

Allgemeine und spezielle hämatologische Laboruntersuchungen

Dr. Monika Kleiber
Semmelweis-Universität Budapest
Institut für Labormedizin

Allgemeine Untersuchungen

Einzeluntersuchungen

A) Einfache quantitative Untersuchungen, auch ohne spezielle Laboreinrichtungen:

Blutsenkungsgeschwindigkeit

Hämoglobinbestimmung

B) Einfache qualitative Untersuchung:

Blutausstrich

Blutsenkungsgeschwindigkeit, BSG (A. Westergren 1921)

Suchtest mit guter Sensitivität und geringer Spezifität

Referenzbereiche:

Männer: <10mm/h

Frauen: <15mm/h (während Menstruation ,
Schwangerschaft bis zu 30mm/h normal)

Einige Ursachen für erhöhte BSG:

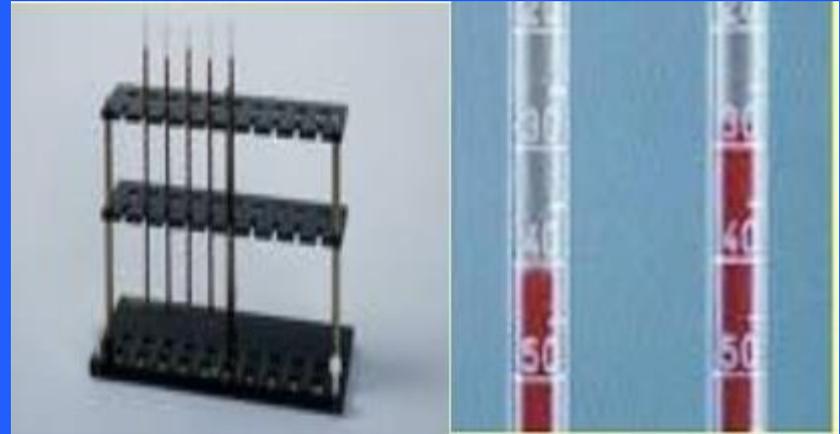
Bakterielle Infektionen (Akute-Phasen-Proteine)

Onkologische Erkrankungen (Dysproteinämien)

Onkohämatologische Erkrankungen (monoklonale
Gammopathien)

Ursache für erniedrigte BSG: Polygloblie

Geräte zur Bestimmung der BSG (modifizierte Methode nach Westergreen 1921)



Patientennahe Hämoglobinbestimmung

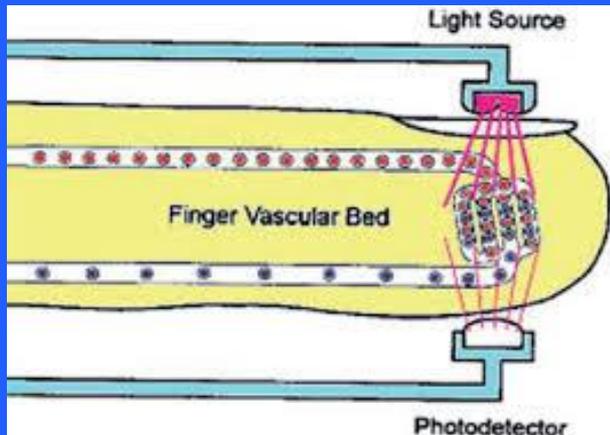
Blutspender
Notfälle
Kinderheilkunde

Schwangerschaftskontrolle
Onkologische Überwachung
Anämie-Erkennung



Non-invasive Hämoglobinbestimmung

Prinzip:



Praktische Anwendung:

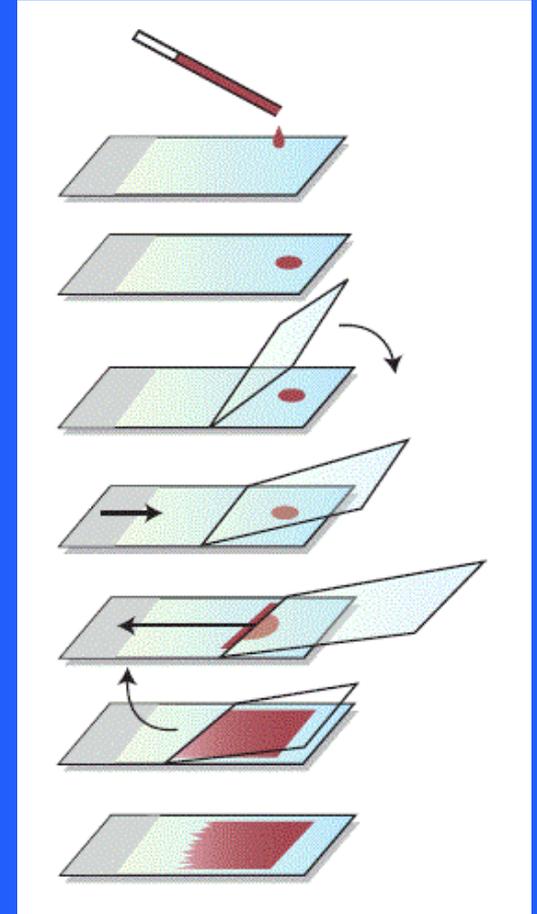


Blutausstrich I.

Proben : EDTA Röhrrchen oder Blut direkt aus der Fingerbeere

Indikation für einen Blutausstrich:

- der Automat zeigt eine pathologische **Verteilung**, die mit dem Klinikum nicht vereinbar ist
- um pathologische Formen der **Erythrozyten** zu diagnostizieren. (z.B. Fragmentozyten, Sichelzellen)
- um pathologische Formen der **Leukozyten** zu untersuchen (z.B. Leukämien)

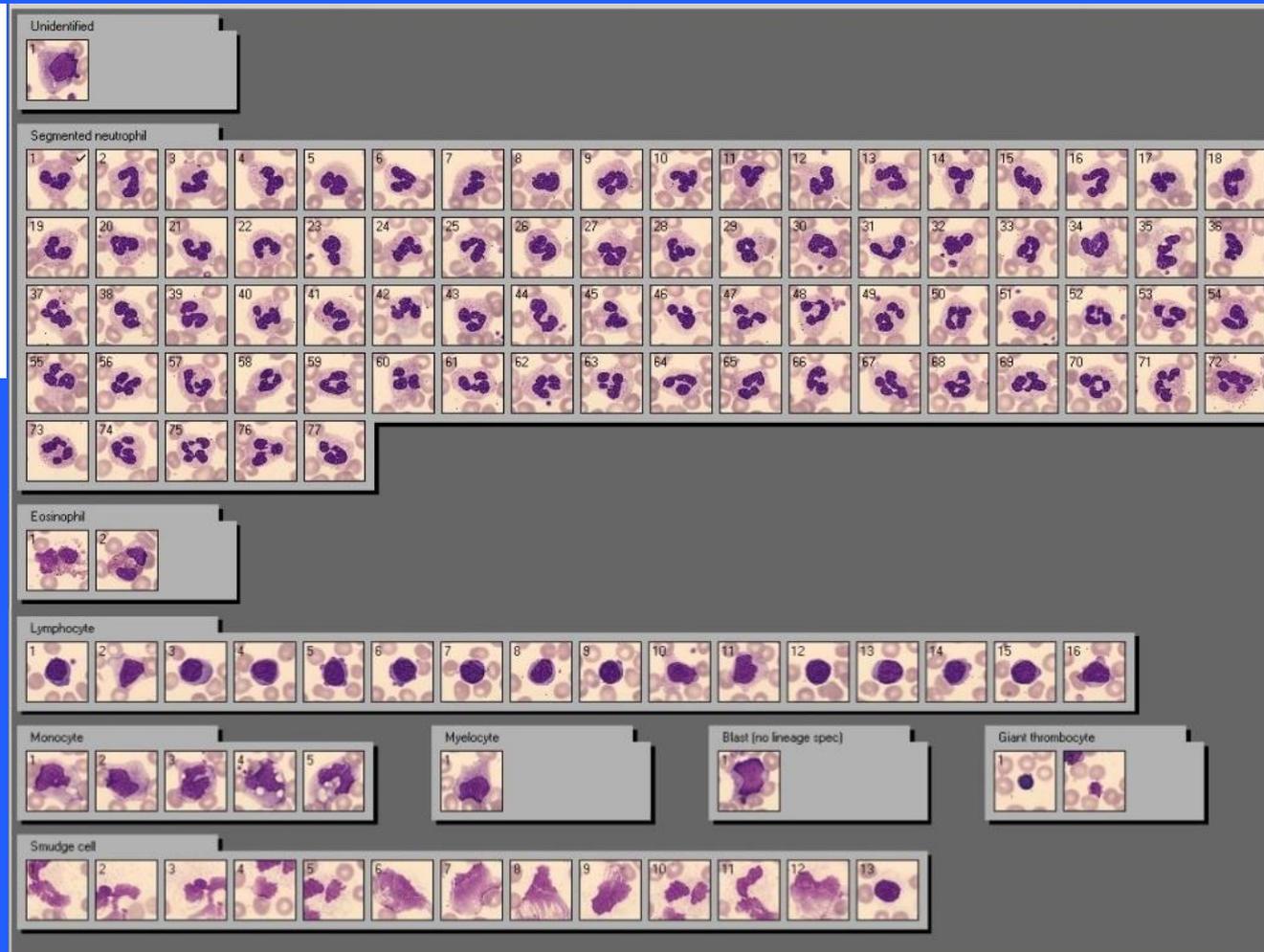


Blutausstrich II.

Färbung nach Pappenheim:
May-Grünwald -Giemsa



Automatische Auswertung



Ergebnis der Einordnung von 100 gezählten Zellen

Indikationen für das Gesamtblutbild

Messung mit Automaten

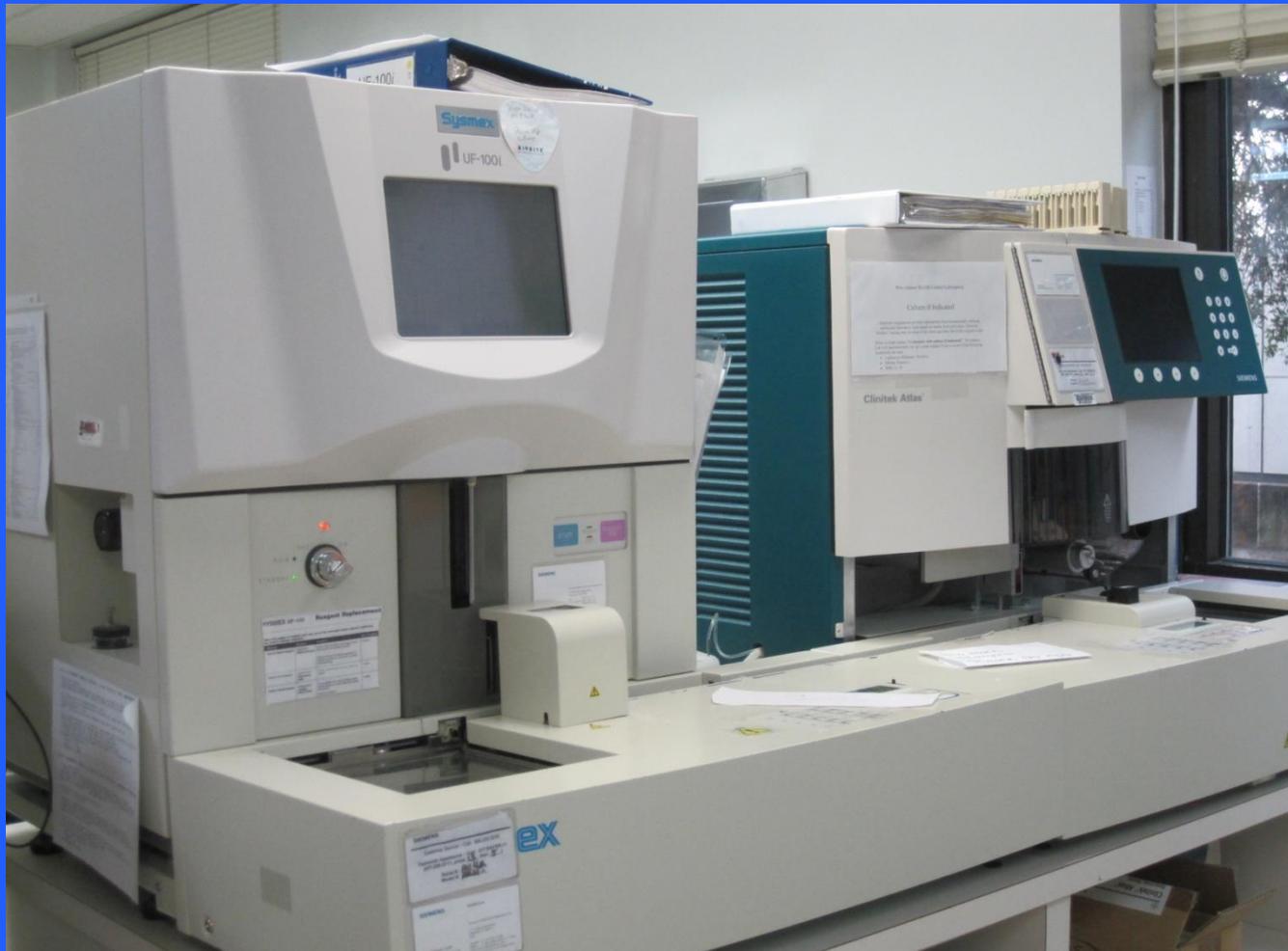
- A) Grunduntersuchung bei Gesunden
- B) Wichtiger Bestandteil diagnostischer Laboruntersuchungen
- C) Zur Monitorisierung der verschiedensten Krankheitsbilder

Probenentnahme für das Gesamtblutbild



- EDTA Blutentnahmeröhrchen
- Probenstabilität:
- bei Raumtemperatur innerhalb
- von 8 Stunden nach der Entnahme
- bei Aufbewahrung im Kühlschrank
- 24 Stunden
- Blutausstrich innerhalb von 3-4
- Stunden

Bestimmung des Blutbildes mit Hilfe hämatologischer Analyser

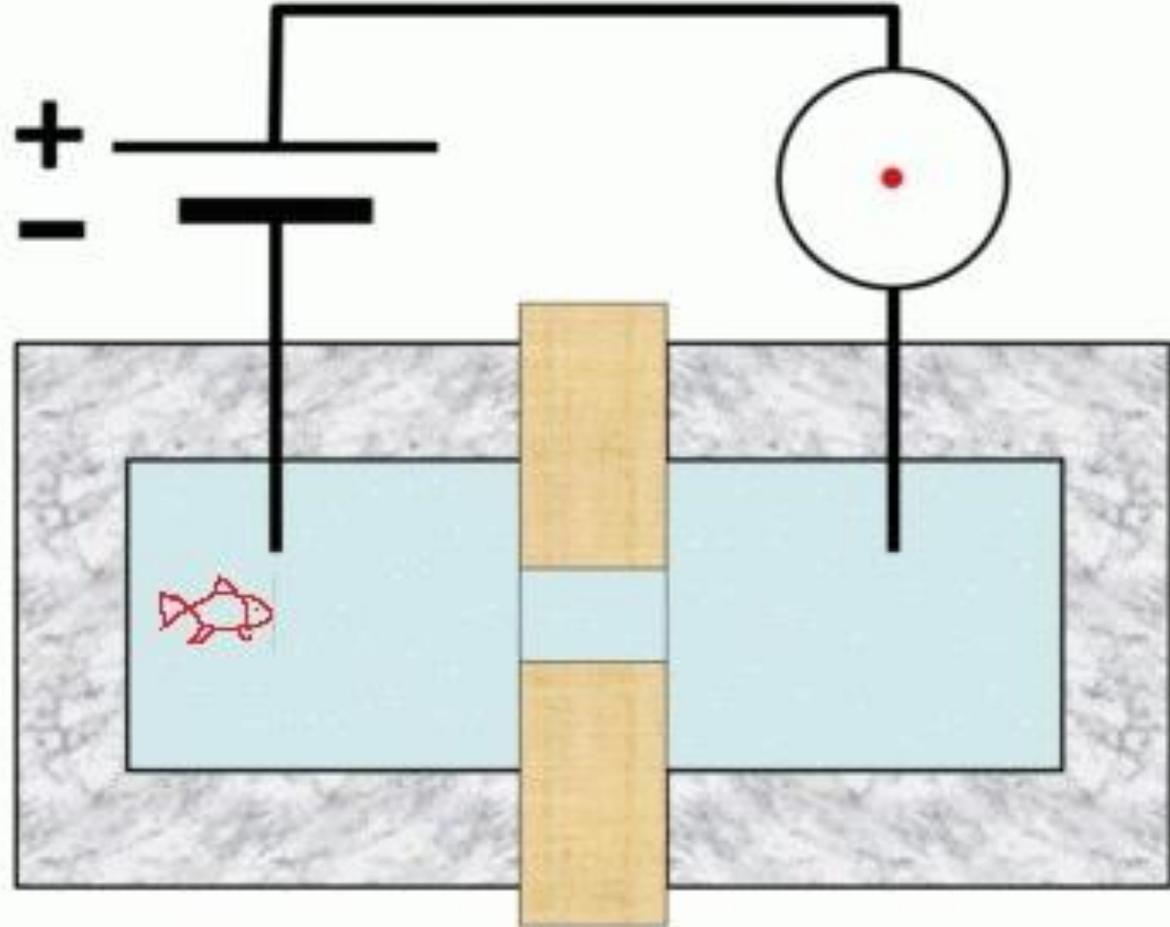


Bestimmung des roten Blutbildes

Woher kommen gute Ideen?

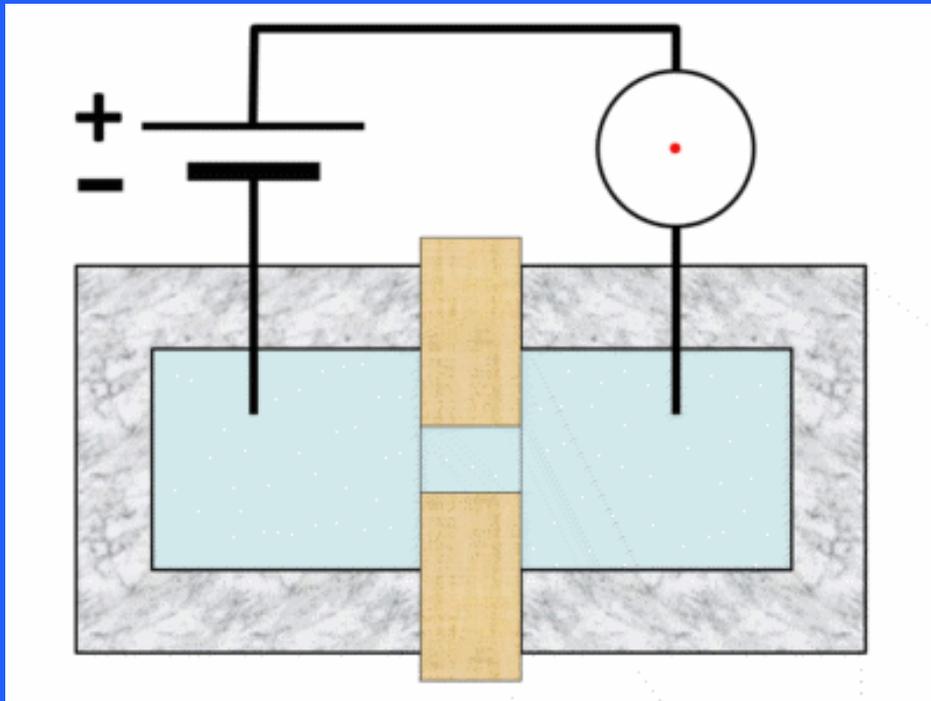


Wallace H. Coulter 1947



Messprinzipien hämatologischer Automaten I.

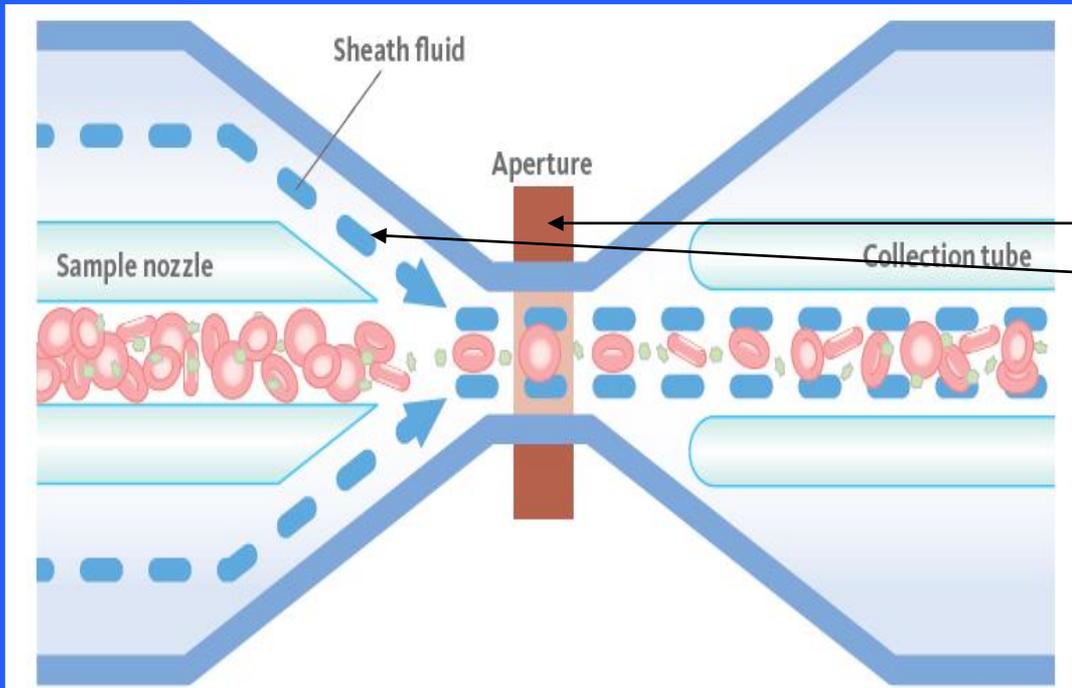
I. Impedanz (Widerstandszählung)



Prinzip des Coulter Zählers:
Die Änderung des elektrischen Stromes ist proportional dem Partikelvolumen bei Durchgang durch die Filteröffnung

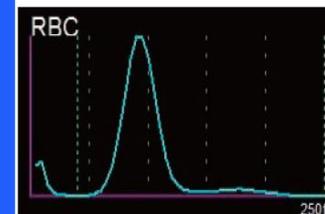
Mantelstrom (DC)-Detektion

zur Bestimmung von Erythrozyten und Thrombozyten

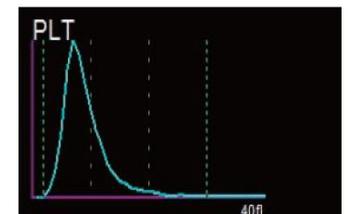


Gleichstromelektroden
Mantelstrom

RBC histogram



PLT histogram



Erythrozytenindex MCV

1.MCV =(Ht/ (Erythrozytenzahl x 1000)

Mittleres Erythrozytenvolumen (mean corpuscular volume)

Automaten messen MCV direkt

Referenzwert:84-98 fl

Aussage über makro-mikrozytäre Anämie

Erhöht: B12-Vitamin- Mangel, Folsäure-Mangel

Niedrig: Eisenmangel, Thalassämie,
Eisenverwertungsstörungen

Erythrozytenindex RDW

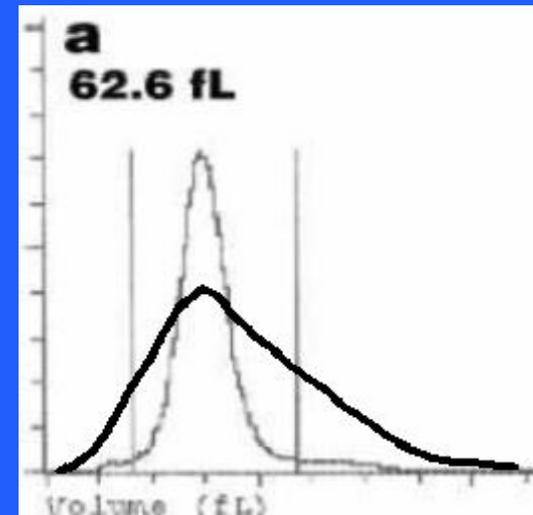
Erythrozytenverteilungsbreite
(red cell distribution width)

Maß für die Größenverteilung der Erythrozyten

Referenzwert: 11,5-14,5%

Bei Eisenmangel Anämie hat der hohe RDW mit
niedrigem MCV einen diagnostischen Wert

(PPV [positiver Vorhersagewert]: 97%)



Hämatokrit(HK)

Definition: Volumenanteil der zelluläre Bestandteile des Blutes

Bestimmung mit Hilfe von Automaten:

1. aus der Summe der einzelnen Impulshöhen
2. Berechnung aus $MCV \times \text{Erythrozytenzahl} / 10$

Referenzbereiche:

Männer : 0,40-0,50 L/L

Frauen: 0,35-0,45 L/L

Hämatokrit II.

Ursachen für *niedrige* Ht-Werte:Z.B

- Hyperhydration
- chronische Erkrankungen(Tumore,Entzündungen)
- Mangelerkrankungen (Eisen,Folsäure,Vitamin B)
- Akuter Blutverlust

Ursachen für *erhöhte* HT-Werte:Z.B.

- Erniedrigtes Plasmavolumen
- chronischer Sauerstoffmangel
- Polycythaemia vera

Hämoglobinkonzentration des Blutes (Hb)

Bestimmungsprinzip:

Erythrozyten werden lysiert → mit SLS (natrium-lauryl-sulphat) es entsteht ein stabiler Methämoglobin -SLS komplex

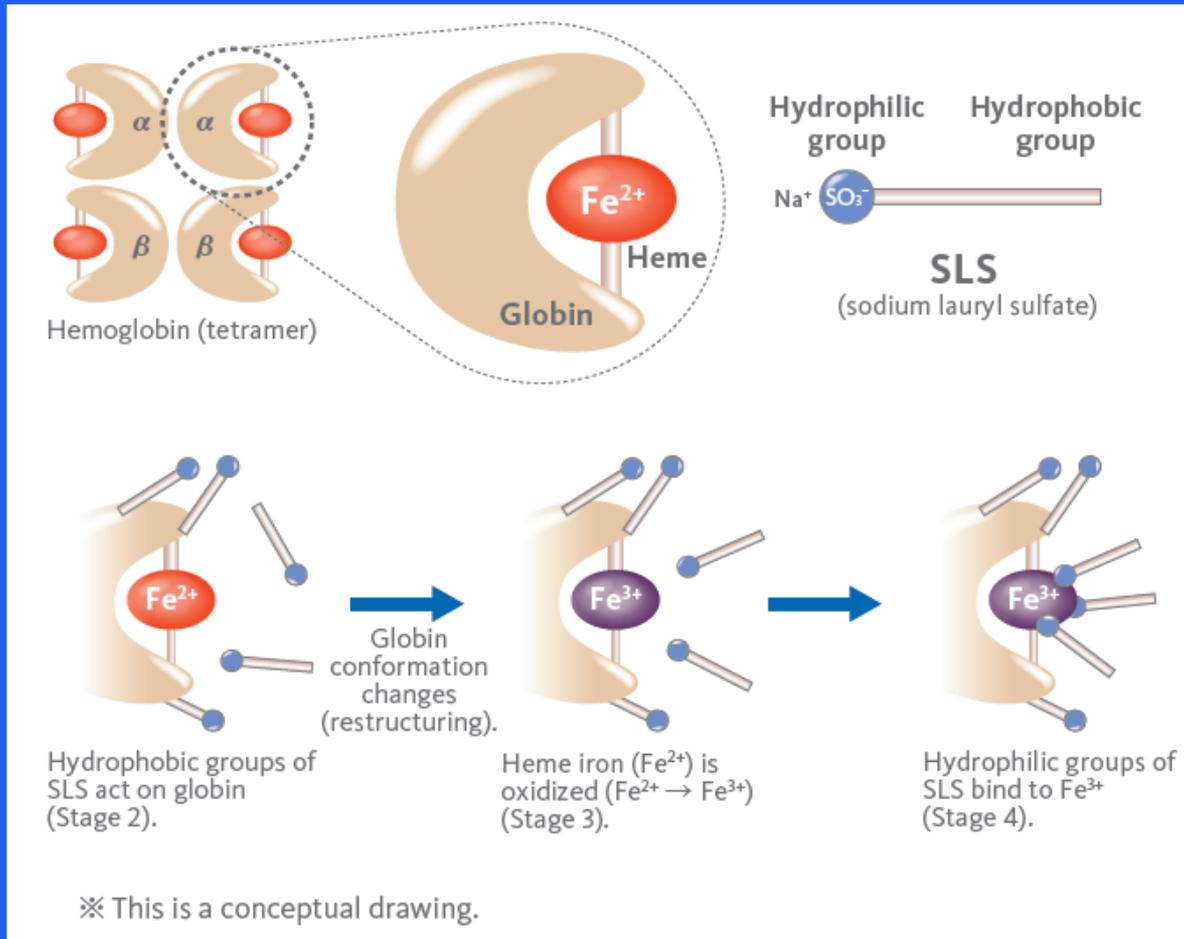
Messung: fotometrisch bei einer Wellenlänge von *555 nm*.

Referenzwerte:

Männer: 130–170 g/l (13-17 g/dl)

Frauen: 120–150 g/l (12–15 g/dl)

Hämoglobinbestimmung mit SLS



Veränderungen der Hb-Konzentration

Ursachen für niedrige Konzentrationen: Z.B.

- Eisenmangelanämie
- Chronische Erkrankungen (Tumore, Entzündungen)
- Folsäuremangel, Mangel an Vitamin 12
- Akute Blutung
- Hyperhydration

Ursachen für erhöhte Konzentrationen: Z.B.

- Chronischer Sauerstoffmangel (Herz- und Lungenerkrankungen, geographische Höhe)
- Polycythaemia rubra vera
- Erniedrigtes Plasmavolumen

Erythrozytenindex MCH (HBE)

MCH = (Hb/Erythrozytenzahl) x10

Durchschnittlicher Hämoglobingehalt eines
Einzelnen Erythrozyten
(mean corpuscular hemoglobin)

Referenzwert: 27-31 pg/Zelle

Aussage über hyper-hypochrome Anämie

Erhöht: B12-Vitaminmangel, Folsäuremangel

Niedrig: Eisenmangel, Thalassämie,
Eisenverwertungsstörungen

Erythrozytenindex MCHC

MCHC = Hb /Hämatokrit

Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (mean corpuscular hem.conc.)

Referenzwert: 32-36g/dl

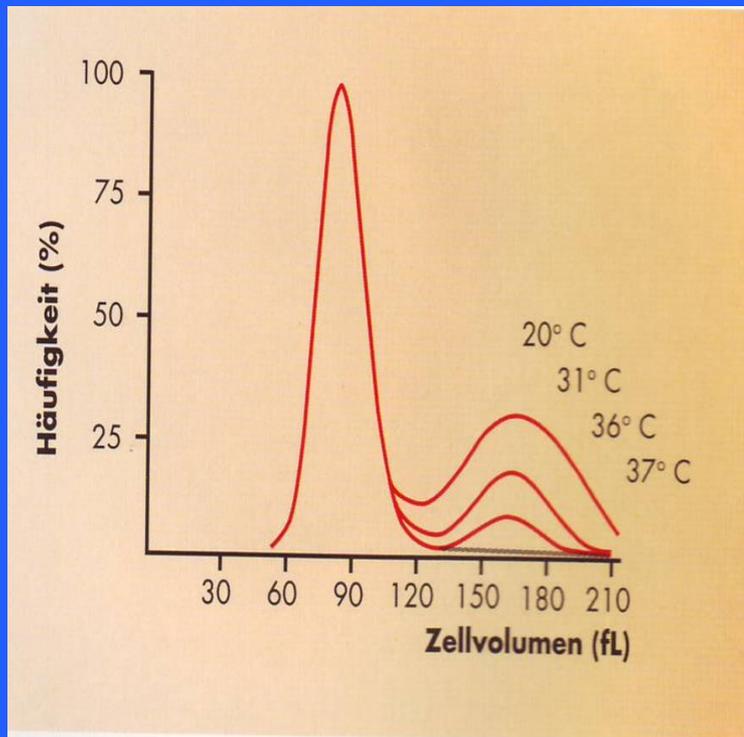
Erhöht: Hinweis auf mangelnde analytische Präzision!

Kugelzellenanämie, Kälteagglutinine, Thalassämie

Niedrig: Fortgeschrittene hypochrome, mikrozytäre Anämie.

Kälteagglutinine

Temperatureinfluss auf MCV-Messergebnissen
bei Vorliegen von Kälteagglutininen



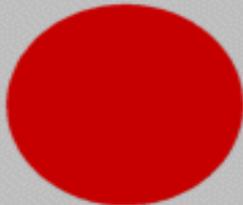
Kälteagglutinine verursachen:

- Erythrozytenagglutination
- Niedrige Erythrozytenzahl
- Normal Hbg
- Stark erhöhte MCV Werte
- Stark erhöhte MCHC Werte!
- Stark erhöhte MCH Werte

Zusammenfassung MCV, MCH, MCHC



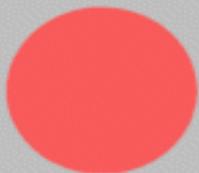
Das obere rote Blutkörperchen (Ery) ist kleiner als das untere. Sein MCV ist also niedriger. In einem kleineren Ery ist auch weniger Hb.



Das MCH ist also auch kleiner. Die Konzentration des Hb ist aber gleich (sie sind gleich stark rot), das MCHC ist also gleich.



Diese beiden Erys sind gleich groß. Das MCV ist also gleich. Im unteren ist die Hb-Konzentration aber geringer (es ist weniger rot). Sein MCH wird



daher kleiner sein, ebenso sein MCHC, denn das ist ja das Maß für die Hb-Konzentration.

Retikulozyten

Retikulozyten sind junge Erythrozyten, die noch Zellorganellen und Reste von RNS enthalten, der sogenannten Substantia reticulogranulofilamentosa

Referenzwert: 5-10 % der Erythrozyten

(Erythrozytenkonzentration: $0,025-0,102 \times 10^6$ u/L)

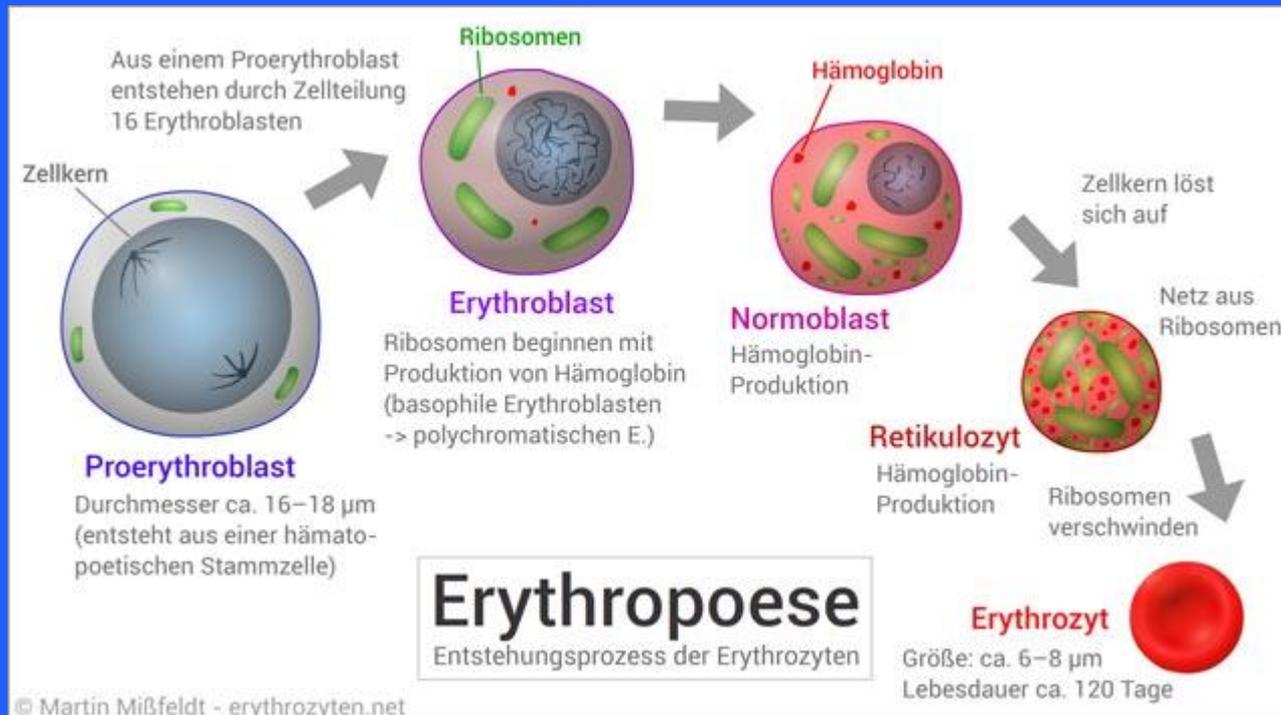
Niedrige Werte:

bei herabgesetzter
Erythropoese (B12 Mangel)
bei chronischer Anämie

Erhöhte Werte:

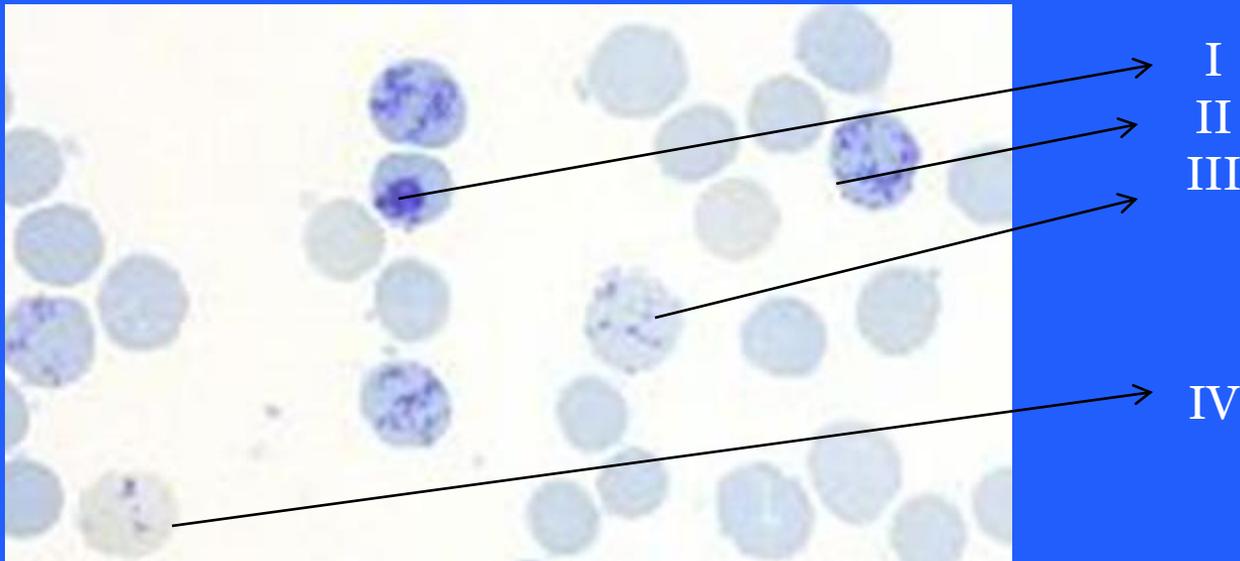
Blutverlust,
hämolytische Anämie,
Stammzellentransplantation
Blutdopping

Erythropoese

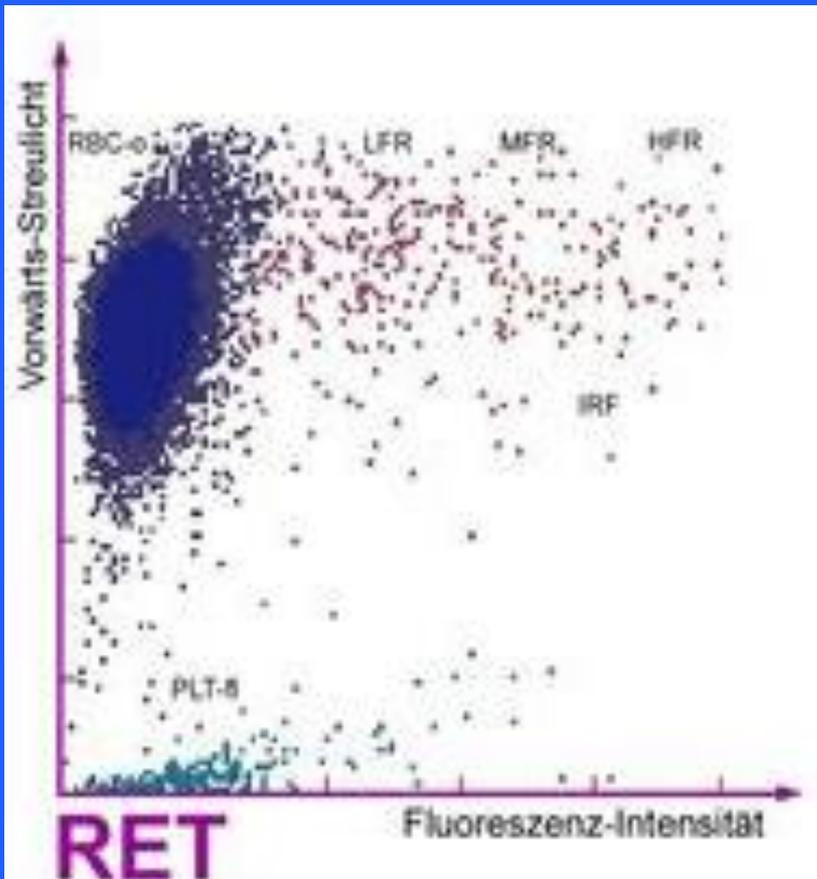


Retikulozytenbestimmung im Blutausstrich

Einteilung der Retikulozyten in einem peripheren Blutausstrich, mit Hilfe einer Supravitalfärbung, nach der Auszählmethode von Heilmayer 1932 (O-IV)



Retikulozytenbestimmung mit Automaten



Im Retikulozytenkanal werden die Zellen mit RNS-spezifischem Fluoreszenzfarbstoff angefärbt und entsprechend Streulicht + Fluoreszenzintensität qualifiziert.

RBC reife Erythrozyten=dunkelblau
LFR reife Retikulozyten=violett
MRF +HRF unreife Retikulozyten=rot

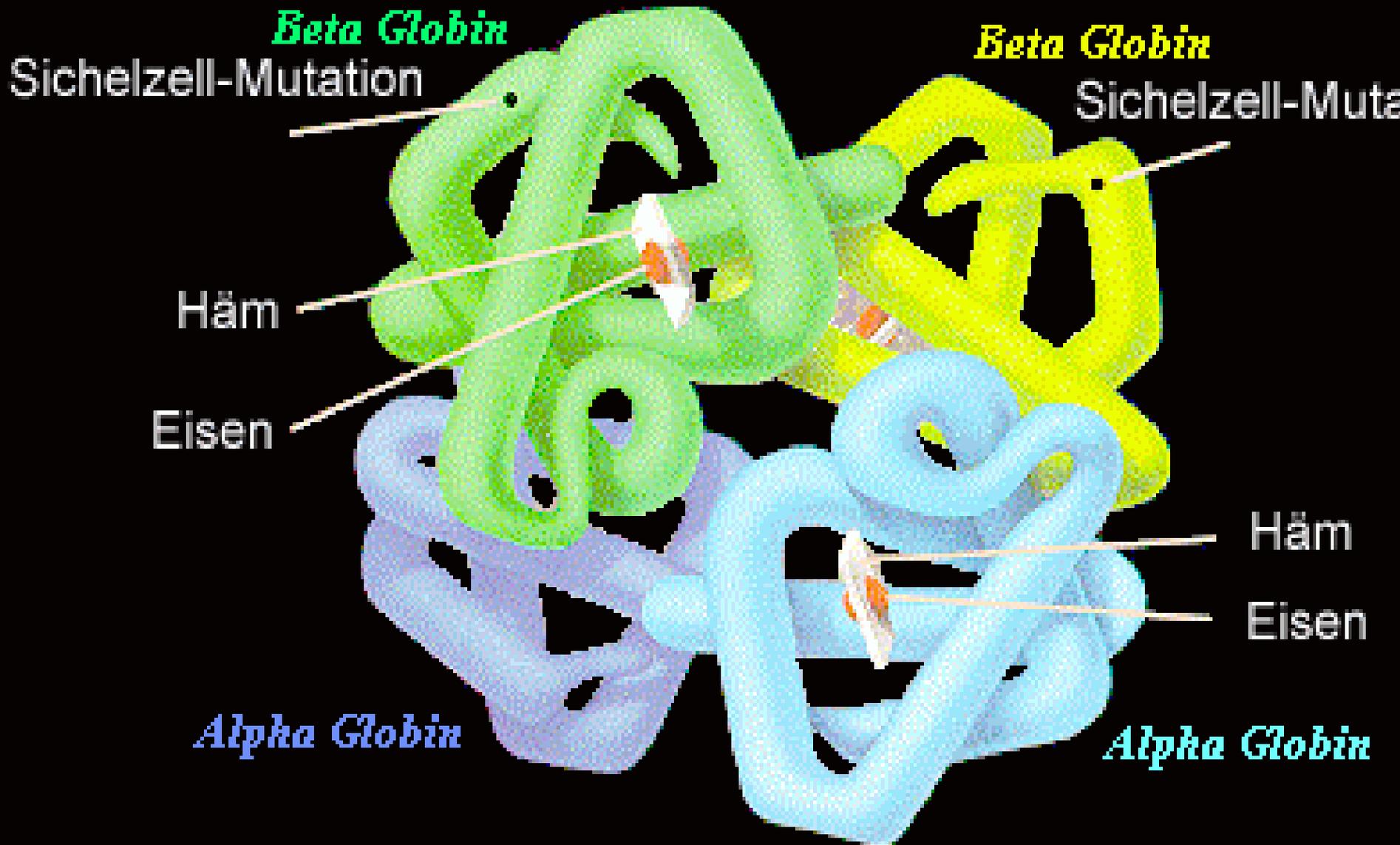
Sichelzellanämie (Drepanocytose)

Fallbeispiel 1

Fachliche Kurzfassung:

- Anämie auf Grundlage einer Hämoglobinopathie.
- Ursache ist eine Punktmutation an der β -Kette des Hämoglobins.
- Unter Sauerstoffmangel nimmt der Erythrozyt Sichelform an.
- Klinische Symptome resultieren aus einer chronisch hämolytischen Anämie und rezidivierenden Vasookklusionen.

Hämoglobin



Anamnese: 16-jährige Patientin aus der Demokratischen Republik Kongo (z.Z Migrantenauffangslager in Bicske.) In erster Linie klagt die Patientin über Kniebeschwerden nach einer längeren, beschwerlichen Fusswanderung.

Status: Hautfarbe: Ihrer Herkunft entsprechend, blasse Schleimhäute .

Leber: zwei Querfinger vergrössert.

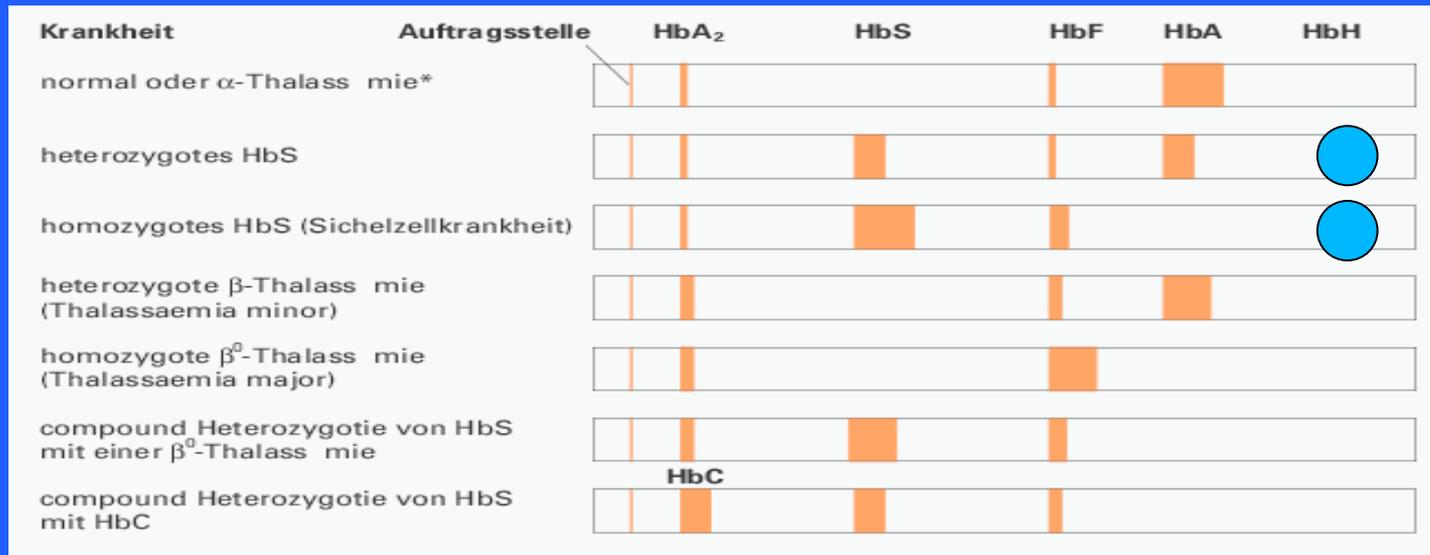
Milz: Drei Querfinger unter dem Rippenbogen.

Charakteristische Laborwerte

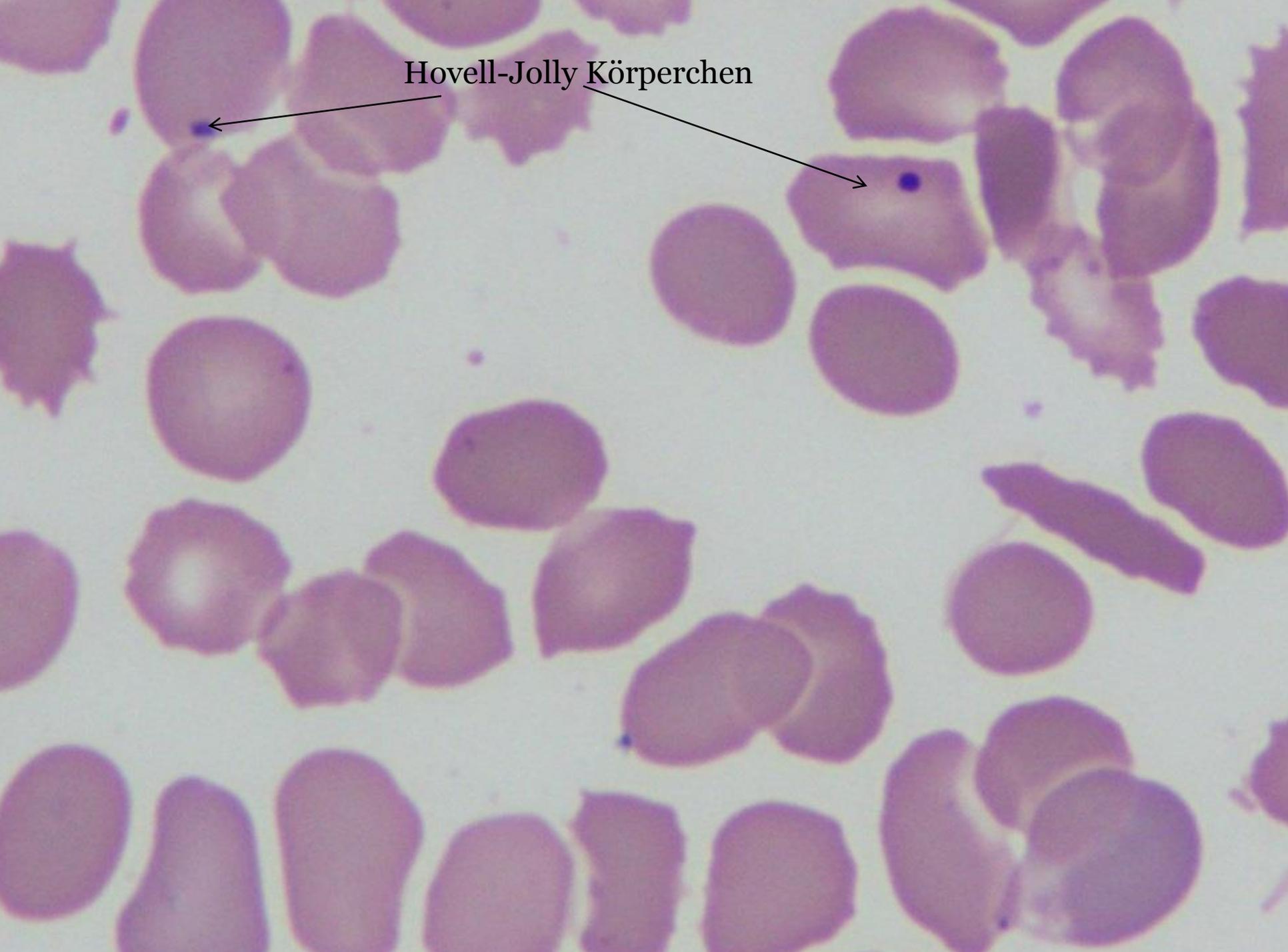
Ádatelem	Érték	Hib	St	U	Norm.ért.	
Fehérvérsejt	15,63 Giga/L	1	Val		4,00-10,00	
Neutrophyl %	46,0 %	1	Val		53,0-75,0	
Eosinophyl %	8,6 %	1	Val		0,0-5,0	
Basophyl %	0,4 %	0	Val		0,0-1,0	
Monocyta %	8,5 %	0	Val		2,0-10,0	
Lymphocyta %	36,5 %	0	Val		25,0-40,0	
NEUABS	7,19 Giga/L	1	Val		2,00-6,90	
Vörösvértest	*2,30 Tera/L	1	Val		4,10-5,10	●
HGB	72 g/L	1	Val		123-153	
HCT	0,21 L/L	1	Val		0,35-0,45	
MCV	90,9 fL	0	Val		80,0-96,0	
MCH	31,2 pg	0	Val		28,0-33,0	
MCHC	344 g/L	0	Val		320-360	
RDW	23,5 %	1	Val		11,6-14,8	●
Thrombocyta	443 Giga/L	1	Val		150-400	
MPV	7,9 fL	0	Val		6,5-12,0	
Reti abs szám	421,5 Giga/L	0	Val			
Reticulocyta %	183 %o	1	Val		5-20	●
Bilirubin, össz	33,0 umol/L	1	Val		5,0-21,0	
Bilirubin, direkt	5,8 umol/L	1	Val		0,0-3,4	
LDH	540 U/L	1	Val		135-214	●
Haptoglobin	*méréshatár alatt	0	Val		0,30-2,00	

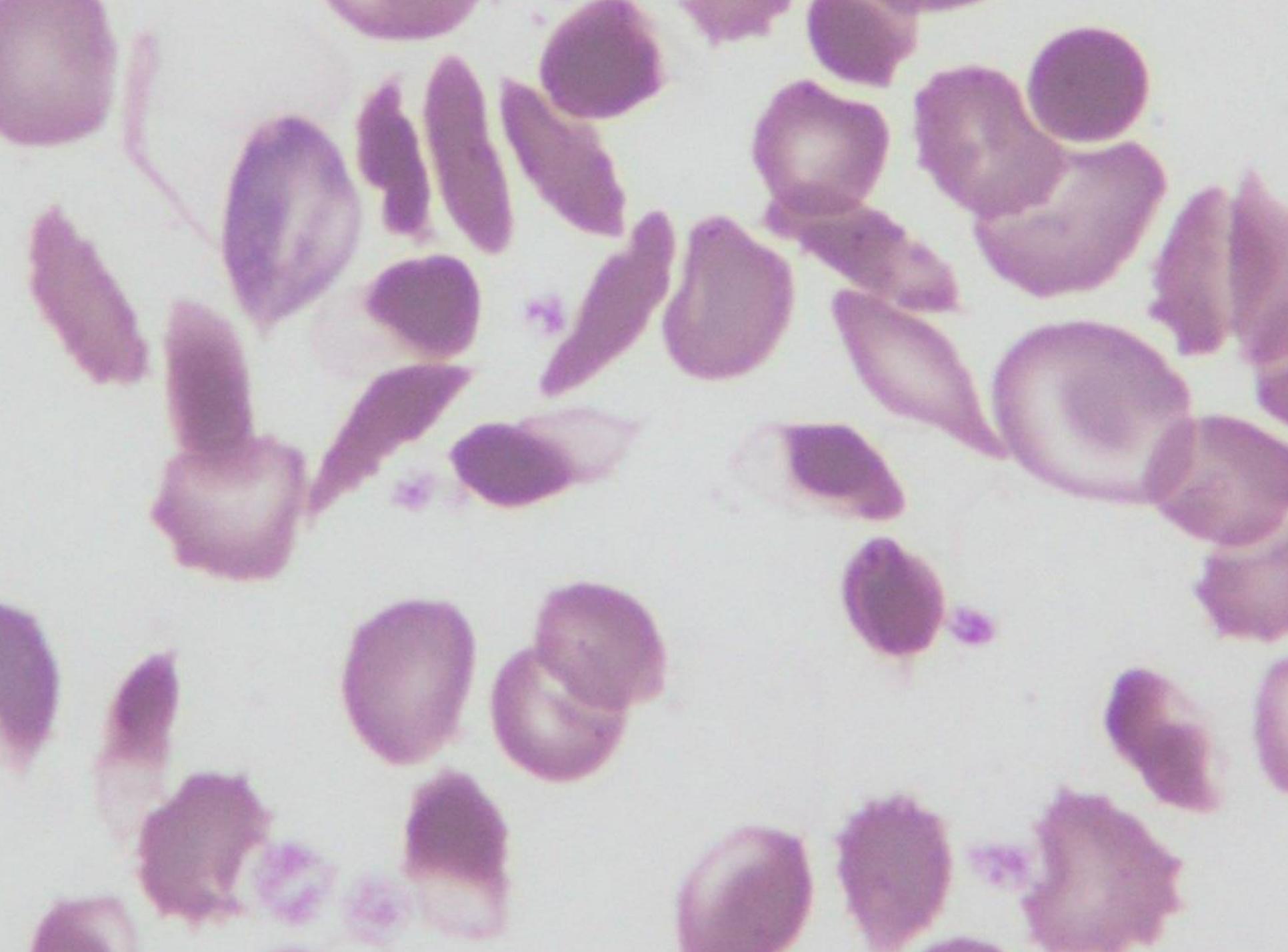
Spezielle Laboruntersuchungen

- Nachweis von Sichelzellen im gefärbten Ausstrich
- Provokation der Sichelzellenbildung im nativen Präparat durch Sauerstoffentzug : 1.Chemisch :Natriumdisulfit
2.Physikalisch :Luftabschluss
- Nachweis von HbS mit Hilfe der Elektrophorese :



Hovell-Jolly Körperchen





Kugelzellenanämie (Sphärozytose)

Fallbeispiel 2

Fachliche Kurzfassung:

- Häufigste, genetisch bedingte hämolytische Anämie
- Ursache ist ein Strukturdefekt der Membranproteine (Ankyrin und Spektrin).
- Dadurch kommt es zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Zellmembranen.
- Anstelle der bikonkaven Formen entstehen Kugelzellen, die in der Milz vermehrt abgebaut werden.

Anamnese : 20-jähriger Patient wird wegen zunehmender Gelbsucht stationär aufgenommen. Wegen leichter Gelbsucht, Leber- und Milzvergrößerung, nebst Anämie wurde der Patient bereits mehrmals untersucht, man diagnostizierte eine Gilbertkrankheit.

Beschwerden: Diffuse Schmerzen im Oberbauchbereich, Völlegefühl.

Status : Milzvergrößerung, Gelbverfärbung von Haut und Skleren.

Ultraschallbefund: Geringe Splenomegalie, dünnwandige Gallenblase gefüllt mit Steinen (5-10 mm) und Gallensedimenten ohne Erweiterung der Gallenwege.

Charakteristische Laborbefunde

<i>Fehérvérsejt</i>	6,24 Giga/L	4,00-10,00
<i>Vörösvértest</i>	4,44 Tera/L	4,50-5,90
<i>HGB</i>	128 g/L	135-170
<i>HCT</i>	0,35 L/L	0,39-0,52
<i>MCV</i>	79 fL	80,0-99,0
<i>MCH</i>	29 pg	27,0-34,0
<i>MCHC</i>	364 g/L!	315-360
<i>RDW</i>	21,00%	11,5-15,0
<i>Reticulocytá</i>	122‰	5-10 ‰
<i>Thrombocytá</i>	298 Giga/L	150-400
<i>LDH</i>	320 U/L	<248
<i>Bilirubin (total)</i>	153,2 umol/L	5-21,0
<i>Bilirubin (direkt)</i>	25 umol/L	<3,4
<i>Haptoglobín</i>	<0,1 g/L	0,3-2
<i>EPO</i>	75-100 U/L	6-25

Spezielle Nachweismethoden

- *a) Fragilitätsbestimmungen*
osmotische Resistenz
saurer Glycerol Lysis Test
- *b) Durchflusszytometrie*
verminderte Bindung an eosin-maleimid
- *c) Membranproteinanalyse*
mittels Gel-Elektrophorese
- *d) Molekulargenetische Analysen*

Bestimmung der osmotischen Resistenz

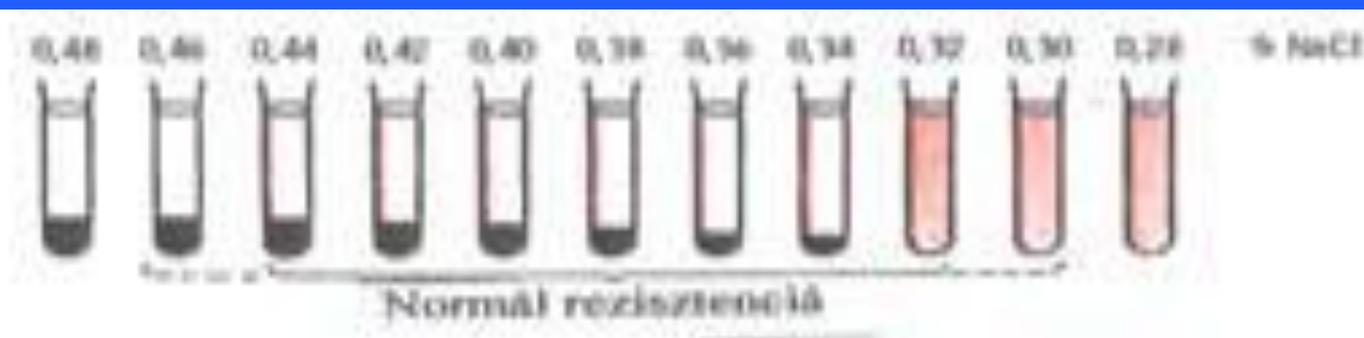
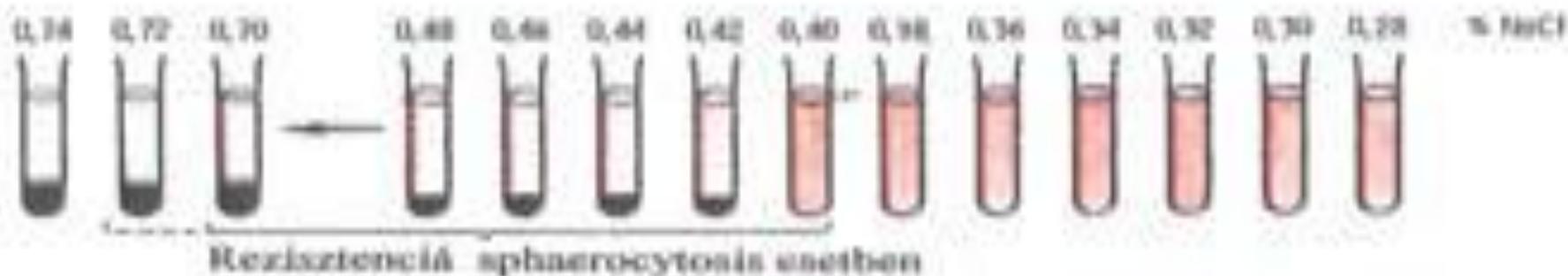
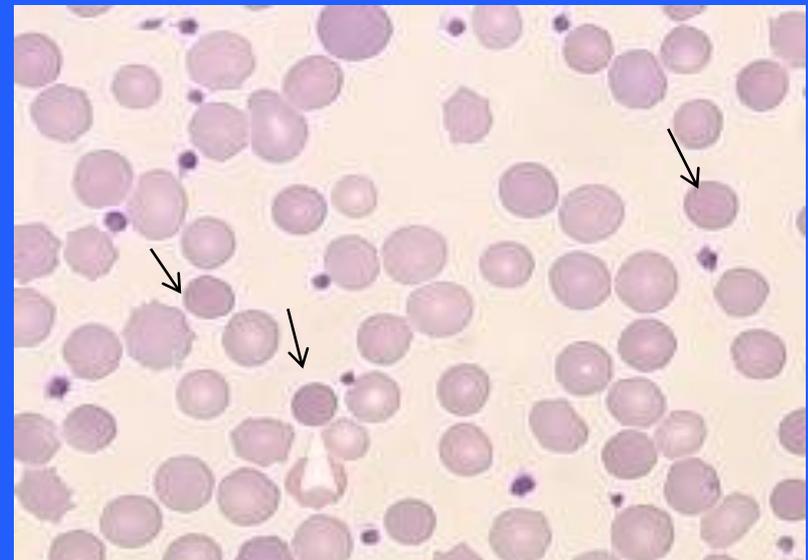
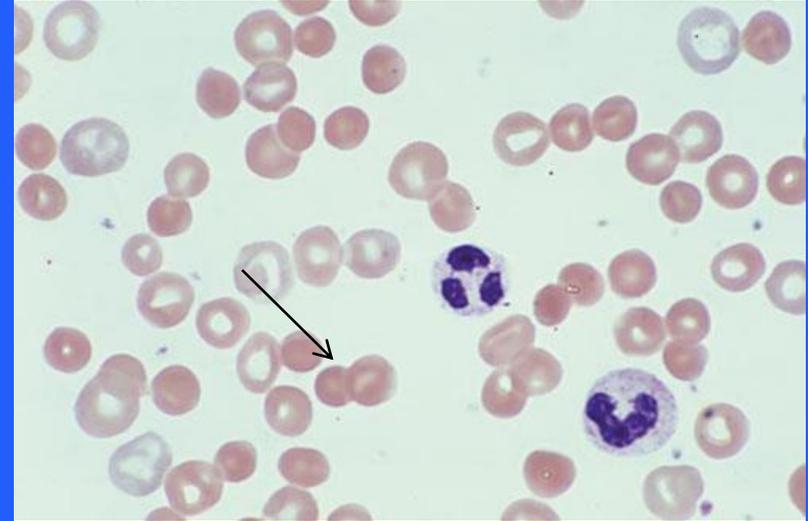
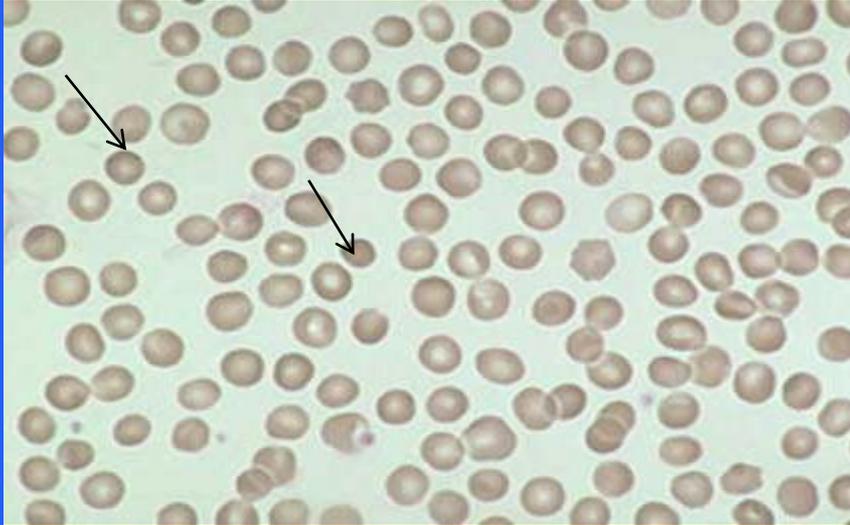


Abb. 0.111.



Sphärozytosen in Bildern



Claudia Pechstein



Thrombozyten I

Referenzwerte: 150-400 G/L

Niedrige Werte:

- Ungenügende Produktion :Aplastische Anämie, megablastische Anämie, Leukämie, Toxine, Medikamente :Penicillin, Heparin,, Chinidin Infektionen.
- Erhöhter Abbau: Immunthrombozytopenische Purpura, Hypersplenie (erhöhte Ablagerung in derMilz).
- durch EDTA indizierte Pseudothrombozytopenie.

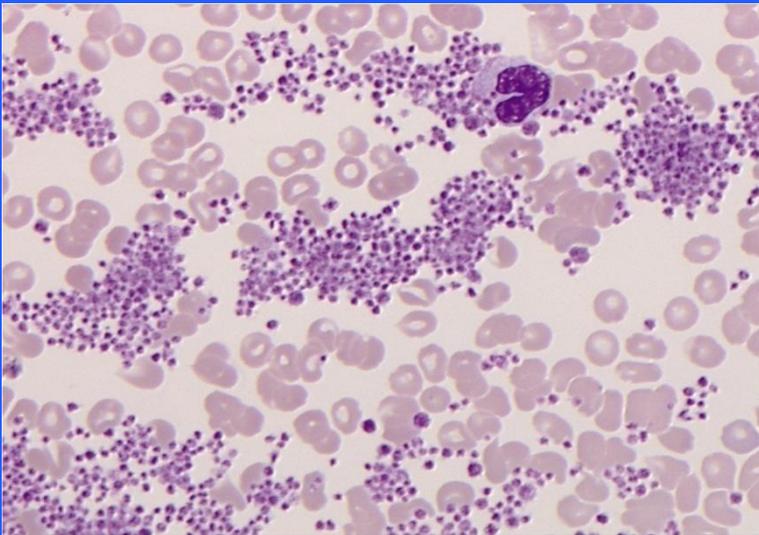
Trombozyten II.

Erhöhte Werte:

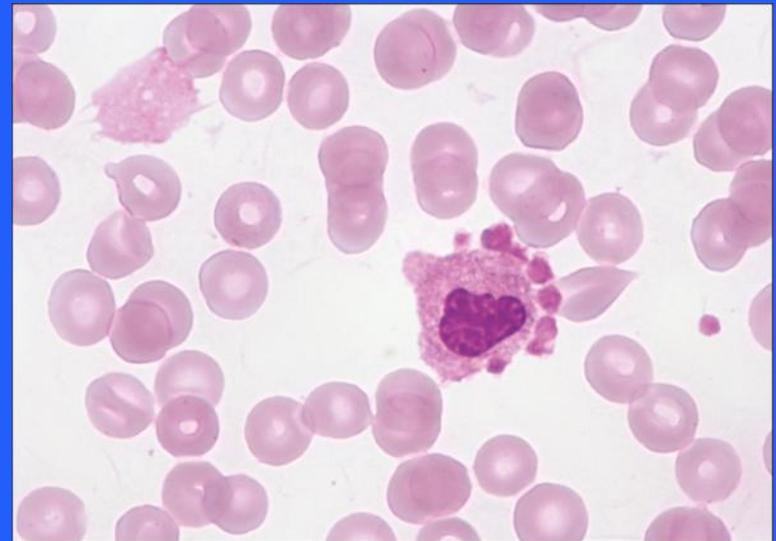
- chronische myeloproliferative Krankheiten
- Milzveränderungen
- Blutverlust
- Tumorerkrankungen
- chronische Entzündungen

EDTA-abhängige Antikörper

Ursache sind Kälteagglutinine, die in Gegenwart von EDTA wirksam sind und durch Agglutination *Pseudothrombopenie* verursachen



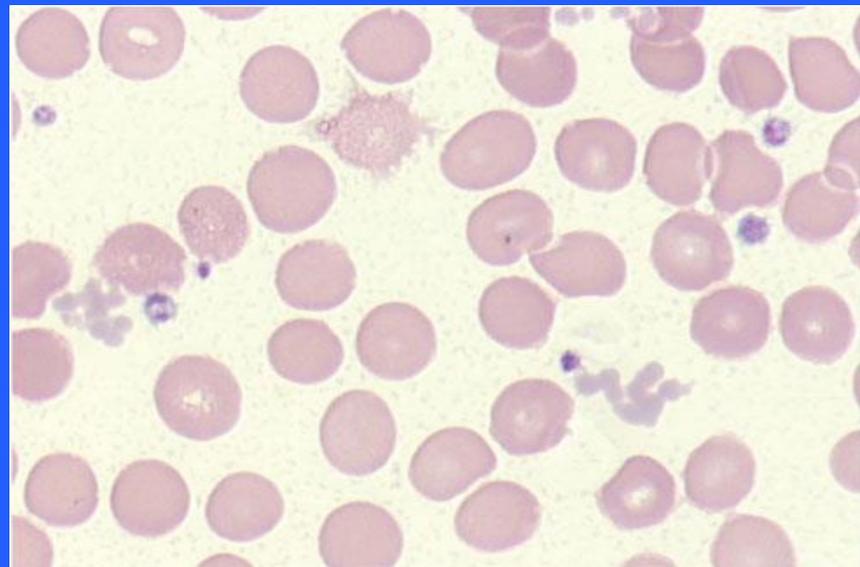
Agglutination



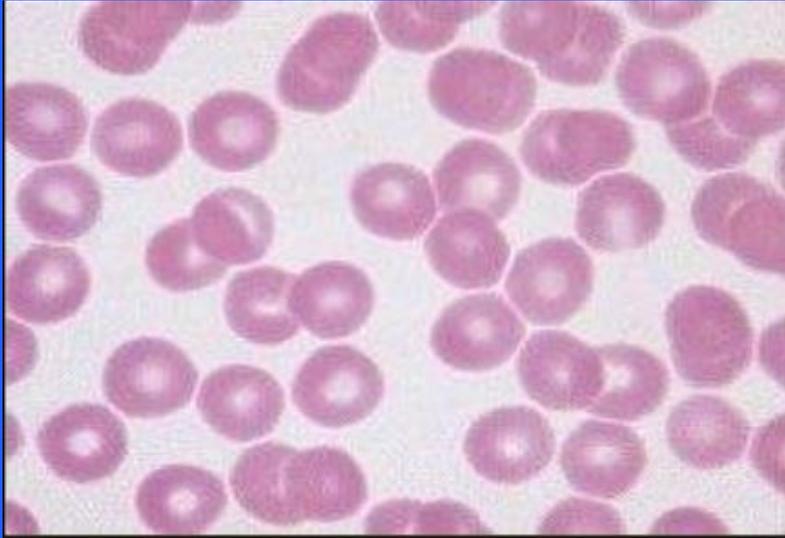
Satellitenphänomen

Kryoglobuline

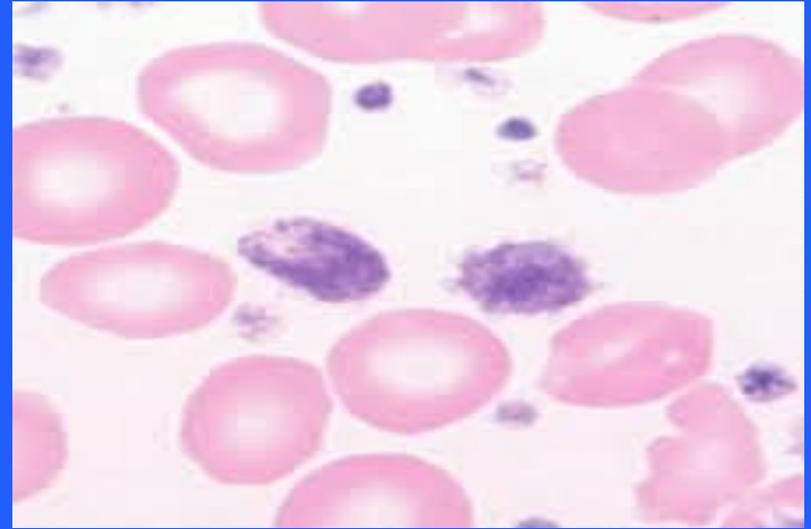
Immunglobuline oder Komplexe von Immunglobulinen, die bei einer Abkühlung des Plasmas /Serums unter 37°C unlöslich werden und dabei Aggregate oder gelartige Strukturen bilden. Bei Erwärmung über 37°C gehen sie wieder in Lösung.



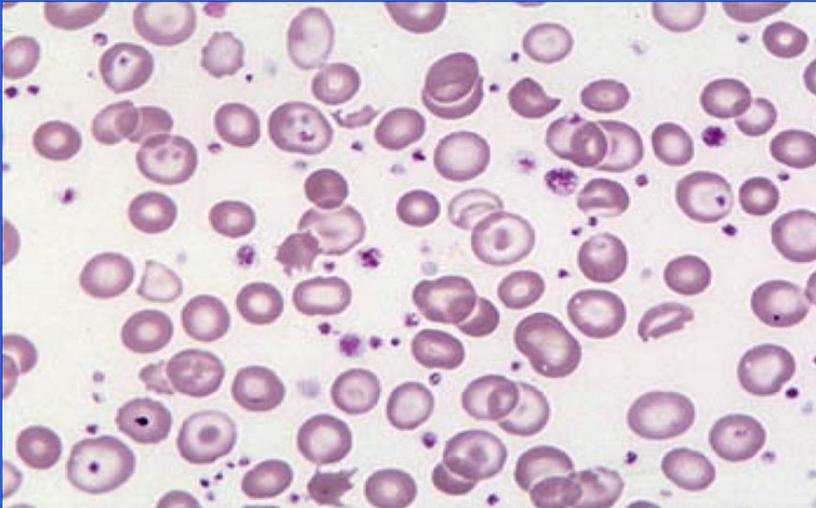
Fallbeispiele für Trombozytenveränderungen



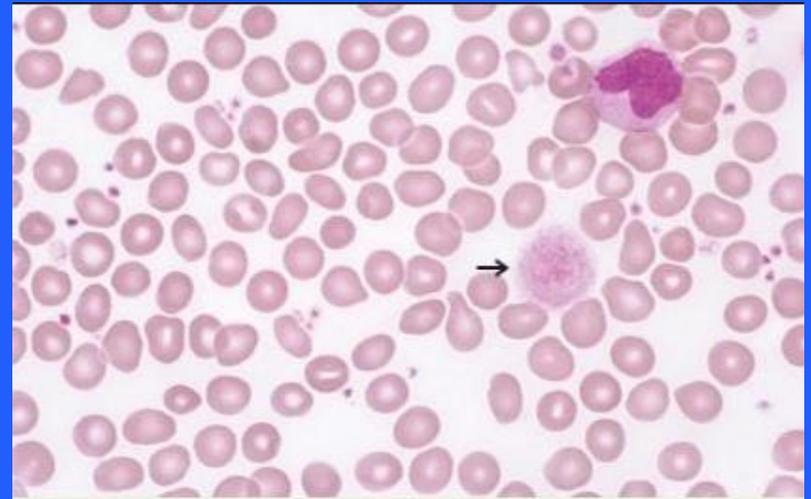
Immunthrombocytopenie (ITP)



Unreife Thrombozyten



Essentielle Trombocytämie



Riesenthrombozyten, retikulierte
Thrombozyten

Bestimmung von Leukozyten

Durchflusszytometrie

- Methode
- Anwendung

Fluoreszenz-Durchflusszytometrie

- Anwendung

Durchflusszytometriemethode mit Halbleiterlaser

Die Zellen werden durch Bestrahlung mit einem 633 Laserstrahl und der Analyse des Vorwärts-Streulichts(FCS), Seitwärts-Streulichts(SSC)und des Seitwärts-Fluoreszenz-Streulichtes gezählt und klassifiziert:

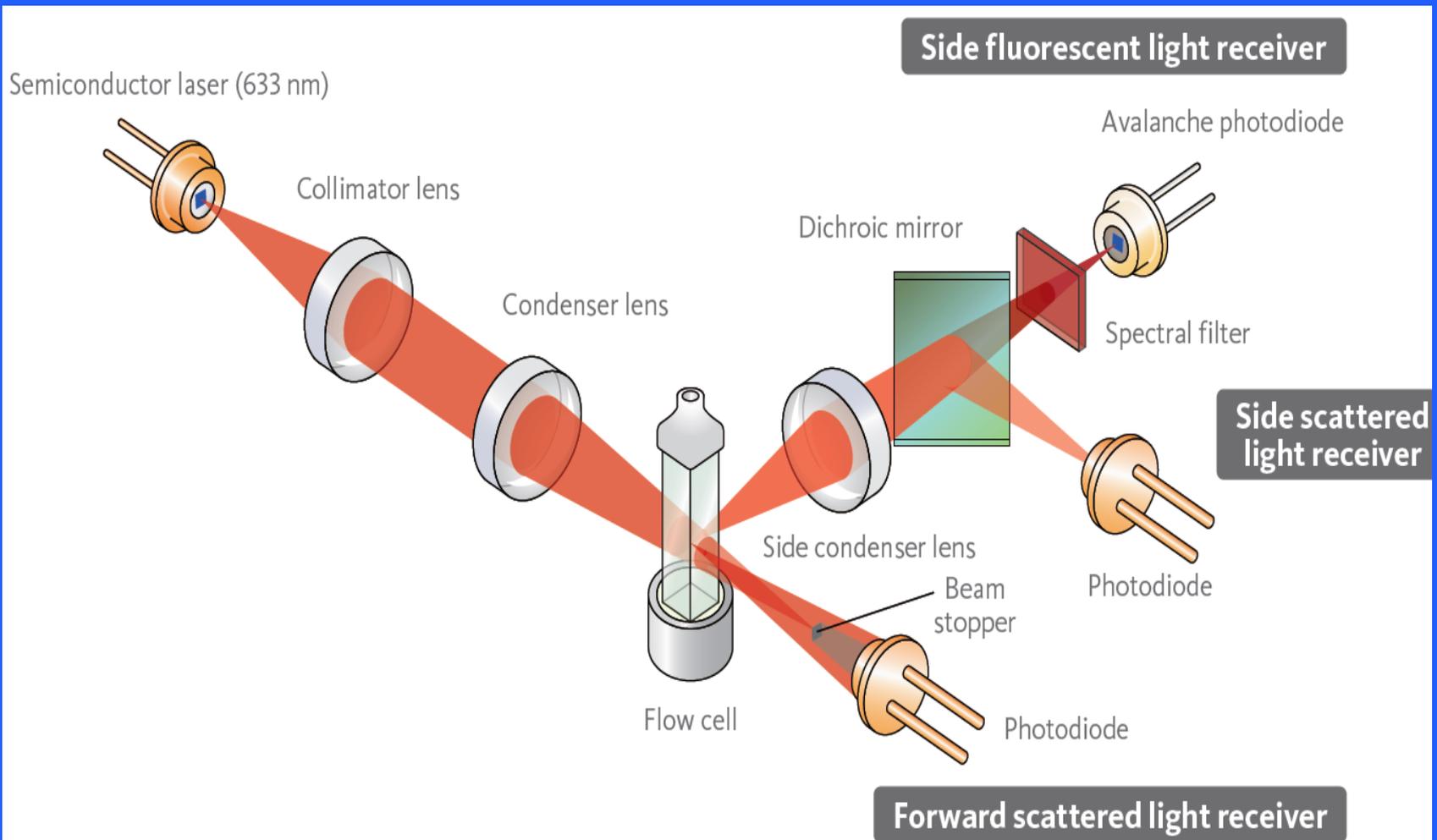
FSC und SSC reflektieren die Oberflächenstrukturen,
die Partikelgrösse, die Kernform, Reflexität.

FSC :Wächst mit dem Volumen der Zellen an

SSC :Erhöht ,wenn die intrazellulären Strukturen komplexer werden (Granulation)

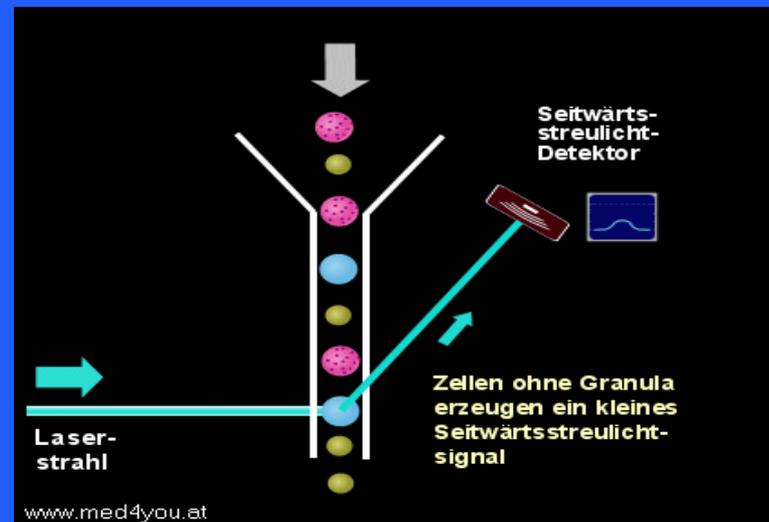
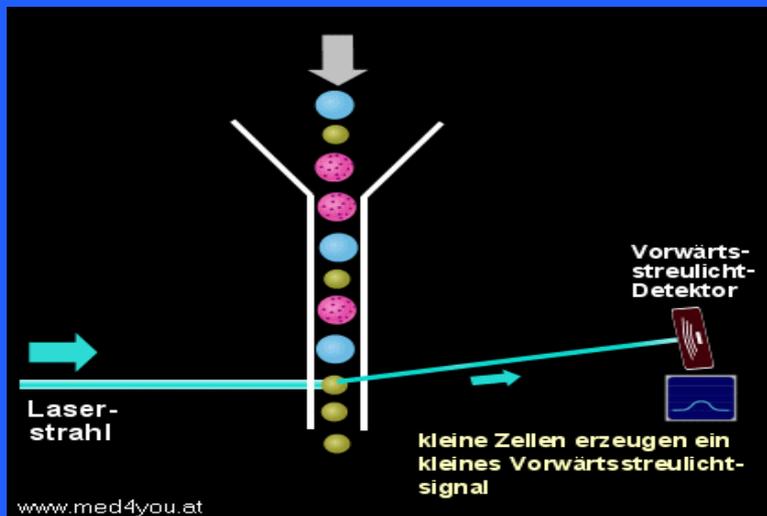
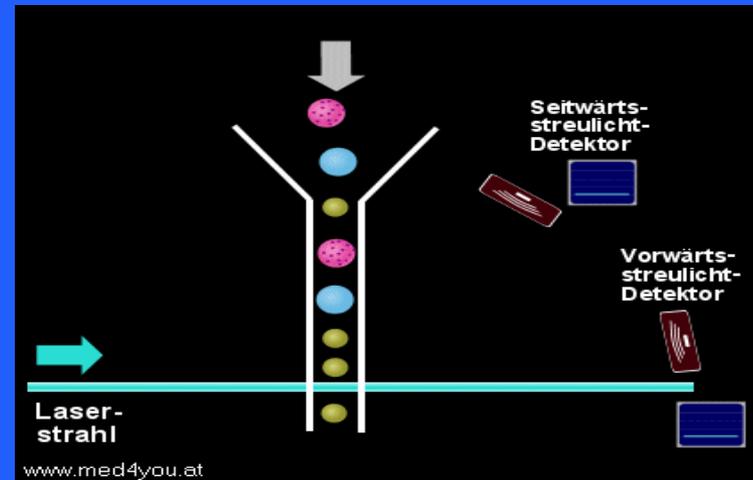
SFL :Reflektiert Typ und Anzahl der Nukleinsäuren und Zellorganellen (unreife Zellen ,Retikulozyten)

Optische Streuung als Messprinzip hämatologischer Automaten

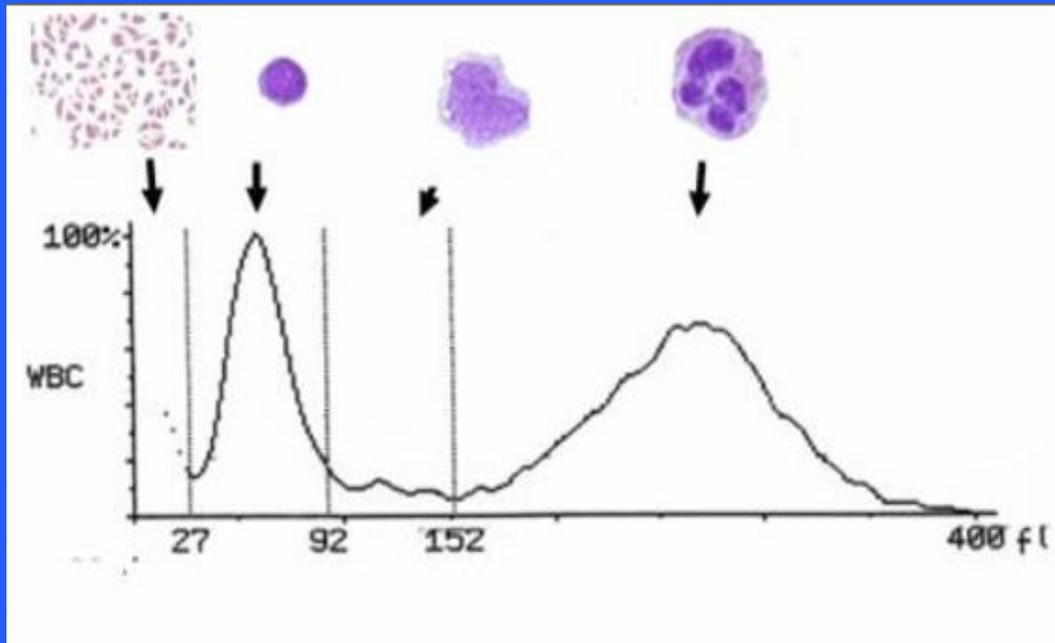


Messprinzipien hämatologischer Automaten im Bild

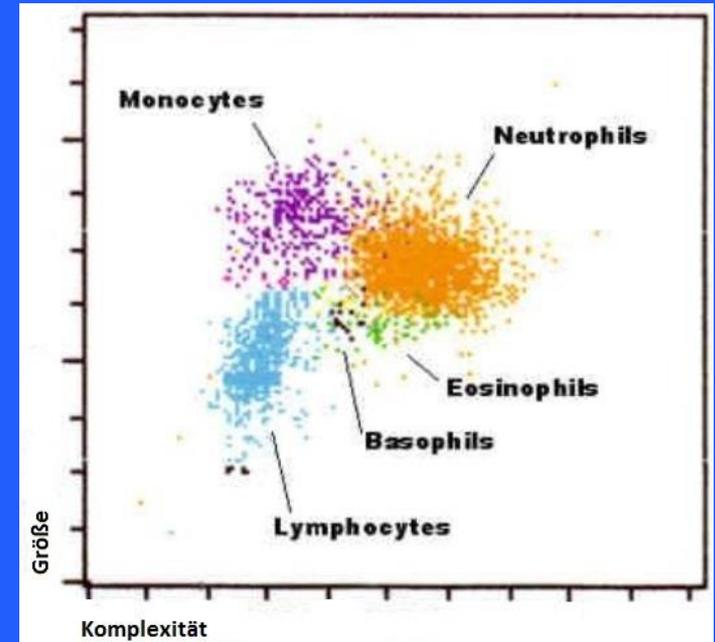
Optische Streuung



Differenzierung der Leukozyten



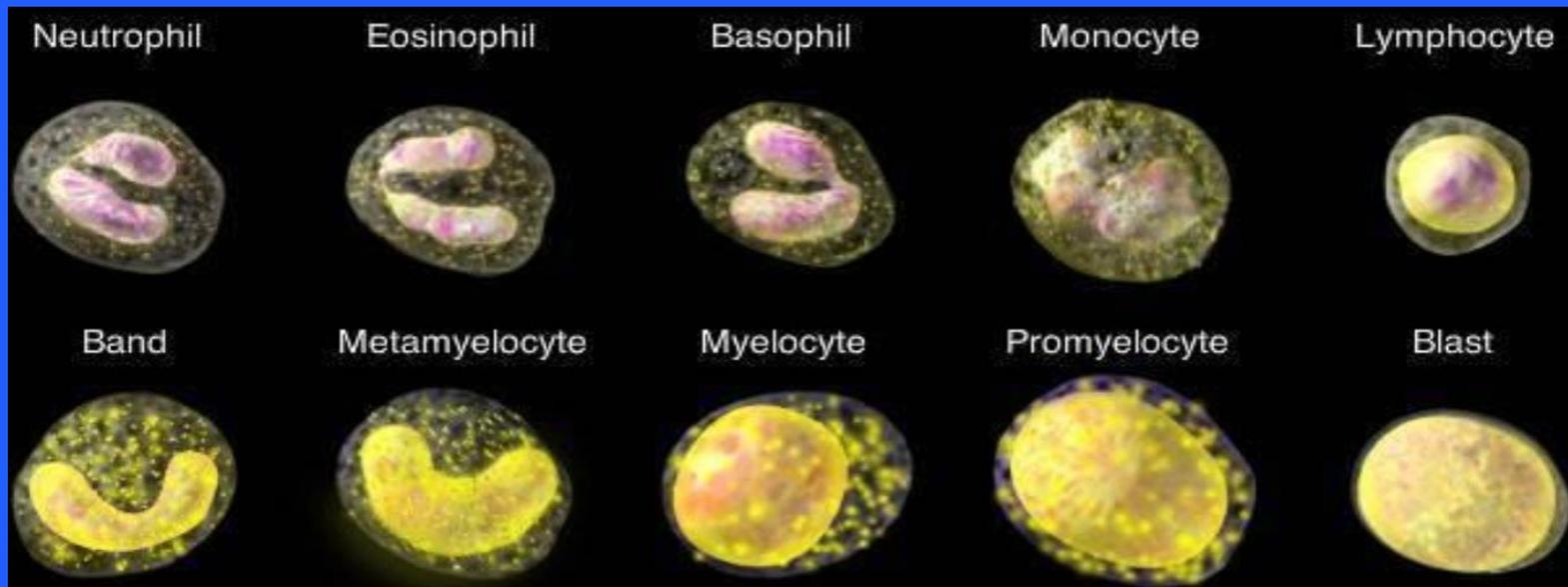
Histogramm



Wolkendiagramm
Punktdiagramm

fl = femtoliter

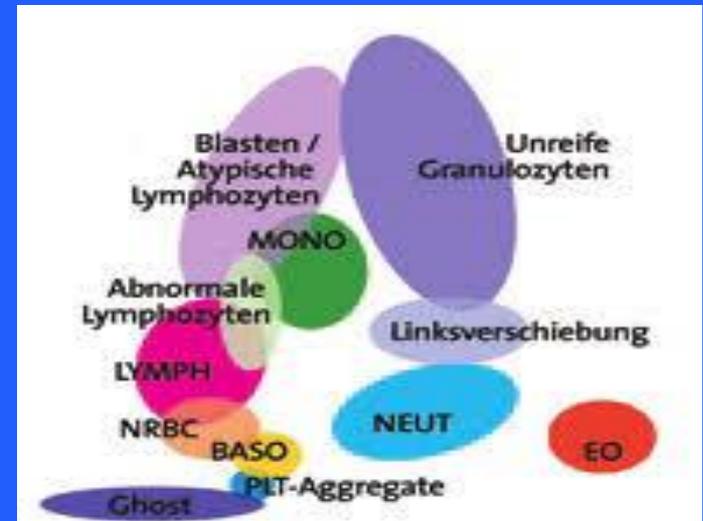
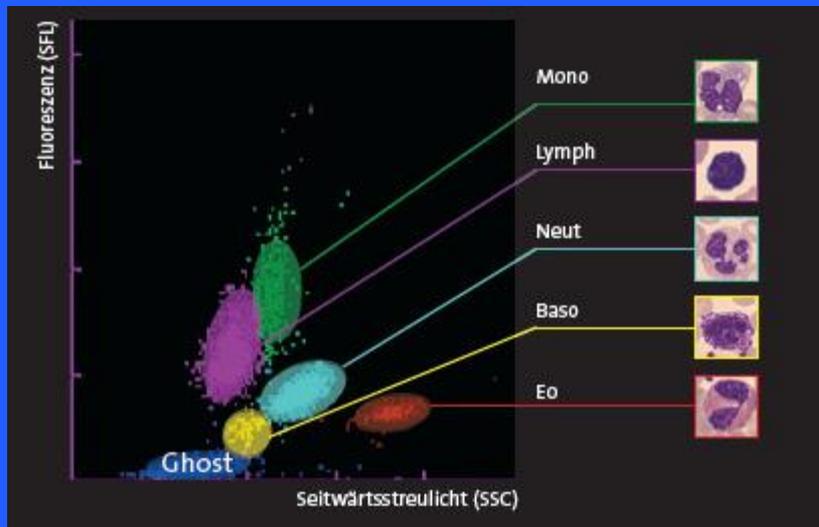
Fluoreszenzfärbung zur Differenzierung reifer weisser Blutzellen



Die Intensität der Fluoreszenz ist proportional mit dem Anteil von DNS und RNS

Scattergram

SSC(Seitwärtsstreuung)und SFL (Seitwärtsfluoreszenz)-
werden ausgewertet und in einem Scattergramm dargestellt.
Zellen mit ähnlichen Eigenschaften sind im selben Bereich
angesiedelt.



Referenzwerte des qualitativen Blutbildes bei verschiedenen Altersgruppen

Leukozyten	0 -1 Jahr	Kinder	Erwachsene
Lymphozyten 	20-70%	25-50%	20-40%
Monozyten	1-10%	1-6%	2-8-%
Neutrophile 	15-60%	25-60%	40-70%
Eosinophile	1-5%	1-5%	0-5%
Basophile	0-1%	0-1%	0-1%
Stabkernige	1-8%	3-6%	1-2%

Veränderungen der Leukocytenwerte

Referenzbereich :4-10 G/L

Ursachen für niedrige Leukozytenwerte:

- Virusinfektion
- MDS (Myelodysplasie)
- Strahlenwirkung, Chemotherapie(zytotoxische Medikamente)
- toxische Chemikalien
- Leukämie(*aleukämische Form*), *Lymphom*

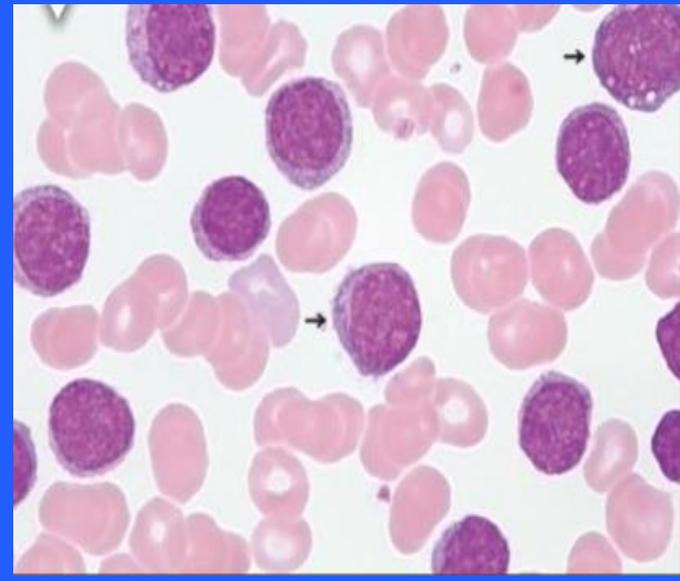
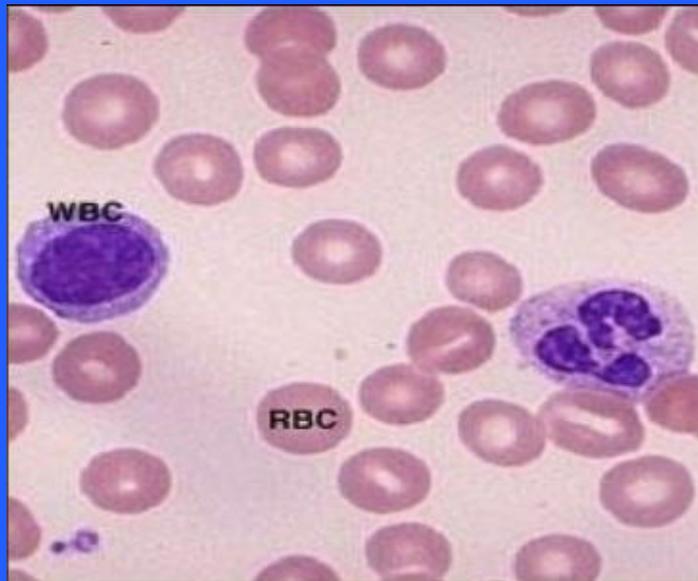
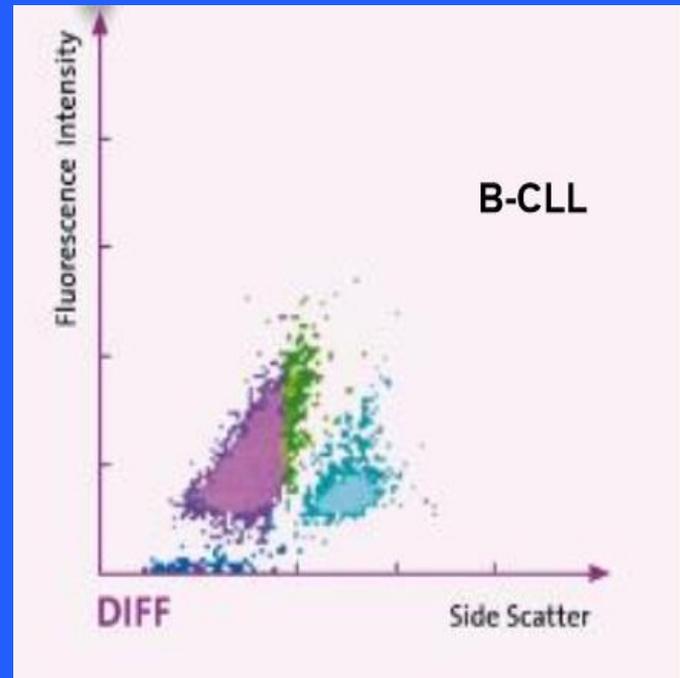
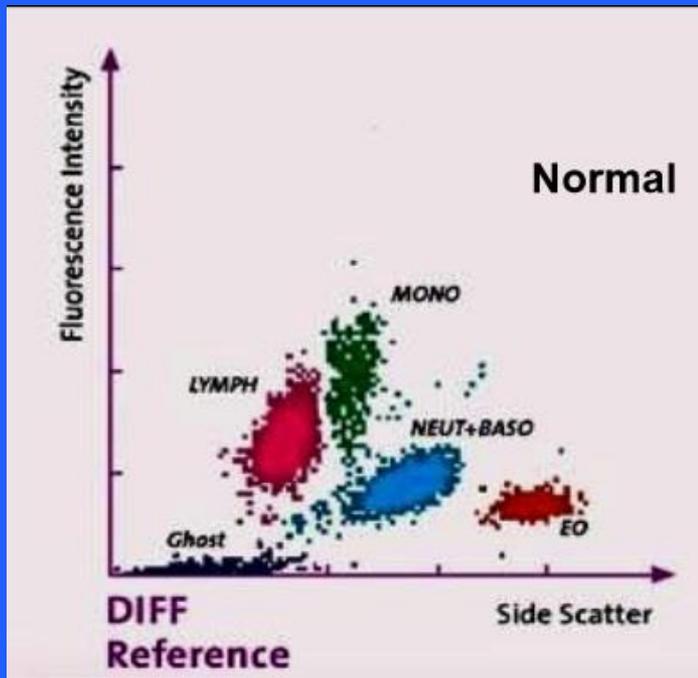
Ursachen für erhöhte Leukozytenwerte:

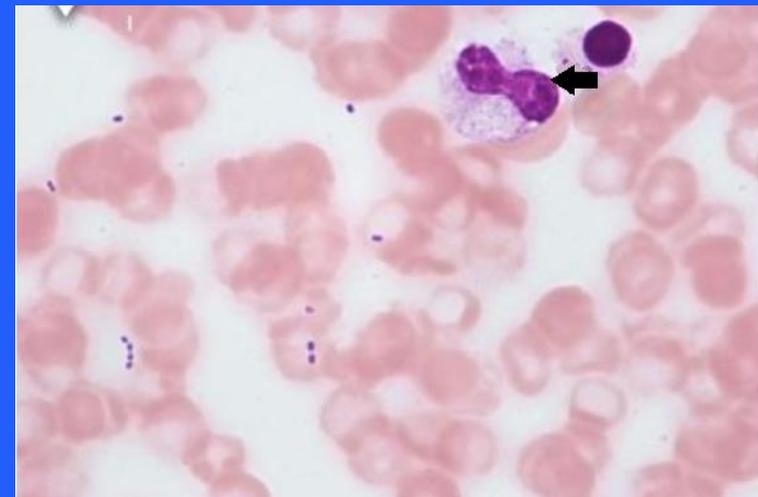
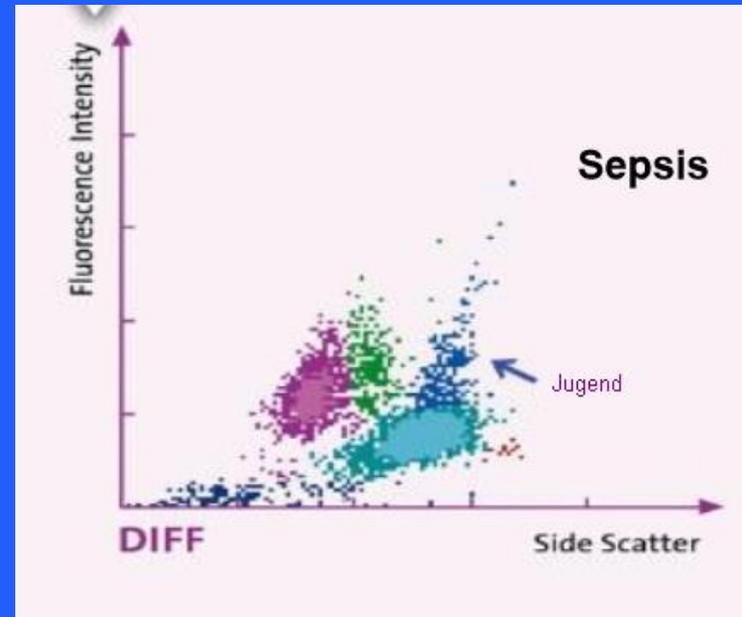
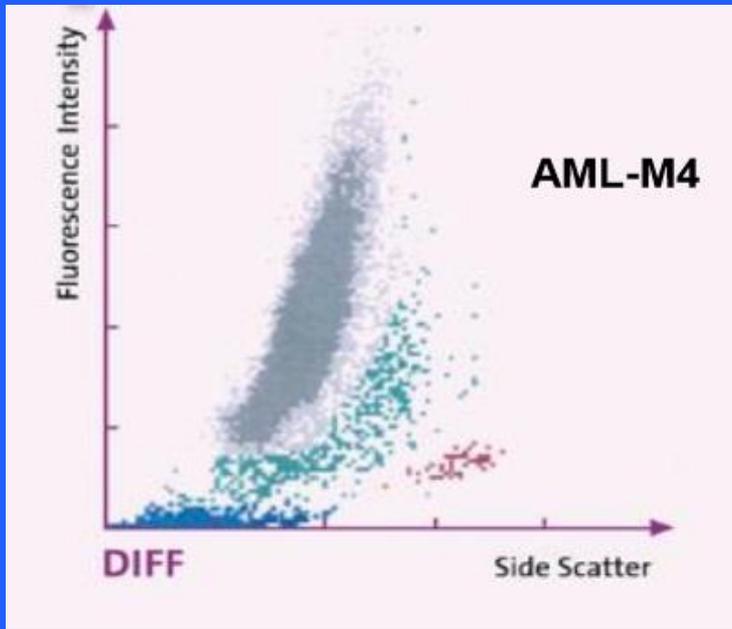
- Leukämie*
- bakterielle Infektion
- Hämolyse, Tumoren, Blutung
- Entzündungen
- Schwangerschaft
- Stress, Schreileukozytose (Kleinkinder)

Fallbeispiele:

Vier charakteristische Blutbilder im Blutausschtrich und im Scattergramm:

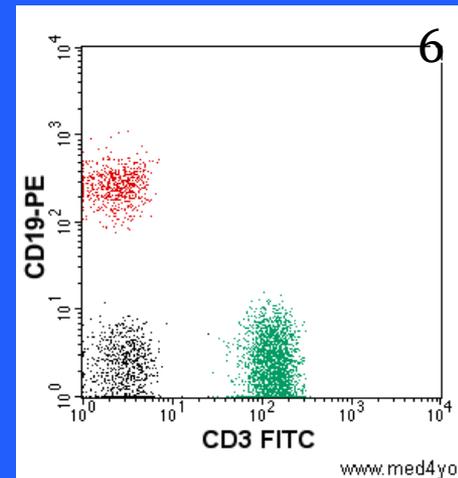
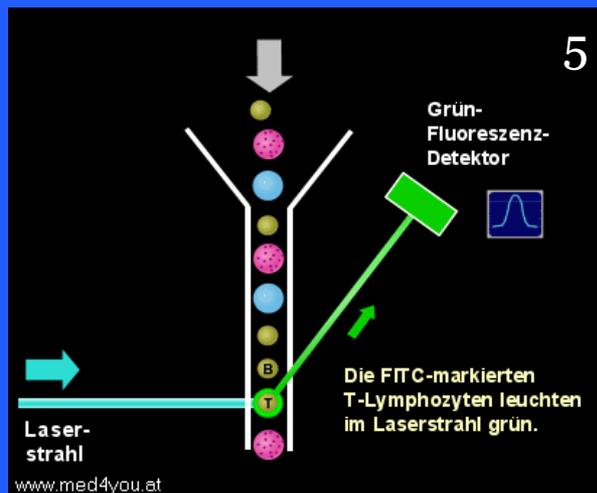
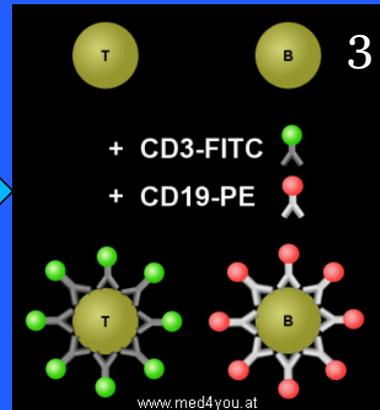
1. Normales Blutbild
2. Chronis lymphoide Leukämie(Typ B)
3. Acute myeloide Leukämie
4. Sepsis (mit Bakterien)





Spezielle Anwendungsmöglichkeiten der Fluormetrie

Beispiel: Bestimmung der T- und der B-Lymphozyten



1. Antikörper
2. Inkubation
3. Markierung
4. Lyse
5. Messung
6. Streudiagramm

