

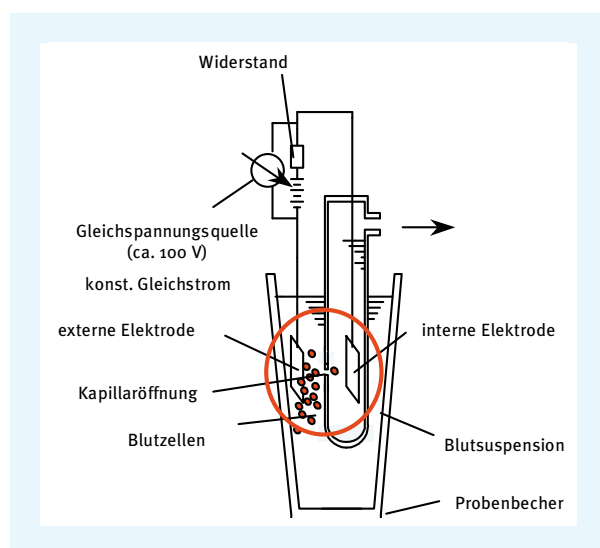
# Thrombozytenverteilungskurven: Interpretationen, Möglichkeiten und Grenzen

Xtra Vol. 17.2 | 2013 | Nr. 03

## Einleitung

Die automatische Bestimmung der Thrombozytenzahl hat die Kammerzählung in den Laboratorien seit vielen Jahren abgelöst, was die Zellzahlbestimmung massiv vereinfacht und qualitativ deutlich verbessert hat. Zählkammern liegen entweder längst verstaubt in irgendwelchen Schubladen oder werden nur noch für die Kontrolle von Werten herangezogen, die zweifelhaft erscheinen. Einer der wichtigsten Gründe für die automatisierte Zählung ist neben der Zeitersparnis der deutlich geringere statistische Fehler auf Grund der weitaus größeren Zahl der untersuchten Zellen. Trotz der Automatisierung der Zellzählung bedarf die Freigabe eines Thrombozytenwertes jedoch immer noch einer genaueren Überprüfung und technischen Validierung. Speziell im thrombozytopenischen Bereich, aber auch innerhalb des Referenzbereiches können Thrombozytenresultate auf Grund von Interferenzen beeinflusst sein (mehr dazu im Kapitel »Interferenzen«).

## Impedanzzählung



An unseren 3-part-Diff-Geräten, wie z. B. XP-300, wird die Thrombozytenzahl mit der Impedanzmessung (Widerstandsmessprinzip) bestimmt. Zur Bestimmung der Zellkonzentration werden bei allen Sysmex Hämatologiegeräten sämtliche Zellen eines genau definierten Volumens (Absolutzählung) nacheinander durch eine Kapillaröffnung geleitet (Abb. 1).

Abb. 1 Schematische Darstellung eines Messwandlers

Tritt eine Zelle durch diese Messöffnung, erzeugt sie eine elektrische Widerstandsänderung, die als elektrischer Impuls gemessen wird. Dabei ist die Größe des analysierten Impulses direkt proportional zur Größe des Partikels, der die Messöffnung passiert hat. Das Gerät misst dabei auch die Anzahl der Impulsänderungen in einer vorgegebenen Zeit. Überschreitet die Impulszählung ein gewisses Zeitlimit, so kann dies als Hinweis auf eine Verstopfung der Kapillare deuten und die Analyse wird als fehlerhaft erkannt und entsprechend markiert.

### Absolutzählung versus Relativzählung

Die Absolutzählung ist dadurch definiert, dass ein genaues Volumen einer bestimmten Verdünnung ausgezählt wird. Alternativ hierzu gibt es Systeme, die kein genau definiertes Volumen auszählen, sondern alle Partikel erfassen, die in einer festgelegten Zeiteinheit erfasst werden. Hier muss jedoch meist an mehreren Kapillaren gemessen werden, um Fehler durch eine Verstopfung an der Kapillare (z. B. durch Mikrogerinnsel oder Fibrinfäden) zu erkennen. Alle Sysmex Analysensysteme arbeiten nach dem »Absolut-Zählprinzip«.

Alle gemessenen Impulse werden elektronisch verarbeitet und als Größenverteilungskurven angezeigt. So lassen sich durch dieses Prinzip zwei Zellpopulationen durch ihre unterschiedliche Größe voneinander trennen: Erythrozyten und Thrombozyten.

### Hydrodynamische Fokussierung

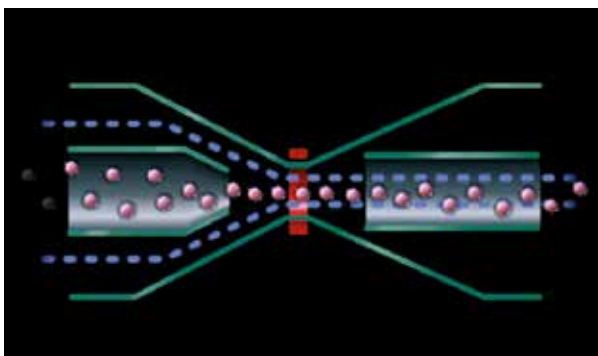
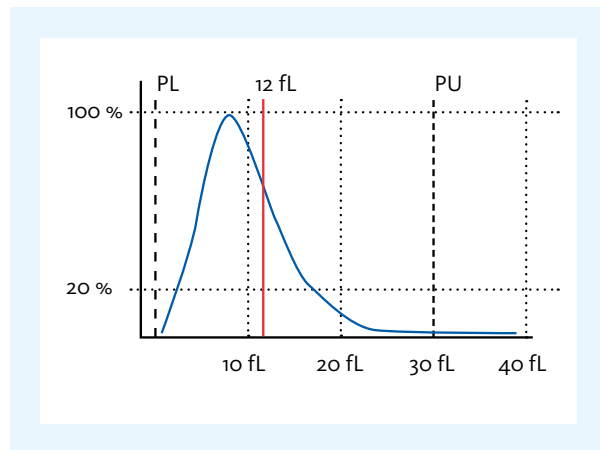


Abb. 2 Hydrodynamische Fokussierung

Eine weitere Qualitätssteigerung kann durch die hydrodynamische Fokussierung (HDF; Abb. 2) erreicht werden. Hierbei werden die Zellen, wenn sie durch die Kapillare treten, mit einem Mantelstrom umhüllt, so dass sie die Messöffnung einzeln und zentral passieren. Auf diese Weise werden Störsignale verhindert, die durch Rezirkulation oder Koinzidenzen entstehen können. Gleichzeitig wird durch die HDF die Messöffnung permanent gespült, so dass Verstopfungen effektiv minimiert werden können.

### Thrombozyten-Volumenverteilungskurve (PLT-Histogramm)



Die Trennung zwischen der Erythrozyten- und Thrombozytenpopulation geschieht automatisch mittels flexibler Diskriminatoren. Thrombozyten haben eine durchschnittliche Größe von 8 – 12 fL und können mit der Impedanzmethode in einem Bereich zwischen 2 fL und 30 fL erfasst werden. Der untere Diskriminator (PL) wird im Bereich ab 2 fL gesetzt, der obere Diskriminator (PU) wird bis zu einer Grenze von 30 fL gesetzt.

**Abb. 3** Schematische Darstellung einer normalen Thrombozytenverteilungskurve

Beide Diskriminatoren sind innerhalb dieser Grenzen flexibel und werden automatisch je nach Verlauf der Volumenverteilungskurve gesetzt. Eine optimale Trennung von Erythrozyten und Thrombozyten ist am Verlauf der Histogrammkurve (Abb. 3) zu erkennen: eine »optimale« Kurve einer jeden Population startet und endet auf der Basislinie.

Thrombozyten können so mit einer hohen Genauigkeit gemessen werden. Allerdings sollte der Anwender immer bedenken, dass Thrombozyten, die größer als 30 fL sind (z.B. Riesenthrombozyten, Thrombozytenaggregate), nicht im Zählwert der Thrombozyten (PLT) erfasst werden können, weil Partikel ab 30 fL automatisch den Erythrozyten zugeordnet werden. Umgekehrt werden Erythrozyten bzw. Erythrozytenfragmente innerhalb der Thrombozytenpopulation mitgezählt, wenn ihr Volumen geringer ist als der Grenzwert des oberen Diskriminators PU (siehe auch Kapitel »Interferenzen«).

### Zusatzparameter: P-LCR, PDW, MPV und PCT

Neben der Thrombozytenzahl (PLT) gibt es verschiedene Zusatzparameter, die weitere Informationen liefern können: P-LCR, PDW, MPV und PCT.

#### P-LCR (Platelet large cell ratio)

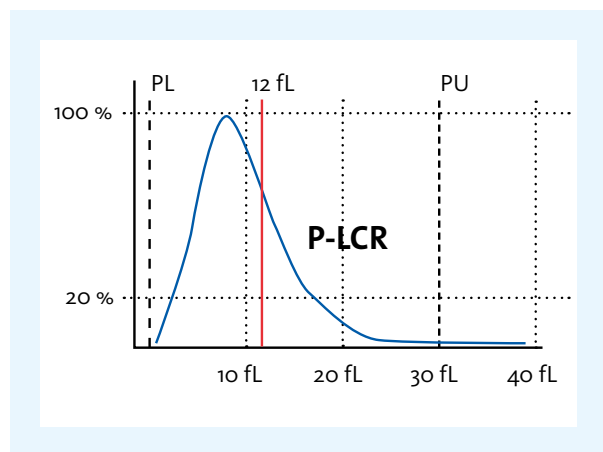


Abb. 4 Schematische Darstellung des P-LCR

Der P-LCR gibt den Anteil der großen Thrombozyten mit einem Volumen > 12 fL an. Neben den beiden flexiblen Diskriminatoren, die die Volumenverteilungskurve eingrenzen, gibt es zudem einen festen Diskriminator bei 12 fL (siehe Abb. 4). Der Anteil der Thrombozyten > 12 fL im Verhältnis zur Gesamtzahl der Thrombozyten wird in % dargestellt.

Der Normbereich liegt bei 15 – 35 %. Eine Erhöhung dieses Parameters kann ein Hinweis auf Thrombozytenaggregate, Mikroerythrozyten und Riesenthrombozyten sein.

#### PDW-SD (Plättchen-Verteilungsbreite, platelet distribution width)

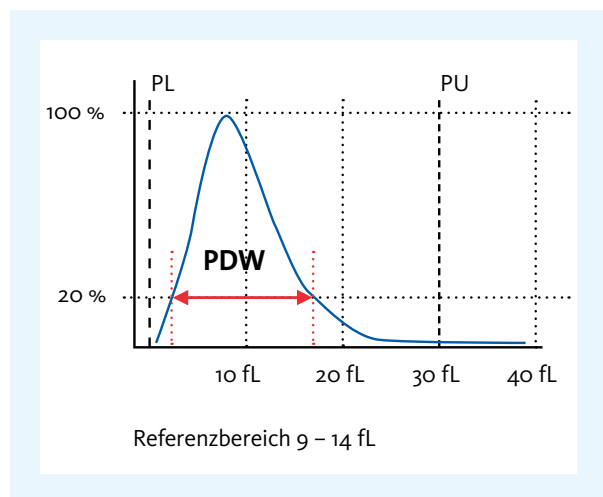


Abb. 5 Schematische Darstellung des PDW-SD

Der PDW-SD gibt die Verteilungsbreite der Thrombozyten, gemessen bei 20 % relativer Höhe der Kurvengesamthöhe, an (siehe Abb. 5).

Der PDW liegt im Normalfall in einem Bereich von 9 – 14 fL. Eine Erhöhung des PDW ist ein Hinweis auf eine Anisozytose der Thrombozyten.

### MPV (mittleres Plättchen-Volumen)

Dieser Parameter gibt eine Aussage über das mittlere Plättchenvolumen, gemessen zwischen dem unteren Diskriminator PL und dem oberen Diskriminator PU. Der Normbereich liegt bei 8 – 12 fL.

Berechnet wird der MPV wie folgt:  $MPV = PCT (\%) / PLT (x 10^3/\mu L)$

### PCT (Plättchenkrit)

Der Plättchenkrit entspricht der Summe der einzelnen Thrombozytenvolumina und ist somit das Äquivalent zum Hämatokrit der Erythrozyten (Impulshöhensummierung).

Liegt eine abnormale Höhe der Volumenverteilungskurve am unteren oder am oberen Diskriminator vor, so dass einer oder mehrere der oben genannten Parameter nicht mehr bestimmt werden können, so werden diese Parameter als » - - - « dargestellt. Zusätzlich wird der Thrombozytenwert markiert und der Analysator generiert einen Hinweis. Daher sollte besonders in diesen Fällen die Richtigkeit des Ergebnisses überprüft werden. Eine fachkundige Beurteilung der Histogrammkurve kann hierbei oft weiterhelfen.

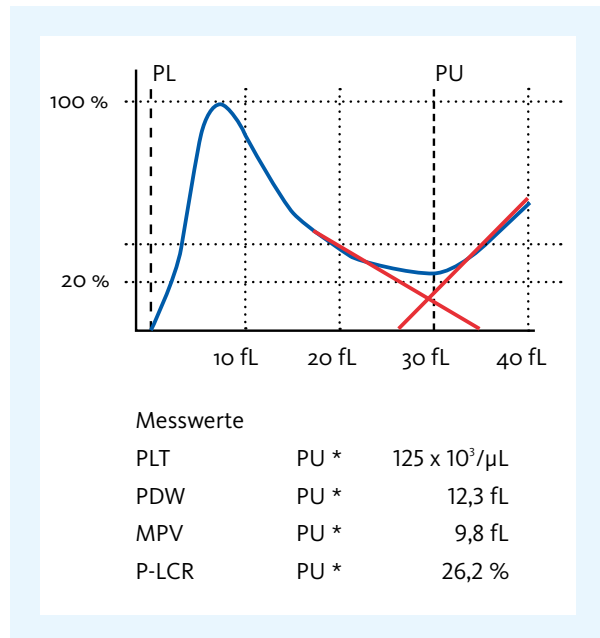
### Abnormale Thrombozytenverteilungskurven

Eine optimale Trennung von Erythrozyten und Thrombozyten ist am Verlauf der Histogrammkurve zu erkennen: die Kurve startet und endet auf der Basislinie (siehe Abb. 3).

Bei überlappenden Volumina der beiden Zellpopulationen kommt es zu unterschiedlichen Kurvenverläufen, die durch das Gerät registriert werden und entsprechende Warnhinweise zur Folge haben (Bsp. Meldung XP-300: »PU«; Meldung 5-part-Analysensysteme: »PLT abnormale Verteilung«). In diesen Fällen bedarf das Thrombozytenresultat ggf. einer weiteren Überprüfung. An den 5-part-Diff-Systemen der XN-Serie stehen dafür je nach Gerätekonfiguration verschiedene Methoden zur Verfügung, mit denen Thrombozyten anhand ihres RNA-Gehaltes gemessen werden können. Die fluoreszenzoptische Messung ermöglicht dabei die PLT-Zählung selbst in niedrigsten Bereichen mit aussergewöhnlich hoher Präzision und Richtigkeit. Sie bietet zudem eine sehr gute Vergleichbarkeit zur Referenzmethode (CD41/CD61).

Im Folgenden wollen wir Hilfestellung geben, welche Thrombozytenwerte in der Impedanzmessung aufgrund von Interferenzen eher nur leicht beeinflusst sein können und welche Ergebnisse auf jeden Fall eine weitere Handlungsweise erfordern.

Zur genaueren Beurteilung eines Thrombozytenhistogramms teilt man die Kurven schematisch in drei verschiedene Kategorien ein. Der Einfachheit halber bezeichnen wir diese »abnormalen« Kurven im Folgenden als A-, B- und C-Kurven. *Eine Einteilung dieser Kurven nach diesem Schema ist natürlich nicht immer möglich. Zweifelhafte Ergebnisse sollten daher immer überprüft werden!*

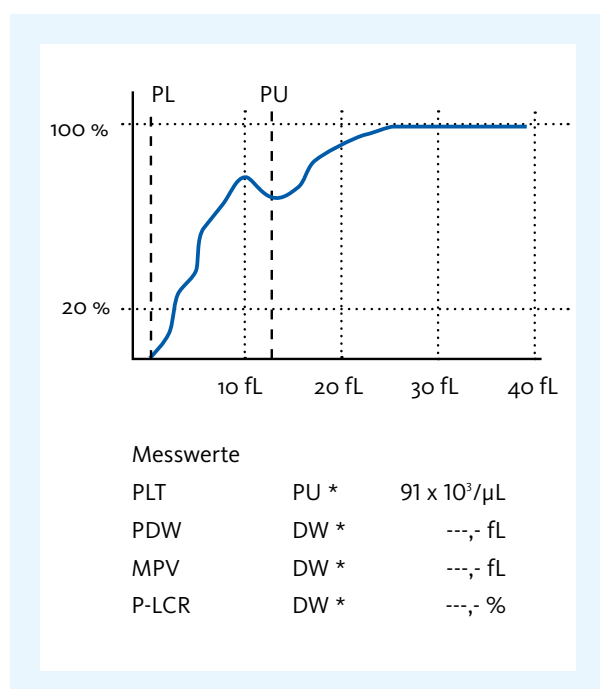


**»A-Kurve«**

Das Bild zeigt eine typische A-Kurve: die Histogramm-Kurve kommt nicht auf die Basislinie zurück. Thrombozyten- und Erythrozytenvolumina überlappen leicht, so dass beide Zellpopulationen technologisch nicht eindeutig getrennt werden können. Da die Überlappung der beiden Zellpopulationen auf beiden Seiten des Diskriminators in etwa gleich ist, wird ein normaler Thrombozytenwert bei einem MCV ≥ 60 fL häufig durch weiterführende Technologien bestätigt. Hinweise auf Thrombozytenaggregate (»WL«-Flag oder »PLT-Aggregation«) müssen beachtet werden und erfordern in den meisten Fällen eine erneute Abnahme.

**Achtung:**

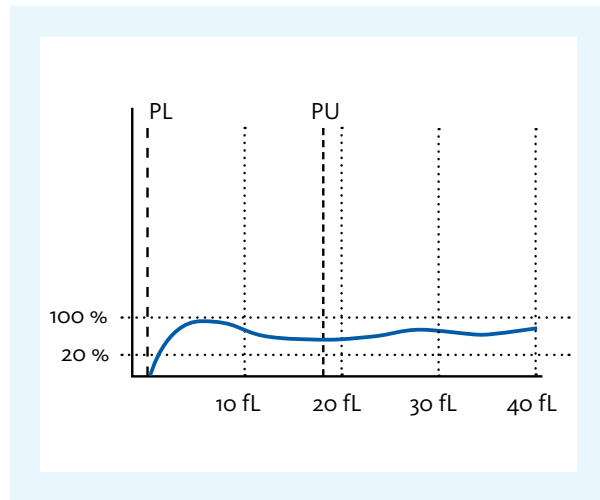
Bei extremer Mikroerythrozytose (MCV < 60 fL) wird eine weitere Überprüfung des Thrombozyten-Ergebnisses mit alternativen Methoden dringend empfohlen. Unbekannte Thrombozytopenien bedürfen einer weiteren Untersuchung auf Thrombozytenaggregation (Ausschluss einer Pseudothrombozytopenie).



**»B-Kurve«**

Die Abbildung zeigt eine typische Histogramm-Kurve bei massivem Vorkommen von Fragmentozyten oder extremer Mikroerythrozytose. Eine Trennung von Thrombozyten und Erythrozyten ist durch eine volumetrische Methode (Impedanzmessung) nicht möglich.

Das Thrombozytenergebnis kann auf Grund von Interferenzen stark abweichend sein und muss in jedem Falle mit einer alternativen Methode überprüft werden. Mögliche Ursachen sind: Fragmentozyten, extreme Mikroerythrozytose, PLT-Aggregation (eine Wiederholungsmessung mit der gleichen Technologie wird nicht empfohlen, da der »Fehler« reproduziert würde).



### »C-Kurve«

Die Abbildung zeigt eine typische Histogrammkurve, z. B. bei einer ausgeprägten Thrombozytopenie mit Vorkommen von Riesenthrombozyten. Der Diskriminator findet keine Trennung – es ist keine Talkkurve zu erkennen. Auf Grund des Kurvenverlaufes ist der Grund der Interferenzen eher auf thrombozytärer Seite zu vermuten: Riesenthrombozyten oder Thrombozytenaggregate könnten hier die Ursache sein. Sowohl eine Pseudothrombozytopenie als auch eine Thrombozytenaggregation sollten ausgeschlossen werden.

Eine abnormale Thrombozytenverteilung am unteren Diskriminator ist eher selten. Ausgelöst wird dies durch ein vermehrtes Auftreten von Partikeln mit einem Volumen von ca. 2 fL. Ursache hierfür können Zelltrümmer im gemessenen Probenmaterial, Verschmutzung der Kapillare oder durch Bakterien verunreinigtes Reagenz sein. In diesem Fall sollte der Leerwert des Gerätes überprüft werden. Falls dieser nicht im korrekten Bereich liegt, sollte das Gerät gespült und gegebenenfalls das Reagenz getauscht werden.

## Zusammenfassung: Analytische Interferenzen in der Thrombozytenanalyse

### Riesenthrombozyten

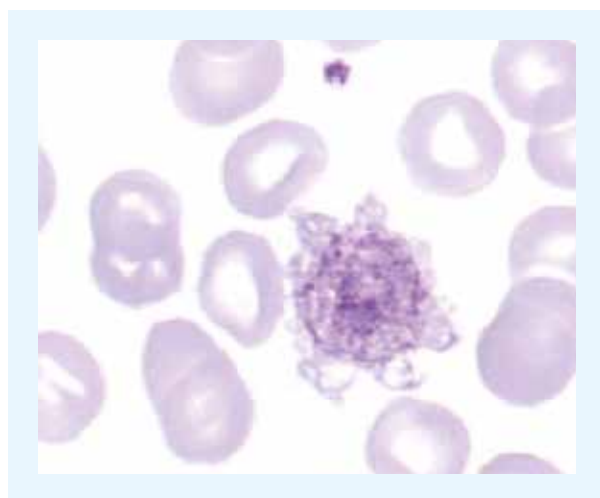


Abb. 6 Riesenthrombozyten

Als Riesenthrombozyten werden sehr große Thrombozyten bezeichnet (Abb. 6). Riesenthrombozyten können angeborene Erkrankungen, wie das Bernard-Soulier-Syndrom, als Ursache haben, können aber auch »Begleiterscheinungen« von erworbenen Erkrankungen, wie der essentiellen Thrombozythämie (ET), sein. Retikulierte Thrombozyten (große unreife Thrombozyten) entstehen häufig bei einem gesteigerten Thrombozytenbedarf (gesteigerte Neubildung). Sie sind ein bis zwei Tage alte Thrombozyten, die durch Abschnürung aus den Megakaryozyten gebildet werden. Retikulierte Thrombozyten sind größer als reife

Thrombozyten. Ein erhöhter Wert von retikulierten Thrombozyten ist ein Anzeichen dafür, dass das Knochenmark sehr aktiv ist und vermehrt neue Thrombozyten gebildet werden. Das Knochenmark reagiert damit, größere Thrombozyten von den Megakaryozyten abzuschneiden (z. B. bei einer AITP). Wie schon beschrieben, werden die Thrombozyten messtechnisch entsprechend ihrer Größe von den Erythrozyten getrennt und separat gezählt. Riesenthrombozyten oder retikulierte Thrombozyten können auf Grund ihrer Größe oberhalb des Thrombozytenschwellenwertes (Grenzwert für den oberen Diskriminator PU) liegen. Sie können selbst die gleiche Größe wie Erythrozyten haben. Dadurch kann es ggf. bei automatisierten Messmethoden, die rein nach der Volumentrennung verfahren, in extremen Fällen zu einem Zählproblem kommen, indem diese großen Thrombozyten fälschlicherweise als Erythrozyten gezählt werden. Es wird eine entsprechende Warnmeldung vom System generiert, wird sie jedoch missachtet, kann z. B. eine Pseudothrombozytopenie übersehen werden. Um eine korrekte Thrombozytenzahl zu erhalten, muss der Wert somit kontrolliert werden.

### Thrombozytenaggregation, EDTA-Unverträglichkeit

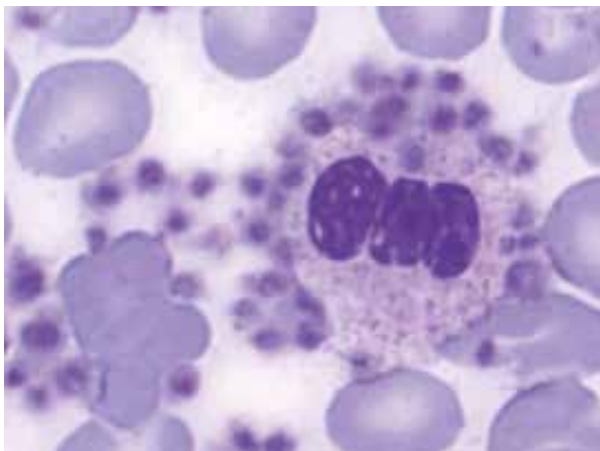


Abb. 7 Satellitose

Ein fehlerhaft niedriger Thrombozytenwert ist häufig die Folge von Thrombozytenaggregaten oder seltener auch von Satellitenbildung. Thrombozytenaggregate können durch Aktivierung der Thrombozyten, z. B. abnahmebedingt bei schwieriger Venenpunktion oder anderen Möglichkeiten der Fehlabnahme, entstehen. Aber auch Antikoagulant-abhängige Thrombozytenaggregation kann auftreten. Hierbei handelt es sich meistens um eine EDTA-Unverträglichkeit. In selteneren Fällen können aber auch die Antikoagulantien Citrat oder Heparin die Ursache sein. Auch die

Satellitenbildung ist ein EDTA-abhängiges Phänomen. Diese durch ein Antikoagulant verursachten Thrombozytenaggregationen stellen *in vivo* kein Problem dar. Lediglich nach der Abnahme kann dieses Phänomen zu einer falschen Zellzahlbestimmung führen.

Die Richtigkeit einer unerwartet niedrigen Thrombozytenzellzahl sollte immer überprüft werden. In vielen Fällen wird zwar vom Hämatologiesystem eine entsprechende Warnmeldung generiert und eine abnormale Verteilungskurve angezeigt, man muss aber auch damit rechnen, dass Thrombozytenaggregate durch eine inhomogene Verteilung in der Probe nicht vom System angesaugt wurden, sondern sich noch im Röhrchen befinden. Dies kann vor allem bei großen Aggregaten der Fall sein.



Eine Überprüfung des Röhrchens und gegebenenfalls eine neue Abnahme sind notwendig. Wurde die Thrombozytenaggregation durch das Antikoagulant ausgelöst, muss eine neue Probe mit einem alternativen Antikoagulant (z. B. Citrat statt EDTA) angefordert werden.

### Fragmentozyten

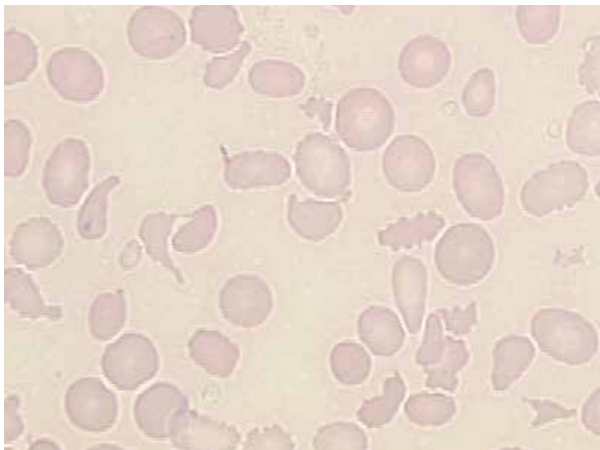


Abb. 8 Dysplastische Erythrozyten eines MDS-Patienten

Falsch hohe Thrombozytenwerte können durch Erythrozytenfragmente oder dysplastische Erythrozyten (z. B. bei MDS-Patienten) verursacht werden. Zahlreiche Fragmente sind kleiner als 25 fL und fallen somit in der Impedanzmessung unter den oberen messtechnischen Schwellenwert für Thrombozyten. Selbst mit variablen Schwellenwerten ist es nicht immer möglich, sehr kleine Erythrozyten oder Erythrozytenfragmente von den Thrombozyten zu trennen. Eine genaue Thrombozytenzahl kann in diesen Fällen durch die Bestimmung des Fluoreszenz an allen X-Class

Systemen oder an den Systemen der XN-Serie ermittelt werden. Steht diese Technologie nicht zur Verfügung muss auf eine Kammerzählung oder die Abschätzung der PLT-Zahl nach Fonio zurück gegriffen werden.

### Weiterführende Methoden zur Ermittlung der Thrombozytenzahl

Werden Thrombozytenresultate vom Analysator auf Grund von Interferenzen markiert, so ist in jedem Fall eine Beurteilung der Histogrammkurve hilfreich, um zu entscheiden, ob eine alternative Methode gewählt werden muss, um ein genaues Ergebnis zu ermitteln. Fragmentozyten oder eine extreme Mikroerythrozytose machen eine zusätzliche Beurteilung und Bestimmung des Thrombozytenwertes unumgänglich.

### Zellzählung in der Zählkammer

In Frage kommt hier die herkömmliche manuelle *Zellzählung in der Zählkammer*. Hierzu wird eine exakte Verdünnung (meist 1:20) hergestellt, dabei werden die Erythrozyten komplett lysiert und die Auszählung kann manuell am Mikroskop in der Neubauer-Zählkammer erfolgen. Allerdings ist diese Methode zeitaufwändig und bedarf einer gewissen Erfahrung und Routine.

### Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Fonio

Eine zweite Möglichkeit ist die *semiquantitative Abschätzung der Thrombozytenzahl nach Anton Fonio*. Diese Methode erlaubt eine orientierende Beurteilung der Zellzahl und eine Richtigkeitskontrolle des automatischen Zählwertes. Hierzu bedarf es eines nach Pappenheim gefärbten Blutausstrichs. Beurteilt wird das Zählergebnis von Thrombozyten pro Blickfeld bei einer 1000-fachen Vergrößerung (Okular 10, Objektiv 100). Ein Thrombozyt pro Blickfeld (pro 1000 RBC) entspricht in etwa  $20 \times 10^3$  Thrombozyten pro Mikroliter. Es empfiehlt sich, aus mind. 10 Blickfeldern einen Mittelwert zu bilden. Erythrozyten sollten hier nahe beieinander, aber nicht übereinander liegen. Zudem ist bei der Beurteilung der Thrombozyten im Ausstrich auf Aggregate zu achten. Thrombozytenaggregate befinden sich häufig in der Fahne des Ausstriches.

### Immunologische Thrombozyten-Markierung

Eine sehr genaue Methode ist die *immunologische Markierung der Thrombozyten* mit spezifischen monoklonalen Antikörpern. Für die Membranrezeptorererkennung werden die monoklonalen Antikörper CD61 und CD41 verwendet. Diese CD61/CD41-Ratio-Methode hat seit einigen Jahren die Kammerzählung als Referenzmethode abgelöst. Von Vorteil ist die extrem gute Erkennung aller Thrombozytengrößen; der Nachteil liegt darin, dass diese Methode nicht immer routinetauglich und sehr teuer ist.

### Automatisierte Zählung mittels RNA-Anfärbung

Eine weitere und routinetaugliche Alternative ist die *automatisierte Thrombozytenzählung mittels RNA-Anfärbung* und Durchflusszytometrie an allen Sysmex 5-part-Diff-Automaten, die mit einem Retikulozytenkanal ausgestattet sind. Dabei wird die RNA der Thrombozyten mit einem patentierten Fluoreszenzmarker angefärbt, der speziell für Diodenlaser entwickelt wurde. Anschließend werden die Thrombozyten durchflusszytometrisch erfasst. Der große Vorteil dieser Methode ist, dass neben der Zellgröße die Fluoreszenzintensität ausgewertet wird und ein exaktes Ergebnis trotz Interferenzen, wie Fragmentozyten, Mikrozyten oder Riesenthrombozyten, ermittelt werden kann. Diese Technologie steht in exzellenter Korrelation zur Referenzmethode [1, 2].

### Standardisierung in der Routineanalytik

»Muss die Probenmessung nun noch einmal wiederholt werden? Muss eine alternative Methode gewählt werden oder ist das Ergebnis plausibel?« Gerade bei Laborpersonal, dessen Schwerpunkt nicht in der hämatologischen Diagnostik liegt, oder bei denjenigen, die erst wenig Routineerfahrung an einem entsprechenden Analysensystem haben, kann manchmal eine Unsicherheit entstehen, ob das Zählergebnis und alle Gerätehinweise nun richtig interpretiert worden sind.

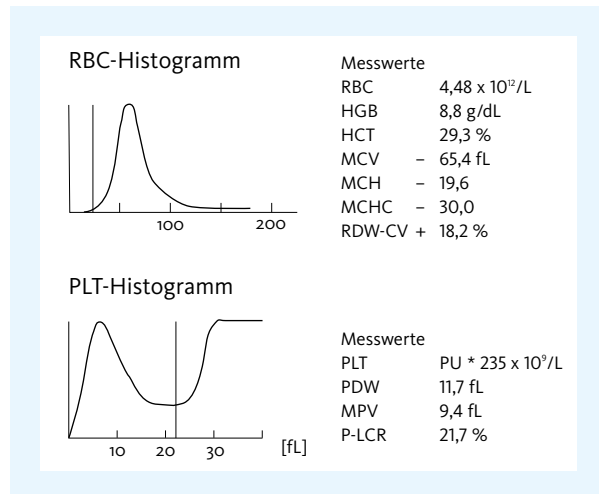
Seit vielen Jahren gibt es von Sysmex so genannte Workarea-Manager, wie zum Beispiel die *Extended IPU*, an die sich sowohl 3-part-, also auch 5-part-Diff-Systeme anschließen lassen, dessen Kern ein standardisiertes Regelwerk ist, das den Anwender bei der technischen Validierung unterstützt. In Bezug auf die Thrombozytendiagnostik lässt sich mit diesem Regelwerk das Thrombozytenresultat nahezu automatisch interpretieren. Zellzahlen, Gerätehinweise und patientendemographische Werte, wie z.B. Alter, Geschlecht oder Station, werden automatisch ausgewertet, Anomalitäten erkannt und die Folgeaktivität weitestgehend automatisch gesteuert. So werden zum Beispiel »Wiederholungsmessung mittels Fluoreszenzanfärbung (PLT-O/PLT-F)« oder der Hinweis »Ausstrich erforderlich« in den entsprechenden Fällen generiert.

Das Labor erreicht damit ein sehr hohes Maß an Standardisierung und ein einheitliches Qualitätsniveau, unabhängig vom Ausbildungsgrad des Anwenders. Probenergebnisse, die durch Interferenzen, wie z.B. Fragmentozyten oder Thrombozytenaggregate, falsch sein können, werden durch das ausgefeilte System erkannt.

Besonders für akkreditierte Laboratorien ist die Standardisierung eine große Erleichterung, denn es erspart jede Menge zusätzlicher Schulung und Dokumentation, und einem Labor, das Schichtdienste mit häufig wechselndem Personal abdecken muss, gibt es die Sicherheit, dass Validierungsprozesse einem immer einheitlichen, qualitativ hohen Standard folgen können.

## Befundbeispiele

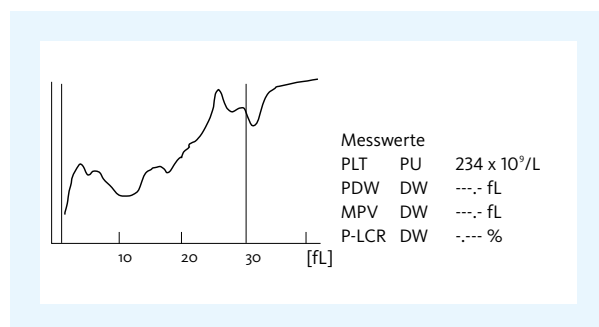
### 1. Leichte Interferenz, ausgelöst durch Mikroerythrozytose



Durch das Vorkommen von Mikroerythrozyten ist eine schmale Überlappung der Histogrammkurven von RBC und PLT zu sehen. Auf Grund des Kurvenverlaufes ist mit einer eher milden Interferenz zu rechnen.

Der PLT-Wert wurde am XT-2000i mit Fluoreszenzoptischer Messung bestätigt: PLT-O =  $226 \times 10^3/\mu L$ , die Methode nach Fonio zeigte ein Ergebnis von PLT =  $220 \times 10^3/\mu L$ .

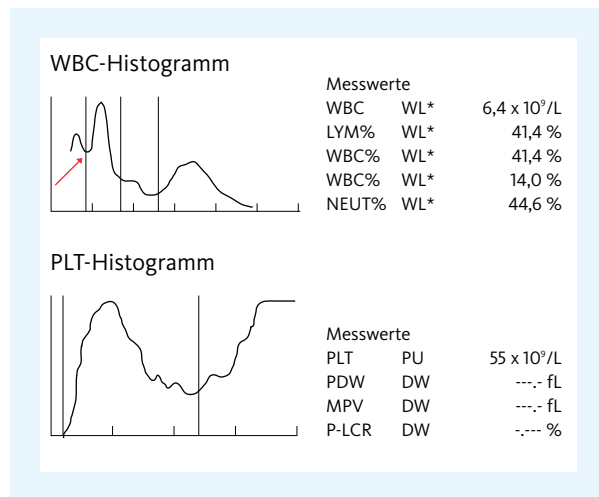
### 2. Starke Interferenz, ausgelöst durch Fragmentozyten



Die Kurve steigt treppenförmig nach oben an. Die Thrombozytenzahl ist stark von Interferenzen beeinflusst. Weiterführend muss der PLT-Wert durch eine alternative Methode überprüft werden. Eine Beurteilung des Ausstrichpräparates gibt Aufschluss über die Ursache (PLT-Aggregation oder Fragmentozytose). In diesem Fall wurde eine hohe Anzahl an Fragmentozyten im Ausstrich

gefunden, die eine Trennung der Thrombozyten von diesen Erythrozytenfragmenten mit Hilfe der Impedanzmessung unmöglich macht. Es müssen daher der PLT-Wert alternativ überprüft und eine Thrombozytopenie ausgeschlossen werden. Mit der Fluoreszenz-Thrombozytenmessung am XT-2000i wurde ein Thrombozytenergebnis von  $43 \times 10^3/\mu L$  ermittelt. Die Thrombozytopenie wurde im Ausstrich bestätigt; PLT-Aggregate konnten keine gefunden werden. Mit der Methode nach Fonio konnten gerade einmal 1–3 Thrombozyten pro Blickfeld gezählt werden.

### 3. Thrombozytenaggregation



Das Ergebnis zeigt eine Thrombozytopenie. Sowohl das WBC- als auch das PLT-Histogramm wurden als abnormal markiert. Die abnormale Verteilung der Zellen vor dem unteren Diskriminator des WBC-Histogramms ist häufig ein Hinweis auf PLT-Aggregation. Eine gezackte Thrombozytenkurve kann ein zweiter Hinweis auf Aggregate sein. PLT-Aggregation und evtl. eine Pseudothrombozytopenie durch EDTA-Unverträglichkeit sollten in Betracht gezogen und geklärt werden.

Im gefärbten Blutaussstrich dieser Probe fand man vermehrt PLT-Aggregate. Eine erneute Messung aus EDTA-Blut kurz nach der Abnahme ergab ein Ergebnis von  $150 \times 10^3/\mu L$ , die Messung 1 h nach Abnahme zeigte erneut ein PLT-Ergebnis von nur  $67 \times 10^3/\mu L$ . Bei der Messung von Citratblut konnte ein Wert von  $PLT = 210 \times 10^3/\mu L$  gemessen werden. Eine EDTA-Unverträglichkeit ist somit stark anzunehmen.

### Literatur

- [1] *Linssen J. (2000): Bedeutung der Fluoreszenz-markierten Thrombozyten-Bestimmung im Vergleich zur CD-61-markierten Thrombozyten-Bestimmung; Sysmex Xtra Vol. 4 Nr. 2, (Nov. 2000).*
- [2] *Briggs C et al. (2012): Performance evaluation of the Sysmex XN modular system. J Clin Pathol published online July 31.*