onkopedia

onkopedia leitlinien

Hämatologische Diagnostik

Leitlinie

Empfehlungen der Fachgesellschaft zur Diagnostik und Therapie hämatologischer und onkologischer Erkrankungen

DGHO DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HÄMATOLOGIE UND MEDIZINISCHE ONKOLOGIE

ÖGHO Österreichische Gesellschaft für Hämatologie & Medizinische Onkologie

SSMO SSOM SGMO

SGH+SSH

Herausgeber

DGHO Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und
Medizinische Onkologie e.V.
Bauhofstr. 12
10117 Berlin

Geschäftsführende Vorsitzende: Prof. Dr. med. Claudia Baldus

Telefon: +49 (0)30 27 87 60 89 - 0

info@dgho.de
www.dgho.de

Ansprechpartner

Prof. Dr. med. Bernhard Wörmann
Medizinischer Leiter

Quelle

www.onkopedia.com

Die Empfehlungen der DGHO für die Diagnostik und Therapie hämatologischer und onkologischer Erkrankungen entbinden die verantwortliche Ärztin / den verantwortlichen Arzt nicht davon, notwendige Diagnostik, Indikationen, Kontraindikationen und Dosierungen im Einzelfall zu überprüfen! Die DGHO übernimmt für Empfehlungen keine Gewähr.

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung ... 3
2 Einleitung ... 3
3 Zytomorphologie ... 4
3.1 Indikationen ... 4
3.2 Methodischer Hintergrund ... 4
3.3 Präanalytik ... 4
3.4 Analytik ... 5
3.4.1 Peripheres Blut (Differenzialblutbild) ... 6
3.4.2 Knochenmark ... 6
3.5 Qualitätsstandards ... 7
4 Durchflusszytometrie ... 7
4.1 Indikationen ... 7
4.2 Methodischer Hintergrund ... 8
4.3 Präanalytik ... 8
4.4 Analytik ... 8
4.5 Qualitätsstandards ... 9
5 Zytogenetik ... 9
5.1 Indikationen ... 9
5.2 Methodischer Hintergrund ... 9
5.3 Präanalytik ... 10
5.4 Analytik ... 10
5.5 Qualitätsstandards ... 11
6 Molekulargenetik ... 11
6.1 Indikationen ... 11
6.2 Methodischer Hintergrund ... 11
6.3 Präanalytik ... 12
6.4 Analytik ... 12
6.5 Qualitätsstandards ... 13
7 Histopathologie (Knochenmark) ... 14
7.1 Indikationen ... 14
7.2 Methodischer Hintergrund ... 14
7.3 Präanalytik ... 14
7.4 Analytik ... 15
7.5 Qualitätsstandards ... 15
9 Literatur ... 15
14 Links ... 16
15 Anschriften der Experten ... 16

16 Erklärung zu möglichen Interessenkonflikten 17

Hämatologische Diagnostik

Stand: Februar 2025

Erstellung der Leitlinie:

- Regelwerk
- Interessenkonflikte

Autoren: Karl-Anton Kreuzer, Peter Bettelheim, Torsten Haferlach, Andreas Rosenwald, Alicia Rovó, Julie Schanz

1 Zusammenfassung

Die hämatologische Diagnostik umfasst die korrekte Feststellung der übergeordneten Entität nach den derzeit international gültigen Klassifikationen, eine möglichst genaue Subtypisierung, die Bestimmung prognostisch relevanter und prädiktiver Parameter, die Überwachung des Therapieansprechens sowie die Charakterisierung von erworbener Therapieresistenz [17, 18].

Die nachfolgenden Ausführungen sollen den Anwendern der verschiedenen diagnostischen Verfahren kurz die derzeit gültigen Standards darlegen und den behandelnden Kolleginnen und Kollegen die Möglichkeiten und Grenzen dieser Laborinformationen skizzieren.

2 Einleitung

Eine akkurate Diagnose ist unabdingbare Voraussetzung für eine sachgerechte Therapieentscheidung in der Hämatologie. Hierzu zählt nicht nur die korrekte Feststellung der übergeordneten Entität nach der derzeit gültigen WHO-Klassifikation [17] und ICC Klassifikation [18], sondern auch eine möglichst genaue Subtypisierung, denn auch letztere kann wiederum einen wichtigen Einfluss auf die Behandlungsstrategie nehmen.

Darüber hinaus muss insbesondere vor dem Einsatz zielgerichteter Therapien sichergestellt werden, dass die biologische Zielstruktur auf oder in den betreffenden Zellen vorhanden ist (z.B. CD20, CD22, CD30, CD52, *BCR::ABL1*, *JAK2* V617F, *PML::RARA*).

Ein weiteres sehr wichtiges Einsatzgebiet der hämatologischen Diagnostik ist es, Prognoseparameter für die einzelnen Erkrankungen zu liefern. So kann sich etwa die Behandlung innerhalb einer Entität erheblich auf Grund dieser Information ändern (z.B. *TP53*-Mutationen bei der chronischen lymphatischen Leukämie). Dies gilt nicht nur für die initiale Befunderhebung, sondern auch während des Krankheitsverlaufes, da mittlerweile eine Reihe von Mechanismen bekannt sind, die eine erworbene Therapieresistenz zur Folge haben (z.B. *ABL1*-Mutationen bei der chronischen myeloischen Leukämie) oder mit einer sich verschlechternden Prognose im Verlauf einhergehen (klonale Evolution).

Schließlich liefern die Durchflusszytometrie und insbesondere molekulare Nachweisverfahren wichtige Informationen zum Therapieansprechen und zur Remissionstiefe nach eingeleiteter Behandlung. Für kurative Behandlungskonzepte ist etwa der persistierende Nachweis einer messbaren Resterkrankung (measurable residual disease, MRD) sehr bedeutungsvoll [15]. Mittlerweile konnte jedoch auch überzeugend gezeigt werden, dass ein gutes Therapieansprechen jenseits der mikroskopischen Diagnostik bei nicht-kurablen Erkrankungen ebenfalls mit der zu erwartenden Remissionsdauer korreliert.

Die nachfolgenden Ausführungen sollen den Erbringern der verschiedenen diagnostischen Verfahren kurz die derzeit gültigen Standards darlegen [3, 16] und den behandelnden Kolleginnen und Kollegen die Möglichkeiten und Grenzen dieser Laborinformationen skizzieren [6, 7, 8].

3 Zytomorphologie

Beispiele der mikroskopischen Diagnostik finden Sie u.a. auch unter dem eLearning Curriculum Hämatologie (eLCH), https://ehaematology.com/.

3.1 Indikationen

- Unklare Normabweichungen im maschinellen Blutbild
- Verdacht auf primäre Knochenmarkerkrankungen (Leukämien, Lymphome etc.)
- Remissionskontrollen hämatologischer Erkrankungen
- Verdacht auf neoplastische Infiltration nicht-hämatopoetischer Organe bzw. Kompartimente (Leptomeningealraum, Peritoneum usw.)

3.2 Methodischer Hintergrund

Die Zytomorphologie von peripherem Blut und Knochenmark ist eine schnelle und preiswerte Methode, um richtungsweisende diagnostische Informationen zu hämatologischen Erkrankungen zu erhalten [1]. Insbesondere im Licht neuerer und teurerer Verfahren kommt ihr eine besondere Rolle bei der Indikationsstellung für weitergehende Analysen im Rahmen einer inhaltlich sinnvollen und wirtschaftlichen Stufendiagnostik zu. Ferner eignet sie sich als rasche orientierende Untersuchung von Punktionsmaterialien [5].

Die wichtigsten Kenndaten dieser Methode sind:

- Untersuchungsdauer: Die Untersuchungsdauer beträgt bei einer panoptischen Färbung ca. 15-30 Minuten. Bei Spezialfärbungen bzw. zytochemischen Färbungen richtet sich die Dauer der Untersuchung maßgeblich nach diesen. Die Zytomorphologie sollte innerhalb eines Tages abgeschlossen werden. Dies ist wichtig, um rasch andere Methoden zielgerichtet einzusetzen und eine Stufendiagnostik zu ermöglichen.
- Vor- und Nachteile: Die Vorteile des Verfahrens bestehen in seiner praktisch ubiquitären Verfügbarkeit, raschen Durchführbarkeit und den technisch geringen Kosten. Die hauptsächlichen Nachteile bestehen in der geringen Sensitivität (ca. 1:100), der langen Einarbeitungszeit und der hohen Erfahrungsabhängigkeit des Untersuchers.

3.3 Präanalytik

Als Untersuchungsmaterial eignen sich peripheres Blut, Knochenmarkaspirat sowie flüssige Punktionsmaterialien (Liquor, Aszites, Pleuraflüssigkeit u.a.). Für alle Materialien gilt, dass sie im rasch präparierten Nativzustand sehr gut zu bewerten sind. Sie können jedoch auch mit dem Antikoagulanz Ethylendiamintetraacetat (EDTA) oder Citrat versetzt werden, was spätere Präparationen in vergleichbarer Qualität zulässt. Antikoaguliertes Material sollte innerhalb von 24 Stunden ausgestrichen und analysiert werden, dies gilt sowohl für das numerische Blutbild als auch für das Differenzialblutbild. Heparin ist als Antikoagulanz für zytomorphologische Untersuchung wegen Artefaktbildungen nicht geeignet. Ausgestrichene Knochenmarkausstriche sollten vor dem Färben zumindest 30 Minuten getrocknet haben. Das gilt unbedingt auch, wenn diese ungefärbt versendet werden sollen, bevor diese in den Versandcontainer verpackt werden.

Voraussetzung für eine aussagekräftige Untersuchung ist die Gewinnung von repräsentativem Material und eine fachgerechte Präparation. Bei allen Punktionen muss daher sichergestellt sein, dass das zu untersuchende Kompartiment getroffen wurde. Aus diesem Grunde sollte direkt das erste Aspirat für die zytomorphologische Analytik gewonnen werden, damit es später einer visuellen Kontrolle im Mikroskop unterzogen werden kann.

Die Präparation des Materials kann unverzüglich am Nativmaterial oder später an antikoaguliertem Material (EDTA oder Citrat) erfolgen. Bei peripheren Blutausstrichen ist darauf zu achten, dass ein abnehmender Dickegradient auf dem Objektträger mit Ausbildung einer so genannten Ausstrichfahne entsteht. Knochenmarkpräparate werden unmittelbar nach Aspiration (innerhalb weniger Sekunden, da das Aspirat sehr schnell gerinnen kann) oder besser noch mit Vorlegen von EDTA oder Citrat in der Spritze bis zu einem Zeitfenster von 24 Stunden als Ausstrich- oder als sogenannte Quetschpräparate angefertigt. Hierbei ist darauf zu achten, dass genügend Knochenmarkbröckel auf die Objektträger gelangen. Bei frustraner Aspiration sollten möglichst Abrollpräparate von einer nativen Stanzbiopsie angefertigt werden. Prinzipiell ist es erstrebenswert, mindestens 5 ml Blut- und Knochenmark zu erhalten. Andere Punktionsmaterialien sollten für die Zytomorphologie idealerweise rasch unpräpariert in das Labor gelangen, da sie dort häufig speziell aufgearbeitet werden (z.B. Zytozentrifugation). Im Zweifel ist Rücksprache mit dem beauftragten Labor zu halten.

3.4 Analytik

Die Knochenmark-Präparate sollten mindestens 15 (bei zellreichen Knochenmarkausstrichen 30) Minuten lufttrocknen, insbesondere auch vor einem eventuellen Versand. Obligat ist die Durchführung einer panoptischen Färbung (z.B. nach Pappenheim), welche eine gute Übersicht über die verschiedenen Zellfraktionen erlaubt. Alle weiteren Färbungen ergeben sich aus deren Bewertung, siehe Tabelle 1:

Tabelle 1: Zytomorphologie - Färbungen

Färbung	Indikation
Pappenheim-Färbung (Giemsa- & May-Grünwald-Färbung)	Übersichtsfärbung
Alpha-Naphtylacetatesterase-Reaktion (EST)	Nachweis monozytär differenzierter Zellen
Berliner-Blau-Reaktion	Nachweis von extrazellulärem (Markbröckel) und intrazellulärem (z.B. Sideroblasten) Eisen, Ringsideroblasten
Brillantkresylblau	Nachweis der Substantia granulofilamentosa in Retikulozyten
Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS)	Nachweis von glykogenhaltigen Zellen (z.B. bei Erythroleukämie)
Peroxidase-Reaktion (POX)	Nachweis granulozytär differenzierter Zellen
Saure Phosphatase (SP)	Charakterisierung neoplastischer lymphatischer Zellen (z.B. T-ALL)

Die Untersuchung der fertigen Präparate erfolgt an einem qualitativ hochwertigen Lichtmikroskop. Die Objektivausstattung sollte eine Übersichtsvergrößerung (10x oder 20x), eine mittlere Vergrößerung (40x oder 63x mit Öl) sowie eine hochauflösende Vergrößerung (100x mit Öl) beinhalten. Der Untersuchungsgang beginnt mit einer Orientierung über die Qualität des Materials und einer quantitativen Analyse der Zellverteilung (10X Objektiv ohne Öl). Danach werden im peripheren Blutausstrich mindestens 100 (-200) kernhaltige Zellen (Differenzialblutbild) sowie die Erythrozytenmorphologie bewertet. Im Knochenmark werden mindestens 200 (-500) kernhaltige Zellen (Myelogramm) kategorisiert. Abweichungen hiervon, z.B. bei ausgeprägter hämatopoetischer Hypoplasie, sind zu dokumentieren. Mit Ausnahme des Liquors erfolgt die Analyse anderer Punktionsmaterialien nicht nach einem festgelegten Prinzip, sondern richtet sich in erster Linie nach der Fragestellung.

Neben der quantitativen Analyse sollte eine möglichst genaue Beschreibung normabweichender qualitativer Zellmerkmale erfolgen. Auch Ausschlussfeststellungen (z.B. kein Nachweis knochenmarkfremder Zellen) können für die abschließende Beurteilung hilfreich sein. Letztere sollte so konkret wie möglich formuliert werden und kann auch Verweise auf weiterführende diagnostische Methoden enthalten.

3.4.1 Peripheres Blut (Differenzialblutbild)

Die Klassifikation der kernhaltigen Zellen erfolgt mindestens in die folgenden Kategorien (mit exemplarischen Normbereichen), siehe Tabelle 2:

Tabelle 2: Zytomorphologie – Klassifikation und Verteilung kernhaltiger Zellen im peripheren Blut

	Normbereich	Dimension
Stabkernige neutrophile Granulozyten	3-5	%
Segmentkernige neutrophile Granulozyten	40-70	%
Eosinophile Granulozyten	2-4	%
Basophile Granulozyten	0-1	%
Monozyten	3-7	%
Lymphozyten	20-40	%

Falls notwendig (z.B. reaktive oder pathologische Linksverschiebung) können folgende Kategorien hinzugefügt werden: Blasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten. Weitere hämatopoetische Zellen wie z.B. Erythroblasten, Plasmazellen usw. werden separat quantifiziert.

Sogenannte Kernschatten sind der Lymphozytenfraktion zuzurechnen, können im Befundkommentar jedoch auch quantitativ (% der Leukozyten) oder semiquantitativ angegeben werden: wenige (+), einige (++) oder viele (+++)].

Feststellungen zur Lymphozytenmorphologie (Reizformen, aktivierte Lymphozyten, LGL-Zellen, Mantelzellen usw.) sind in der Regel wertender Natur und sollten daher im Befundkommentar getroffen werden. Versierte Untersucher können gemäß den Empfehlungen der DGHO eine Einteilung in „typischer Lymphozyt“, „atypischer Lymphozyt, vermutlich reaktiv“ und „atypischer Lymphozyt, vermutlich neoplastisch“ vornehmen, und eine quantitative (% der Leukozyten) Aussage hierzu treffen [2].

Weitere qualitative Veränderungen der Leukozyten (z.B. toxische Granulationen, Pseudo-Pelger-Formen), Erythrozyten (z.B. Anisozytose, Poikilozytose, Polychromasie, Rouleaux-Formationen) oder Thrombozyten (z.B. Riesenthrombozyten) können ebenfalls semiquantitativ durch eine Einteilung in leicht (+), mittel (++) oder stark (+++) angegeben werden.

Der Anteil an Fragmentozyten wird in Prozent (%) oder Promille (‰) der Erythrozyten angegeben [4]. Zur Ermittlung des Wertes sind mindestens 5 Gesichtsfelder einer 100er-Objektivvergrößerung (entspricht ca. 200 Erythrozyten/Gesichtsfeld) auszuzählen.

3.4.2 Knochenmark

Die Beurteilung der Knochenmarkpräparate sollte ebenfalls zunächst eine Aussage über den Zellgehalt beinhalten, sodann eine Quantifizierung der kernhaltigen Zellen (Myelogramm), die mindestens die folgenden Kategorien enthält (mit exemplarischen Normbereichen), siehe Tabelle 3:

Tabelle 3: Zytomorphologie – Klassifikation und Verteilung kernhaltiger Zellen im Knochenmark

	Normbereich	Dimension
Myeloblasten	0-3	%
Promyelozyten	2-5	%
Myelozyten	8-17	%
Metamyelozyten	10-25	%
Stabkernige neutrophile Granulozyten	8-20	%
Segmentkernige neutrophile Granulozyten	8-16	%
Eosinophile Granulozyten	2-6	%
Basophile Granulozyten	0-1	%
Monozyten	0-3	%
Proerythroblasten	0-2	%
Basophile Erythroblasten	1-4	%
Polychromatische Erythroblasten	12-24	%
Orthochromatische Erythroblasten	2-24	%
Lymphozyten	10-20	%
Plasmazellen	0-3	%
Megakaryozyten	0-1	%

Hilfreich ist zudem eine Bezifferung des Verhältnisses zwischen Granulozyto- und Erythrozytopoese (G:E-Verhältnis). Alle weiteren qualitativen Feststellungen erfolgen im Befundtext. Bei MDS sind die prozentualen Anteile der Dysplasien in der Granulopoese, Erythropoese und Megakaryopoese anzugeben. Es ist dabei zu beachten, dass man in der jeweiligen Reihe bei MDS von „Dysplasie“ spricht, wenn ≥10% der jeweiligen kernhaltigen Zellen einer Reihe dysplastische Veränderungen aufweisen. Die morphologischen Kriterien von „Dysplasie“ sind u.a. auch in den Kapiteln MDS und AML mit Multilinien-Dysplasie in der WHO Klassifikation von 2022 und ICC 2022 aufgeführt.

3.5 Qualitätsstandards

Die quantitative (Zelldifferenzierung) und qualitative Analyse (z.B. Dysplasie, Erythrozytenmorphologie) kann durch eine entsprechend qualifizierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen. Eine wertende Analyse (Befundinterpretation) muss durch einen Facharzt für Innere Medizin mit der Schwerpunktbezeichnung Hämatologie und Internistische Onkologie, einen Facharzt für Pathologie oder einen Facharzt für Laboratoriumsmedizin erfolgen. Der Befund muss die Unterschrift oder eine validierte elektronische Signatur eines Arztes tragen. Die regelmäßige Teilnahme an externen Qualitätskontrollen (Ringversuchen) ist erforderlich, eine Zertifizierung/Akkreditierung des Labors nach ISO 15189 ist wünschenswert. Die Empfehlungen der Richtlinienkommission der Bundesärztekammer (RiliBÄK) bzw. nationaler Fachorganisationen sind einzuhalten.

4 Durchflusszytometrie

4.1 Indikationen

- Unklare Abweichungen im maschinellen oder mikroskopischen Blutbild [14]

- Verdacht auf primäre Knochenmarkerkrankungen (Leukämien, Lymphome etc.)
- Remissionskontrollen hämatologischer Erkrankungen bzw.
- Nachweis einer messbaren Resterkrankung (MRD)
- Verdacht auf neoplastische Infiltration nicht-hämatopoetischer Kompartimente (Liquorraum, Peritoneum, Pleurahöhle etc.)
- Verdacht auf andere klonale hämatopoetische Erkrankungen (z.B. PNH)
- Verdacht auf zellulären Immundefekt (z.B. HIV, common variable immunodeficiency, CVID))
- Lymphozytentypisierung aus broncho-alveolärer Lavage (BAL)

4.2 Methodischer Hintergrund

Die durchflusszytometrische Charakterisierung von Zellen ist eine wichtige Technik zur Messung physiologischer Zellpopulationen (z.B. Quantifizierung von CD4-positiven Helferzellen) sowie zur diagnostischen Einordnung von lymphatischen Neoplasien [12]. Aber auch zum Nachweis von myeloischen Zellen mit normalem oder pathologischen Granulations- oder Antigenexpressionsmuster ist dieses Verfahren etabliert. Ferner können auch Veränderungen erythrozytärer Zellen (z.B. paroxysmale Hämoglobinurie, Sphärozytose) detektiert werden.

Die wichtigsten Kenndaten dieser Methode sind:

- Untersuchungsdauer: Die Untersuchungsdauer beträgt bei einer Standardmessung ca. 60 Minuten. Bei speziellen Anwendungen kann sie darüber liegen.
- Vor- und Nachteile: Die Vorteile des Verfahrens bestehen in seiner raschen Durchführbarkeit, seiner guten Reproduzierbarkeit sowie seiner höheren Sensitivität gegenüber der Morphologie von bis zu $1{:}10^5$. Der hauptsächliche Nachteil besteht in der eingeschränkten Verfügbarkeit und den Kosten für Geräte und Antikörper, welche auf den notwendigen Technologiegrad zurückzuführen ist. Gerade auch durch die zunehmende Anwendung bei MDS und insbesondere MRD bei AML, ALL, Lymphomen und Plasmazellneoplasien ist eine gute technologische Ausstattung (Anzahl Farben) und eine große Expertise der Befunder zu fordern.

4.3 Präanalytik

Als Untersuchungsmaterial eigenen sich sämtliche antikoagulierten und nativen Zell-Flüssigkeitssuspensionen. Der Transport erfolgt bei Raumtemperatur. Das Intervall zwischen Materialgewinnung und Analyse sollte bei antikoagulierten Materialien im Regelfall 48 Stunden nicht übersteigen, Nativflüssigkeiten (z.B. Liquor etc.) sollten innerhalb von 6 Stunden nach Entnahme untersucht werden. Spezielle Transportröhrchen für Liquor sollten erwogen werden.

4.4 Analytik

Die Aufarbeitung der Materialien erfolgt nach Standardprozeduren. Im Mittelpunkt steht dabei die Inkubation der Zellsuspension mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern oder sonstigen Fluoreszenzfarbstoffen. Die Spezifität wird durch den verwendeten Antikörper oder den freien Farbstoff determiniert.

Bezüglich der zu untersuchenden Antigene oder Zielstrukturen existieren größtenteils Empfehlungen. Beispielhaft sei hier auf die Empfehlungen des European LeukemiaNet [15] und des EuroFlow-Konsortiums [12] verwiesen.

4.5 Qualitätsstandards

Die Durchführung der Analyse kann durch eine entsprechend qualifizierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen. Wichtig ist, dass die Generierung der Quelldaten hochgradig von den Instrumenteneinstellungen abhängig ist und ein hohes Maß an gerätespezifischer Expertise erfordert. Aus diesem Grunde muss eine tägliche interne Qualitätskontrolle und ggf. Anpassung der Fluoreszenzkalibrierung erfolgen.

Die Befundinterpretation ist ebenfalls sehr stark von der zuvor durchgeführten Datenakquisition (sog. Gating) abhängig und muss durch einen Facharzt/Fachärztin für Innere Medizin mit der Schwerpunktbezeichnung Hämatologie und Internistische Onkologie, einen Facharzt/Fachärztin für Pathologie oder einen Facharzt/Fachärztin für Laboratoriumsmedizin erfolgen. Der Befund muss die Unterschrift oder eine validierte elektronische Signatur eines Arztes/Ärztin tragen. Die regelmäßige Teilnahme an externen Qualitätskontrollen (Ringversuchen) ist erforderlich, eine Zertifizierung/Akkreditierung des Labors ist wünschenswert.

5 Zytogenetik

5.1 Indikationen

- Nachweis oder Ausschluss hämatologischer Erkrankung mit bekannten rekurrenten Chromosomenanomalien
- Diagnose und Klassifikation von Erkrankungen mit spezifischen zytogenetischen Veränderungen
- Erhebung von Prognoseparametern bei Myelodysplasien, Leukämien und Lymphomen
- Remissionskontrollen hämatologischer Erkrankungen (Cave: Sehr eingeschränkte Sensitivität)

5.2 Methodischer Hintergrund

Zytogenetische Untersuchungstechniken sind bei der Diagnostik und Prognostik hämatologischer Erkrankungen fest etabliert. Viele zytogenetische Aberrationen haben laut der aktuellen WHO-Klassifikation entitätsdefinierenden Charakter oder dienen als wichtiger Leitbefund [17]. Darüber hinaus kann die Zytogenetik entscheidende prognostische Informationen liefern. Man unterscheidet bei den Analysen: a) Zytogenetik, d.h. Untersuchung des vollständigen Chromosomensatzes an Metaphasen (Standard: 20 Karyogramme nach ISCN (international system for human cytogenetic nomenclature)), b) Untersuchung einzelner Loci per Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), welche in der Regel an Interphasen durchgeführt wird (auch an Metaphasen z.B. sog. painting, oder auch als 24-Farben-FISH möglich). Der Karyotyp kann umfassend Auskunft über strukturelle (z.B. Translokationen) und numerische (Aneuploidie) Anomalien geben, ist als Methode aber relativ wenig sensitiv (ca. 1:25-50). FISH-Untersuchungen liefern dagegen nur Informationen zum untersuchten Chromosomenlocus, sind in der Regel jedoch etwas sensitiver (ca. 1:100).

Die wichtigsten Kenndaten dieser Methode sind:

- Untersuchungsdauer: Die Untersuchungsdauer beträgt bei einer klassischen Chromosomenanalyse 3-15 Tage. FISH-Analysen können innerhalb von 1-2 Tagen erfolgen oder aber im Rahmen von dringlichen Direktpräparationen innerhalb weniger Stunden (z.B. für *PML::RARA oder BCR::ABL1*).
- Vor- und Nachteile: Die Vorteile des Verfahrens bestehen aus seinem sehr gut gesicherten diagnostischen und prognostischen Stellenwert. Die Nachteile bestehen aus der Notwen-

digkeit viabler maligner Zellen beim Eintreffen im Labor für die Kulturen der Zytogenetik, verhältnismäßig langer Untersuchungsdauer, der geringen Sensitivität (1:20 bis 1:500) und der sehr starken Erfahrungsabhängigkeit der Untersucher.

5.3 Präanalytik

Da die klassische Chromosomenanalyse als Ausgangsmaterial lebende Zellen benötigt, kommt dem richtigen Antikoagulanz und einem raschen Probentransport hier besondere Bedeutung zu. Die Untersuchung ist prinzipiell nur an Heparin-antikoaguliertem Material möglich. Um die Absterberate der Zellen während des Transportes möglichst gering zu halten, sollten diese bei Raumtemperatur und innerhalb von 24 (-48) Stunden in das zytogenetische Labor kommen. Generell ist die Zytogenetik umso sicherer auswertbar, je kürzer die Transportzeiten sind. FISH-Analysen an Interphasekernen können zwar auch an EDTA-antikoaguliertem Material durchgeführt werden, aus Gründen der Flexibilität und Einfachheit empfiehlt es sich jedoch, diese aus demselben Material wie für die klassische Chromosomenanalyse durchzuführen. Die Materialabnahme muss in ein steriles Gefäß erfolgen. In der Regel sind 2-5 ml Knochenmark oder 10-20 ml Blut erforderlich, größere Mengen steigern die Sensitivität und Aussagekraft jedoch erheblich.

5.4 Analytik

Gemäß der aktuell gültigen WHO- und ICC-Klassifikation ist eine Vielzahl von hämatologischen Erkrankungen über rekurrente chromosomale Anomalien definiert. Hierzu zählen u.a. (Auswahl), siehe Tabelle 4:

Tabelle 4: Zytogenetik – krankheitsdefinierende chromosomale Anomalien

Läsion	Klinische Bedeutung
t(6;9)(p23;q34)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten akuten myeloischen Leukämie mit *DEK::NUP214*-Translokation
inv(16)(p13;q23)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten akuten myeloischen Leukämie mit *CBFB::MYH11*-Fusion
t(15;17)(q24;q21)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten Promyelozyteneukämie mit *PML::RARA*-Translokation
t(1;22)(p13;q13)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten akuten myeloischen Leukämie mit *RBM15::MLK1*-Translokation
t(9;22)(q34;q11.2)	Nachweis oder Ausschluss einer chronischen myeloischen Leukämie (CML) oder einer Philadelphia-Chromosom-positiven (Ph1)/*BCR::ABL1* translozierten akuten lymphatischen Leukämie (ALL) oder *BCR::ABL1* positiven akuten myeloischen Leukämie (AML)
alleinige del(5q)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten Myelodysplasie mit isolierter del(5q)
t(v;11)(v;q23)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten akuten Leukämie und rearrangiertem *KMT2A*-Locus
t(1:19)(q23;p13.3)	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten B-Linien ALL mit *E2A::PBX1*-Translokation
Hyper- oder Hypodiploidie	Nachweis oder Ausschluss einer zytogenetisch definierten B-Linien ALL mit Hyper- oder Hypodiploidie

Neben diesen entitätsdefinierenden Chromosomenveränderungen existieren zahlreiche zytogenetische Befunde, welche zusätzlich zu den übrigen Untersuchungen diagnostische Schlüsselinformationen für die Diagnosestellung liefern. Hierzu zählen u.a. (Auswahl), siehe Tabelle 5:

Tabelle 5: Zytogenetik – weitere chromosomale Anomalien als Leitbefund

Läsion	Klinische Bedeutung
t(11;14)(q13;q32)	Leitbefund bei Mantelzell-Lymphom
t(14;18)(q32;q21)	Leitbefund bei Follikulärem Lymphom
t(8;14)(q24;q32)	Leitbefund bei Burkitt-Lymphom/Leukämie
inv(14)(q11q32) oder t(14;14)(q11;q32)	Leitbefund bei T-Prolymphozyten-Leukämie

Schließlich konnte in den vergangenen Jahren gezeigt werden, dass zytogenetische Befunde eine überragende Bedeutung bei der Prognoseeinschätzung hämatologischer Entitäten haben. Auf eine detaillierte Darstellung wird hier aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet.

5.5 Qualitätsstandards

Bei der Chromosomenanalyse wird angestrebt, mindestens 20 Metaphasen zu analysieren. Wird eine durchgehende klonale Aberration nachgewiesen, ist eine Untersuchung von zumindest 10 Metaphasen ausreichend. Bei der FISH-Analyse sollten mindestens 100 Interphasekerne untersucht werden. Die Ergebnisse der Chromosomenanalyse und der FISH-Analyse werden nach der aktuellen internationalen Nomenklatur (ISCN) [10] in ihrer jeweils gültigen Fassung angegeben.

Die Durchführung der Analyse kann durch eine versierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen. Die Kontrolle der erhobenen Chromosomenbefunde sowie die Befundinterpretation sollten durch eine(n) Fachhumangenetiker(in), eine(n) Facharzt/Fachärztin für Humangenetik oder eine vergleichbar qualifizierte Person erfolgen. Der Befund muss die Unterschrift oder eine validierte elektronische Signatur eines Arztes/Ärztin tragen. Die regelmäßige Teilnahme an externen Qualitätskontrollen (Ringversuchen) ist erforderlich, eine Zertifizierung/Akkreditierung des Labors wünschenswert.

6 Molekulargenetik

6.1 Indikationen

- Nachweis oder Ausschluss hämatologischer Erkrankung mit bekannten rekurrenten molekularen Aberrationen
- Erhebung von Prognoseparametern bei Myelodysplasien, Leukämien, myeloproliferativen Neoplasien und Lymphomen
- Remissionskontrollen hämatologischer Erkrankungen, v.a. Nachweis einer messbaren Resterkrankung (MRD)
- Bestimmung des hämatopoetischen Chimärismus nach allogener Stammzelltransplantation

6.2 Methodischer Hintergrund

Molekulargenetische Untersuchungstechniken besitzen einen sehr gut etablierten Stellenwert bei der Diagnostik, Prognostik und Verlaufsbeobachtung hämatologischer Erkrankungen [13]. Zum einen basieren sie noch auf konventionellen Polymerasekettenreaktionen (PCR), andererseits werden zunehmend moderne genomische Verfahren eingesetzt, welche die simultane und quantitative Analyse einer großen Zahl von Genen bis hin zur vollständigen Untersuchung ganzer Genome, Exome, Transkriptome etc. erlauben (NGS = next generation sequencing). Auf Grund dieser enormen analytischen Bandbreite, muss die Indikation für die Bestimmung verschiedener Parameter sehr sorgfältig und aus der klinischen Fragestellung kombiniert möglichst

mit Befunden aus der Zytomorphologie und Durchflusszytometrie gestellt werden. Auch ein Abgleich mit Befunden der Zytogenetik ist wünschenswert.

Die wichtigsten Kenndaten dieser Methode sind:

- Untersuchungsdauer: Nach Vorbereitung der Probe beträgt die reine Untersuchungsdauer bei einer konventionellen PCR 2-4 Stunden. Verfahren, welche DNA-Sequenzierungen mit einschließen können, rein technisch 24h (kurze DNA-/RNA-Abschnitte) bis zu ein bis zwei Wochen (Genomanalysen) dauern. Der zusätzliche bioinformatische Aufwand der Auswertung muss hinzugerechnet werden und ist bei größerem Umfang der Daten nicht unerheblich.
- Vor- und Nachteile: Die Vorteile des Verfahrens bestehen in seiner unübertroffenen Spezifität und Sensitivität. Die hauptsächlichen Nachteile bestehen aus dem außerordentlich hohen Spezialisierungsgrad, bei den heute möglichen NGS-Ansätzen der notwendigen Zusammenarbeit von Bioinformatikern, Molekularbiologen und Ärzten und den Kosten.

6.3 Präanalytik

Als Untersuchungsmaterial eignet sich prinzipiell jede zellhaltige Körperflüssigkeit, insbesondere peripheres Blut, Knochenmarkaspirate und Punktate. Ethylendiamintetraacetat (EDTA) ist für gerinnbare Flüssigkeiten das Antikoagulanz der Wahl, anderer Antikoagulanzien wie Heparin können jedoch auch verwendet werden. Auf Grund der kurzen Halbwertzeit von Ribonukleinsäure (RNS) muss für RNS-basierte Analysen ein rascher Transport (innerhalb 24 (-48h)) bei Raumtemperatur in das Untersuchungslabor sichergestellt werden. Alternativ können Abnahmegefäße mit Stabilisatorzusätzen Verwendung finden, deren Einsatz ist jedoch noch nicht für alle nachfolgenden Methoden etabliert.

Während die gezielte Untersuchung pathogener somatischer (erworbener) Genaberrationen keinen besonderen Regularien unterliegt, bedürfen Keimbahnanalysen gemäß Gendiagnostikgesetz (GenDG) grundsätzlich der gesonderten Aufklärung und schriftlichen Zustimmung durch den Patienten/Patientin.

6.4 Analytik

Viele molekulargenetische Nachweisverfahren basieren auf dem Prinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR). Die hierbei entstehenden Amplifikate können durch elektrophoretische oder fluoreszenzgestützte Methoden direkt dargestellt werden. Letztere erlauben auch eine akkurate Quantifizierung im Ausgangsmaterial. Methodisch gibt es in der Molekulargenetik zwei Problemfelder: Falsch-negative Ergebnisse durch Nukleinsäuredegradation und falsch-positive Ergebnisse durch Kreuzkontamination. Um erstere zu reduzieren ist das stete Mitführen einer probenspezifischen Positivkontrolle (interne Kontrolle) obligat. Dies kann gleichzeitig als quantitative Referenz genutzt werden. Kreuzkontaminationen sollten durch eine strikte räumliche Trennung von präparativen und analytischen Schritten ausgeschlossen werden. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, Uracil-haltige kontaminierende Amplifikate durch einen Verdau mit Uracil-DNA-Glykosylase zu eliminieren.

In zunehmendem Maße kommen heute Sequenzierungstechniken zur Anwendung. Diese basieren z.T. noch auf dem Kettenabbruchprinzip nach Sanger. Prinzipiell ist eine doppelsträngige Sequenzierung zu bevorzugen, welche die Fehlerwahrscheinlichkeit des Verfahrens reduziert. Der Abgleich der ermittelten Nukleinsäurensequenz (heute Varianten genannt) mit öffentlichen Datenbanken erfordert spezielle Expertise, insbesondere, wenn sie variable Genregionen (z.B. Immunglobulin-Ketten) betrifft.

Eine neue Entwicklung innerhalb der Molekulargenetik ist die Anwendung von genomischen Hochdurchsatzverfahren, die die gleichzeitige (parallele) Sequenzierung einer Vielzahl von Genabschnitten oder Genen oder sogar des gesamten Genoms ermöglichen. Obwohl diese Verfahren wirtschaftlich immer erschwinglicher, methodisch immer einfacher und zeitlich immer schneller werden, handelt es sich bisher noch um eine Methodik, die eine hochkomplexe Datenanalyse nach sich zieht. Zudem ist der klinische Stellenwert speziell zur Prognose einiger neuer molekularer Aberrationen noch nicht geklärt, so dass eine wichtige Aufgabe für die nahe Zukunft sein wird, die diagnostische und prognostische Wertigkeit jeder einzelnen Aberration weiter zu klären sowie die methodischen Voraussetzungen (z.B. Sensitivität) festzulegen. Ob die sog. Sanger-Sequenzierung (Sensitivität ca. 10-20%) oder das NGS (Sensitivität 2-5%) Anwendung findet, ist bisher dem jeweiligen Labor unter Berücksichtigung der üblichen Qualitätskontrollen, Ringversuche und ggf. Akkreditierung zu überlassen. Das NGS hat dabei viele Vorteile wie z.B. auch die genaue Beschreibung der Tumorlast (variant allele frequency = VAF).

Die Zahl molekulargenetischer Läsionen, die eine diagnostische oder prognostische Bedeutung haben, nimmt stetig zu. Nicht alle sind jedoch bereits klinisch hinreichend validiert. Veränderungen mit gesichertem Stellenwert (Auswahl) sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Molekularbiologie – Läsionen mit gesichertem Stellenwert

Läsion	Klinische Bedeutung
BCR::ABL1	Nachweis oder Ausschluss einer chronischen myeloischen Leukämie (CML) oder einer Philadelphia-Chromosom-positiven (Ph1) akuten lymphatischen Leukämie (ALL) oder auch Ph1 AML MRD-Nachweis
JAK2 V617F-Mutation *JAK2* Exon 12-Mutationen *MPL* W515-Mutationen *CALR*-Mutationen	Nachweis oder Ausschluss myeloproliferativer Neoplasien
RUNX1::RUNX1T1	Nachweis oder Ausschluss einer zyto- bzw. molekulargenetisch definierten AML, MRD-Nachweis
PML::RARA	Nachweis oder Ausschluss einer zyto- bzw. molekulargenetisch definierten AML (akute Promyelozytenleukämie), MRD-Nachweis
CBFB::MYH11	Nachweis oder Ausschluss einer zyto- bzw. molekulargenetisch definierten AML, MRD-Nachweis
NPM1-Mutationen	Nachweis oder Ausschluss einer molekulargenetisch definierten AML (Entität seit WHO 2017) sowie Prognosefaktor, MRD-Nachweis
CEBPA-Mutation	Nachweis oder Ausschluss einer molekulargenetisch definierten AML (Entität nach WHO 2022) sowie Prognosefaktor, wenn biallelisch mutiert
PDGFRA/PDGFRB-Rearrangements	Nachweis oder Ausschluss einer entitätsdefinierenden klonalen Eosinophilie
TP53-Mutationen (Exons 4-10)	i.d.R. bei Vorliegen einer Hochrisiko-Konstellation (z.B. CLL, AML, MDS)

6.5 Qualitätsstandards

Die Durchführung der Analyse kann durch eine versierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen. Die Kontrolle der erhobenen Befunde sowie die Befundinterpretation sollten durch eine(n) Fachhumangenetiker(in), eine(n) Facharzt/Fachärztin für Humangenetik oder eine vergleichbar qualifizierte Person (z.B. Molekularbiologen oder Molekularpathologen, ggf. mit Unterstützung durch Bioinformatiker) erfolgen. Der Befund muss die Unterschrift oder eine validierte elektronische Signatur eines Arztes tragen. Die regelmäßige Teilnahme an externen Qualitätskontrollen (Ringversuchen) ist erforderlich, eine Zertifizierung/Akkreditierung des Labors sehr wünschenswert.

7 Histopathologie (Knochenmark)

7.1 Indikationen

Wenn im Rahmen der Erstdiagnose einer hämatologischen Systemerkrankung die Untersuchung der Knochenmarkzytologie angestrebt wird, ist es generell empfehlenswert, auch eine Knochenmarkstanzbiopsie zu gewinnen, um ein möglichst vollständiges Bild einer Knochenmarkbeteiligung der Erkrankung zu gewinnen [11]. Spezielle Indikationen für die Gewinnung einer Knochenmarkshistologie sind (Auswahl):

- Ausmaß einer Knochenmarkinfiltration bei Leukämien und MDS [9], Ausmaß der Infiltration und Topographie bei Lymphomen und beim Multiplen Myelom im initialen Staging oder zur Beurteilung des Remissionsgrades nach Therapie sowie Bestimmung des Anteils der verbliebenen Resthämatopoese
- Diagnostik myeloproliferativer Neoplasien, speziell auch bei Punctio sicca (Beurteilung des Fibrosenachweises und -grades z.B. bei Präfibrotischer und Primärer Myelofibrose, Haarzell-Leukämie, etc.)
- Infiltrate eines klassischen Hodgkin-Lymphoms
- Diagnostik fokaler Prozesse im Knochenmark (Metastasen solider Tumoren, Nachweis einer granulomatösen Erkrankung, etc.)

7.2 Methodischer Hintergrund

Histopathologische Untersuchungen des Knochenmarks, insbesondere aber auch von soliden Geweben, wie Lymphknoten, stellen nach wie vor bei vielen hämatologischen Entitäten, v.a. bei malignen Lymphomen, den diagnostischen Goldstandard dar. Das Verfahren ist langjährig etabliert und bei der Untersuchung solider Gewebe praktisch konkurrenzlos. Ergänzt wird es heutzutage durch immunhistochemische und molekularpathologische Techniken. Als einziges der hier aufgeführten Verfahren erlaubt es Feststellungen im geweblichen Kontext. Viele Entitäten sind in der derzeit gültigen WHO-Klassifikation sehr detailliert charakterisiert und allgemeingültig definiert.

Die wichtigsten Kenndaten dieser Methode sind:

- Untersuchungsdauer: Die Untersuchungsdauer variiert in Abhängigkeit von Material und Fragestellung zwischen wenigen Stunden (sog. Schnellschnitt) und mehreren Tagen (z.B. komplexe immunhistochemische und molekulare Untersuchungen an Knochenmark und Lymphknoten).
- Vor- und Nachteile: Die Vorteile des Verfahrens bestehen in seiner langjährigen Etablierung und insbesondere der sehr guten Spezifität. Die hauptsächlichen Nachteile bestehen aus der hohen Erfahrungsabhängigkeit sowie der hieraus resultierenden sehr beschränkten Standardisierungsmöglichkeit.

7.3 Präanalytik

Voraussetzung für eine aussagekräftige histologische Untersuchung einer Knochenmarkstanze ist die Gewinnung von repräsentativem Material. Die Gewinnung des Stanzzylinders erfolgt in der Regel im Bereich der Spina iliaca posterior superior, die Länge des Stanzzylinders sollte mindestens 1,0 cm, wenn möglich aber 2,0 cm betragen. Mit der Übersendung der Knochenmarksstanze an ein Institut für Pathologie sollten auch alle relevanten klinischen Angaben (Blutbild, Knochenmarkszytologie, Vorerkrankungen, etc.) und insbesondere eine klinische Fragestellung übermittelt werden. Zur Fixierung wird üblicherweise neutral-gepuffertes Formalin

verwendet, in der Pathologie folgt dann eine Paraffineinbettung, die zunächst eine Entkalkungsprozedur erforderlich macht. Diese Aufarbeitung führt, beispielsweise im Gegensatz zu einer Einbettung in Kunstharze, zu einer weitgehenden Erhaltung der Oberflächenantigene der Knochenmarkszellen, die für häufige immunhistochemische Fragestellungen wichtig ist.

7.4 Analytik

Obligat an Knochenmarksstanzbiopsaten ist die Durchführung einer Hämatoxylin-Eosin (HE-)-Färbung, ggf. auch einer Giemsa-Färbung, welche eine gute Übersicht über die verschiedenen Zellpopulationen im Knochenmark erlauben. Die Untersuchung erfolgt an einem qualitativ hochwertigen Lichtmikroskop durch eine(n) Ärztin/Arzt für Pathologie, der/die spezielle Erfahrung in der hämatopathologischen Diagnostik aufweist. Der Knochenmarksbefund sollte Angaben zur Zellularität, zur topographischen Verteilung der zellulären Elemente sowie Einschätzungen zur Zellmorphologie erhalten und natürlich pathologische Veränderungen/Infiltrate beschreiben. Für viele Fragestellungen (z.B. Subklassifikation eines Lymphominfiltrates) sind immunhistochemische Untersuchungen erforderlich, gelegentlich müssen molekulare Untersuchungen (z.B. Klonalitätsanalysen bei der Frage einer diskreten Knochenmarksinfiltration durch ein Lymphom) durchgeführt werden.

7.5 Qualitätsstandards

Die Durchführung der Präanalytik kann durch eine versierte und ärztlich autorisierte Laborfachkraft erfolgen. Die Befunderhebung sowie die Befundinterpretation müssen durch einen Facharzt für Pathologie erfolgen. Der Befund muss die Unterschrift oder eine validierte elektronische Signatur eines Arztes tragen. Die regelmäßige Teilnahme an externen Qualitätskontrollen (Ringversuchen) ist erforderlich, eine Zertifizierung/Akkreditierung des Labors wünschenswert.

9 Literatur

1. Bain JB, Kreuzer KA: Das Blutbild (Übersetzung von: Blood cells: A practical guide (5. Aufl.)). de Gruyter, Berlin 2017
2. Baurmann H, Bettelheim P, Diem H et al.: Lymphozytenmorphologie im Blutausstrich - Vorstellung einer überarbeiteten Nomenklatur und Systematik. Lab Med 35: 261-270, 2011. DOI:10.1515/JLM.2011.037
3. Bundesärztekammer. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dt Ärzteblatt 39: A1822, 2013.
4. Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie. Definition Fragmentozyten im peripheren Blut (09/2003): https://www.dgho.de/arbeitskreise/l-o/laboratorium/fragmentozyten-im-peripheren-blut/definition_fragmentozyten
5. Haferlach T, Engels M, Diem H: Taschenatlas Hämatologie (7. Aufl.). Thieme-Verlag, Stuttgart 2019.
6. Kreuzer KA, Beyer J: Hämatologie und Onkologie. Thieme-Verlag, Stuttgart 2016
7. Kreuzer KA: Referenz Hämatologie. Thieme-Verlag, Stuttgart 2018
8. Haferlach T: Hämatologische Erkrankungen (3. Aufl.). Springer-Verlag, Heidelberg 2020
9. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D et al.: European Leukemia Net. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. Blood 122:2943-2964, 2013. DOI:10.1182/blood-2013-03-492884
10. McGowan-Jordan J, Hastings RJ, Moore S: ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature. Reprint of 'Cytogenetic and Genome Research 2020, Vol. 160, No. 7-8', Karger-Verlag, Basel 2020. DOI:10.1159/isbn.978-3-318-06867-2

11. Naeim F, Rao PN, Grody WW: Hematopathology (1. Aufl.), Elsevier London, 2008
12. Ortolani C. Flow cytometry of hematological malignancies (1. Aufl.). John Wiley & Sons, Chichester, 2011
13. Provan D, Gribben J. Molecular Hematology (2. Aufl). Blackwell Publishing Oxford, 2005
14. Sack U, Tarnok A, Rothe G. Zelluläre Diagnostik: Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie. Karger-Verlag, Basel, 2007. DOI:10.1159/isbn.978-3-318-01217-0
15. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ et al.: 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. Blood 138(26):2753-2767, 2021. DOI:10.1182/blood.2021013626
16. Thomas L. Labor und Diagnose 2020. http://www.labor-und-diagnose-2020.de
17. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet;print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer 2022. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63.
18. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP et al.: International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 140(11):1200–1228, 2022. DOI:10.1182/blood.2022015850

14 Links

Ein Video zur Durchführung der Knochenmarkpunktion wurde vom Krankenhaus der Elisabethinen in Linz zur Ausbildung und für Pat. erstellt (https://www.youtube.com/watch?v=3RgGmErO50g).

15 Anschriften der Experten

Prof. Dr. Peter Bettelheim
Krankenhaus der Elisabethinen Linz
Abteilung für Hämatologie, internistische Onkologie und Stammzelltransplantation
Fadingerstr. 1
A-4020 Linz
peter@bettelheim.eu

Prof. Dr. med. Dr. phil. Torsten Haferlach
MLL Münchner Leukämielabor GmbH
Max-Lebsche-Platz 31
81377 München
torsten.haferlach@mll.com

Prof. Dr. med. Karl-Anton Kreuzer
Klinikum der Universität zu Köln
Klink I für Innere Medizin
Kerpener Str. 62
50937 Köln
karl-anton.kreuzer@uk-koeln.de

Prof. Dr. med. Andreas Rosenwald
Universitätsklinikum Würzburg
Institut für Pathologie
Joseph-Schneider-Str. 2
97080 Würzburg
rosenwald@uni-wuerzburg.de

Prof. Dr. med. Alicia Rovó
Inselspital, Universitätsspital Bern
Universitätsklinik für Hämatologie
und Hämatologisches Zentrallabor
Freiburgstr.
CH-3010 Bern
alicia.rovo@insel.ch

Prof. Dr. med. Julie Schanz
Interdisziplinäres UMG-Labor
Universitätsmedizin Göttingen
Klinik für Hämatologie und
Medizinische Onkologie
Robert-Koch-Str. 40
37075 Göttingen
julie.schanz@med.uni-goettingen.de

16 Erklärung zu möglichen Interessenkonflikten

nach den Regeln der tragenden Fachgesellschaften

Autor*in	Anstellung[1]	Beratung / Gutachten[2]	Aktien / Fonds[3]	Patent / Urheberrecht / Lizenz[4]	Honorare[5]	Finanzierung wissenschaftlicher Untersuchungen[6]	Andere finanzielle Beziehungen[7]	Persönliche Beziehung zu Vertretungsberechtigten[8]
Bettelheim, Peter	Ordensklinikum Linz Elisabethinen 4020 Linz	**Ja** Amgen Novartis Johnson & Johnson Sysmex	**Nein**	**Nein**	**Ja** Honorare für Vortrags- und Schulungstätigkeiten: Amgen Novartis Johnson & Johnson Sysmex	**Nein**	**Nein**	**Nein**
Haferlach, Torsten	MLL Münchner Leukämie Labor	**Nein**	**Ja** MLL	**Nein**	**Ja** Pfizer, Beigene, Abviee	**Nein**	**Nein**	**Nein**
Kreuzer, Karl-Anton	Universitätsklinikum Köln (AöR)	**Ja** Abbvie, Amgen, Astellas, AstraZeneca, Beigene, Bayer, BMS, Chugai, Eusa, GSK, Incyte, Janssen, Lilly, Medac, Miltenyi, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, Sanovi-Aventis, Stemline, Sobi, Takeda	**Nein**	**Nein**	**Ja** Abbvie, Amgen, Astellas, AstraZeneca, Beigene, Bayer, BMS, Chugai, Eusa, GSK, Incyte, Janssen, Lilly, Medac, Miltenyi, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, Sanovi-Aventis, Stemline, Sobi, Takeda	**Ja** Abbvie, Amgen, Astellas, AstraZeneca, Beigene, Bayer, BMS, Chugai, Eusa, GSK, Incyte, Janssen, Lilly, Medac, Miltenyi, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, Sanovi-Aventis, Stemline, Sobi, Takeda	**Ja** Abbvie, Amgen, Astellas, AstraZeneca, Beigene, Bayer, BMS, Chugai, Eusa, GSK, Incyte, Janssen, Lilly, Medac, Miltenyi, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, Sanovi-Aventis, Stemline, Sobi, Takeda	**Nein**
Rosenwald, Andreas	Universität Würzburg	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**
Rovó, Alicia	Inselspital, Universitätsspital Bern Universitätsklinik für Hämatologie und Hämatologisches Zentrallabor	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Nein**
Schanz, Julie	Universitätsmedizin Göttingen	**Nein**	**Nein**	**Nein**	**Ja** Novartis Alexion CSL Behring Sysmex	**Nein**	**Nein**	**Nein**

Legende:

[1] - Gegenwärtiger Arbeitgeber, relevante frühere Arbeitgeber der letzten 3 Jahre (Institution/Ort)

*[2] - Tätigkeit als Berater*in bzw. Gutachter*in oder bezahlte Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat / Advisory Board eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft (z. B. Arzneimittelindustrie, Medizinproduktindustrie), eines kommerziell orientierten Auftragsinstituts oder einer Versicherung*

[3] - Besitz von Geschäftsanteilen, Aktien, Fonds mit Beteiligung von Unternehmen der Gesundheitswirtschaft

[4] - Betrifft Arzneimittel und Medizinprodukte

*[5] - Honorare für Vortrags- und Schulungstätigkeiten oder bezahlte Autor*innen oder Koautor*innenschaften im Auftrag eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft, eines kommerziell orientierten Auftragsinstituts oder einer*

Versicherung

*[6] - Finanzielle Zuwendungen (Drittmittel) für Forschungsvorhaben oder direkte Finanzierung von Mitarbeiter*innen der Einrichtung von Seiten eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft, eines kommerziell orientierten Auftrags-instituts oder einer Versicherung*

[7] - Andere finanzielle Beziehungen, z. B. Geschenke, Reisekostenerstattungen, oder andere Zahlungen über 100 Euro außerhalb von Forschungsprojekten, wenn sie von einer Körperschaft gezahlt wurden, die eine Investition im Gegenstand der Untersuchung, eine Lizenz oder ein sonstiges kommerzielles Interesse am Gegenstand der Untersuchung hat

[8] - Persönliche Beziehung zu einem/einer Vertretungsberechtigten eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft