

## Examenul citologic al frotiului sanguin

Hematologie	Examenul citologic al frotiului sanguin
<b>Specimen recoltat:</b>	- sange venos
<b>Recipient recoltare:</b>	- sange capilar din deget / pe heparina - vacutainer cu anticoagulant: EDTA tripotassium / dipotasium / disodium - la copii mici se poate recolta sange capilar din deget / calcai / pe heparina (microtainer)
<b>Metoda:</b>	- examinare microscopică

### 1. Informatii generale:

Examenul citologic al frotiului sanguin este o componenta esentiala a evaluarii pacientilor cu boli hematologice si nehematologice deoarece aduce informatii importante pentru diagnosticul pozitiv sau diferential al acestor afectiuni.

Examenul microscopic al frotiului sanguin poate fi solicitat de medicii clinicieni sau initiat de personalul laboratorului atunci cand exista modificari ale hemogramei sau cand exista semnalizari ale analizorului automat. Fiecare laborator prezinta o politica proprie referitoare la initierea examenului citologic al sangelui.

Frotiurile sanguine pentru examenul citologic pot fi:

- frotiuri din sange "capilar", mai corect arteriolar – realizat prin etalarea pe lama a unei picaturi de sange obtinuta prin punctiunea pulpei degetului la adult sau a fetei plantare a calcaiului la nou-nascut,
- frotiuri din sange venos,
- concentrat leucocitar.

Efectuarea preparatului pentru examenul citologic al frotiului sanguin presupune etalarea unei picaturi de sange pe o lama de sticla si colorarea frotiului astfel incat sa poata fi examinat la microscopul optic. Acesta poate fi colorat May-Grünwald-Giemsa sau folosind coloratia rapida.

Componentele celulare (nucleu, citoplasma, granulatii, incluziuni) au caracteristici tinctoriale diferite la coloratia MGG.

Componente celulare:	Culoare:
Nucleu: Corpi Howell Jolly: Corpi Auer:	purpuriu
Citoplasma limfocitelor:	albastru
Citoplasma monocitelor:	albastru-gri
Citoplasma bogata in ARN:	albastru inchis
Granulatiile specifice- neutrofile	purpuriu deschis-roz
- eozinofile	portocaliu
- bazofile	purpuriu inchis
Granulatiile limfocitelor:	purpuriu deschis / roz
Granuloamerele trombocitelor:	
Eritrocitele:	roz

În faza analitică a examenului citologic al frotiului sanguin se examinează frotiul sistematic pentru realizarea formulei leucocitare și identificarea modificărilor morfologice ale eritrocitelor, leucocitelor și trombocitelor.

#### A. Aprecierea modificărilor morfologice ale eritrocitelor:

- *Normocite normocrome - variații fiziologice:*

Variațiile fiziologice cele mai frecvente ale eritrocitelor sunt macrocitoza fiziologică a nou născutului și anizocitoza cu poichilocitoză a gravidei. Cunoașterea acestora determină evitarea erorilor de încadrare.

- *Modificări de mărime:*

- **microcite:** eritrocite cu dimensiuni inferioare normocitelor.

Dimensiunile eritrocitelor copiilor sunt fiziologic mai mici și această caracteristică trebuie luată în considerare.

- *microcite hipocrome* din anemia microcitară hipocromă prin deficit de fier,
- *microcite hipocrome* care se pot întâlni în anemia din afecțiunile cronice, talasemii minore, anemie sideroblastică.

- **macrocite:** eritrocite cu un VEM peste 95-100 fl.

Cantitatea de hemoglobină crește proporțional cu volumul eritrocitului astfel încât concentrația medie în hemoglobină eritrocitară (CHEM) nu depășește aproape niciodată valorile superioare ale normalului (cu singură excepție a sferocitozei ereditare).

- *macrocitoze fiziologice* - sunt descrise la nou născuți, gravide, varșnici;
- *macrocite ovale – ovalocite* - în deficitul de vitamină B12;
- *macrocite rotunde* - în deficitul de acid folic, boli hepatice, alcoolism.

Cele mai frecvente cauze de macrocitoză sunt: deficitul de vitamină B12, deficitul de acid folic, macrocitoze medicamentoase, consum cronic de etanol, anemii mielofizice, boli hepatice, dezordine mostenite ale sintezei de ADN, reticulocitoze.

- **anizocitoza eritrocitară** - creșterea peste normal a variabilității dimensiunilor eritrocitare. Este obligatoriu să fie însoțită de precizarea tipurilor de eritrocite care o determină.

- *Modificări de formă: poichilocitoza (eritrocite cu forme anormale).*

Poichilocitoza apare atunci când maduva produce celule anormale sau când eritrocitele normale morfologic sunt afectate în circulație de acțiunea unor factori diverși mecanici, chimici.

- *acantocite,*
- *„blister cell”,*
- *„hemighosts” (semifantoma),*
- *codocite (hematii în semn de tras la tinta),*
- *dacriocite (eritrocite în lacrimă),*
- *degmacite (celule muscate),*
- *echinocite (eritrocite crenelate),*
- *eritrocite cu formă de ciupercuță,*
- *knizocite,*
- *ovalocite, eliptocite,*
- *prekeratocite, keratocite,*
- *skizocite,*
- *sferocite,*
- *stomatocite.*

- *Modificări de culoare:*

1. **hipocromia** - creșterea depresiunii centrale a eritrocitelor.

- in anemia microcitara hipocroma,
- macrocite hipocrome - din deficitul de cupru.

**2. hiperchromia** - eritrocite mai intens colorate decat normal - sferocitele, unele keratocite.

**3. policromatofilia** - eritrocitele care in frotiul colorat MGG sunt de culoare albastru - roz: reticulocitele imature.

- **Incluzii eritrocitare:**
  - punctuatii bazofile - in eritropoieza patologica din intoxicatii cu Pb, arsenic, talasemii, anemii sideroblastice,
  - corpi Howell-Jolly,
  - corpi Pappenheimer - anemii megaloblastice, post-splenectomie,
  - inele Cabot - procese hemolitice severe, boala celiaca.

## **B. Modificari leucocitare:**

Examenul microscopic al frotiului sanguin pentru leucocite permite stabilirea concordantei cu valorile hemogramei automate, estimarea numarului de leucocite, efectuarea formulei leucocitare, identificarea modificarilor morfologice ale leucocitelor si semnalarea prezentei de elemente neobisnuite in tabloul sanguin.

- **Leucocitozele:**
  - *din bolile nehematologice - reactia leucemoida,*
  - *din bolile hematologice maligne - leucemii acute mieloida sau limfoide,*
    - leucemii cronice,
    - sindrom mieloproliferativ cronic,
    - limfoame nonhodkin leucemizate.
- **Leucopenia:** - infectii ricketiene, febra tifoida, leucopenia indusa de medicamente.

- **Modificari ale seriei granulocitare cu granulatii neutrofile:**

Elemente ale seriei granulocitare cu granulatii neutrofile care se descriu in frotiul sanguin normal sunt *segmentul neutrofil* si *nesegmentatul neutrofil*.

Cresterea numarului de nesegmentate se considera deviere la stanga a formulei leucocitare si in aceasta situatie si ceilalti precursori imaturi pot fi eliberati in sange.

Aceasta situatie apare ca raspuns fiziologic in sarcina sau raspuns la infectii, inflamatii.

- **Neutrofilia:**

- **neutrofilia fiziologica:** la nou nascutul sanatos, gravide, post partum, dupa efort fizic,
- **neutrofilia reactiva:** cresterea eliberarii neutrofilelor din maduva pentru a compensa afinitatea crescuta a acestora pentru tesuturi. Este insotita de deviere la stanga a formulei leucocitare.
- **neutrofilia din boli maligne:** leucemie granulocitara cronica, boli mieloproliferative cronice.

- **Neutropenia:** fenomen izolat sau in cazul unei pancitopenii.

- **Modificari morfologice ale granulocitelor neutrofile:**

- **anomalii ale nucleului segmentatelor neutrofile:**

- hipersegmentarea nucleului neutrofilului, devierea la dreapta,
- anomalia Palger Huet si pseudo Palger Huet,
- neutrofile cu nucleu inelar.

- **anomalii ale citoplasmei neutrofilelor:**

- granulatii toxice,
- degranularea partiala sau totala,
- granulatii anormale,

- corpii Auer,
- vacuole toxice.

**-agregarea neutrofilelor:** in asociere cu mononucleoza infectioasa si in infectii bacteriene acute.

- **Devierea la stanga a formulei leucocitare** - prezenta in frotiul sanguin a elementelor granulocitare mai tinere decat granulocitele nesegmentare (metamielocite, mielocite, promielocite sau blasti):
  - **mieloblastul** - prezenti in tabloul periferic in reactii leucemoide sau pot fi mieloblasti patologici leucemici,
  - **promielocitul** - apare in sangele periferic in conditii patologice,
  - **promielocitul leucemic** – de obicei nu au zona Golgi distincta,
  - **mielocitul neutrofil:** apare in conditii fiziologice (nou-nascuti si gravide)si mai ales in conditii patologice (reactive:reactii leucemoide sau maligne),
  - **metamielocitul neutrofil** - apare in tabloul sanguin in conditii patologice si ca raspuns la un factor de stres.
- **Tabloul leucoeritroblastic:**prezenta in frotiul sanguin a elementelor tinere din seria granulocitara alaturi de eritroblasti circulanti.  
Caracterizeaza hematopoieza extramedulara care apare in mielofibroza primara sau secundara, in cancere metastazate medular, in anemie hemolitica severa, in osteopetroza.
- **Modificari ale eozinofilelor:**
  - **Eozinofiliile:** apar in afectiuni alergice, parazitare, micotice, neoplazice.
  - **Anomalii morfologice ale eozinofilelor:**hipersegmentarea nucleara, lipsa segmentarii nucleare, nucleu inelar, citoplasma complet sau partial degranulata sau vacuolata.
- **Modificari ale bazofilelor:**
  - **Bazofilie:** in reactii alergice, unele infectii virale (varicela), boli inflamatorii cronice, in ovulatie, administrare de estrogeni.
  - **Anomalii morfologice ale bazofilelor:**degranularea bazofilelor - se intalneste mai frecvent in bolile mieloproliferative cronice si in sindromul mielodisplazic.
- **Modificari ale limfocitelor**  
**Limfocitoza:** este necesar corelarea numarului absolut de limfocite cu aspectul morfologic.
  - *limfocitoza fara modificari morfologice,*
  - *limfocitoza cu modificari morfologice-care intereseaza dimensiunea, nucleul, citoplasma.*

**Limfocitopenia:** toate conditiile de stres major, infectii severe, insuficiente hepatice acute, dupa administrarea de corticoizi, in fazele avansate ale limfomului Hodgkin, SIDA, bolnavi dializati cronic.
- **Modificari ale monocitelor:**  
**Elementele imature ale seriei monocitare** monoblast sau / si promonocit se intalnesc in frotiul sanguin doar in conditii patologice.  
**Monocitozele** patologice pot fi benigne (infectii cronice, colita ulcerativa, artrita reumatoida) sau maligne(leucemii mielo-monocitare cronice, leucemii acute mieloide, leucemii mieloide atipice).

### C. Modificari ale trombocitelor:

Orice trombocitopenie sau trombocitoza trebuie verificata prin examen morfologic al frotiului sanguin. Exista false trombocitopenii care pot fi identificate prin examenul frotiului sanguin.

**Modificarile morfologiei trombocitare**-pot fi sugestive pentru un anumit diagnostic:

- *absenta granulomerelor* se intalneste in sindromul trombocitelor gri-rar, si in sindroame mielodisplazice.
- *anizotrombocitoza cu megalotrombocite* - descrisa in trombocitopenii de origine periferica dar si in boli mieloproliferative cronice, sindroame mielodisplazice.
- *trombocite gigante*: in afectiuni mostenite rare dar si in boli mieloproliferative.

## **2. Recomandari pentru determinarea frotiului sanguin:**

- anemii fara o cauza evidenta,
- sindroame hemarogipare,
- sindroame febrile de etiologie necunoscuta,
- organomegalii,
- suspiciune de neoplazii metastazate medular,
- ictere inexplicabile.