

Hämatologie: Morphologie / Blutbild

Präanalytik und Analytik in der Hämatologie

Präanalytik: Blutentnahme-Technik

- Kapillarblut (Fingerstich) vs. venöses Blut
 - Hk, Hb oder Ec leicht ⬆
 - Lc und Neutrophile 8% ⬆
 - Monozyten 12-100% ⬆ (Kinder)
 - Thrombozyten 9-32% ⬇
- Hämatologische Krankheiten
 - Diagnose und Monitoring

Nur venöse Blutentnahmen zuverlässige Richtigkeit

Präanalytik: Proben-Aufbewahrung

- Quantitative Effekte bei 20° C
 - Hb stabil während Tagen (Infektion!)
 - Erythrozytenschwellung (Hk und MCV ↗) ab 6h
 - Lyse mit Hk ↘ und MCHC ↗ nach 2-3 Tagen
 - Retikulozyten ↘ nach 6h
 - Leukozyten und Thrombozyten ↘ nach 1-2h
- Quantitative Effekte bei 4° C
 - HK, MCV und Retikulozyten stabil während 24h
 - Leukozytendegeneration ab 24h
- Probenhomogenität
 - 8-10x Kippen bei 20° C (!)

Probenstabilität (IfLM / KSA)

Parameter	Stabilität
Hämoglobin	48 Stunden
Hämatokrit	6 Stunden / 24 Stunden bei 4° C
Erythrozyten	6 Stunden / 24 Stunden bei 4° C
Indices	6 Stunden / 24 Stunden bei 4° C
Leukozyten	24 Stunden
Thrombozyten	24 Stunden
Automatische Differenzierung	6 Stunden
Retikulozyten	6 Stunden
Mikroskopische Differenzierung	2 Stunden

Analytik: Gemessene Blutwerte

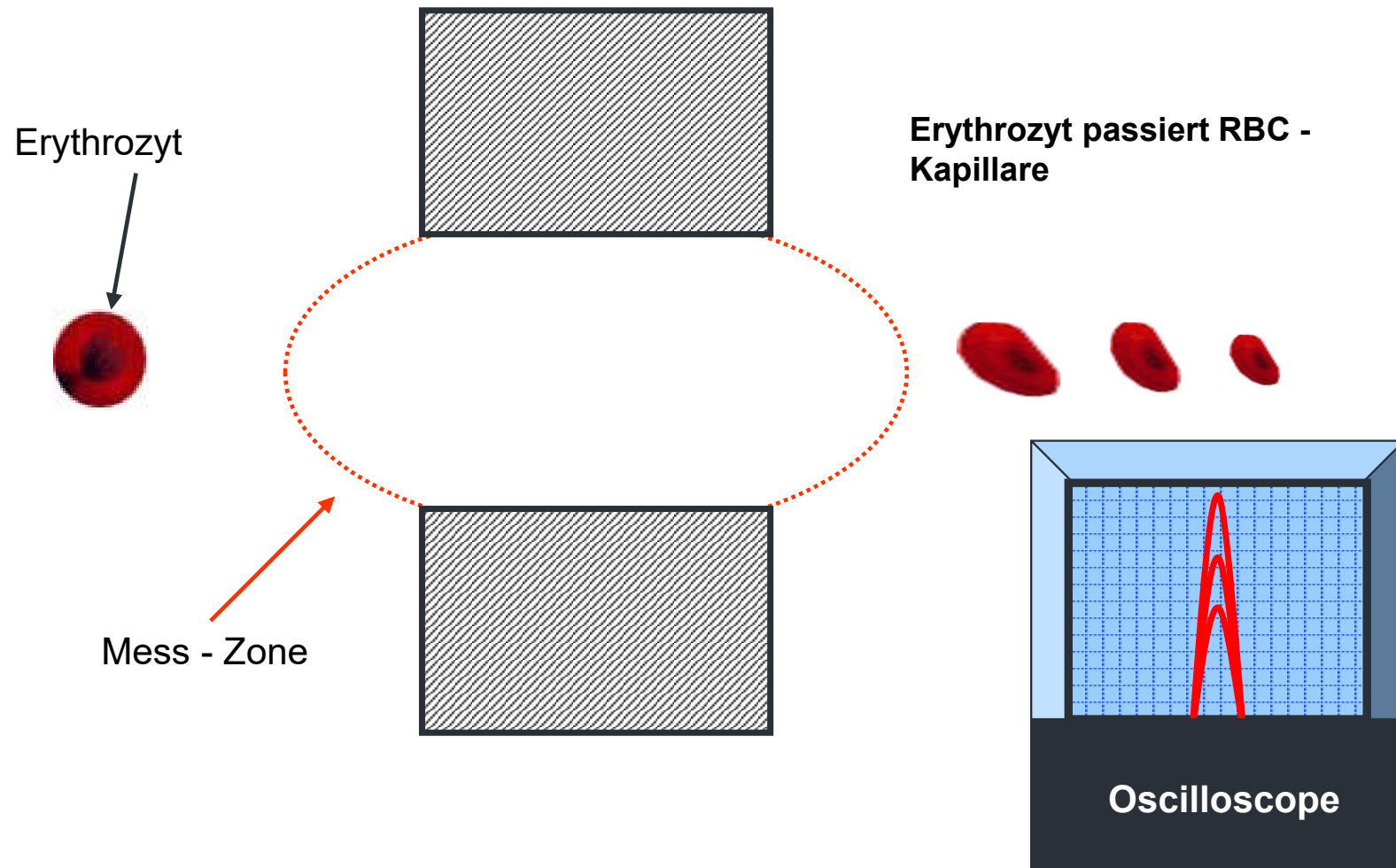
■ Messprinzip

- Photometrie (Cyanomethämoglobin, SLS-Methode)
- elektr. Widerstandsmessung (Impedanz)
- Durchflusszytometrie (Streulicht)
- manuelle Zellzählung

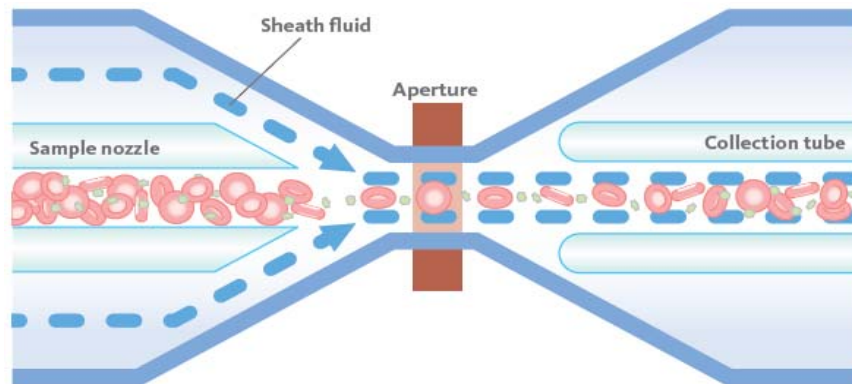
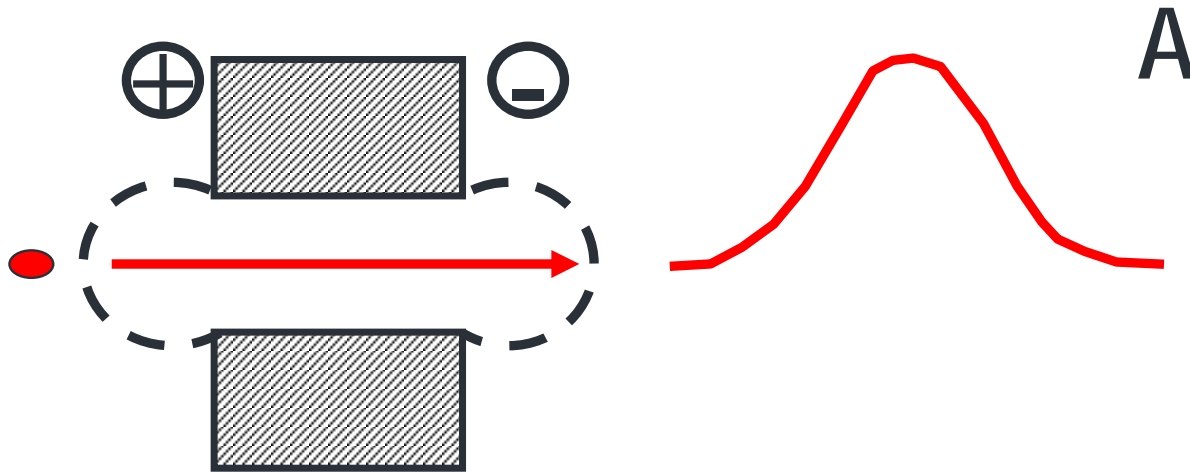
■ Einheiten (SI)

- Hb (g/L, g/dL)
- Hk (% , I/I)
- Erythrozyten (Tera/L, $\times 10^{12}/L$)
- Leukozyten (Giga/L, $\times 10^9/L$)
- Thrombozyten (Giga/L, $\times 10^9/L$)
- Histogramme (Verteilungskurven)
- Dotplots (Punktewolken)

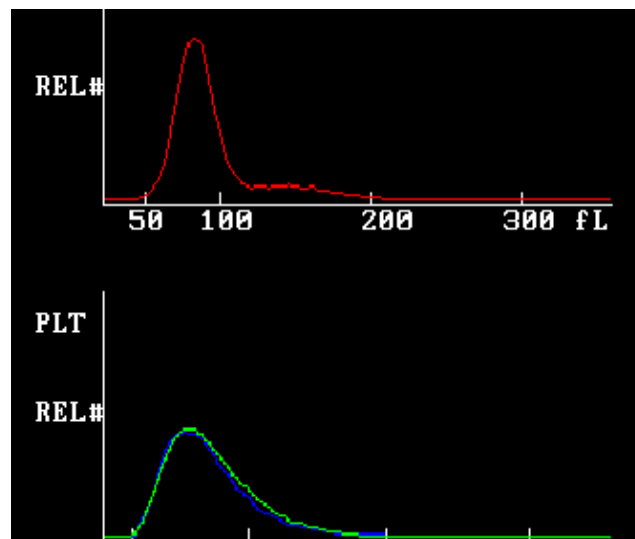
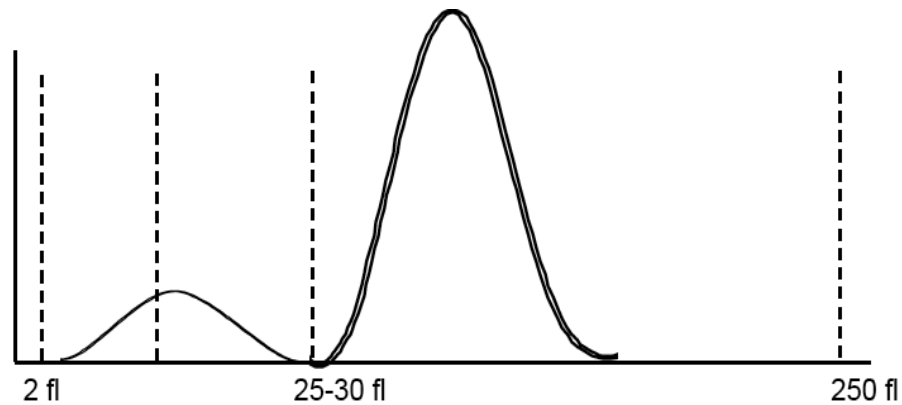
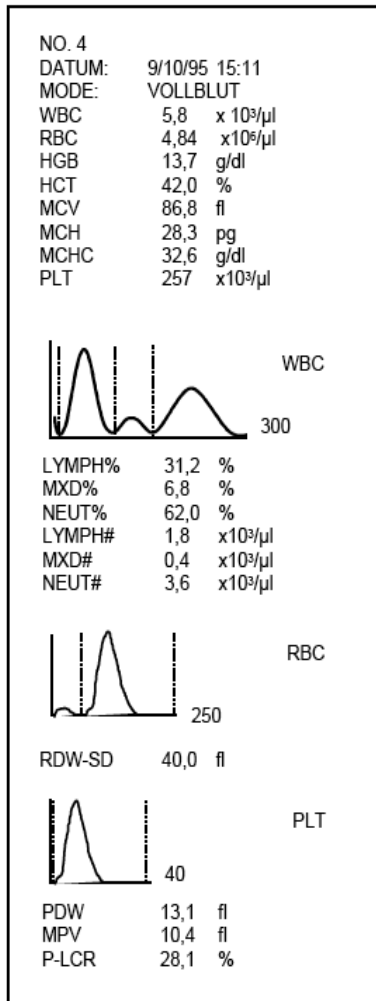
Impedanz Messprinzip



Impulsüberwachung (Koinzidenzkorrektur)



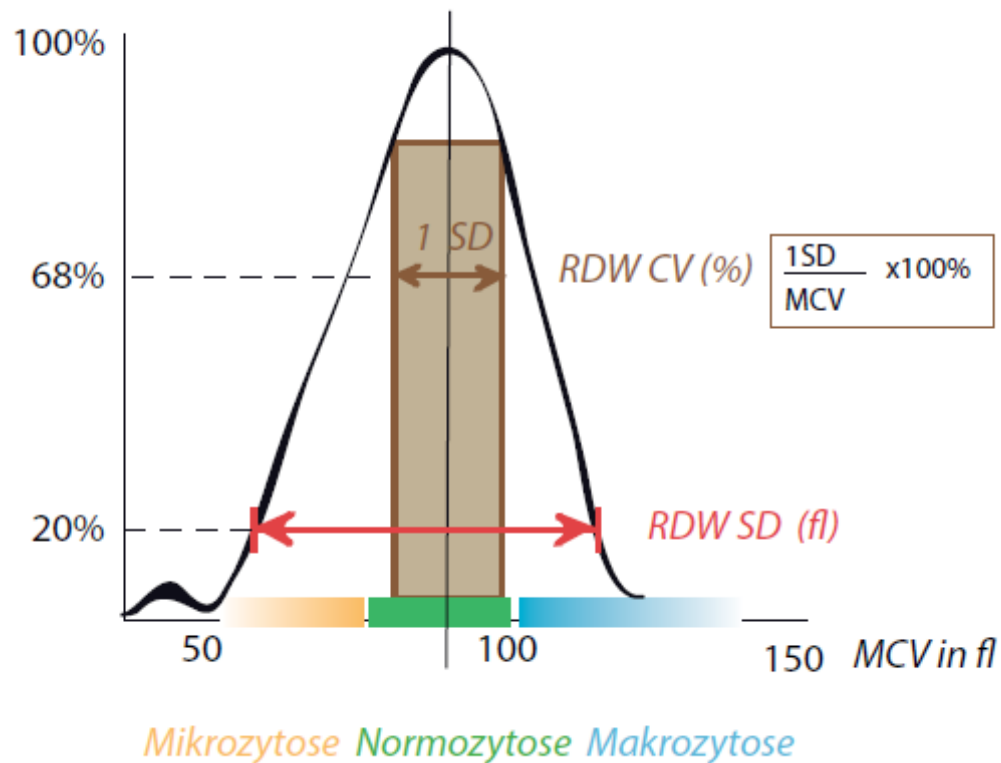
Normale Erythrozyten Grafiken / Impedanz



RBC

PLT

RDW / EVB



RDW-CV

Referenzbereich 11.5-14.5 %

Wird von allen Hämatologiegeräten

Berechnet: Formel: $(1SD/MCV) \times 100\%$

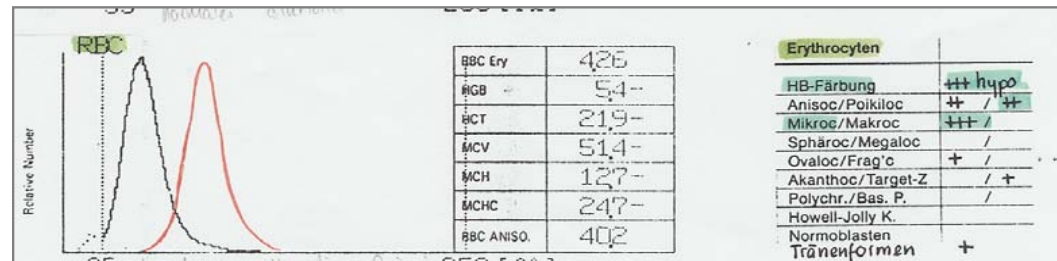
RDW-SD

Referenzbereich 35-45 fl

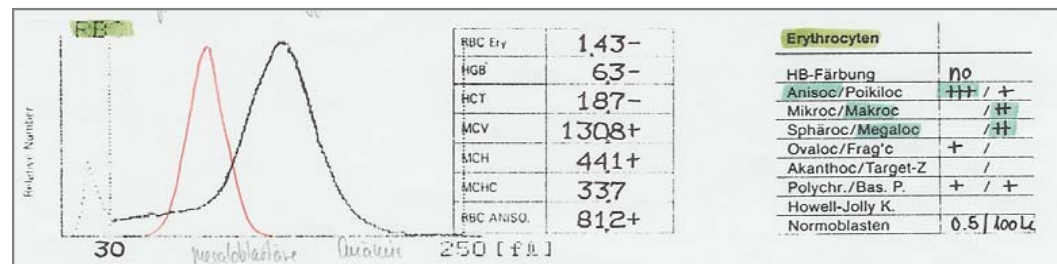
Wird nur von den Sysmex Geräten
gemessen und zusätzlich zum RDW-CV
angegeben.

Erythrozyten-Histogramme

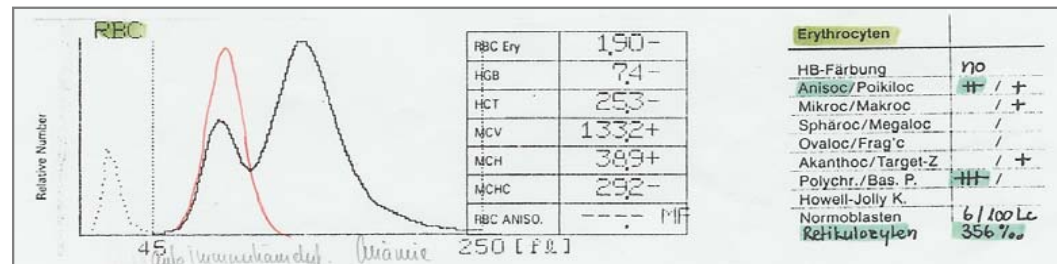
Eisenmangelanämie



Megaloblastäre Anämie



Autoimmunhämolytische Anämie



Analytik: Errechnete Erythrozytenindizes

■ MCHC Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	Hb/Hk	g/dl	< 32 g/dl: Hypochrom > 34 g/dl: Hypochrom
■ MCH Mittlere korpuskuläre Hämoglobinmenge	Hb/Ec	pg	< 28 pg: Hypochrom > 32 pg: Hypochrom
■ MCV Mittleres korpuskuläres Volumen	Hk/Ec	fl	< 80 fl: Mikrozytär > 100 fl: Makrozytär

Automatisiertes Blutbild mit Impedanzmessung

■ Vorteile

- Schnelligkeit
- Präzision = Reproduzierbarkeit (CV=2-7%)
- niedriges Infektionsrisiko fürs Personal

■ Nachteile

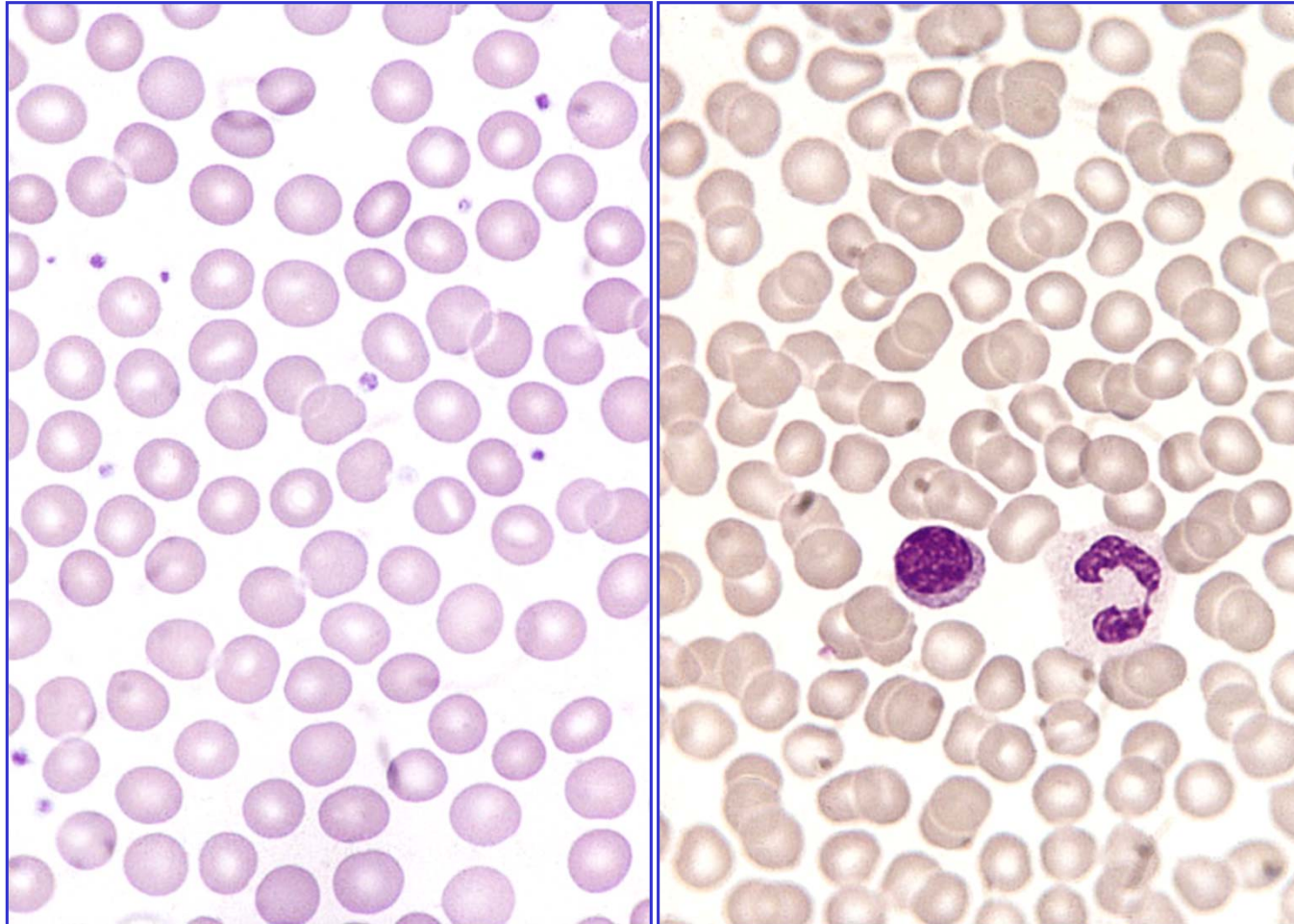
- Richtigkeit stark abhängig von Instrument/Modell
- Anschaffungskosten

Variablen der Richtigkeit der Impedanzmessung

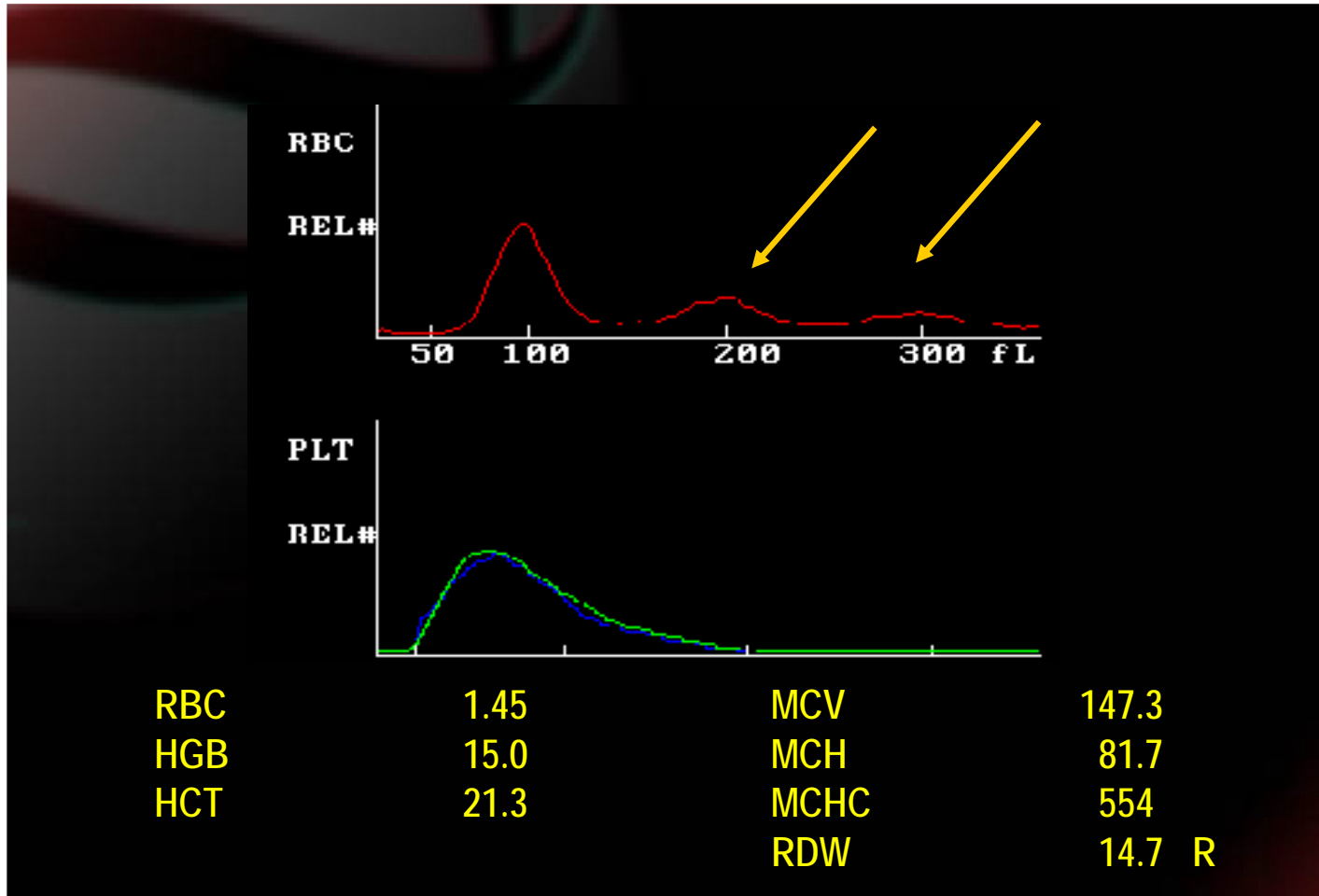
Systematische Fehler

- bedingt durch Instrument (Koinzidenz)
 - Simultane Passage 2 oder mehr Zellen
 - Rezirkulation
 - Pulsgeneration während elektrischer 0-Spannung
- bedingt durch "reale" Partikel
 - Kälteagglutinine
 - Luftblasen
 - Lipidtropfen
 - Mikroorganismen
 - "Dreck"

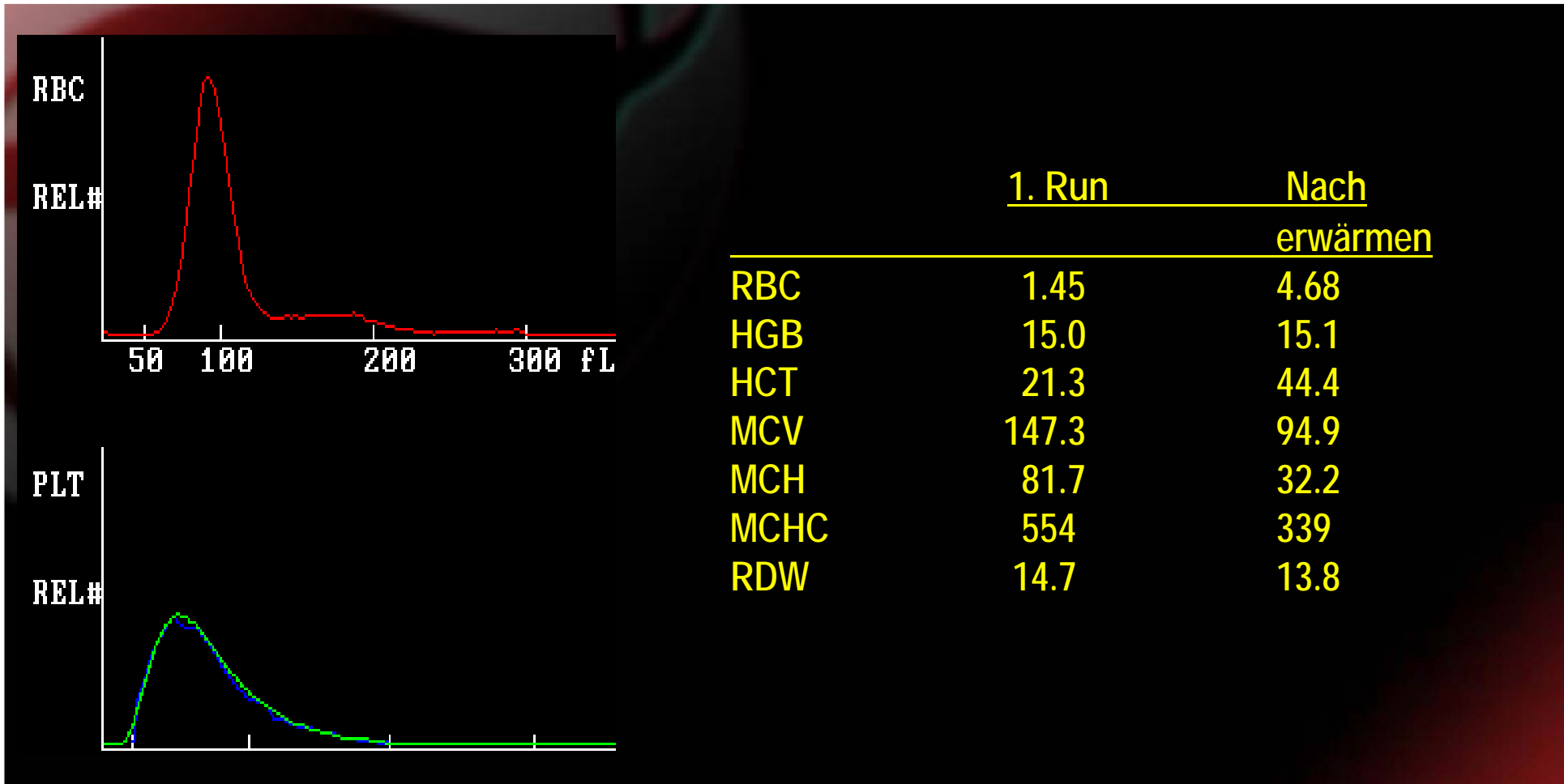
Blutbild: normale Erythrozyten und Thrombozyten



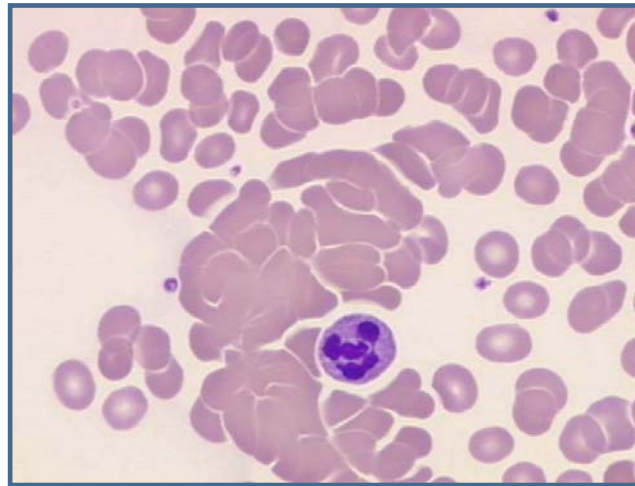
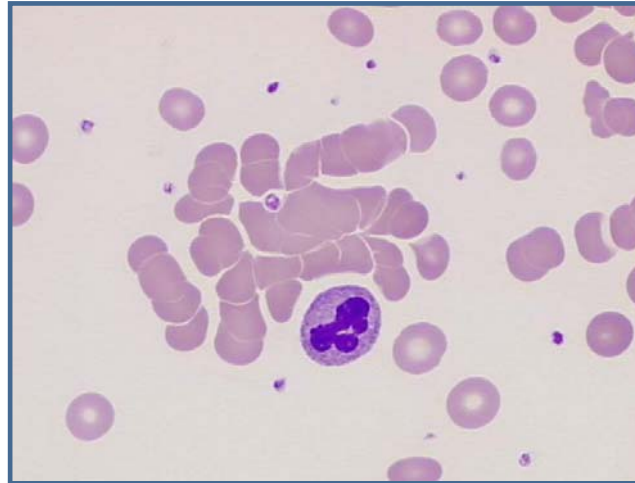
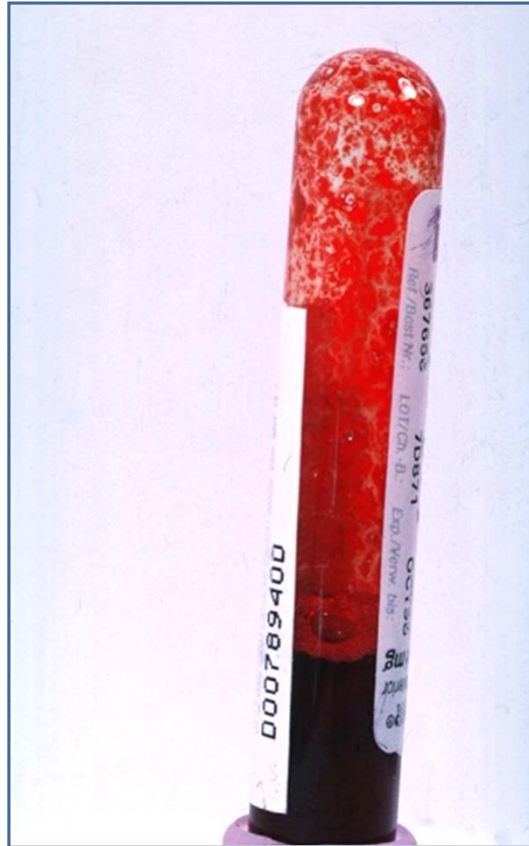
Kälteagglutininenerkrankung (CAD)



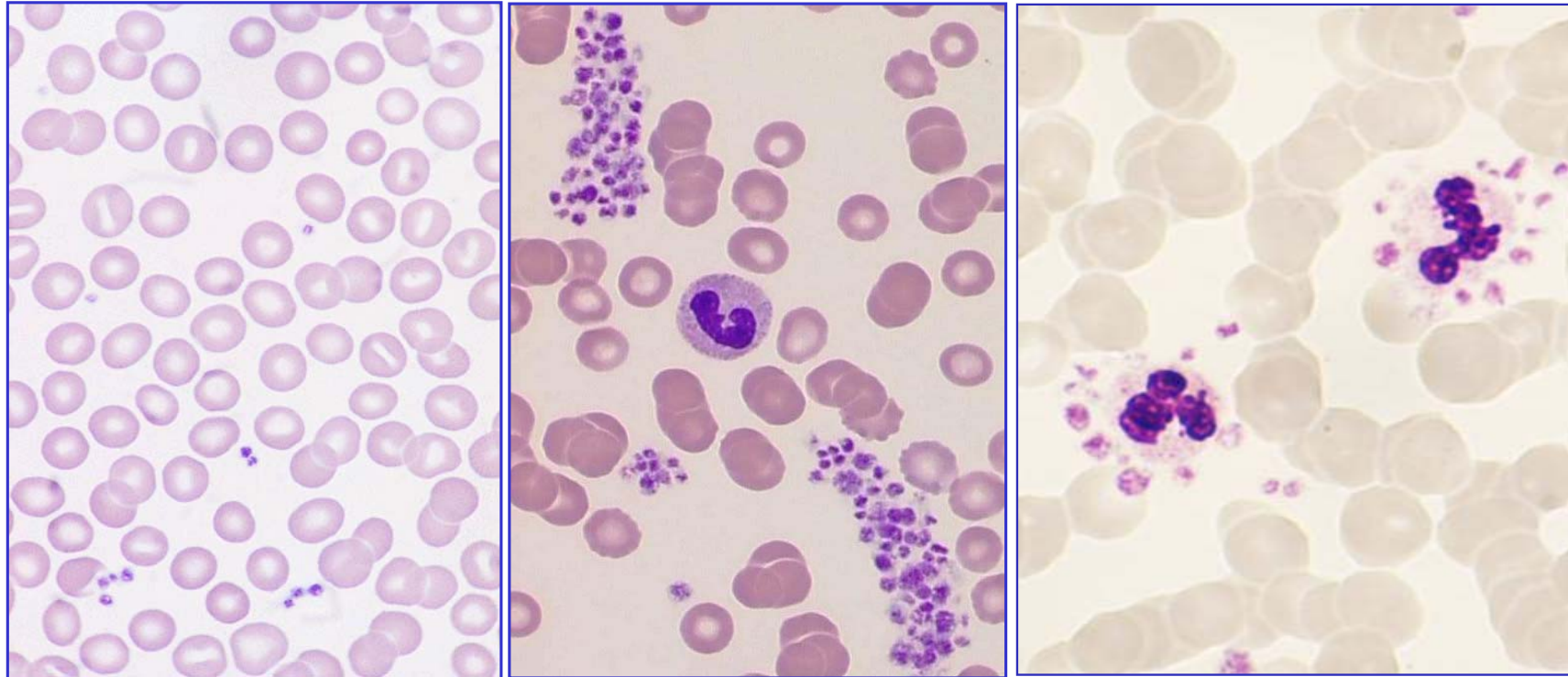
Kälteagglutininenerkrankung (CAD)



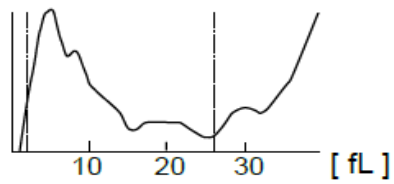
Kälteagglutininenerkrankung (CAD)



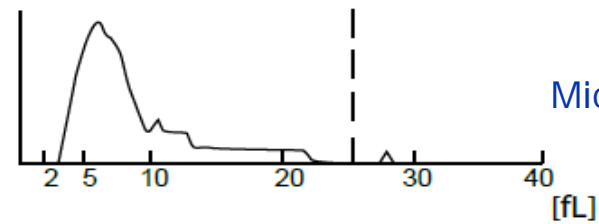
Pseudothrombopenie



PLT

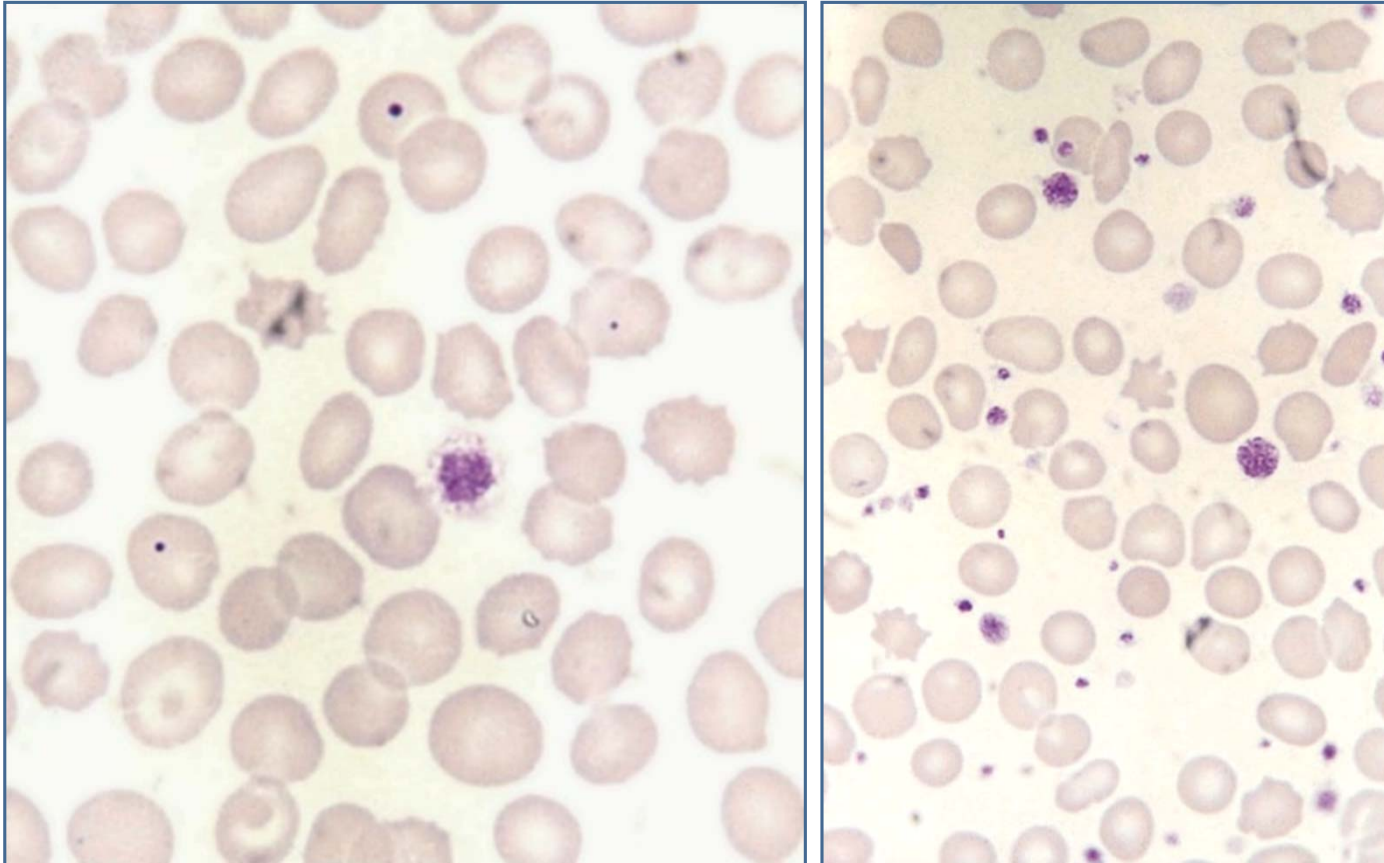


XP-300®



Microsemi®

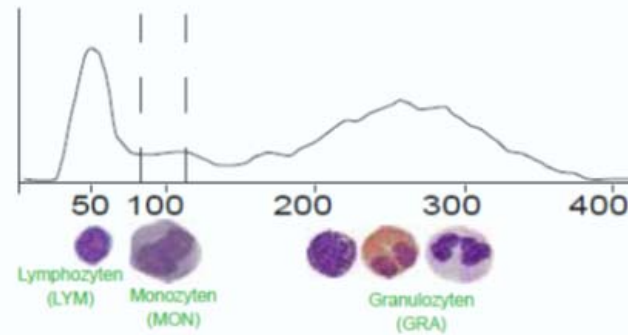
Riesen-Thrombozyten



Differentialblutbild

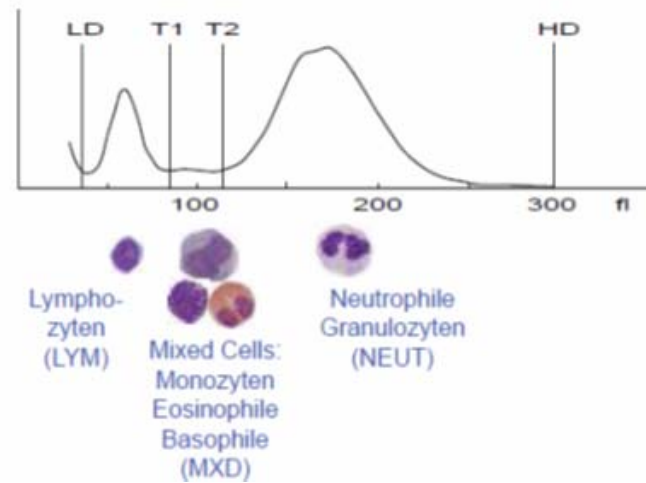
Leukozyten

ABX Micros



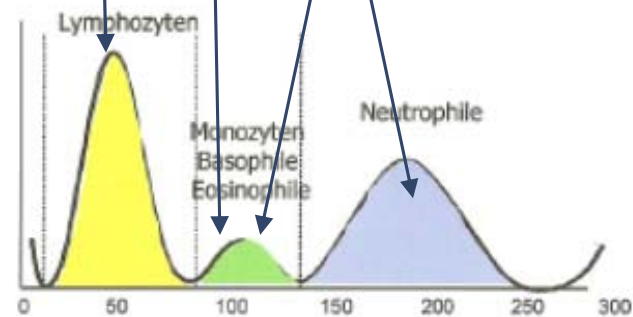
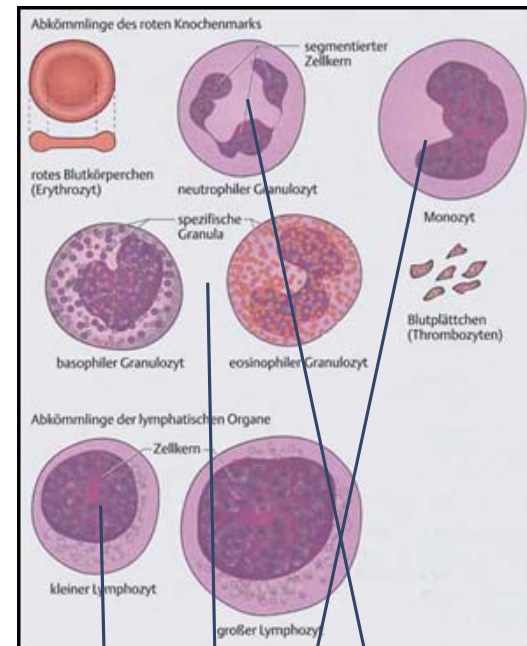
WBC	: 7.8	10 ⁹ /L
%LYM	: 46.5	%
%MON	: 5.2	%
%GRA	: 48.3	%
#LYM	: 3.6	10 ⁹ /L
#MON	: 0.4	10 ⁹ /L
#GRA	: 3.8	10 ⁹ /L

Sysmex KX-21N/PoCH-100i



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

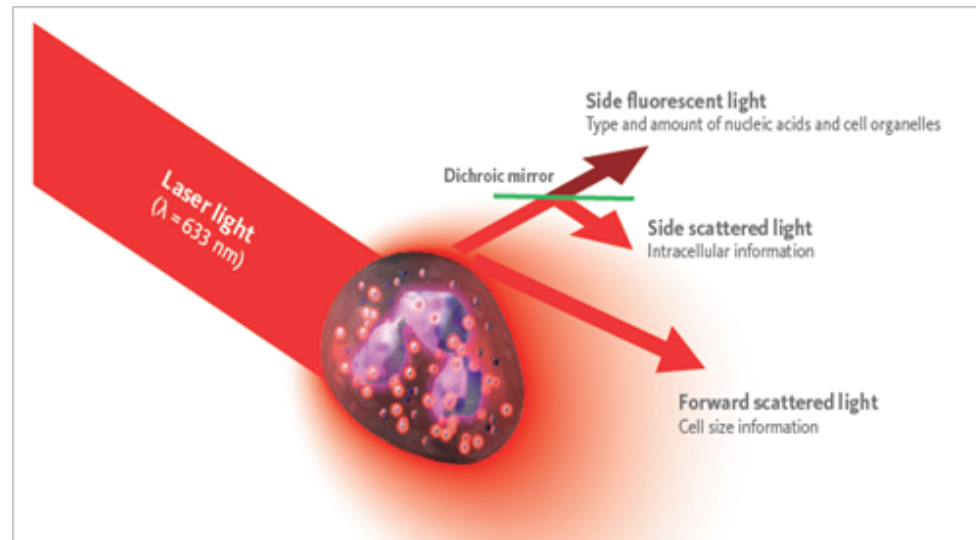
3-Part Differentialblutbild



Zellvolumen in fl	
Lymphozyten	30 - 80
Monozyten	60 - 120
Basophile	70 - 130
Eosinophile	80 - 140
Neutrophile	120 - 250

Analytik: 5-Part Differentialblutbild

- maschinelle Differenzierung
 - durchflusszytometrische Differenzierung nach Grösse, Granularität, ev. Peroxydaseaktivität
 - Blutbildautomaten mit 5-6 Leukozytensubpopulationen

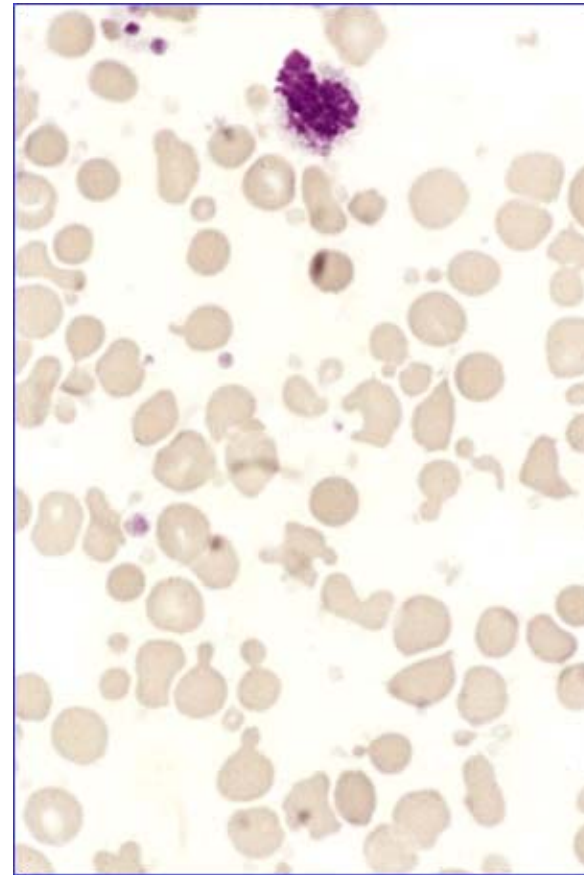
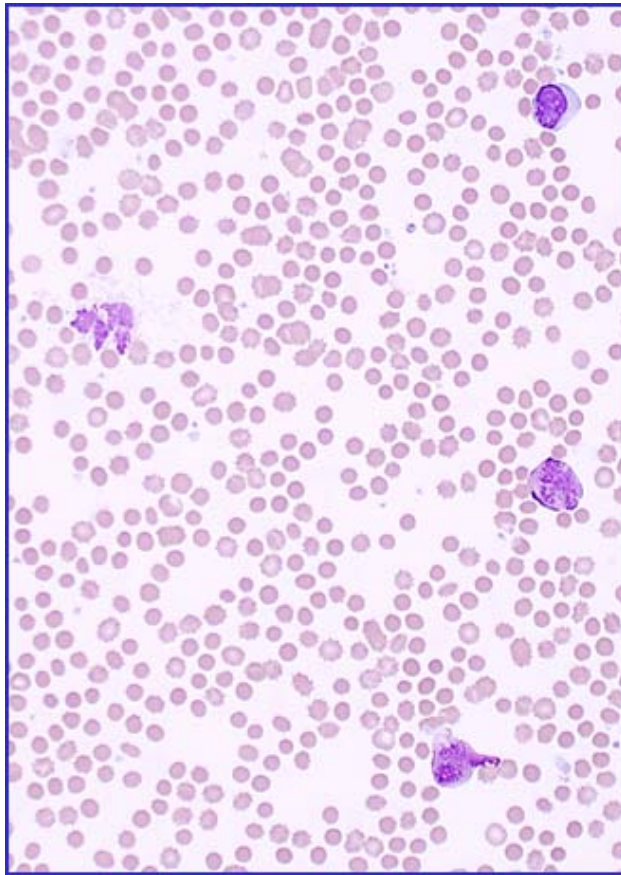


- manuelle Differenzierung
 - mikroskopische Differenzierung

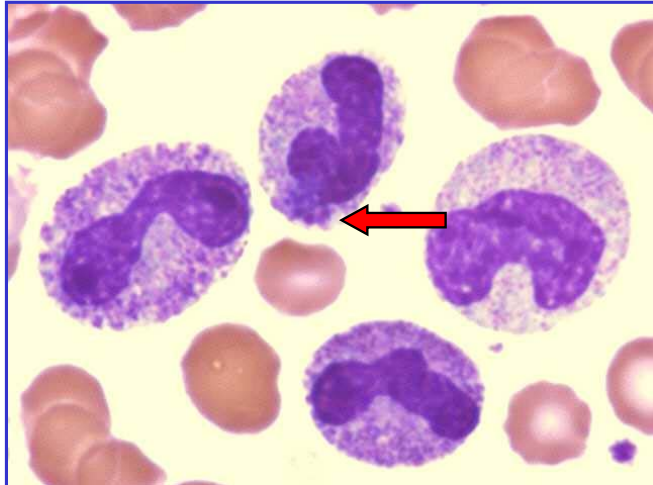
Beispiele

Präanalytik: Proben-Aufbewahrung

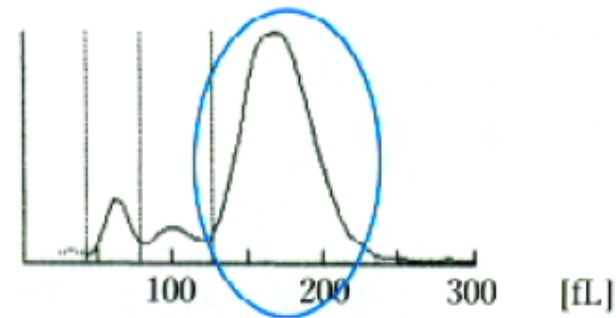
- Qualitative Effekte (Alterungsartefakte)



Toxisches Blutbild



WBC-Histogramm



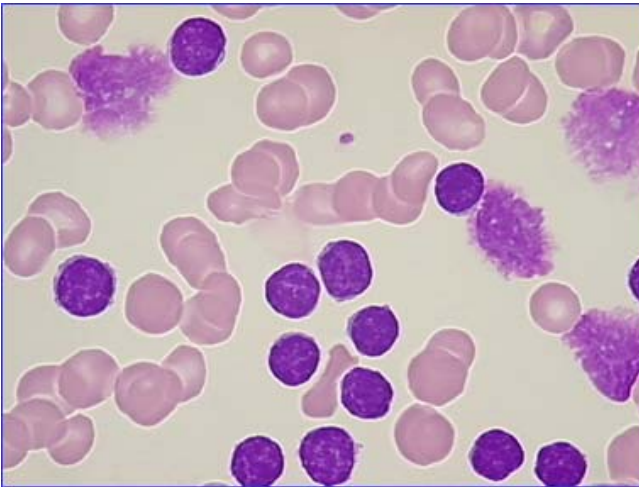
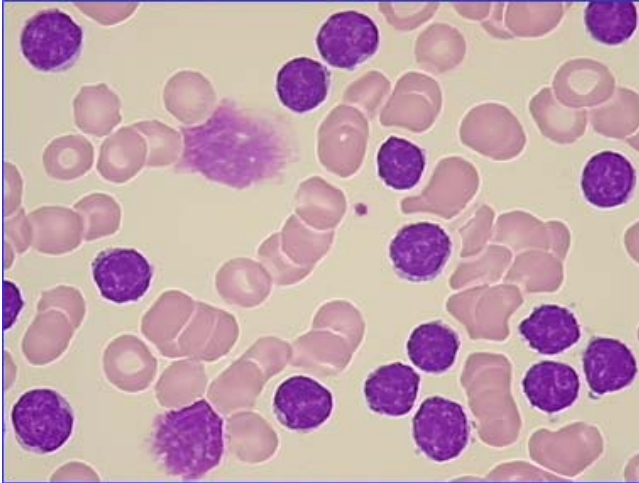
Messwerte

WBC + 23.8 x 10⁹/L
 LYM% 8.1%
 MXD% 7.9%
 NEUT% 84.0%

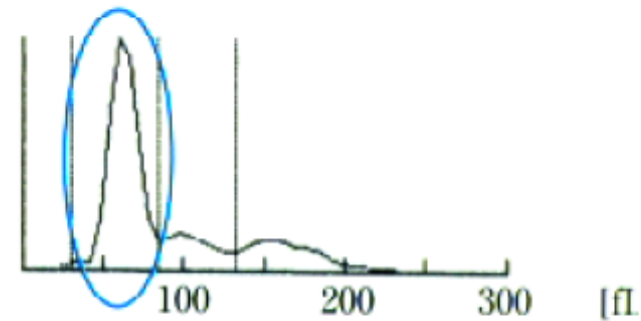
Man. Differentialblutbild

Stab 8 %
 Seg 77 %
 Lymph 7 %
 Mono 7 %
 Eo 1 %
 Baso 0 %

Chronisch Lymphozytäre Leukämie (CLL)



WBC-Histogramm



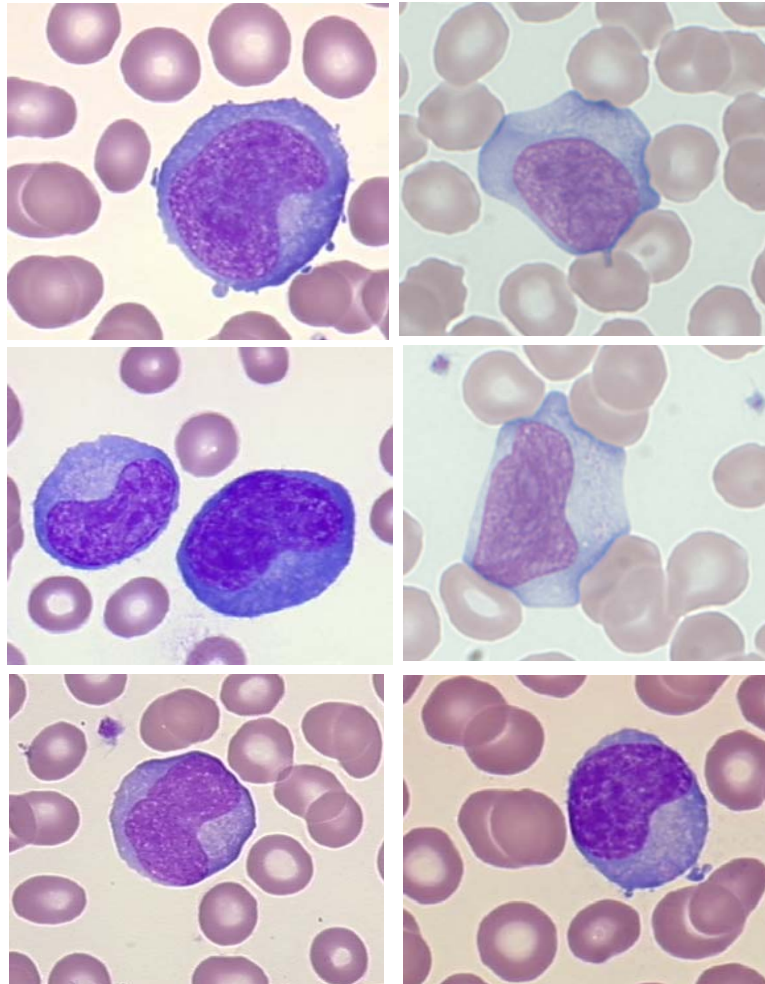
Messwerte

WBC	$7.9 \times 10^9/L$
LYM%	+ 64.7%
MXD%	15.8%
NEUT%	- 19.5%

Man. Differentialblutbild

Stab	4 %
Seg	20 %
Lymph	64 %
Mono	4 %
Eo	5 %
Baso	0 %
Aty-Lym	3 %

Atypische Lymphozyten (reaktiv)



Orphee Mythic (3-Part Diff)

Normale Leukozytenhistogramme	MQ 2018-3 H3B EBV
Der Mythic verwendet fixe Diskriminatoren. Der Lymphozytenpeak ist schmal und liegt links vom ersten Diskriminator (rot).	Grosse reaktive Lymphozyten verbreitern die Lymphozytenpopulation nach rechts. Die Kurve schneidet den ersten Diskriminator hoch.

ABX Microsemi (3-Part Diff)

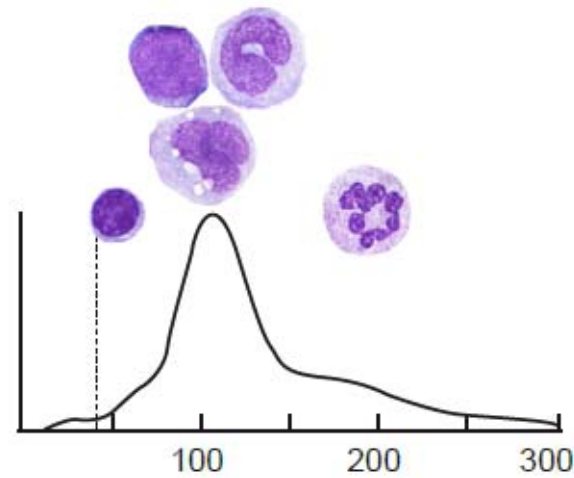
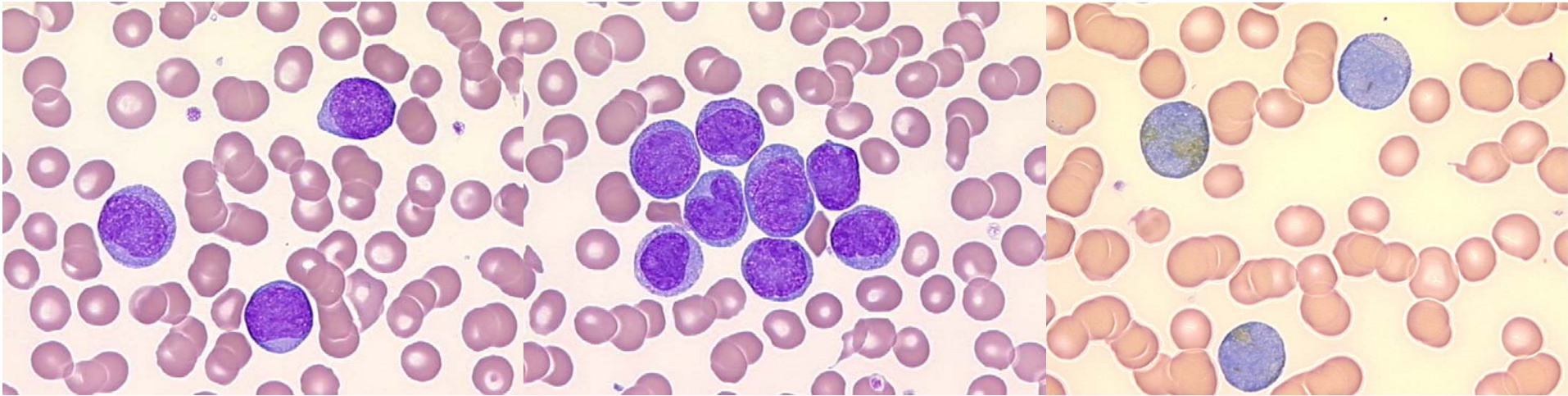
WBC	WBC
Beim Microsemi sind die Diskriminatoren fix. Im normalen Histogramm liegen die meisten Lymphozyten links vom ersten Diskriminator (rot).	Grosse reaktive Lymphozyten führen zu einem doppelten Peak innerhalb der Lymphozytenpopulation. Die Kurve schneidet den ersten Diskriminator auf halber Höhe.

Sysmex XP300 (3-Part Diff)

WBC	WBC
Sysmex verwendet variable Diskriminatoren. In diesem normalen Histogramm liegt der zweite Diskriminator (rot) zwischen den Lymphozyten der MXD Population links von 100.	Grosse Lymphozyten bewirken eine Verbreiterung des Peaks nach rechts. Der zweite Diskriminator wird verschoben und liegt rechts von 100.

https://www.mqzh.ch/cm/images/mq20183/pdf/bph2018_3_d.pdf
MQ 2018-3 H3B EBV

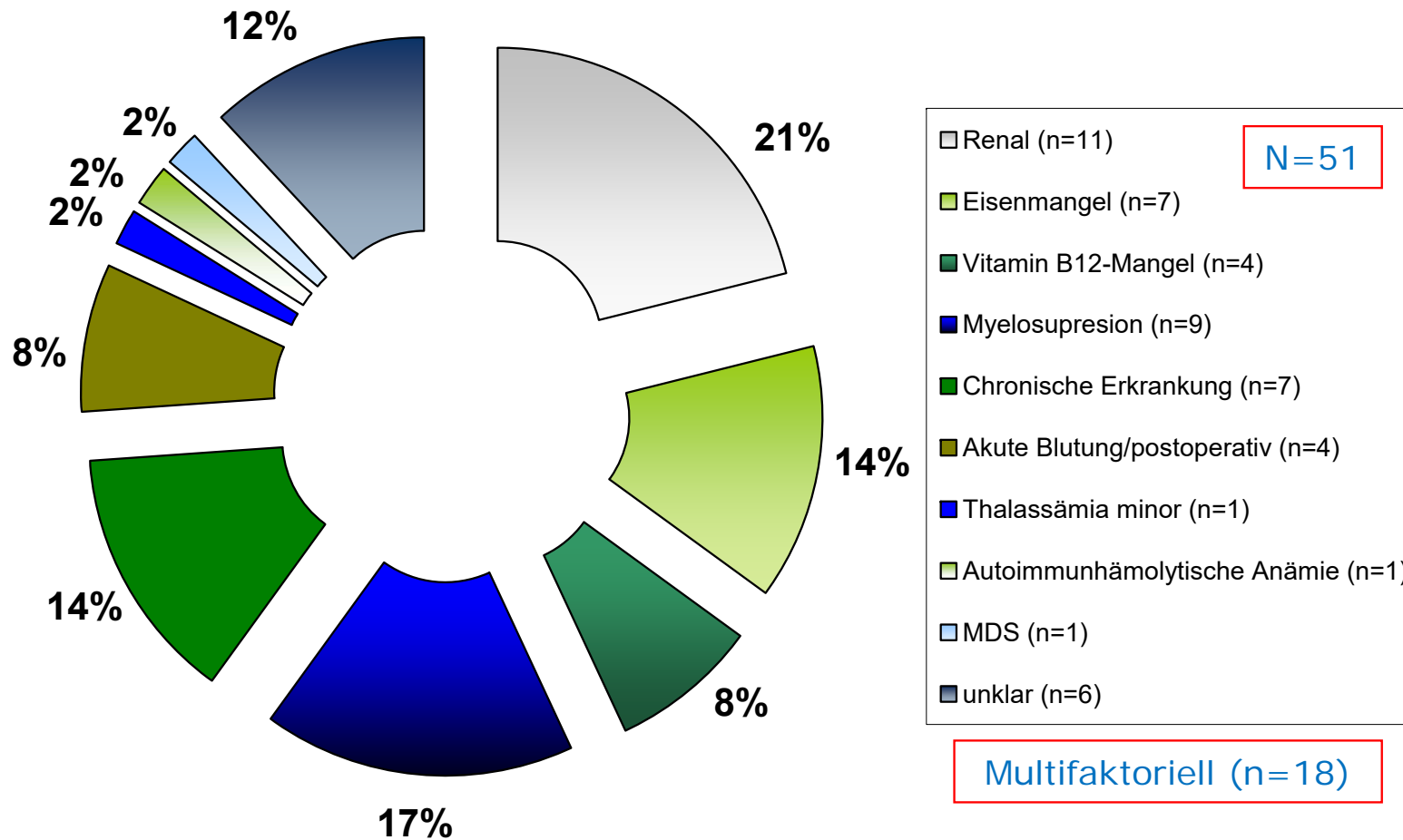
AML: myeloische Blasten



Blickpunkt Hämatologie MQZH 2017-02

Anämien

Häufigkeit der Anämieursachen in der Praxis



Merlo CM, et. al. Prävalenz und Ursachen von Anämien in einer städtischen Hausarztpraxis. Praxis 2008

Anämien - Definition

- Eine Anämie liegt vor, wenn die Erythrozytenmasse im peripheren Blut insuffizient ist, um die Sauerstoff adäquat zum peripheren Gewebe zu transportieren. **CAVE:** schwierig zu bestimmen (nuklearmedizinische Methoden)
- Surrogatmarker:

WHO-Grenzwerte für Anämie

Männer

Frauen

Schwangere & Kinder (6 Mt. und 6 J.)

Hämoglobin (g/l)

<130

<120

<110

Referenzwerte KSA

Hämoglobin (g/l)

Hämatokrit (l/l)

Erythrozytenzahl (T/l)

Männer

130 – 169

0.395 – 0.505

4.30 – 5.75

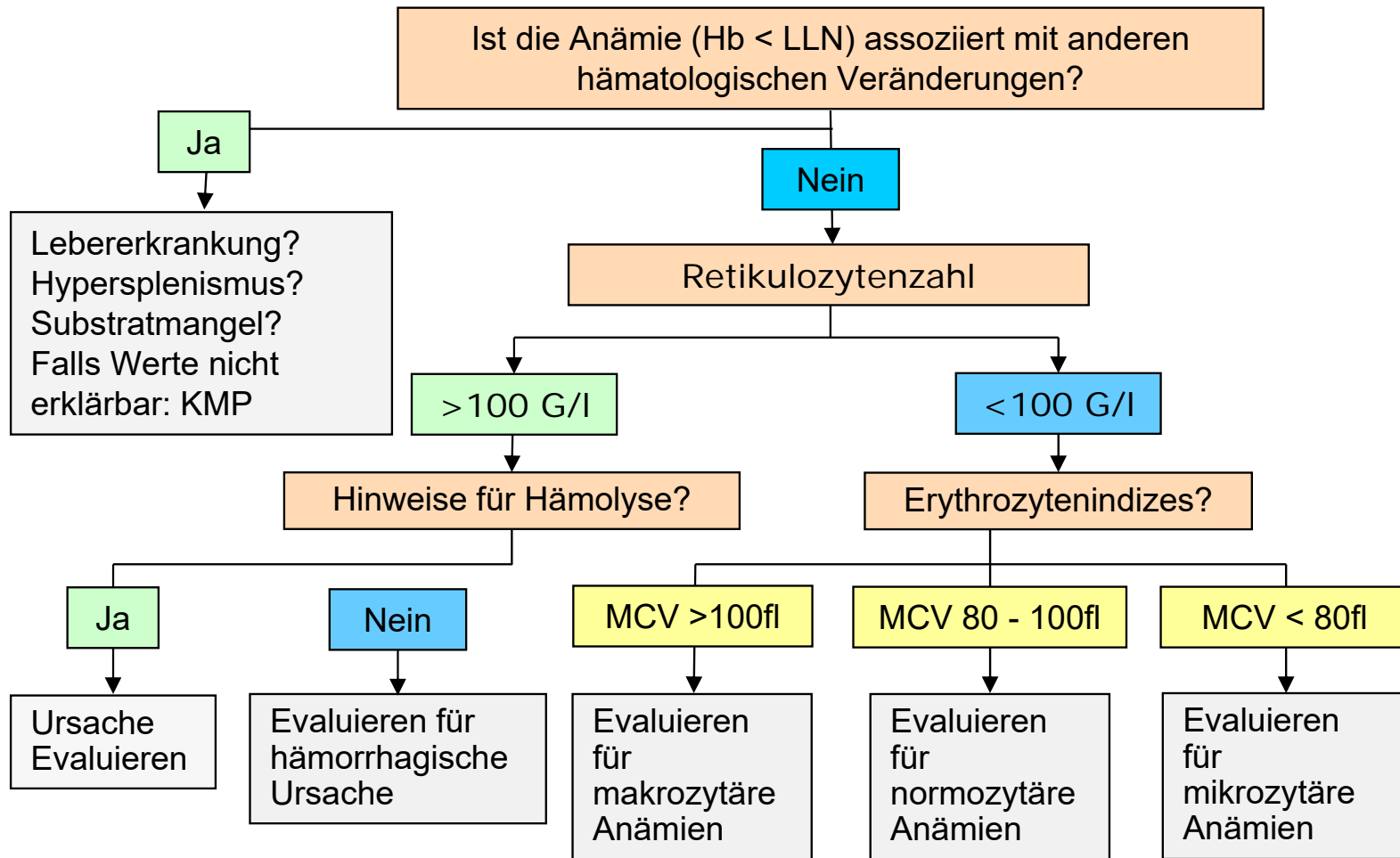
Frauen

120 – 152

0.355 – 0.455

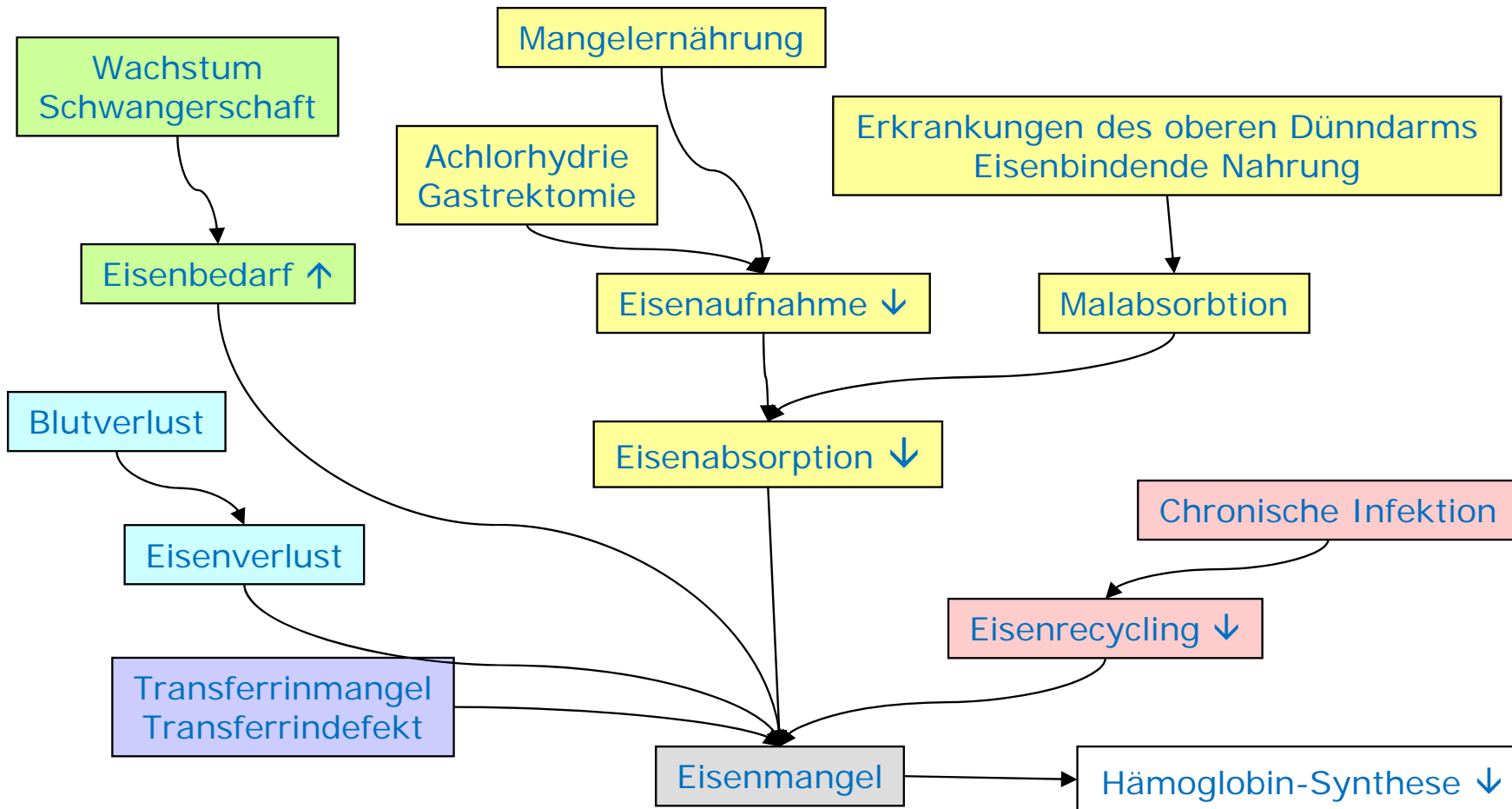
3.90 – 5.20

Diagnostischer Algorithmus bei Anämien



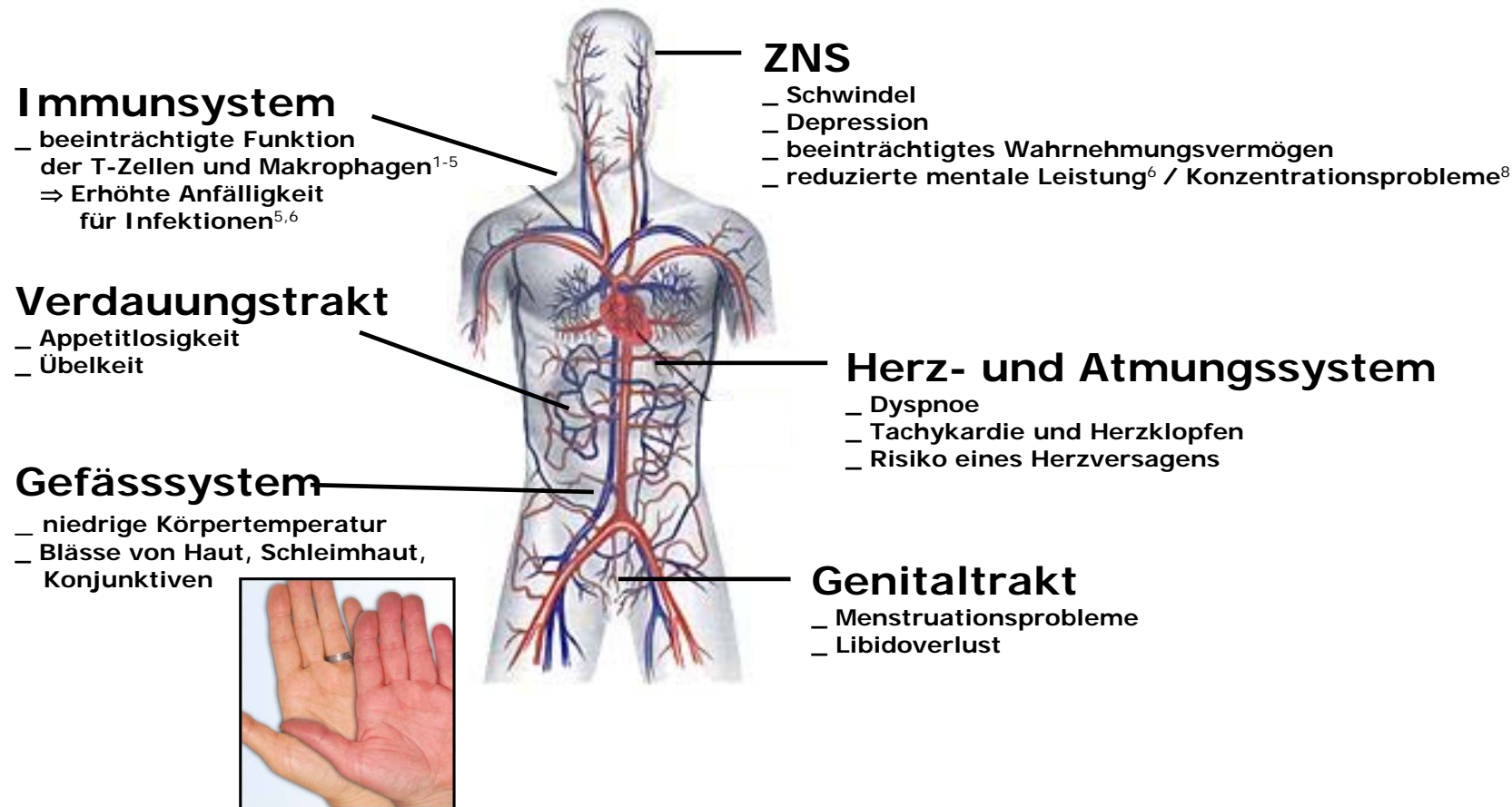
Mikrozytäre Anämien – Anämie bei Eisenmangel

Ursachen eines Eisenmangels



Silbernagel, 1998

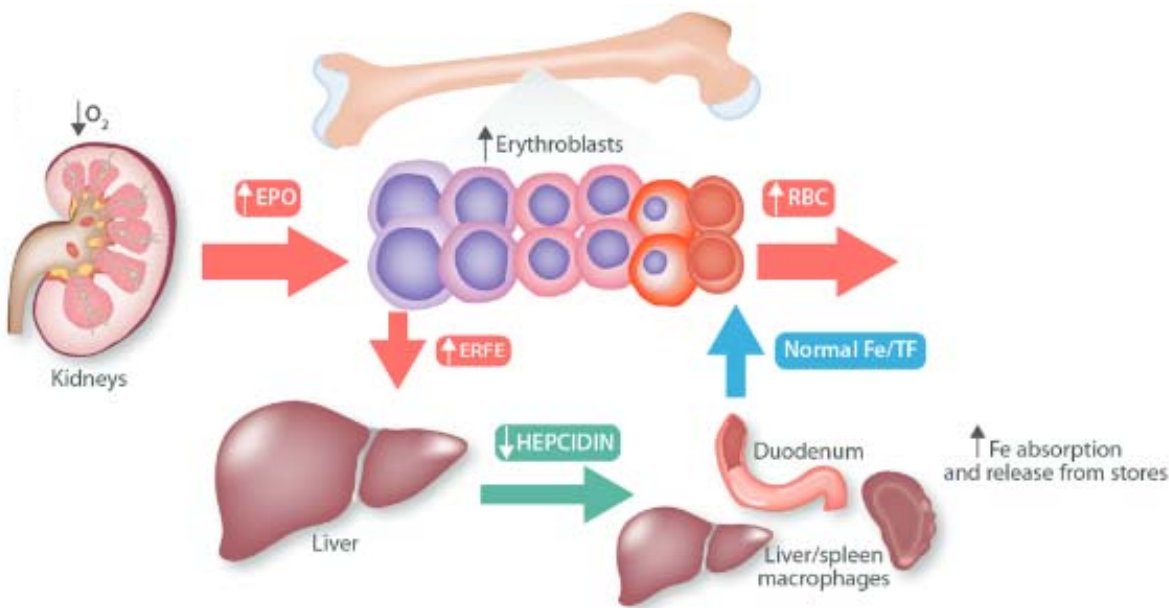
Eisenmangelanämie – Symptome und mögliche Folgen



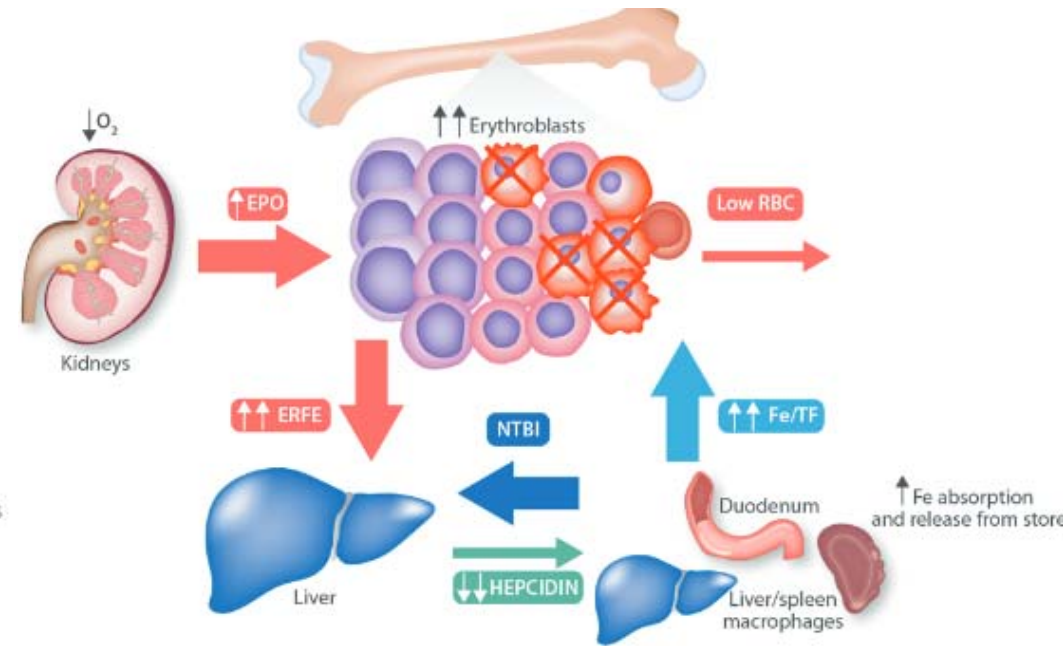
¹ Bokemeyer C et al., 2007. ² Brock JH. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2 (1999), 507-10. ³ Bullen JJ et Griffiths E. Iron and Infection. Ed. Wiley (1999), 289-325. ⁴ Macdougall LG et al. J Pediatr 86 (1975), 833-43. ⁵ Ahluwalia N et al. Am J Clin Nutr 79 (2004), 516-21. ⁶ Breyman, C. Leading Opinions – Medizin für die Frau 2 (2008).

Eisenstoffwechsel

Anemia with effective erythropoiesis



Anemia with ineffective erythropoiesis



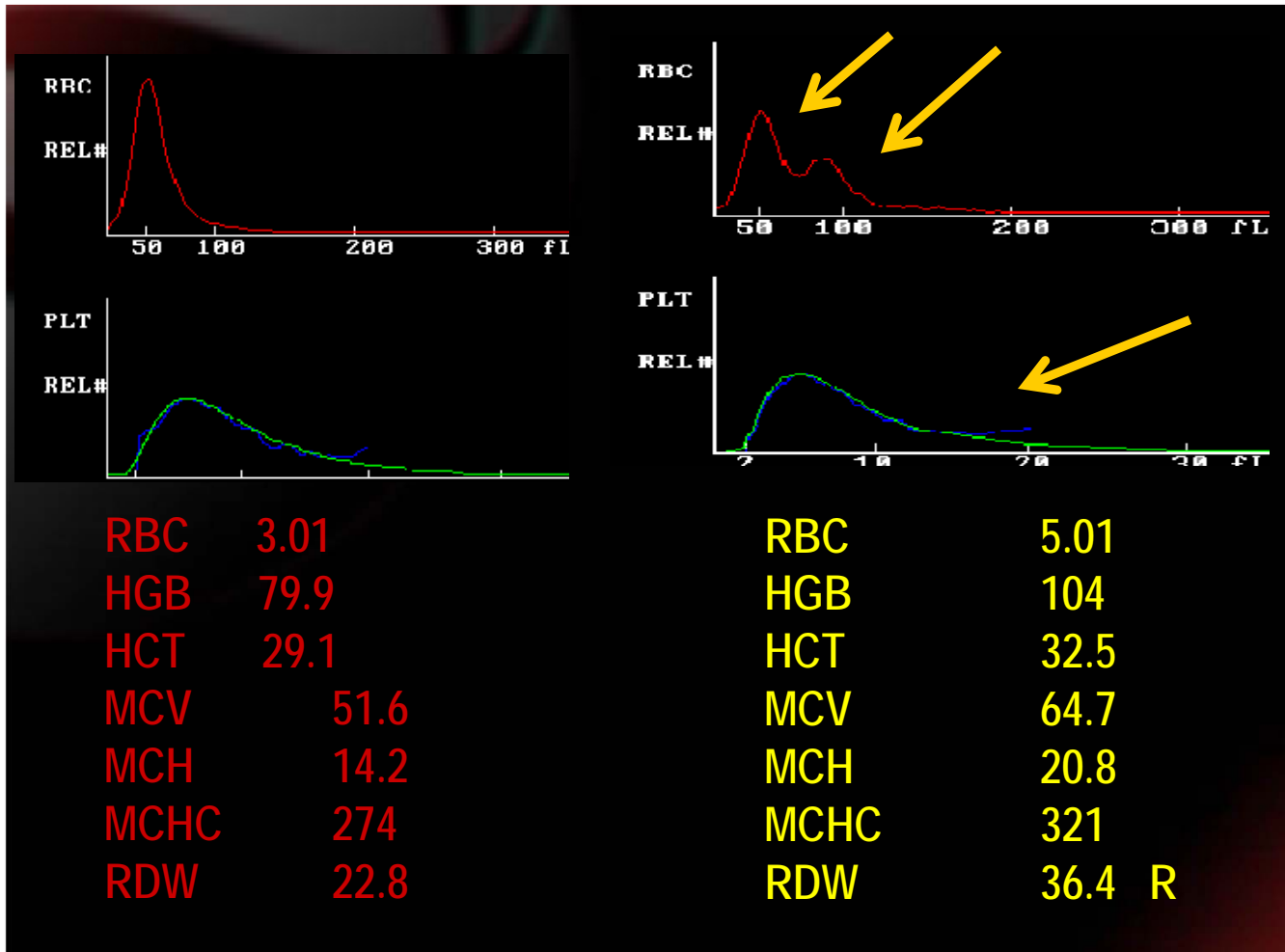
Coffey R, Ganz T. Erythroferrone: An Erythroid Regulator of Hepcidin and Iron Metabolism. *Hemasphere*. 2018 Mar 28;2(2):e35 (**modif.**)
 Britton RS, Leicester KL, Bacon BR. Iron toxicity and chelation therapy. *Int J Hematol*. 2002 Oct;76(3):219-28.

Eisenstoffwechsel

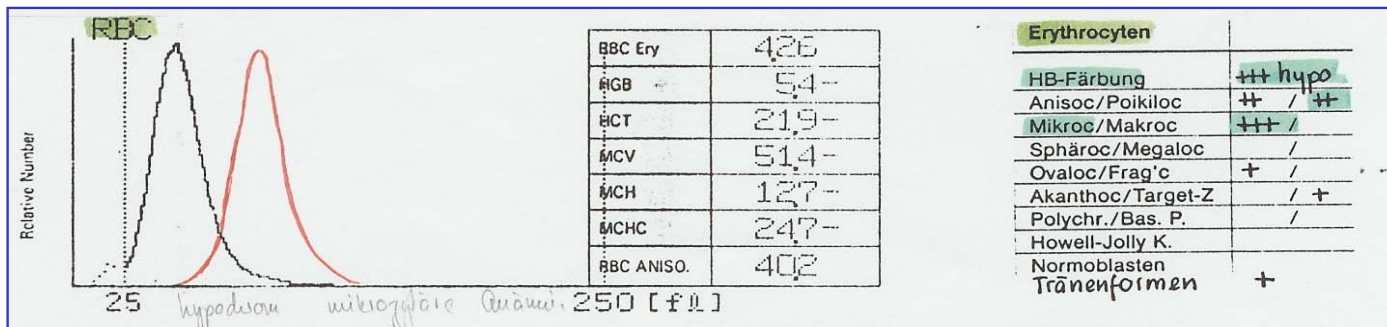
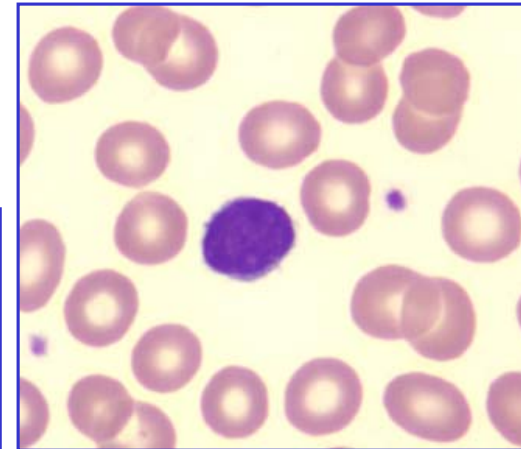
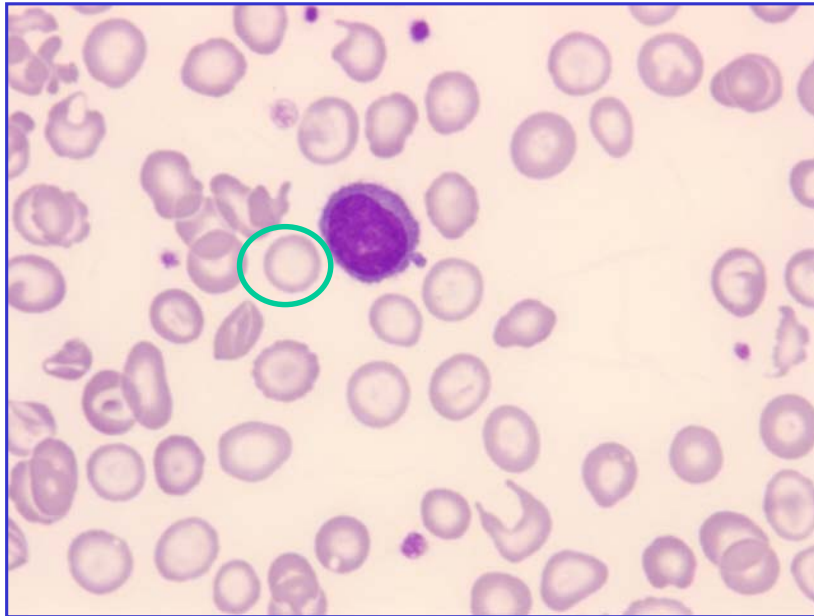
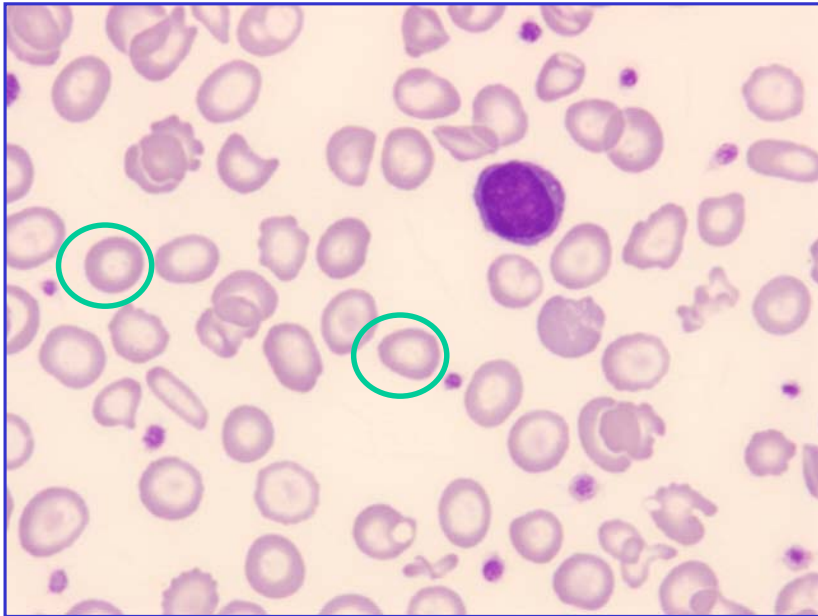
Diagnose und Differentialdiagnose

	Eisenmangel			Anämie bei chron. Erkrank.	Thalassaemia minor
	Stadium I	Stadium II	Stadium III		
KM-Hämosiderin	0	0	0	↑ - n	↑ - n
KM-Sideroblasten	n	↓	↓	↓	n
Eisen	n	n - ↓	↓	↓	n
Transferrin	n	↑	↑	n - ↓	n
TfS	n	↓	↓	n - ↓	n
Ferritin	↓	↓	↓	↑ - n	n - ↑
ZnPP	n	↑	↑↑	↑	n (-↑)
sTfR	n	↑	↑↑	n - ↓	n (-↑)
Hämoglobin	n	n	↓	↓	↓ - n
MCV	n	n	↓	n - ↓	↓
MCH	n	n	↓	n - ↓	↓
RDW	n	n	↑	n	n
Hepcidin	n	n - ↓	↓	↑	n
Hypo%	n	↓	↓	↓ - n	↓↓
Ret-He	n	↓	↓	↓	↓↓
CHr	n	↓	↓	↓	↓↓

Eisenmangel Anämie



Eisenmangel Anämie



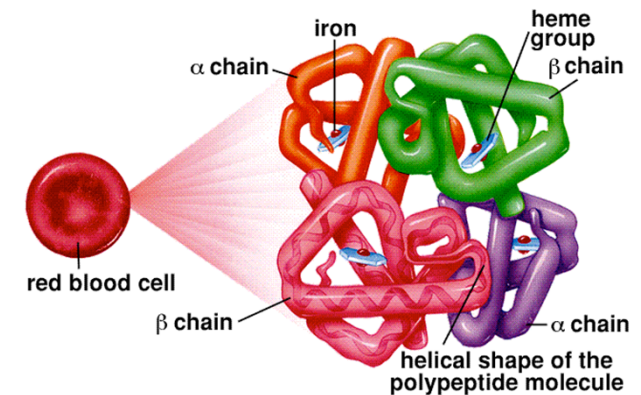
Therapie

- Ernährungsumstellung
- Perorale Eisensubstitution
- Intravenöse Eisensubstitution

Mikrozytäre Anämien – Hämoglobinopathien / Thalassämien

Hämoglobinopathien

- 3% der Weltbevölkerung sind Träger
- In der Schweiz leben 50'000 betroffene Menschen
- 200 – 300 mit schweren Hämoglobinopathien
- Gehört zu den häufigsten monogenetischen Erbkrankheiten
- (Meist) rezessiv vererbt
- Heterogene Gruppe von genetischen Erkrankungen
 - Thalassämie: quantitative Verminderung der Hämoglobinsynthese (alpha-/beta-Thal.)
 - Abnormales Hämoglobin: qualitative strukturelle Veränderung des Hämoglobins
- Schweregrade der Thalassämien:
 - Major: sehr schwer, häufig Transfusionen, Eisenüberladung
 - Intermedia: Zwischenformen
 - Minor: meist asymptomatisch



Huber A et al, Swiss medical forum, 2004

Thalassämien - Therapie

■ Minorformen

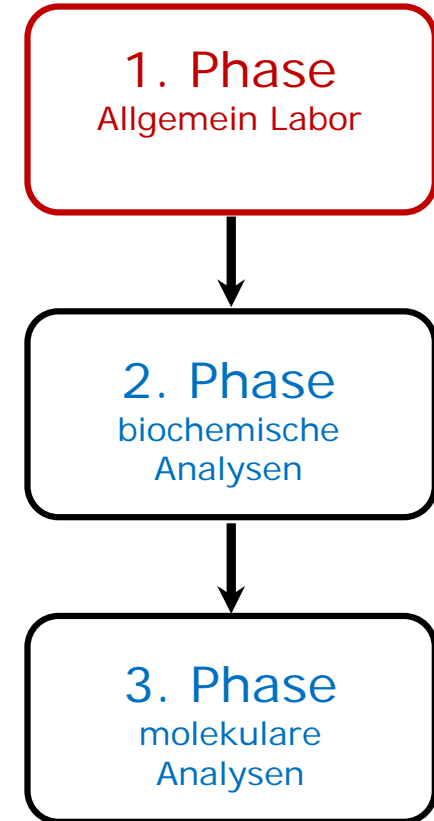
- Meistens keine besondere Behandlung notwendig
- Kein Eisen!! Ausser bei nachgewiesenem Eisenmangel

■ Majorformen

- Sehr aufwändig
- EC-Transfusionen in Kombination mit Eisenmobilisation
- Splenektomie
- Allogene Stammzelltransplantation

Diagnostischer Algorithmus

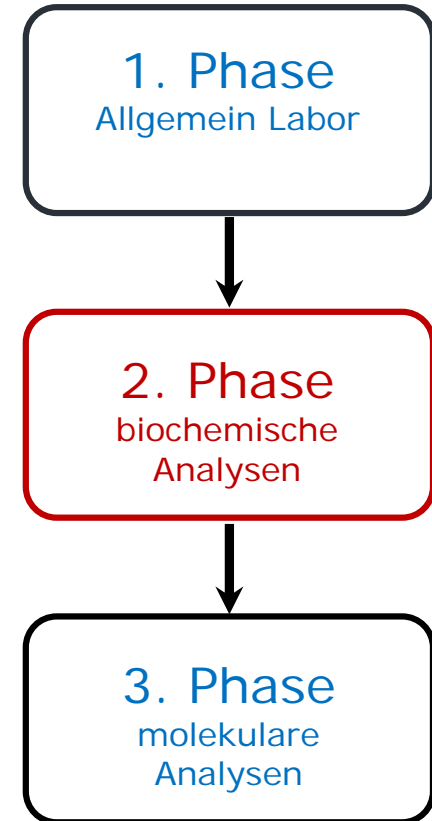
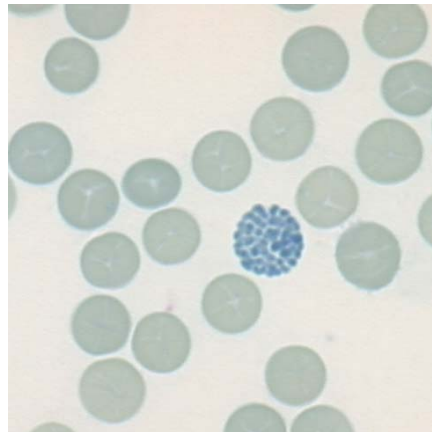
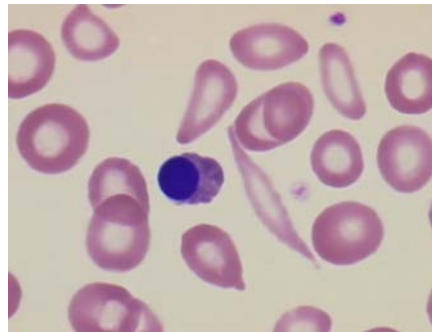
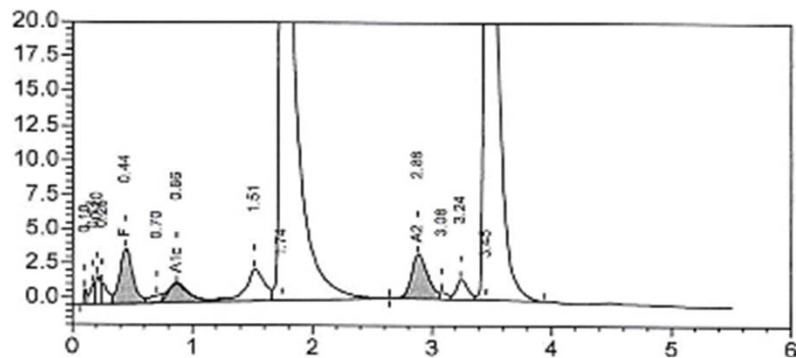
- Klinische Informationen
- Hämogramm
- Blutausstrich
- Retikulozytenzahl
- Eisenstatus
- Entzündungsparameter
- Hämolysparameter



Huber A et al, Swiss medical forum, 2004

Diagnostischer Algorithmus

- Klinische Informationen
- Andere Informationen (FA, Ethnie, Transfusionen, SS)
- Hämoglobinstabilität



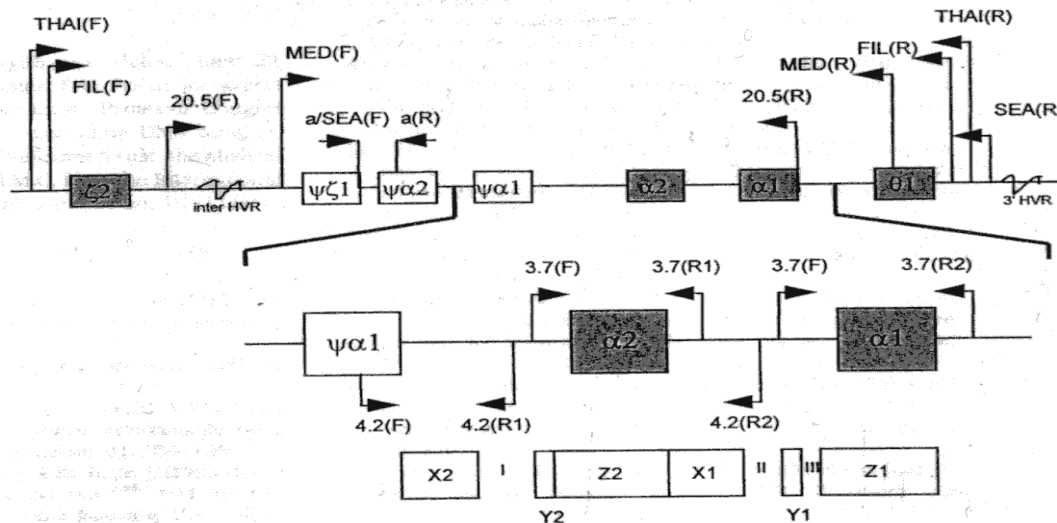
Huber A et al, Swiss medical forum, 2004

Molekularbiologische Untersuchungen

Nachweis von deletionalen α -Thalassemia \rightarrow
gap-PCR (Multiplex PCR)

α^+ ($-\alpha^{3.7\text{kb}}$, $-\alpha^{4.2\text{kb}}$)

α^0 ($-\text{SEA}$, $-\text{MED}$, $-\text{THAI}$, $-(\alpha)^{20.5\text{kb}}$, $-\text{FIL}$)



1. Phase
Allgemein Labor

2. Phase
biochemische
Analysen

3. Phase
molekulare
Analysen

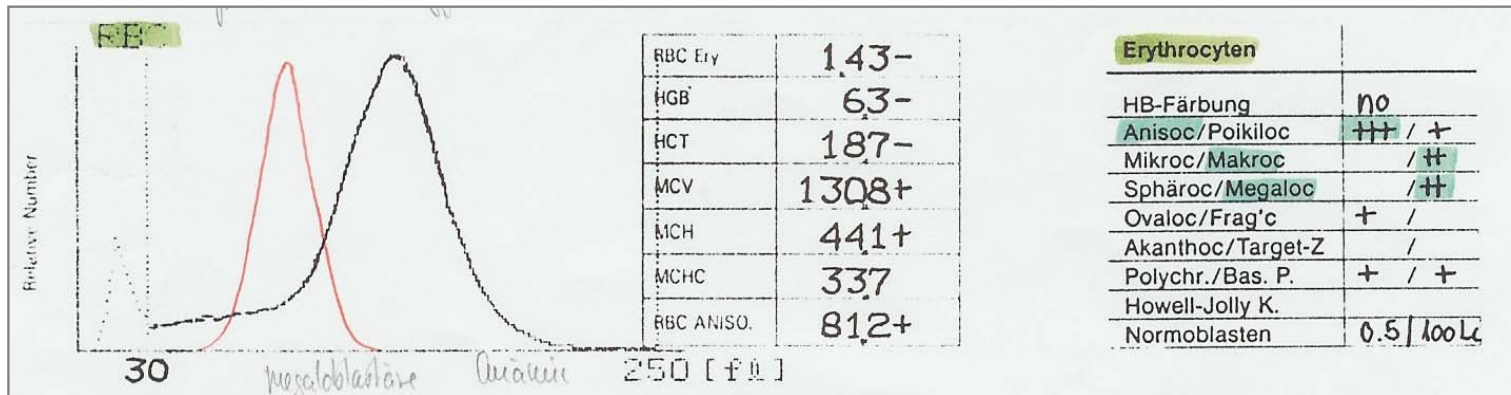
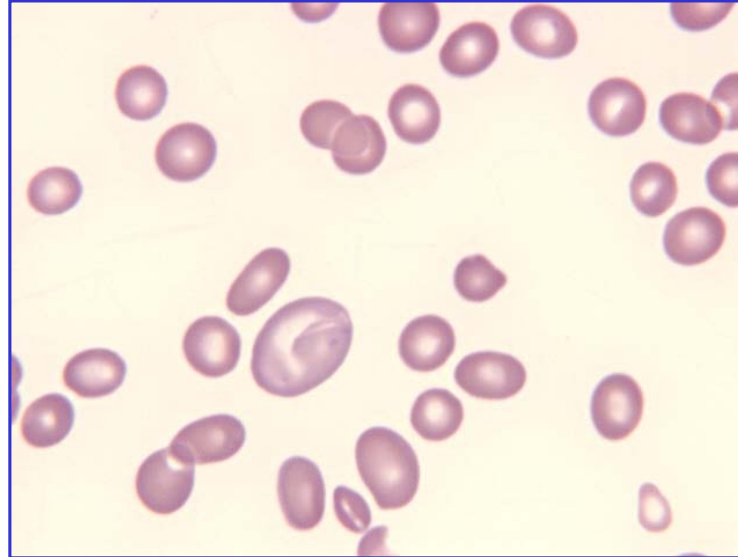
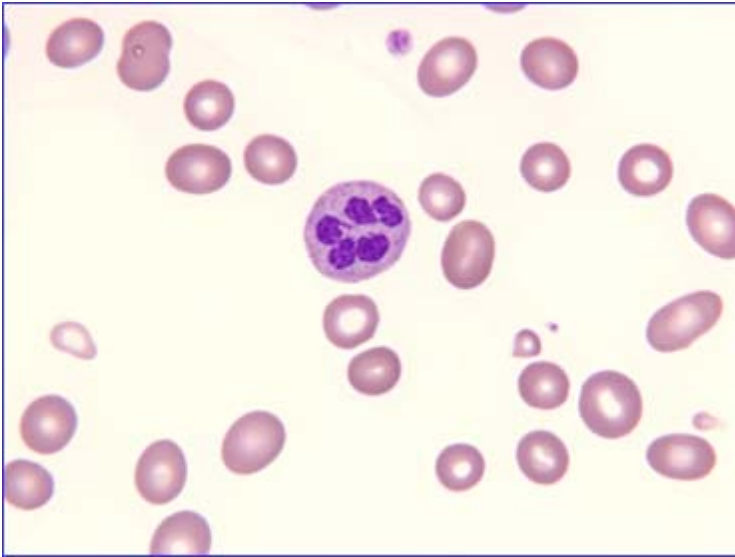
Huber A et al, Swiss medical forum, 2004

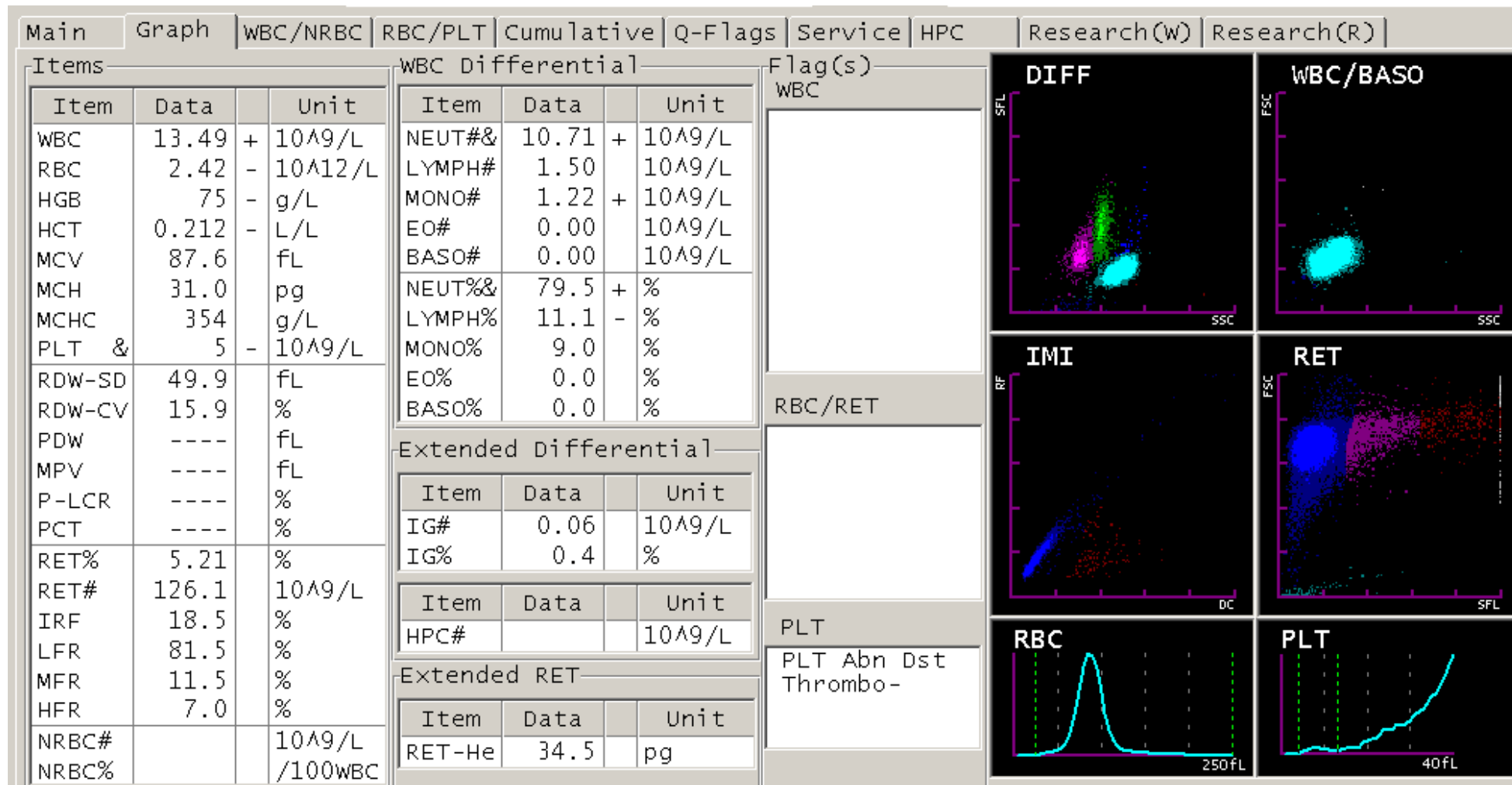
Quiz

Parameter	Normbereich	A	B	C
Hämoglobin	120 -155 g/l	118	98	91
Hämatokrit	0.36 - 0.45 l/l	0.393	0.317	0.295
Erythrozyten	3.9 - 5.6 T/l	5.47	4.14	4.14
MCV	80 - 98 fl	71.8	76.6	71.3
MCH	27 - 34 pg	21.6	23.7	22.0
MCHC	310 - 360 g/l	301	311	309
Ec-Anisocytose (RDW-CV)	< 15 %	15	19	17
Retikulozyten absolut	20 – 100 G/l	98	50	60
Diagnose				

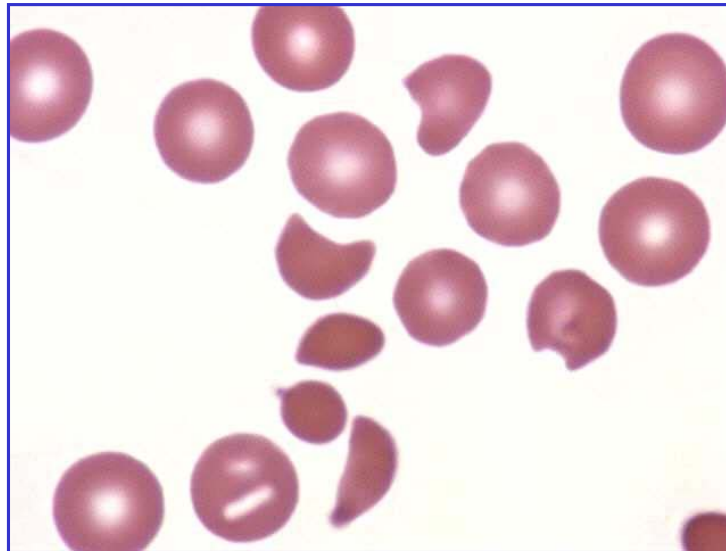
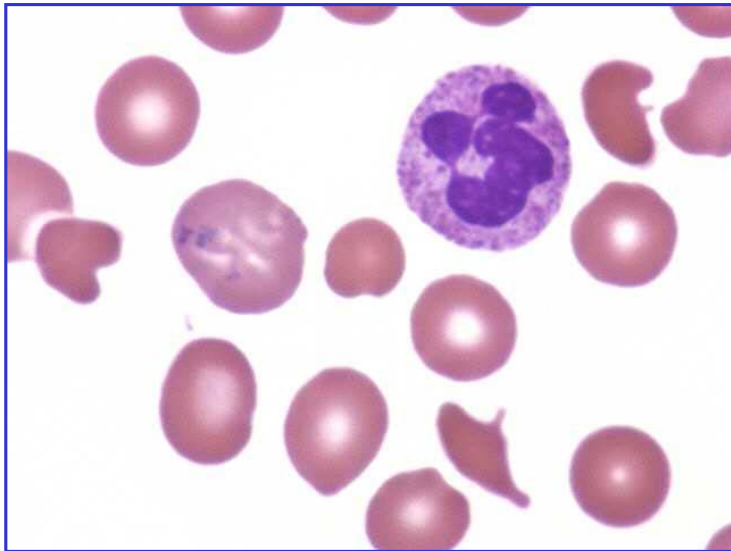
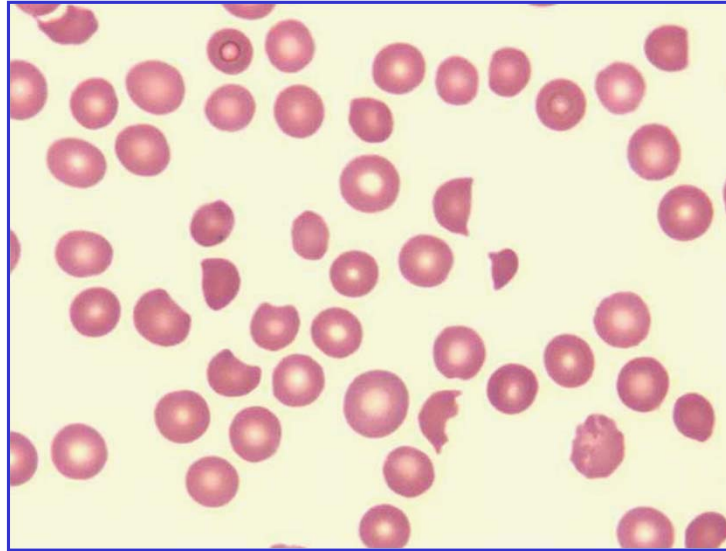
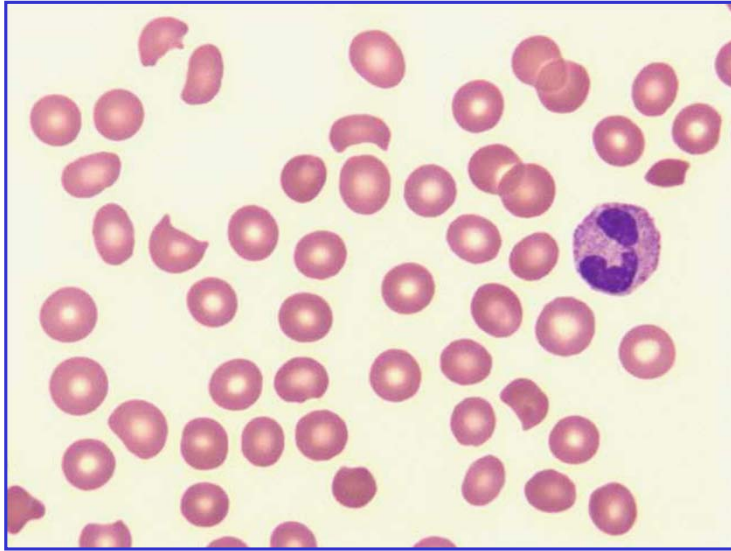
Ausgewählte klinische Fallbeispiele

1. Blutbild: megaloblastäre Anämie

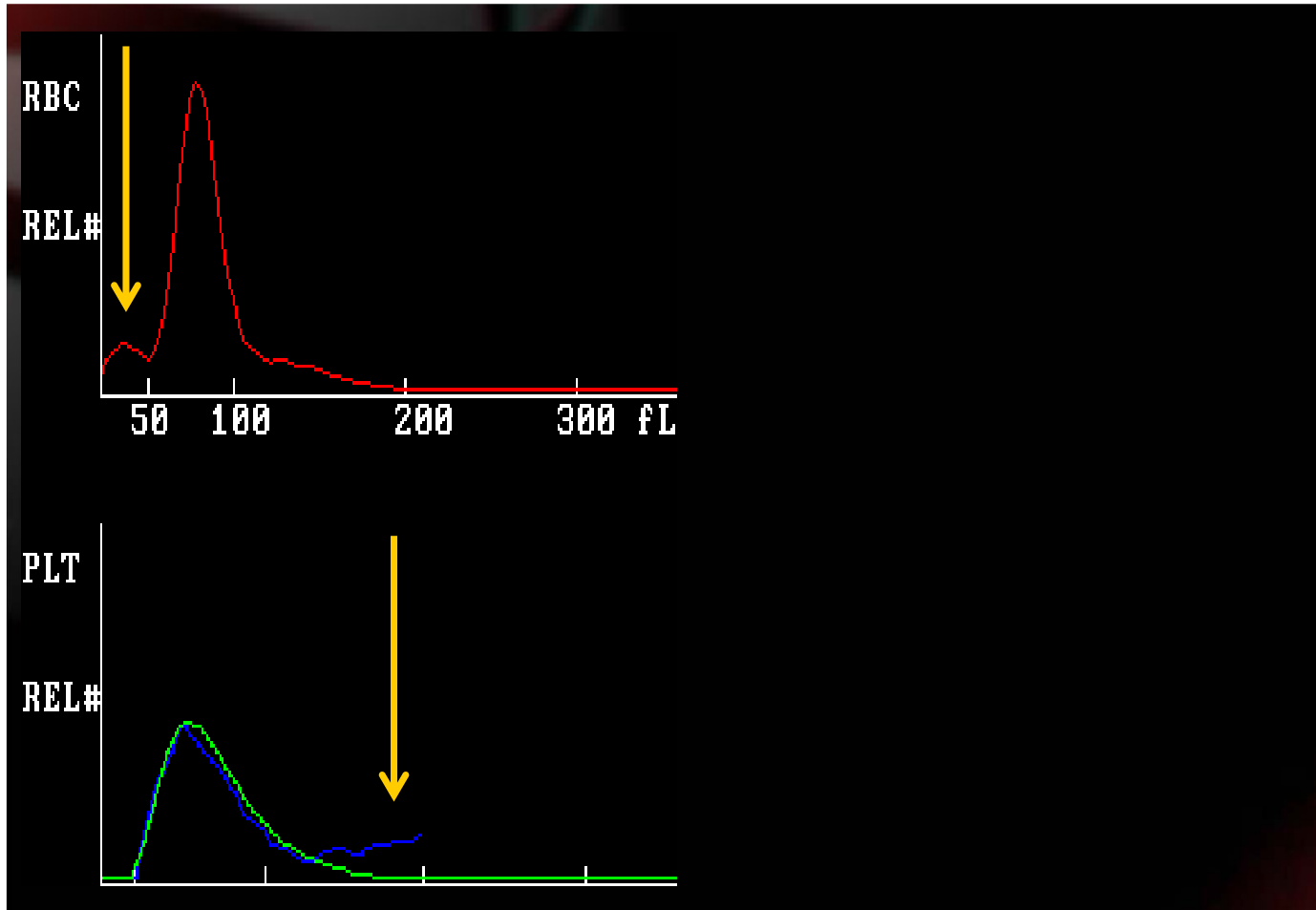




Klinik mit blutigem Durchfall, Bauchschmerzen, Erbrechen und Proteinurie



Erythrozytenfragmentations-Syndrom



Quiz II

Parameter	Normbereich	D	E	F
Hämoglobin	120 - 155 g/l	118	118	132
Hämatokrit	0.36 - 0.45 l/l	0.018	0.336	0.494
Erythrozyten	3.9 - 5.6 T/l	0.17	3.58	4.67
MCV	80 - 98 fl	106	93.5	105.8
MCH	27 - 34 pg	694.1	33.0	28.3
MCHC	310 - 360 g/l	6556	361	267
Ec-Anisocytose (RDW-CV)	< 15 %	15.2	14.2	
Retikulozyten absolut	20 – 100 G/l		80	
Thrombozyten	150 – 400 G/l			29
Diagnose				

Vielen Dank!