

Le anemie emolitiche

Giovanna Russo

Ematologia ed Oncologia Pediatrica

Azienda Policlinico - Vittorio Emanuele
Università di Catania



Approccio diagnostico

Considerazione delle **caratteristiche cliniche** suggestive per una malattia di natura emolitica

Evidenza di **laboratorio** della presenza di un processo emolitico

Individuazione della **causa** precisa dell'emolisi

Dati anamnestici indicativi di anemia emolitica

Gruppo etnico. Le sindromi talassemiche, l'Hb S, Hb C e la carenza di G6PD hanno la massima prevalenza in soggetti provenienti dall'**Italia meridionale e insulare, e dall'Africa**.

Familiarità. Anemia, **splenomegalia**, **ittero**, **calcolosi biliare** associati ad una familiarità autosomica dominante depongono per una sferocitosi ereditaria o una emoglobina instabile.

Ittero neonatale. Può essere espressione di sferocitosi, carenza di G6PD, α -varianti instabili dell'emoglobina.

Età di insorgenza. L'anemia nel neonato è generalmente espressione di emorragia recente, di isoimmunizzazione, di infezioni connatali o anemie emolitiche congenite (sferocitosi, carenza di G6PD). Se l'anemia inizia tra 4 e 6 mesi si può pensare ad un'anomalia emoglobinica (β -talassemia, drepanocitosi).

Dolori ricorrenti. Possono far parte del corteo sintomatologico della drepanocitosi

Rilievi obiettivi indicativi di anemia emolitica

Splenomegalia soprattutto persistente

Ittero franco o subittero, anche intermittente;
(iperbilirubinemia indiretta)

Calcolosi della cistifellea nel bambino o nel giovane adulto

Ulcere malleolari croniche o ricorrenti

Emoglobinuria

Approccio diagnostico

Considerazione delle **caratteristiche cliniche** suggestive per una malattia di natura emolitica

Evidenza di **laboratorio** della presenza di un processo emolitico

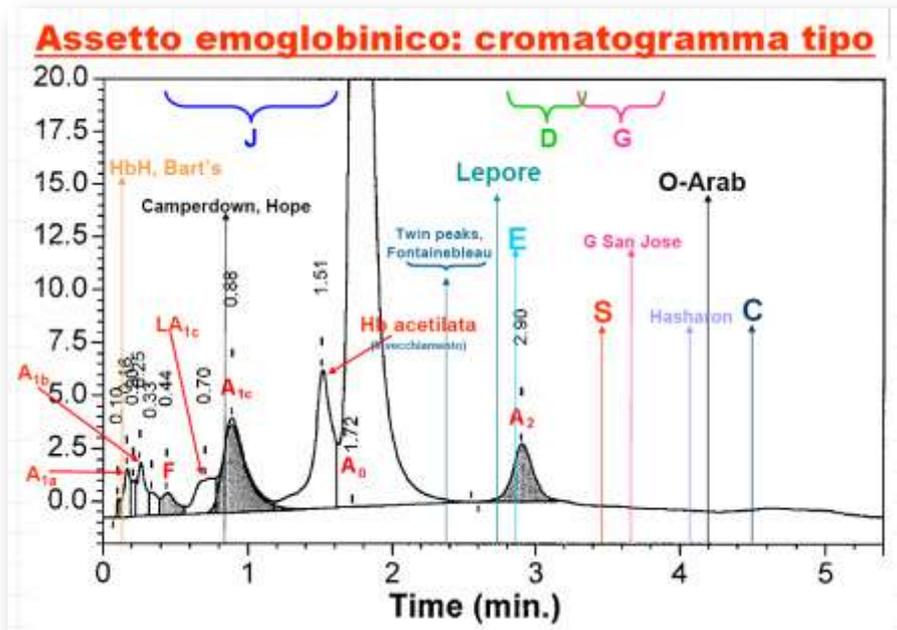
Individuazione della **causa** precisa dell'emolisi

Evidenze di laboratorio nelle anemie emolitiche

- Ridotta sopravvivenza eritrocitaria e **catabolismo emoglobina** accelerato
- **Aumento dell'eritropoiesi**

Ridotta sopravvivenza eritrocitaria

- Metodi **diretti**: marcatura emazie con radionuclidi
- Metodi **indiretti**: dosaggio Hb A1c (Hb glicosilata, v.n.4.5-6.5%)



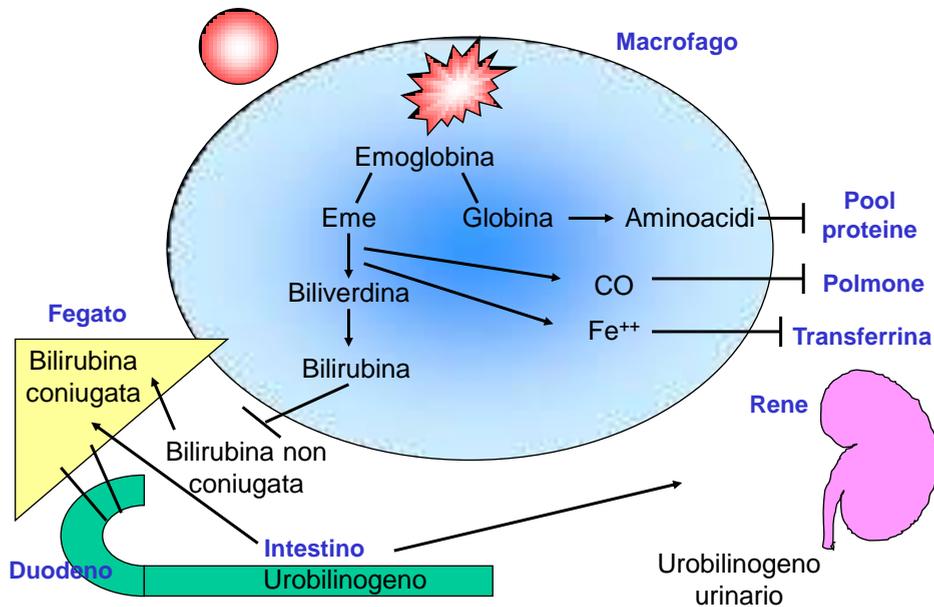
Evidenze di laboratorio nelle anemie emolitiche

- Ridotta sopravvivenza eritrocitaria e **catabolismo emoglobina** accelerato
- **Aumento dell'eritropoiesi**

Fisiopatologia dell'emolisi

La precoce distruzione dei G.R. avviene o per fagocitosi da parte dei macrofagi tissutali (**emolisi extravascolare**) oppure per lisi nel circolo sanguigno (**emolisi intravascolare**). In alcuni casi tali due differenti meccanismi possono coesistere

Emolisi extra-vascolare



Segni di emolisi extra-vascolare

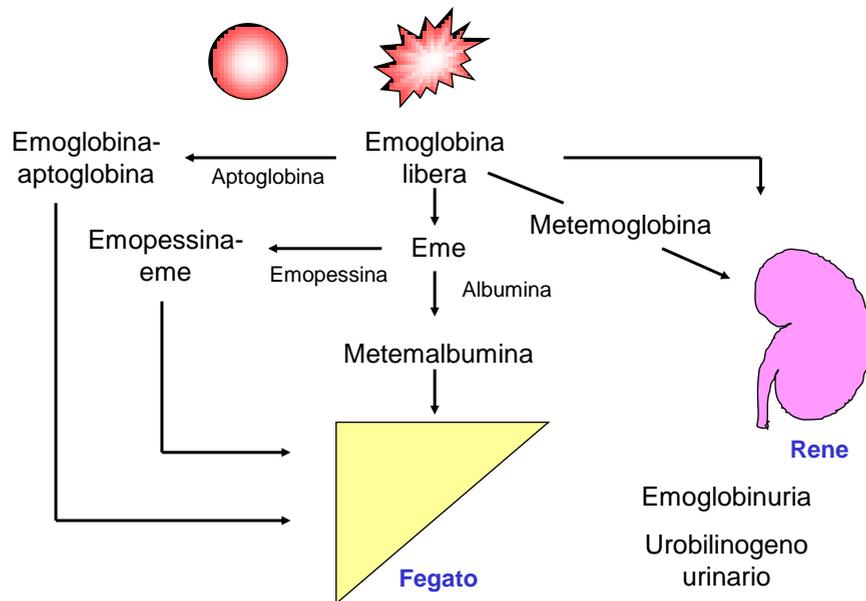
Aumento della **bilirubina non coniugata**

Aumento dell'**urobilinogeno** fecale ed **urinario**

Aumento della produzione di monossido di carbonio

Morfologia eritrocitaria specifica (**sferociti**)

Emolisi intra-vascolare



Segni di emolisi intra-vascolare

Aumento della emoglobina libera nel plasma (>50 mg Hb/dl, v.n. < 1 mg/dl)

Emoglobinuria

Diminuzione dell'aptoglobina

Aumento della metemalbumina plasmatica

Aumento della metemoglobina plasmatica

Morfologia eritrocitaria specifica (**schistociti**)

Hemoglobinuria in children

Condition	Circumstances	Diagnostic Approach
G6PD deficiency	Exposure to a trigger of hemolysis	Test for G6PD activity
Blackwater fever	Relatively rare complication of malaria	Blood slide for malaria parasites
Paroxysmal cold hemoglobinuria	Usually associated with viral infection	Test for Donath-Landsteiner antibody
Mismatched blood transfusion	Usually ABO incompatibility	Repeat crossmatch
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	Tends to recur	Flow cytometry for CD59
<i>Clostridium welchii</i> septicemia	Burns, severe open trauma, transfusion of contaminated blood	Culture of blood or appropriate patient material

Nathan and Oski, 2009

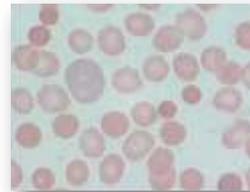
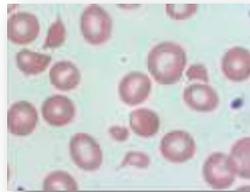
Hemoglobinuria in children

Condition	Circumstances	Diagnostic Approach
G6PD deficiency	Exposure to a trigger of hemolysis	Test for G6PD activity
Blackwater fever	Relatively rare complication of malaria	Blood slide for malaria parasites
Paroxysmal cold hemoglobinuria	Usually associated with viral infection	Test for Donath-Landsteiner antibody
Mismatched blood transfusion	Usually ABO incompatibility	Repeat crossmatch
Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	Tends to recur	Flow cytometry for CD59
<i>Clostridium welchii</i> septicemia	Burns, severe open trauma, transfusion of contaminated blood	Culture of blood or appropriate patient material

Nathan and Oski, 2009

Segni di emolisi - sintesi

	intravascolare	extravascolare
LDH	↑	↑
aptoglobina	↓↓	↓ o normale
emoglobina urine	++	assente
emosiderina urine	++	assente
urobilinogeno urine	+	+++
bilirubina indiretta	↑	↑↑
striscio periferico	schistociti	sferociti



Evidenze di laboratorio nelle anemie emolitiche

- Ridotta sopravvivenza eritrocitaria e **catabolismo emoglobina** accelerato
- **Aumento dell'eritropoiesi**

Aumento dell'eritropoiesi

Aumento dell'MCV

Aumento dei reticolociti circolanti

Eritroblastosi

Iperplasia eritroide midollare

Espansione midollare (alterazioni scheletriche)

AEA - Interpretazione dei principali esami

Esame	Reperto	Note	Diagnosi differenziale
GR e Hb	↓↓↓		
MCV	Normale o lievemente↑	Il lieve aumento è correlato alla reticolocitosi; se ↑↑, ci può essere aggregazione delle emazie dipendente da anticorpi IgM a struttura pentamerica capaci di fare agglutinare le emazie	
GB	Normale	Falsamente elevato in corso di eritroblastosi (linfocitosi) Se ↓ considerare ipo-aplasia BM	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
PLT	Normale	Se ↓ considerare DD	Anemia emolitica micro-angiopatica, S. Evans, ipo-aplasia BM
Reticolociti	Di solito ↑↑↑ Nel 10% ↓	Autoanticorpi vs eritroblasti intramidollari, apoptosi, Infezione Parvovirus B19	Ipo-aplasia BM
Aspirato midollare	Iperplasia eritroide	Non necessario per la diagnosi; indicato in presenza di reticolocitopenia per la DD verso altre anemie	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
Morfologia eritrocitaria	Anisocitosi Policromasia Sferocitosi		Altre anemie emolitiche: sferocitosi ereditaria, etc
Bilirubina indiretta	↑	La bilirubina diretta non dovrebbe eccedere il 10-20%	
LDH, AST, ALT	↑	Segno di citolisi eritrocitaria, maggiore aumento di AST; LDH ↑↑↑ in caso di emolisi intravasale	Epatite

Raccomandazioni AIEOP 2013

Aumento dell'eritropoiesi

Aumento dell'MCV

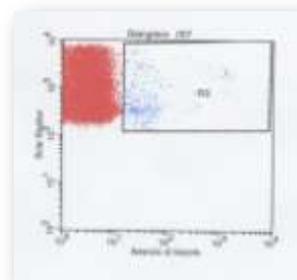
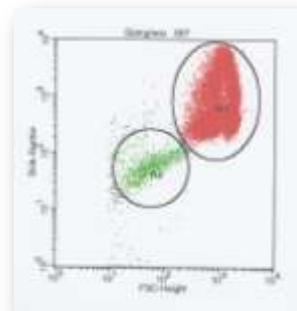
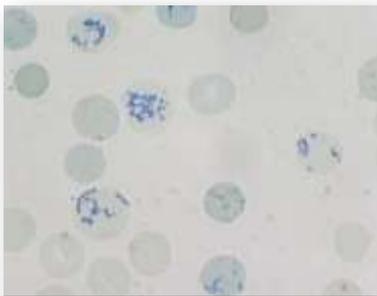
Aumento dei reticolociti circolanti

Eritroblastosi

Iperplasia eritroide midollare

Espansione midollare (alterazioni scheletriche)

I reticolociti



Caso clinico # 1

Bambino di 2 anni 10 mesi con s. Albright
Si ricovera per ipocalcemia

Progressiva anemia isolata
In 1 sett **Hb 5.9**, MCV 78, **Reticolociti 0.2 %**
Morfologia: ipocromia
Sospetto diagnostico: anemia iporigenerativa

Aptoglobina 6
Bilirubina indiretta 1.66
Test di Coombs positivo
Diagnosi: anemia emolitica autoimmune

Terapia: Ig e.v.
Rapido aumento di Hb e reticulocitosi (8 %)

AEA - Interpretazione dei principali esami

Esame	Reperto	Note	Diagnosi differenziale
GR e Hb	↓↓↓		
MCV	Normale o lievemente↑	Il lieve aumento è correlato alla reticulocitosi; se ↑↑, ci può essere aggregazione delle emazie dipendente da anticorpi IgM a struttura pentamerica capaci di fare agglutinare le emazie	
GB	Normale	Falsamente elevato in corso di eritroblastosi (linfocitosi) Se ↓ considerare ipo-aplasia BM	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
PLT	Normale	Se ↓ considerare DD	Anemia emolitica micro-angiopatica, S. Evans, ipo-aplasia BM
Reticolociti	Di solito ↑↑↑ Nel 10% ↓	Autoanticorpi vs eritroblasti intramidollari, apoptosi, Infezione Parvovirus B19	Ipo-aplasia BM
Aspirato midollare	Iperplasia eritroide	Non necessario per la diagnosi; indicato in presenza di reticulocitopenia per la DD verso altre anemie	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
Morfologia eritrocitaria	Anisocitosi Policromasia Sferocitosi		Altre anemie emolitiche: sferocitosi ereditaria, etc
Bilirubina indiretta	↑	La bilirubina diretta non dovrebbe eccedere il 10-20%	
LDH, AST, ALT	↑	Segno di citolisi eritrocitaria, maggiore aumento di AST; LDH ↑↑↑ in caso di emolisi intravasale	Epatite

Raccomandazioni AIEOP 2013

Aumento dell'eritropoiesi

Aumento dell'MCV

Aumento dei reticolociti circolanti

Eritroblastosi

Iperplasia eritroide midollare

Espansione midollare (alterazioni scheletriche)

AEA - Interpretazione dei principali esami

Esame	Reperto	Note	Diagnosi differenziale
GR e Hb	↓↓↓		
MCV	Normale o lievemente↑	Il lieve aumento è correlato alla reticolocitosi; se ↑↑, ci può essere aggregazione delle emazie dipendente da anticorpi IgM a struttura pentamerica capaci di fare agglutinare le emazie	
GB	Normale	Falsamente elevato in corso di eritroblastosi (linfocitosi) Se ↓ considerare ipo-aplasia BM	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
PLT	Normale	Se ↓ considerare DD	Anemia emolitica micro-angiopatica, S. Evans, ipo-aplasia BM
Reticolociti	Di solito ↑↑↑ Nel 10% ↓	Autoanticorpi vs eritroblasti intramidollari, apoptosi, Infezione Parvovirus B19	Ipo-aplasia BM
Aspirato midollare	Iperplasia eritroide	Non necessario per la diagnosi; indicato in presenza di reticolocitopenia per la DD verso altre anemie	Leucemie, mielodisplasie, insufficienza midollare
Morfologia eritrocitaria	Anisocitosi Policromasia Sferocitosi		Altre anemie emolitiche: sferocitosi ereditaria, etc
Bilirubina indiretta	↑	La bilirubina diretta non dovrebbe eccedere il 10-20%	
LDH, AST, ALT	↑	Segno di citolisi eritrocitaria; maggiore aumento di AST; LDH ↑↑↑ in caso di emolisi intravasale	Epatite

Raccomandazioni AIEOP 2013

Aumento dell'eritropoiesi

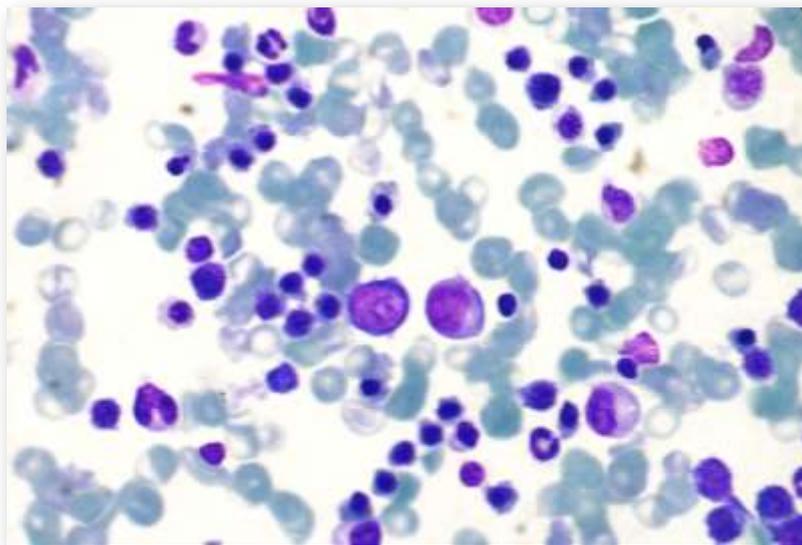
Aumento dell'MCV

Aumento dei reticolociti circolanti

Eritroblastosi

Iperplasia eritroide midollare

Espansione midollare (alterazioni scheletriche)



Approccio diagnostico

Considerazione delle **caratteristiche cliniche** suggestive per una malattia di natura emolitica

Evidenza di **laboratorio** della presenza di un processo emolitico

Individuazione della **causa** precisa dell'emolisi

ANEMIE EMOLITICHE

Congenite

ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO DELLA MEMBRANA
sferocitosi ereditaria
 ellissocitosi e piropoichilocitosi ereditarie
 altre forme ereditarie (stomatocitosi, acantocitosi)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO ENZIMATICO
 della via glicolitica di Embden-Meyerhof (PK)
 dello shunt degli esoso-monofosfati (**G6PD**)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO EMOGLOBINICI
 dell'eme: porfiria eritropoietica congenita
 della globina: **talassemie, emoglobinopatie**
 ANEMIE DISERITROPOITICHE CONGENITE

Acquisite

ANEMIE EMOLITICHE ISOIMMUNI
 malattia emolitica del neonato
 reazioni trasfusionali emolitiche
 ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI
 Idiopatiche
da anticorpi caldi, freddi, bitemici
 Secondarie
Infezioni virali (herpes), batteriche (streptococco)
 Farmaci
 ANEMIE EMOLITICHE NON IMMUNI
Infezioni virali, batteriche, protozoarie (malaria)
 Farmaci citotossici
 Disordini ematologici (leucemie, **ipersplenismo**)
 EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA
 ANEMIE EMOLITICHE MECCANICHE
microangiopatiche
 da traumatismo cardiaco
 emoglobinuria da marcia
 VARIE (m. Wilson, osteopetrosi)

ANEMIE EMOLITICHE

Congenite

ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO DELLA MEMBRANA
sferocitosi ereditaria
 ellissocitosi e piropoichilocitosi ereditarie
 altre forme ereditarie (stomatocitosi, acantocitosi)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO ENZIMATICO
 della via glicolitica di Embden-Meyerhof (PK)
 dello shunt degli esoso-monofosfati (**G6PD**)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO EMOGLOBINICI
 dell'eme: porfiria eritropoietica congenita
 della globina: **talassemie, emoglobinopatie**
 ANEMIE DISERITROPOITICHE CONGENITE

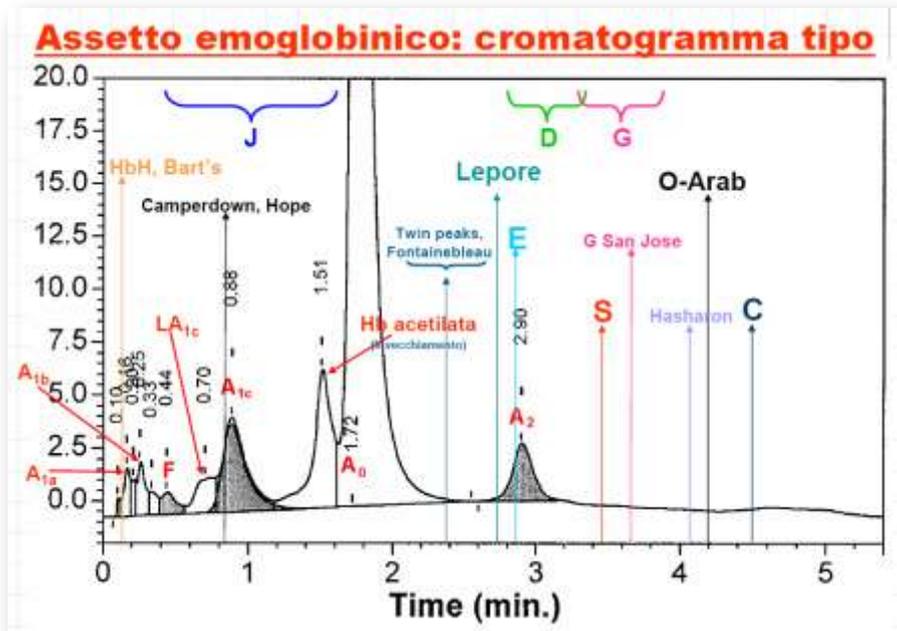
Acquisite

ANEMIE EMOLITICHE ISOIMMUNI
 malattia emolitica del neonato
 reazioni trasfusionali emolitiche
 ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI
 Idiopatiche
da anticorpi caldi, freddi, bitermici
 Secondarie
Infezioni virali (herpes), batteriche (streptococco)
 Farmaci
 ANEMIE EMOLITICHE NON IMMUNI
Infezioni virali, batteriche, protozoarie (malaria)
 Farmaci citotossici
 Disordini ematologici (leucemie, **ipersplenismo**)
 EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA
 ANEMIE EMOLITICHE MECCANICHE
microangiopatiche
 da traumatismo cardiaco
 emoglobinuria da marcia
 VARIE (m. Wilson, osteopetrosi)

Esami di I livello per le emoglobinopatie



- ◆ Esame emocromocitometrico
- ◆ dosaggio dell'HbA2 (HPLC, microcromatografia)
- ◆ valutazione qualitativa di Hb patologiche (elettroforesi, HPLC)
- ◆ dosaggio di HbF (HPLC, alcali resitenza)
- ◆ dosaggio enzimatico della Znpp e/o dosaggio ematico della ferritina



Diagnosi di β trait - Difficoltà

Livello normale di Hb A₂

Periodo neonatale: i livelli di Hb A₂ sono bassi, e non diventano abnormemente elevati prima di 6-12 mesi

Portatore silente: mutazioni che causano anomalie ematologiche minime o del tutto assenti, ma che, in combinazione con una altra mutazione talassemica (omogote o eterozigote composto) può dare luogo ad una talassemia major

Sideropenia (rilevante in quei portatori di mutazioni mild, in cui l'HbA₂ è solo modicamente elevata)

δ Talassemia – presenza di una Hb A₂ variante

α Talassemia

Livello di Hb A₂ elevato con indici eritrocitari (MCV, MCH) normali

Presenza sia di α che di β talassemia

Malattie epatiche che fanno aumentare MCV e MCH

Table 3.9 Causes of normal haemoglobin A₂ β thalassaemia.

Mutation	Origin	Usual haemoglobin A ₂ (mean or range) (%)	Usual MCH (mean or range) (pg)	Usual MCV (mean or range) (fl)
Silent β thalassaemia trait (normal MCV, MCH and haemoglobin A₂ percentage)				
-101 C→T	Mediterranean	3.1	28	85
-92 C→T	Mediterranean	3.5	28	82
CAP+8 C→T [87]	Chinese	3.0	33.7	98
CAP+10 -T [87,120]	Greek	2.5-2.7	30-33	94-102
IVS2 844 C→G	Mediterranean (Italian)	3.5	26-29	85
CAP+33 C→G [121]	Mediterranean (Greek Cypriot)	3.0	29	86
CAP+1480 C→G (termination codon +6 C→G) [87,116,118]	Mediterranean (Greek)	1.9-3.4	20-31	79-95
Almost silent β thalassaemia trait (reduced MCV and MCH, normal haemoglobin A₂ percentage)				
IVS1 6 T→C	Mediterranean*	3.3	23	71
Codon 27 G→T (haemoglobin Krossauf)	Mediterranean and Middle Eastern	2.1	25	71
IVS1 5 G→A Corfu 8 β [Mediterranean			
IVS1 128 T→G	Saudi	3.5	25	70
CAP+1 A→C	South Asian	3.4	25	80
Mutation not linked to β globin gene cluster [90]	Italian	1.6 $\bar{5}$	23.5 $\bar{8}$	7 $\bar{6}$
CAP+22 G→A [122]	Turkish, Bulgarian	3.3	23.5	79
Poly A T→C	African			
Other β thalassaemia mutations with a defective δ gene in cis or in trans	Mediterranean including Sardinian			
Indices typical of thalassaemia trait, but haemoglobin A₂ percentage normal				
β thalassaemia caused by deletion of the locus control region	Various	Normal	Typical of β thalassaemia	Typical of β thalassaemia
$\gamma\delta\beta$ thalassaemia	Various	Normal	Typical of β thalassaemia	Typical of β thalassaemia

ANEMIE EMOLITICHE

Congenite

ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO DELLA MEMBRANA
sferocitosi ereditaria
 ellissocitosi e piropoichilocitosi ereditarie
 altre forme ereditarie (stomatocitosi, acantocitosi)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO ENZIMATICO
 della via glicolitica di Embden-Meyerhof (PK) dello shunt degli esoso-monofosfati (**G6PD**)
 ANEMIE EMOLITICHE DA DIFETTO EMOGLOBINICI
 dell'eme: porfiria eritropoietica congenita
 della globina: **talassemie, emoglobinopatie**
 ANEMIE DISERITROPOITICHE CONGENITE

Acquisite

ANEMIE EMOLITICHE ISOIMMUNI
 malattia emolitica del neonato
 reazioni trasfusionali emolitiche
ANEMIE EMOLITICHE AUTOIMMUNI
 Idiopatiche
da anticorpi caldi, freddi, bitemici
 Secondarie
Infezioni virali (herpes), batteriche (streptococco)
 Farmaci
 ANEMIE EMOLITICHE NON IMMUNI
Infezioni virali, batteriche, protozoarie (malaria)
 Farmaci citotossici
 Disordini ematologici (leucemie, **ipersplenismo**)
 EMOGLOBINURIA PAROSSISTICA NOTTURNA
 ANEMIE EMOLITICHE MECCANICHE
microangiopatiche
 da traumatismo cardiaco
 emoglobinuria da marcia
 VARIE (m. Wilson, osteopetrosi)



Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica

Gruppo di Lavoro Patologia del Globulo Rosso
 Coordinatori: Silverio Perrotta - Giovanna Russo

Raccomandazioni per la gestione del bambino con Anemia Emolitica Autoimmune

Coordinatore
 Saverio Ladogana¹

Revisori interni
 Saverio Ladogana¹, Matteo Maruzzi¹, Giovanna Russo², Wilma Barcellini³, Alberto Zanella³

Date delle riunioni preliminari

14 Ottobre 2011
 24-25 Gennaio 2012
 27 Marzo 2012
 3 Ottobre 2012

Date delle Consensus Conference

27 Novembre 2012
 12 Marzo 2013

Partecipanti alla Consensus Conference

Wilma Barcellini (Milano), Carlo Baronci (Roma), Maddalena Casale (Napoli), Tommaso Casini (Firenze), Giovanni Cazzaniga (Monza), Andrea Ciliberti (San Giovanni Rotondo), Serelina Coluzzi (Roma), Paola Corti (Monza), Gian Carlo Del Vecchio (Bari), Domenico De Mattia (Bari), Elena Facchini (Bologna), Piero Farruggia (Palermo), Silvia Fasoli (Mantova), Gabriella Girelli (Roma), Fiorina Giona (Roma), Paola Giordano (Bari), Saverio Ladogana (San Giovanni Rotondo), Giuseppe Lassandro (Bari), Ilaria Lazzareschi (Roma), Matteo Maruzzi (San Giovanni Rotondo), Maurizio Miano (Genova), Agostino Nocerino (Udine), Lucia Dora Notarangelo (Brescia), Silverio Perrotta (Napoli), Angela Maria Petrone (Rovereto-Trento), Giovanna Russo, (Catania), Piera Samperi (Catania), Paola Saracco (Torino), Antonella Sau (Pescara), Raffaella Schirò (Milano), Manuela Tumino (Padova), Isabella Vasta (Lecce), Federico Verzegnassi (Trieste), Alberto Zanella (Milano)

Ringraziamenti: Si ringraziano Fabio Pellegrini, Massimiliano Copetti, Andrea Fontana (U.O. di Biostatistica dell'Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo) per le analisi statistiche.

Versione 1 1 novembre 2013

Raccomandazioni AIEOP 2013

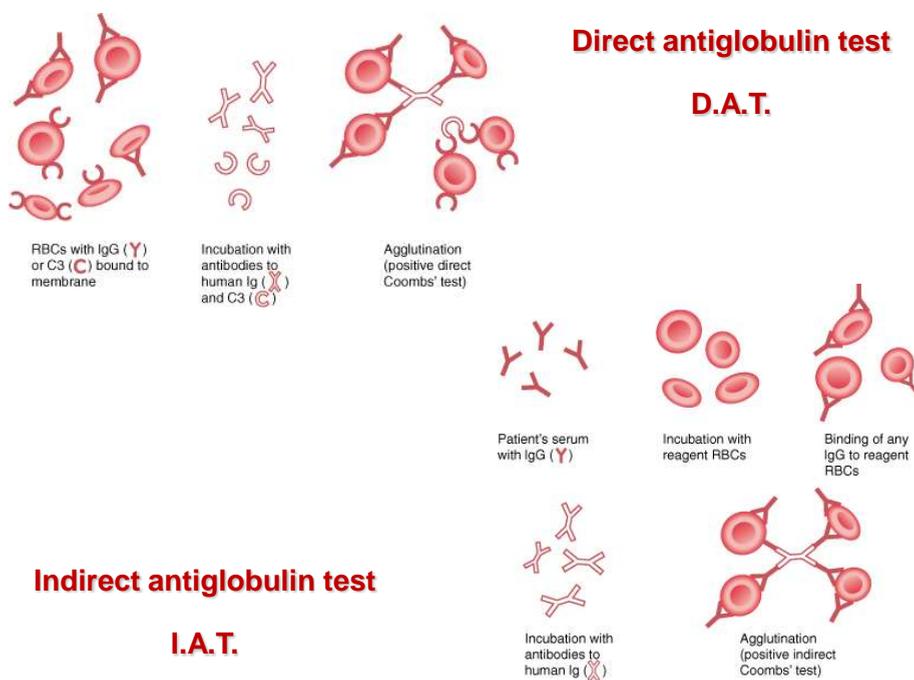
Esami di primo.....

- Emocromo, striscio di sangue periferico
- Reticolociti
- Indici di emolisi (aptoglobine, bilirubina totale e frazionata, LDH)
- DAT e IAT (t. di Coombs diretto e indiretto)
- Gruppo sanguigno
- Funzionalità epatica, renale ed elettrolitica
- Esame urine

.....e secondo livello

- Tipizzazione eritrocitaria estesa, in previsione di eventuale trasfusione
- Ulteriori indagini immunoematologiche
- Markers epatite B, C e HIV (prima di un eventuale trasfusione)
- Test coagulativi
- Protidemia ed elettroforesi proteica
- Dosaggio Immunoglobuline
- C3, C4, CH50
- Autoanticorpi (ANA, anti DNA, ASMA), Anticorpi antifosfolipidi, RA test
- Funzionalità tiroidea e Anticorpi anti tiroide (anti TG, anti TPO)
- Sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56)
- DNTs (double negative T cells): CD3+, CD4-, CD8-, TCRalfa/beta+
- PCR
- Test infettivologici basali: EBV, CMV, PVB19, HSV
- Altre valutazioni infettivologiche se clinicamente ritenuto necessario

Raccomandazioni AIEOP 2013



Caratteristiche delle varie forme classificate in base agli autoanticorpi eritrocitari

Forma clinica	Incidenza	DAT	Classe Ig	Optimum termico (°C)	Avidità e capacità di fissare il complemento	Specificità antigenica	Sede emolisi
Anticorpi caldi	60-70%	IgG+ o IgG+/C3d+	IgG	34-37	-/+	Rh	Extravasale
Anticorpi freddi	20-25%	Neg. o C3d+	IgM	4-27	+++	Anti - i	Extra ed intravasale
Emoglobinuria parossistica a frigore	6-12%	Neg o C3d+	IgG bifasica	fissaz. 4-27 lisi 34-37	+++	Anti P	Intravasale
AEA Mista	< 5%	IgG+ o IgG+/C3d+ o C3d+	IgG/IgM	IgG 34-37 IgM 4-27	++	Anti Rh Anti-i	Extra ed intravasale

Raccomandazioni AIEOP 2013

DAT – Insidie interpretative

Falsi positivi:

sindrome da antifosfolipidi,
marcata ipergammaglobulinemia
Infusione recente con immunoglobuline ad alte dosi

Falsi negativi

Motivi tecnici: lavaggio incompleto delle emazie,
eccessiva agitazione del preparato al momento della
lettura

**DAT positivo non vuol dire necessariamente AEA e
DAT negativo non esclude la diagnosi.**

AEA DAT-negativa

L'11% circa di AEA non viene diagnosticata con il DAT comunemente usato.

1) Bassa concentrazione di anticorpo; indicazione ad usare **metodiche più sensibili**:

Citofluorimetria,
Test immunoenzimatici
Test immunoradiometrici
Complement-fixing antibody consumption test
Test dopo stimolazione mitogenica in coltura (MS-DAT)

2) Anticorpi a bassa affinità, che vengono allontanati durante i **lavaggi**

Lavaggi a freddo
Mezzi a bassa forza ionica (LISS)
Poliethylenglicole (PEG)

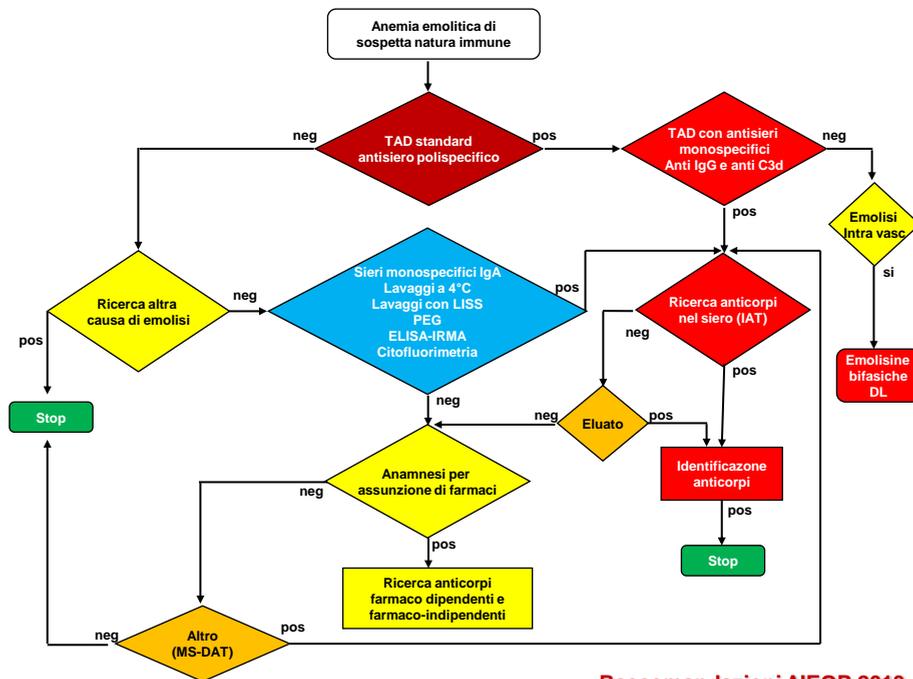
2) presenza di **autoanticorpi di sola classe IgA**

Utilizzo di sieri monospecifici anti-IgA

**Nessun DAT singolo è ottimale, e solo una batteria di test può rappresentare un
approccio efficiente** alla diagnosi delle AEA DAT-negative

**La diagnosi di AEA DAT negativa presuppone l'esclusione delle altre cause di
emolisi non immunomediata**

Raccomandazioni AIEOP 2013



Anemie emolitiche non immuno-mediate

Forme congenite	<ul style="list-style-type: none"> • sferocitosi e altri difetti delle proteine di membrana eritrocitaria • deficit enzimi eritrocitari • anemie diseritropoietiche • emoglobinopatie • malattia di Wilson
Anemie emolitiche da cause meccaniche	<ul style="list-style-type: none"> • valvole cardiache sintetiche, emoglobinuria da marcia, bypass cardiopolmonare
Anemie emolitiche da danno vascolare	<ul style="list-style-type: none"> • AE microangiopatica • porpora trombotica trombocitopenica • sindrome uremico emolitica • coagulazione intravascolare disseminata • malformazioni arterovenose
Anemie emolitiche da danno termico	<ul style="list-style-type: none"> • ustioni estese
Anemie emolitiche da cause chimiche	<ul style="list-style-type: none"> • agenti chimici, solventi, cloruro di metile, piombo, idrogeno arsenicale • veleno di alcuni serpenti
Anemie emolitiche da agenti infettivi	<ul style="list-style-type: none"> • Batteri (Mycoplasma Pneumoniae, Clostridium Welchii) • Virus (Cytomegalovirus, Herpes Virus) • Protozoi (Plasmodi)

Raccomandazioni AIEOP 2013



Caso clinico # 2

Bambina di 10 anni. Progressiva astenia e inappetenza

Hb 5.1, MCV 108, Reticolociti 1.9 %

GB 2890 PLT 146.000

Aptoglobina 6

Bilirubina indiretta 1.66

LDH 13.640

Test di Coombs negativo

Sospetto diagnostico: anemia emolitica autoimmune

Terapia steroidea + IG ev, con iniziale modico beneficio
(Hb 8)

Caso clinico # 2

Risposta ematologica insoddisfacente.

Ri-valutazione anamnestica: resezione intestinale a 10 mesi

Rivalutazione esami iniziali: **Hb 5.1**, **MCV 108**, **Reticolociti 1.9 %**

GB 2890 PLT 146.000

~~Aptoglobina 6~~

Bilirubina indiretta 1.66

LDH 13.640

Test di Coombs negativo

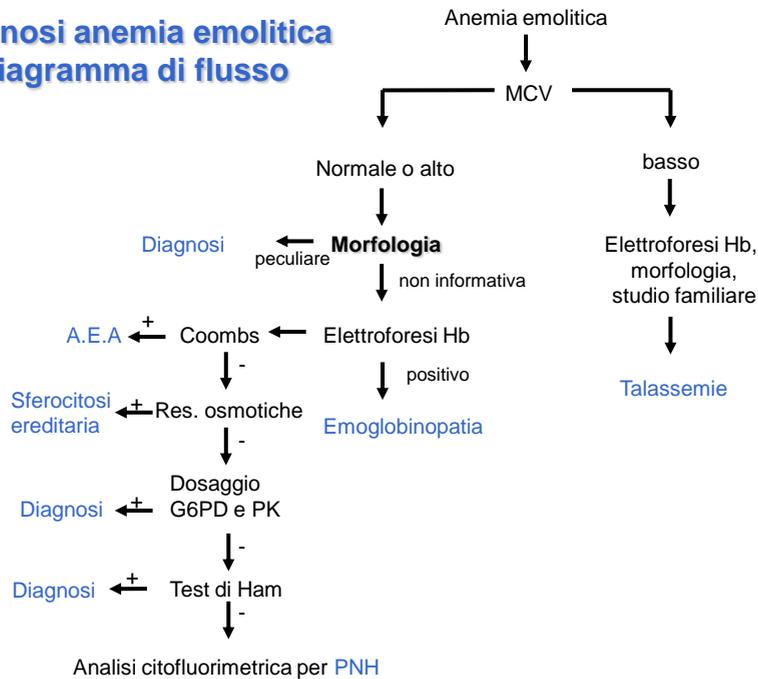
Dosaggio Vitamina B12: 72 pg/ml (180-914)

Diagnosi: Anemia da carenza vitamina B12

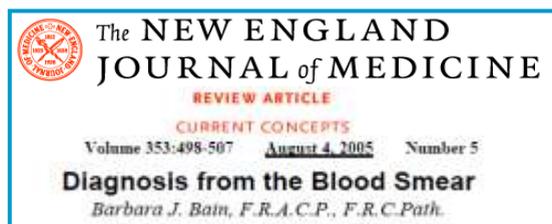
ANEMIE EMOLITICHE Test diagnostici

Esame	Patologia corrispondente	Insidie
Test di Coombs	Anemia emolitica autoimmune	falsi negativi
Sferociti nel periferico	Sferocitosi ereditaria, A.E.A	Non è esclusivo della SE
Resistenze osmotiche	Sferocitosi ereditaria	Falso negativo in talassemia Difficile standardizzazione
Frazioni emoglobiniche	Talassemie, emoglobinopatie	Piccole frazioni influenzate da fattori esterni (carenza Fe)
Dosaggio G6PD	Carenza G6PD	Non attendibile subito dopo la crisi; difficile dimostrazione della eterozigosi nella femmina
Citofluorimetria per CD 55, CD 59	Emoglobinuria parossistica notturna	Richiesta esperienza specifica

Diagnosi anemia emolitica Diagramma di flusso



Lo striscio



- **Allestimento curato** del vetrino al momento del prelievo
- Lettura da parte di personale con **specifiche competenze** (medico o biologo con esperienza di ematologia)
- Disponibilità di **tempo**

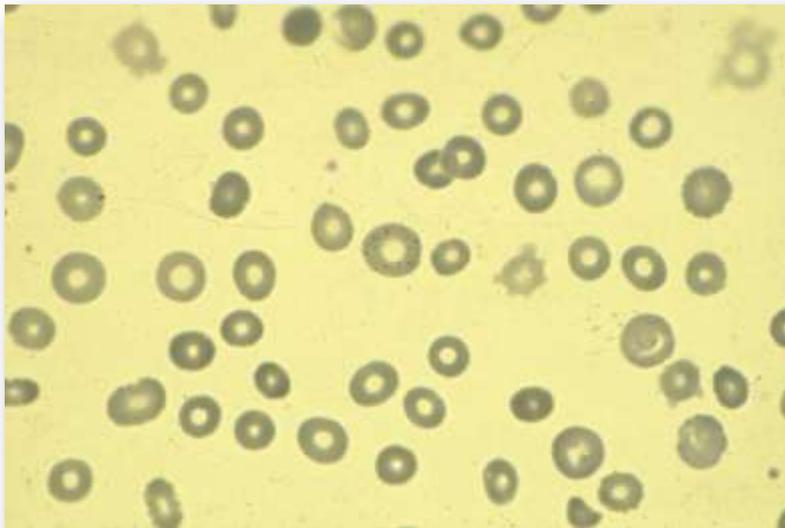
Lo striscio

Indicazioni cliniche

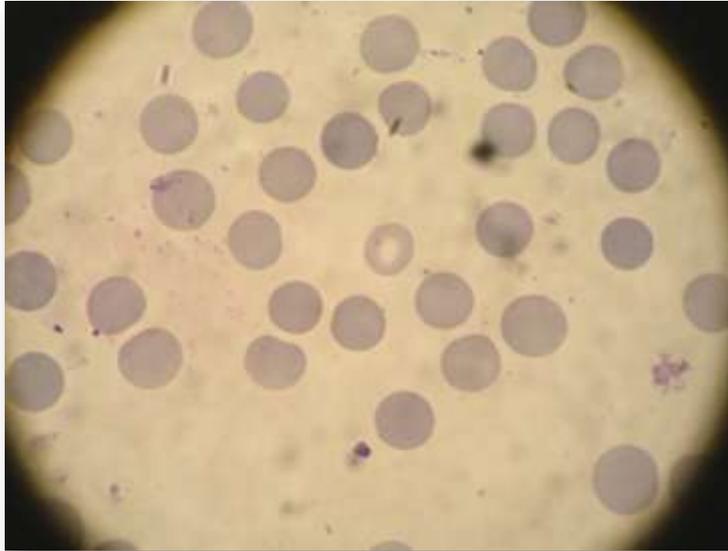
Caratteristiche che suggeriscono

- Anemia
- Ittero
- Emoglobinopatie
- Trombocitopenia
- Leucemie/linfomi
- C.I.D.
- Malattie infettive riconoscibili al vetrino
- Mononucleosi e altre malattie virali

Indicazioni di laboratorio



Punteggiature basofile



Sferocitosi

Diseases in Which Spherocytosis is the Predominant Morphology

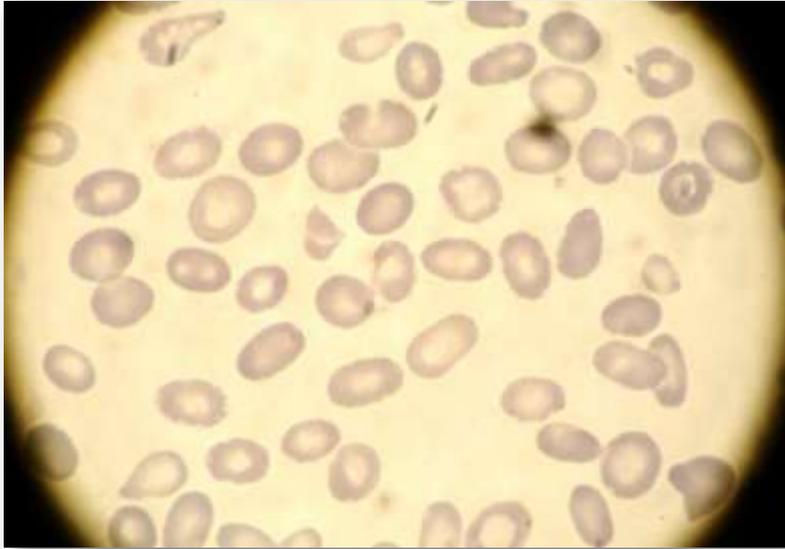
Common

Hereditary spherocytosis
Immuno-hemolytic anemias (warm-antibody type)
ABO incompatibility in neonates

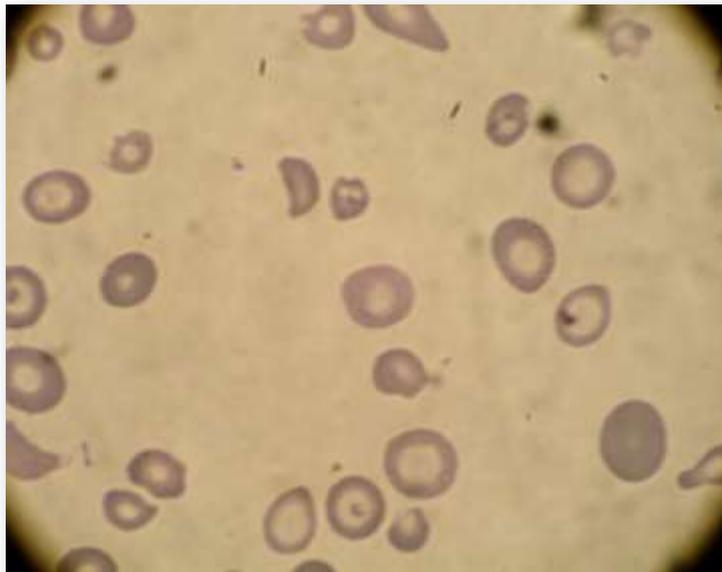
Uncommon to Rare

Clostridial sepsis
Hemolytic transfusion reactions
Severe burns and other red cell thermal injuries
Spider, bee, and snake venom
Severe hypophosphatemia
Acute red cell oxidant injury (glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency during hemolytic crisis)

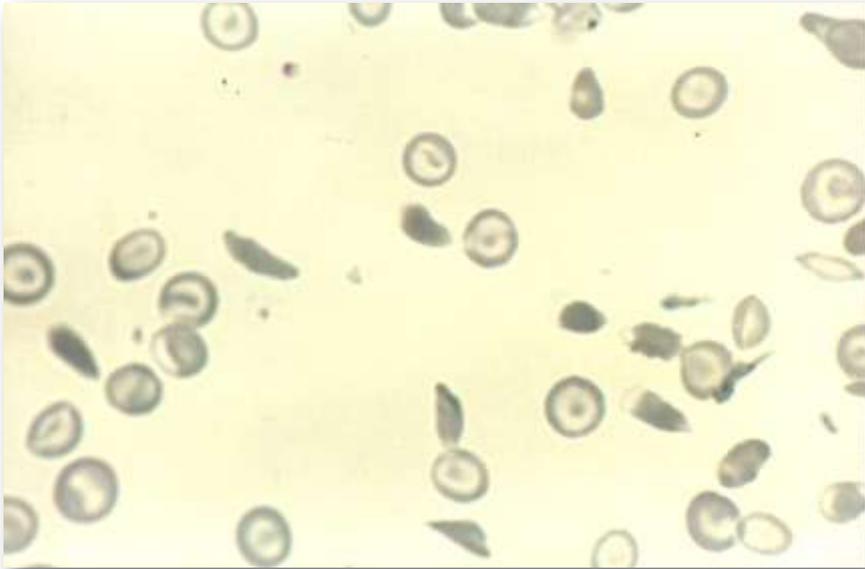
Nathan and Oski, 2009



Ellissocitosi



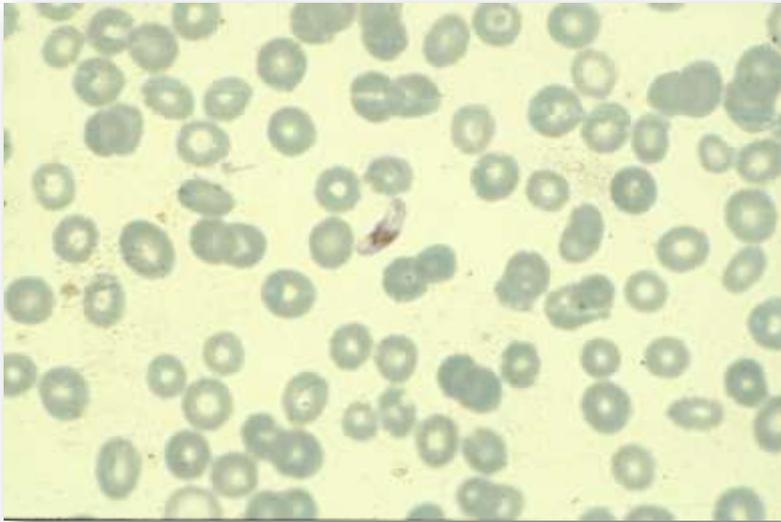
β talassemia



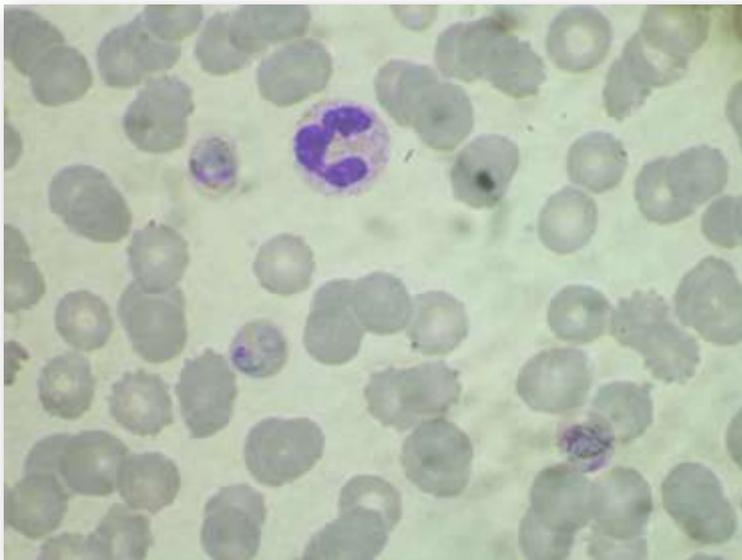
Drepanocitosi



Hb C



Plasmodium falciparum



Plasmodium malariae



Mussomeli 1926
Dr. Giovanni Russo



Catania 2015

Take home messages

Correlare i dati clinici e di laboratorio

Valutare sempre la **morfologia**

Non avere fretta di fare diagnosi

Studiare