



## Wirkung des Lysemittels auf die Leukozyten

Bei der Leukozytendifferenzierung werden die Zellen mit Lyseagenzien behandelt. Dieses führt zur Lyse von Erythrozyten und zur Schrumpfung der Thrombozyten.

Auf die einzelnen Zellarten (Leukozytensubtypen) wirken die verschiedenen, von den Herstellern verwendeten Lyseagenzien aber unterschiedlich.

Dies führt dazu, dass die Zellen in den verschiedenen Gerätehistogrammen an unterschiedlichen Positionen zu liegen kommen. Für eine korrekte Histogrammbeurteilung muss man daher über Kenntnisse der verwendeten Methode verfügen.

Die Zytoplasmamembran der Leukozyten reagiert auf das Lysemittel mit einem Verlust von Zytoplasmahalt. Die verbleibende Hülle schrumpft und legt sich näher um den Zellkern. Wie stark die Zellen sich unter dem Einfluss des Lyseagenzes verändern ist abhängig vom Zelltyp und vom verwendeten Lyseagenz.

Die Grösse der einzelnen Leukozytensubtypen korrelieren durch diese lysebedingten Zellveränderung auch nicht mit der Grösse der Zelle wie sie in der Mikroskopie wahrgenommen wird.

## Zellvolumenveränderungen

Beispiel der Lymphozyten, Monozyten und neutrophilen Granulozyten.

	Volumen vor Lysemittel	Volumen nach Lysemittel
Lymphozyt		
Neutrophiler Granulozyt		
Monozyt		

Das Volumen vor der Lyse entspricht den Grössenverhältnissen in der Mikroskopie.

Das Volumen nach der Lyse entspricht der Einteilung der Zelltypen im Geräte-Histogramm.

## Einleitung

Hämatologische Kleingeräte messen bis zu 18 verschiedene hämatologische Parameter. Dazu gehören neben den Zellzahlen, der Hämoglobinkonzentration und zahlreichen weiteren Parametern auch die Differenzierung der Leukozytensubtypen in drei Gruppen.

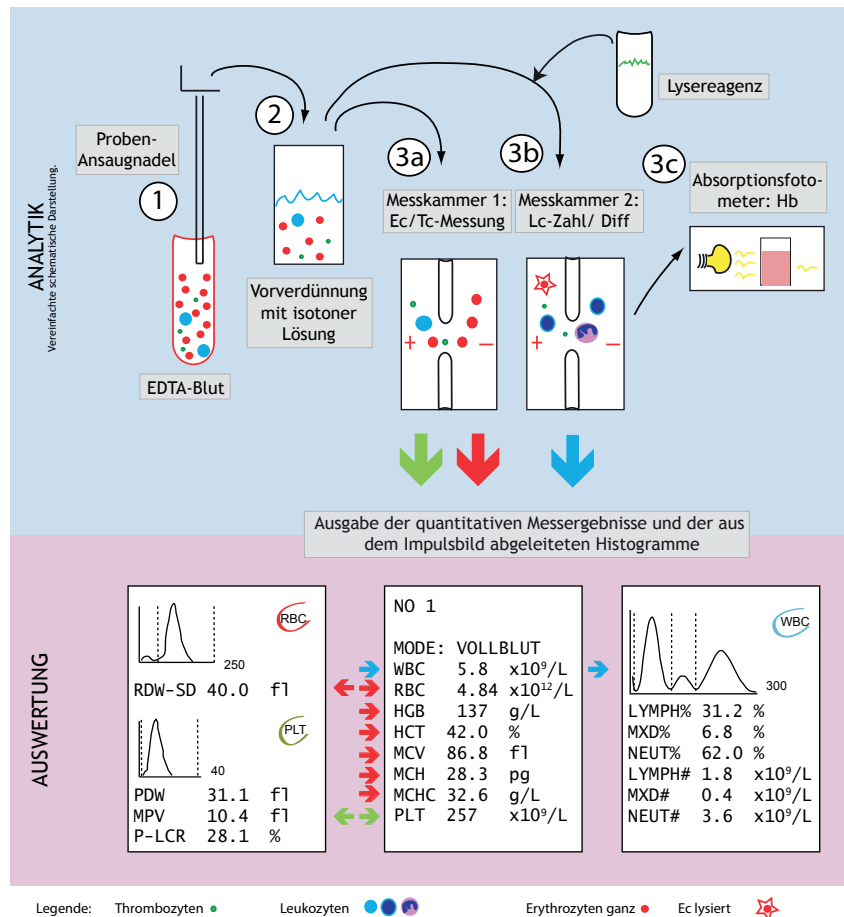
Die Resultate der Leukozytendifferenzierung werden in Prozent- und absolut Zahlenwerten (quantitativ) sowie in einer grafischen Darstellung, dem «Histogramm», ausgegeben. Zusätzliche Warnhinweise, die «Flags», weisen auf mögliche messtechnische Probleme oder pathologische Befunde beim Patienten hin.

Die technische Validation der Messergebnisse liegt in der Verantwortung des Geräteanwenders (biomedizinische Analytiker/in, medizinische Praxisassistentin). Dieser muss die Messergebnisse korrekt interpretieren, evt. eine mikroskopische Blutuntersuchung anschliessen bzw. den auftraggebenden Arzt über die Befunde informieren. Kenntnisse der Messtechnik sowie der Histogramm-Interpretation sind in diesem Zusammenhang unerlässlich.

## Messung hämatologischer Parameter mit dem Impedanzverfahren

Das Blut wird für die Analyse mit einer leitfähigen, isotonen Lösung verdünnt und dann in verschiedene Messkammern überführt. Dort werden die Zellen einzeln durch eine Messöffnung geführt, an der ein Gleichstrom angelegt ist. Da Zellen schlechte elektrische Leiter sind, führt jeder Zelldurchtritt durch die Messöffnung zu einer Vergrößerung des elektrischen Widerstands. Bei konstantem Strom führt das zu einem Spannungsanstieg zwischen den Elektroden der als elektrischer Impuls registriert wird. Dabei entspricht jeder Impuls einer gemessenen Zelle und die Impulshöhe gibt Aufschluss über das Volumen der Zelle. Das aus diesen Impulsen entstehende Bild wird in eine grafische Darstellung, ein «Histogramm» umgewandelt und schliesslich zusammen mit den quantitativen Messwerten ausgedrückt. Die Zellzählungen finden in zwei verschiedenen Messkammern (Ec/Tc- und Lc-Kammer) statt.

Die Messung in der Leukozytenmesskammer erfolgt unter Zugabe eines Lyseagenzes. Dieses lysiert die Erythrozyten und schrumpft die Thrombozyten. Ein Teil der lysierten Probe wird parallel zur Bestimmung des Hämoglobingehalts der Probe in eine separate Messeinheit überführt und dort mittels Absorptionsfotometrie analysiert.





«Flags»

Mögliche messtechnische Probleme

Interferenzen im Bereich des unteren Diskriminators z.B.

- grosse Thrombozytenaggregate  
→ verifizieren im Blutausstrich (EDTA-induzierte Pseudo-Tc-Penie?)
- Riesenthrombozyten  
→ verifizieren im Blutausstrich
- Erythroblasten  
→ verifizieren im Blutausstrich, bei > 5 Ebl/100 Lc, Lc-Zahl manuell korrigieren.

Störungen im Bereich des oberen Diskriminators z.B.

- unreife Zellen, Blasten  
→ verifizieren im Blutausstrich
- extrem hohe Lc-Zahl  
→ mit Probenvorverdünnung arbeiten

Mögliche pathologische Patientebefunde

- Verdacht auf Vorstufen der Granulopoese
  - Verdacht auf atypische Lymphozyten
  - Verdacht auf unreife Zellen (Blasten)
  - Verdacht auf Eosinophilie/ Basophilie
  - Verdacht auf Monozytose
- verifizieren im Blutausstrich

Befundausgabe der quantitativen Differenzierungsbefunde

- %ZELLTYP: prozentualer Anteil auf 100 Leukozyten
- #ZELLTYP: absolute Zahl (Anteil an der Gesamt-Lc-Zahl\*)

\*Berechnung der Absolutwerte: (Gesamt-Lc-Zahl /100) x %ZELLTYP

Impressum

Autorin Annette Steiger  
Fotografie Dr. Roman Fried

Fachliche Beratung  
K.Schreiber, Dr. J. Goede, Klinik für Hämatologie, Universitätsspital Zürich

Unterschiedliche Einteilung der Leukozytensubpopulationen am Beispiel von ABX Micros und Sysmex KX-Serie/ Poch-i

Der Messbereich für Leukozyten wird im WBC (white blood cells) -Histogramm im unteren wie im oberen Bereich durch die Geräte begrenzt (bei Sysmex z.B. mit den fixen Diskriminatoren LD und UD). In diesem Bereich muss die gesamte Leukozytenkurve verlaufen. Zwei weitere Diskriminatoren (bei Sysmex z.B. T1 und T2) grenzen die drei Zellpopulationen untereinander ab.

Messtechnische Probleme (Störfaktoren) oder pathologische Befunde können dazu führen, dass diese Abgrenzung durch die Diskriminatoren nicht mehr korrekt möglich sind. Die Geräte versehen dann die Ergebnisse mit einem entsprechenden «Flag» (bei ABX Micros z.B. G1:«Verdacht auf Eosinophilie/Myelozyten/übersegmentierte Neutrophile»). Diese sind gerätespezifisch und finden sich aufgelistet im Gerätehandbuch oder in entsprechenden Schulungsunterlagen des Geräteherstellers.

Beim direkten Import von Messergebnissen in elektronische Systeme werden «Flag»-Informationen häufig nicht mitgesendet. Es ist deshalb besonders wichtig, dass der Geräteanwender die technische Validation der Ergebnisse korrekt vornimmt und wichtige Hinweise an den auftraggebenden Arzt weitergibt.

**Sysmex KX-21N/Poch-100i**

WBC	6.7	[x10 <sup>3</sup> /μL]
LYM%	28.3	[%]
MXD%	17.4	[%]
NEUT%	54.3	[%]
LYM#	1.9	[x10 <sup>3</sup> /μL]
MXD#	1.2	[x10 <sup>3</sup> /μL]
NEUT#	3.6	[x10 <sup>3</sup> /μL]

a)

b)

Da Monozyten und Eosinophile im selben Histogrammbereich liegen, kommt es bei Monozytosen (a) und Eosinophilien (b) zu sehr ähnlichen Kurven. Eine mikroskopische Differenzierung verschafft Klarheit.

**ABX Micros**

WBC	7.8	10 <sup>9</sup> /L
%LYM	46.5	%
%MON	5.2	%
%GRA	48.3	%
#LYM	3.6	10 <sup>9</sup> /L
#MON	0.4	10 <sup>9</sup> /L
#GRA	3.8	10 <sup>9</sup> /L

ABX Micros Histogrammbeispiel: Ringversuch MQZH 2013-03 H3b, Akute Leukämie AML-M0

**WBC**

**Flags G1, G2 und M2**

- (Lympho-)Blasten
- Myelozyten
- Abnorme Lymphozyten
- Basophilie

WBC	15.9	H 10 <sup>9</sup> /L
WBC Flags	M2 G1 G2	
DIFF:		
%LYM	59.3	H %
%MON	26.5	H %
%LYM	14.2	L %
#LYM	9.4	H 10 <sup>9</sup> /L
#LYM	4.2	H 10 <sup>9</sup> /L
#LYM	2.3	H 10 <sup>9</sup> /L

**M2 Flag (V.a. (Lympho-)blasten, atyp. Lymphozyten, Myelozyten, Basophilie. (Flag G1-und G2 unklar.)**  
Mikroskopie 81% Blasten, diese entsprechen den Micros Populationen LYM und MON von 85.3%.