Conta assoluta > 60.000/ $\mu$ l è indicativa di rigenerazione

## c) Indice di produzione reticolocitario (RPI)

conta reticolociti (%) x HCT del paziente

---

RMT (days) x cHCT (45)

RMT

1,5 per Hct tra 35-25

2,0 per Hct tra 25-15

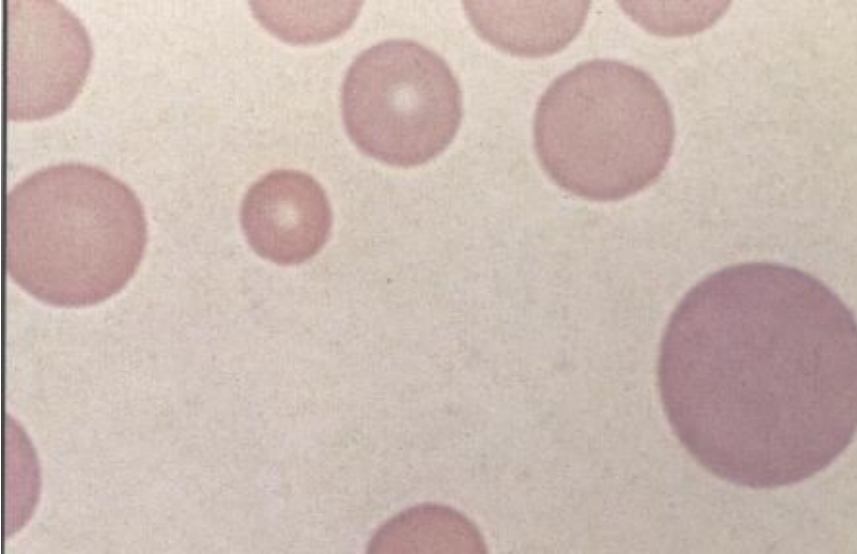
2,5 per Hct < 15

RPI fino a 1 → a. non rigen.

RPI > 2 → a. rigenerativa

RPI tra 1 e 2 → meno definiti

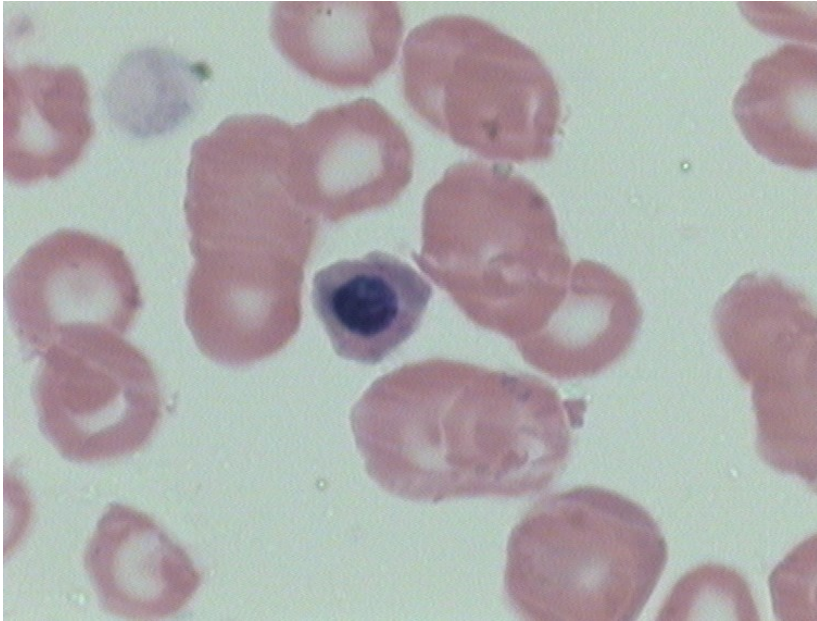
# Policromatofili



RBC che ha una debole tinteggiatura bluastra dovuta ad una mescolanza del caratteristico colore dell'emoglobina con il citoplasma eritrocitario basofilo

E' un segno di aumentata produzione eritrocitaria e dell'aumento di Giovani globuli rossi; il policromatofilo equivale al reticolocita

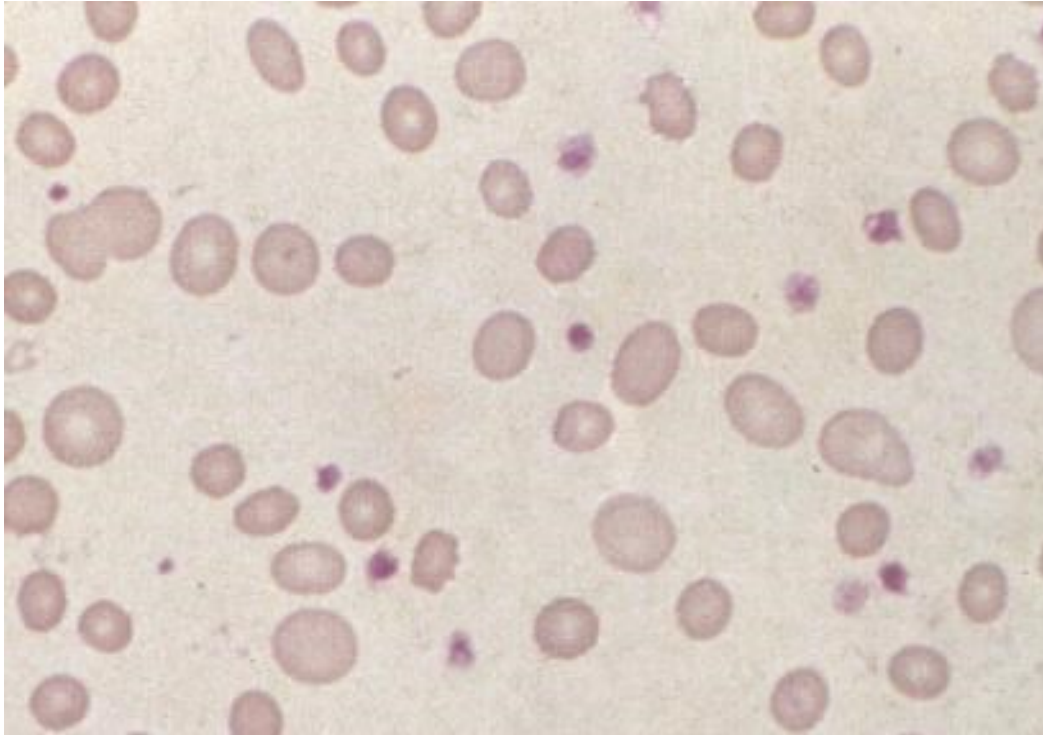
# Globuli rossi nucleati



Detti anche NRBC (Nucleated RBC), vi è la persistenza del nucleo in un giovane RBC

La loro presenza è un reperto di aumentata produzione eritrocitaria (indice di rigenerazione)

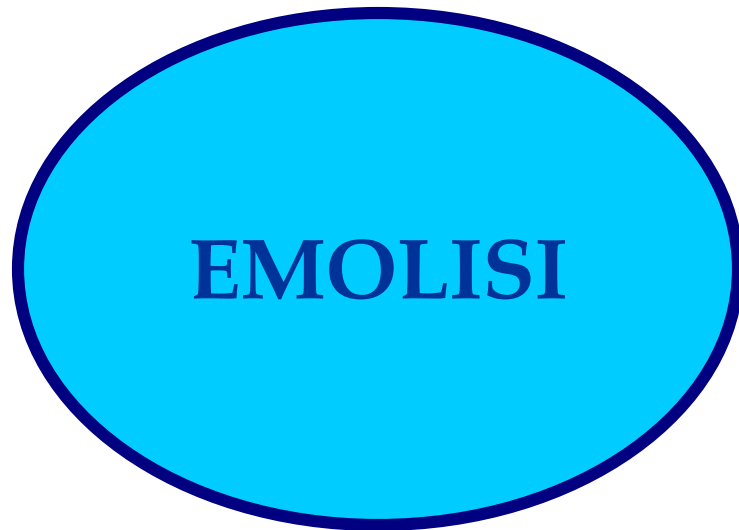
# Anisocitosi



Presenza di eritrociti di dimensioni diseguali in uno striscio ematico

Osservata comunemente in molti tipi di anemia; gli RBC più grandi sono quelli più giovani rilasciati dal midollo osseo a seguito dell'aumentata produzione eritrocitaria

# ANEMIE RIGENERATIVE



# ANEMIE RIGENERATIVE

## *Emorragie*

### perdite acute

- trauma
- interventi chirurgici
- emorragie tumorali
  - emangiosarcoma
- problemi dell'emostasi primaria
  - trombocitopenia, ehrl.
  - malattia di von W.
  - trombocitopatie, farmaci(sulfamidici, estr., terapie, aspirina,chemioterapia...)





- problemi dell'emostasi secondaria
  - intossicazione da antivitamina k
  - emofilia
  - insufficienza epatica

## Perdite croniche

- parassiti cutanei ematofagi (cucciolo)
- perdite nell'apparato digerente (o uro-genitale) spesso occulte
- parassiti (ankilostomi, trichiuridi)
- neoplasia
- ulcera

*In caso di perdita ematica cronica di lunga durata, possono progressivamente diventare non rigenerative, per esaurimento delle riserve di ferro*

# EMOLISI

## Intravascolare

- anemia emolitica immunomediata
- parassiti (babesia)
- microangiopatie
  - torsione splenica, emangioma-emangiosarc.
  - CID
  - dirofilariosi cardiaca
- intossicazione (zinco, rara)
- setticemia (rara)
- enzimopatia ereditaria (deficit fosfofruttochinasi, rara)

# Emolisi extravascolare

- anemia emolitica immunomediata
- parassiti (babesia c., haemobartonella c., ehrlichia c.)
- tossine ossidanti (rara: cipolla cruda)
- enzimopatia ereditaria (deficit piruvato-chinasi:  
beagle, west highland terrier)
- iperparatiroidismo, diabete mellito, iperinsulinismo