

# Kontrolle mit Kontrollmaterialien

R. Spaethe, M. Ley, A. Lampart, S. Vavra

AHS Deutschland GmbH; Merz + Dade AG, Schweiz

## Zusammenfassung:

*Es ist möglich, heute Kontrollmaterialien anzubieten, die soweit dem natürlichen Material entsprechen, daß auch bei Zellzählungen eine Überwachung der Geräte und Reagenzsysteme möglich ist. Bei Leukozyten und Thrombozyten bestehen bei der Messung mit verschiedenen Gerätetechniken und Gerätesystemen noch Schwierigkeiten, die vor allem auf mangelnder Diskriminierung zwischen diesen beiden Zellen beruht. Zu diesen Befunden tragen Reagenzsysteme und auch die Meßsysteme bei. Bei Qualitätskontrollprogrammen und vor allem Ringversuchen muß dies berücksichtigt werden. Eine statistisch gemeinsame Auswertung aller Geräte kann noch nicht befriedigen. Negative Effekte bei einem Gerät können durch positive Effekte beim anderen ausgeglichen werden. Untersuchungen über 19 von uns verfolgte Sollwertermittlungen zeigen, daß der Mittelwert sehr konstant sein kann. Verschiedene Geräte weisen jedoch einen konstant über dem Mittelwert oder unter dem Mittelwert liegenden Trend auf. Solche Trends werden durch die Mittelwertbildung verwischt. Wir schlagen daher vor, auch in Zukunft Geräte- und Reagenzsysteme zunächst getrennt statistisch zu erfassen. Dies erleichtert die Fehlersuche und führt zur besseren Klarstellung der noch bestehenden Probleme.*

## Einleitung

Neben manuellen Zählmethoden in geeichten Zählkammern werden heute mechanisierte Zählgeräte zur Zählung von Zellen im Blut verwendet. Bei allen elektronischen Blutkörperchenzählgeräten stört eine Überlappung zwischen Rausch- und Signalimpulsen. Die Geräte können nicht die Ursache der Impulse messen, sondern sie können nur Impulshöhen unterscheiden. Bevor die Impulse an das Zählwerk weitergegeben werden, erfolgt in einem Diskriminator der Vergleich mit einer einstellbaren Referenzspannung d.h. dem Schwellenwert. Alle Impulse, die kleiner als die Referenzspannung sind, werden unterdrückt. Nur durch optimale Einstellung der Referenzspannung (gleich Schwellenwert) können Rauschimpulse verdrängt werden.

Um die Messung, die das Gerät an physiologischen Proben durchführt zu kontrollieren, sind Kontrollproben notwendig. Ein Kontrollmaterial sollte eine dem Untersuchungsgut möglichst ähnliche Beschaffenheit und Zusammensetzung aufweisen. Nur dann ist gewährleistet, daß das Gesamtsystem einschließlich der benutzten Reagenzien kontrollierbar wird.

Bei der Entwicklung von Kontrollmaterialien müssen für die einzelnen Zellarten bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein. Die Zelle muß eine ausreichende Stabilität haben, damit dem Anwender eine mindestens 4wöchige Benutzung gesichert wird. Eine Sollwertermittlung muß zeitlich möglich sein, die Ergebnisse müssen auf die Meßergebnisse der physiologischen Proben übertragbar sein. Die Meßergebnisse sollten nicht von der verwendeten Methode und dem Reagenz abhängen.

Leider lassen sich diese Voraussetzungen bisher weder von der Geräteseite noch von seiten des Kontrollmaterials erfüllen. Es ist unsere Erfahrung aus Feldversuchen mit Kontrollblut, daß das Ergebnis der Zellzählung stark abhängt von der verwendeten Methodik. Neben der Probenvorbereitung hat auch das verwendete Reagenz und die verwendete Zähltechnik Einfluß auf das Ergebnis.

Das Verhalten von Zellen in einer Verdünnungsflüssigkeit ist oft zeitabhängig. Verdünnungsschritte bedeuten bei teilmechanisierten Methoden ebenfalls Fehlerquellen. Bei

teilmechanisierten Geräten mit Impulsbilddarstellungen werden wiederum bessere Ergebnisse erzielt als bei teilmechanisierten Geräten ohne Impulsbilddarstellung. Der Grund für diese Unterschiede kann in der festen Diskriminatoreinstellung bei Geräten ohne Impulsbilddarstellung gesehen werden.

Es ist bekannt, daß die Einstellung des Diskriminators bei Kontrollmaterialien abhängig ist von der verwendeten Zelle und dem verwendeten Suspensionsreagenz sowie bei Leukozytenzählung auch von dem verwendeten Hämolyse-reagenz. Alle diese Einflüsse müssen bei der Entwicklung eines Kontrollblutes und auch bei der Ermittlung von Sollwerten bedacht werden. Außerdem wird durch die Zellzählung und die Messung in den verschiedenen Systemen auch direkt Einfluß auf die Erythrozytenquotienten genommen. Nur durch die Entwicklung eines möglichst probenähnlichen Materials können diese Erythrozytenquotienten dem natürlichen Untersuchungsgut vergleichbar gemacht werden.

## Erythrozyten-Kontrolle

Als Kontrollmaterialien sind bisher außer vital konservierten Erythrozyten auch stabilisierte Erythrozyten verwendet worden. Nur vitale Erythrozyten erlauben, neben der reinen Zähltechnik auch die Reagenzien zu überprüfen und gleichzeitig auch richtige Erythrozytenquotienten zu bestimmen. Das Meßergebnis ist sehr oft abhängig von der normalen Semipermeabilität und der Verformbarkeit der Erythrozytenmembran. Durch Stabilisierung der Membran ist zwar der reine Zählvorgang der Erythrozyten wenig beeinflusst, der Hämatokrit und das mittlere Zellvolumen sind allerdings stark verändert. Die Impulsamplitude der Zählgeräte ist vom Zellvolumen und auch von der Form und Verformbarkeit der Zellen beeinflusst.

Bereits die physiologische Zellalterung beeinträchtigt die Verformbarkeit der Erythrozyten durch Membranschrumpfung und Wasserverlust. Junge und alte Erythrozyten zeigen unterschiedliche Membraneigenschaften. Dies muß sich zwangsläufig auch auf das Kontrollmaterial übertragen, das von Spendern gewonnen wird. Da mit Älterwerden von Kontrollblutpräparationen, auch von

nicht fixierten Erythrozyten, eine wachsende Anzahl an älteren Erythrozyten auftritt, wird der Hämatokritwert entsprechend durch Zellschrumpfung erniedrigt.

Die Zellen im Kontrollmaterial werden in einem Medium aufgeschwemmt, das sowohl Substanzen enthält, die für die Ernährung wichtig sind, als auch Substanzen, die eine Klumpung der Zellen verhindern. Außerdem sind Ionen und Puffersysteme notwendig, die bei zunehmender Alterung des Blutes eine starke Veränderung des pH verhindern soll. Ein Abfallen des pH in den sauren Bereich wird zur Volumenänderung der Zelle führen. Neben der Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels muß auf das osmotische Gleichgewicht im Medium geachtet werden. Antibakterielle Mittel müssen zur Verhinderung von Keimvermehrung beigegeben werden.

Bei der Entwicklung unseres Blutes (Merz + Dade) war es das Ziel, gleiches Verhalten wie bei frischem Humanblut zu erreichen, d.h. die Erythrozyten sollen nicht stabilisiert sein. Damit soll eine bessere Übereinstimmung der Erythrozytenquotienten erreicht werden, und es sollte eine niedrige Hämolyserate vorliegen.

Abb. 1 zeigt Stabilitätsuntersuchungen von frischem Humanblut, von M+D Kontrollblut und von einem Kontrollblut mit Glutaraldehyd-fixierten Erythrozyten. In der Abbildung wurden die am Coulter ZF ermittelten MCV-Werte und die am Coulter ZF aus Erythrozyten und MCV errechneten Hämatokritwerte aufgezeichnet. Daneben wurde zur Kontrolle der Hämatokrit, der durch Zentrifugation gewonnen wurde und das errechnete MCV aus gezählten Erythrozyten und zentrifugiertem Hämatokrit angegeben. Es zeigt sich, daß die Zählergebnisse von frischem Humanblut und Kontrollblut manuell und am Coulter identische Verläufe zeigen. Zählergebnisse sind innerhalb der verfolgten 8 Wochen mit allen Bluten ausgezeichnet.

Der zentrifugierte Hämatokrit (manuell) nimmt innerhalb von 6 Wochen kontinuierlich leicht ab. Dies ist sicherlich eine Funktion der zunächst ablaufenden Zellschrumpfung. Ab der 7. Woche kommt es langsam zu einem Anstieg des Hämatokritwertes, was nunmehr anzeigt, daß

die Erythrozyten anschwellen. Es ist jedoch deutlich erkennbar, daß beim M+D-Kontrollblut zwar eine Tendenz erkennbar ist, diese jedoch sehr gering ausgeprägt ist. Die Veränderungen im Hämatokrit spielen sich beim Kontrollblut zwischen Beginn und 7. Woche innerhalb von 42,5% und 40% ab. Entsprechend gering fallen auch die Unterschiede im MCV aus. Außerordentlich groß ist der Unterschied, der mit fixierten Erythrozyten gefunden wird. Hier sind sowohl beim MCV als auch beim Hämatokrit zwischen Coulter-Werten und manuellen Werten erhebliche Unterschiede. Eine vergleichbare Reaktion zum frischen Humanblut ist nicht mehr erkennbar.

Während die vom Coulter ZF gemessenen MCV-Werte noch darauf hinweisen, daß die Zellen eine normale Größe haben, wird beim über die Zellzahl und dem zentrifugierten Hämatokrit errechneten MCV ein erniedrigter Wert angegeben.

Wichtig für die Zellgröße ist die Osmolalität des Mediums, in dem sich die Zellen befinden.

In Abb. 2 ist der Effekt der Osmolalität auf die MCV-Stabilität gezeigt. Die Erythrozyten wurden in Kochsalzlösungen verschiedener Osmolalität von 190 mosmol/kg bis 900 mosmol/kg aufgeschwemmt. Es ist deutlich zu sehen, daß die Zellgrößen durch Lösungen verschiedener Osmolalität verändert werden können. Hypotone Lösungen lassen die Zellen selbstverständlich ebenso anschwellen wie hypertone zu einer Schrumpfung führen. Dies ist bereits innerhalb von Stunden zu sehen. Wenn Zellen über längere Zeit in einer hypotonen Salzlösung gelassen werden, so schwellen sie zunächst, bis sie schließlich hämolysieren. Rote Zellen verwenden einen großen Teil ihrer Energie darauf, die intrazelluläre Natrium- und Kaliumkonzentration über die Natriumpumpe oder die Natrium-Kalium-ATPase zu erhalten. Wenn die Zelle zu wenig Energie aufnimmt und der ATP-Gehalt absinkt, schwillt die Zelle und wird lysiert. Daher muß die Osmolalität unter isotonischen Bedingungen aufrechterhalten werden, damit die Zelle wenig Energie verschwenden muß. Die Osmolalität darf nicht nur mit Natriumchloridlösung erhalten werden, da in dieser die Stabili-

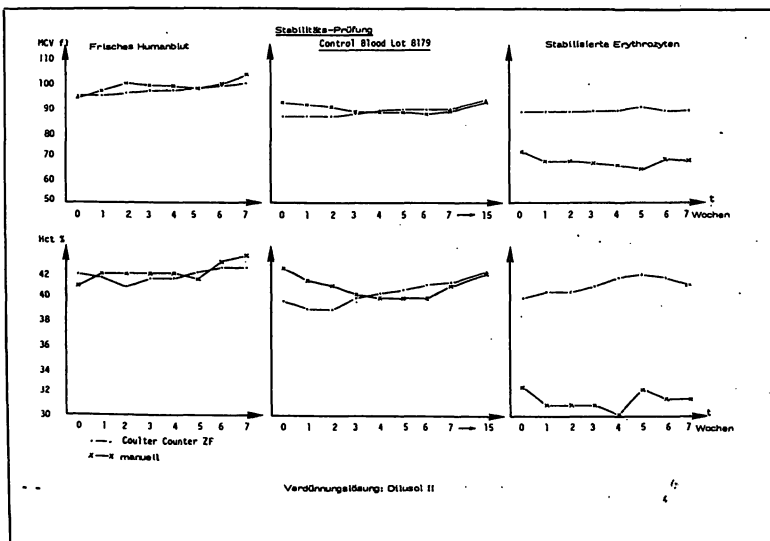


Abb. 1: Stabilitätsuntersuchungen von MCV und HKt verschiedener Blute

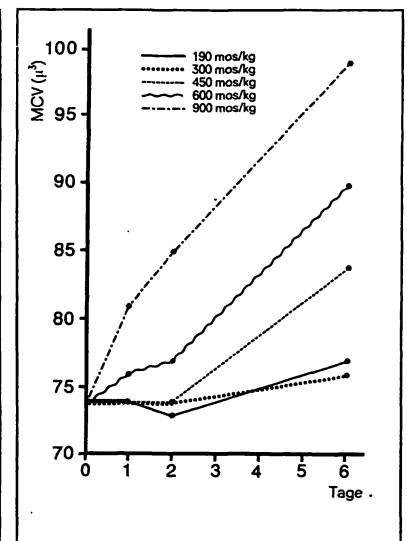


Abb. 2: Effekt der Osmolalität auf das MCV

**НБА<sub>1</sub>**

Hohe Zählausbeute,  
weniger radioaktiver Abfall,  
niedrigere Kosten,  
reinere Luft im Labor durch



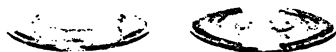
## Hochleistungs- Flüssigkeits-Szintillatoren



**Rialuma®**

für die

**Radioaktivitäts-HPLC**



für hydrophile Proben

RIALUMA\*  
AQUALUMA\*  
AQUALUMA\*-PLUS  
LUMAGEL\*

für lipophile Proben

LIPOLUMA\*  
LUMAGEL\*  
LUMASOLVE\*  
(Lösungsvermittler)

für Oxidizer

OXILUMA\*  
CARBOLUMA\*  
LUMASORB\*

\* eingetragene Warenzeichen  
der LUMAC SYSTEMS AG

dazu:

Zählfläschchen,  
Interne Standards,  
Zubehör.

Geringer Verbrauch pro Probe. Miniaturisierung mit kostengünstigen 6 ml und 3 ml Zählfläschchen; verminderter radioaktiver Abfall mit drastischer Kostensenkung, kürzere Zählergebnisse. Xylol und Cumol statt giftigem Toluol und krebserregendem Dioxan: höherer Flammpunkt mit 28° bis 48° C, verminderte Diffusion bei Plastfläschchen, verkürzte Zeit und bessere Auslastung des Gerätes sind die wesentlichen Vorteile. Es lohnt sich, diese zu nutzen. Eine umfangreiche Broschüre beschreibt die Vorteile und Anwendung. Broschüre und Muster werden kostenlos zugesandt.

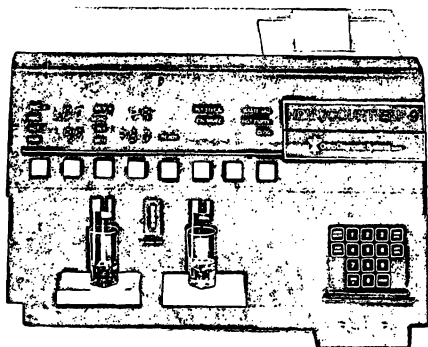
Hochleistungs-Flüssigkeits-Szintillatoren 1661 6080 Groß-Gerau Tel. 06152-71 03 71, Telex 04 191 113 fm

## HEMOCOUNT ERP-9

Mikroprozessor-gesteuerter 8 Parameter Dual ERP® Hamatologie-Zellzähler

**8 Parameter aus 2 Vollblutverdünnungen**

**Keine separate Verdünnung  
für Thrombozyten erforderlich**

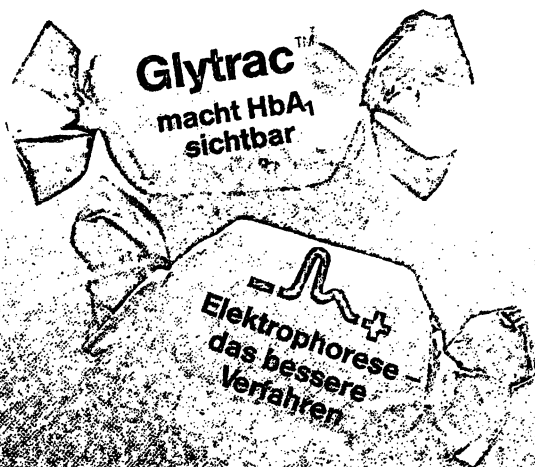


Mikroprozessor-Kontrolle  
Ständige Einsatzbereitschaft  
Minimaler Serviceaufwand

Ortho Diagnostic Systems

DR. MOLTER

## Ein Bonbon für den Diagnostiker



### Das Blutzuckergedächtnis, das sich nicht täuschen läßt!

Glytrac™ und Glytrac™ stabil bestimmen glycosyliertes Hämoglobin ohne oder mit Abspaltung des labilen Anteils. Der Test ermöglicht eine exakte Überwachung und Beurteilung der Stoffwechselsituation Ihres Diabetes-Patienten über einen längeren Zeitraum.

#### Die Vorteile:

- temperaturunabhängig
- pH-unabhängig
- kein Einfluß durch lipämische Seren
- Erkennung von Hämoglobin-Varianten
- kurze Inkubation bei Abspaltung des labilen Anteils

Schnelle zuverlässige Ergebnisse, einfache Durchführung und dauerhafte Dokumentation machen Glytrac™ für einen breiten Anwenderkreis interessant.

**Glytrac™, der HbA<sub>1</sub>-Test von Corning – eine wertvolle Hilfe in der Diabetes-Diagnostik.**

Corning Medical GmbH  
Postfach 5703  
6300 Gießen  
Tel.: 0641/40 03-0  
Telex: 482 971

**CORNING**

tät der Zellen nicht sehr lange gesichert ist. Man verwendet daher verschiedene Zucker, die nicht in die Zelle eindringen können und die Balance zwischen zellinternem und zelläußerem Wassergehalt erhalten. Diese Balance ist nicht mit Monosacchariden alleine zu erhalten, da diese in die Zelle transportiert werden. Dies kann zur Zellschwellung und Hämolyse führen.

Die Aufrechterhaltung eines stabilen MCV-Wertes über die Lebenszeit einer Zelle gewährleistet auch einen stabilen Hämatokritwert. Um die Zelle über eine gewisse Zeit lebend zu erhalten, müssen Stoffe zugegeben werden, die die Zell-ATP- und die 2,3-Diphosphoglyzerat Spiegel aufrechterhalten.

Die Ergebnisse mit unseren Kontrollbluterythrozyten zeigen, daß über eine lange Zeit eine gute Stabilität des MCV und auch der Hämatokritwerte zu erreichen ist.

Diese Präparation der Zellen bewirkt auch eine niedrige Hämolyserate (Abb. 3).

## Leukozyten

Menschliche Granulozyten können bisher nicht präpariert werden, sondern müssen durch Phantome simuliert werden. Für die Leukozytenzählung stehen neben Latexpartikeln, die allerdings am weitesten vom natürlichen Material entfernt sind, kernhaltige Vogelerythrozyten und fixierte menschliche Erythrozyten zur Verfügung. Bei der Zählung der Leukozyten ist besonders wichtig, Kenntnisse über das verwendete Reagenz zu haben. Alle Methoden zur Leukozytenzählung benötigen hämolysierende Reagenzien zur Eliminierung der Erythrozyten. Durch die Lysereagenzien werden allerdings nicht nur selektiv die Membranen der Erythrozyten beeinflusst. Auch die Leukozytenmembran und die Membran fixierter Erythrozyten bzw. die Membran von Vogelerythrozyten werden in ihrer Permeabilität verändert. Einige Lysereagenzien zerstören den menschlichen Leukozyten bis auf den Zellkern, der schließlich gezählt wird. Dieser hat damit andere Größenverhältnisse als der natürliche Leukozyt und erreicht oft die Größe von großen Thrombozyten, so daß hier Interaktionen beim Zählvorgang möglich wer-

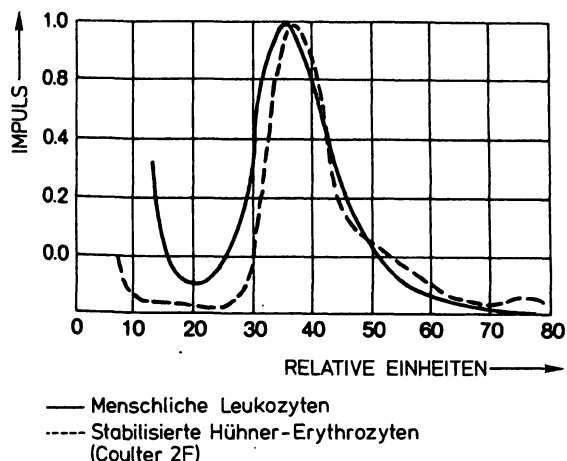


Abb. 4: Vergleich der Impulshöhenverteilung von menschlichen Leukozyten und Hühnererythrozyten

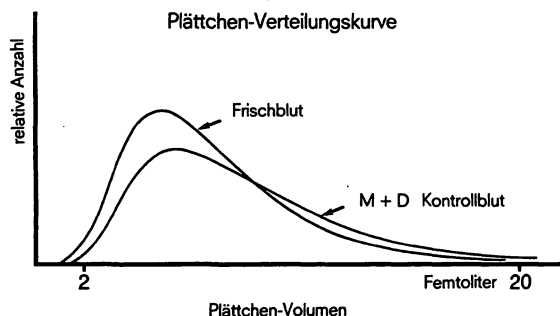


Abb. 5: Verteilungskurven der Thrombozyten von Frischblut und Humanblut

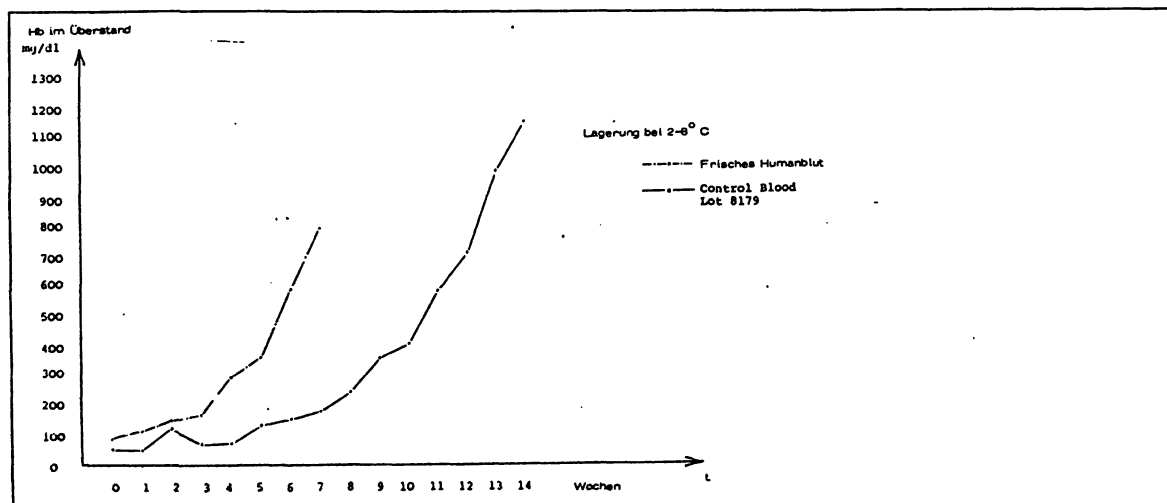


Abb. 3: Vergleich der Hämolysewerte in frischem Humanblut und Kontrollblut

den. Richtige Zählergebnisse können nur dann erreicht werden, wenn die Schwellenwerteinstellung des Gerätes auch die spezifischen Unterschiede der Leukozytenphantome gegenüber den natürlichen Leukozyten berücksichtigt. Viele Reagenssysteme erfüllen die Forderung, daß native Leukozyten und Leukozytenphantome etwa gleiche Schwellenwerteinstellungen haben.

Einen Vergleich der Impulshöhenverteilung von Humanleukozyten und fixierten Hühnererythrozyten gemessen am Coulter ZF zeigt Abb. 4. Die Vergleichbarkeit erscheint recht gut. In unserem M+D-Kontrollblut haben wir ebenfalls Hühnererythrozyten als Leukozytenphantome eingesetzt.

## Thrombozyten

Die größten Schwierigkeiten bei der Kontrollprobenherstellung machen nach wie vor die leicht verletzlichen Blutplättchen. Meist werden daher Latexpartikel für die Plättchenmessung herangezogen. Dies kann jedoch keine befriedigende Lösung sein. Latexpartikel zeigen im allgemeinen nicht die gleiche Verteilung wie menschliche Thrombozyten. Die folgenden Verteilungskurven und

Diskriminatorgrenzwerte (Abb. 5, 6a, b) von Latexpartikeln, Frischblut und Kontrollblut weisen auf die Unterschiede hin, die auch zu veränderten Ergebnissen bei der Zellzählung führen können. Ein Vergleich zwischen Thrombozyten in frischem Blut und Kontrollblut weist ebenfalls gute Vergleichbarkeit auf. Das Impulsspektrum ist bei Thrombozyten nach Stabilisierung etwas kleiner als bei nativen Plättchen. Die Abgrenzung gegenüber Rauschpulsen im Gerät wird bei der Thrombozytenzählung oft auch durch mitgezählte Zellfragmente (bei nicht voller Lysierung der Erythrozyten) erheblich erschwert. Weitere Schwierigkeiten entstehen durch Aggregationen auch von präparierten Thrombozyten an Glaswänden und anderen Zellen.

## Qualitätskontrolle

Um den Einsatz des M+D-Kontrollblutes bei der Qualitätskontrolle zu überprüfen, wurden Feldversuche durchgeführt.

Abb. 7 zeigt Zielwerte des Kontrollblutes mit Thrombozyten. Gewählt wurde ein Kontrollblut, das eine Kontrolle in drei unterschiedlichen Bereichen niedrig-

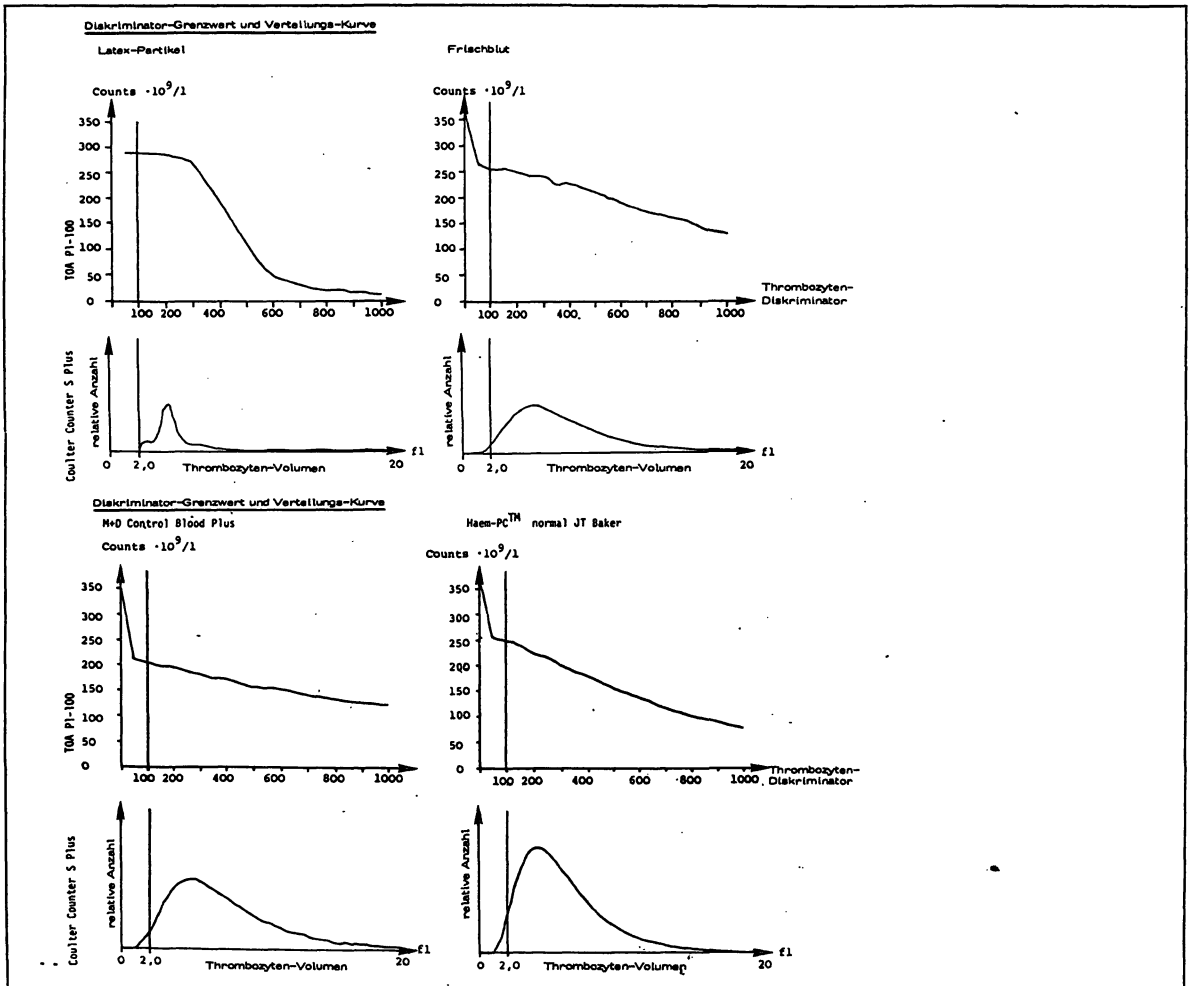


Abb. 6: Diskriminator-Grenzwert und Verteilungskurve von Latex-Partikeln, Frischblut und 2 Kontrollbluten, gemessen am TOA und Coulter S-Plus

# EIN ERGEBNIS, DAS NICHT NUR KLAR, SONDERN ÄUSSERST SINNVOLL IST.



Wie in jeder medizinischen Disziplin sollte das Ergebnis, das Resultat, Ihrer Arbeit für jeden und jedermann auf einer gesicherten, anerkannten und bewährten Basis stehen. Deshalb hat der neue CEA-RIA von Pharmacia nicht irgendeine, sondern **die** Kalibration – W.H.O. 2/22 J.

Diese Kalibration bringt Ihnen **zum erstenmal Ergebnisse, die vergleichbar sind.** Untereinander und anhand der international gültigen Standards. Besonders wenn es um die Auswertung geht.

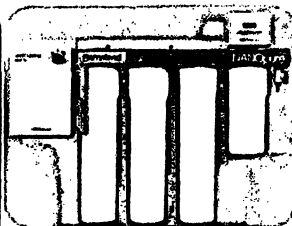
Sie verfügen somit über einen unabhängigen und klar definierten Wert, der nicht nur Ihre, sondern auch die Arbeit Ihres Einsenders zuverlässig einfacher macht.

Denn was für CEA-RIA's noch ungewöhnlich sein mag, ist in der diagnostischen Praxis längst Gewohnheit: nur einen Maßstab zu akzeptieren, der weltweit von allen anerkannt ist – W.H.O.

**WHO**  
**CEA**  
**RIA**  
**DER NEUE VON PHARMACIA. KLARER GEHT'S NICHT.**

**Reinstwasser  
preiswert  
selbst  
herstellen:**

**Mit Barnstead-  
NANOpure-  
Anlagen**



**Für Virologie  
Spurenanalytik  
Klinische Chemie**

NANOpure-Anlagen sind Ionenaustauscher für die kontinuierliche Bereitstellung großer Mengen stets frischer Bidestillat-Qualität. Leistung bis 4 l/min. Kosten nur ca. 12 Pfg./l einschließlich Vorentsatzung. Erreichbarer Widerstand bei 25°C: 18,3 Megohm. Für die Vorentsatzung: drucklose und druckfeste AQUADEM Patronenentsatzungsgeräte

Wir planen, liefern und montieren „maßgeschneiderte“ und ausbaufähige Systeme jeder Art und Größe für die Reinstwassergewinnung.

Bitte fordern Sie ausführliche Informationen an!

**wilhelm  
werner  
gmbh**

Buchholzstr. 73 · 5060 Berg · Gladbach 2  
Telefon 0 22 02 / 5 10 54

## Vertretung

### VERTRETUNG GESUCHT

Laborarzt im südwestdeutschen Raum sucht erfahrenen Kollegen zur Vertretung, tageweise und bis zu 3 Wochen zusammenhängend. Zulassung als Laborarzt Voraussetzung.

Zuschriften unter Chiffre-Nr. Lab 2285 an Verlag Kirchheim + Co GmbH, Postfach 25 24, 6500 Mainz.

## Verkäufe

### Enzym-Substrat-Meßplatz

Labtronic-S-300 — Baujahr: 1980/81

incl. Digital-Diluter  
EDV  
Programme / Methoden  
Einarbeitung

VB DM 20 000,— (Neupreis ca: DM 90 000,—)  
Telefon (07 31) 8 30 71

## LABORATORIUMS MEDIZIN

vereinigt mit **Das Medizinische  
Laboratorium**

Offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin e.V.

Offizielles Organ des Berufsverbandes Deutscher Laborärzte e.V.

Offizielles Organ der Österreichischen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin

Offizielles Organ des Institutes für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium e.V. (INSTAND e.V.)

**Einladung  
zum  
Abonnement**



Bitte senden Sie mir ab sofort 2 Ausgaben von LABORATORIUMSMEDIZIN, vereinigt mit „Das Medizinische Laboratorium“, für mich kostenlos zur Probe.

Gebe ich Ihnen 10 Tage nach Erhalt des zweiten Heftes keine gegenteilige Nachricht, bin ich mit der regelmäßigen Weiterbelieferung bis auf Widerruf einverstanden.

Ich zahle dann den Abonnentenpreis von DM 8,30 pro Ausgabe einschl. Porto-kosten und MWSt.

Ich nehme Ihr Angebot an und möchte die Probehefte an folgende Anschrift erhalten:

Name \_\_\_\_\_

Straße \_\_\_\_\_

PLZ \_\_\_\_\_

Ort \_\_\_\_\_

Datum \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

Sie garantieren mir, daß ich diese Vereinbarung innerhalb einer Woche durch Mitteilung an den Verlag (Anschrift nebenstehend) widerrufen kann. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs.

Datum und Unterschrift \_\_\_\_\_

Lab. med. 12/84

Wir laden Sie ein, diese Fachzeitschrift für 2 Monate kostenlos kennenzulernen.

Sie brauchen den ausgefüllten Coupon nur im unverschlossenen Umschlag mit 70 Pfg. frankiert zur Post zu geben und zu adressieren an:

Verlag Kirchheim + Co GmbH  
Postfach 25 24  
D-6500 Mainz 1

Sie erhalten umgehend Ihr erstes Heft.



pathologisch, normal und hochpathologisch erlaubt. Die Wichtigkeit einer 3-Bereichskontrolle zeigt die Abb. 8. Bei Linearitätsuntersuchungen an verschiedenen Geräten mit verschiedenen Zellen konnte gefunden werden, daß sehr viele Geräte nicht linear über den gesamten Meßbereich messen. Die Präzision der Bestimmung mit Kontrollblut plus von Tag zu Tag über 5 Tage, gemessen mit zwei unterschiedlichen Methoden, ist sehr gut (Tab. 1).

In Tab. 2 ist die Langzeitstabilität über 3 Monate aufgezeichnet. Es zeigt sich deutlich, daß beim benutzten Meßprinzip gute Ergebnisse über eine lange Zeit erreicht werden können. Dies wird auch durch eine Qualitätskontrolluntersuchung über 67 Tage am Coulter Counter S Plus sichtbar (Tab. 3). Nach diesen zusammenfassenden Untersuchungen in unserem Hause wurden Feldversuche durchgeführt. Diese Feldversuche sollen die Brauchbarkeit des Kontrollblutes an verschiedenen Geräte- und Reagenziensystemen nachweisen. Es sollen dabei allerdings auch Schwierigkeiten aufgedeckt werden.

### 1. Erythrozyten

Abb. 9 zeigt den Feldversuch Erythrozyten and den verschiedenen Gerätesystemen mit Kontrollblut Plus. Innerhalb eines Labors wurden dabei sehr gute Variationskoeffizienten erreicht. Von Gerätetyp zu Gerätetyp werden allerdings unterschiedliche Präzisionen deutlich. Der Gesamtvariationskoeffizient ist bei den Erythrozyten allerdings noch brauchbar.

### 2. Leukozyten

Abb. 10 zeigt die Zusammenfassung des Feldversuches Leukozyten. Die Einzelwerte wiesen jedoch auf größere Schwierigkeiten hin. Zur Summenbildung des Gesamtwertes wurden verschiedene Testergebnisse eliminiert. Bei den eliminierten Werten handelt es sich im wesentlichen um Ergebnisse erstellt mit optischen Systemen. Hier ist offensichtlich eine Diskriminierung zwischen Leukozyten und Thrombozyten nicht immer gewährleistet. Am Hämalog 8 werden im geräteeigenen System die menschlichen Leukozyten bis auf den Leukozytenkern lysiert. Es kann daher zu einer Überlappung mit großen Thrombozyten kommen, die offensichtlich bei schlechter Kalibrierung bei den Leukozyten mitgezählt wurden.

		Level I	Level II	Level III
Thrombozyten	$\cdot 10^9/l$	50	200	350
Leukozyten	$\cdot 10^9/l$	2,5	7,5	16,0
Erythrozyten	$\cdot 10^{12}/l$	2,5	4,6	6,0
Haemoglobin	g/dl	7,5	14,0	18,5
Haematokrit	%	22	44	55

Stabilität:      ungeöffnet: 6 Wochen  
                      geöffnet: 7 Tage

Abb. 7: Zielwerte eines Kontrollblutes zur Qualitätskontrolle

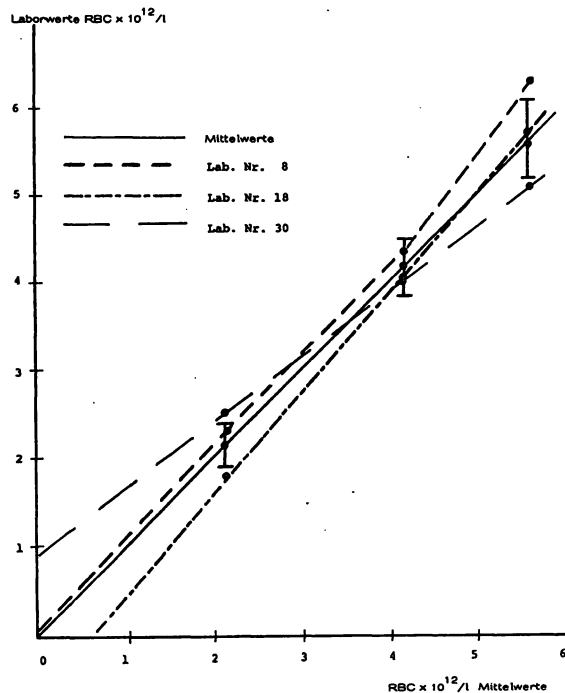


Abb. 8: Linearität der Erythrozytenanzahldichte (RBC) gemessen mit verschiedenen Geräten

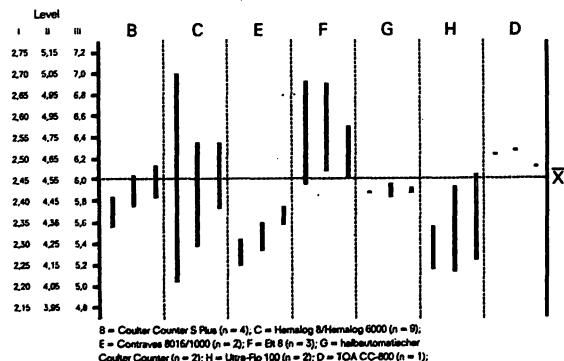


Abb. 9: Feldversuch Erythrozyten mit Control Blood Plus an verschiedenen Geräten

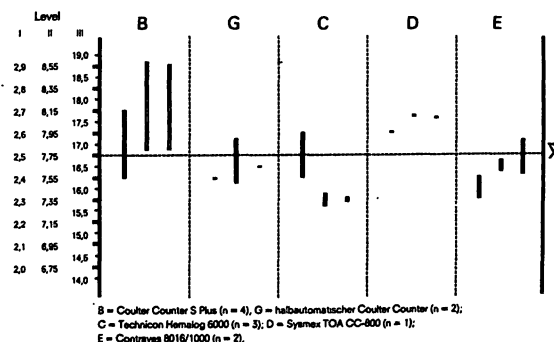


Abb. 10: Feldversuch Leukozyten mit Control Blood Plus an verschiedenen Geräten

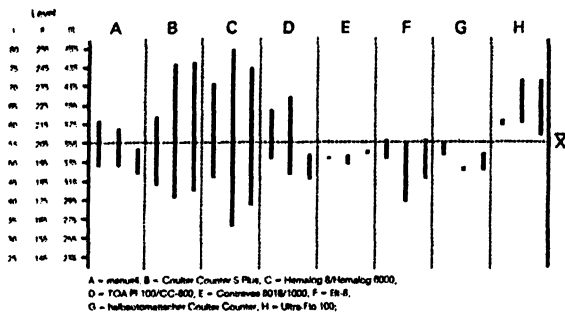


Abb. 11: Feldversuch Thrombozyten mit Control Blood Plus an verschiedenen Geräten

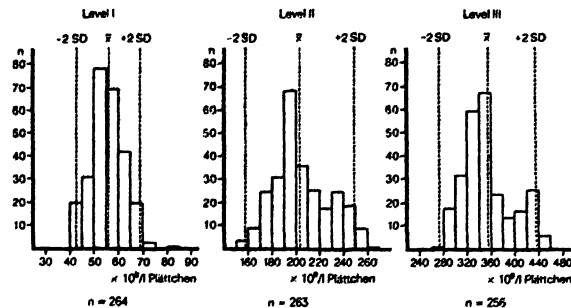


Abb. 12: Histogramm der Thrombozytenzählung in M+D Control Blood Plus im Feldversuch. n = Anzahl der Labors

Verfahren: Doppelbestimmungen aller Parameter an 5 aufeinander folgenden Tagen (n = 10)

Labor 1 : Analyzer Coulter Counter S Plus

Labor 2 : Analyzer Tos PI-100 / Coulter Counter ZF

Parameter	Labor	Level	ungefähr- ner Wert	$\bar{x}$	SD	CV %
Plättchen $\times 10^9/l$	1	I	50	44	1,62	3,7
		II	200	176	3,59	2,0
		III	350	319	9,06	2,8
	2	I	50	53	1,69	3,2
		II	200	195	4,11	2,1
		III	350	334	12,1	3,6
Leukozyten $\times 10^9/l$	1	I	2,5	2,42	0,10	4,1
		II	7,5	7,75	0,09	1,2
		III	16,0	16,9	0,27	1,6
	2	I	2,5	2,4	0,08	3,3
		II	7,5	7,5	0,17	2,3
		III	16,0	16,5	0,30	1,8
Erythrozyten $\times 10^{12}/l$	1	I	2,5	2,36	0,02	0,9
		II	4,6	4,56	0,04	0,9
		III	6,0	6,02	0,11	1,8
	2	I	2,5	2,42	0,05	2,1
		II	4,6	4,47	0,06	1,3
		III	6,0	5,88	0,06	1,0
Hämoglobin g/dl	1	I	7,5	7,5	0,08	1,1
		II	14,0	14,1	0,14	1,0
		III	18,5	18,8	0,21	1,1
	2	I	7,5	7,3	0,08	1,1
		II	14,0	13,9	0,10	0,7
		III	18,5	18,7	0,07	0,4
Hämatokrit %	1	I	22	21,2	0,25	1,2
		II	44	41,4	0,47	1,1
		III	55	55,2	1,09	2,0
	2	I	22	21,2	0,55	2,6
		II	44	40,2	0,44	1,1
		III	55	52,6	0,52	1,0

Tab. 1: Präzision von Tag zu Tag (2 Labors)

Tab. 2: Stabilitätsprüfung von M + D Control Blood Plus über 3 Monate

	Plättchen $\times 10^9/l$		$10^9/l$	$10^{12}/l$	f1	%		g/dl	
	manuell	Toa	WBC	RBC	MCV	cc	man Hct	lb	
Start	17,6	105	126	8,0	4,62	86	40,1	43,0	14,1
1. Woche		122	118	8,0	4,49	89	40,1	43,0	14,0
2. Woche		109	125	8,0	4,42	88	39,2	42,3	14,0
3. Woche		110	119	7,7	4,46	89	39,9	42,0	14,1
4. Woche		95	113	7,9	4,45	89	40,2	41,0	13,9
5. Woche		103	115	8,0	4,54	89	40,6	41,3	14,1
6. Woche		117	110	8,1	4,52	90	41,4	41,0	14,1
7. Woche		121	111	8,0	4,43	91	40,8	40,3	13,9
8. Woche		111	114	8,1	4,48	89	40,3	42,0	13,9
9. Woche		107	103	8,1	4,46	90	40,6	42,0	14,0
10. Woche		106	108	8,2	4,52	91	41,4	42,0	14,1
11. Woche		94	107	8,2	4,56	90	41,2	41,0	14,0
12. Woche		100	105	8,0	4,42	90	40,0	42,0	13,9
13. Woche		94	115	8,0	4,32	88	38,5	43,0	13,9
$\bar{x}$		107	114	8,0	4,48	89	40,3	41,9	14,0
SD		9,20	6,89	0,13	0,07	1,31	0,81	0,84	0,09
CV		8,6	6,1	1,6	1,5		2,0	2,0	0,63

Tab. 3: Langzeitstabilitätsprüfung von M+D Control Blood Plus über 67 Tage

	LEVEL I				LEVEL II				LEVEL III			
	n	$\bar{x}$	S	VK	n	$\bar{x}$	S	VK	n	$\bar{x}$	S	VK
Tc $\times 10^9/l$	67	54	5,38	10,0	65	213	9,09	4,27	67	328	14,3	4,38
Leuc $\times 10^9/l$	67	2,24	0,14	6,12	65	7,84	0,24	3,06	67	16,4	0,56	3,39
Ec $\times 10^{12}/l$	67	2,26	0,06	2,49	65	4,53	0,06	1,39	67	6,06	0,08	1,34
Hb g/dl	67	7,02	0,15	2,11	65	13,7	0,15	1,09	67	18,5	0,24	1,29
Hk %	67	20,4	0,55	2,67	65	41,3	0,59	1,43	67	56,6	0,90	1,58
MCV fl	67	90,1	0,87	0,96	65	91,1	0,73	0,80	67	93,4	0,59	0,63
MCH pg	67	31,2	0,60	1,92	65	30,4	0,55	1,82	67	30,6	0,57	1,88
MCHC g/dl	67	34,5	0,65	1,88	65	33,3	0,55	1,64	67	32,7	0,64	1,96
n = Tage												

### 3. Thrombozyten

Abb.11 zeigt die Zusammenfassung des Feldversuches Thrombozyten. Hier sind die Variationskoeffizienten am größten. Wiederum sind optische Systeme mit dem höchsten Varianzen behaftet. Das Histogramm in Abb.12 weist 2 unterschiedliche Populationen auf, die sich um so mehr herausbilden, je höher die Thrombozytenzahlen werden. Schwierigkeiten bestehen oft bei der Diskriminatoreinstellung der optischen Systeme, was die Ergebnisse erklären könnte. Da beim WBC-Reagenz nur noch die nackten Zellkerne mikroskopisch zu erkennen waren, wurde beim Humanblut die Schwelle viel tiefer eingestellt als beim Kontrollblut. Erst bei der Einstellung der WBC-Schwelle auf die mit dem Kontrollblut erhaltene konnten bessere Ergebnisse bei Leukozyten und auch Thrombozyten erreicht werden. Bei normaler Schwelleneinstellung wurden vermehrt Thrombozyten bei den Leukozyten mit-

gemessen. Diese Unterschiede an verschiedenen Geräten müssen bei der Qualitätskontrolle der Zellzählungen berücksichtigt werden.

### Hämatokrit, Hämoglobin

Hämoglobin und Hämatokrit machen bei dem Kontrollblut Plus keinerlei Schwierigkeiten. Dies ist darauf zurückzuführen, daß im Kontrollblut Plus keine fixierten Erythrozyten benutzt werden. Der Feldversuch zeigt, daß die im Entwicklungslabor anfangs gezeigten Befunde auch auf die Routine übertragbar sind.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Reiner Spaethe  
Mechthild Ley  
AHS Deutschland GmbH  
8000 München 50

Dr. A. Lampart  
S. Vavra  
Merz + Dade AG  
Düdingen, Schweiz

### Diskussion

**Eber:** Es fällt bei der Auflistung doch auf, daß ein Laboratorium bzw. ein Gerät oder eine Geräteart in jedem Fall über die drei hier untersuchten Konzentrationsbereiche gleichartig verschoben ist.

**Spaethe:** Ja, manchmal ist es auch der gleiche Gerätetyp, der einmal hohe und einmal niedrige Werte ergab. Dies war ganz eindeutig abhängig von der Kalibrierung dieses Gerätes. Dies habe ich mit den Kalibrierungskurven gezeigt. Einzelne Geräte sind unterschiedlich kalibriert und messen unterschiedlich linear. Es gibt Geräte, die im unteren und mittleren Bereich gut messen und im oberen Bereich schlecht und umgekehrt.

**Thom:** Ich finde es überhaupt erstaunlich, daß im thrombopenischen Bereich die Übereinstimmung hervorragend ist. Wie ist das zu erklären?

**Spaethe:** Ich kann es Ihnen auch nicht beantworten. Einige Labors, die herausfallen, haben eine sehr große Varianz. Aber insgesamt liegen die Werte in diesem Bereich sehr gut. Wichtig ist sicherlich auch die Qualität des Kontrollblutes. Bei niedrigen Thrombozytenzahlen kommt es weniger zur Aggregation der Zellen. Bei guter Verteilung können sie gut gezählt werden. Wir könnten vielleicht in der Kontrollprobe nur einen Bereich von z.B. 40–75000 angeben. Dies wäre besser als die Angabe nur eines Mittelwertes. Aber der Anwender will einen Sollwert haben. Der Anwender kalibriert im allgemeinen sein Gerät mit Kontrollblut. Er möchte eine möglichst unproblematische Qualitätskontrolle haben. Man ist nach meiner Ansicht in der Hämatologie bisher nicht problembewußt.

**Jakschik:** Wir sollten bei der Qualitätskontrolle uns doch daran gewöhnen, den VK nicht anzugeben, sondern wenn den VK, dann den mit einem entsprechenden Vertrauensniveau, d.h. entweder den 1-Sigma-Wert, dann haben wir 68% Vertrauensniveau, d.h. mit anderen Worten 33% kann außerhalb dieses Bereiches liegen; dessen ist sich der Anwender oft nicht bewußt.

**Spaethe:** Wir geben nicht den Prozent-Vertrauensbereich an.

**Jakschik:** Aber welchen Bereich geben Sie dann an, geben Sie dann den entsprechenden 95%-Bereich an?

**Spaethe:** Ja, den 95%-Bereich. Aber leider müssen wir immer den Mittelwert angeben, ich sträube mich selbst

dagegen. Dieses Mittelwertdenken kommt aus der Anfangsphase der Qualitätskontrolle, als immer diese Scheiben gezeigt wurden, in deren Mitte man schießen mußte. Viele Versuche haben gezeigt, daß, wenn Sie beim gleichen Labor Werte wiederholen, deren Mittelwerte einmal niedriger und einmal höher liegen. Für mich ist es immer verdächtig, wenn ein Labor mir einen Variationskoeffizienten unter 1% liefert. Es ist klar, was dieses Labor macht. Es werden viele Messungen durchgeführt, dann sucht man sich einen Mittelwert und gibt die Werte an, die diesem Mittelwert am nächsten liegen. Alle anderen Werte werden gestrichen. Daher stimmen auch viele Angaben über die Streuung nicht.

**Weber:** Sie haben vorhin ein Dia gezeigt, in dem Sie Linearitäten von 3 verschiedenen Bluten im Thrombozytenbereich oder an drei verschiedenen Geräten gezeigt haben. Diese Kurven machen auf mich einen ganz bestimmten Eindruck. Es sieht so aus, als wäre auf einen bestimmten Wert hin kalibriert worden und der Bediener hätte vergessen, darauf zu achten, daß er die Diskriminatorschwelle richtig einstellen muß, da diese Kurven zwar linear sind, aber nicht durch den Nullpunkt gehen. Der Bediener sollte sich darüber bewußt werden, daß er die Kalibrierung in der Hämatologie nicht durchgeführt, indem er einen Knopf einstellt, sondern daß eine genaue Diskriminatoreinstellung dazu gehört.

**Kühne:** Ich habe dazu vielleicht noch einen Hinweis und zwar: Wir verfolgen auch die Stabilität von Kontrollbluten verschiedener Hersteller. Wir sind ja in der Lage, die Größenverteilungskurven direkt zu erstellen nach Beendigung der Messung. Wir haben festgestellt, daß alle Blute während der Laufzeiten einem Zerfallsprozeß unterliegen sind und dadurch auch rote Blutkörperchen untergehen.

Diese roten Blutkörperchen werden im optischen System als Thrombozyten gemessen und vielleicht lassen sich da einige Dinge der Nichtlinearität erklären.

Dieser Zerfallsprozeß beginnt bei einigen Chargen sofort. Gerade bei Kontrollbluten im hohen pathologischen Bereich, also bei Erythrozytenmengen über 5 Mio., tritt es schon nach dem ersten Tag auf. Wir finden also in den letzten Tagen zum Beispiel bis zu 60000 Thrombozyten. Auch wenn diese jetzt als Thrombozyten mitgezählt werden, muß man natürlich erwarten, daß man bei den Thrombozyten entsprechend hohe Artefakte findet.

**Spaethe:** Dann spielte dies wohl medizinisch keine Rolle mehr.

Aber bei den 50000 Thrombozyten sind die Ergebnisse eher relativ günstig gewesen.

**Kühne:** Da haben Sie auch nur 2 Millionen Erythrozyten.

**Jakschik:** Gilt das für alle Hersteller?

**Kühne:** Es gilt für alle Hersteller. Wir nehmen an, daß es ein Abbau der Erythrozyten ist und im Thrombozytenkanal zählen diese durch den Kalibrationsfaktor natürlich entsprechend auch um das Fünffache.

**Spaethe:** Dies haben wir eigentlich weniger gefunden, wenn man die Diskriminatoreinstellung sauber gemacht hat. Wir haben neben den von Ihnen beschriebenen Effekten eher Interaktionen zwischen den Leukozyten sowie den Vogelerthrozyten und Thrombozyten gefunden, weil diese sehr nahe beieinander liegen. Aber Sie haben völlig recht, daß am Anfang, und zwar in den ersten 5 bis 6 Tagen nach der Produktion, die Erythrozyten z.B. sehr stark abfallen, dann stabilisiert sich das.

Die Sollwertermittlung dürfen wir erst beginnen ab dem 6. bzw. 7. Tag nach Produktion. Sie sollte spätestens in 14 Tagen erledigt sein. Dann haben wir noch 4 bis 5 Wochen gute Ergebnisse. Aber es ist interessant, daß man diese Unterschiede mit dem Impedanz-Meßprinzip nicht so schnell sieht wie bei dem optischen Meßprinzip. Ich weiß nicht woran das liegt.

**Schneider:** Es kommen ja mehr und mehr Geräte auf den Markt, die Verteilungskurven darstellen. Keiner der Anwender, also der Ärzte, weiß eigentlich mit der Verteilungskurve und den daraus abgeleiteten Parametern medizinisch etwas anzufangen. Aber ich glaube, gerade in diesem Problembereich ist eine sehr wichtige Anwendung dieser Kurven zu sehen. Wir haben das an einem in Entwicklung begriffenen Blut sehr schön beobachten können was Herr Kühne sagt, daß nämlich Leukozyten oder was es auch immer war, zerfielen und in irgendeiner Thrombo- oder Erythrozytenpopulation wiedergefunden wurden. Man könnte also die Dynamik dieses Zerfallsprozesses von Tag zu Tag verfolgen und hat hiermit eigentlich wunderbare Kriterien auf der Hand zu sagen, dieses Kontrollmaterial ist in Ordnung oder es hat irgendein Zersetzungsprozeß stattgefunden.

**Spaethe:** Das gilt selbst für das Blut, das Sie messen? Es hat doch fixierte Zellen.

**Schneider:** Ja, selbstverständlich.

**Kühne:** Darf ich dazu kurz etwas sagen? Wir geben in letzter Zeit für die Anwendung von Kontrollbluten an der obersten Grenze 50000 Thrombozyten an, oberhalb dieser Grenze sieht man schon die pathologischen Veränderungen der Erythrozyten.

**Spaethe:** Das habe ich nicht richtig verstanden. Also höher als 50000 Thrombozyten?

**Kühne:** Höher als 50000 Thrombozytenartefakte. Wir zählen ja Artefakte, und wenn die Zahl über 50000 ansteigt, dann sehen Sie pathologische Veränderungen der Erythrozytenkurve. Die Erythrozytenkurve wird deutlich schmäler. Deutlich sehen Sie auch doppelte und dreifache Partikel.

**Schneider:** Wie gehen diese 50000 in die Erythrozytenzählung ein? Die 50000 sind dann zerfallene Fragmente der Erythrozyten.

**Spaethe:** Diese 50000 zerfallenen Fragmente der Erythrozyten werden als Thrombozyten im Thrombokanal gezählt.

Dann müßten die Ergebnisse aber sehr viel schlechter ausfallen.

**Kühne:** Sie gehen ja nur an die dritte Stelle bei den Erythrozyten ein.

**Spaethe:** Aber in dem Kontrollblut mit den ganz hohen Thrombozytenzahlen sind ca. 7 Millionen Erythrozyten enthalten. Dort ist der Effekt am deutlichsten, aber eben auch nicht bei allen. Ich bin sehr davon überzeugt, daß es auch wesentlich an der Kalibrierung der Einzelgeräte liegt. Wir haben Ihre Geräte ebenfalls dabei. Ihre neuen Geräte haben alle richtig gemessen. Wir haben keine Ausreißer gefunden.

**Thom:** Wie alt waren die Blutproben bei Ihren Untersuchungen?

**Spaethe:** Sie sind etwa 14 Tage bis 3 Wochen nach der Produktion versandt worden, sind also ziemlich frisch.

**Thom:** Also die Zellen waren schon 14 Tage alt und der Versuch ging über wieviel Tage?

**Spaethe:** Er ging etwa 3 Tage.

**Thom:** Also war der Versuch praktisch in der 3. Woche abgeschlossen.

**Jakschik:** Könnten Sie noch einmal den letzten Satz Ihres Vortrages wiederholen?

**Spaethe:** Verschiedene Geräte weisen jedoch einen konstant über dem Mittelwert oder unter dem Mittelwert liegenden Trend auf. Dieser Trend wird durch die Mittelwertbildung verwischt.

Wir schlagen daher vor, auch in Zukunft Geräte- und Reagenzsysteme zunächst getrennt statistisch zu erfassen. Dies erleichtert die Fehlersuche und führt zur besseren Klarstellung der noch bestehenden Probleme.

**Thom:** Das ist richtig.

**Spaethe:** Zur Zeit gibt es nichts anderes und es ist ja auch heute diskutiert worden, daß niemand den wahren Wert kennt. Solange wir dann wirklich auf die demokratisch richtigen Werte angewiesen sind, ist es dem Zufall überlassen, welcher Mittelwert und Bereich angegeben wird. Je nachdem wieviel Reagenzsysteme oder wieviel Geräte-Reagenz-Systeme ich von der einen oder anderen Art in meinen Mittelwert hineinrechne, bekomme ich einen tieferen oder höheren Wert.

**Thom:** Die marktbeherrschende Firma diktiert damit den wahren Wert.

**Jakschik:** Man könnte natürlich die Frage stellen, ob es vielleicht bei dem TF-System möglich wäre, die Reagenzien bzw. das Verdünnungsmittel zu wechseln.

**Thom:** Das kann man sehr leicht testen, das haben wir ja mit den verschiedenen Reagenzien gemacht.

**Spaethe:** Aber es zeigte sich doch auch, daß die Diskriminatorkurven unterschiedlich waren. Mit demselben Material erreichen Sie unterschiedliche Diskriminatorkurven.

**Jakschik:** Ja, aber wir haben dann die Möglichkeit, da wir ja jederzeit die Volumenverteilungskurve haben, dann die Integrationsgrenze entsprechend zu setzen. Man kann auch Rückschlüsse ziehen auf das, was im Leerwert enthalten ist, wobei wir natürlich noch einmal über diesen Leerwert diskutieren müßten.

**Thom:** Aber bei den Routinegeräten haben wir diese Möglichkeit nicht.

**Jakschik:** Nur wäre man dann wiederum in der Lage zu sagen, daß dies der wahre Wert ist.