

Progetto: applicazione per ematologi

Abstract

Da circa un secolo si effettua una conta di cellule ematiche al microscopio, per avere informazioni sullo stato di salute di un paziente. Tale attività è effettuata da esperti che principalmente svolgono due analisi: studio della morfologia cellulare, che dà informazioni sulle patologie degenerative o leucemiche; calcolo della formula leucocitaria, che fornisce informazioni su altre patologie.

Oggi, la lettura della formula leucocitaria è ancora effettuata da un esperto, richiedendo un notevole impegno di tempo. Non è standardizzata ed è fortemente dipendente dall'esperienza dell'operatore.

Automatizzare la lettura della formula leucocitaria utilizzando una macchina digitale collegata ad un microscopio per acquisire le immagini da uno striscio di sangue (tecnica utilizzata per osservare il sangue attraverso i vetrini) permetterebbe una maggiore standardizzazione, l'osservazione di un numero maggiore di elementi ed un rapido accesso al parere di esperti con maggiore qualificazione per la valutazione di elementi non riconosciuti o dubbi.

L'obiettivo è velocizzare i tempi, ridurre i costi e soprattutto ridurre gli errori diagnostici.

Informazioni generali

È noto che nel sangue si riconoscono tre tipi di cellule: globuli bianchi, globuli rossi e piastrine. Nei globuli bianchi si riconosce un nucleo centrale, ed una parte periferica citoplasma. I globuli bianchi si suddividono a loro volta, a seconda della forma e della grandezza del nucleo e del colore del citoplasma in: granulociti neutrofili; eosinofili; basofili; linfociti; monociti.

Si definisce formula leucocitaria la percentuale dei diversi gruppi.

(es.: neutrofili 70%, linfociti 20% monociti 6% , eosinofili 3%, basofili 1%)

Diverse malattie possono modificare il numero e le percentuali relative di ciascun gruppo ed alcune possono portare a modifiche della forma di alcune cellule. Nelle malattie tumorali del sangue compaiono in circolo cellule che altrimenti non sono presenti.

Situazione attuale

Da alcuni decenni sono ormai disponibili sul mercato contatori automatici (ad esempio citometri basati sul laser), che oltre a valutare la concentrazione di globuli bianchi nel sangue sono in grado di fornire una formula leucocitaria, segnalando con un allarme se sono presenti cellule non riconosciute come normali. Tali contatori però non valutano la morfologia cellulare sulla base delle immagini e distruggono il campione analizzato. Inoltre non permettono una sottoclassificazione diretta dei leucociti separando le cellule leucemiche dalle normali né sono in grado di riconoscere o segnalare il singolo elemento patologico. L'esame effettuato nel caso il contatore automatico segnali delle anomalie è chiamato "striscio periferico".

Preparazione

Un tecnico preleva una o più gocce di sangue da una provetta, striscia ogni goccia su un vetrino per microscopio e la prepara per l'osservazione da parte del biologo, del medico laboratorista o dell'ematologo (queste tre figure possono essere chiamate con l'unico termine "citomorfologo").

Osservazione

Il citomorfologo pone il vetrino su un piano al di sotto della lente del microscopio.

Il vetrino va osservato nella sua interezza per riconoscere la presenza di eventuali elementi patologici. Per la lettura della formula si osservano diversi campi fino a classificare 100 globuli bianchi e quindi si calcola la percentuale di ogni popolazione. Il numero delle globuli bianchi per campo può variare. Andrebbero rilevate almeno 100 immagini per vetrino.

Elenco utenti

obbligatori

- 1) tecnico
- 2) citomorfologo
- 3) amministratore

opzionali

- 1) impiegato amministrativo
- 2) supervisore ematologo-esperto

Elenco software

Non si conosce l'esistenza di software che effettuino in automatico il riconoscimento di cellule ematologiche da immagini acquisite con una macchina digitale.

Anche interrogando diversi medici, non si è venuti a conoscenza di apparecchiature per il riconoscimento di cellule ematologiche.

A settembre 2010, una macchina digitale collegata ad un microscopio era installata presso l'oncologico.

ImageJ

<http://rsbweb.nih.gov/ij/index.html>

software open source, implementato in Java, per l'analisi e l'immagine processing.

BioImage XD

<http://www.bioimagexd.net/>

software open source, implementato in C++ e Python, per l'analisi e la visualizzazione di immagini biomediche multidimensionali.

Altri link:

http://www.menarindiagnosics.it/Prodotti/cell_pathology/Digital-Slide/d_sight

pagina del sito della menarini diagnostics che illustra un sistema per acquisire immagini microscopiche in modo automatico.

<http://www.dsight.eu/>

software con cui possono essere caricate immagini microscopiche, osservabili successivamente via web. (ci si può fare un'idea di cosa sia un'osservazione microscopica di un tessuto, ma non sono presenti strisci ematologici).

<http://www.leica-microsystems.com/products/light-microscopes/life-science-research/slide-scanner/product/leica-sc400-2/showcase/>

mostra il video di un sistema in cui i vetrini sono caricati e scansionati automaticamente perché poi siano osservate le immagini digitali.

<http://www.biovis.com/images/UVP%20page/software.pdf>

software di analisi di immagini, orientato alle misurazioni per i laboratori di proteomica e genomica; può fornire qualche idea.

Alcuni atlanti di ematologia:

<http://pathy.med.nagoya-u.ac.jp/atlas/doc/index.html>

<http://www.hematologyatlas.com/principalpage.htm>

<http://www.bloodline.net/external/image-atlas.html>

Task utenti

Tecnico:

prepara i vetrini per l'osservazione da parte del citomorfologo;
con una macchina digitale collegata al microscopio potrebbe acquisire le immagini (le immagini relative ad uno stesso vetrino andrebbero archiviate in una cartella con nome del paziente e la data dell'esame).

Citomorfologo:

osserva i vetrini al microscopio;
conta i globuli bianchi per ottenere la formula leucocitaria;
redige il referto;
(opzionale) con immagini digitalizzate potrebbe inviare al supervisore le immagini non riconosciute.

Amministratore:

gestisce il sistema;
assegna login e password con i diversi privilegi agli utenti del sistema;

Impiegato amministrativo:

consegna i referti;

Supervisore ematologo-esperto:

riconosce le cellule per le quali è stata richiesta la sua consulenza;

Contatti

Si sono detti disponibili a visite sul posto e ad interviste:

Dott. Attilio Guarini, responsabile del reparto di Ematologia dell'Istituto oncologico situato presso l'Ospedale Cotugno, Bari.
email: attiliogarini@oncologico.bari.it

Dott. Paolo Di Tonno, responsabile del Servizio di Ematologia dell'Ospedale di Venere, Carbonara (BA).
email: ematologia.divenere@asl.bari.it

Dott.^{ssa} Silvana Capalbo, responsabile del reparto di Ematologia degli Ospedali Riuniti di Foggia (a partire dai primi di Giugno).
email: scapalbo@ospedaliriunitifoggia.it

Dott D'Alessio, responsabile del laboratorio dell'Ospedale Fallacara a Triggiano (BA)
Tel laboratorio: 080 4626314 (il numero sarà sostituito in seguito)

Dott Giovanni Quintana, medico del reparto di Ematologia dell'Ospedale Perrino di Brindisi. Disponibile ad interviste telefoniche o questionari per posta elettronica.
email: gianniquintana@gmail.com

Due scenari di esempio (è possibile considerarne di altri):

Scenario 1

Il signor Giuseppe Rossi giunge all'ambulatorio di Ematologia dell'Ospedale Perrino di Brindisi con una richiesta da parte del medico curante di esame emocromocitometrico con formula leucocitaria.

Dopo aver effettuato il prelievo per l'esame emocromocitometrico il dott. Gianni Bianchi, medico dell'ambulatorio, effettua, pungendo il dito del sig. Rossi, dieci strisci periferici. Sui vetrini, con pennarello indelebile, scrive il nome del paziente e la data dell'esame.

Avendo appurato dal risultato dell'emocromo che non vi sono alterazioni rilevanti invia i vetrini al laboratorio di Ematologia perché il tecnico di laboratorio ne colora 3 con la tecnica di May Grunwald Giemsa, mentre gli altri si deciderà successivamente se colorarli con altre colorazioni.

Il tecnico di laboratorio, alla fine di tutti gli strisci della giornata provvederà alla colorazione dei vetrini del sig Rossi insieme a quelli dei pazienti per cui nella stessa data è stata richiesta la formula leucocitaria. Egli inserirà nel computer del laboratorio i dati relativi ai vetrini preparati.

Il dott. Bianchi, successivamente, si reca in laboratorio, cerca sul vassoio dove sono stati disposti i vetrini quelli dei suoi pazienti, li osserva al microscopio conteggiando 100 globuli bianchi e scrive il referto con la formula. I vetrini del sig Rossi sono, quindi, conservati in appositi contenitori per eventuali successive revisioni.

Il sig. Rossi si reca, successivamente, presso la segreteria dell'ambulatorio ove un addetto gli consegna i referti dell'emocromo e della formula leucocitaria.

Scenario 2

Per il paziente Mario Verdi, ricoverato nel reparto di geriatria dell'Ospedale Fallacara, è stato richiesto dai medici del reparto, l'emocromo con formula leucocitaria.

Il mattino successivo gli infermieri inviano la provetta contrassegnata dal nome del paziente ed accompagnata dalla richiesta al laboratorio dell'ospedale.

Il tecnico di laboratorio con una pipetta aspira dalla provetta una goccia di sangue per ciascun vetrino che deve preparare.

Sui vetrini scrive, con pennarello indelebile, il nome del paziente e la data dell'esame.

Il citomorfologo del laboratorio osserva i vetrini al microscopio, conteggiando 100 globuli bianchi e scrive il referto con la formula. Nel pomeriggio un ausiliario del reparto di geriatria si reca presso il laboratorio per ritirare i referti, li fa, successivamente, visionare al medico del reparto che li spilla in cartella.