

# MZLA aktuell. 02/19

Der Rundbrief des Medizinischen Zentrallabors Altenburg

## LABORDIAGNOSTIK DER ANÄMIE

### FOKUS\_Retikulozyten

Die hochpräzise automatisierte Analyse der Retikulozyten ist wie ein „Fenster ins Knochenmark“. Sie ermöglicht Aussagen über die Funktionsfähigkeit der Blutbildung. Ab sofort bestimmen wir bei Anforderung der Retikulozyten eine Vielzahl neuer Parameter und Indices, wodurch die Differenzialdiagnostik der Anämie unterstützt wird. Für die Abrechnung im Rahmen der Bestimmung eines kleinen oder großen Blutbildes fällt keine weitere EBM-Ziffer an.

TEXT DR. MED. CLAUDIUS HELMSCHRODT

**R**etikulozyten sind Erythrozyten, die aus Erythroblasten durch Ausstoßung des Zellkerns entstehen und noch RNA enthalten<sup>1,2</sup>. Bis zu den 1990er Jahren war es üblich, die Retikulozyten basierend aufgrund der Erkennung der mikroskopisch sichtbaren Netzstruktur an RNA und Proteinen zu zählen. Die manuelle Zählung hat offensichtliche Quellen der Ungenauigkeit und ist sehr zeitaufwendig<sup>3</sup>. Eine automatisierte Analyse der Retikulozyten ist heutzutage wegen hoher Präzision und Reproduzierbarkeit weit verbreitet. Im Gegensatz zu der mikroskopischen Zählung von 1.000 Erythrozyten mit einem Variationskoeffizient von 20-40% wird er durch automatisierte Analyse von mehr als 10.000 Retikulozyten auf bis zu 0,2% gesenkt.

Die Fluoreszenz-Durchflusszytometrie wird verwendet, um die physiologischen und strukturellen Eigenschaften von Zellen zu analysieren, während sie durch eine schmale Flusszelle fließen.

weiter rechts auf dem Scattergramm angefundene als die Erythrozyten (blau). Von den Retikulozyten weisen die unreifen Formen (rot) die höchste Nukleinsäuremenge auf. Ihr Anteil wird prozentual berechnet.

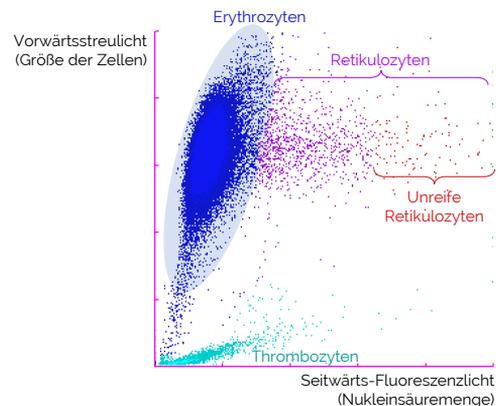


Abbildung mit Genehmigung, Sysmex Deutschland GmbH, modifiziert nach Dr. med. C. Helmschrodt

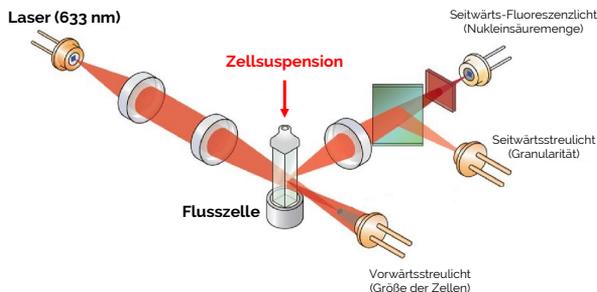


Abbildung mit Genehmigung, Sysmex Deutschland GmbH, modifiziert nach Dr. med. C. Helmschrodt

Im Retikulozytenkanal des Blutbildautomaten werden die Erythrozyten mit dem Fluoreszenzfarbstoff Polymethin markiert, der an Nukleinsäuren bindet. Danach wird die Probe zur Durchflusszelle geleitet. Hier wird die Probe mit dem Strahl eines Lasers beleuchtet, von denen jedes individuelle Rückschlüsse erlaubt: Vorwärtstrellicht (Zellvolumen), Seitwärts-Fluoreszenzlicht (Nukleinsäuremenge) und Seitwärts-Strellicht (Granularität).

Für die Unterscheidung der Retikulozyten von den Erythrozyten werden die Werte des Vorwärtstrellichts und des Seitwärts-Fluoreszenzlichts jeder Zelle auf einem sogenannten Scattergramm graphisch dargestellt. Jeder Punkt des Scattergramms entspricht einer Zelle. Da die Retikulozyten (pink) eine weitaus höhere Nukleinsäuremenge enthalten, werden sie

### INDIKATIONEN ZUR RETIKULOZYTENZÄHLUNG

- Basisdiagnostik bei Anämien zur Beurteilung der Regenerationsfähigkeit der Erythropoese
- Kontrolle des Therapieansprechens bei Eisen-, Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäuremangelanämie
- Kontrolle der Effektivität der Erythropoetintherapie

### NEUE BEFUNDPARAMETER BEI ANFORDERUNG DER RETIKULOZYTEN

#### Unreife Retikulozyten

Die Veränderung der unreifen Retikulozyten zeigt am frühesten quantitative Veränderungen der Erythropoese an: So steigt der Anteil der unreifen Retikulozyten unter einer erfolgreichen Substitutionstherapie mit Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure oder Eisen schon ab dem ersten Tag an – die Gesamt-Retikulozytenzahl erst nach einigen Tagen<sup>3</sup>. Im Rahmen der hämatologischen Erholung nach Chemotherapie steigen die unreifen Retikulozyten noch vor den neutrophilen Granulozyten an<sup>4,5</sup>. Nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation deutet ein Anteil der unreifen Retikulozyten von über 10% auf eine frühe Erholung des Knochenmarks hin<sup>6</sup>.

MZLA Versorgungszentrum GmbH

Am Waldessaum 8  
04600 Altenburg

Telefon: 03447-5688 10  
Telefax: 03447-568820

E-Mail: labor@mzla.de  
Web: www.mzla.de



**Hypo-/Hyperchrome Erythrozyten**

Der linke Teil der Abbildung zeigt die Probe einer gesunden Person mit hypochromen („entfärbten“) Erythrozyten von weniger als 0,5% – der rechte Teil eine Probe mit über 60% hypochromen Erythrozyten bei einem Patienten mit lang bestehendem Eisenmangel.

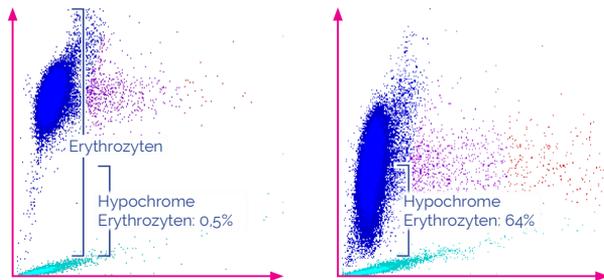


Abbildung mit Genehmigung, Sysmex Deutschland GmbH, modifiziert nach Dr. med. C. Helmschrodt

Der Parameter hypochrome Erythrozyten bezeichnet den prozentualen Anteil der Erythrozyten mit einem Hämoglobin-Gehalt < 17pg. Aufgrund der ca. 120-tägigen Lebenszeit der Erythrozyten verändert sich dieser Wert verhältnismäßig langsam. Er spiegelt die Eisenversorgung der Erythropoese über die letzten 3-4 Monate wider – selten eine Hämoglobinopathie – und ist damit ein guter Langzeitparameter. Bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung sagt ein Wert über 2,7% ein Ansprechen auf i.v.-Eisensubstitution voraus<sup>4</sup>. **Über 0,9% hypochrome Erythrozyten weisen auf einen lang bestehenden Eisenmangel und/oder eine Eisenmangelanämie hin<sup>16</sup>.**

Analog dazu gibt der Parameter hyperchrome Erythrozyten den prozentualen Anteil der Erythrozyten mit zellulärem Hämoglobingehalt über 49 pg an. Die Zunahme hyperchromer Erythrozyten kann bei Reifungsstörungen der Erythrozyten auftreten (u.a. bei Vitamin B<sub>9</sub>- oder B<sub>12</sub>-Mangel, MDS, C2-Abusus) oder bei Retikulozytose.

**Mikro-/Makrozytäre Erythrozyten**

Nicht nur der Prozentsatz „entfärbter“ Erythrozyten kann im Retikulozytenkanal bestimmt werden, sondern im Impedanzkanal auch der Anteil der „zu kleinen“ oder „zu großen“.

Die obere Teil der Abbildung zeigt die im Vergleich zur Normalverteilungskurve (blau) nach links verlagerte Erythrozytenverteilung (türkis) eines Patienten mit einem hohen Anteil von Mikrozyten – der untere Teil der Abbildung einen Patienten mit vielen Makrozyten. Die neuen Befundparameter mikro- und makrozytäre Erythrozyten geben diese Populationen als prozentualen Anteil an allen Erythrozyten aus.

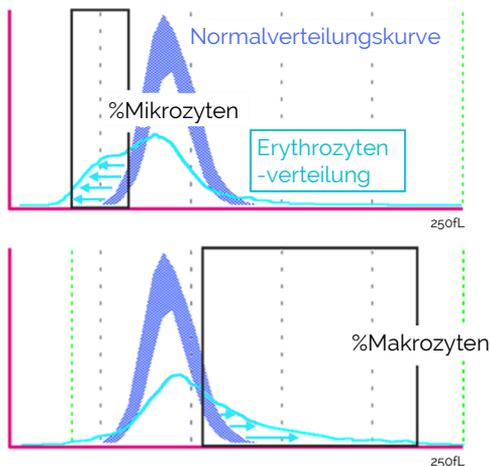


Abbildung mit Genehmigung, Sysmex Deutschland GmbH, modifiziert nach Dr. med. C. Helmschrodt

Bei bestimmten Erkrankungen (z. B. dem myelodysplastischen Syndrom) kann das mittlere Zellvolumen (MCV) innerhalb des Normbereichs liegen, obwohl eine erhöhte Anzahl von Mikrozyten oder Makrozyten vorliegt. Die Parameter mikro-/makrozytäre Erythrozyten sind deshalb nützlich, um die möglichen Ursachen einer Anämie einzugrenzen.

**%Mikro / %Hypo-Index**

Eine mikrozytische Anämie ist a. e. Folge einer Eisenmangelanämie oder einer Thalassämie. Durch Migration ist die Thalassämie nicht nur auf das Mittelmeer und den Mittleren Osten beschränkt, sondern verteilt sich über den gesamten Erdball. Von über 40 Indices ist der %Mikro / %Hypo-Index derjenige mit der größten Unterscheidungskraft zwischen Eisenmangelanämie und Thalassämie.<sup>5</sup> Ein %Mikro / %Hypo-Index von mehr als 3,7 spricht für das Vorliegen einer Thalassämie – ein Wert von unter 3,7 für eine Eisenmangelanämie (Sensitivität und Spezifität von 0,92 respektive 0,865)<sup>6</sup>.

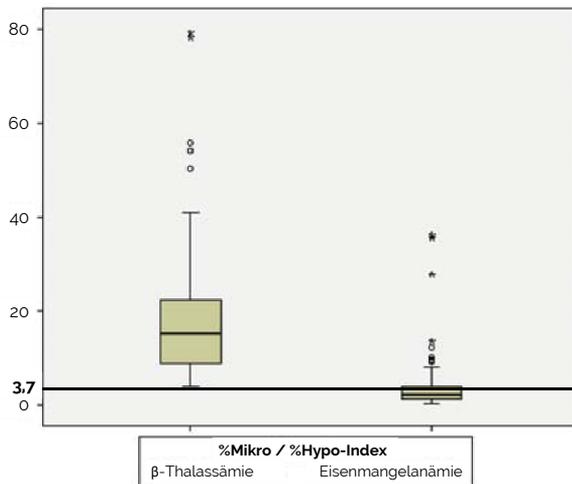


Abbildung mit Genehmigung, Sra. Urrechaga, modifiziert nach Dr. med. C. Helmschrodt

**Hämoglobingehalt der Retikulozyten (Ret-He)**

Über Bestimmung des Vorwärtsstreulichts im Retikulozytenkanal kann der Blutbildautomat den Hämoglobingehalt des individuellen Retikulozyten (Ret-He) berechnen. Da die Lebenszeit der Retikulozyten 4 Tage beträgt, kann die Bestimmung des Ret-He direkt die funktionelle Verfügbarkeit von Eisen während dieses Zeitraums widerspiegeln. **Ein Ret-He-Wert von unter 1,9 fmol spiegelt die aktuell verminderte Verfügbarkeit von Eisen für die Erythropoese wider<sup>16</sup>.**

Anhand eines ausbleibenden Anstiegs des Ret-He nach 2 bis 4 Wochen kann man Patienten identifizieren, die nicht auf eine orale Eisensubstitution ansprechen. Unter i.v.-Substitution sollte das Ret-He nach 2-4 Tagen ansteigen<sup>14</sup>. Ein Ret-He von unter 1,7 fmol an Tag 3 nach Beginn einer Vitamin B<sub>12</sub>-Substitution weist auf einen gleichzeitig vorliegenden Eisenmangel hin<sup>13</sup>. Unter Erythropoietintherapie ist das Ret-He ein Frühindikator eines Eisenmangels<sup>17</sup>.

Die klinische Bedeutung des Ret-He als zuverlässiger Marker eines funktionellen Eisenmangels unter Hämodialysepatienten ist gut etabliert<sup>7</sup>. Ein Ret-He von unter 1,9 fmol und mehr als 2,7% hypochrome Erythrozyten sollen Profiteure einer i.v. Eisensubstitution angeblich besser identifizieren als die Kombination aus einer Transferrin-Sättigung von weniger als 20% und einem Ferritin von weniger als 100 ng/ml<sup>4, 14, 15, 16</sup>.

Erniedrigt ist das Ret-He neben Eisenmangel bei Thalassämien und anderen Hämoglobinopathien. Erhöht ist das Ret-He bei Reifungsstörungen der Erythropoese (Folsäure-, Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel, MDS, C2-Abusus).

Wir beraten Sie gerne unter 03447-5688-41.

**QUELLEN**

<sup>1</sup> Seip 1953 Acta Med Scand  
<sup>2</sup> Houwen 1992 Blood Cells  
<sup>3</sup> Buttarelli 2004 Am J Clin Pathol  
<sup>4</sup> Buttarelli 2010 Am J Clin Pathol  
<sup>5</sup> Graziutti 2006 Bone Marrow Transplant  
<sup>6</sup> Molina 2007 Biol Blood Marrow Transplant  
<sup>7</sup> Piva 2015 Clin Lab Med  
<sup>8</sup> Ratcliffe 2016 Am J Kidney Dis  
<sup>9</sup> Hoffmann 2015 Clin Chem Lab Med  
<sup>10</sup> Urrechaga 2008 Clin Chem Lab Med  
<sup>11</sup> Mast 2007 Am J Hematol  
<sup>12</sup> Brugnara 1998 Int J Clin Lab Res  
<sup>13</sup> Buttarelli 2008 Am J Clin Pathol  
<sup>14</sup> KDOQI 2012 Kidney Int Suppl  
<sup>15</sup> Tessitore 2001 Nephrol Dial Transplant  
<sup>16</sup> Buttarelli 2016 Clin Chem Lab Med

**ZWEI KORREKTURFAKTOREN DER RETIKULOZYTEN**

Es gibt einen Zusammenhang zwischen Retikulozytenanteil im peripheren Blut und Regenerationsfähigkeit der roten Blutbildung im Knochenmark. Zwei Korrekturfaktoren werden beim RPI beachtet:

1. Fällt der Hämatokrit bei gleichbleibender prozentualer Retikulozytenzahl, so sinkt damit auch die absolute Retikulozytenzahl:

Hämatokrit	0,45	0,25
Erythrozytenzahl	5 Mio	3 Mio
Retikulozyten [%]	1%	
Retikulozyten, abs. [Gpt/l]	50.000	30.000

2. Mit sich verschlechternder Anämie (und zunehmender Erythropoetin-stimulation) verlassen die Retikulozyten das Knochenmark in einem früheren Reifestadium. Das verlängert die Reifungszeit der Retikulozyten im Blutkreislauf von einem auf bis zu 2,5 Tage:

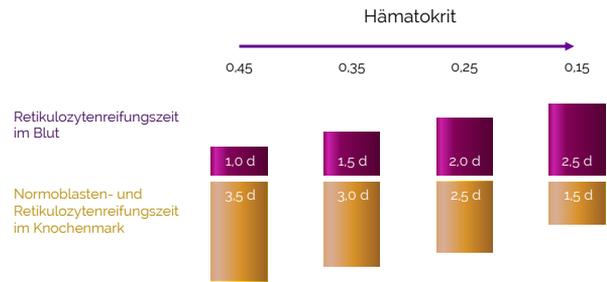


Abbildung von Dr. med. C. Helmschrodt.



Bei hohem diagnostischen Wert von Retikulozyten und assoziierten Parametern fällt keine zusätzliche EBM-Ziffer an, wenn gleichzeitig ein kleines oder großes Blutbild bestimmt wird.

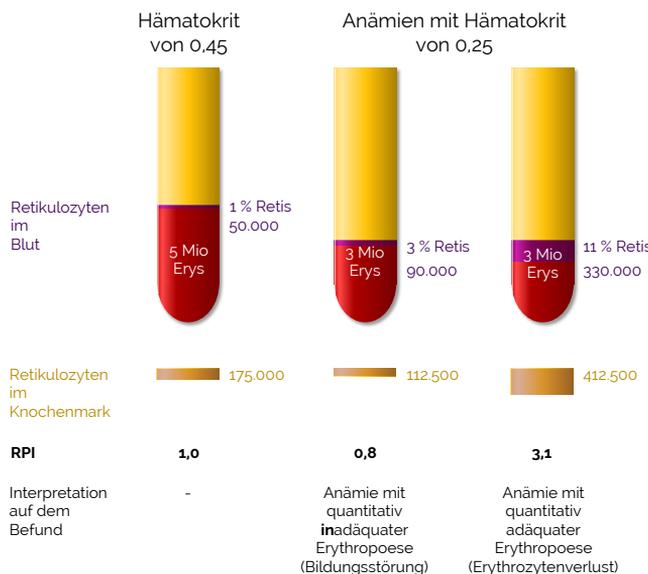
**RETIKULOZYTENPRODUKTIONSINDEX (RPI)**

Ab sofort berichten wir bei Anforderung der Retikulozyten den RPI. Das Konzept des RPI zur Beurteilung der Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks soll nun an drei Patientenproben vorgestellt werden (Es ist zu berücksichtigen, dass die Knochenmarksproduktion von Retikulozyten erst etwa 10 Tage nach einem Blutverlust ihr Plateau erreicht):

**PROBE LINKS – NORMALFALL**

**Hb im Normbereich, Bildung und Abbau der Erythrozyten im Gleichgewicht**

Bei normalem Hämatokrit und Retikulozytenzahl ist im Vergleich zum Blut die 3,5fache Menge an Retikulozyten im Knochenmark vorhanden. Der RPI von 1.0 zeigt ein normales Gleichgewicht aus Erythrozytenproduktion und -zerfall an.



**PROBE RECHTS – ANÄMIE MIT ADÄQUATER REGENERATION**

Im Vergleich zu den beiden anderen Proben ist die Retikulozytenzahl sowohl im peripheren Blut als auch im Knochenmark erhöht. Der RPI von 3,1 liegt im Bereich, der darauf hinweist, dass die Retikulozytenzahl und damit die Erythropoese für die Anämie mit einem Hämatokrit von 0,25 adäquat ist. Bei adäquat funktionierendem Knochenmark liegt am ehesten ein Erythrozytenverlust vor, z. B. eine Hämolyse oder ein Blutverlust

**PROBE IN DER MITTE – ANÄMIE MIT INADÄQUATER REGENERATION**

Auf den ersten Blick scheint eine relative Retikulozytenzahl von 3% eine deutliche Erhöhung zu sein. Die Gesamtzahl der Retikulozyten in Blut und Knochenmark (202.500) ist aber sogar geringer als beim linken Patienten (225.000), obwohl bei geringerem Hämatokrit eigentlich mehr Retikulozyten nachproduziert werden müssten, um der Anämie entgegenzuwirken. Der RPI von 0,8 weist darauf hin, dass die Menge an Retikulozyten nicht zum Ausgleich der Anämie ausreicht. Die Ursache dafür ist am ehesten eine Bildungsstörung, z. B. bei Eisen-, Folsäure-, Vitamin B<sub>12</sub>- oder Folsäuremangel. Zudem gibt es kurz nach Beginn einer Substitutionstherapie eine Latenzzeit, bis die Retikulozytenzahl adäquat wird.

MERKE

Für die Beurteilung einer Anämie sind 4 Faktoren wesentlich (s. Beiheft „Diagnostische Pfade bei Anämie“)

- Zahl der Retikulozyten (RPI) – Größe der Erythrozyten (MCV) – Farbstoffgehalt der Erythrozyten (MCH) – Vorhandensein von Hämolyseparametern (LDH, Bilirubin, ↓Haptoglobin, ...)

MERKE

Wir danken Dr. L. Braunert, MedCenter Nordsachsen Schkeuditz/Hartha recht herzlich für die kritische Durchsicht und Korrektur des Manuskripts.

## G-BA ändert „Mutterschafts-Richtlinien“ (Mu-RL)

### Urinsediment zur Abrechnung der GOP 01770 nicht mehr erforderlich

Seit 1965 war die Untersuchung des Urinsediments zum Ausschluss von Harnwegsinfektionen fester Bestandteil der Richtlinien über die ärztliche Betreuung während der Schwangerschaft und nach der Entbindung (Mu-RL). Der gemeinsame Bundesausschuss (G-BA) hat auf Grundlage des gegenwärtigen Stands der wissenschaftliche Erkenntnisse entschieden, dass die Analyse des Urinsediments als Bestandteil der Komplexziffer GOP 01770 entfällt. Bezüglich der bakteriologischen Urinuntersuchungen wird konkretisiert, dass diese erfolgen sollen, „soweit nach der Befundlage erforderlich (z. B. bei auffälligen Symptomen, rezidivierenden Harnwegsinfektionen in der Anamnese, Z. n. Frühgeburt, erhöhtem Risiko für Infektionen der ableitenden Harnwege)“.

Weitere Informationen finden sie auch unter:

- [https://www.kbv.de/tools/ebm/html/01770\\_2904368274703057608000.html](https://www.kbv.de/tools/ebm/html/01770_2904368274703057608000.html)
- [https://www.g-ba.de/downloads/40-268-5670/2019-03-22\\_Mu-RL\\_Screening-asympt-Bakteriurie\\_TrG.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/40-268-5670/2019-03-22_Mu-RL_Screening-asympt-Bakteriurie_TrG.pdf)
- BAnz AT 27.05.2019 B3



## Geänderte Entscheidungsgrenzen für das „CRP des Darms“

### Einführung der Kategorie „Grenzwertiges Ergebnis“ für Calprotectin im Stuhl

Mit Calprotectin steht ein valider, nicht-invasiver labordiagnostischer Marker zur Verfügung, der die Unterscheidung von entzündlichen und nicht-entzündlichen Darmerkrankungen und die Verlaufsüberwachung der Entzündung erleichtert. Hierbei ist Calprotectin im Stuhl gegenüber Bluttests wie CRP oder BSG deutlich sensitiver. Calprotectin ist ein wichtiger Bestandteil von neutrophilen Granulozyten, die bei einer Entzündung des Darmtraktes durch die Darmwand in das Darmlumen wandern. Die Konzentration von fäkalem Calprotectin korreliert direkt mit der Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Darmlumen.

Bislang galten ein Calprotectin von weniger als 50 mg/kg als „normal“ und von mehr als 50 mg/kg als „erhöht“. Aktuelle Studien zeigen, dass einige augenscheinlich gesunde Patienten Werte zwischen 50 und 120 mg/kg aufweisen. Dieser Wertebereich gilt von nun an als „grenzwertiges Testergebnis“. Nach 4 bis 6 Wochen sollte der enterale Entzündungsstatus mit fäkalem Calprotectin erneut bestimmt werden.



Ferner ist zu berücksichtigen, dass Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung zwischen der aktiven (inflammatorischen) und inaktiven Phase der Krankheit schwanken. In diesen inaktiven Phasen können Patienten normale Calprotectinwerte aufweisen. Bei Patienten mit einer Granulozytopenie als Ausdruck einer Knochenmarksdepression kann es zu falsch-negativen Ergebnissen kommen.

Für weitere Informationen sprechen Sie uns an oder fragen Sie Ihre Praxisbetreuerin.

## Bereit für die nächste Grippe-Welle?

### Neuer Universal-Abstrich

Ab sofort ist für PCR-Analysen und für mikrobiologische Untersuchungen nur noch ein Abstrichtupfer notwendig. Unabhängig davon, ob Ihr Patient einen Infekt der oberen Atemwege hat und Sie Influenza-Viren, RSV oder einen anderen respiratorischen Erreger nachweisen möchten, Sie den Verdacht auf eine Infektion mit Herpesviren, Gonokokken oder Chlamydien haben, können Sie diesen Abstrich verwenden. Aerobe oder anaerobe Bakterienkulturen oder auch Pilze können gleichermaßen analysiert werden. **Lediglich für den HPV-Test des Gebärmutterhalses sollten weiterhin die Bürstenabstriche verwendet werden.**

Sie müssen sich nur entscheiden, wie dick der Applikator aus Nylon-Flockfaser für die Entnahme der Probe sein soll. Es gibt einen Applikator mit Tupfer in Standardgröße zur Entnahme von Proben aus Rachen, Scheide, Wunden, After oder Stuhl und einen Applikator mit Mini-Tupfer zur Entnahme von Proben aus engen und schwer zugänglichen Stellen wie Augen, Ohren, Nase, Nasen-Rachen-Raum und Urogenitalbereich.



Ab dem 1. Oktober 2019 ist neben männlich und weiblich auch „divers“ als Geschlechtsangabe auf den Anforderungsscheinen möglich. Auf dem Laboranforderungsschein Muster 10 wird es nicht mehr zwei Ankreuzfelder für „männlich“ oder „weiblich“ geben, sondern nur noch ein Textfeld, in das ein Kürzel eingetragen wird. Die **noch vorhandenen alten Muster können aufgebraucht werden**. Bitte tragen Sie das Kürzel in das Ankreuzfeld für „männlich“ ein.

Ab dem 1. Oktober bitte nicht mehr das Geschlecht ankreuzen, sondern das entsprechende Kürzel folgendermaßen eintragen:



Aufzubrauchender Anforderungsschein



Neuer Anforderungsschein



Applikator mit Tupfer in Standardgröße für leicht zugängliche Stellen (z. B. Rachen, Wunden)

Applikator mit mini-Tupfer für schwer zugängliche Stellen (z. B. Urogenitalbereich, Ohren)

Es empfiehlt sich, den Applikator sofort nach der Entnahme der Probe in das Reagenzglas einzuführen und ins Labor transportieren zu lassen, um die Organismen zu konservieren. Werden die Tupfer bei Raumtemperatur von 20 bis 25°C aufbewahrt, wird eine Untersuchung von innerhalb 5 Tagen empfohlen; bei 4°C innerhalb von 7 Tagen; bei Aufbewahrung bei -20°C beträgt die Untersuchungsfrist 6 Monate. Für *Neisseria gonorrhoeae* sollte die Analyse innerhalb von 24 Stunden erfolgen.

## Präanalytik-Weiterbildung für Praxen im MZLA 2019



Vereinbaren Sie Ihren Termin bei uns unter

03447-5688 10

Sie sind jederzeit in unserem Labor willkommen!

**Medizinisches Zentrallabor Altenburg GmbH & Co. KG  
und MZLA Versorgungszentrum GmbH**

Am Waldessaum 8 · 04600 Altenburg

Telefon: 03447 - 5688 10  
Telefax: 03447 - 5688 20  
E-Mail: labor@mzla.de  
Web: www.mzla.de

**Medizinisches Zentrallabor Altenburg GmbH & Co. KG  
In den Waldkliniken Eisenberg GmbH**

Klosterlausnitzer Str. 81 · 07607 Eisenberg

Telefon: 036691 - 81539  
Telefax: 036691 - 81515

**Medizinisches Zentrallabor Altenburg GmbH & Co. KG  
Im Kreiskrankenhaus Delitzsch GmbH  
Klinik Delitzsch**

Dübener Str. 3-9 · 04509 Delitzsch

Telefon: 034202 - 767 711  
Telefax: 034202 - 767 702

**Medizinisches Zentrallabor Altenburg GmbH & Co. KG  
Im Kreiskrankenhaus Delitzsch GmbH  
Klinik Eilenburg**

Wilhelm-Grüne-Str. 5-8 · 04838 Eilenburg

Telefon: 03423 - 667 840  
Telefax: 03423 - 667 849