

Die 6-Part-Differenzierung – Nutzen im Alltag

Die XE-2100-Technologie



Abb. 1: SYSMEX XE-2100

Im XE-2100 von SYSMEX wird die Fluoreszenz-Durchflusszytometrie eingesetzt, d.h. nach einer entsprechenden Fluoreszenzmarkierung werden in der Durchfluss-Messküvette des XE-2100 die Leukozyten sowie Retikulozyten und Erythroblasten aufgrund ihrer jeweiligen Fluoreszenzaktivitäten gezählt bzw. differenziert. Als Lichtquelle dient ein Halbleiterlaser, der sich besonders durch seine kompakte Bauart, seine hohe

Lebensdauer bei gleichbleibender Lichtstabilität sowie durch seine definierte Lichtintensität auszeichnet. Da die eingesetzten Markierungs- und Lysereagenzien auf die jeweilige Anwendung optimiert sind, ergeben sich verschiedene mögliche Kombinationen aus drei spezifischen Messsignalen der Kenngrößen Vorwärts- (Zellgröße) und Seitwärtsstreulicht (innere Zellstruktur) sowie der Seitwärts-Fluoreszenzintensität (Nukleinsäuregehalt der Zelle). Je nach DNA- und RNA-Konzentration emittiert jede Zelle ein spezifisches Fluoreszenzsignal und wird hierdurch vom XE-2100 klassifiziert. Das von den WBCs emittierte Fluoreszenzsignal und Seitwärtsstreulicht werden im DIFF-Scattergramm mit max. 30.000 WBCs umgesetzt. Es wird ein anpassungsfähiger Algorithmus zur Clusteranalyse angewendet mit dem Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile, Basophile und unreife Granulozyten (IGs) zuverlässig detektiert werden.

Der XE-2100 klassifiziert 100-300 mal mehr Leukozyten als die herkömmliche manuelle Differenzierung. Dies bedeutet eine deutlich bessere Reproduzierbarkeit mit Variationskoeffizienten von 7%, selbst bei niedrigen Konzentration von nur 4% IGs. Im Vergleich hierzu weist die herkömmliche manuelle Differenzierung bei ähnlichen IG-Konzentrationen Variationskoeffizienten von > 50% auf.

Der IG-Count

Die im xE-2100 angegebene Zellzahl der IGs setzt sich zusammen aus Metamyelozyten, Myelozyten und Promyelozyten, sofern vorhanden. Stabkernige oder Blasten sind ausdrücklich nicht in der Zählung enthalten. Die Absolutzahl der IGs wird im »Diff-Kanal« bestimmt (aus Seitwärtsstreulicht- und Fluoreszenzintensität nach vorangegangener Teillyse und Fluoreszenzfärbung). Neben der dadurch erreichten hohen Sensitivität und Spezifität der WBC-Warnhinweise steht durch diesen Parameter ein sehr einfaches und effektives »Tool« für die Infektionsdiagnostik zur Verfügung. Im Falle entzündlicher Prozesse im Körper, die auf bakterielle Infektionen zurückgehen, steigt die Zahl der linksverschobenen Granulozyten als Reaktion auf die »Bakterieninvasion« an. Dieser Anstieg kann über die Zählung der IGs erfasst werden. Erste Studien zeigen, dass somit bei der Erkennung und Differenzierung inflammatorischer Prozesse (Unterscheidung von bakteriellen und viralen Infektionen) dieser Parameter wertvolle und sehr früh erkennbare Aufschlüsse über die Ursachen geben kann. Diese Information kann sich für eine gezielte Therapie als unerlässlich erweisen. Als »Parameter« sind sie damit auch für die Zeit des Therapie-Monitorings jederzeit verfügbar.

Proben mit einer Linksverschiebung und/oder hohem Neutrophilenwert brauchen gegebenenfalls in Verbindung mit allen nötigen Patienteninformationen initial nur einmal ausgestrichen werden - um das Vorliegen einer malignen Erkrankung (eventuell zusätzlich zu einer Infektion) auszuschließen – und können anschließend mittels IG-Master weiterverfolgt werden.

Probe enthält	100 Zell Diff		1000 Zell Diff	
1% IG	0	3	0,4	1,7
2% IG	0	5	1,2	1,9
3% IG	0	7	2,0	4,1
4% IG	1	8	2,8	5,3
5% IG	2	10	3,7	6,4
6% IG	2	11	4,6	7,5
7% IG	2	12	5,5	8,6
8% IG	3	14	6,4	9,7
9% IG	4	15	7,3	10,8
10% IG	5	16	8,2	11,9

Abb. 2: Dr. C.L. Rümke, The statistical expected variability in Differential Leukocyte Counting, CAP 1979, 95 % prediction intervals.

Die Manuelle Differenzierung

Verschiedene Veröffentlichungen von Dr. Rümke haben die Ungenauigkeit der WBC-Differenzierung mit 100 Zellen als Folge statistischer Probleme belegt. Dr. Rümke ist der Autor der bekannten Rümke-Tabellen, die gezeigt haben, dass bei einer Probe mit 2% IGs die manuelle WBC-Differenzierung mit 100 Zellen eine Schwankungsbreite der IG-Werte von 0 bis 5% aufweisen kann.

Eine Studie (T.Weiland, Sysmex J Int 12, 63-70) mit dem xE-2100 befasste sich nun mit der Fragestellung, ob unter tatsächlichen Laborbedingungen derartige Daten reproduzierbar sind. Hierfür wurden gemäß NCCLS-H20A-Protokoll vor der eigentlichen Evaluierung des hämatologischen Analysators die zwei an der Studie beteiligten MTAs selber entsprechend ihrer Differenzierungsprofile miteinander verglichen mit sehr zufriedenstellendem Ergebnis. Der anschließende Vergleich zwischen xE-2100 und manueller Differenzierung von 200 Zellen ergab für beide MTAs eine hervorragende Korrelation für alle Leukozytenwerte. Nach kritischer Prüfung der Korrelationsdiagramme zeigten sich jedoch im niedrigen Zählbereich von 1-6% IGs erhebliche Abweichungen.

So zählte MTA-A bei 10 verschiedenen Proben einen Wert von 2% IGs während MTA-B bei denselben Proben eine deutlich größere Streuung der Ergebnisse von 0,5-5,0% aufwies. Auf diese Weise konnte nachgewiesen werden, dass Dr. Rümkes theoretische Berechnungen mit den tatsächlichen Bedingungen der WBC-Differenzierung übereinstimmen (auch bei Zählungen mit 200 Zellen). Dieses interessante Experiment kann natürlich in jedem Labor reproduziert werden.

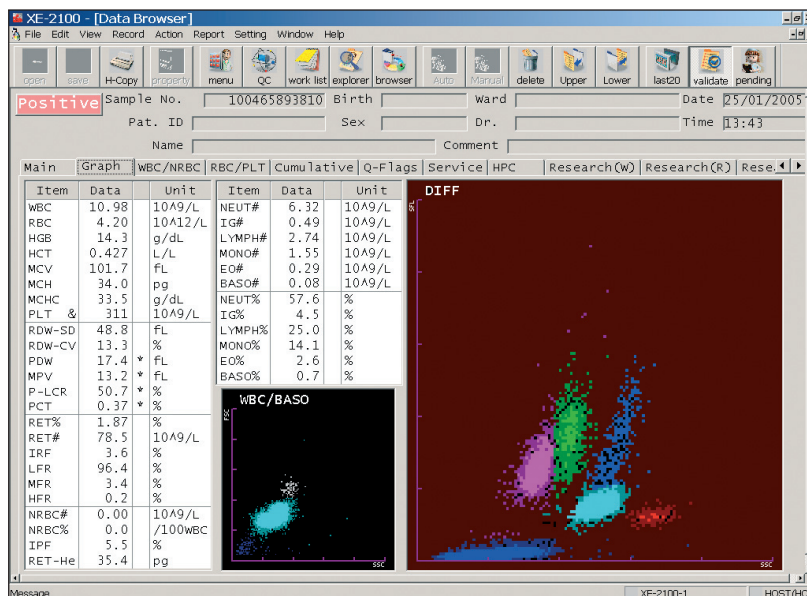


Abb. 3: Befund mit 4,5% IG (dunkelblaue Wolke oberhalb der türkisen Wolke im großen Scattergramm).

Verringerung der Arbeitsbelastung bei der manuellen Differenzierung

Ältere Analysegeräten können bei vielen Proben nur eindeutige Warnmeldung unreifer Granulozyten anzeigen. Geräte der xE-Serie, ausgestattet als 6-part Diff mit einer vollautomatischen Zählung auch dieser unreifen Zellen, können diese Proben hingegen direkt analysieren und validieren – ohne zusätzliche Überprüfung der manuellen Ausstriche wenn maligne Erkrankungen ausgeschlossen werden können. Dies führt zu einer deutlichen Verringerung der Arbeitsbelastung bei der manuellen Differenzierung. Da die IG-Zählung in der Summe der Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten umfaßt, kann sie direkt an den Host-Computer übertragen werden, ein Vorteil den schon heute viele Labore weltweit nutzen. Eine Überprüfung der Austriche ist dadurch nicht mehr nötig.

Geschwindigkeit

Auf Intensivstationen besteht eine Nachfrage nach WBC-Differenzierungen mit schnellen Ergebnissen. Der xE-2100 ermöglicht die Protokollierung der 6-Part-Differenzierung innerhalb weniger Minuten nach der vollautomatischen Entnahme von Blutproben durch den Analysator.

Kosten

Von den genannten Vorteilen der xE-IG MASTER Software kann jeder Benutzer des xE-2100 profitieren, ohne dass – im Vergleich zur 5-Part-Differenzierung – zusätzliche Kosten für Reagenzien entstehen.