

Ausbildung und Beruf

INSTAND-Mitteilungen

Die Effektivität von Ringversuchen als externe Qualitätssicherung im medizinischen Laboratorium

5. Mitteilung: Fortsetzung und Schluß aus Lab.med. 5: (1981) A+B 257

Schlußfolgerungen

R. Merten

Der Einfluß der externen Qualitätssicherung durch Teilnahme an Ringversuchen auf die Zuverlässigkeit der Analysenwerte klinisch-chemischer Bestandteile im medizinischen Laboratorium ist an den Werten der Teilnehmer und Referenzlaboratorien der Jahre 1974 bis 1980 hinsichtlich ihrer Richtigkeit und Präzision untersucht worden.

Zur Beurteilung der Richtigkeit sind die Werte derjenigen Teilnehmer verwendet worden, die jeweils in beiden Proben eines Ringversuchs (Wertepaare) innerhalb der festgelegten Bewertungsgrenzen gelegen haben, während die Präzision an Hand der Jahresdurchschnittswerte $\bar{s}\%$ der relativen Standardabweichung gemessen worden ist. Beide Untersuchungen sind bei allen Bestandteilen getrennt durchgeführt worden. Zum Teil sind nur die Ergebnisse in die Statistik einbezogen worden, die mit sogenannten „Ausgewählten Methoden“ erhalten worden sind. Diese sind von den meisten Teilnehmern angewendet worden.

Erfolgsstatistiken und Streuungskriterien als Bewertungsmaßstäbe

Erfolgsstatistiken haben gezeigt, daß der Prozentsatz jener Teilnehmer, die in Ringversuchen für die untersuchten Bestandteile ein Zertifikat erhalten haben, in dem oben genannten Zeitraum kontinuierlich angestiegen ist und 1978 bereits einen Bereich erreicht hat, der eine Erfolgsquote von 75 bis 90% aufweist. Dies bedeutet, daß im Vergleich zu früheren Jahren, in denen oft nur 1 von 2 Wertepaaren den Anforderungen an Richtigkeit und Präzision entsprochen hat, jetzt 3 von 4 oder sogar 4 von 5 Wertepaaren diese erfüllt haben. Diese Durchschnittsberechnung schließt nicht aus, daß von manchen Teilnehmern alle mitgeteilten Werte, meist in allen Ringversuchen, innerhalb der Bewertungsgrenzen gelegen haben (1).

INSTAND hat in den letzten Jahren, ebenso wie die Ringversuchsorganisation

der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC), jährlich 8 klinisch-chemische Ringversuche veranstaltet, darüber hinaus 2 verschieden zusammengesetzte Programme (A und C bzw. VARIA) angeboten. Im Programm A mit den Gruppen 111 bis 132 haben die Teilnehmer alle wichtigen Bestandteile in die externe Qualitätssicherung einbeziehen können; im Programm C und in der VARIA-Gruppe ist dies auf die von den Kassenärztlichen Vereinigungen (KVen) zertifikatspflichtig gemachten Bestandteile beschränkt worden. Im Programm A haben die meisten Teilnehmer regelmäßig und meist an allen Ringversuchen teilgenommen, im Programm C und in der VARIA-Gruppe bevorzugt Teilnehmer der niedergelassenen Praxis und kleineren Krankenhäuser und häufig nur so oft, bis ihnen für die im eigenen Laboratorium analysierten Bestandteile eine Zertifikat erteilt worden ist. Bei einer Differenzierung der Erfolgsquoten dieser beiden Gruppen haben sich deutliche Unterschiede gezeigt. Dies ist aus

Tab. 1: Erfolgsstatistiken der Teilnehmer in 8 INSTAND-Ringversuchen des Jahres 1980 bei Teilnehmern im Programm A (Gruppen 111 bis 132 - langjährige Teilnehmer) im Programm C (Gruppen 911 bis 915 - Teilnehmer größtenteils aus Laboratorien der niedergelassenen Praxis und kleineren Krankenhäusern)

Gruppe	111 bis 132		911 bis 915		Alle Teilnehmer		111 bis 132				911 bis 915				Alle Teilnehmer				
	N	%	N	%	N	%	60 bis 70%	70 bis 80%	80 bis 90%	über 90%	60 bis 70%	>70 bis 80%	>80 bis 90%	über 90%	60 bis 70%	70 bis 80%	80 bis 90%	über 90%	
CA	1629	81,3	1370	68,6	2999	75,5			x		x							x	
CL	935	88,5	165	74,8	1100	86,5			x			x							x
K	1615	86,3	1389	75,3	3004	81,2			x			x							x
LI	543	80,9	92	77,6	635	80,4			x			x							x
MG	558	82,8	117	63,0	675	78,9			x		x							x	
NA	1371	90,9	837	81,7	2268	85,1				x			x						x
P	1054	85,1	152	70,3	1206	78,9			x			x						x	
FE	1528	70,6	1040	70,8	2568	70,7		x				x						x	
CU	751	68,5	122	71,0	873	68,8	x					x				x			
BILI	2415	76,6	2190	71,3	4605	74,1			x			x						x	
CHOL	3288	76,2	2634	72,2	592	74,8		x				x						x	
PROT	3024	80,2	1262	79,4	4286	79,7			x			x						x	
GLUC	2732	83,8	3360	76,2	6090	79,6			x			x						x	
HSR	2430	83,1	2409	76,6	4839	80,0			x			x						x	
HST	1892	80,1	1515	72,4	3407	76,7			x			x						x	
KREA	2265	83,0	2201	76,5	4466	79,8			x			x						x	
TRI	3015	74,8	2209	72,7	5224	74,4		x				x						x	
AP	2090	91,7	1826	76,1	3916	84,4				x		x							x
CHE	1143	77,2	252	70,5	1395	76,0		x				x						x	
GOT	2607	76,3	2590	72,0	5197	74,2		x				x						x	
GPT	2611	77,9	2643	74,2	5254	76,0		x				x						x	
GLDH	781	71,3	150	59,8	931	67,4		x				x						x	
γ-GT	2452	78,1	2438	70,0	4890	74,1		x			x							x	
α-HBDH	957	87,0	233	84,6	1190	86,5			x				x						x
CK	1488	78,1	356	75,6	1844	77,6		x				x						x	
LDH	1527	80,5	382	80,9	1909	80,6			x				x						x
LAP	912	65,7	168	62,0	1080	65,1	x				x							x	
SP	1230	81,7	299	78,9	1529	81,2			x			x							x
							N = 2	18	14	2	3	22	3	0	3	17	8	0	

der Tabelle 1 zu entnehmen. Im Programm A haben die Teilnehmer in 80 bis 90% bei 16 Bestandteilen, im Programm C nur bei 3 Bestandteilen ein Zertifikat erhalten. Der Anteil hat sich im Programm A in dem Bereich zwischen 70 und 80% auf 10 Bestandteile und im Programm C auf 22 Bestandteile verschoben.

Eine Gegenüberstellung der Jahresdurchschnittswerte $\bar{s}\%$ läßt eine deutliche Verbesserung der Präzision der Teilnehmer erkennen. Aus den Statistiken der 2. Mitteilung (2) sind die Werte von 1976 und 1980 miteinander verglichen und in Tabelle 2 die Bestandteile in Kurzzeichen nach dem Grad der Verbesserung der relativen Standardabweichung geordnet worden. Daß hier ein ständig wechselnder und sich im Laufe der Jahre ständig verbessernder Einfluß der Ringversuche vorliegt, wird in dem Vergleich der Werte von 1979 und 1980 sichtbar.

Die relative Standardabweichung ($s\%$) zeigt von Ringversuch zu Ringversuch sowohl bei den Referenzlaboratorien wie bei den Teilnehmern große Unterschiede. Wenn man in Tabelle 3 die niedrigsten ($s\%$ min) und die höchsten ($s\%$ max) Werte von $s\%$ betrachtet, die aus der Tab. 4 der 2. Mitteilung entnommen worden sind und

aus den Jahren 1979 und 1980 stammen, so ist unter $s\%$ min erkennbar, wie gering die Streuung der Werte bei manchen Bestandteilen in Ringversuchsproben sein kann (beispielsweise bei NA, CL und PROT $s\% > 1$ bis 2, sowie CA, K, LI, MG, GLUC, KREA, AP, CHE, γ -GT $s\% > 2$ bis 3) bei den Referenzlaboratorien, sowie bei

Tab. 2: Prozentuale Verbesserung der Jahresdurchschnittswerte $\bar{s}\%$ in Ringversuchen der Jahre 1976 und 1980 (bzw. 1979 und 1980)

um	von 1976 bis 1980										von 1979 bis 1980										
über 30%	CL																				
über 25 bis 30%	K	KREA	γ-GT								K										
über 20 bis 25%	CA	LI	GLDH								KREA										
über 15 bis 20%	CK																				
über 10 bis 15%	P	CHOL	PROT	GLUC	AP	SP	CL	MG	P	CK	L/AP										
über 5 bis 10%	NA	GOT	GPT	LDH	LAP	GLDH	CA	PROT	SP	AP	γ-GT										
±0 bis 5%	FE	CU	BILI	HSR	HST	TRI	CHOL	GOT	GPT	LI	CHE	GLUC									
	CHE	α-HBDH	BILI	HSR	HST	TRI	α-HBDH	NA	HST	HSR	TRI	LDH									
							BILI	CU	FE												

Tab. 3: Niedrigste ($s\%$ min) und höchste ($s\%$ max) Werte der relativen Standardabweichungen $s\%$ bei Referenzlaboratorien und Teilnehmern in 16 Ringversuchen der Jahre 1979/1980

Bestandteil	$s\%$ min		$s\%$ max	
	Ref. Lab.	Teilnehmer	Ref. Lab.	Teilnehmer
CA	2,28	4,64	4,58	7,67
CL	1,23	2,35	3,33	5,99
K	2,11	3,50	3,33	5,65
LI	2,41	4,82	4,88	9,76
MG	2,71	4,00	8,77	11,5
NA	1,15	3,67	2,41	5,30
P	3,59	6,60	7,67	12,2
FE	3,30	10,1	8,20	14,4
CU	5,03	10,2	11,1	15,4
BILI	3,47	8,50	7,50	14,4
CHOL	3,33	8,01	8,34	11,7
PROT	1,79	4,22	4,87	8,70
GLUC	2,42	5,74	5,11	8,05
HSR	3,54	7,20	8,85	10,3
HST	3,10	7,39	6,61	10,9
KREA	2,39	5,84	7,30	14,1
TRI	5,25	10,5	9,80	16,0
AP	2,52	9,20	8,53	14,3
CHE	2,20	10,1	12,2	13,4
GOT	4,18	9,59	8,94	16,4
GPT	4,41	9,18	9,41	14,7
GLDH	5,13	11,6	14,9	18,9
γ -GT	2,64	7,22	8,29	17,4
α -HBDH	4,88	8,40	11,4	13,3
CK	4,75	10,6	10,3	15,4
LDH	4,54	8,83	10,4	11,7
LAP	4,07	11,5	12,5	21,0
SP	4,97	10,5	10,3	13,4

Lage von $s\%$ zwischen:

> 1 bis 2	3	0	0	0
> 2 bis 3	9	1	1	0
> 3 bis 4	6	2	2	0
> 4 bis 5	7	4	3	0
über 55	3	13	14	7
über 10		8	8	21

den Teilnehmern CL > 2 bis 3, K, NA und MG > 3 bis 4 und CA, LI und PROT > 4 bis 5. Demgegenüber finden sich unter den $s\%$ max bedrückend hohe Werte, bei einigen Bestandteilen auch bei den Referenzlaboratorien (besonders bei den Enzymen), vor allem aber bei den Teilnehmern (kein Bestandteil, bei dem $s\%$ unter 5 liegt, nur 7 Bestandteile zwischen 5 und 10 und 21 von 28 Bestandteilen über 10). Bei den Minimal- und Maximal-Streuungen der einzelnen Sollwertermittlungen und Ringversuche entsteht der Eindruck, daß die Probenbeschaffenheit eine wesentliche Rolle spielt.

Reinauer (3) hat auf der gemeinsamen Tagung zur „Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin“, die von INSTAND mit der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin (DGLM) im November 1981 in Düsseldorf veranstaltet worden ist, in der Probeneigenschaft die größten Störmöglichkeiten gesehen und einen „Forderungskatalog“ zur Beschaffenheit des Probenmaterials an die Hersteller aufgestellt, dabei auch auf die bekannten methoden-, reagenzien-, geräte- und untersucherbedingten Fehlermöglichkeiten hingewiesen (siehe hierzu [4, 5] [Tabelle 4]).

Bewertungsmaßstäbe und ihre Auswirkung

In Ringversuchen haben sich eine Reihe von Problemen ergeben, die vor allem die Berechnung von Sollwert und Sollbereich betreffen: Die beiden Ringversuchsorganisationen unterscheiden sich hier in wesentlichen Punkten, im besonderen in der

1. Anzahl der Laboratorien, die bei der Ermittlung der verschiedenen Kenngrößen (Lage- und Streuungskriterien) beteiligt werden,
2. Anzahl der von jedem Laboratorium zu ermittelnden Werte, sowie in den
3. angewandten Rechentechniken und
4. Ausreißerkriterien.

Die genannten Kriterien haben gleiche Bedeutung bei der Berechnung der Teilnehmermittelwerte und Streuungen.

Neben den Modellen der DGKC (6, 7) und von INSTAND (8 bis 13) ist von dem Verband der Diagnostica und Diagnostica-gerätehersteller (VDGH) eine Studie veröffentlicht worden, die als Basis für die Ermittlung in Kontrollproben vorgeschlagen worden ist (14 bis 18). Diese sind in der 3. Mitteilung eingehend erörtert (19) und in Tabelle 5 übersichtlich gegenübergestellt.

Im Modell der DGKC dürfen systematische Unterschiede zwischen den Werten der 3 Referenzlaboratorien nicht auftreten. Sie müssen nach Klärung beseitigt werden. Hierauf könnten die in allen Ringversuchen der DGKC meist bei mehreren Bestandteilen auftretenden Unterschiede zwischen Sollwert und Teilnehmerwert neben den unterschiedlichen Rechentechniken und Ausreißereliminierungen zurückzuführen sein. So wird in dem Modell der DGKC als Mittelwert der Teilnehmer das arithmetische Mittel \bar{x} einer gestutzten Verteilung der Teilnehmerwerte angeführt, wobei alle Werte eliminiert werden, die außerhalb des Bereichs ($\bar{x}' - 10s'$, $\bar{x}' + 10s'$) liegen. \bar{x}' und s' sind das arithmetische Mittel und die Standardabweichung vor der Ausreißereliminierung, $s\% = 100 \cdot s/\bar{x}$. In den INSTAND-Ringversuchen ist der Mittelwert der Teilnehmer das geometrische Mittel \bar{x}_g einer gestutzten Verteilung, wobei zur Stützung alle Werte eliminiert worden sind, die außerhalb des Bereichs ($\bar{x}_g'/1,4$, $\bar{x}_g' \cdot 1,4$) liegen, wobei \bar{x}_g' das geometrische Mittel aller Teilnehmerwerte darstellt. $s\%$ ist durch Rücktransformation der Standardabweichung der logarithmierten Werte gewonnen worden.

Tab. 4: Forderungskatalog über die Beschaffenheit des Probenmaterials bei Ringversuchen*

1. Die Homogenität der Charge muß gewährleistet sein
2. Die Restwassermengen sollten in den Proben bzw. den Probenchargen angegeben sein.
3. Die Schwankungen der Konzentration von Bestandteilen von Glas zu Glas müssen minimal und deklariert sein („interval variability“).
4. Die Herkunft der Probenmatrix muß angegeben werden (z.B. Rinderserum, Humanserum usw.).
5. Die Probe muß in Aqua dest. vollständig innerhalb von 30 Minuten rekonstituierbar sein.
6. Bei der Rekonstituierung darf keine Schaumbildung auftreten.
7. Die Eigentrübung der rekonstituierten Proben darf eine Extinktion 0,9 (1 cm Lichtweg, 550 nm) nicht überschreiten.
8. Proteine, Lipoproteine und Enzyme dürfen nicht denaturiert sein.
9. Zusätze von Proteinasen, Proteinaseinhibitoren, Koagulantien, Antikoagulantien, Detergentien, Konservierungsmittel müssen in angemessener Weise deklariert werden.
10. Die Haltbarkeit der lyophilisierten und der rekonstituierten Probe muß angegeben werden. Die Haltbarkeit der rekonstituierten Probe muß mindestens 8 Tage bei 4°C betragen.
11. Die Konzentrationen der einzelnen Bestandteile in den beiden Proben sollten verschieden und jeweils im mittleren Normalbereich liegen.
12. Der pH der Probe sollte zwischen 7,2–7,4 liegen.
13. Die Konzentrationen von Glucose, Glycerin und Pyruvat dürfen die Aktivitätsmessungen der Amylase, Lipase bzw. der GPT nicht stören.
14. Die Zustellung der Proben zum Versandort muß schnellstmöglich erfolgen, ohne die Proben Lichteinwirkungen oder Temperaturen über 20°C auszusetzen.
15. Die Proben dürfen nicht auf dem Markt sein (z.B. als Richtigkeitskontrollen bei interner Qualitätskontrolle).
16. Die Zielwerte müssen methodenabhängig angegeben sein.
17. Das zugrundeliegende Bestimmungsmodell muß mit zugehöriger statistischer Auswertung angegeben sein (evtl. Literaturstellen).
18. Die Proben müssen ansteckungsfrei sein.

* Von H. Reinauer in „Probleme der externen Qualitätskontrolle und Perspektiven“, Tagungsvorlage der gemeinsamen Tagung von INSTAND und der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin Hrsg.: U. P. Merten 1981, S. 81

Median und arithmetischer Mittelwert der Referenzlaboratorien bzw. Mittelwert der Teilnehmer?

In den oben genannten Sollwertmodellen wird sowohl der *arithmetische Mittelwert* als auch der *Median* (beim VDGH-Modell der Median des kürzesten 95%-Bereichs) als Sollwert verwendet. Die hierzu von uns an 360 Wertepaaren vorgenommenen Vergleiche haben gezeigt, daß der prozentuale Unterschied in 95% unter 3% liegt und daß Unterschiede von 3 bis 5% nur in 2,82%, über 5% nur in 2,35% aufgetreten sind. Die Gründe für diese Unterschiede sind in der 4. Mitteilung (20) beispielhaft erörtert. Der *kürzeste 95%-Bereich* hat sich häufiger enger als der 2s-Bereich erwiesen. Er stellt damit an die Genauigkeit der Untersucher höhere Anforderungen. Da es kein Verfahren gibt, um aus dem kürzesten 95%-Bereich nach den Richtlinien der Bundesärztekammer einen 3s-Bereich zu konstruieren, der als Sollbereich in Ringversuchen zur Bewertung verwandt werden kann, eignet sich das VDGH-Modell nur zur Sollwertermittlung in Richtigkeitskontrollproben, die in

Tab. 5: Versuchspläne für die Ermittlung der Sollwerte und Bewertungsgrenzen aus Sollwertermittlungen durch Referenzlaboratorien der Referenzinstitution der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DGKC), des Institutes für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND) und des Verbandes der Diagnostica und Diagnosticageräte-Hersteller (VDGH)

Modell der DGKC	Modell der INSTAND-Prüfinstitution	Modell des VDGH
1. 3 Referenzlaboratorien	1. 10 Referenzlaboratorien (nicht unter 5 bis 6)	1. 6 Laboratorien
2. 15 Doppelbestimmungen je Referenzlaboratorium an 15 verschiedenen Werktagen unter Routinebedingungen, in flüssigen Proben 10 Doppelbestimmungen	2. 4 Analysenwerte an 2 bzw. 4 verschiedenen Arbeitstagen bzw. in 4 verschiedenen Serien	2. 5 Analysenwerte in 5 verschiedenen Serien bzw. an 5 verschiedenen Arbeitstagen unter gleichzeitiger Untersuchung einer Blindprobe
3. Computerauswertung der 1. und 2. Ergebnisse getrennt für jedes Laboratorium	3. Computerauswertung	3. Computerauswertung
3.1 Häufigkeitsverteilung aller Analyseergebnisse und Berechnung der Kenngrößen <ul style="list-style-type: none"> – arithmetischer Mittelwert – Standardabweichung von Tag zu Tag – Standardabweichung in der Serie – 2s-Bereich 	3.1 Ermittlung des 2s-Bereichs aller Werte der Referenzlaboratorien	3.1 Ermittlung aller Werte, die in einer bestimmten Serie in der Blindprobe nicht innerhalb der „Ausschlußgrenzen“ liegen
3.2 Kombination der Daten mit Berechnung der gemittelten Kenngrößen <ul style="list-style-type: none"> – Sollbereich (SB) als kleinster Bereich (95% der Ergebnisse) – Sollwert (SW) – Mittelwert im Sollbereich (SB) – Median 	3.2 Ermittlung der Kenngrößen derjenigen Werte, die innerhalb des 2s-Bereichs unter 3.1 liegen <ul style="list-style-type: none"> – Mittelwert im 2s-Bereich als Sollwert \bar{x} – Standardabweichung s – relative Standardabweichung $s\%$ (VK %) 	3.2 Berechnung des Median aus den 95% qualitätskontrollierten Daten (d. h. nach Ausschluß der unter 3.1 gefundenen Daten)
4. Bewertungsgrenzen <ul style="list-style-type: none"> – Obergrenze = $SW + 1,5x$ (Obergrenze SB minus SW) – Untergrenze = $SW - 1,5x$ (Obergrenze SB minus SW) 	4. Bewertungsgrenzen <ul style="list-style-type: none"> – obere Grenze: Sollwert zuzüglich der 3fachen Standardabweichung – untere Grenze: Sollwert abzüglich der 3fachen Standardabweichung 	4. Bewertungsgrenzen <ul style="list-style-type: none"> – Kürzester 95%-Bereich aller qualitätskontrollierten Daten

der internen Qualitätskontrolle eingesetzt werden. Es wird immer wieder wegen der auftretenden Unterschiede des *Teilnehmermittelwertes* vom Sollwert vorgeschlagen, diesen anstelle des letzteren als Mittelpunkt zur Berechnung des Sollbereichs zu verwenden. Hiergegen wird unter anderem eingewendet, daß die Teilnehmer an ihren eigenen Werten bewertet würden. In den meisten Ländern wird allerdings so verfahren. Dies erspart zweifellos sehr viel Aufwand und ermöglicht, die vielfältigen Einflüsse von Methoden, Reagenzien, Geräten bei genügend großen Teilnehmerzahlen zu differenzieren. Es kommt dem Ziel jedoch in keiner Weise näher, den Sollwert zu finden, der dem unbekanntem wahren Wert am nächsten kommen könnte, und wirft vor allem die Frage auf, nach welchem Streuungskriterium der Sollbereich berechnet werden soll. 1980 sind von der DGKC und von INSTAND in den 8 Ringversuchen je 16 Proben eingesetzt worden. Ein Vergleich der Abweichungen der Teilnehmermittelwerte (TNMW) von den zugehörigen Sollwerten hat ergeben, daß 75% der INSTAND-TNMW und 58% der DGKC-TNMW nicht höher als bis 3,3% Unterschiede zeigen, über 5-prozentige Abweichungen jedoch bei den Ringversuchen der DGKC in 24,3% und bei INSTAND nur in 6,5% auftreten. Unterschiede zwischen Sollwert und Teilnehmermittelwert sind offensichtlich nicht zu vermeiden. Überschreiten sie jedoch einen höheren Prozentsatz, so ist dies mehr als bedenklich, besonders wenn die Erteilung eines Zertifikates mit einer Nicht-honorierung von Laboratoriumsanalysen verbunden wird, wie dies in der Bundesrepublik Deutschland über die KVen erfolgt. An 9 Bestandteilen eines Ringversuches ist gezeigt worden, wie sich die Verschiebung

des Sollwertes bei unverändertem s% auf die Lage der Sollbereiche und damit auf die Zahl der irrtümlich mit einem Zertifikat bedachten Teilnehmer einerseits und auf diejenigen, denen ein solches versagt wird, auswirkt. Dies kann besonders bei engen Bewertungsgrenzen und gleichzeitigen Schiefen in der Verteilung der Teilnehmer zu erheblichen Fehlbewertungen führen.

Ein besonderes Problem entsteht, wenn Sollwerte, z.B. bei „auslaufenden“ oder „neu entwickelten“ Methoden nicht mehr oder noch nicht mit der notwendigen Sicherheit durch Referenzlaboratorien bestimmt werden können. Es bleibt dann keine andere Wahl, als den Teilnehmermittelwert nach Eliminierung der Ausreißer als Sollwert einzusetzen und die Grenzen des Sollbereichs mit Hilfe der relativen Standardabweichung zu berechnen, die bei der betreffenden Probe mit der „ausgewählten“ Methode ermittelt worden ist.

Ungeklärt ist, wann methoden- oder reagenzienbedingte Unterschiede berücksichtigt werden müssen, d.h. welche Unterschiede zwischen den betreffenden Sollwerten toleriert werden können.

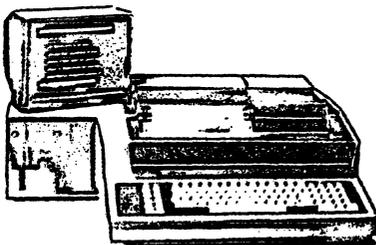
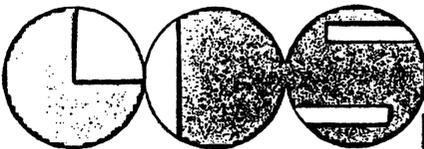
Solange der „wahre Wert“ in biologischem Material wie den Ringversuchsproben nicht bekannt ist bzw. die an die Probenbeschaffenheit gestellten Anforderungen nicht erfüllt werden können, kann nur ein von beiden Ringversuchsorganisationen in allen Schritten exakt beachtetes Sollwertmodell, in dem die Anzahl der Referenzlaboratorien, die von ihnen zu ermittelnden Werte, die Ausreißereliminierung und Rechentechiken im einzelnen festgelegt werden, zu einer einheitlichen Bewertung führen und Fehlbewertungen vermeiden.

Schrifttum:

1. Mitteilung: Lab. med. 5, A + B 6 (1981).
2. Mitteilung: Lab. med. 5, A + B 68 (1981).
3. REINAUER, H.: Probleme der externen Qualitätskontrolle und Perspektiven in „Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin“, Tagungsvorlage der gemeinsamen Tagung von INSTAND und der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, Hrsg. U. P. Merten 1981, S. 81.
4. MERTEN, R., VON BOROVICZÉNY, K.-G.: Zufällige und systematische Fehler im Laboratorium. diagnostik 5, 325 (1972).
5. Qualitätssicherung im ärztlichen Labor mit einem Fragenkatalog zur Fehlererkennung, Fehlersuche und Fehlervermeidung: Helferlein des Arztes, Hefte 2-8, 1976.
6. STAMM, D.: Die Meßunsicherheit bei quantitativ-chemischen Untersuchungen. PTB-Mitt. 90, 134 (1980).
7. HANSERT, E., STAMM, D.: Determination of assigned values in control specimens for internal accuracy control and for interlaboratory surveys. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 461 (1980).
8. VON BOROVICZÉNY, K.-G., MERTEN, R.: „Systematik der Qualitätskontrolle im Laboratorium“, Ärztl. Labor 17, 285, 349, 384, 416 und 451 (1971) und 18, 26, 58, 114, 150 und 177 (1972), als Broschüre erschienen im Medicus Verlag GmbH, Berlin, 1972.
9. VON BOROVICZÉNY, K.-G.: Die Qualitätssicherung im medizinischen Laboratorium. PTB-Mitt. 86, 86 (1976).
10. VON BOROVICZÉNY, K.-G.: Highly accurate (assured) values in medical laboratories. In "Accuracy assessment and target values". Proceedings of the IX World Congress of Anatomic and Clinical Pathology, Sydney, 13.-17. October 1975, p. 239, Excerpta Medica, Amsterdam (1976).
11. KLEIN-WISENBERG, A. v.: Statistical models and confidence intervals in the assessment of target values. In "Proceedings of the IX World Congress of Anatomic and Clinical Pathology, p. 242, Excerpta Medica, Amsterdam (1976).
12. SCHUMANN, V.: Statistische Modelle zur Erstellung von Sollwerten und Sollbereichen in Kontrollproben. Med. Lab.: 20, 271 (1976).
13. MERTEN, R., MERTEN, U. P.: Target values for evaluating results in collaborative surveys. In "Proceedings of the IX World Congress of Anatomic and Clinical Pathology", p. 252, Excerpta Medica, Amsterdam (1976).
14. PASSING, H., GLOCKE, M., & BRETTSCHEIDER, H., MÜLLER, B.: Ein optimiertes verteilungsfreies Sollwertermittlungsmodell für Kontrollproben. Lab. Med. 4, A + B 154 (1980).
15. PASSING, H., MÜLLER, B., & BRETTSCHEIDER, H.: The Importance of a plain Control in the Establishment of Assigned Values in Control Sera. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 1137 (1981).
16. PASSING, H.: The Inadequacy of normal Distribution Models for the Establishment of Assigned Values in Control sera. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 1145 (1981).
17. PASSING, H.: Comparison of Three Distribution-Free Procedures in the Establishment of Assigned Values in Control Sera. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 1153 (1981).
18. PASSING, H., BABLOK, W., GLOCKE, M.: An Optimized Design for the Establishment of Assigned Values in Control Sera. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 19, 1167 (1981).
19. 3. Mitteilung: Lab. med. 5, A + B 197 (1981).
20. 4. Mitteilung: Lab. med. 5, A + B 257 (1981).

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. med. Richard Merten
Postfach 4402, INSTAND
Wagnerstr. 10
D-4000 Düsseldorf 1



Wir haben die preiswerte EDV-Lösung für Ihr Labor!

Aus der Praxis heraus entwickelt:
LABDATA und BAKDATA
zum Einsatz in:

Klinische Chemie	Varia
Serologie	Parasitologie
RIA-Labor	Mykologie
Haematologie	Tbc-Labor
Toxikologie	

u. a. mit Funktionen wie:

- Auftragserfassung
- Arbeitsplatzlisten
- Ergebniseingabe
- Qualitätskontrolle
- Kumulativbefunde
- Textverarbeitung
- Rechnungswesen

Auf dem  - F85
bis zu 5 Benutzer gleichzeitig
131 kByte Arbeitsspeicher
Hochgeschwindigkeits-Matrix-Drucker
geringer Platzbedarf
keine Klimaanlage

Informationen von:

LABOR-DATEN-SYSTEME GmbH
Blumenstraße 4
7140 Ludwigsburg
Telefon (0 71 41) 2 04 80

Methodische Beiträge aus der Praxis**Immunfluoreszenz-Test auf Toxoplasmose
Prüfung käuflicher Reagenziensätze***

H. Werner** und Ursula Senk

Zusammenfassung:

*In Ergänzung der Arbeiten der Toxoplasmose-Kommission des Bundesgesundheitsamtes (BGA) wurden die in der Bundesrepublik Deutschland käuflichen Reagenzien zum Nachweis von Toxoplasma-Antikörpern im indirekten Immunfluoreszenz-Test (IIFT***) geprüft. Dabei wurden die Produkte von sechs Herstellern einzeln, im Vergleich untereinander und in Kombination der einzelnen Reagenzien auf Reinheit und Empfindlichkeit geprüft. Es fanden sich erhebliche Unterschiede insbesondere bezüglich der Konzentration der Toxoplasmen in der Antigensuspension, in Art und Stärke der Randfluoreszenz und bei der Empfindlichkeit des jeweiligen Reagenziensatzes.*

Schlüsselwörter:

Toxoplasma-Antikörper – Indirekter Immunfluoreszenz-Test – Reagenzienvergleich

Summary:

As supplementation to the studies of the Commission for Toxoplasmosis of the Federal Health Office, tests have been performed with reagents commercially available in the Federal Republic of Germany for the demonstration of toxoplasma antibodies in the indirect immunofluorescence test (IIFT). Here, the products of six firms were tested separately and in combination for the degree of purity and sensitivity, and the results were compared. Considerable differences between the single sets of reagents were especially found as to the concentration of toxoplasms in the antigen suspension, as to the kind and intensity of the marginal fluorescence, and as to the degree of sensitivity.

Key words:

Toxoplasma antibodies – indirect immunofluorescence test – comparison of the reagents

Einleitung

Mit der Novellierung des Bundesseuchengesetzes vom 18. 12. 1979 (in Kraft getreten am 1. Januar 1980 BGBl. I. 2248–2261) wurde in § 3 (2) die Meldepflicht einer Erkrankung bzw. eines Todesfalles an Toxoplasmose aufgehoben und stattdessen dieselbe Meldepflicht ausschließlich für die angeborene Toxo-

plasmose eingeführt. Auch aus diesem Grund werden zunehmend serologische Testungen auf Toxoplasma-Antikörper im Rahmen der Mutterschaftsvorsorgeuntersuchungen angefordert****. Verschiedene Hersteller des In- und Auslandes bieten Testreagenzien für die serologische Diagnostik an, z.B. für den indirekten Immunfluoreszenz-Test (IIFT), für die Komplementbindungsreaktion

(KBR), den indirekten Hämagglutinationstest (IHAT), den direkten Agglutinationstest und auch für Enzym-Immuno-Assays (EIA). Die Fülle der Angebote kann zur Verunsicherung der Laborärzte und anderer Anwender durch Interpretationsschwierigkeiten führen.

Deshalb wurde in Ergänzung der Arbeiten der Toxoplasmose-Kommission des Bun-

* Nach einem Vortrag auf dem Kongreß für Laboratoriumsmedizin der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V., Berlin, Mai 1981.

** Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. vet. h. c. K. Enigk in Verehrung zum 75. Geburtstag gewidmet.

*** Für die Immun(o)fluoreszenz-Teste führen sich verschiedene Bezeichnungen ein, so: indirekter Immun(o)fluoreszenz-Test (IIFT) bzw. Immun(o)fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT) bzw. Immun(o)fluoreszenz-Antikörper-Test auf Toxoplasmose (IFAT) bzw. analog dem FTA-Test für Fluorescent-Treponema-Antibody-Test die Abkürzung FA-Test auf Toxoplasmose für Fluoreszenz-Antikörper-Test auf Toxoplasmose bzw. FToA-Test (d. Redaktion).

**** In Frankreich und Österreich (3) sind sie Bestandteil der Mutterschaftsvorsorgeuntersuchung. Vielleicht ist es die daraus resultierende Erfahrung, die einen Unterschied zwischen den französischen und anderen Produkten, z.B. in Tab. 4, erkennen läßt (d. Redaktion).

Tab. 1: Angaben über die Toxoplasma-Antigene

Hersteller/Firma	BAG	Behring**	bio Mérieux**	Pasteur	La Roche	Wellcome*	Bemerkungen
Menge/Ampulle (Flasche) lyophilisiert	Gebrauchsfert. Objektträger in Glycerin	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	0,5 ml	
Trophozoite Menge pro Reakt.- Feld ca.)							Quantität sehr unter- schiedlich v. Charge zu v. Amp. zu Amp. (Wellcome)
Charge I	10.000	20.000	33.000	36.000	116.000	46.000	
Charge II	10.000 (lt. Angabe)	35.000	18.000	91.000	210.000	30.000/3.000	
Verunreinigung (Fremdzellen)							
∅ = keine + = vereinzelt ++ = mehrere +++ = zahlreiche	+	+	∅	+++	+	++	
Nachfixierung d. angetrockneten Trophozoite							
∅ = nicht erford. M = Methylalkohol	∅	∅	∅	M	∅	M	
Haltbarkeit bei -20° C (in Monaten)	bis Ver- falldatum	einige Wochen	mehrere Monate	mehrere Monate	bis zu 6 Monaten	mehrere Monate	
Preis 1980/81	ganzer Test- satz 169,- DM	5 x 1 ml 117,- DM	4 x 1 ml 52,- DM	4 x 1 ml 85,- DM	5 x 1 ml 170,- DM	5 x 0,5 ml 148,- DM	

* Vertrieb ab 1981 eingestellt.

** Ab 1981 sind auch mit Antigen beschichtete Objektträger im Handel.

desgesundheitsamtes, die 1974 bis 1977 Empfehlungen* zur Durchführung von Toxoplasmose-Seroreaktionen mittels Sabin Feldman-Test (SFT), IIFT und KBR erarbeitet hatte (1, 2), die Prüfung der auf dem deutschen Markt erhältlichen Reagenzien für den IIFT auf Toxoplasmose vorgenommen mit Stand Februar 1981. Die Prüfung erfolgte an einem Referenzserum, das auf ein WHO-Standard-Serum** eingestellt ist und bei den genannten Empfehlungen ebenfalls als Referenz gedient hatte. Die auf diese Weise erzielte Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Untersucher ließ sich in wiederholten Ringversuchen unter den Toxoplasmose-Laboratorien der Kommissions-Mitglieder bestätigen (unveröffentlicht).

Material-Methoden

Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der einzelnen Reagenziensätze wurden die Untersuchungsverfahren genau nach den An-

gaben des jeweiligen Herstellers ausgeführt. Neben dem Referenzserum der Toxoplasmose-Kommission, das am WHO-Standard Nr. XIII-172 mit einem IIFT-Titer von 1:1.000 eingestellt war, wurden eigenerstellte, lyophilisierte Seren, nämlich drei Humansenen mit den Titern 1:4, 1:256 und 1:4.000 sowie zwei negative Kontrollseren von Spendern zur Qualitätskontrolle verwendet. Alle Prüfungen wurden mit denselben Kontrollseren durchgeführt, indem an jedem Untersuchungstag die bei -20° C gelagerten 0,5 ml-Ampullen geöffnet, die Lyophilisate aufgelöst und nur an diesem Untersuchungstag verwendet wurden.

Die Prüfung der Reagenzien erfolgte in zwei Versuchsgruppen:

1. Verwendung firmengleicher Reagenzien eines Reagenziensatzes (Antigen, Puffer, Antihumanglobulin [Mischglobulin] vom selben Hersteller).
2. Verwendung firmenungleicher Reagenzien in Kombination verschiedener

Fabrikate (Antigen Fabrikat X, Konjugat Fabrikat Y, wobei der pH-Wert des Puffers nach den Empfehlungen des Konjugat-Herstellers eingestellt wurde).

In die Prüfung wurden die Reagenzien von sechs Herstellern einbezogen, und zwar aus jeweils zwei verschiedenen Chargen im Abstand von etwa 9 Monaten.

Zur Durchführung der Immunreaktionen wurden Objektträger*** mit 10 vormarkierten runden Reaktionsfeldern benutzt. Dabei betrug die Menge der aufgetragenen Antigensuspension je Reaktionsfeld etwa 10 µl.

Die Gebrauchslösung des Konjugats wurde nach den Angaben des Herstellers entweder durch Auflösen eines Lyophilisates oder durch Verdünnung des flüssigen Konjugats hergestellt. Erwies sich jedoch ein angegebener Verdünnungsfaktor als zu groß bzw. zu klein, gemessen am Endtiter des positiven Referenzserums, wurde er

* Seit der Publikation dieser Empfehlungen 1977 haben sich verschiedene Fachgesellschaften mit der Standardisierung von Immunfluoreszenz-Methoden befaßt (4). Die verschiedenen Ergebnisse sind bisher in den BGA-Empfehlungen von 1976 nicht eingearbeitet worden.

** Referenz-Nr. XIII-172.

*** Fabrikat Hölzel/München-Dorfen.

Tab. 2: Angaben über die FITC-markierten Antihumanglobuline

Hersteller Firma	BAG	Behring	bio Mérieux	Pasteur	La Roche	Wellcome
Spender tier	Ziege	Ziege	Ziege	?	Schwein	Schaf
Flascheninhalt* in ml	4	1	2,5	2 ml*	1	1
Verdünnungsfaktor (Gebrauchsverdünnung) zur Erreichung des Endtiters der pos. Kontrolle bzw. des pos. Referenserums	unverdünnt gebrauchsfertig	unverdünnt gebrauchsfertig	1:50	1:50 (1:100)	1:40	1:40
PBS-pH	7,4	7,2	7,2	7,2	7,2	7,6
Evansblue Z = Zusatz erforderlich K = Zusatz enthalten	K	K	Z	Z	Z	Z
Haltbarkeit (-20°C)** des aufgelösten Lyophilisats (vor Weiterverdünnung)	mindestens 6 Monate	Lagerung möglich, keine Zeit- angabe	Lagerung möglich, keine Zeit- angabe	keine Angaben	ca. drei Monate	mehrere Monate
Preis 1980/81	169,- DM**	16,50 DM	83,- DM	105,- DM	5 x 1 ml 250,- DM	—

* Als Lyophilisat.

** n. Angabe d. Herstellers.

* Flüssige Konjugatverdünnung.

** Vollst. Testsatz (Antigen, Puffer, Antihumanglobulin).

durch Austitrierung festgestellt. Häufigkeit und Dauer der Waschvorgänge sowie Temperatur der Inkubationen und Dauer der Inkubationszeiten wurden nach den Angaben der Konjugathersteller eingehalten.

Die Ergebnisse wurden mit dem Zeiss-Fluoreszenz-Mikroskop (GFL-Stativ mit Aufsichtfluoreszenz und Quecksilberhöchstdrucklampe HBO-50W) gewonnen. Folgende Filterkombination wurde verwendet: Anregung BP 450 bis 490. Sperrfilter LP 520, Farbleiter FT 510.

Ergebnisse

1. Prüfung der Antigene

Es wurde die Konzentration der Toxoplasmen in der Antigensuspension überprüft, wobei sich unterschiedliche Anzahlen von Trophozoiten je Reaktionsfeld ergaben, und zwar sowohl in Abhängigkeit vom Hersteller als auch in Abhängigkeit von den Chargen und sogar innerhalb derselben Charge desselben Herstellers. Dabei erwies sich eine Antigenmenge von 30.000 bis 40.000 Trophozoite je Reaktionsfeld als optimal. Die Prüfung der Reinheit der Antigensuspension zeigte zwar in einzelnen Fällen Fremdzellen sowohl des Mäuse-Exsudates als auch der Gewebekultur, doch wirkten sich diese Zellen nicht störend auf die Ablesung der Testergebnisse und nicht auf das quantitative Ergebnis aus.

Eine Zusammenstellung der Antigen-Prüfungen findet sich in Tabelle 1.

2. Prüfung der Konjugate

Die Prüfung der Konjugate auf die Richtigkeit des angegebenen Verdünnungsfaktors für das FITC-markierte Antihumanglobulin, der Intensität der Randfluoreszenz, der Ablesbarkeit des Testes und der Empfindlichkeit des gesamten Reagenziensatzes hatte folgendes Ergebnis:

Der vom Hersteller angegebene Verdünnungsfaktor kann nur als Orientierungshilfe angesehen werden, weil bei einigen Fabrikaten der Endtiter des positiven Kontroll- und des verwendeten Referenserums entweder nicht erreicht oder gelegentlich auch überschritten wurde. Ohne eine Kontrolle der optimalen Verdünnung des Antihumanglobulins durch den Untersucher anhand eines Standardserums mit definiertem Titer bzw. in internationalen Einheiten sind optimale und vergleichbare Untersuchungsergebnisse offensichtlich nicht zu erzielen, auch wenn der vom Hersteller vorgenommene Zusatz von Evans Blue sich günstig auf das Untersuchungsergebnis auswirkt.

Als Erleichterung für den Arbeitsablauf erwies sich das flüssig vorliegende Konjugat Fabrikat Pasteur, aus dem durch Verdünnen eines Tropfens mit PBS-Puffer die Gebrauchslösung hergestellt wurde, die jedoch nicht über den Untersuchungstag hinaus haltbar ist.

Die Ergebnisse der Prüfung der Antihumanglobuline und weitere Angaben sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Reaktionsfelder der für den IIFT verwendeten Objektträger sollen nach den

Empfehlungen aller Hersteller im Anschluß an die Inkubation mit dem Antihumanglobulin nach dem darauffolgenden letzten Waschvorgang mit gepuffertem Glycerin eingedeckt werden. Die Objektträger können nach Ablesen des Testes bei -20°C aufbewahrt werden. Auch bei solch einer Aufbewahrung von 4 Wochen konnte eine Verschlechterung der Intensität der Randfluoreszenz bei keinem Fabrikat beobachtet werden.

3. Prüfung der Reagenziensätze

Eine Prüfung der Reagenziensätze ergab, daß die angegebenen Endtiter der zu untersuchenden Testseren nicht in jedem Fall erreicht werden konnten. Es fanden sich zum Teil recht beachtliche Unterschiede vor allem in der Intensität der Randfluoreszenz. In einigen Fällen fanden sich fließende Übergänge zwischen positiven und negativen Reaktionen, ohne daß ein Endtiter klar ermittelt werden konnte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

4. Prüfung von Kombinationen aus Reagenzien verschiedener Hersteller

Diese Untersuchungen hatten sehr verschiedene Ergebnisse, wobei in einigen Kombinationen entweder eine sehr schwache oder keine Randfluoreszenz beobachtet werden konnte, so daß ein Endtiter nicht bestimmbar war. Dagegen fand sich bei der vorgesehenen Verwendung der Reagenzien jeweils desselben Herstellers eine mehr oder weniger deutliche Randfluoreszenz, so daß empfohlen werden

Tab. 3: Ergebnisse und Bewertung des Immunfluoreszenztestes (IFAT) (4 Testansätze)

	BAG	Behring	bio Mérieux	Pasteur	La Roche	Wellcome
1 pos. Referenzserum* Endtiter erreicht	2/4	1/4	4/4	3/4	3/4	2/4
3 pos. Kontrollseren** Endtiter erreicht	9/12	6/12	11/12	10/12	9/12	10/12
2 neg. Kontrollseren*** Reaktion negativ	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Randfluoreszenz + = schwach ++ = mittel +++ = stark	+	(+)	+++	+++	++	++
Gesamtbewertung + = mäßig-befried. ++ = gut +++ = sehr gut	+	+	+++	+++	++	+

Zeichenerklärung: korrekte Ergebnisse/Anzahl der getesteten Seren: * 4 x 1; ** 4 x 3; *** 4 x 2.

Tab. 4: Ergebnisse des IFAT nach Kombination von Testsubstanzen (Antigen und Konjugat) von verschiedenen Herstellern

Antigen	Antihumanglobulin	Behring	bio Mérieux	Pasteur	La Roche	Wellcome
Behring		+	+	+	∅	+
bio Mérieux		+	+++	++	++	++
Pasteur		∅	+	+++	++	+
La Roche		+	∅	++	++	++
Wellcome		∅	∅	+	∅	++

Zeichenerklärung: Reaktion (Fluoreszenz) ∅ = keine + = sehr schwach (nicht ausreichend) ++ = mittelmäßig (ausreichend) +++ = stark (gut bis sehr gut)

muß, zum Nachweis von Antikörpern gegen Toxoplasmen im IIFT den vom jeweiligen Hersteller gelieferten Reagenziensatz zu verwenden.

Die Ergebnisse dieser Prüfung sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Schlußfolgerung bzw. Diskussion

Der Anwender sollte die optimale Verdünnung des Antihumanglobulins an einem Standardserum mit definiertem Titer oder internationalen Einheiten regelmäßig überprüfen, zumindest bei jeder Charge und jeder Abpackung. Ideal ist die im medizinischen Laboratorium je Untersuchungsreihe übliche Qualitätskontrolle auch beim IIFT auf Toxoplasmose. Die Untersuchungen müssen selbstverständlich wiederholt werden, wenn der Endtiter des positiven Kontrollserums und der eindeutig negative Ausfall des negativen nicht getroffen werden. Gerade bei dieser Prüfung, bei der nicht die üblichen geometrischen Verdünnungsschritte, sondern nur jeweils jeder zweite geprüft werden, ist die genaue Beachtung dieses Kontrollverfahrens besonders wichtig.

Auch die aufgefundenen erheblichen Qualitätsunterschiede in den kommerziell er-

hältlichen Reagenziensätzen zum Nachweis von Antikörpern gegen Toxoplasma gondii verlangen besonders große Sorgfältigkeit und Überwachung. So wurden deutliche Unterschiede im Grad der Ablesbarkeit eines Untersuchungsergebnisses, d.h. in der Intensität der Randfluoreszenz, aufgefunden.

Am besten geeignet erscheinen uns die beiden Reagenziensätze aus Frankreich, gefolgt von dem aus der Schweiz. Die übrigen, aus England und Deutschland, schnitten im Vergleich dazu schlechter ab (geringere Qualität des Antigens, zu schwache Intensität der Randfluoreszenz).

Wesentliche Qualitätsunterschiede zwischen den einzelnen Chargen eines Herstellers fanden sich nur bei einem Fabrikat, das inzwischen nicht mehr vertrieben wird. Trotzdem ist eine Qualitätsverbesserung bei einzelnen Reagenzien zu empfehlen (siehe Tabelle 1–3).

Es wird davon abgeraten, einzelne Reagenzien aus Reagenziensätzen verschiedener Hersteller zu kombinieren. Allerdings ist die Verwendung eines einheitlichen Antihumanglobulins für alle Immunfluoreszenz-Teste in einem Laboratorium möglich, dann muß aber die Eignung in jedem einzelnen Untersuchungsverfahren vorher

geprüft werden, wobei der Verdünnungsfaktor des Antihumanglobulins sich nach der Testkombination bzw. dem im Ansatz verwendeten Antigen richten soll. Welche Reagenzien sich kombinieren und evtl. auch für andere Immunfluoreszenz-Teste verwenden lassen, kann aus Tabelle 4 entnommen werden.

Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten von Reagenzien bei derartigen Kombinationen könnte im Unterschied des pH-Wertes des jeweils verwendeten Puffers liegen. Auch das Konservierungsmittel des Antigens mag einen Einfluß ausüben.

Schrifttum:

1. Bundesgesundheitsblatt: Empfehlungen für die Durchführung des Toxoplasma-Immunfluoreszenz-Testes. 18, 170 (1975).
2. Bundesgesundheitsblatt: Empfehlungen für die Durchführung der Toxoplasma-Seroreaktionen mittels Mikromethode. 20, 10R (1977).
3. FLAMM, H., ASPÖCK, H., PICHER, O., WERNER, H.: Die Toxoplasmose-Untersuchungen von Schwangeren und Neugeborenen. Östr. Ärztetage 30, 15 (1975).
4. Anonym: Standardisierung von Immunfluoreszenzmetho- den. Lab. med. 4, A + B 15 (1980).

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. rer.-nat. H. Werner
Robert Koch-Institut des
Bundesgesundheitsamtes
Fachgebiet: Med. Parasitologie
Nordufer 20
D-1000 Berlin 65

Aus ärztlichen Körperschaften und Verbänden

Entscheidung über SI-Einheiten bei den Rentenversicherungsträgern

Auch der Arbeitskreis der Laborleiter im Verband der Rentenversicherungsträger hat sich zur Anwendung der SI-Einheiten in seiner Sitzung am 3. März 1981 in Bad Kissingen verbindlich geäußert. Die erarbeitete Stellungnahme soll den Mitgliedern des Verbandes, ferner den regionalen Kassenärztlichen Vereinigungen, der Kassenärztlichen Bundesvereinigung, dem Verband der Angestellten-Krankenkassen und der Bundesärztekammer übermittelt werden.

Wegen der besonderen Bedeutung dieser Erklärung wird sie nachfolgend im vollen Wortlaut abgedruckt.

1. Für die „Anorganica“ werden die Stoffmengenkonzentrationen (mmol/l, µmol/l) generell eingeführt (Anlage).
2. Substrate und Metabolite werden in Massenkonzentrationen, im wesentlichen in mg/dl oder g/l (Anlage) angegeben.
3. Für die Enzyme wird das U/l verwendet. Ausnahme bildet die Cholinesterase (CHE), die in kU/l angegeben wird.
4. Im Bereich der Hämatologie werden die in der Anlage aufgeführten Dimensionen empfohlen.
5. Quantitative immunologische Bestimmungen werden in mg/dl angegeben.
6. Für die enzym-immunologische Diagnostik (einschließlich RIA) werden die bisher verwendeten Einheiten empfohlen (Anlage).

Über die Dimensionierung hinaus wird grundsätzlich empfohlen, daß drei gültige Stellen (ohne Zählung der Kommastelle) anzugeben sind.

Eine Ausnahme stellt die α -Amylase dar, die auch vier Stellen erreichen kann.

Außerdem wird empfohlen, die Umstellung von Harnstoff-N in Harnstoff vorzunehmen, da die Messung keine Bestimmung des Harnstoff-Stickstoffes, sondern

des Harnstoffes darstellt und die Umrechnung auf Harnstoff-Stickstoff lediglich historische Ursachen hat.

Die hier empfohlenen Regelungen gelten zunächst bis zum 1. 7. 1987.

Begründung

Die von einer chemisch orientierten Gruppe vorgeschlagene Umstellung der Laboratoriumswerte von Massen- auf Stoffmengenkonzentrationen hat bei vielen Betroffenen zu einer erheblichen Verunsicherung geführt, vor allem deswegen, weil der Eindruck erweckt wird, daß die Verwendung von Massenkonzentrationen (z. B. mg/dl) nicht gesetzeskonform und daher unzulässig und daß die Verwendung von SI-Einheiten gleichbedeutend mit der Angabe von Laborwerten in Stoffmengenkonzentrationen sei.

Demgegenüber wird festgestellt, daß das „Gesetz über Einheiten im Meßwesen“ vom 2. Juli 1969 als Basiseinheiten sowohl das kg (für Masse) als auch das Mol (für Stoffmenge) zuläßt. Mit dem Hinweis auf dieses Gesetz kann die Umstellung auf Stoffmengen folglich nicht begründet werden.

Eine Änderung von Dimensionen kann im übrigen nur dann einen Sinn haben, wenn unrichtige oder irreführende Einheiten beseitigt werden sollen.

Im anderen Fall kann die Umstellung lediglich in einer Vereinheitlichung bzw. einer besseren Vergleichbarkeit der Werte untereinander begründet sein.

Dieser Begründung bedienen sich auch die Verfechter einer generellen Einführung der Stoffmengenkonzentrationen, ohne daß diese in allen Fällen wissenschaftlich untermauert werden kann. Zum Beispiel ist das Molekulargewicht der Triglyceride, wie bereits der Plural sagt, keine einheitliche Größe. Es wäre also nur die Einigung auf ein mittleres Molekulargewicht möglich, was wissenschaftlich wiederum nicht exakt ist. Eine Vielzahl ähnlicher Beispiele ließe sich anführen. Die Massenkonzentration, basierend auf dem Gramm als SI- und gesetzlicher Einheit, hat sich dagegen aufgrund der dankenswerten Tätigkeit verschiedener Fachorganisationen in den letzten Jahren in Deutschland weitgehend durchgesetzt.

Bezogen auf die Volumeneinheit 100 ml = 1 dl, ist sie auch in vielen Fällen, insbesondere bei der Glucosekonzentration, den „Verbrauchern“, nämlich den Patienten, in der damit verbundenen zahlenmäßigen Größenordnung bekannt.

Jeder Diabetiker versteht unter der Zahl 123 eine Blutglucosekonzentration von 123 mg/dl; in Stoffmenge würde diese Zahl 6,83 mmol/l lauten.

Die Erziehungsarbeit Tausender von Medizinern der allgemeinen Praxis sowie in Kliniken und Sanatorien würde ad absurdum geführt, wenn der breiten Masse der Bevölkerung jetzt neue Zahlenwerte beigebracht werden sollten, die sie einerseits nicht mehr verstehen und die andererseits keine qualitative Verbesserung der Diagnostik mit sich bringen.

In den nächsten Jahren, voraussichtlich nicht vor Ablauf von 5 Jahren, wird, internationalen Empfehlungen folgend, die Enzymeinheit von U auf das Katal, die katalytisch aktive Einheit, umgestellt werden. Außerdem werden gemäß IFCC-Recommendations voraussichtlich nach Ablauf der gleichen Zeit Umstellungen in der Reaktionstemperatur von 25° auf 30° C vorgenommen. Diese beiden zu erwartenden einschneidenden Änderungen in der Enzym-Analytik werden ein generelles Umdenken von Medizinern und gegebenenfalls auch Patienten erfordern. Es würde daher nicht zur Verständigung zwischen Ärzten und Patienten beitragen, wenn diese international notwendige Änderung der Dimensionierung bestimmter Parameter zwischenzeitlich mit weiteren Umstellungen, die eben nicht erforderlich sind, vermischt würde.

Schließlich ist weder auf nationaler noch auf internationaler Ebene bisher eine Einigung auf der Basis von Stoffmengenkonzentrationen in Sicht.

Der Arbeitskreis der Laborleiter im Verband Deutscher Rentenversicherungsträger ist daher der Meinung, daß der Dachverband aller Rentenversicherungsträger seinen Mitgliedern und außenstehenden Kontaktorganisationen umgehend diese Empfehlung unterbreiten sollte, um eine einheitliche und vergleichbare Interpretation der Laboratoriumsdaten im Dialog zwischen den niedergelassenen Ärzten, Gutachtern und den Rehabilitationskliniken zu gewährleisten.

Für den Arbeitskreis:

(Prof. Dr. med. Petersen)
Facharzt für Laboratoriumsmedizin

(Dr. F. Eßer)
Diplom-Chemiker

(Dr. med. J. Hilgenfeldt)
Facharzt für Laboratoriumsmedizin

Anlage zur Empfehlung des Arbeitskreises der Laborleiter im VDR

DIMENSIONEN

1. Anorganica

Bestandteile	Einheiten		Umrechnungsfaktor
	alt	neu	
Kalium	mval/l	mmol/l	1
Natrium	mval/l	mmol/l	1
Calcium	mval/l	mmol/l	0,5
	mg %	mmol/l	0,25
Chlorid	mval/l	mmol/l	1
Lithium	mval/l	mmol/l	1
Eisen	µg %	µmol/l	0,1791
Kupfer	µg %	µmol/l	0,1574
Magnesium	mg %	mmol/l	0,4113
Phosphor anorg.	mg %	mmol/l	0,3229
Ammoniak	µg %	µmol/l	0,5872
Bicarbonat	mval/l	mmol/l	1
Basenüberschuß	mval/l	mmol/l	1

2. Substrate und Metabolite

Bestandteile	Einheiten		Umrechnungsfaktor
	alt	neu	
Bilirubin	mg %	mg/dl	entfällt
Cholesterin	mg %	mg/dl	entfällt
Glucose	mg %	mg/dl	entfällt
Harnsäure	mg %	mg/dl	entfällt
Harnstoff	mg %	mg/dl	entfällt
Kreatinin	mg %	mg/dl	entfällt
Triglyceride	mg %	mg/dl	entfällt
HDL	mg %	mg/dl	entfällt
Gesamt-Eiweiß	g %	g/l	10
Eiweiß-Fractionen	rel. % bzw. g %	rel. % bzw. g/l	-/10

3. Hämatologie

Bestandteile	Einheiten		Umrechnungsfaktor
	alt	neu	
Erythrocyten	Mill./mm ³	× 10 ⁶ /µl	entfällt
Erythrocyten- volumen (MCV)	µ ³	fl	1
Hämoglobin	g %	g/l	10
Ery-Hämoglobin Hb _e , MCH	µµg	pg	entfällt
MCHC	%	g/l	10
Hämatokrit	%	Teil von 1 (dimensionslos)	0,01
Leukocyten	1/mm ³	× 10 ³ /µl	entfällt
Thrombocyten	1/mm ³	× 10 ³ /µl	entfällt

4. Enzymimmunologie incl. RIA-Diagnostik

Bestandteile	Einheiten		Umrechnungsfaktor
	alt	neu	
T ₄ -RIA	µg/100 ml	µg/dl	entfällt
T ₃ -RIA	ng/100 ml	ng/dl	entfällt
TSH-RIA	µU/ml	µU/ml	entfällt
Digoxin	ng/ml	ng/ml	entfällt

DIN-Normentwürfe

Fortsetzung des Abdrucks von Entwurf für DIN-Normen, sog. „Gelbdrucke“, wiedergegeben mit Erlaubnis des DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Dieser DIN-Entwurf wird abgedruckt, obgleich die Einspruchsfrist Ende Januar 1982 abgelaufen ist. Sollte ein Leser sachliche Einwände finden, wird er gebeten, sie dennoch an die Geschäftsstelle des Normenausschusses Medizin mitzuteilen.

DK 616-07 : 658.662.012.7 : 001.893 DEUTSCHE NORM Entwurf September 1981

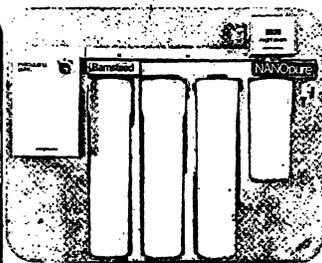
Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin Kontrollkarten Allgemeine Anforderungen		DIN 58 936 Teil 5
Quality control in clinical pathology: control charts, general requirements		Einsprüche bis 31. Jan 1982 Anwendungswarnvermerk auf der letzten Seite beachten!
<p>1 Anwendungsbereich und Zweck Diese Norm gilt für den Bereich der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien nach DIN 58 937 Teil 1. Sie beschreibt Aufbau und Anwendung der für den genannten Bereich wichtigsten Kontrollkarten ¹⁾ und soll dazu dienen, die Benennungen, deren Definitionen sowie die Gestaltung und Benutzung solcher Kontrollkarten zu vereinheitlichen (siehe Erläuterungen).</p> <p>2 Begriffe Die in Klammern angegebenen Nummern verweisen auf die in dieser Norm enthaltenen Begriffe.</p> <p>2.1 Kontrollkarten Kontrollkarten sind Formblätter mit einem oder mehreren Kontrolldiagrammen (2.4) für die graphische Prüfung statistischer Hypothesen (siehe DIN 55 350 Teil 24 ^{*)}) mittels Testgrößen (2.2). Außer den Kontrolldiagrammen enthält jede Kontrollkarte alle für den Kontrollprozeß notwendigen Angaben (4.2 und 6.1); sie erlaubt unmittelbar die Entscheidung, ob eine Hypothese abgelehnt und sofort in den überprüften Prozeß eingegriffen werden muß (siehe Erläuterungen).</p> <p>2.2 Testgröße Testgröße (Prüfzahl, Prüfgröße) ist der Beobachtungswert (z. B. ein Meßwert oder ein Meßergebnis nach DIN 1319 Teil 1, Ausgabe November 1971, Abschnitte 1.1.3 und 1.1.4) oder eine aus mehreren Beobachtungswerten abgeleitete Kennwert (z. B. Mittelwert \bar{x}, Standardabweichung s), deren Verteilung bekannt sein muß, damit Testgrenzen (2.3) berechnet werden können. Anmerkung: Testgröße kann auch ein mit einem konstanten Faktor multiplizierter Meßwert oder dessen Abweichung von einem vorgegebenen Wert, z. B. ein „zentrierter Meßwert“, sein.</p> <p>2.3 Testgrenzen Testgrenzen nennt man Werte der Prüfgrößen, die bei Geltung der zu prüfenden Hypothese nur mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit, α, dem Signifikanzniveau, unter- oder überschritten werden. Anmerkung 1: Die zu prüfende Hypothese wird auch „Nullhypothese“ genannt und mit H_0 bezeichnet.</p> <p>2.4 Kontrolldiagramm (Testdiagramm) Kontrolldiagramm nennt man die graphische Darstellung der Testgrößen (2.2) in einem (im allgemeinen) rechtwinkligen Koordinatensystem, dessen Abszisse der Beobachtungsfolge und dessen Ordinate der Testgröße entspricht. 2.4.1 Mittelwert (siehe DIN 55 350 Teil 23 ^{*)}) und Testgrenzen (2.3) der Prüfgrößen (2.2) werden durch Mittel- und Testlinien gekennzeichnet. Anmerkung: Häufig werden – verschiedenen Signifikanzniveaus entsprechend – die Testlinien als Warn- und Kontrolllinien unterschieden. 2.4.2 Die den Testgrößen entsprechende Punktfolge (4.2.2.1.4) veranschaulicht den Verlauf des beobachteten Prozesses und läßt oft frühzeitig erkennen, ob sich eine Störung des Prozesses anbahnt. Anmerkung: Toleranzgrenzen, die im Rahmen der statistischen Qualitätskontrolle neben den erwähnten Testlinien (Warn- und Kontrolllinien) häufig in Kontrollkarten angegeben werden, sind aus klinischen oder juristischen Gründen vorgegebene Grenzwerte, mit denen u. a. die Brauchbarkeit eines Analysenverfahrens beurteilt wird. Sie können aber nicht – wie Testgrenzen – über Annahme oder Ablehnung einer statistischen Hypothese entscheiden.</p> <p>^{*)} Z. Z. noch Entwurf ¹⁾ Auch Qualitätsregelkarte genannt (siehe Begriffe und Formelzeichen im Bereich der Qualitätssicherung, DGG-Schrift Nr 11-04).</p>		
Fortsetzung Seite 2 bis 7		
Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.		

Hechdruck, abh. auszugsweise, nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Berlin, Gestaltstat

Alleinverkauf der Normen durch Beuth Verlag GmbH, Berlin 30 09.81

Entwurf DIN 58 936 Teil 5 Sep 1981 Preisgr. 8 Vertr.-Nr. 0008

**Reinstwasser
z.B. für die
Reagenzien-
herstellung
preiswert
selbst
herstellen:**



**Mit Barnstead-
NANOpure-
Anlagen**

Für die kontinuierliche Bereit-
stellung großer Mengen stets
frischer, Bdestillat-Qualität
Leistung bis 4 Liter pro Minute.
Kosten nur ca. 12 Pfg. pro Liter,
einschließlich einer Vor-
entsalzung.

Fordern Sie ausführliche
Unterlagen über unsere
sämtlichen Reinstwasser-
und Reverse-Osmose-Systeme
an.

Für die Vorentsatzung:
**AQUADEM-Patronen-
entsalzungsgeräte**
Destillatgleiches entsalztes
Wasser in Sekundenschnelle.
Hoher Bedienungskomfort.
Erhebliche Kostenersparnis
durch das AQUADEM-Refill-
System, die Harz zum Fullstation
für das eigene Haus.

Wilhelm Werner GmbH
Postfach 27 05 42
5000 Köln 11
Telefon 0221/2127 97

2.5 Beobachtungsdaten

Beobachtungsdaten sind

- a) Maßdaten, d. h. Maßwerte und Meßergebnisse im Sinne von DIN 1319 Teil 1, Ausgabe November 1971, Abschnitte 1.1.3 bzw. 1.1.4 oder
- b) Ereigniszahlen, d. h. Ergebnisse des Zählens von Ereignissen (siehe DIN 1319 Teil 1, Ausgabe November 1971, Abschnitt 3.1), die angeben, wie häufig ein bestimmtes Ereignis in einer Beobachtungsreihe auftritt.

Anmerkung: Bei Ereigniszahlen unterscheidet man zweckmäßig Zählzeiten und Anteilswerte. Der Begriff Zählzeiten bezeichnet die Anzahl der Merkmalsträger oder Ereignisse (wie etwa radioaktiven Zerfall, die in einer Beobachtungsreihe, d. h. in einem Zeitabschnitt oder in einer Stichprobe, Flächen- oder Volumeneinheit beobachtet werden. Bei Anteilswerten handelt es sich um die Anzahl z der Elemente einer Stichprobe vom Umfang n , die ein bestimmtes Merkmal (etwa im Differenzialbild) aufweisen. Die absolute Zahl z nennt man Häufigkeit, die relative Zahl $p = z/n$ Anteil (auch: relative Häufigkeit) der Merkmalsträger.

3 Einteilung der Kontrollkarten

Die nachfolgende Übersicht umfaßt lediglich die für laufende Präzisions- und Richtigkeitkontrollen in medizinischen Laboratorien wichtigsten Kontrollkarten. Folgest- und Cusum-Karten werden nicht aufgeführt (siehe Erläuterungen).

- Man unterscheidet nach Art der Beobachtungsdaten (2.5):
 - 1 Kontrollkarten für Maßdaten und
 - 2 Kontrollkarten für Ereigniszahlen.
- Als weiterer Einteilungsgrund ist die Art der Testgrößen (2.2) gewählt worden.

3.1 Kontrollkarten für Maßdaten

3.1.1 Urwertkarten
Urwertkarten sind Kontrollkarten, bei denen jedem Punkt (Diagrammpunkt) genau ein Meßwert oder genau ein Meßergebnis im Kontrolldiagramm entspricht.

Anmerkung 1: Im Diagramm einer Urwertkarte können zu jedem Abszissenwert mehrere Ordinatenwerte (Diagrammpunkte) gehören.

Anmerkung 2: Zeigt die Urwertkarte eine Störung des beobachteten Prozesses an, ist im allgemeinen nicht entscheidbar, ob es sich um eine Verschiebung der Lage, eine Änderung der Streuung oder um beides handelt.

Anmerkung 3: Die Wirksamkeit (2.3, Anmerkung 2) einer Urwertkarte ist geringer als die von \bar{x} - und s -Karten (3.1.2.1 und 3.1.2.1.1)

3.1.1.1 Einzelwertkarten

Einzelwertkarten sind Urwertkarten (3.1.1), bei denen zu jedem Abszissenwert genau ein Diagrammpunkt (4.2.2.1.4) gehört, der genau einem Meßwert oder einem Meßergebnis zugeordnet ist (siehe Erläuterungen).

Anmerkung: Einzelwertkarten sind spezielle Urwertkarten, für die sinngemäß die Anmerkungen 2 und 3 zum Abschnitt 3.1.1 gelten.

3.1.2 Kontrollkarten zur Überwachung der Lage einer Verteilung

3.1.2.1 Mittelwertkarten (\bar{x} -Karten)
Mittelwertkarten prüfen, ob sich der Mittelwert \bar{x} von n ($n \geq 2$) unter Wiederholbedingungen gewonnenen Meßwerten oder Meßergebnissen nur zufällig von einem vorgegebenen Wert μ unterscheidet.

Anmerkung 1: Die Anzahl n der Meßwerte, aus denen \bar{x} bestimmt wird, muß für die einmal gewählte Lagekontrolle konstant bleiben.

Anmerkung 2: Mittelwertkarten lassen sich nur dann einwandfrei interpretieren, wenn sich die Standardabweichungen der zu den \bar{x} -Werten gehörenden Meßwertreihen nur „zufällig“ variieren.

3.1.2.2 Zentralwertkarten (Mediankarten)
Mediankarten prüfen, ob sich der Zentralwert einer Meßwertreihe vom Umfang n ($n \geq 3$) nicht oder nur zufällig von einem vorgegebenen Wert \bar{x} unterscheidet.

3.1.3 Kontrollkarten zur Überwachung der Streuung einer Verteilung

3.1.3.1 Standardabweichungskarten (s -Karten)
Standardabweichungskarten erlauben die laufende Prüfung, ob sich die Standardabweichungen von Stichproben gleichbleibenden Umfangs n ($n \geq 2$) nicht oder nur zufällig von einer vorgegebenen Standardabweichung σ_0 unterscheiden (siehe Erläuterungen).

3.1.3.2 Spannweitenkarten (R -Karten)
Spannweitenkarten testen, ob die Werte von Stichproben gleichen Umfangs n ($n \geq 2$) $R = x_{\max} - x_{\min}$ nicht oder nur zufällig von einer vorgegebenen Spannweite R_0 abweicht.

3.1.3.3 d_1 -Karten (Differenzkarten)
 d_1 -Karten prüfen an Hand der Testgröße $d_1 = x_{11} - x_{12}$, also der Differenz von $n = 2$ unter Wiederholbedingungen (siehe DIN 1319) bestimmter Meßwerte, ob diese Differenzen nicht oder nur zufällig von Null abweichen (siehe Erläuterungen).

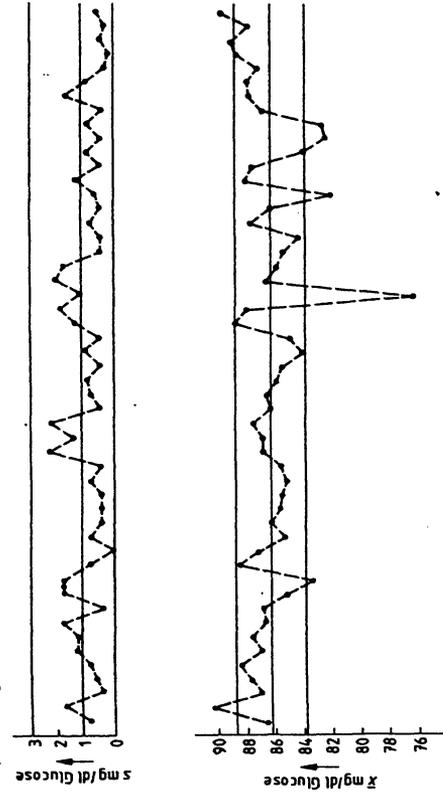
Anmerkung 1: Die Meßwerte müssen in der Reihenfolge ihrer Bestimmung festgehalten werden.

Anmerkung 2: Bei Geltung der Nullhypothese ist der Mittelwert der Differenzen d_1 gleich Null.

3.1.3.4 $s(\bar{x})$ -Karten für die relative Standardabweichung
Variationskoeffizientenkarten testen, ob die relative Standardabweichung von Stichproben gleichen Umfangs n ($n \geq 2$) nicht oder nur zufällig von einer vorgegebenen Variationszahl abweichen.

3.1.3.5 Kombinierte Lage- und Streuungskontrolle
Da sich Testdiagramme für die Kontrolle der Lage einwandfrei nur zusammen mit Testdiagrammen für die Kontrolle der Streuung interpretieren lassen, werden häufig auf einer Kontrollkarte beide Testdiagramme zusammen dargestellt (siehe Beispiel: $\bar{x}s$ -Diagramm).

Beispiel: $\bar{x}s$ -Diagramm:



\bar{x} : Mittelwerte von Doppelbestimmungen (Präzisionskontrollproben), Methode: Hexokinase/Glucose-6-Phosphat-

Dehydrogenase

\bar{s} : 86,212 mg/l dl Glucose / $k = 51$ Doppelbestimmungen an 51 Arbeitstagen

4.2.1 Kopftitel

Der Kopftitel der Kontrollkarte muß Angaben über den Sachbereich enthalten. Ersatzweise können einige dieser Daten auf einem gesonderten Protokollbogen dokumentiert werden, wobei die Zuordnung eindeutig sein muß und für beide Teile die gleiche Verwahrpflicht gilt.

- Solche Angaben beziehen sich insbesondere auf
 - a) Testgröße (z. B. Einzelwertkarten),
 - b) den zu bestimmenden Bestandteil der Probe und die benutzte Methode in Kurzform (z. B. Glukose-Hexokinase),
 - c) die gewählte Einheit (z. B. mg/dl, mmol/l),
 - d) das verwendete Meßgerät (z. B. Photometer Typ),
 - e) die eingesetzten Reagenzien und Standards (Fa., Chargen-/Artikel-Nr.),
 - f) die Untersuchungszeitpunkte (z. B. August 1980).

4.2.2 Mittelteil

Der Mittelteil enthält das Kontrolldiagramm und eine Tabelle, in die alle zur Prüfung und Deutung des Kontrolldiagramms notwendigen Angaben in einer leicht lesbaren und übersichtlichen Form eingetragen werden.

4.2.2.1 Kontrolldiagramm

4.2.2.1.1 Lage des Kontrolldiagramms
Je nachdem, ob die Abszisse oder die Ordinate des Diagramms parallel zur oberen Kartenkante liegen, unterscheidet man „waagrecht“ (horizontal) und „senkrecht“ (vertikal) gegliederte Kontrollkarten.

3.2 Kontrollkarten für Ereigniszahlen

3.2.1 Kontrollkarten für Anteilswerte

3.2.1.1 np -Karten (Karten für absolute Ereignishäufigkeit)
 np -Karten prüfen, ob sich in einer Stichprobe von n Elementen (z. B. Leukozyten) die Anzahl z von Elementen nicht oder nur zufällig von einem vorgegebenen Wert np_0 unterscheidet.

3.2.1.2 p -Karten (Karten für den relativen Anteil $p = z/n$)
 p -Karten prüfen, ob sich der relative Anteil der Merkmalsträger (Elemente mit einem bestimmten Merkmal) in einer Stichprobe von festem Umfang n nicht oder nur zufällig von einem vorgegebenen Wert p_0 unterscheidet.

3.2.2 Kontrollkarten für Zählraten (z -Karten, auch c -Karten)
 z -Karten prüfen, ob sich die Anzahl von Ereignissen in einer Zeit-, Raum-, Flächen- oder Streckeneinheit nicht oder nur zufällig von einer vorgegebenen Zahl z_0 unterscheiden.

4 Gestaltung von Kontrollkarten

4.1 Format

Manuell geführte Kontrollkarten sollen die Papierformate A3 oder A4 aufweisen.

4.2 Aufteilung

Die Kontrollkarten müssen einen Kopftitel, Mittelteil und Fußteil aufweisen. An der Kontrollkarte ist ein Hefttrand zur Ablochung vorzusehen.

4.2.2.1.2 Teilung der Abszisse
Die Abszisse wird — der zeitlichen Aufeinanderfolge der Beobachtungswerte entsprechend — unterteilt.

4.2.2.1.3 Teilung der Ordinate
Die Ordinate des Kontrolldiagramms wird dem Streubereich der Testgröße entsprechend geteilt, wobei der Maßstab so wählen ist, daß der von den ober- und unterhalb bzw. seitlich der Mittellinie verlaufenden Testlinien begrenzte Streifen jeweils nicht schmäler als 2,5 cm und nicht breiter als 5 cm wird.

Die Ordinate der Mittellinie und der Testlinien sollen deutlich als solche gekennzeichnet werden; zusätzlich vorgegebene Grenzwerte sind lediglich durch Pfeile zu markieren.

4.2.2.1.4 Eintragung der Testgröße
Der zu einer Beobachtung gehörende Testgrößenwert wird über bzw. neben der entsprechenden Abszisse durch einen Punkt (oder ein anderes Zeichen) markiert.

Um die Aufeinanderfolge der Diagrammpunkte besser verfolgen zu können, kann man sie durch Geraden miteinander verbinden. Der so entstehende vielfach gebrochene, hin- und herpendelnde Linienzug besitzt zwar keine mathematische Bedeutung, erleichtert jedoch die „Lesbarkeit“ des Diagramms.

Punkte außerhalb der Testlinien werden besonders gekennzeichnet.

4.2.2.2 Tabelle

Die zur Berechnung der einzelnen Punkte des Kontrolldiagramms notwendigen Daten werden in einer Tabelle niedergelegt, deren Spalten (wagegerechte Lage) oder Zeilen (senkrechte Lage) der Abszissenreihung eindeutig zugeordnet sind und deren Fächerinhalt in Vorpalte und Tabellenkopf festgelegt ist.

Anmerkung: Die Fächer der Tabelle, in die die notwendigen Daten handschriftlich eingetragen werden, sollen mindestens 5 mm hoch und je einzutragende Ziffer mindestens 3 mm breit sein.

Solche Fächerinhalte sind u. a.

- a) laufende Numerierung,
- b) Zeitpunkt der Messung,
- c) Reagenzienleerwert und/oder Probenleerwert,
- d) Meßwert(e) bzw.
- e) Testgröße, sofern diese nicht mit dem Meßwert identisch ist,
- f) Notizen über etwaige Störungen, Neujustierungen, Anbruch frischer Reagenzien- oder Kontrollserienabpackungen.

4.2.3 Fußteil

Der Fußteil enthält am Tabellenende zusätzlichen Raum für zusätzliche Eintragungen wie Auswertungsergebnisse und Unterschrift (siehe auch DIN 58 936 Teil 4).

5 Einrichten (Anlegen) von Kontrollkarten

5.1 Für jedes durch Bestandteil, Methode, Gerät, Kontrollserum und Konzentration definierte Meßsystem, das kontrolliert werden soll, muß eine besondere Kontrollkarte angelegt werden.

Anmerkung: Sollte aus praxisbedingten Gründen (Geräteausfall, Notfall) in das Kontrollidiagramm ein in einem abgeänderten Meßsystem gewonnener Meßwert eingetragen werden, so muß dies ausdrücklich

vermerkt werden. In diesem Fall kann die Nullhypothese nicht ohne weiteres auf Grund der Lage des zugehörigen Punktes beurteilt werden.

5.2 Die für die Berechnung des Mittelwertes und der Testgrenzen der Testgröße notwendigen Daten, d. h. Mittelwert und Standardabweichung der Meßgröße, müssen in einer Vorperiode experimentell bestimmt werden.

5.3 Aus den nach Abschnitt 5.2 gewonnenen Daten müssen die Testgrenzen berechnet und anschließend Mittel- und Testlinien in das Diagramm eingezeichnet werden.

5.4 Der Kopfteil muß ebenso wie Vorpalte bzw. Tabellenkopf der Tabelle des Mittelteils vollständig und sorgfältig ausgefüllt werden.

6 Das Führen von Kontrollkarten

6.1 Unmittelbar nach Abschluß einer Messung sind laufend die analogen oder digitalen Meßwertanzeigen genau abzulesen und ungerundet in das dafür vorgegebene Tabellenfach einzutragen. Die Fächer für die laufende Nummer der Messung und für das Datum (gegebenenfalls auch Uhrzeit) müssen gleichfalls sofort ausgefüllt werden.

6.2 Anschließend ist sofort die Testgröße zu berechnen, sofern sie nicht mit dem Meßwert identisch ist.

6.3 Unmittelbar danach wird der zur Testgröße gehörende Punkt ins Diagramm eingetragen und auf Grund seiner Lage festgestellt, ob die Nullhypothese abzulehnen ist oder beibehalten werden kann.

Anmerkung: Muß die Nullhypothese abgelehnt werden, wird die Analysenserie der Patientenproben zu nächst angehalten, die Ursache der Störung gesucht und dies vermerkt. Zusätzlich muß entschieden werden, ob die zwischen der vorliegenden und der vorhergehenden Kontrollanalyse liegenden Messungen an Patientenproben wiederholt werden sollen oder nicht.

6.4 Störungen des Analyseprozesses, Neujustierungen der Meßeinrichtung, Wechsel von Reagenzien- oder Kontrollproben usw. sind im entsprechenden Tabellenfach zu vermerken.

6.5 Bei Einsatz maschineller Datenverarbeitung sind die Regeln über das Führen von Kontrollkarten sinngemäß anzuwenden.

7 Auswertung der Kontrollkarte

Eine voll ausgefüllte Kontrollkarte sollte kritisch ausgewertet werden, etwa durch Prüfung darauf, ob die Punkte des Diagramms regellos aufeinander folgen, sich annähernd gleichmäßig auf beide Seiten der Mittellinie verteilen oder eine eingipflige Verteilung bilden.

Die Ursachen etwaiger Abweichungen von diesen Forderungen lassen sich häufig anhand der Kontrollvermerke nach Abschnitt 6.4 erkennen. Das Prüfergebnis ist auf der Karte zu notieren.

Muß die Folge der Meßdaten nicht nach Abschnitt 7 beanstandet werden, kann man aus den Meßdaten — wie bei der Vorperiode — Mittelwert \bar{x} und Standardabweichung s berechnen.

chungen berechnen, mit den aus der Vorperiode gewonnenen Werten vergleichen und — wenn sie nicht signifikant abweichen — zu einem neuen Wert Zusammenfassen, der dann auf einer größeren Zahl von Freiheitsgraden basiert und daher genauer ist.

Mit Hilfe dieses neuen Schätzwertes können dann auch neue Testgrenzen für die nachfolgenden Kontrollkarten berechnet werden.

Unterbleibt eine solche Neuberechnung, dann behalten die aus der Vorperiode berechneten Testgrenzen ihre

8 Archivierung der Kontrollkarten

Die abgeschlossene und ausgewertete Kontrollkarte wird vom Laborleiter unterschrieben und nach dem jeweils geltenden Richtlinien aufbewahrt.

Gültigkeit: Die aus einer abgeschlossenen Kontrollkarte berechneten statistischen Kennzahlen dürfen nicht ohne weiteres als Vorgabe für die jeweils nachfolgende Karte verwendet werden.

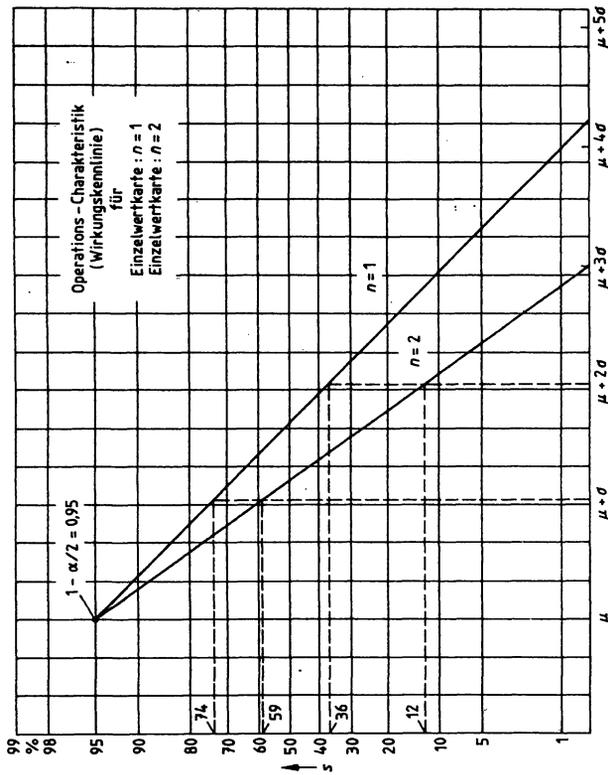
Zitierte Normen

- DIN 1319 Teil 1 Grundbegriffe der Meßtechnik; Messen, Zählen, Prüfen
- DIN 1319 Teil 2 Grundbegriffe der Meßtechnik; Begriffe für die Anwendung von Maßgeräten
- DIN 55 350 Teil 23 Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik; Begriffe der Statistik, Bearbeiterhandb. Statist. DIN 55 350 Teil 24 (Entwurf Juni 1980) Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik; Begriffe der Statistik, Schließende Statistik
- DIN 58 936 Teil 3 Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin; Begriffe der Statistik
- DIN 58 936 Teil 4 Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin; Protokollierung von Ergebnissen

Weitere Normen und andere Unterlagen

- DIN 55 350 Teil 11 Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik; Begriffe der Qualitätssicherung, Grundbegriffe
- DIN 55 350 Teil 12 Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik, Begriffe der Qualitätssicherung, Merkmalsbezogene Begriffe
- DIN 55 350 Teil 13 Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik; Begriffe der Qualitätssicherung, Gesamtheitsbegriffe
- DIN 58 936 Teil 1 Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin; Begriffe der Eigenschichten von Laboratoriumsbefunden
- DIN 58 936 Teil 2 Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin; Begriffe der Maßnahmen zur Sicherung der Zuverlässigkeit von Laboratoriumsbefunden

Kontrollkarten für statistische Qualitätskontrolle, AWF-Schritt II-S-1, Berlin — Frankfurt (Main) 1984
K. Doerffel, Beurteilung von Analyseverfahren und -Ergebnissen, Verlag Springer — Berlin—Heidelberg—New York 1965
E. L. Grant, Statistical Quality Control, McGraw-Hill Book Company, Inc. 1952, New York — Toronto—London
M. Hengst, Einführung in die Mathematische Statistik, BI-Hochschultaschenbuch 42/42a, Mannheim 1967
H. Kreyzig, Statistische Methoden und ihre Anwendungen, Vandenhoeck u. Ruprecht, Göttingen 1968
L. Sachs, Angewandte Statistik, 4. u. 5. Auflage, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York
K. Stange, Kontrollkarten für meßbare Merkmale, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York 1975
W. Uhlmann, Statistische Qualitätskontrolle, B. G. Teubner Verlagsgesellschaft — Stuttgart 1966
Western Electric, Statistische Qualitätskontrolle, Verlag Berliner Union Stuttgart, 1969.



Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren. Stellungnahmen werden erbeten an den Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Burggrafenstraße 4-10, 1000 Berlin 30.

Erläuterungen

Dieser Norm-Entwurf wurde im wesentlichen von einer Ad-hoc-Gruppe (Federführung: Dr. med. F. G. Weyer, Hannover) des Arbeitsausschusses Qualitätskontrolle (Obmann: Dr. med. K. G. von Borovitzký, Berlin) im Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. erarbeitet.

Zu 1:

Neben den Einzelwertkarten, siehe Abschnitt 3.1.1.1, die in den Richtlinien der Bundesärztekammer für die Präzisionskontrolle vorgeschrieben werden, behandelt diese Norm weitere Kontrollkarten, mit denen sich Präzision und Richtigkeit wirksam (vgl. 2.3 Anmerkung 2) beurteilen lassen.

Zu 2.1:

Statistische Tests beruhen auf dem Prinzip, eine Hypothese abzulehnen, wenn ein Ereignis beobachtet wird, dessen Eintreffen – bei Geltung der Hypothese – unwahrscheinlich ist, da es offenbar vernünftiger ist, eher eine Hypothese fallen zu lassen, als ein Beobachtungsergebnis als ein bei Gültigkeit dieser Hypothese seltenes (oder sehr seltene) Ereignis zu interpretieren.

Zu 2.3, Anmerkung 2:

Die nachstehende Abbildung zeigt die Operations-Charakteristiken für Einzel- und Mittelwertkarten (Stichprobenumfang $n = 2$) als Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz.

Wenn man die „Wirkungskennlinie“ der beiden Kontrollkarten beurteilen und miteinander vergleichen will, ist es zweckmäßig, die „Verschiebung“ des „wahren“ Mittelwertes als Vielfaches der Standardabweichung des betreffenden Analyseverfahrens zu „messen“.

An Hand der OC einer Karte kann leicht die Wahrscheinlichkeit abgelesen werden, die Nullhypothese beizubehalten, wenn sich der „wahre“ Mittelwert der zu prüfenden Grundgesamtheit vom vorgegebenen Wert unterscheidet.

Dem Bild kann man entnehmen, daß eine Verschiebung um σ von der Einzelwertkarte in 74% aller Prüfungen und von der Mittelwertkarte (für Doppelbestimmungen) in 59% aller Prüfungen nicht entdeckt wird. Eine Verschiebung um $2 \cdot \sigma$ wird von der Einzelwertkarte in 64%, von der Mittelwertkarte jedoch in 88% aller Prüfungen „entdeckt“.

Zu 2.4.2:

Eine korrekt geführte (Abschnitt 6) Kontrollkarte kann, neben ihrer Momentanaufgabe, als Testdiagramm zu fungieren, auch über das Globalverhalten des Beobachtungsablaufes Auskunft geben. (Vgl. Abschnitt 7.1)

Zu 3:

Bei der Prüfung statistischer Hypothesen muß man zwei verschiedene Verfahren unterscheiden:

a) Bei dem älteren „klassischen“ Verfahren wird auf Grund einer fest vorgegebenen Anzahl n von Beobachtungen (Messungen) entschieden, ob eine bestimmte Hypothese über die Verteilung der Grundgesamtheit beibehalten werden kann oder – mit einer vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit – abgelehnt werden muß. Hierbei sind also nur zwei Entscheidungen möglich: „Annehmen“ oder „Ablehnen“ der Hypothese. Die Anzahl der für die Entscheidung notwendigen Messungen liegt vor Anwendung des Tests bereits fest.

b) Beim jüngeren Verfahren, dem Folgetest- oder Ergebnis-Folge-Verfahren, liegt die Anzahl der Beobachtungen (der Stichprobenumfang) nicht von vornherein fest, vielmehr muß sukzessiv nach jeder Beobachtung (Messung) entschieden werden, ob die zu prüfende Hypothese beizubehalten, abzulehnen oder weiter zu prüfen ist. Ein Folgetest ist erst beendet, wenn – bei vorgegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten 1. und 2. Art (vgl. DIN 58 350 Teil 24) – die zu prüfende Hypothese abgelehnt werden muß oder beibehalten werden kann. Der Stichprobenumfang n ist bei Folgetests eine Zufallsvariable.

Beide Testverfahren lassen sich graphisch durchführen. Während aber in einem Testdiagramm der „klassischen“ Kontrollkarte die Nullhypothese so oft geprüft werden kann, wie es die Länge der Abszisse erlaubt, kann in einem „Folgetest-Diagramm“ die Hypothese jeweils nur einmal geprüft werden.

Zu 3.1.1.1:

Messwerte von Kontrollproben verschiedenen Konzentrationsniveaus ($i = 1, \dots, k$) können in ein und demselben Testdiagramm simuliert nur unter sehr einschränkenden Bedingungen an Hand der Testgrößen $y_i = x_i - \mu$, bzw. $y_i = s_i/\mu$ geprüft werden; Mittelwerte und Testgrenzen der jeweils gewählten Prüfgröße y_i müssen – bei Geltung der Nullhypothese – für alle Konzentrationsbereiche übereinstimmen.

Das trifft für die Testgröße $y_i = x_i - \mu_i$ nur dann zu, wenn sowohl die Standardabweichungen der x_i wie auch der μ_i sich jeweils untereinander nicht oder nur zufällig unterscheiden. In diesem Fall können die $y_i = x_i - \mu_i$ simuliert in einer „Kontrollkarte für Zentrierte Werte“ (Differenzen-Karte) mit dem Mittelwert „Null“ geprüft werden.

Für die Testgröße $y_i = s_i/\mu_i$ läßt sich eine entsprechende „Quotienten-Karte“ nur unter der Voraussetzung einrichten, daß sich sowohl die Varianzquotienten s_i/μ_i wie auch s_i/μ_i jeweils untereinander nur zufällig unterscheiden.

Als gemeinsamen Mittelwert erhält man aber nicht „Eins“, sondern den „verzerrten“ Wert $1 + s^2/\mu^2$. Ob die Voraussetzungen, unter denen allein diese beiden speziellen Einzelwertkarten überhaupt angelegt werden dürfen, tatsächlich erfüllt sind, muß stets experimentell geprüft werden.

Fortsetzung des Abdrucks von Entwurf für DIN-Normen, sog. „Gelbdrucke“, wiedergegeben mit Erlaubnis des DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

DK 618-07:612.11:612.461:620.1
:643.422.8:646.41

DEUTSCHE NORM

Entwurf Dezember 1981

Spezielle Laboratoriumsmedizin		DIN 58 984 Teil 1
Bestimmung von Mineralien im Serum, Plasma, Harn und anderen Körperflüssigkeiten Bestimmung von Gesamtcalcium mittels Atomabsorptions-Spektralphotometrie		
Special laboratory medicine; determination of electrolytes in serum, plasma, urine and other body fluids; determination of total calcium by atomic-absorption-spectrophotometry		Einsprüche bis 30. Apr 1982 Anwendungswarnvermerk auf der letzten Seite beachten!
1 Zweck Durch Anwendung der in dieser Norm enthaltenen Festlegungen wird sichergestellt, daß die Ergebnisse der Bestimmung des totalen Calciums im Serum oder Plasma richtig, präzise und damit vergleichbar ¹⁾ sind.	5 Zielsetzung 5.1 Bedeutung der zu bestimmenden Bestandteile Die vom Normbereich abweichende Calciumkonzentration in Körperflüssigkeiten ist ein Hinweis auf eine Calciumstoffwechselförderung. Diese kann bedingt sein durch Veränderungen in der Resorption im Darm, der Ausscheidung über die Nieren, des Aus- und Einbaues in Knochen sowie der hormonellen Regulation durch das Parathormon. 5.2 Indikationen zur Durchführung der Bestimmung Die Durchführung der Bestimmung ist angezeigt zur Diagnose und Therapiekontrolle bei Erkrankungen mit Störung der Calciumresorption, bei allen Arten von Knochenerkrankungen einschließlich Tumoren und Metastasen, bei Nierenerkrankungen und bei Störungen der hormonellen Regulation bei Über- und Unterfunktion der Nebenschilddrüsen. 5.3 Methodische Möglichkeiten, Wahl der Methode Derzeit gebräuchliche Bestimmungsverfahren sind in den klinischen Laboratorien: a) Flammen-Emissionsphotometrie b) Atomabsorptions-Spektralphotometrie c) Absorptionsphotometrie d) EGTA-Titration Die meisten dieser Methoden weisen pharmakologische, chemische oder spektrale Interferenzen auf. Die Atomabsorptions-Spektralphotometrie (AAS) gilt als zuverlässigste Methode, da sie praktisch frei von störenden Einflüssen ist. Sie wird international bei Methodenvergleichen als Referenzmethode herangezogen.	
2 Begriff 99 % des Gesamtkörpercalciums sind im Knochen system lokalisiert (statische Funktion). Das restliche 1 % des Gesamtkörpercalciums ist überwiegend im extracellulären Raum des Organismus lokalisiert und fungiert als Aktivator von verschiedenen Enzymsystemen, insbesondere von ATPasen (Steuerfunktion). Durch Aktivierung von Membran-ATPasen spielt es eine bedeutende Rolle in der Permeabilitätsänderung von Zell- und Gefäßmembranen. Eine weitere wichtige Funktion ist die Beteiligung an der Blutgerinnung (Faktor IV). Calcium stellt hinter Natrium damit das zweitwichtigste Kation im extracellulären Raum dar. Im intracellulären Raum ist Calcium nur in Spuren vorhanden. Eine wichtige Funktion liegt hier ebenfalls in der Aktivierung von Enzymsystemen, die zum Beispiel für die elektromechanische Koppelung in der Muskelzelle notwendig sind.		
3 Einheiten Es gelten DIN 1301 Teil 1 und Teil 2. Für Einheiten, die mit der SI-Basisgröße Stoffmenge und deren Baseinheit mol im Zusammenhang stehen, gilt zusätzlich DIN 32625.		
4 Bezeichnung der Methode Bezeichnung der Bestimmung von Gesamtcalcium (Ca) mittels Atomabsorptions-Spektralphotometrie (AAS): Calcium DIN 58 984 – Ca – AAS	¹⁾ Vergleichbarkeit siehe DIN 58 936 Teil 1	

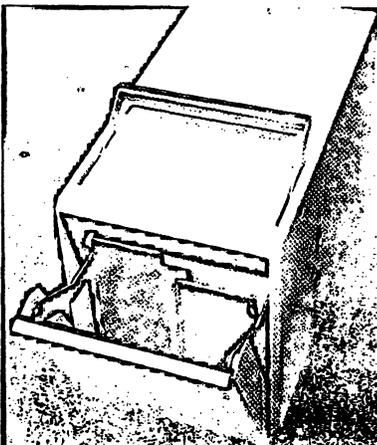
Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Bonn, gestattet

Fortsetzung Seite 2 bis 5

Normenausschuß Medizin (NAMed) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

Alleinverkauf der Normen durch Beuth Verlag GmbH, Berlin 30
12,81

Entwurf DIN 58 984 Teil 1 Dez 1981 Preisgr. 7
Vertr.-Nr. 0007



Lassen Sie der Hygiene beim Mischen den Vortritt!
Mit dem Colworth-Stomacher extrahieren, mischen und homogenisieren Sie auf neuartige Weise hygienischer, schonender und schneller.

Die Probe befindet sich hermetisch verschlossen in einem sterilen Plastikbeutel, das heißt:

- Keine Infektionsgefahr für das Personal.
- Keine Verschmutzung des Gerätes, daher sofortige Wiederverwendung möglich.
- Einfriermöglichkeit.

Die Probe wird beim Mischen nicht erwärmt, das Ergebnis liegt schon nach 30 Sekunden vor, das heißt:

- Keine mechanisch- oder temperaturbedingten Veränderungen des Materials.

Weitere Informationen über den Colworth-Stomacher sowie über andere Geräte und Einrichtungen für das Labor durch

KLEINFELD GmbH & Co.
Labortechnik
Leisewitzstraße 47
3000 Hannover 1
Tel. 05 11/85 20 41



Anmerkung: Die Kosten für Lanthan(III)-Oxid sind wesentlich höher als für das Strontiumchlorid-6-Hydrat. Außerdem können in Lanthan(III)-Oxid merkliche Verunreinigungen von Calcium vorhanden sein.

8.2.2 Aufbewahrung
Die Standard- und Verdünnungslösungen werden bei Raumtemperatur in Polypropylen-Flaschen aufbewahrt.

8.2.3 Stabilität
8.2.3.1 Stabilität der Standardlösung
Die Calcium-Standardlösung ist bei Raumtemperatur in Polypropylen-Flaschen 6 Monate haltbar.

8.2.3.2 Stabilität der Verdünnungslösungen
Die Stabilität der Verdünnungslösungen, aufbewahrt bei Raumtemperatur in Polypropylen-Flaschen, beträgt 1 Jahr.

9 Probenahme

9.1 Vorbereitung des Patienten
Nahrungskarenz und besondere Ruhelage ist nicht erforderlich. Eine Blutentnahme zu bestimmten Tageszeiten aufgrund etwaiger Rhythmen ist nicht erforderlich.

9.2 Blutentnahme

Das Blut ist aus einer möglichst wenig gestauten Vene zu entnehmen. Sterile Entnahmetechnik ist nicht erforderlich. Es sind etwa 5 ml Blut, z. B. mit Hilfe einer handelsüblichen Injektionspritze, besser jedoch frei abtropfend, in Auffanggefäße oder Zentrifugenröhrchen aus Glas oder Kunststoff zu entnehmen.

Anmerkung: Zur Gewinnung von Plasma erfolgt sofort Zusatz von 1 mg di-Natriumoxalat ($\text{C}_2\text{N}_2\text{O}_4$), $\text{M}(\text{Ca}_2\text{Na}_2\text{O}_4) = 134,0 \text{ g/mol}$), 1 mg tri-Natriumcitrat-2-Hydrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $\text{M}(\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 294,0 \text{ g/mol}$), 2 mg Natriumfluorid (NaF), $\text{M}(\text{NaF}) = 41,99 \text{ g/mol}$) oder 1 mg Ethylen-diaminetetraessigsäure-Dinatriumsalz, Dihydrat ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $\text{M}(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 3372,24 \text{ g/mol}$).

Bei der Untersuchung von Liquor cerebrospinalis, Fruchtwasser, Kammerwasser des Auges usw. sind die in der Klinik üblichen speziellen Entnahmeverfahren anzuwenden. Bei der Sammlung von Harn ist darauf zu achten, daß dieser mit konzentrierter Salzsäure auf einen pH-Wert um 1,0 angesäuert wird, um das Ausfallen von Calciumsalzen im Sediment zu verhindern.

9.3 Untersuchungsgut

9.3.1 Gewinnung
Zur Gewinnung von Serum bzw. Plasma Blutproben 10 Minuten bei einer RZB 2) von 3000 zentrifugieren.

Die Temperatur darf hierbei ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) nicht überschreiten. Nur frisches, hämolysefreies, schwebstoffreies Serum oder Plasma verwenden. Proben von anderen Körperflüssigkeiten brauchen nicht zentrifugiert zu werden.

2) RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (siehe DIN 68970 Teil 1)

b) Volumengeräte, die nur für solche quantitativen Analysen benutzt werden, deren Richtigkeit durch ständige Überwachung nach den Methoden der statistischen Qualitätskontrolle und durch Ringversuche nachgewiesen wird (Einpipflicht Ausnahmeverordnung in der Neufassung der Bekanntmachung vom 18. Dezember 1976).

7.4 Gase

Als Oxidant wird absolut ölfreie Preßluft aus Stahlflaschen bzw. aus einem Kompressor mit Druckkessel und Wasserabscheider benutzt. Als Brenngas wird Acetylen in technischer Qualität (Schweiß-Acetylen oder Acetylen für die Flammenphotometrie) verwendet. Die Flaschen müssen in aufrechter Lage und durch eine Kette vom Umfallen gesichert aufgestellt werden, um ein Ausfließen von Aceton aus den Flaschen absolut zu verhindern. Die Flaschen müssen bei einem minimalen Überdruck von 0,8 bar ausgewechselt werden.

8 Reagenzien

Alle notwendigen Reagenzien sollen von höchstmöglicher handelsüblicher Reinheit sein und mit einem entsprechenden Qualitätsmerkmal, z. B. „pro analysi“ oder einem speziellen Hinweis auf Verwendbarkeit für diese Bestimmungen versehen sein.

8.1 Grundsubstanzen

Calciumchlorid-2-Hydrat
 $\text{M}(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 147,02 \text{ g/mol}$

Strontiumchlorid-6-Hydrat
 $\text{M}(\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) = 266,62 \text{ g/mol}$

Lanthan(III)-oxid
 $\text{M}(\text{La}_2\text{O}_3) = 325,81 \text{ g/mol}$

Salzsäure (HCl) (etwa 30 %), Dichte = 1,15 g/ml

Anmerkung: Wird die molare Masse $M(X)$ in der Einheit g/mol gemessen, so ist ihr Zahlenwert gleich der relativen Molekülmasse (früher Molekulargewicht genannt) $M_r(X)$.

8.2 Reagenzienlösungen

8.2.1 Herstellung
Alle Reagenzien sind in frisch bereitetem, doppelt destilliertem bzw. zuvorigem demineralisiertem Wasser zu lösen.

8.2.1.1 Calcium-Standard
Endkonzentration der gebrauchsfertigen Lösung Calcium-6-Hydrat 2,5 mmol/l

8.2.1.2 Strontiumchlorid-Verdünnungslösung
Endkonzentration der gebrauchsfertigen Lösung Strontiumchlorid-6-Hydrat 28,5 mmol/l

8.2.1.3 Lanthan(III)-Chlorid-Verdünnungslösung
Endkonzentration der gebrauchsfertigen Lösung Lanthan(III)-Chlorid 36,0 mmol/l

Herstellung:
Lanthan(III)-Oxid 11,73 g in 1000-ml-Meßkolben geben und mit Wasser befeuchten. Danach 250 ml konzentrierte Salzsäure zugeben und wärmen, bis Substanz gelöst ist. Mit Wasser auf 1000 ml auffüllen.

verwendeten Atomabsorptions-Spektrophotometers abhängt und vorher ausgetestet werden muß, kann das Calcium in der Probe in einer Konzentration von 0,01 bis 100 mmol/l ohne Änderung der Verdünnung im linearen Bereich gemessen werden.

Bei höheren Calciumkonzentrationen muß die Probe mit der Strontiumchlorid- bzw. Lanthanchlorid-Verdünnungslösung weiter verdünnt werden.

6.5 Nachweisgrenzen

Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0,005 mmol/l.

7 Geräte und Hilfsmittel

7.1 Photometer

7.1.1 Es sind Atomabsorptions-Spektrophotometer als Einstrahl- bzw. Zweistrahlphotometer mit folgenden Monochromatoren zu verwenden:

- a) Gittermonochromatoren mit einem Meßbereich ab 2 nm und einer maximalen optischen Bandbreite von 2 nm.
- b) Prismenmonochromatoren mit einer maximalen optischen Bandbreite von 2 nm im Bereich der Meßwellenlänge 422,7 nm.

Es darf nur in dem Bereich gemessen werden, in dem die systematische Abweichung (Bias) des photometrischen Meßwertes (maximale mögliche Differenz zwischen Mittelwert der vom Photometer angezeigten Meßwerte und dem wahren Wert, siehe auch DIN 58 960 Teil 3), bei dem verwendeten Photometer weniger als 1 % des Meßwertes beträgt.

7.1.2 Das Atomabsorptions-Spektrophotometer muß mit einer Modulationsrichtung für das Licht der Hohlkathodenlampe ausgerüstet sein, um die Eigenemission aus der Flamme beim Meßwert zu eliminieren.

Als Brenner dürfen nur Schlitzbrenner mit einer Flammenlänge von 10 cm benutzt werden.

7.1.3 Atomabsorptions-Spektrophotometer dürfen nur in Räumen betrieben werden, die ein ausreichendes Volumen und eine gute Lüftung besitzen. Oberhalb der Flamme sollte eine Abfuhrvorrichtung mit Ventilator vorhanden sein, die die Abgase direkt nach draußen ins Freie absaugt.

7.2 Hohlkathodenlampen

Als Hohlkathodenlampen dürfen nur Einlelement- bzw. Zweielementlampen (kombiniert mit Mg) benutzt werden. Die vom Hersteller angegebenen optimalen Betriebsstromstärken dürfen wegen der Gefahr der Linienverbreiterung nicht überschritten werden.

7.3 Volumenmeßgerät

Alle Meßgeräte zur Bestimmung des Volumens bei der Herstellung der benötigten Lösung und bei der Durchführung der Analyse müssen amtlich geeicht sein (Deutsches Eichgesetz vom 11. Juli 1969). Von der Eichpflicht ausgenommen sind nach § 6 des Eichgesetzes Volumenmeßgeräte im Bereich der Heilkunde:

- a) Pipetten mit einem Volumen von nicht mehr als 100 Mikroliter, die nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt und geeignet sind, wenn sie den §§ 766, 771, 778 und 779 der Eichordnung entsprechen.

6 Definition der Methode

6.1 Prinzip

Nach Verdünnen der Probe wird diese vom Gerät angelegt und in eine Flamme hinein zerstäubt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wird die Probe thermisch dissoziiert. Die Fraktion der freien nichtangeregten Calciumatome ist in der Lage, absolut elementspezifisch und konzentrationsabhängig Licht von der Wellenlänge und Resonanzlinien des Emissionspektrums, das aus einer Hohlkathodenlampe durch die Flamme gestrahlt wird, zu absorbieren. Die Berechnung erfolgt über einen mitgelieferten Standard.

6.2 Nachweisbedingungen

Probenverdünnung je nach Geräteempfindlichkeit 1 + 49 bis 1 + 99 mit Strontiumchlorid- oder Lanthanchlorid-Verdünnungslösung

Verdünnungslösungen: Strontiumchlorid 28,5 mmol/l bzw. Lanthanchlorid 36,0 mmol/l

Wellenlänge: 422,7 nm

Flamme: Acetylen-Luft, schwach leuchtend (reduzierende Flamme)

Flammenlänge: 10 cm

Lichtstahl der Hohlkathodenlampe etwa 5 mm über innerem Flammenkegel.

6.3 Spezifität

Die Atomabsorptions-Spektrophotometrie ist spezifisch für Calcium. Spektrale Interferenzen mit anderen in biologischen Proben vorkommenden Elementen sind nicht bekannt.

Von seiten der Probenmatrix sind nur Interferenzen mit Phosphat von Bedeutung. Calcium bildet mit Phosphat in der Flamme thermostabile Verbindungen, die nicht atomisiert werden können und damit dem Absorptionsprozeß entgegen wirken, was eine Erniedrigung des Meßsignals zur Folge hat. Um diese Interferenz zu beseitigen müssen alle Verdünnungen von Proben und Standardlösungen die im Abschnitt 6.2 angegebenen Zusätze von Strontium bzw. Lanthan enthalten. Strontium und Lanthan haben eine höhere Affinität zu Phosphaten als Calcium und binden diese so fest, daß das gesamte Calcium atomisiert werden kann. Eine Strontium-Konzentration in der Verdünnungslösung von 28,5 mmol/l verhindert eine Anioneninterferenz durch Phosphat bis zu einer Konzentration von 1,5 mmol/l in der Meßlösung. Dies entspricht bei einer Probenverdünnung von 1 + 49 einer Phosphatkonzentration von 80 mmol/l in der verdünnten Originalprobe bzw. bei einer Probenverdünnung 1 + 99 einer Phosphatkonzentration von 160 mmol/l. Die Konzentration von Lanthan in der Verdünnungslösung von 36,0 mmol/l verhindert eine Anioneninterferenz durch Phosphat in der verdünnten Meßlösung bis zu 6,5 mmol/l. Dies entspricht bei einer Probenverdünnung von 1 + 49 einer Phosphatkonzentration von 325 mmol/l bzw. bei einer Probenverdünnung von 1 + 99 einer Phosphatkonzentration von 650 mmol/l in der unverdünnten Originalprobe.

6.4 Arbeitsbereich

Mit einer adäquaten Probenverdünnung im Bereich 1 + 49 bis 1 + 99, die von der individuellen Empfindlichkeit des

Seite 4 Entwurf DIN 58 984 Teil 1

9.3.2 Aufbewahrung

Das Untersuchungsgut soll kühl aufbewahrt und transportiert werden. Ein Ausschluß von Luft oder Licht ist nicht erforderlich, ebensowenig eine sterile Aufbewahrung. Bei längerer Aufbewahrung muß wegen der Gefahr der Hämolyse eine Abtrennung der geformten Blutbestandteile durch Zentrifugieren, gegebenenfalls Dekantieren, erfolgen.

Anmerkung: Bei Aufbewahrung der Proben länger als 24 Stunden müssen zur Aufbewahrung Gefäße aus Polypropylen verwendet werden. Gefäße aus Polystyrol können Calcium an der Wand adsorbieren und fälschlich niedrigere Werte ergeben.

10 Durchführung der Bestimmung

Einschalten des Atomabsorptions-Spektrophotometers einschließlich Zünden der Flamme nach den Vorschriften des Geräteherstellers. Das Gerät sollte vor der Messung bereits 10 Minuten mit der Flamme in Betrieb sein, um den Brennerkopf auf eine gleichmäßige Temperatur aufzuheizen. Dadurch werden eventuelle Drittenscheinungen von kaltem Brennerkopfes vermieden. Herstellung einer je nach Empfindlichkeit des verwendeten Meßgerätes adäquaten Verdünnung von Probenmaterial und Standardlösung im Verhältnis 1 + 49 bis 1 + 99. Sorgfältiges Durchmischen aller Lösungen. Da die Messung über einen weiten Bereich bis 10,0 mol/l in der unverdünnten Probe linear ist, ist neben einer gelegentlichen Überprüfung der Linearität mittels diverser Standardlösungen im Routinebetrieb lediglich eine Einpunkt-Eichung erforderlich. Zunächst wird unter Ansaugen der reinen Verdünnungslösung (Strontiumchlorid- bzw. Lanthanchlorid-Verdünnungslösung) der Nullpunkt des Gerätes eingestellt. Anschließend Ansaugen der Meßlösung von Proben und Standard. Die Sicherheitsvorschriften des Geräteherstellers sind zu beachten.

Anmerkung: Es darf nur in dem Bereich gemessen werden, in dem das verwendete Photometer bei Überprüfung der Richtigkeit der Extinktionskale Abweichungen unter 1 % vom Meßwert zeigt. Werden höhere Konzentrationen angezeigt, so muß die Probe adäquat weiterverdünnt werden.

11 Störmöglichkeiten

11.1 Methodenunabhängige Störung

Methodenunabhängige Störungen treten lediglich bei Verwendung von mit Calcium kontaminierten Röhren, Pipetten und Flaschen auf. Eventuelle Kontaminationen des Arbeitsgerätes mit Calcium müssen im Zweifelsfall vorher abgeklärt werden.

Die Antoneninterferenzen durch Phosphat betrifft alle flammphotometrischen Verfahren (Flammen-Emissions-Photometrie, Atomabsorptions-Spektrophotometrie) in gleicher Weise. Sie können jedoch nur bei der AAS durch Zusätze eliminiert werden.

11.2 Methodenunabhängige Störungen

Methodenunabhängige Störungen sind derzeit nicht bekannt.

12 Ergebnis

12.1 Berechnung

$$c = \frac{S \cdot F}{E_p} \cdot x \cdot E_p$$

Hierin bedeuten:

- c Calciumkonzentrationen des Standards in mmol/l
 - S Extinktion der Standardlösung
 - F Verdünnungsfaktor
 - E_p Extinktion der Probe
 - E_p Extinktion der Probe
- Anmerkung: Eine Reihe von Meßgeräten erlaubt die direkte Bestimmung in Konzentration. Bei diesen Geräten wird die Konzentration der unverdünnten Standardlösung vorgewählt und beim Messen per Tastendruck eingegeben. Alle Problemverdünnungen werden dann direkt in Konzentrationen der unverdünnten Probe ausgegeben.

12.2 Normbereich

Serum und Plasma 2,05 bis 2,65 mmol/l
Harn 1,25 bis 3,75 mmol/24 h

13 Bewertung und Aussagefähigkeit

13.1 Präzision

Bei Werten bis zu etwa dem Doppelten des Normbereiches können Präzisionen von Tag zu Tag mit einem Variationskoeffizienten von 1 % und weniger erreicht werden. Zwischen Referenzlaboratorien kann eine relative Standardabweichung an der oberen Normbereichsgrenze von 2,5 % erreicht werden.

13.2 Richtigkeit

Die Richtigkeit der Methode kann jederzeit mit wäßrigen Primärstandards überprüft werden. Zur Überprüfung der Linearität ist die gelegentliche Überprüfung mit einer Reihe von wäßrigen Primärstandards unterschiedlicher Konzentration zu empfehlen.

13.3 Qualitätssicherung

Entsprechend den Richtlinien der Bundesärztekammer kann die Forderung nach Qualitätssicherung durch Teilnahme an Ringversuche erfüllt werden. Für die interne Qualitätssicherung sind entsprechende Präzisions- und Richtigkeitskontrollserien im Handel erhältlich.

Entwurf DIN 58 984 Teil 1 Seite 5

Zitierte Normen und Unterlagen

- DIN 1301 Teil 1 Einheiten, Einheitennamen, Einheitszeichen
- DIN 1301 Teil 2 Einheiten; Allgemein angewendete Teile und Vorfache
- DIN 32 625 Größen und Einheiten in der Chemie, Stoffmenge und davon abgeleitete Größen, Begriffe und Definitionen
- DIN 58 960 Teil 3 Photometer für analytische Untersuchungen, Begriffe zur Kennzeichnung der technischen Eigenschaften von Absorptionsphotometern
- DIN 58 970 Teil 1 Laborzentrifugen; Begriffe, Anforderungen Eichordnung
- Richtlinien der Bundesärztekammer

Weitere Normen

- DIN 58 971 Teil 1 Spezielle Laboratoriumsmedizin; Bestimmung von L-Asparat, 2-oxoglutarat, Aspartat-Aminotransferase (ASAT) im Serum oder Plasma; Standardmethode
- DIN 58 972 Teil 1 Spezielle Laboratoriumsmedizin; Bestimmung von Orthophosphorsäuremononester phosphat, -drabäse [Alkalische Phosphatase (AP)] im Serum; Standardmethode
- DIN 58 973 Teil 1 Spezielle Laboratoriumsmedizin; Bestimmung von Kreatinin (2-Amino-1,5-dihydro-1-methylimidazol-4-on) im Serum oder Plasma; Jaffe-Reaktion nach Entweißung und Absorption
- DIN 58 974 Teil 1* Spezielle Laboratoriumsmedizin; Bestimmung von D-Glucose in Kapillarblut, Plasma, Liquor und Harn, Hexokinase-G6P-DH-Methode
- DIN 58 976 Teil 1* Spezielle Laboratoriumsmedizin; Bestimmung von L-Alanin-2-oxoglutarat-Aminotransferase [Alanin-Aminotransferase (ALAT)] im Serum oder Plasma; Standardmethode

Erläuterungen

Dieser Norm-Entwurf wurde von einer Ad-hoc-Gruppe (Führerführung Prof. Dr. med. K. Paschan, Kaiserlautern) im Arbeitsausschuß „Spezielle Methodologie“ (Obmann: Prof. Dr. med. Riek, Düsseldorf) des Normenausschusses (NAM) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. erarbeitet.

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Will die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes beschränkt zu vereinbaren. Stellungnahmen werden erbeten an den Normenausschuß Medizin (NAMeM) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Postfach 11 07, 1000 Berlin 30.

* 1 Z. Z. noch Entwurf