

Hermann Heimpel
und Silke Heller

Die quantitative und qualitative Analyse der Zellen des peripheren Blutes, eine der ältesten Methoden des medizinischen Laboratoriums, ist bis heute eine der praktisch wichtigsten diagnostischen Basisuntersuchungen geblieben. Die Bezeichnung „Blutbild“ gibt anschaulich die Tatsache wieder, daß verschiedene Einzelparameter gemeinsam und vergleichend gewertet werden müssen, um aufgrund der Modelle der Bildung, der Verteilung und des Abbaus der Blutzellen zu einer pathophysiologisch korrekten Interpretation zu gelangen.

Veränderungen der Blutbildparameter sind entweder Folge der Reaktion des gesunden Blutzellsystems auf umwelt- oder krankheitsbedingte Anforderungen, oder Ausdruck einer primären oder sekundären Erkrankung des blutbildenden Systems selbst, die häufig zu einer verminderten oder fehlenden Regulationskapazität führt. Außerhalb der Norm liegende Werte, zum Beispiel eine neutrophile Leukozytose bei bakteriellen Infekten, können also Zeichen einer normalen Reaktion, numerisch normale Werte Ausdruck einer fehlenden Reaktion der Blutzellbildung sein (3).

Die Blutzellendiagnostik ist ein häufig am Anfang der diagnostischen Kette stehender Teil der Stufendiagnostik; die richtige Interpretation korrekt bestimmter Blutbildparameter weist oft den kürzesten und wirtschaftlichsten Weg zur endgültigen Krankheitsdiagnose. Methodische und technische Fortschritte der ver-

Die Parameter des Blutbildes gehören zur Basisdiagnostik sehr vieler Erkrankungen. Der technisch-methodische Fortschritt, insbesondere die zunehmende Verwendung leistungsfähiger Analysenautomaten, erlaubt eine Verkürzung der Bearbeitungszeit bei gleichzeitiger Erhöhung der Analysenqualität. Um Fehlbestimmungen und diagnostisch relevante Fehlbeurteilungen zu vermeiden, müssen der im Laboratorium Verantwortliche die allgemeine hämatologische Diagnostik, der behandelnde Arzt die wichtigsten Bestimmungsprinzipien und ihre Fehlermöglichkeiten kennen. Hämatologische Laboratorien sollten sich an Ringversuchen zur externen Qualitätssicherung beteiligen.

Das Blutbild

Sachgerechte Erstellung und Bewertung der Ergebnisse

gangenen Jahrzehnte haben die Präzision und Richtigkeit der Bestimmung der Blutbildparameter bei gleichzeitiger Verkürzung der Bearbeitungszeit wesentlich verbessert (1). Dazu gehörten:

① Die Einführung und Standardisierung der Cyanmethämoglobinmethode zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration.

② Die Standardisierung der Hämatokritbestimmung durch Zentrifugation in Kapillaren einheitlichen Durchmessers.

③ Der Ersatz der Zählkammermethoden durch die Zellzahlbestimmung mit Hilfe der apparativen Partikelzählung, mit der aus arbeitstechnischen und statistischen Gründen eine wesentlich höhere Präzision zu erreichen ist. Die Impedanzmessung („Coulter-Prinzip“) (Coulter, TOA-System, Abbott, Roche) oder die Laserlichtstreuung (Technicon, Ortho) erlaubt neben der reinen Partikelzählung gleichzeitig die Bestimmung des Volumens jeder gezählten Zelle und damit die Ermittlung von Größenverteilungskurven.

④ Die Ergänzung der mikroskopischen Auswertung des Differentialblutbildes durch die Quantifizierung einzelner Zellformen, mittels Durchflußzytometrie, auch als „automatisiertes Differentialblutbild“ bezeichnet.

Unter dem Begriff „Blutbild“

wird die Bestimmung folgender Parameter zusammengefaßt:

1. Hämoglobinkonzentration (Hb)

Erythrozyten werden durch hypotone Lösungen hämolysiert, das gelöste Hämoglobin mit Drabkinscher Lösung zu Cyanhämoglobin oxydiert, dessen Konzentration photometrisch bestimmt und über Eichkurve in die Hämoglobinkonzentration des Vollblutes umgerechnet wird. Dieses Prinzip wird sowohl bei der Einzelbestimmung im Photometer als auch bei der Verwendung von mehrkanaligen Blutbildautomaten angewandt. Das Ergebnis wird in g/l oder g/dl ausgedrückt (*Tabelle*). Die Angabe in mol/l hat sich (außer in den neuen Bundesländern) nicht durchgesetzt und wird von dem Internationalen Komitee für Standardisierung in der Hämatologie (ICSH) nicht empfohlen. Eine starke Vermehrung kernhaltiger Zellen führt ebenso wie eine ausgeprägte Lipämie durch Lichtstreuung zur Messung falsch hoher Werte. Bei Leukozytenzahlen von $> 100 \times 10^9/l$ ist eine korrekte Bestimmung der Hämoglobinkonzentration nicht möglich. Der Grad einer Anämie kann in diesen Fällen nur aufgrund des Mikrohämokrits beurteilt werden. ▷

2. Hämatokrit (Hk)

Als Hämatokrit wird der Volumenanteil der Erythrozyten am Vollblut (korrekter wäre deswegen die Bezeichnung Erythrokrit) bezeichnet. Der Hämatokrit wird bei Einzelbestimmung durch Zentrifugation in Kapillaren (sogenannter Mikrohämatokrit) mit optischer Ablesung des „roten“ Erythrozytenanteils ermittelt. Der im englischen Sprachraum übliche Terminus PCV (packed cell volume) für das Ergebnis dieser Bestimmungsmethode hat sich in Deutschland nicht durchgesetzt. Bei der Blutbildanalyse in mehrkanaligen Automaten wird der Hämatokrit aus dem Erythrozytenvolumen und der Erythrozytenzahl errechnet. Da bei der Kapillarzentrifugation Restplasma zwischen den gepackten Erythrozyten verbleibt, stimmen die Ergebnisse beider Methoden nicht genau überein. In der Praxis ist diese Abweichung nur bei sehr hohen Erythrozytenzahlen, zum Beispiel bei Polycythaemia vera, oder bei ausgeprägten Formanomalien der Erythrozyten (zum Beispiel bei der Sichelzellanämie) von Bedeutung.

3. Erythrozytenzahl

Die Bestimmung in der Zählkammer ist wegen der niedrigen Präzision und des hohen Arbeitsaufwands obsolet, die Streulichtmessung bei Veränderungen von Erythrozytengröße und Erythrozytenform unzuverlässig. Nur mit der apparativen Partikelzählung kann eine akzeptable Präzision erreicht werden. Auch bei korrekter Kalibrierung und Bedienung des Zählgeräts können probenabhängige Fehler dadurch auftreten, daß sehr kleine Erythrozyten oder Erythrozytenfragmente als Thrombozyten, sehr große Thrombozyten als Erythrozyten gezählt werden. Technisch nicht eliminierbare Fehler ergeben sich aus der Bildung von Erythrozytenaggregaten, so daß zum Beispiel bei chronischer Kälteagglutininkrankheit die Erythrozytenzahl zu niedrig, das MCV (unter Umständen bis zu unplausiblen Werten von über 150 fl) zu hoch bestimmt wird.

Tabelle: Einheiten der Blutbildparameter. Empfehlungen des Internationalen Komitees für Standardisierung in der Hämatologie (ICSH)

Parameter	empfohlene Einheiten		ältere Einheiten	
Hämoglobin	g/l	160	g/dl	16
Hämatokrit	vol/vol	0,44	%	44
Erythrozyten	T/l	5,0	10 ⁶ /µl	5,0
MCV	fl	85	fl	85
MCH	pg	30	pg	30
MCHC	g/l	340	g/dl	34
Retikulozyten	G/l	0,050	%0	10
Leukozyten	G/l	5,0	1/µl	5000
Leukozytenarten*	%	60	%	60
	G/l	3,0	1/µl	3000
Thrombozyten	G/l	250	1/µl	250 000

T = Tera = 10¹²; G = Giga = 10⁹
 Als Beispiel wurden Einzelwerte normaler Referenzbereiche für Erwachsene gewählt.
 * Am Beispiel neutrophiler Granulozyten: relative und absolute (auf Volumeneinheit Vollblut bezogene) Werte. „Ältere“ Einheiten gelten als anschaulicher und werden vor allem mündlich noch vielfach verwendet.

Die Erythrozytenzahl ist als Einzelparameter für die Feststellung einer Anämie nicht geeignet, da sie bei ausgeprägter Mikrozytose, etwa bei Thalassämien oder schwerem Eisenmangel im mittleren oder oberen Normalbereich liegen kann. Ihre Bedeutung liegt in der Bestimmung abgeleiteter (errechneter) Eigenschaften der Erythrozyten.

4. Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV)

Die Bestimmung dient der diagnostisch wichtigen Einteilung der Anämien in mikro-, normo- und makrozytäre Formen. Die Messung durch Impedanz oder Laserlichtstreuung liefert Größenverteilungskurven, aus denen das mittlere Erythrozytenvolumen errechnet wird. Zu beachten sind präanalytische Fehler bei der Versendung von Blutproben: Liegt die Zeit zwischen Abnahme und Analyse über 12 Stunden, so steigt das MCV durch Wassereinstrom in die Zellen an. Dagegen ist die Zellzahlbestimmung bei üblichen Versandbedingungen bis etwa 24 Stunden nach Abnahme möglich. Die Bestimmung der

Price-Jones-Kurve als Korrelat der Erythrozytengrößenverteilung ist verlassen.

5. Hämoglobingehalt des einzelnen Erythrozyten (MCH)

Da die Ermittlung dieses Wertes eine korrekte Bestimmung der Erythrozytenzahl voraussetzt, ist die Angabe nur bei automatisierter Erythrozytenzahlbestimmung sinnvoll. Der Wert wird aus Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration errechnet oder (Bayer/Technicon) direkt gemessen. In der überwiegenden Mehrzahl der Anämien ist das MCV und das MCH linear korreliert. Mikrozytäre entsprechen also hypochromen, normozytäre normochromen, makrozytäre hyperchromen Anämien. Analysefehler ergeben sich aus den unter 1. und 3. genannten Fehlerquellen.

6. Mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)

Dieser Wert wird in Mehrkanalgeräten aus mittlerem Erythrozyten-

volumen und Hämoglobinkonzentration errechnet. Wegen der bereits genannten Parallelität des Erythrozytenvolumens und des Hämoglobingehalts des Einzelerythrozyten bei sehr vielen Veränderungen des roten Blutbildes bleibt die MCHC meist konstant und ist dadurch ein geeigneter Parameter, um probenabhängige oder systematische Fehler zu entdecken.

7. Retikulozytenzahl

Die Bestimmung erfolgt nach wie vor mikroskopisch durch Ermittlung des Anteils der durch Supravitalfärbung kenntlich gemachten jüngsten Erythrozyten im Ausstrich. Das Ergebnis wird entweder in Promille (in den angelsächsischen Ländern meist in Prozent) oder umgerechnet über die Erythrozytenzahl in $10^9/l$ angegeben. Retikulozyten sollten nicht an eingesandten Blutproben bestimmt werden, da abhängig von Transportzeit und Temperatur Retikulozyten ausreifen und/oder Artefakte entstehen, die zu groben Bestimmungsfehlern führen.

Bis heute ungelöst ist das Problem der statistisch bedingten niedrigen Präzision bei verminderten, normalen oder nur gering erhöhten Retikulozytenzahlen. Der Retikulozytenanteil kann zwar mit weit höherer Präzision durchflußzytometrisch bestimmt werden; dies ist allerdings bisher nicht mit den üblichen Blutbildautomaten, sondern nur mit speziellen Geräten möglich, deren Anschaffung sich nur für einzelne Laboratorien mit sehr hoher Analysenzahl lohnt.

8. Zahl der kernhaltigen Zellen

Sie wird allgemein als Leukozytenzahl bezeichnet, schließt allerdings auch kernhaltige rote Vorstufen ein, falls diese im peripheren Blut vorkommen. Bestimmungsprinzip sowohl mikroskopisch in der Zählkammer als auch in Automaten ist die Zählung der Zellkerne nach Hämolyse in hypotoner Lösung. Im Gegensatz zur Erythrozytenzählung ist die Kammerzählung der Leukozyten durchaus noch üblich, da aufgrund

der physiologisch höheren intra- und interindividuellen Variabilität eine geringere Präzision vertretbar ist (2, 5). Diagnostisch relevante Zählfehler sind selten.

Bei der Bewertung der Leukozytenzahl ist besonders zu beachten, daß Blutbildparameter die Momentaufnahme eines dynamischen Geschehens darstellen. Vor allem die Zahl der nur wenige Stunden im Blut verbleibenden Neutrophilen kann, unter anderem in Abhängigkeit von den Abnahmebedingungen kurzfristig stark schwanken. Mäßig veränderte Werte müssen immer kontrolliert, eindeutig außerhalb des Normbereichs liegende Werte immer durch Anfertigung eines Differentialblutbildes ergänzt werden.

9. Thrombozyten

Die Thrombozyten werden nach Hämolyse der Erythrozyten in der Kammer gezählt, wobei die meist verwendete hypotone Ammoniumoxalatlösung ihrer Aggregationsneigung entgegenwirkt. Die Verwendung von Phasenkontrast erleichtert die Unterscheidung von Verunreinigungen gleicher Größe. In Automaten erfolgt die Zählung ohne Hämolyse, wobei die Thrombozyten aufgrund ihres kleineren Volumens elektronisch von den übrigen Zellen separiert werden. Fehlerquellen sind dabei Partikel ähnlicher Größe, zum Beispiel abgescherte Zytoplasmabestandteile bei Leukämien oder eine Überlappung der Zählfenster bei sehr großen Thrombozyten oder sehr kleinen Erythrozyten.

Die wichtigste probenabhängige Fehlerquelle ist die Pseudothrombozytopenie aufgrund einer Aggregatbildung in vitro bei gesunden Personen. Da dieser Artefakt bei einem Teil der Betroffenen durch Antikoagulation mit Heparin statt mit EDTA zu vermeiden ist, hat man sie auch als „EDTA-Thrombozytopenie“ bezeichnet. Fehldiagnosen aufgrund einer Pseudothrombozytopenie häufen sich, seit die Thrombozytenzahl auch ohne Vorliegen einer Blutungsneigung in Automaten „mitbestimmt“ werden. Sie kann aus der Diskrepanz zwischen unter Umständen stark ver-

minderter Thrombozytenzahl und fehlender Blutungsneigung vermutet und bei Durchsicht des Blutausstrichs nachgewiesen werden.

10. Differentialblutbild

Die konventionelle Auszählung von 100 Leukozyten im panoptisch gefärbten Blutausstrich wird in größeren Laboratorien, zum Beispiel in Laborgemeinschaften, zunehmend durch die apparative Quantifizierung der einzelnen Leukozytenformen mit Hilfe der Durchflußzytometrie ersetzt. Die Anteile der normalen Leukozytenformen werden dabei mit wesentlich höherer Präzision und mit geringerem Zeitaufwand bestimmt. Die methodischen Grundlagen der Zellerkennung sind je nach Gerät verschieden: Ein Bestimmungsparameter ist immer die Zellgröße, mit der sich Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten unterscheiden lassen. Bei den neuen Geräten von Coulter und TOA-Sysmex wird eine weitergehende Unterscheidung mit Hilfe der Laserlichtablenkung und zusätzlicher physikalischer Parameter, bei Geräten von Bayer (Technicon) mit Hilfe des zytochemischen Nachweises von Myeloperoxidase erreicht. Die Ergebnisse werden dem Kliniker in Form der gewohnten Prozentanteile und der absoluten Zahl jeder Zellklasse pro μl oder l Vollblut mitgeteilt.

Die Problematik der automatisierten Leukozytendifferenzierung liegt unter anderem in der Tatsache, daß der anfordernde Arzt als Endnutzer der erstellten Befunde keine genaue Einsicht in die hochentwickelte Analysentechnik hat, die methodenspezifischen Fehlerquellen nicht kennt und deswegen die Befunde als gegeben hinnimmt. Experten sprechen von dem „Verlust der Unmittelbarkeit“ als einem allgemeinen Problem hochtechnisierter Gesellschaften. Es ist wichtig zu wissen, daß morphologisch auffällige Zellen nicht klassifiziert werden können, sondern bestenfalls zu Warnsignalen des Gerätes führen oder als große unklassifizierbare Zellen (Technicon) zusammengefaßt werden. In solchen Fällen ist die mikroskopische Beurteilung

des Ausstrichs durch einen morphologisch geschulten Untersucher notwendig. Kleine, lymphozytenähnliche atypische Zellen, zum Beispiel bei akuten lymphatischen Leukämien oder niedrig malignen Non-Hodgkin-Lymphomen mit nur gering erhöhter Zellzahl werden unter Umständen als (normale) Lymphozyten registriert. Die Zahl der Blutbasophilen (die allerdings nur selten von diagnostischer Bedeutung ist) wird von den meisten Geräten nicht zuverlässig angegeben, Stab- und Segmentkernige nicht unterschieden.

Die Diskussion der Vorzüge und Nachteile der verschiedenen Identifikationsmethoden und der Technik der heute verfügbaren Geräte überschreitet den Rahmen dieser Arbeit. Zur Vermeidung schwerwiegender Fehldiagnosen müssen die Ergebnisse von dem mit dem verwendeten Gerät und der Hätomorphologie vertrauten Laboratoriumspersonal und vom anfordernden Arzt sorgfältig auf Plausibilität geprüft werden. Jeder Zweifel erfordert die mikroskopische Ausstrichkontrolle!

Schlußbemerkungen

Die beschriebenen Fortschritte der Methodik bei der Erstellung des Blutbildes führen nur dann zu einer Verbesserung der Diagnostik, wenn die verfügbaren technischen Möglichkeiten methodisch korrekt genutzt werden. Zusätzlich zu den aus der klinischen Chemie bekannten Fehlern gibt es bei der Bestimmung der Blutbildparameter weitere Fehlerquellen, zum Beispiel die von Plasmaeigenschaften abhängige Entmischungsgeschwindigkeit der Blutzellsuspension, die vielfältigen morphologischen und biophysikalischen Zellveränderungen bei Blutkrankheiten, schlechte oder schlecht gefärbte Ausstriche und schließlich ungenügende Erfahrung des Untersuchers. Sie können teilweise durch externe Qualitätssicherungsmaßnahmen, das heißt durch Ringversuche aufgedeckt werden (1, 4). Nach Schätzungen der Industrie, die sich auf die Anzahl verkaufter Geräte stützen, werden etwa an 20 000 Stellen in den alten Ländern der Bundesrepublik Parameter

des kleinen Blutbildes untersucht; in etwa 5000 dieser Laboratorien werden komplette Blutbilder inklusive der Thrombozyten und des (automatisierten) Differentialblutbildes erstellt. Ringversuche für die Hämoglobinbestimmung, für die Zellzählung und die mikroskopische Auswertung des Differentialblutbildes werden seit vielen Jahren von den beiden von der Bundesärztekammer benannten Referenzinstitutionen¹ angeboten. Dagegen sind externe Maßnahmen zur Qualitätssicherung für das automatisierte Differentialblutbild technisch noch nicht möglich.

Erst vor wenigen Monaten wurde beschlossen, die Basisparameter des Blutbildes in den Pflichtenkatalog der nach den Richtlinien der Bundesärztekammer zu kontrollierenden Analyte aufzunehmen, obwohl das Prinzip der externen Qualitätssicherung erstmals anhand der Hämoglobinbestimmung durch die von Heilmeyer in Deutschland begründete Hämometer-Prüfstelle eingeführt wurde. Auch international hat die Standardisierung der Hämoglobinbestimmung den Anstoß zur Entwicklung der externen Qualitätskontrolle gegeben. Bisher nehmen nur etwa 1000 Laboratorien, das heißt etwa 5 beziehungsweise 20 Prozent, gemessen an den oben genannten Zahlen, freiwillig an derartigen Ringversuchen teil. Sie haben nach den vielfach dokumentierten Erfahrungen von INSTAND in vielen Fällen zur Behebung methodisch bedingter Bestimmungsfehler beigetragen.

Externe Qualitätssicherungsmaßnahmen sind über die Erfassung der quantitativen Blutbildparameter hinaus auch zur Verbesserung der morphologischen Beurteilung des peripheren Blutbildes und der zytologischen Beurteilung des Knochenmarkspirats geeignet und notwendig. Während die Qualitätskontrolle die quantitativen Blutbildparameter

und die technischen Variablen (Geräteauswahl, Geräterwartung, Eichung, Meßprobenquantität, Analysenablauf) erfaßt, dient sie bei der Erkennung morphologischer Parameter der Verbesserung der Interpretationsfähigkeit des Untersuchers. Externe Ringversuche der Hätomorphologie sind geeignet, Fortbildungsdefizite bei Ärzten und medizinischem Laboratoriumspersonal zu erkennen und sind damit Instrumente der Fortbildung selber.

Bis zu dem Zeitpunkt, zu dem die Basisparameter des kleinen Blutbildes in die Anlage 1 der Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung aufgenommen sind, ist allen Laboratorien, die Blutbilduntersuchungen durchführen, dringend zu raten, nicht nur regelmäßig interne Qualitätssicherungsmaßnahmen durchzuführen, sondern auch auf freiwilliger Basis an den Ringversuchen der oben angegebenen Referenzinstitutionen teilzunehmen.

Literatur:

1. Boll, I.; Heller, S.: Praktische Blutzell Diagnostik. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1991
2. Fraser, C. G.: Analytical goals für haematology tests. Eur. J. Haematol. 45 suppl. 53 (1990) 2-5
3. Heimpel, H.; Hoelzer, D.; Lohmann, H. P.: Hämatologie in der Praxis. Weinheim: edition medizin, 1988
4. Lewis, S. M.: The WHO international external quality assessment scheme for haematology. Bull. World Health Org. 66 (1988) 283-290
5. Statland, B.; Winkel, P.; Harris, S. C.; Burdsall, M. J.; Saunders, A. M.: Evaluation of biologic sources of variation of leukocyte counts and other hematological quantities using very precise automated analyzers. Am. J. clin. Pathol. 69 (1977) 48-54

Deutsches Ärzteblatt

90 (1993) A₁-2069-2072 [Heft 30]

Anschriften der Verfasser:

Prof. Dr. med. Hermann Heimpel
Medizinische Universitätsklinik
und Poliklinik
Robert-Koch-Straße 8
89081 Ulm

Dr. med. Silke Heller
St. Gertrauden-Krankenhaus
Paretzerstraße 12
10713 Berlin

¹ Institut für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND) e. V. (kleines Blutbild, Differentialblutbild, Knochenmark-Zytologie), Postfach 44 02, Düsseldorf

Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie (kleines Blutbild, Differentialblutbild), Postfach 15 01 39, Bonn