

Die Liquormessung an den Systemen der XE-2100- und XT-Serie mit Scattergramminterpretation

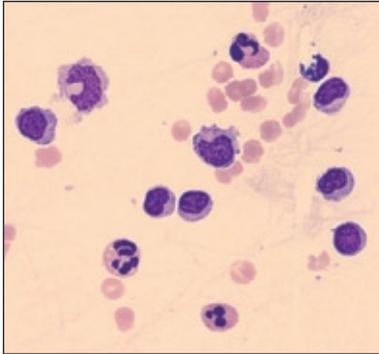


Abb. 1 Leukozyten im Liquor

Die Liquormessung ist ein wichtiger Bestandteil der Diagnostik von Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS), z. B. bei Multipler Sklerose, gutartigen oder bösartigen Tumoren, angeborenen Erkrankungen oder Hirnhautentzündung. Für die Diagnose der verschiedenen Krankheitsbilder sind eine exakte Bestimmung der Zellzahl und häufig auch eine morphologische Differenzierung notwendig, vor allem in Bereichen normaler Zellzahlen. Physiologisch sind nur wenige Zellen (1-5 Zellen/ μL) enthalten. Im Normalfall ist der Liquor wasserklar und farblos.

Möglichkeiten der Zellzahlbestimmung

In einigen Laboratorien erfolgt die Bestimmung der Liquorzellzahl am Hämatologiesystem und in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer. Nach wie vor gilt die manuelle Zählmethode als Referenzmethode und ist nicht immer zu ersetzen. Sie ist jedoch sehr zeitaufwändig und unterliegt aufgrund der geringen Standardisierbarkeit zahlreichen Störeinflüssen und Fehlermöglichkeiten (z. B. Probenmenge, Pipettierfehler, statistische Zählungenauigkeit). So kann zum Beispiel bei einer Zellzahl von 5 Zellen/ μL bereits ein Variationskoeffizient von 25 % erreicht werden. Das Zählergebnis kann damit bei den niedrigen Zellkonzentrationen unverlässlich sein.

SYSMEX hat sich in den letzten Jahren gemeinsam mit seinen Kunden viel mit dieser Problematik beschäftigt. Heute können Studien bestätigen, dass die Messungen von Körperflüssigkeiten (einschließlich Liquor) an den Geräten der XE-2100- und XT-Serie mit guten Messergebnissen möglich sind. Diese Ergebnisse haben zu einer legalen Erweiterung der Zweckbestimmung für die Hämatologie-Analysegeräte XE-2100 und XT-Serie sowohl in Europa als auch in den USA geführt. Die Zulassung durch die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) erlaubt für beide Gerätetypen folgende Messbereiche: Leukozyten $> 0,050 \times 10^3$ Zellen pro μL , Erythrozyten $> 0,01 \times 10^6$ Zellen pro μL . ⁽¹⁾

Eine Studie des Instituts für Laboratoriumsmedizin des Klinikums Minden zeigt jedoch speziell für Liquorproben neurologischer Patienten auch in niedrigeren Bereichen gute Ergebnisse, insbesondere mit sehr guter Rate für richtig negative Ergebnisse. ⁽²⁾

Viele SYSMEX-Anwender nutzen diese Erfahrungen und etablieren die Messmethode an den Systemen der xE-2100- und xT-Serie zusätzlich im Labor. Die Vorteile dieser Messmethode sind nicht nur die einfache und schnelle Durchführung, sondern auch die Anfärbung der Zellen mit einem Fluoreszenzfarbstoff.

Durchführung der Liquormessung am Hämatologiesystem

Wie bereits in der SYSMEX Lab Info über automatisierte Messung von Körperflüssigkeiten beschrieben, sollte stets eine Leerwertmessung für das große Blutbild (BB) am Gerät durchgeführt und geprüft werden, bevor die eigentliche Probe gemessen wird. ⁽³⁾

Vor der Messung sollte der Liquor auf Klarheit, Trübung oder Färbung beurteilt und danach gründlich und vorsichtig durchmischt werden. Im Anschluss sollte die Messung erfolgen. Im Analysegerät muss das Profil für ein BB + DIFF angewählt sein. Das Leukozytenergebnis sollte immer aus dem DIFF-Kanal verwendet werden.

Warum sollte die Gesamtleukozytenzahl im Liquor aus dem DIFF-Kanal verwendet werden?

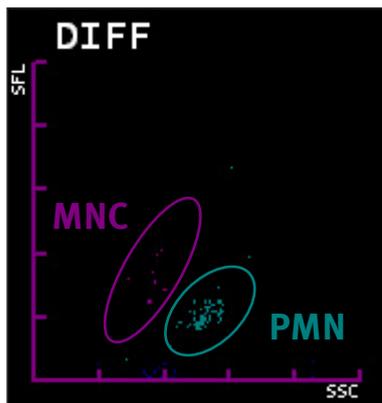


Abb. 2 DIFF-Kanal-Scattergramm der xE-2100- und der xT-Serie: Im Scattergramm des DIFF-Kanals kann man 2 getrennte Populationen erkennen. Die mononukleären Zellen (rosa) liegen im Bereich für die Lymphozyten bzw. Monozyten, und die polymorphkernigen Zellen (blau) liegen im Bereich für die Granulozyten.

Im DIFF-Kanal werden die Zellen mit einem Fluoreszenzfarbstoff angefärbt. Pro Zelle werden die Signale für die Fluoreszenzintensität (SFL) und das Seitwärtsstreuung (SSC) ausgewertet. Ausdrücklich nicht erfasst wird in diesem Kanal die Größe von Partikeln, was die gleichbleibend niedrigen Leerwertmessungen sicherstellt: Durch die Fluoreszenzmessung im DIFF-Kanal werden ansonsten mögliche Interferenz-Ursachen, wie z. B. Luftblasen und nicht-zelluläre Partikel, nicht mit angefärbt und können somit mit der Zählung nicht interferieren.

Auch bei niedrigsten Zellkonzentrationen ist ein genaues Zählergebnis unter Berücksichtigung einer zusätzlichen Scattergramm-Beurteilung möglich. Dabei sollte das Scattergramm auf das Vorhandensein von Störeinflüssen wie Zellfragmente, Tumorzellen, Zellverbände oder Bakterien hin beurteilt werden. Eine automatische Differenzierung der Zellen im Gerät ist ab 100 Zellen/ μ L möglich. Im niedrigen Konzentrationsbereich unter 100 Zellen/ μ L können die Zählergebnisse nicht mehr verlässlich angegeben werden. Jedoch ist die Zellverteilung im Scattergramm optisch sichtbar und es kann zwischen mononukleären und polymorphkernigen Zellen unterschieden werden.

Aufrufen des Leukozytenergebnisses aus dem DIFF-Kanal

Die Probe muss dafür im Datenspeicher (Explorer) blau unterlegt werden. Je nach Geräteeinstellung muss evtl. der Button »Letzte 20« aktiviert werden.

V	PROBENNR.	AUS	P/N	AKTION	FEHLEF	DATUM	Zeit	SEQ	RACK	HRCH	HISTO	IP(WBC)	IP(RBC)	IP(PLT)	TESTS	
	295467LI	M	D	MC		2008/03/07	15:45:13	177				1	1	2	CBC+DIFF+NRB	
	301516LI	M	D	DMC		2008/03/06	07:34:31	93			RP	1	6	8	12	CBC+DIFF+NRB
	301517LI	M	D	MC		2008/03/06	07:31:50	91				1	1	2	1	CBC+DIFF+NRB
	241782LI	M	D	MC		2008/03/05	05:21:41	30				1	1	2		CBC+DIFF+NRB
	273419LI	M	D	MC		2008/03/05	05:19:00	28				1	1	2		CBC+DIFF+NRB
	214952LI	M	D	MC		2008/03/05	03:33:42	7				1	1	2		CBC+DIFF+NRB
	274737LI	M	D	MC		2008/02/26	13:41:27	152			P	1	1	12		CBC+DIFF+NRB
	235099LI	M	D	DMC		2008/01/13	06:23:18	89				6	1	2	1	CBC+DIFF+NRB
	235099LI	M	D	DMC		2008/01/13	06:23:18	89				6	1	2	1	CBC+DIFF+NRB

Abb. 3a Screenshot vom Datenspeicher der xE-2100- und xT-Serie

Danach wählt man den Browser, darin die Registerkarte »Service« und das Untermenü »DIFF« im Auswahlfenster an.

DIFF	
5	11
10	15
5	7
12	0
15	0
11	0
91	
(*1)	

Analytisierte Daten	
WBC#(DIFFch)	0.104 10 ⁹ /L
Delta-WBC (DIFF/WBC)	0.833

Abb. 3b Anzeige der Gesamtleukozytenzahl WBC# (DIFFch) des Liquors aus dem DIFF-Kanal der xE-2100- und xT-Serie

Was sollte bei der Scattergramm-Beurteilung beachtet werden?

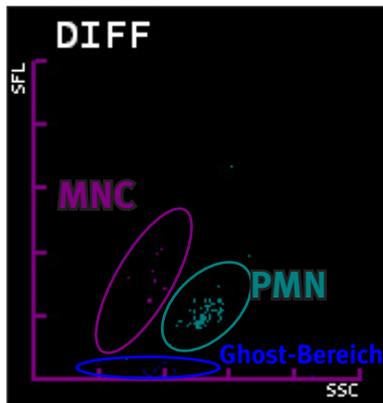


Abb. 4 Im Scattergramm des DIFF-Kanals kann man 2 getrennte Populationen erkennen. Im Bereich für die Lymphozyten liegen die mononukleären Zellen (MNC) und im Bereich für die Granulozyten liegen die polymorphkernigen Zellen (PMN). Im oberen Teil des Scattergramms liegen in diesem Beispiel keine Zellen. Im GHOST-Bereich sind vereinzelt Punkte zu erkennen, bei denen es sich im Regelfall um Erythrozyten handelt. Es gibt eine klare Abgrenzung der Populationen voneinander.

Die Zellsignale im DIFF-Kanal sollten einzeln erkennbar sein und in den vorgesehenen Bereichen für die Neutrophilen und die Lymphozyten bzw. Monozyten liegen (vergleichbar zu den Positionen der Zellpopulationen einer normalen Blutprobe). Es kann immer zu Störeinflüssen des Leukozytenergebnisses kommen, auch wenn das Scattergramm unauffällig erscheint. Im Zweifelsfall ist immer eine Kammerzählung erforderlich, vor allem in den Bereichen der normal sehr niedrigen Zellzahlen.

Wenn im oberen Teil des Scattergramms Zellen sichtbar sind, kann dies ein Hinweis auf Mesothelzellen, Makrophagen, Zellverbände oder Tumorzellen etc. sein. Diese verfälschen das Leukozytenzählergebnis. In solchen Fällen sollte das Ergebnis aus der manuellen Kammerzählung als Vergleich herangezogen werden und eine morphologische Beurteilung der Zellen im Zytospin-Präparat erfolgen.

Im unteren Teil des Scattergramms, im sogenannten »GHOST«-Bereich, liegen die Erythrozyten, die das Ergebnis jedoch in keiner Weise beeinflussen, da sie keine Nukleinsäuren enthalten und somit auch kein entsprechendes Fluoreszenzsignal generieren können. Bakterien dagegen können in diesem Bereich interferieren, da ihre DNA durch den Fluoreszenzfarbstoff angefärbt wird.

Scattergramm-Beispiele von Liquormessungen an den Geräten der XE-2100- und der XT-Serie

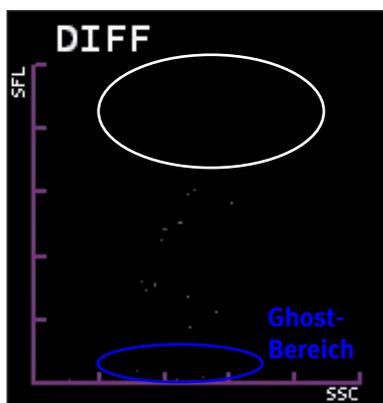


Abb. 5a Scattergramm des DIFF-Kanals

■ Beispiel 1

Das Beispiel zeigt die Liquoruntersuchung einer 78-jährigen Patientin. Die Zellsignale liegen einzeln in den vorgegebenen Bereichen für die Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten. Im oberen Teil des Scattergramms sind keine Zellsignale zu sehen. Im unteren Teil des Scattergramms (GHOST-Bereich) sind ganz vereinzelt Punkte zu sehen.

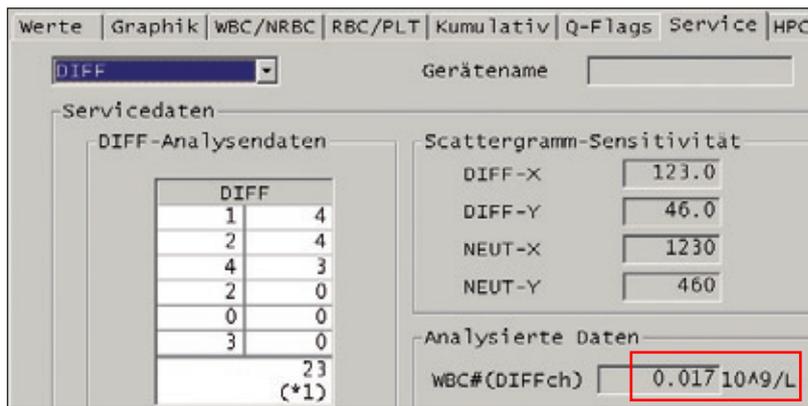


Abb. 5b WBC DIFF-Service-seite, die den Leukozytenwert aus dem DIFF-Kanal zeigt

In der Kammerzählung wurde ein WBC-Wert von 14,7 Mpt/L ermittelt. Der WBC-Wert aus dem DIFF-Kanal beträgt 0,017 Gpt/L (= 17,0 Mpt/L). Das Messergebnis stimmt hier gut mit der Kammerzählung überein. Bei der Patientin wurde kein Zellbild angefordert.

■ Beispiel 2

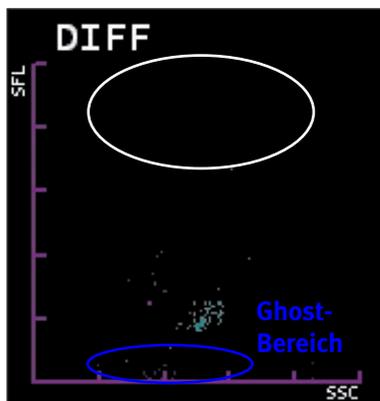


Abb. 6a Scattergramm des DIFF-Kanals

Eine 47-jährige Patientin leidet an einem Mamma-Karzinom. Bei der Liquormessung am Analysegerät sind die Populationen im DIFF-Kanal sehr gut getrennt. Die Zellsignale liegen einzeln in den vorgegebenen Bereichen für die Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten. Letztgenannte Zellen erscheinen am prominentesten im Scattergramm (in türkis). Im oberen Teil des Scattergramms sind keine Zellsignale zu sehen. Im unteren Teil des Scattergramms (GHOST-Bereich) sind ganz vereinzelt Punkte zu sehen.

Die Patientin hatte im Zellbild 74% neutrophile Granulozyten, 23% Lymphozyten und 3% Monozyten. Im Liquor war außerdem reichlich Blutbeimengung vorhanden.

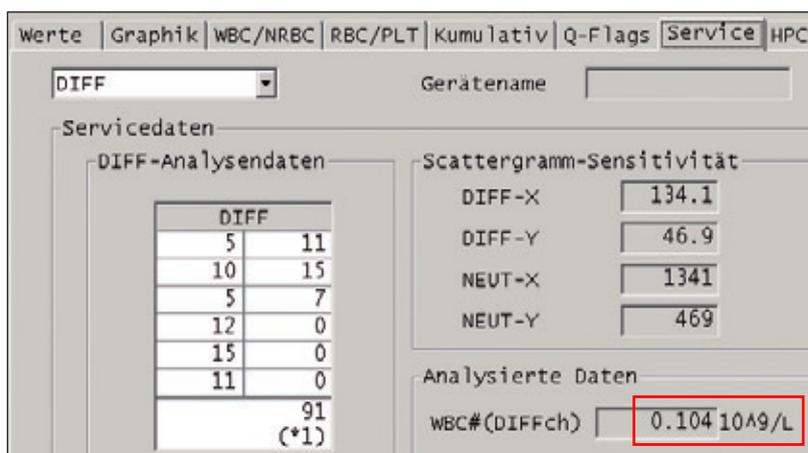


Abb. 6b Screenshot der WBC-Service-seite mit dem Leukozytenzählwert aus dem DIFF-Kanal

In der Kammerzählung wurde ein WBC-Wert von 107,0 Mpt/L ermittelt. Der WBC-Wert aus dem DIFF-Kanal beträgt 0,104 Gpt/L (=104 Mpt/L). In der Probe sind vorwiegend neutrophile Zellen enthalten. Dies lässt sich auch im Scattergramm wiedererkennen. Das Messergebnis stimmt sehr gut mit der Kammerzählung überein.

■ Beispiel 3

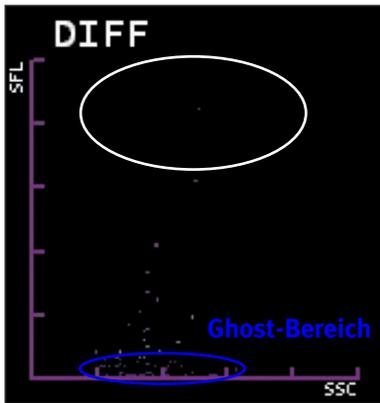


Abb. 7a Scattergramm des DIFF-Kanals

Die Abbildung zeigt eine Liquormessung einer 78-jährigen Patientin. Die Zellsignale liegen einzeln in den vorgegebenen Bereichen für die Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten. Im oberen Teil des Scattergramms ist ein Zellsignal zu sehen. Im unteren Teil des Scattergramms (GHOST-Bereich) sind viele Punkte zu sehen. Diese können unter Umständen die Leukozytenmessung beeinträchtigen.

In der Kammerzählung wurde ein WBC-Wert von 20,6 Mpt/L ermittelt. Der WBC-Wert aus dem DIFF-Kanal beträgt 0,030 Gpt/L (= 30,0 Mpt/L). Das Messergebnis weicht hier von der Kammerzählung ab.

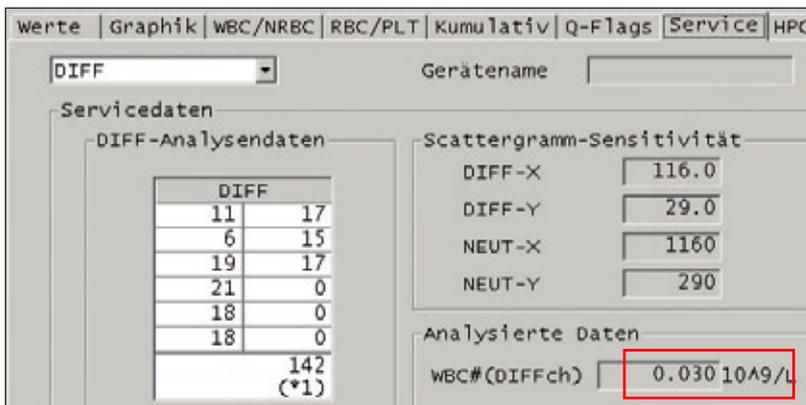


Abb. 7b Screenshot der WBC-Service-Seite mit dem Leukozytenwert aus dem DIFF-Kanal

■ Beispiel 4

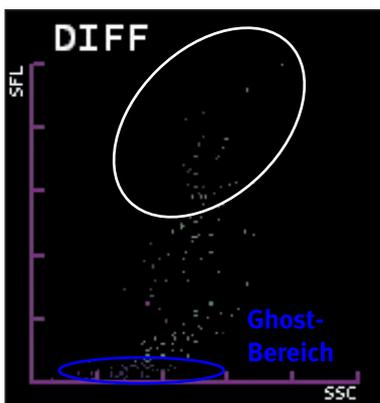


Abb. 8a Scattergramm des DIFF-Kanals

Ein fünf Monate altes Kind leidet an einem Hirntumor. In der Liquormessung sind vermehrt Zellsignale im unteren, aber auch im oberen Teil des Scattergramms sichtbar. In diesen Bereichen könnten Mesothelzellen, Makrophagen, Zellverbände, maligne bzw. atypische Zellen oder Bakterien liegen. Daher sollte der WBC-Wert in der Zählkammer kontrolliert werden und zusätzlich eine morphologische Beurteilung der Zellen erfolgen.

Das Liquorzellbild des Kindes wies 1% neutrophile Granulozyten, 29% Lymphozyten, 1% aktivierte Lymphozyten, 22% Monozyten, 34% aktivierte Monozyten, 10% Erythrophagen, 1% Leukophagen

und 2% sonstige Zellen auf. Im Präparat wurden zusätzlich atypische Zellen und ein fraglicher Plexuszellverband gefunden.

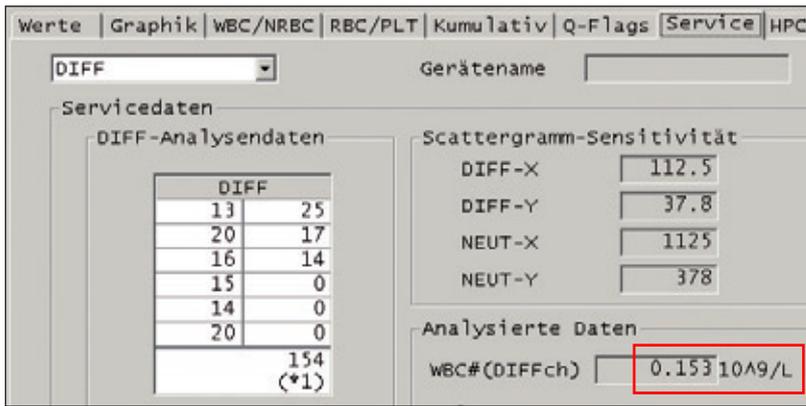


Abb. 8b Screenshot der WBC-Service-Seite mit dem Leukozytenwert aus dem DIFF-Kanal

Das WBC-Ergebnis der Kammerzählung beträgt 106,6 Mpt/L. Der WBC-Wert aus dem DIFF-Kanal beträgt 0,153 Gpt/L (=153 Mpt/L). Hier gibt es einen Unterschied in den Messergebnissen. Durch die Scattergramm-Beurteilung konnten hier jedoch Abnormalitäten im Zählbereich sicher erkannt und folgerichtig die Kammerzählung eingesetzt werden.

■ Beispiel 5

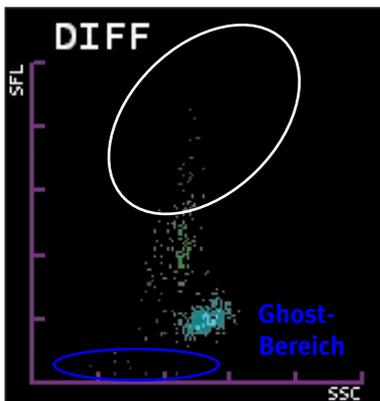


Abb. 9a Scattergramm des DIFF-Kanals

Ein 18-jähriger Patient kam mit Verdacht auf eine Meningitis in das Krankenhaus. Es wurde eine hohe Zellzahl im Analysegerät gezählt. Der Verdacht für eine Meningitis wurde bestätigt. Es sind einige Zellsignale im oberen und unteren Teil des Scattergramms sichtbar. Das Scattergramm weist einen hohen Anteil an Granulozyten auf.

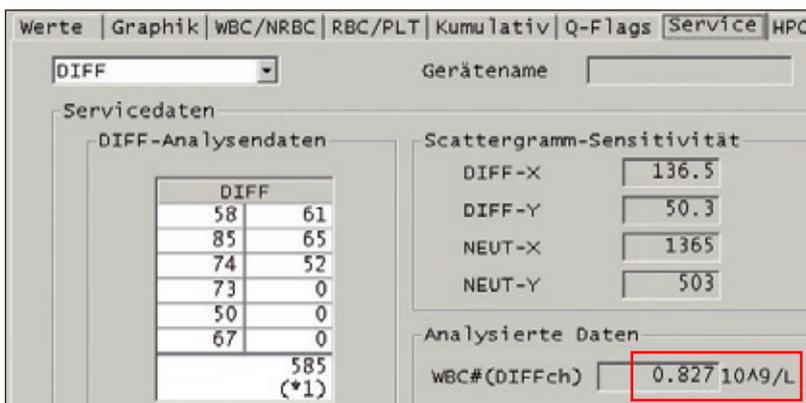


Abb. 9b Screenshot der WBC-Service-Seite mit dem Leukozytenwert aus dem DIFF-Kanal

In der Kammerzählung konnte der hohe Leukozytenwert mit 858,6 Mpt/L bestätigt werden. Der WBC-Wert aus dem DIFF-Kanal beträgt 0,827 Gpt/L (=827 Mpt/L). Beide Messergebnisse sind gut vergleichbar. Es gab hier keine Anforderung auf ein Zellbild.

SYSMEX XE-5000

Als Weiterentwicklung bietet das neueste Hämatologiesystem der Firma SYSMEX, der XE-5000, einen integrierten, speziellen Body-Fluid-Modus mit weiteren Parametern, wie z. B. HF-BF (hochfluoreszente Body-Fluid Zellen). Hier stehen Ihnen bei Interesse das Themenblatt »Fallbeispiele zur Body-Fluid-Analyse am XE-5000« und die Broschüre »XE-5000 Liquoranalytik – so einfach wie eine Vollblutanalyse« zur Verfügung.

Literaturangabe

(1) Kresie L. et al.:

Performance Evaluation of the Application of Body Fluids on the SYSMEX XE-2100 Series Automated Hematology Analyzer.

Lab. Hem. 2005, 11: 24-30

(2) Schröder B. et al.:

Performance Evaluation of Automated Leucocyte Counting in Cerebrospinal Fluid (CSF) by the XE-2100 Compared to Manual Counting.

SYSMEX J. Int. 2004, 14: 8-12

(3) Häusler R.: »Automatisierte Messung von Körperflüssigkeiten an den Systemen der XE-2100- und XT-Serie«.

SYSMEX Lab Info Nr. 0601, 2006