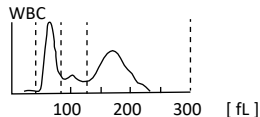




Beispiel einer Blutprobe die mit dem Sysmex XP-300 gemessen wurde

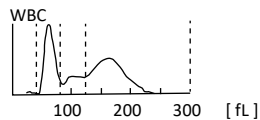
| | |
|-------------|-----------------------------|
| WBC | 6.4 x10 ³ /μL |
| RBC | - 3.66 x10 ⁶ /μL |
| HGB | - 11.5 g/dL |
| HCT | - 34.4 % |
| MCV | 94.0 fL |
| MCH | 31.4 pg |
| MCHC | 33.4 g/dL |
| PLT | 311 x10 ³ /μL |



| | |
|--------------|--------------------------|
| LYM% | 32.8 % |
| MXD% | 12.6 % |
| NEUT% | 54.6 % |
| LYM# | 2.1 x10 ³ /μL |
| MXD# | 0.8 x10 ³ /μL |
| NEUT# | 3.5 x10 ³ /μL |

Bild 1. Frische Probe

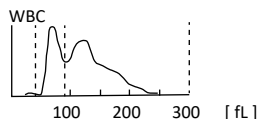
| | |
|-------------|-----------------------------|
| WBC | 6.5 x10 ³ /μL |
| RBC | - 3.69 x10 ⁶ /μL |
| HGB | - 12.1 g/dL |
| HCT | - 34.5 % |
| MCV | 93.5 fL |
| MCH | 32.8 pg |
| MCHC | 35.1 g/dL |
| PLT | 291 x10 ³ /μL |



| | |
|--------------|--------------------------|
| LYM% | 32.8 % |
| MXD% | + 15.2 % |
| NEUT% | 52.0 % |
| LYM# | 2.1 x10 ³ /μL |
| MXD# | 1.0 x10 ³ /μL |
| NEUT# | 3.4 x10 ³ /μL |

Bild 2. nach 72 h bei 4 °C

| | |
|-------------|-----------------------------|
| WBC | 6.4 x10 ³ /μL |
| RBC | - 3.57 x10 ⁶ /μL |
| HGB | - 11.7 g/dL |
| HCT | - 36.1 % |
| MCV | + 101.0 fL |
| MCH | 32.8 pg |
| MCHC | 32.4 g/dL |
| PLT | 297 x10 ³ /μL |



| | |
|--------------|------------------------------|
| LYM% | F1* 32.0 % |
| MXD% | T2 --- % |
| NEUT% | T2 --- % |
| LYM# | F1* 2.0 x10 ³ /μL |
| MXD# | T2 --- x10 ³ /μL |
| NEUT# | T2 --- x10 ³ /μL |

Bild 3. nach 72 h Raumtemperatur

Einleitung

Je frischer die Probe, desto korrekter sind die Resultate. Idealerweise werden deshalb die Proben für das automatisierte Blutbild direkt nach der Blutentnahme, nach kurzem Transport, möglichst rasch verarbeitet.

Im Alltag gibt es jedoch unvermeidbare Verzögerungen zwischen der Blutentnahme und der Analyse. In diesen Fällen ist es hilfreich, wenn man weiss, welchen Einfluss diese Verzögerung auf die Analyse der verschiedenen Parameter hat. Neben der Lagerungszeit spielen auch die Temperatur und das Messverfahren des Hämatologie-Systems eine Rolle. Pathologische Veränderungen der Proben können zusätzlich einen Einfluss auf die Stabilität haben.

Bei den 3-Part Hämatologie-Automaten erfolgt die Differenzierung ausschliesslich über die Grösse der Zellen. Ein Blick auf das Leukozytenhistogramm hilft, Lagerungsartefakte zu erkennen.

Auswirkungen der Lagerungszeit und -temperatur

Wie stark darf sich ein Wert verändern, damit er immer noch korrekt ist? In [1] wird vorgeschlagen, den Variationskoeffizienten der verwendeten Methode als Kriterium zu nehmen. So lange die Veränderung der Werte kleiner als der VK% ist, gilt die Probe als stabil. Basierend auf Messungen mit 5-part Hämatologie-Geräten wurden folgende Empfehlungen gemacht.

| Analysen | Stabilität | Bemerkung |
|------------------|----------------------|---|
| Ec, Hb, MCH, RDW | 72 Std. bei 4-8°C | Auch bei Raumtemperatur keine Veränderung. |
| MCV und Hk | 24-72 Std. bei 4-8°C | Erhöhung durch Anschwellen der Ec (Hk als Folgererscheinung ansteigend). Stark geräteabhängig, bei RT bereits nach 4 Stunden verändert. |
| Leukozyten | 72 Std. bei 4-8°C | Bei Raumtemperatur sinkt der Wert je nach Gerätetyp bereits nach 24h ab. |
| Lc-Diff automat. | 24-72 Std. bei 4-8°C | Signifikante Unterschiede je nach Gerät. Die Monozytenzahl kann bei den 5-part Geräten je nach Messverfahren zu- oder abnehmen, bei den 3-part Geräten nimmt sie immer zu. Bei RT sind die Werte bereits nach 4 Std. verändert. |
| Tc | 24-72 Std. bei 4-8°C | kontinuierliches, leichtes Absinken der Werte. |

[1] Imeri F, et al. Clin Chim Acta 2008;397:68-71.

Altersbedingte Veränderungen bei der Differenzierung mit 3-Part Hämatologie-Analysegeräten

Bei welchen Analysen ist der Unterschied am grössten?

Das MCV (und damit auch der HCT) steigen bei Raumtemperatur rasch an. Bereits nach 24 Stunden ohne Kühlung ist das MCV bis zu 5% höher und die Leukozyten-Differenzierung ist mit dem Sysmex XP-300 nicht mehr möglich, da das Gerät die «Täler» (Tal-Diskriminator 1 und 2) im Histogramm nicht mehr finden kann.

Die Monozyten werden bei den Sysmex-3-Part Geräten im mittleren Peak, dem MXD-Bereich dargestellt. Durch die Lagerung schrumpfen die Granulozyten. Die einzelnen Peaks lassen sich nicht mehr klar erkennen. Die Granulozyten-Population verschiebt sich nach links, der Peak ist nun bei etwa 120 fl zu sehen. Beim frischen Blut liegt er etwa zwischen 150 und 200 fl. Bei erhöhten Monozyten sollte man immer das Histogramm anschauen und nach dem Monozytenpeak suchen. Ist dieser nicht erkennbar, könnte die hohe Monozyten-Zahl ein Artefakt durch die Grössenveränderung der Granulozyten-Population sein.

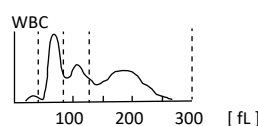


Bild 4. Echte Monozytose beim Präparat MQ 2019-3 H3b. Der Peak im MXD-Bereich ist gut sichtbar. Histogramm des Sysmex XP-300.

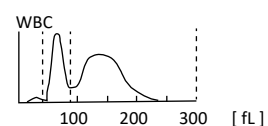


Bild 5. Lagerungsartefakt (27h Raumtemperatur). Durch die Schrumpfung der Neutrophilen verschiebt die Kurve in den MXD-Bereich. Histogramm des Sysmex XP300.

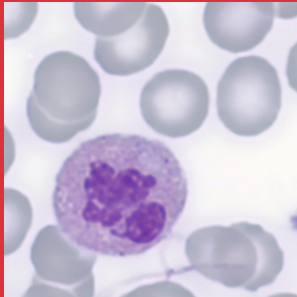


Bild 6. Frische Probe

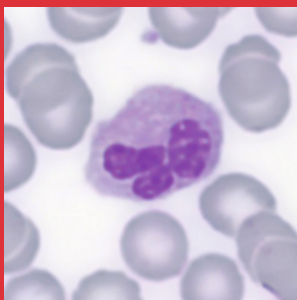


Bild 7. Probe 24 h gekühlt

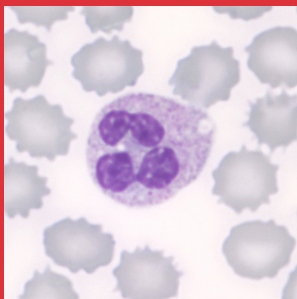


Bild 8. Probe 24 h bei Raumtemperatur

Andere Analysensysteme, welche fixe Diskriminatoren einsetzen, können bei älteren Proben zum Teil sehr hohe Werte für die Monozyten angeben. Auch bei dieser Messtechnik schrumpfen die Neutrophilen in den Monozyten-Bereich (Bild 11). Deutlich zu sehen ist in diesem Beispiel, dass bei der gekühlten Probe die Schrumpfung nicht stattgefunden hat und daher die Monozyten-Zahl nicht erhöht ist (Bild 10).

Beispiel einer Blutprobe die mit dem Microsemi gemessen wurde

| | | | | | |
|--------|-------------------------|--------|-------------------------|--------|---------------------------|
| DIFF : | | DIFF : | | DIFF : | |
| LYM%: | 33.1 % | LYM%: | 33.7 % | LYM%: | 45.6 % |
| MON%: | 6.3 % | MON%: | 6.8 % | MON%: | 30.4 H % |
| GRA%: | 60.6 % | GRA%: | 59.5 % | GRA%: | 24.0 L % |
| LYM#: | 2.1 10 ³ /µL | LYM#: | 2.1 10 ³ /µL | LYM#: | 2.8 10 ³ /µL |
| MON#: | 0.4 10 ³ /µL | MON#: | 0.4 10 ³ /µL | MON#: | 1.9 H 10 ³ /µL |
| GRA#: | 4.0 10 ³ /µL | GRA#: | 3.8 10 ³ /µL | GRA#: | 1.4 10 ³ /µL |

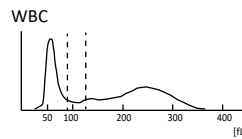


Bild 9. Frische Probe, mit Microsemi gemessen

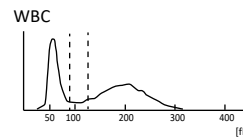


Bild 10. Probe nach 72h bei 4°C, gemessen mit Microsemi

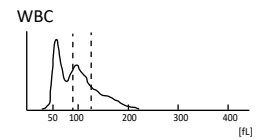


Bild 11. Probe nach 72 bei Raumtemperatur gemessen, mit Microsemi

Veränderungen durch die Lagerung der Blutproben im mikroskopischen Blutbild

Wie beim automatisierten Blutbild gilt auch hier, je früher der Ausstrich angefertigt wird, desto besser. Die Veränderungen innerhalb der ersten 2-4 Stunden beeinflussen die Resultate nicht. Muss die Probe länger gelagert werden, kann man die Effekte durch Kühlung reduzieren.

Ist das EDTA-Blut erst ausgestrichen, sind die Zellen auf dem Objektträger fixiert und unterliegen keinen weiteren Veränderungen mehr. Veränderungen im Färbeverhalten können in diesem Stadium noch artifiziell auftreten, wenn Ausstriche längere Zeit vor der Färbung Staub und Sonnenlicht ausgesetzt sind. Wird ein Ausstrich nicht umgehend gefärbt soll er deshalb in einer entsprechenden Objektträger-Schutzhülle aufbewahrt werden.

| | |
|-----------------|---|
| Neutrophile | <p>Kerne: Anschwellen des Kerns , homogenere Chromatinfärbung, Strukturverlust der Kernsegmente, Entstehung von Mehrkernigkeit. Apoptotische Formen (Abbauformen): Kernschrumpfung, Kondensation des Chromatins, schwarze dichte Chromatinmasse, Karyorrhexis.</p> <p>Zytoplasma: Ränder schlechter abgegrenzt (ausgefranst). Abbau zytoplasmatischer Strukturen. Leichte Vermehrung von Vakuolen ab 3-4 Std., deutlichere Vakuolisierung ab 6 Std.</p> |
| Monozyten | Zytoplasma: Leichte Vermehrung von Vakuolen ab 4 Std., deutliche Vakuolisierung ab 6 Std. |
| Lymphozyten | <p>Bis zu 5 Std. keine signifikanten Veränderungen.</p> <p>Kern: Danach homogenere Chromatinfärbung, bläschenförmige Kernausstülpungen (nuclear budding).</p> <p>Zytoplasma: bläschen- oder haarförmige Zytoplasmaausläufer seltener feine Vakuolisierung, bläschenförmige Kernausstülpungen (nuclear budding).</p> |
| lädierte Zellen | Vermehrtes Auftreten nach 24-48 Std. |
| NRBC | Innerhalb von 1-2 Tagen verfallen die Erythroblasten |
| Erythrozyten | Verminderung der Membranstabilität: Bildung von Echinozyten (Stechapfel-formen), Sphärozyten (Sphäro-Echinozytose) |
| Thrombozyten | Anschwellen der Thrombozyten (Grössenzunahme), imponieren dadurch hypogranulär. |

Impressum
Autorin Annette Steiger
Fotografie Dr. Roman Fried

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