

## INSTAND-Mitteilungen

# Über die Zuverlässigkeit der Meßergebnisse im kleinen Blutbild

A. v. Klein-Wisenberg, Freiburg; R. Merten, Düsseldorf; H. Reinauer, Düsseldorf; K.-G. v. Boroviczény, Berlin

### Einleitung

Den Einfluß von Reagenzien und Materialien auf hämatologische Meßergebnisse und Probleme der Standardisierung mit Kalibriermaterial hat R. Thom in dieser Zeitschrift behandelt (13). Einige seiner Ausführungen sind zutreffend, anderen muß widersprochen werden. Die VDGH-Konferenz, über die er berichtet, ist bedauerlicherweise zu einem Termin abgehalten worden, den wir nicht wahrnehmen konnten, darum melden wir uns auf diesem Wege zur Diskussion.

INSTAND hat seit 1968 mit Analyten des kleinen Blutbildes mehr als 70 Ringversuche (Ringprüfungen) und zahlreiche Sonderringversuche (Ringstudien) veranstaltet. Ein großer Teil der Ergebnisse ist mit umfangreichem Zahlenmaterial veröffentlicht worden, um die Schlußfolgerungen überprüfbar zu machen und weitere ziehen zu können (10, pp.76-78; 11, pp.297-374). Die im Zusammenhang mit dem kleinen Blutbild benötigten DIN-Normen (2-4 und 6-9) sind auf Anregung von INSTAND erstellt worden.

Aufgabe der Ringversuche ist es, die Vergleichbarkeit und die Richtigkeit der Laborergebnisse zu verbessern, u.a. durch Aufdeckung der Methoden- und Gerätefehler (10, pp.178-203). Beim kleinen Blutbild sind die *wahren* Werte ebensowenig bekannt wie in der klinischen Chemie. Die *richtigen* Werte sind aber bei beiden gleich gut feststellbar. Die Zielwerte werden von fachkundigen, von der Bundesärztekammer ernannten Referenzlaboratorien methodenunabhängig nach den Regeln der Analytik und Statistik (5) ermittelt. Die Referenzlaboratorien sind gehalten, die Referenzwerte an zwei Arbeitsplätzen mit zwei kompatiblen Methoden zu ermitteln, von denen die eine manuell/visuell sein soll (10, pp.127-132). Die so ermittelten Zielwerte sind gute Schätzungen des wahren Wertes. Bei den INSTAND-Ringversuchen gibt es seit 1968 für die Hämoglobinkonzentration, für den Hämatokritwert und die Partikelkonzentrationen (Ery- und Leuko-Zahl) immer nur je einen Zielwert und die Bestehensquoten sind zufriedenstellend (10, pp.76-81). Unser Vorgehen wird gelegentlich angezweifelt. Seine Richtigkeit soll im folgenden belegt werden.

### Hämoglobinometrie

Die Hämoglobinometrie ist Anfang der 60er Jahre, als erste Labormethode international genormt worden. Es gibt eine WHO-Hämiglobincyanid-Standardlösung und Vorschriften zur Durchführung der Referenzmethode (1, 6). Thom hat zu Recht auf die Problematik des Streulichtfehlers hingewiesen, der die Ergebnisse verfälscht und

sich besonders stark bei Hyperleukozytosen ( $> 20/nl$ ) bemerkbar macht. Wir haben die Notwendigkeit der Vermeidung dieses Fehlers durch Abzentrifugieren von Trübsungen (1, pp.435-454), durch Messen bei zwei Wellenlängen (10, p.277) oder durch eine entsprechende Gestaltung der Geometrie der Photometeroptik (10, pp.278f., s. auch pp.26-37) stets betont.

INSTAND hat mehrfach darauf hingewiesen, daß zur Kalibrierung der Hämometer (bzw. der hierfür angewandten Photometer) die am WHO-Standard geprüften kommerziellen Cyanmethämoglobin Standardlösung-Sätze anzuwenden sind (10, p.38f.) während die Kontrollblute nur der Richtigkeitskontrolle dienen. Das von Ortho Diagnostika vertriebene und von INSTAND mit geräteunabhängigen Zielwertangaben versehene Kontrollblut ist kein „Kalibrier- und Kontrollblut“, wie Thom meint, sondern ein Kontrollblut, an dem sowohl die Richtigkeit der manuellen Analysetechniken wie auch der mechanisierten Blutbildgeräte geprüft werden kann. Selbstverständlich gelten die mit einer Referenzmethode ermittelten Zielwerte für alle mechanisierten Geräte und auch für die manuellen Methoden (10, pp.72f.).

Die von einigen Kontrollblutherstellern geübte Praxis, aus verkaufstaktischen Gründen voneinander signifikant abweichende gerätespezifische Zielwerte anzugeben, verunsichert den meßtechnisch weniger versierten Anwender und muß deshalb abgelehnt werden. Es ist die Aufgabe der Hersteller, richtig messende Geräte anzubieten. Es gibt auch mechanisierte Blutbildgeräte, deren Hämometer Streulichteffekte recht gut tolerieren. Es ist Aufgabe der Richtigkeitskontrollen und der Ringversuche, die gerätespezifischen, systematischen Meßabweichungen aufzuzeigen, und nicht, diese mittels gerätespezifischer Zielwerte zu verdecken (10, pp.281f.).

### Hämatokrit

Die Hämatokritbestimmung in Kapillaren nach DIN 12846, hochtourig zentrifugiert nach DIN 58934 (8), wird von Thom ebenso positiv beurteilt wie von INSTAND. Sie erfüllt alle Kriterien einer Referenzmethode (1, pp.454-463).

Auf die Schwächen des Errechnens des Zellpackungsvolumens aus der Zellzahl und dem Mittelwert des Signals der Erythrozyten im Zellzählgerät haben wir seit den 60er Jahren wiederholt hingewiesen. Nur nach jahrelangem Zögern haben wir aufgrund vielfacher Forderungen das „Zellpackungsvolumen elektronisch/optisch“ als Analysebestandteil in die Ringversuche aufgenommen und, nachdem ausreichend negative Erfahrungen vorgelegen haben, in Übereinstimmung mit einer Empfehlung der

Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie e.V. wieder aufgegeben. Die von Zellzählgeräten angezeigten Zellpackungsvolumina (errechneter Hämatokrit), MCV-Werte (Mittleres Zellvolumen) und MCHC-Werte (Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration oder Hb-Masse/Ery-Volumen) sind kommerziell geschickt vermarktete Nebenprodukte der Erythrozytenzählung. In diesem Zusammenhang muß darauf hingewiesen werden, daß das Erythrozytenvolumen u.a. vom pH-Wert und der Osmolalität abhängt. Dies bedeutet, daß die angewandte Verdünnungslösung das ursprüngliche (native) Zellvolumen (MCV), somit auch das errechnete Zellpackungsvolumen und den MCHC-Wert verändert.

Zur Feststellung einer Anämie oder einer Polyglobulie genügt meistens die Feststellung entweder des Hämatokritwertes, der Hämoglobinkonzentration oder der Erythrozytenzahl. Die zur Differentialdiagnostik benötigten Indexwerte (7) sollten immer sorgfältig mittels zentrifugierender Hämatokritbestimmung und Hämoglobinometrie nach den entsprechenden DIN-Normen (6, 8) ermittelt werden (1, pp. 462f.).

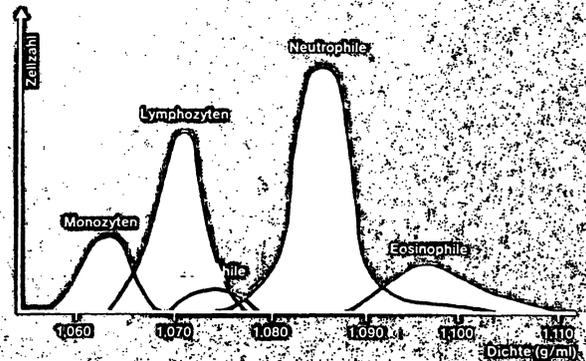
### Zellzahlbestimmung

INSTAND hat für die Zellzahlbestimmung eine Referenzmethode entwickelt (10, pp. 44-50) bei deren Durchführung es allerdings kaum überwindbare Schwierigkeiten gibt: die von uns entwickelte Spezialzählkammer ist teuer (> DM 1000), der Kammerdeckel muß jedesmal aufgesprengt werden, eine Technik, die schwer erlernbar ist und bei der das kleinste Staubkörnchen, geringste Ungeschicklichkeit (durch Ungeübtheit) die Kammer beschädigen und unbrauchbar machen. Serienweise benötigte 1000-Mark-Einweggeräte sind der Einführung einer Referenzmethode aber nicht dienlich! Die von Thom zu Recht geforderte zusätzliche Zählung in der Bürkerkammer haben wir von unseren Referenzlaboratorien immer gefordert (10, p. 71).

Thom kritisiert die Streulichtmethode zur Feststellung der Erythrozytenzahl. Er dürfte die absorptionsphotometrische Trübungsmeßmethode meinen. Für die Streulichtmethode sind besonders konstruierte Photometer notwendig; ein solches Gerät, das Erymat (Hellige), ist in den 60er und 70er Jahren verbreitet gewesen; es hat sich auch bei pathologischen Patientenproben bewährt (1, pp. 418-421). Da das Gerät keine Leukozytenzahlen und Plattchenzahlen bestimmen kann, ist die Nachfrage nicht ausreichend gewesen. Das Erymat wird nicht mehr hergestellt. Die Trübungsmessung, nach Verdünnung mit der Gowesschen Lösung, durchgeführt in einem beliebigen Absorptionsphotometer, ist leider weit verbreitet, obwohl bei pathologischen Patientenproben diese Methode abweichende Werte ergibt, die zu diagnostischen Fehlschlüssen führen können. Wir haben einige Jahre diese Ergebnisse in den Ringversuchen gesondert ausgewertet, später aber unter „sonstige Methoden“ subsummiert, da die gut vergleichbaren Ringversuchsergebnisse zu Werbezwecken mißbraucht worden sind (10, p. 76). Das Blut für die Ringversuchsproben kann nur von gesunden Spendern stammen; es enthält normale Erythrozyten, die nur durch verschiedene Verdünnung in unterschiedlichen Partikelkonzentrationen angeboten werden. Die Trübungsmeßmethode liefert nur mit normalen Erythrozyten richtige Ergebnisse!

Zur richtigen Benutzung elektronischer Zellzählgeräte sind profunde meßtechnische Kenntnisse notwendig.

# Optimale Isolierung von Blutzellen



### LYMPHOZYTEN

Dichte: 1,077 g/ml

### NEUTROPHILE

Dichte: 1,086 g/ml

### MONOZYTEN

Nycodenz® Monocytes Dichte: 1,068 g/ml

### BASOPHILE, EOSINOPHILE, NEUTROPHILE

Nycodenz®  
Metrizamide  
Metrizoate

**DR. MOLTER** GMBH

Karl-Landsteiner-Str. 1 · D-6903 Neckargemünd · ☎ (06223) 77-0

Hier gilt, wie auch in der klinischen Chemie, daß mit zunehmendem technischen Geräteaufwand auch die Anforderungen an die Bedienung und interne Wartung wachsen. Die Meinung, „Analysenautomaten“ würden „automatisch“ genaue Ergebnisse liefern, ist irrig. Deshalb muß der Laborleiter ein Laborfachmann sein, denn ein Internist kann heute nicht mehr nebenbei das Labor leiten. Die Klage der Hersteller, ihre Geräte würden oft falsch angewendet, muß leider bestätigt werden (10, pp.178–203).

Im Handel wird keine geeignete Kalibratorsuspension für elektronische Zellzählgeräte angeboten. Da ein geeigneter Nativ-Normalblut-Pool bestenfalls in Blutbanken verfügbar ist, hat sich bedauerlicherweise die Verwendung von Kontrollblut als Kalibrator eingebürgert. Es ist erfreulich, daß sich neuerdings die Physikalisch-Technische Bundesanstalt der Problematik der Zellzählung und der Kalibriermöglichkeiten angenommen hat, und dabei ist, Richtlinien für Zellzähl-Geräte-Ringversuche auszuarbeiten.

Thom nimmt an, INSTAND würde die Richtlinien der Bundesärztekammer verletzen, weil Patientenproben unähnliches Kontrollblut bei den Ringversuchen eingesetzt wird. Er schlägt vor, bei Ringversuchen native Erythrozytensuspensionen zu verwenden, da er innerhalb des Bundesgebietes einen maximalen Postweg von zwei Tagen annimmt. Dies ist leider eine Illusion. Wir haben die verschiedenen Zustelldienste der Bundespost, Air-Car-

go-Versand und auch private Paketdienste für die Probenverteilung versuchsweise in Anspruch genommen. Immer wieder haben wir Zustellverzögerungen bis zu einer Woche festgestellt. Zudem müssen dem Teilnehmer zur Analytik 5 Tage eingeräumt werden, da manche Praxislaboratorien nur an bestimmten Tagen arbeiten. Aus diesen Gründen sind wir gezwungen, im Ringversuch Kontrollblute einzusetzen, deren Erythrozyten stabilisiert und dadurch haltbar sind (12). Die Richtlinien schreiben mit gutem Grund vor, den Patientenproben „möglichst ähnliches“ Ringversuchsmaterial anzuwenden. Wir haben in aufwendigen Ringstudien ein für Ringversuche geeignetes Kontrollblut ermittelt und untersuchen auch weiterhin die im Handel erhältlichen Produkte.

Mangels eines anerkannten Kalibrators und einer, in mehreren Laboratorien praktizierbaren Referenzmethode gibt es bei der Zielwertermittlung Probleme, worauf Thom zu Recht hinweist. Wir haben ein Zielwertermittlungsmodell entwickelt, bei dem 8–12 Referenzlaboratorien mit jeweils zwei kompatiblen Methoden, verschiedenen Zellzählgeräten und Zählkammern, arbeiten und so einen Wert ermitteln, der eine gute Schätzung des wahren Wertes darstellt (10, pp.127f.). Die parallele Anwendung unterschiedlicher Meßmethoden ist einer der besten meßtechnischen Grundsätze (10, pp.361–397). Die Ringversuchsergebnisse bestätigen unser Vorgehen: die Mittelwerte des Referenzlaborkollektivs und des nach Zählmethoden (visuelle Kammerzählung, optisch und elektronisch arbeitende Zellzählgeräte) aufgeteilten Gesamtkollektivs ergeben eine gute Übereinstimmung (10, pp.76–81).

#### Schrifttum:

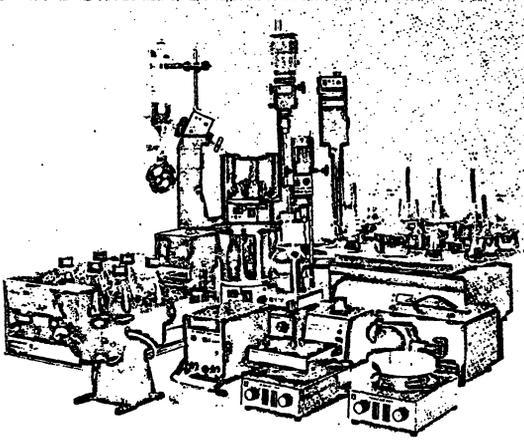
1. BOROVICZÉNY, K. G. v.: Erythrozytenmorphologische Untersuchungsmethoden. Hdbch. Inn. Med., V. Aufl., Band II/1, pp.411–513, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1968 [32 Seiten Bibliographie].
2. DIN 12750: Laborgeräte aus Glas. Blutmischpipetten für Blutkörperchenzählung (Febr. 1969).
3. DIN 12846: Laborgeräte aus Glas. Hämatokrit-Kapillaren (Nov. 1978).
4. DIN 12847: Laborgeräte aus Glas. Zählkammern. Teil 1: Allgemeine Anforderungen (März 1983). Teil 2: Zählnetze (E. Jan. 1985).
5. DIN 53804: Statistische Auswertungen. Teil 1: Meßbare (kontinuierliche) Merkmale (Sept. 1981). Beiblatt zu Teil 1: Beispiele aus der chemischen Analytik (in Arbeit). Teil 2: Zählbare (diskrete) Merkmale (März 1985). Teil 3: Rangmerkmale (Ordinalmerkmale) (Jan. 1982). Teil 4: Attributmerkmale (März 1985).
6. DIN 58932: Bestimmung der Hämoglobinkonzentration im Blut (Okt. 1982). Teil 1: Begriffe, Einheiten, Methode. Teil 2: Anforderungen an die Reagenzien für die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration nach der Cyanmethämoglobinmethode. Teil 3: Anforderungen an die Standardlösungen für die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration nach der Cyanmethämoglobinmethode. [Teil 4: Prüfung der Reaktionslösungen nach Standardlösungen für die Hämoglobinbestimmung nach der Hämglobin-cyanidmethode. E. Juni 1965; erschien nicht als Weißdruck.]
7. DIN 58932: Bestimmung der Partikelkonzentration der Blutkörperchen. Teil 1: Begriffe, Einheiten, Probenahme, Probenvorbereitung (Okt. 1982). Teil 2: Kennzeichnende Größen und Eigenschaften für Erythrozyten (Erythrozytenindices) (Febr. 1984).
8. DIN 58933: Bestimmung des Zellpackungsvolumens im Blut. Teil 1: Begriffe, Einheiten, Methode (Okt. 1982).
9. DIN 58934: Kontrollmaterialien für das Blutbild. Teil 1: Kontrollblute (E. Aug. 1984). Teil 2 (in Vorbereitung): Beipackzettel mit Wertetabelle für Kontrollblute.
10. MERTEN, R. (Hrsg.): Zielwert, Sollwert, Zielbereiche in der Laboratoriumsmedizin. INSTAND-Schriftenreihe, Bd.3, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1984 [77 Seiten Bibliographie].
11. MERTEN, R., BOROVICZÉNY, K. G. v., HÄCKEL, R. (Hrsg.): Methoden-, Reagenzien- und Geräte-Evaluation in der Laboratoriumsmedizin. INSTAND-Schriftenreihe, Bd.4, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1985 [106 Seiten Bibliographie].
12. SIPPACH, E.: Qualitätskontrolle in der Hämatologie heute. Laboratoriumsblätter 33, 63–68 (1983).
13. THOM, R.: Einfluß von Reagenzien und Materialien auf hämatologische Meßergebnisse und Probleme der Standardisierung mit Kalibriermaterial. Lab.med. 9, 98–108 (1985).

#### Sonderdrucke bei

Dr. K.-G. von Boroviczeny  
Zentrallabor-Nord  
Krankenhaus Spandau  
Lynarstraße 12  
1000 Berlin 20

## ORIGINAL IKA®

**Spitzenqualität aus dem Schwarzwald**



**75 Jahre IKA® Labortechnik für:**  
**Universitäten · Forschung · Industrie**

Rühren · Dispergieren · Schütteln · Mahlen · Kneten  
Heizen · Temperieren · Pumpen · Analysieren  
Destillieren · Messen, Steuern und Regeln.

**Fordern Sie bitte kostenlos Gesamtkatalog an**

**JANKE & KUNDEL GMBH & CO. KG - IKA-WERK STAUFEN**  
D-7813 Staufen · Tel. 0 76 33 / 831-0 · Telex 763317 = IKA

Wir stellen aus auf der ANALYTICA '86 in München  
in Halle 2, Stand-Nr. B12/C9.

## Nachrichten

### DIN 55350 Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik

- Teil 10ff *Begriffe der Qualitätssicherung*
- 11 Grundbegriffe der Qualitätssicherung (Entwurf, März 1986)
  - 12 Merkmalsbezogene Begriffe (Entwurf, April 1986)
  - 13 Begriffe der Genauigkeit von Ermittlungsergebnissen (Entwurf, März 1986)
  - 14 Begriffe der Probennahme (Entwurf, Mai 1982)
  - 15 Begriffe zu Mustern (Entwurf, August 1982)
  - 16 Begriffe zu Qualitätssicherungssystemen (Entwurf, Juni 1983)
  - 17 Begriffe der Qualitätsprüfungsarten (Entwurf, Februar 1984)
  - 18 Begriffe zu Zertifikaten über die Ergebnisse von Qualitätsprüfungen (Qualitätsprüfzertifikaten) (Entwurf, März 1986)
- 20ff *Begriffe der Statistik*
- 21 Zufallsgrößen und Wahrscheinlichkeitsverteilungen (Norm, Mai 1982)
  - 22 Spezielle Wahrscheinlichkeitsverteilungen (Norm, Mai 1982)
  - 23 Beschreibende Statistik (Norm, April 1983)
  - 24 Schließende Statistik (Norm, November 1982)
  - 31 Begriffe der Annahmestichprobenprüfung (Norm, Dezember 1985)
  - 32 Begriffe der Versuchsplanung (in Arbeit)

### DIN 53804 Statistische Auswertungen

- Teil 1 Meßbare (kontinuierliche) Merkmale (Norm, September 1981)
- 2 Zählbare (diskrete) Merkmale (Norm, März 1985)
  - 3 Ordinalmerkmale (Norm, Januar 1982)
  - 4 Attributmerkmale (Norm, März 1985)

### Sarstedt-Forschungspreis 1986

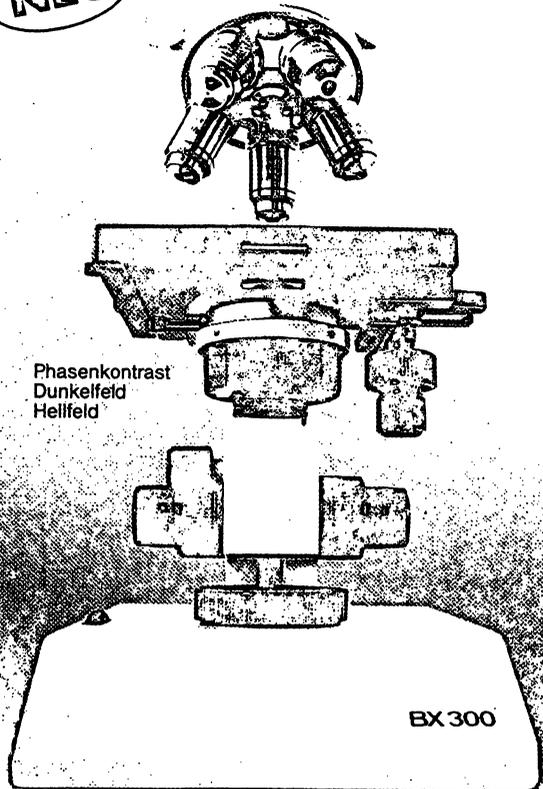
Die Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie verleiht alle zwei Jahre, zum ersten Mal 1986 anlässlich des 25jährigen Jubiläums der Firma Sarstedt, den Sarstedt-Forschungspreis.

Dieser Preis ist mit DM 50000,- dotiert und wird von Sarstedt, Nümbrecht, für bedeutende Arbeiten auf dem Gebiet der Klinischen Chemie, Hämatologie, Hämostaseologie und instrumentellen Analytik vergeben, die der Entwicklung diagnostischer Methoden auf dem Gebiet der Krankheitsfrüherkennung dienen. Für die Bewerbung um den Preis 1986 können Arbeiten über eine Thematik, die vom 1.1.1983-1.6.1986 publiziert oder zur Publikation angenommen sein müssen (bei mehreren Autoren bitte Bewerber angeben), bis spätestens 30.6.1986 eingereicht werden an:

Prof. Dr. H. Greiling, Sekretär für den „Sarstedt-Forschungspreis“, Lehrstuhl und Abteilung für Klinische Chemie und Pathobiochemie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, Pauwelsstraße, D-5100 Aachen.

# Phasenkontrast- Mikroskop für die problemlose Schnelldiagnose

NEU



## Wilozyt Präzision made in Germany



im Hellfeld , im Dunkelfeld im Phasenkontrast  
Dieses Phasenkontrast-Mikroskop ist eine praxiserichtete  
Geräteeinheit, die betriebsfertig für die Phasenkontrast-  
Mikroskopie und das Arbeiten im Dunkelfeld eingestellt ist.  
Wilo-Mikroskope bieten mehr als einen guten Namen.  
Ausführliches Informationsmaterial senden  
wir Ihnen gerne zu.



WILL WETZLAR GMBH - Optische Werke  
Wilhelm-Will-Straße 7 - Postfach 21 01/61  
6330 Wetzlar 21 Nauborn  
Telefon 0 64 41/20 01-0

Anfragen und Prospektanforderungen richten Sie bitte an Abt. 20.  
Wir stellen aus: ANALYTIKA '86, Halle 12, Stand C 5.