



Eosinophile Granulozyten

Eosinophile sind Zellen die überwiegend im Gewebe vorkommen und deren Funktionen nicht restlos bekannt sind.

Die Zahl der Eosinophilen in Blut oder Gewebe kann bei einer Vielzahl von Erkrankungen ansteigen u.a. bei Allergien, Infektionen, parasitären, entzündlichen oder neoplastischen Erkrankungen.

Aktiverte Eosinophile setzen Mediatoren und Substanzen frei, welche Schädigungen an unterschiedlichsten Geweben / Organen verursachen können (u.a. kardial, gastrointestinal, Respirationstrakt).

Wirkung des Lysemittels auf die Leukozyten

Bei der Leukozytendifferenzierung werden die Zellen mit Lyseagenzien behandelt.

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.

	Volumen vor Lysemittel	Volumen nach Lysemittel
Lymphozyt		
Neutrophiler Granulozyt		
Monozyt		

Einleitung

Die Messung der absoluten Eosinophilenzahl kann bei spezifischen Verdachtsdiagnosen oder auch im Verlauf von Erkrankungen z.B COPD bedeutsam sein. 3-Part-Diff-Hämatologiesysteme welche oft in Arztpraxen verwendet werden, unterscheiden sich erheblich in Bezug auf das Erkennen einer Eosinophilie von den grösseren 5-Part-Diff-Hämatologiesystemen, welche in Spital- und Privatlaboratorien zum Einsatz kommen. In diesem Blickpunkt möchten wir Möglichkeiten und Grenzen der Eosinophilenmessung auf diesen Geräten genauer betrachten.

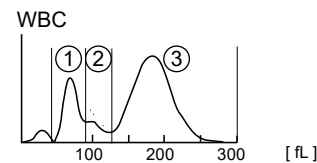
Das Präparat 2019- H3B stammt von einem Patienten mit St. n. Nierentransplantation und einer leichten, relativen Eosinophilie von 10.6 %, der absolute Wert von 0.37 G/l lag noch im Referenzbereich.

Messtechniken

Die 3-Part-Diff-Hämatologiesysteme zählen die Gesamt-Leukozytenzahl und teilen die Leukozyten aufgrund ihres Volumens in drei verschiedene Subpopulationen auf. Dazu wird die Blutprobe verdünnt und ein herstellerabhängiges Lyseagenz zugegeben. Dieses lysiert die Erythrozyten zur Verhinderung von Interferenzen. Bei den Leukozyten bewirkt es entweder einen Verlust der zytoplasmatischen Membran (Lymphozyten, Kernvolumenmessung) oder ein Auslaufen des Zytoplasmas, bei dem sich die verbleibende Membran um den Nukleus und vorhandene zytoplasmatische Granuli schliesst.

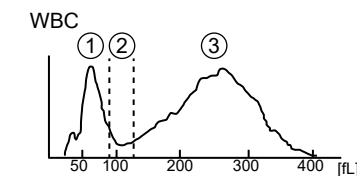
Die Messung erfolgt anhand des Impedanzverfahrens. Wenn die Zelle den Gleichstrom an der Messöffnung passiert, entsteht ein elektrischer Impuls der proportional zum Volumen der Zelle ist. Die verschiedenen Zellvolumina werden im WBC-Histogramm aufgetragen, wobei die Höhe der Kurve der Zahl und die Position der Population auf der X-Achse dem Volumen der Zelle entspricht. So entstehen drei Subpopulationen: kleine Zellen, mittelgrosse Zellen und grosse Zellen, welche je nach Hersteller mit fixen oder aber, innerhalb vorgegebener Bereiche, flexiblen Diskriminatoren voneinander abgegrenzt werden.

Symex-Geräte: pochH-100i, XP300



- Population 1, Lymphozyten
- Population 2, Monozyten, Eosinophile und Basophile
- Population 3, Neutrophile
- Diskriminatoren flexibel (Werden vom Gerät aufgrund des Kurvenverlaufs gesetzt, können aber auch manuell gesetzt werden)

Andere Geräte: z.B. Orphée Mythic, ABX Micros, Microsemi



- Population 1, Lymphozyten
- Population 2, Monozyten
- Population 3, Neutrophile, Eosinophile und Basophile
- Diskriminatoren fix

Warnsignale (Flags)

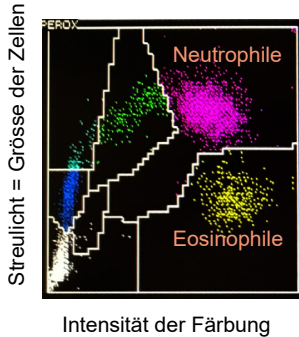
Treten atypische oder unreife Zellen auf, werden diese ebenfalls innerhalb der bestehenden Populationen gemessen. In solchen Fällen ist meist die Form der Kurven verändert. Algorithmen die in der Gerätesoftware hinterlegt sind, lösen bei Verdacht auf solche Zellen Warnsignale (Flags) aus. Diese Flags bestehen aus Buchstaben und Zahlen, welche zusätzlich zu den maschinell erhobenen Differentialblutbildwerten auf dem Ausdruck angezeigt werden. Sie lösen in der Regel keinen akustischen Gerätealarm aus und können der einzige Hinweis auf eine atypische Zellverteilung sein.

Bei Symex-Geräten ist es möglich, dass die WBC-Differenzierung nicht durchgeführt wird, weil das Gerät keine Täler erkennt, bei denen die variablen Diskriminatoren gesetzt werden können. In diesem Fall wird nur die Gesamtleukozytenzahl angegeben.



Wie bestimmt der ADVIA die Eosinophilen?

ADVIA 2120 - Peroxidasefärbung



Die Eosinophilen werden sehr stark angefärbt und erscheinen deshalb ganz rechts. Obwohl sie etwa gleich gross wie die Neutrophilen sind, liegen sie weiter unten, da die starke Färbung die Menge des Streulichtes reduziert.

Fazit

Obwohl 3-Part-Diff-Analyser keine quantitativen Eosinophilenwerte messen können, haben alle drei verwendeten Geräte entweder Abweichungen vom Referenzbereich der MXD-Population oder aber einen Warnhinweis (Flag) ausgegeben.

Diese Befunde müssen, bei korrektem Handling durch den Untersucher, bei allen drei Geräten zur Weiterabklärung über ein mikroskopisches Differentialblutbild führen.

Erfassung einer Eosinophilie im 3-part Diff

3-part-Diff-Analyser können keine quantitativen Eosinophilenwerte ausweisen. Allerdings kann aufgrund des bekannten Zellvolumens bei atypisch hohen Impulsszahlen in definierten Arealen des Histogramms ein Eosinophilie-Flag ausgelöst werden. Solche Flags führen meist mehrere Möglichkeiten für diesen atypischen Befund auf, sodass eine mikroskopische Untersuchung eines Blutausstriches für die Beurteilung der Ursache des Flags und weitere Diagnostik unerlässlich ist.

Das Laborpersonal sollte solche Warn-Meldungen beachten und die/den auftraggebenden Ärztin/Arzt, entsprechend informieren.

Besonders heikel ist die elektronische Anbindung von Hämatologie-Geräten an ein Laborinformationssystem oder eine Praxissoftware. Bei der Einführung oder bei Veränderungen der Software sollte man immer kontrollieren, ob bei der Resultateübermittlung auch die Warnmeldungen (Flags) korrekt übermittelt werden.

Vergleich der 3-part Diff Geräte mit einem 5-part Diff Gerät

Wir haben das Blut von MQ 2019-1 H3B ebenfalls mit einem 5-part-Diff Hämatologie-System gemessen, das über zusätzliche Messverfahren verfügt, mit denen die Eosinophilen und die Basophilen bestimmt werden. Der ADVIA 2120 hat aus der Probe folgende Werte gemessen:

Monozyten	0.20 G/l	5.8%
Eosinophile	0.37 G/l	10.6%
Basophile	0.04 G/l	1.2%
Neutrophile	1.89 G/l	54.1%

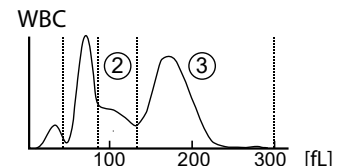
Berechnete Werte:

MXD (M+E+B)	0.61 G/l	17.6%
Granulozyten (E+B+N)	2.3 G/l	65.9%

Sysmex - XP300

Bei diesem Gerät führte die Erhöhung des Eosinophilenwertes zu einem erhöhten Wert von 17.3 % für die «MXD» Population. Die Erhöhung wird hier trotz der relativ geringen Eosinophilie sichtbar, dies aufgrund der allgemein eher niedrigen Referenzbereiche für die hier gemessenen Zelltypen (Monozyten, Basophile und Eosinophile). Ein Flag wurde nicht ausgelöst. Summe von Monozyten, Eosinophilen und Basophilen auf dem ADVIA beträgt 17.6% und stimmt sehr gut mit dem XP300 überein.

2	MXD	0.60 G/l	17.3%
3	Neutrophile	2.0 G/l	55.7%

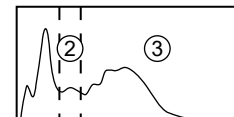


Orphée Mythic

Dieser Gerätetyp misst die Eosinophilen im Bereich der grossen Zellen, zusammen mit basophilen und neutrophilen Granulozyten. Der Referenzbereich für neutrophile Granulozyten ist recht hoch, es handelt sich hierbei um die im Normalfall prozentual grösste Population von Leukozyten im peripheren Blut des Gesunden. Eine leichte Eosinophilie fällt in diesem Bereich zahlenmässig nicht auf. Das Gerät hat jedoch ein entsprechendes Flag «FL3» ausgegeben.

Die Granulozyten sind tiefer, die Monozyten höher als erwartet, somit wurde wahrscheinlich ein Teil der Eosinophilen noch zu den Monozyten gezählt.

2	Monozyten	0.4 G/l	11.1%
3	Granulozyten	2.3 G/l	59.7%

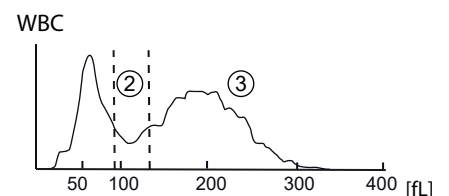


Microsemi

Auch dieser Analyser misst die Eosinophilen im Bereich der neutrophilen und basophilen Granulozyten mit, sodass hier prozentual ebenfalls kein auffälliges Ergebnis vorliegt. Auch dieses Gerät hat aber ein entsprechendes Flag «G1/G2» ausgegeben.

Die Granulozyten sind tiefer, die Monozyten höher als erwartet, somit wurde wahrscheinlich ein Teil der Eosinophilen noch zu den Monozyten gezählt.

2	Monozyten	0.3 G/l	9.8%
3	Granulozyten	2.0 G/l	61.4%



Impressum

Autorin Annette Steiger
Fotografie Dr. Roman Fried

Fachliche Beratung

C. Hviid, Dr. C. Widmer, Klinik für Medizinische Onkologie und Hämatologie, Universitätsspital Zürich, Dr. J. Goede, Kantonsspital Winterthur