

Urs Nydegger¹

6th European Haematology Symposium

Kongressbericht über das von der Firma Sysmex unterstützte wissenschaftliche Meeting, 10. bis 12. September 2013, Lyon

Frei in Körperflüssigkeit aufgeschwemmte Zellen, ihre Grösse, Dichte, ihr Inhalt, Zellkern-, Mitochondrien- und Ribosomen-Masse, biochemische Eigenschaften, Oberflächenmarker wie Rezeptoren und deren Anzahl/Zelle, Verteilungsdichte: All dies wurde bereits in früheren Zeiten auf gefärbten Zellausstrichen oder in Suspensionen mit Spezialfärbungen entdeckt und beschrieben. Doch erst die Lasertechnologie, kombiniert mit Bioinformatik, machen den Zell-Untersucher (Cell Analyser, Flow Cytometer) zum aussagekräftigen Laborinstrument welches je nach Gerätetyp bis zu 100 000 Zellen pro Sekunde untersucht [1]. Aktuelle technische Neuerungen erlauben eine perfekte automatische Klassifizierung der Leukozyten, eine verlässliche Messung der Retikulozyten sowie das Identifizieren von unreifen Thrombozyten (Retikulothrombozyten).

Zell-Untersuchungen im Flow analysieren in kurzer Zeit eine Riesensmenge von Zellen und werden als Printout zur Interpretation bereitgestellt. Herzstück ist der Injektor, eng wie eine Kapillare, doch so gross, dass der grösste Blutzelltyp noch durchkommt und mit *forward-* und *side-ward scatter*, d.h. nach vorne und zur Seite gerichtetem Streulicht eines Laserlichts (Beamer), die zelltypischen Signale zum Analysator senden kann. Mit einem dichrotischen Spiegel wird neben dem sideward scatter das emittierte Fluoreszenz-Signal so erfasst, dass den Fotodioden ihre Messungen ermöglicht werden. Die ursprünglich schwachen Emissionssignale werden durch optisch freigesetzte Ladungsträger um mehrere Zehnerpotenzen gesteigert. Betrachtungen zu Eigenschaften von Zelloberflächen beginnen schon auf physikalischer Stufe: Topographie, chemische Zusammensetzung, biochemische Struktur, atomare Konstitution, elektronische Ladung und molekulare Vernetzung der Komponenten. Die Auswahl der besten Analysemethoden bei *Cell Analysern* richtet sich aber auch nach dem für die medizinische Auswertung erforderlichen Informationen.

Die Spectrophotometrie bietet sich hier vorrangig an. Bahnbrechende Forschungsergebnisse wurden dank dieser Technologie in Immunologie, Krebsbiologie, Stammzellbiologie, mikrobieller Pathogenese und auch in der Neurobiologie erst möglich. Mit spezifischen Detergentien, Tensi-

den und (fluoreszierenden) Farbstoffen gelingt eine gleichzeitige Analyse. Beim XN-Gerät von Sysmex z.B. mittels des WDF-Kanales für Lymphozyten, Monozyten, neutrophile/basophile und eosinophile Granulozyten, zudem des WNR-Kanales für Basophile und Kerntragende Erythrozyten, des RET-Kanales für Retikulozyten, des PLT-F-Kanales für Thrombozyten und des WPC-Kanales für Blasten und abnormale Lymphozyten. Hierfür fehlt allerdings noch die Erfahrung, womit die zahlreichen Vergleichsstudien und klinischen Anwendungsberichte doppelt wertvoll werden.

Zahlreiche Geräte

Verschiedene industrielle Unternehmen führen Geräte im Angebot – am Anwender ist es dann, das für seine Zwecke adäquate Produkt zu verwenden. Quervergleichsstudien, z.B. von Geräten wie dem Abbot Sapphire, der Siemens Advia Serie, Beckman Coulter, Amnis FlowSight und – last but not least – Sysmex werden laufend aufdatiert und publiziert [2,3,4]. Benchtop-Modelle mit auf bestimmte Anwendungszwecke fokussierter Ausgestaltung wie z.B. der Muse™ Cell Analyser erweisen ihre Dienste in bestimmten Fachrichtungen, wie der Stammzell-Aufbereitung oder in der Pharmazeutik zur DNA-Untersuchung bei alkylierender Medikamentengabe. Dabei werden diese Geräte auch in der Grundlagenforschung eingesetzt [5].

Attraktives Programm

Das Programm in Lyon 2013, wenn gleich fokussiert auf das neueste mo-

dular aufgebaute Gerät der Firma Sysmex mit dem Suffix XN, war auf klinische Anwendung ausgerichtet, welches dem Auditorium ein Update mit reichlichem klinischen Bezug über den Einsatz der XN-Technologie in verschiedensten klinischen Situationen anbot. Der Redaktion fällt auf, dass das Fachgebiet der zellulären Hämatologie mit solchen Geräten gesprengt wird: In der Hämostaseologie, Patientenbetreuung in Infektiologie, auf der Intensivabteilung, in Dermatologie, Gastroenterologie, Pneumolo-

Die Referentenliste bestätigt die Öffnung der Flow Cytometer-Anwendung in andere Subspezialitäten der Medizin als der Hämatologie.

gie und Neurologie macht man sich Flow Cytometer zunutze, was sich in den sieben grösseren Gruppen der 17 Referate ausgedrückt hat. Die Zusammenstellung der Referentenliste bestätigt diese Öffnung der Anwendung in andere Subspezialitäten der Medizin, standen doch meistens erfahrene Kliniker am Referentenpult, welche selber von labormedizinischer Kenntnis recht unbedarft waren; als Beispiel dienen die Referate von Kardiologen oder Neurologen, welche sich der Flow Cytometrie vom Krankentbett aus zunutze machen.

Zellen mit Alarm-Flagge

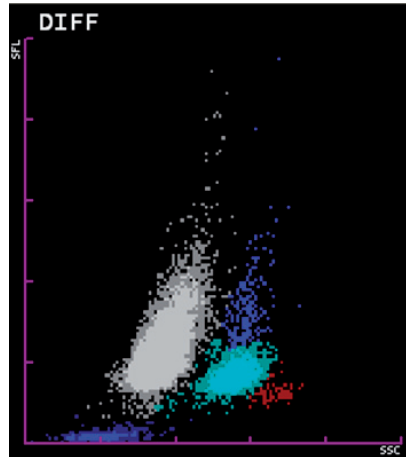
An dieser Stelle öffnet sich ein neuer Aspekt für unser Fach. Schleusen sich etwas zirkulierende Tumorzellen oder

1 Prof. Dr. med. Urs Nydegger, Redaktor «pipette»

atypische Thrombozyten durch den Injektor, so ist das Gerät infolge Patienten-spezifischer individueller Zytologie nicht vorprogrammiert. Ob nun die bioinformatische Geräteausstattung Zellen mit einer Alarm-Flagge versieht oder diese unbedacht durchlässt: Diese Fragestellungen wurden in Lyon ebenfalls aufs Tapet gebracht und sie halten die Forschung und Entwicklung aktiv. Die geräteinterne Datenbank ist bereits äusserst reichhaltig und auf die neuen Funktionen eingestellt: So wollen die Informationen bioinformatisch programmiert sein. So z.B. beim neuen Fluoreszenz-Farbstoff für die Thrombozyten-Analyse (PLT-F channel), der Korrekturfunktion für die weissen Blutkörperchen, unabhängig von ihrer Herkunft aus Blut oder Liquor (WNR channel) und nicht zuletzt die im XN-Modell neu dazugekommenen LW mode. Hier ist es uns vergönnt, die XN-Technologie beim Vitamin-B12-Stoffwechsel zu hinterfragen [6]. Bis zur Terabite-Stufe ausbaubare Softwarepakete, wie wir sie z.B. vom MALDI-TOF Gerät her kennen, kommen den Interpretations-Lösungen zugute, welche bereits «minimal residual disease»-Zustände* bei Leukämien erfassen können [7]. Allerdings muss man sich bewusst sein, dass Flow-Cytometer eben Automaten bleiben und den zytologischen Aspekt der Einzelzelle beiseite lassen – aber auch hier springt die Automatik in Form der Cell-Avision-Geräte in die Lücke [8]. Es lag denn auch der Kongressmappe ein englischsprachiges 79 Seiten starkes Faszikel mit farbigen Blutaussstrichen und Scattergrammen bei, welches Lehrbuchcharakter hat. Es wird zuerst das Gerät einleuchtend erklärt, dann wird die Analyse normaler menschlicher Blutproben dargestellt und es folgen von der banalen Neutrophilie über myelo- und lymphoproliferative Erkrankungen bis hin zur May-Hegglin-Anomalie 30 verschiedene hämatologische Erkrankungen, wie sie sich im Flow Cytometer darstellen.

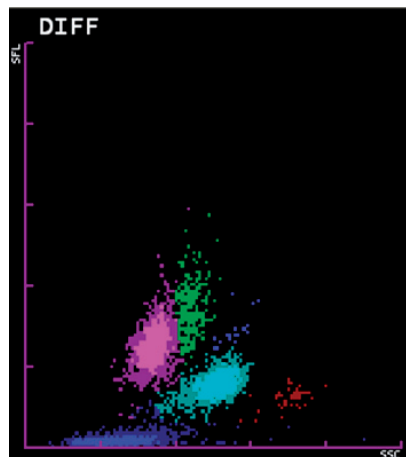
Korrespondenz:
Urs.Nydegger@risch.ch

* minimal residual disease, zu Deutsch: bei klinischer Remission mit empfindlicher Labormethodik doch noch festgestellte leukämische Zellen.



Chronische Lymphatische Leukämie

Der DIFF-Kanal zeigt eine in der SFL (side fluorescent light)-Richtung aufsteigende Wolke (grau) von reifen Lymphozyten, welche die normalen Zellen überlagert bzw. streitig macht. Die Wolke beansprucht auch in der SSC (side scattered light)-Richtung Platz. Anders als das neue XN-Gerät arbeitet der hier verwendete XE-5000 mit einem anderen Tensid und Farbstoff.



Zum Vergleich zeigt bei diesem normalen Befund der DIFF-Kanal ein normales Scattergramm; auf der neuen XN-Serie von Sysmex nennt sich dieser nun WDF-Kanal bzw. das Bild WDF-Scattergramm.

Verdankungen:

Der Autor verdankt die Abbildungen der Aufmerksamkeit von Frau Sara Schaub und Frau Nicole von Känel, labormedizinisches Zentrum Dr. Risch und den korrekten Textflow Herrn Dr. med. Max Solenthaler, Regionales Spitalzentrum Thun und Zweisimmen.

Referenzen

- 1 Sabido O. Flow cytometry (FCM) measurement of cells in suspension. In: Optics in instruments (Jean-Pierre Goure Hrsg) Wiley, Hoboken, NJ, USA 2013. ISBN 978-1-84821-244-2.
- 2 Kim SJ, Kim Y, Shin S, Song J, Choi JR. Comparison study of the rates of manual peripheral blood smear review from 3 automated hematology analyzers, Unicel DxH 800, ADVIA 2120i, and XE 2100, using international consensus group guidelines. Arch Pathol Lab Med. 2012 Nov;136(11):1408–13.
- 3 Pipitone S, Pavesi F, Testa B, Bardi M, Perri GB, Gennari D, Lippi G. Evaluation of automated nucleated red blood cells counting on Sysmex XE5000 and Siemens ADVIA 2120. Clin Chem Lab Med. 2012 Oct 1;50(10):1857–9.
- 4 Lippi G, Cattabiani C, Benegiamo A, Gennari D, Pavesi F, Caleffi A, Pipitone S. Evaluation of white blood cell count in peritoneal fluid with five different hemocytometers. Clin Biochem. 2013 Jan;46(1–2):173–6.
- 5 Geering B, Stoeckle C, Conus S, Simon HU: Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. Trends in Immunology 2013 34(8): 398–409.
- 6 Risch C, Medina P, Nydegger UE, Bahador Z, Brinkmann T, von Landenberg P, Risch M, Risch L. The relationship of leukocyte anisocytosis to holotranscobalamin, a marker of cobalamin deficiency. Int J Lab Hematol 2012 34(2):192–200.
- 7 Terwijn M, van Putten WL, Kelder A, et al (36 Autoren) High Prognostic Impact of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Detection in Acute Myeloid Leukemia: Data From the HOVON/SAKK AML 42A Study. J Clin Oncol. 2013 Sep 23.
- 8 Trachsel H. Nouvelle étape dans l'automatisation du laboratoire d'hématologie. labmed 2013; August/September: 267–273.