

# Mechanisierte Zählung und Differenzierung von Liquorzellen\*\*

## Mechanized Counting and Differentiation of Cerebrospinal Fluid Cells

T. O. Kleine

Med. Zentrum für Nervenheilkunde (Funktionsbereich Neurochemie) der Universität Marburg

\*\* Herrn Prof. Dr. R. Merten gewidmet

### Zusammenfassung:

In drei mechanisierten Systemen (Coulter ZBI [A], Sysmex F-300 [B], Sysmex F-800 [C]) und einem automatisierten System (Cell-Dyn 1600 [D]) wurde die Zellzählung an Liquor cerebrospinalis adaptiert durch Vergrößerung des Probenvolumens und Reduzierung des Ansatzes auf das gerätemögliche Minimum; sie wurde mit der Zellzählung von 0,1 ml Probe in der geeichten Fuchs-Rosenthal-Zählkammer nach Vitalfärbung verglichen. Trotz Vermehrung der Zählausbeute um das 2- bis 4fache in den vier maschinellen Systemen wurden die Leukozyten im Bereich von 0-5/ $\mu$ l mit hoher Impräzision (56-291% VK) und höheren Nachweissgrenzen (11-24 Zellen/ $\mu$ l) gezählt als in der Zählkammer (intraserielle VK 38%). Vergrößerung des Probenvolumens bis auf 0,3 ml verminderte Impräzision und Nachweissgrenzen am effektivsten im System D (41% VK). Erythrozyten im Bereich von 0-50/ $\mu$ l wurden im System B und C am empfindlichsten gezählt. Dabei lag der intraserielle VK zwischen 14 und 29% wie in der Zählkammer. Zellreiche Proben wurden in den maschinellen Systemen mit gleicher oder besserer Präzision gezählt als in der Zählkammer. Bei Methodenvergleichen mit der Zählkammer wurde eine gute Übereinstimmung der Leukozytenzählung mit dem System D für Liquorproben erzielt; bei der Erythrozytenzählung im System B und C war die Ausbeute im Liquor etwas höher, im System D niedriger.

Die Leukozytendifferenzierung in eine Lymphozyten- und eine Granulozyten-Monozyten-Fraktion wurde in Liquorproben und verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut im System C und D durchgeführt und mit der Zytozentrifugenmethode verglichen. Die relative Bestimmung von mehr kleinen bzw. weniger großen Leukozyten in beiden Systemen weist auf einen methodischen Fehler hin.

### Schlüsselwörter:

Mechanisierte Zählung – Leukozyten – Erythrozyten – Liquor cerebrospinalis – Zählkammer – Mechanisierte Differenzierung

### Summary:

Counting of cerebrospinal fluid cells was adapted to three mechanized systems (Coulter ZBI [A], Sysmex F-300 [B], Sysmex F-800 [C]), and to one automated system (Cell-Dyn 1600 [D]) by increasing sample volume and reduction of reagents to the system possible minimum; it was compared to cell countings in a standardized Fuchs-Rosenthal chamber applying 0.1 ml sample. Under these conditions leucocytes, ranging from 0 to 5 per  $\mu$ l, were counted with high imprecision (CV 56-291%) and with a greater detection limit (11 to 24 cells/ $\mu$ l) than in the counting chamber (CV 38% intraserial) when compared to the four mechanic systems adapted to increased counting yields (by a factor of 2 to 4). Increasing of the sample volume up to 0.3 ml diminished imprecision and detection limit most effectively in system D (CV 41%). Erythrocyte counting, ranging from 0 to 50/ $\mu$ l, was most sensitive in systems B and C showing an intraserial CV between 14 and 29% as in the counting chamber. Pleiocytotic samples were counted by the mechanic systems with similar or better precision than with the counting chamber. Comparing with the counting chamber a good conformity of leucocyte countings with system D was observed in CSF samples; the erythrocyte counting showed slightly higher yields in CSF samples with systems B and C; with system D it was somewhat lower. Differentiation of leucocytes in CSF and diluted leucocyte samples, isolated from blood, into a lymphocyte fraction and a granulocyte-monozyte fraction was done with the cytocentrifuge technique (using Pappenheim staining) and compared to the differentiation of systems C and D. Displaying relatively more small

leucocytes, respectively more large leucocytes in both systems indicates a methodical failure.

### Keywords:

Mechanized counting – leucocytes – erythrocytes – cerebrospinal fluid – counting chamber – mechanized differentiation

### Einleitung

Die Zellzählung im Liquor cerebrospinalis ist eine der Hauptuntersuchungen in der täglichen Liquordiagnostik. Seit ihrer Einführung durch Fuchs und Rosenthal 1904 werden in ihrer Zählkammer hauptsächlich Leukozyten in der Liquorprobe gezählt, die Erythrozytenzählung wurde in ungerechtfertigter Weise vernachlässigt. Scheid hat bereits 1939 die Kammerzählung auf Reproduzierbarkeit in Liquorproben getestet und in Serienuntersuchungen für einen Bereich von 0 bis  $\frac{2}{3}$  Leukozyten einen mittleren Fehler von  $\pm \frac{2}{3}$  Zellen ermittelt und in einem Bereich von  $\frac{2}{3}$  bis  $\frac{10}{3}$  Zellen einen Fehler von  $\pm \frac{4}{3}$  bis  $\frac{5}{3}$  (1); das entspricht einer intraseriellen Impräzision mit einem Variationskoeffizient (VK) von 200% bzw. 60-80%!

Nach der Einführung elektronischer Zellzählgeräte für Blutzellen war es naheliegend, diese Techniken an die geringe Zellzahl in Liquorproben zu adaptieren, um ihre hohe Präzision und Richtigkeit zu nutzen und die Vorteile der Automatisierung und Rationalisierung in die Liquorzelldiagnostik einzuführen. Leider liegt hierzu trotz ermutigender Anfänge (2-4) nur wenig Literatur vor, was nicht zuletzt darauf zurückzuführen ist, daß sich nicht jedes im Handel befindliche Blutzellzählgerät für die Liquorzelldiagnostik eignet. Um die im Vergleich zu Blutproben wenigen Zellen der Liquorprobe zu erfassen und mit ausreichender Genauigkeit zu zählen, muß das Probenvolumen vergrößert und die Zählzeit verlängert werden. Das Probenvolumen läßt sich nur in offenen mechanisierten Zählgeräten erhöhen bzw. in solchen automatisierten Geräten mit der Möglichkeit einer externen manuellen Probenzufuhr. Dagegen ist die Zählzeit bei beiden Gerätetypen fest eingestellt und damit nicht variierbar. Außerdem sollen die niedrigen Zählergebnisse unter Berücksichtigung eines Probenleerwertes abrufbar sein.

Mit diesen Vorgaben wurden hier drei offene mechanisierte Systeme und ein automatisiertes System ausgewählt und mit Liquorproben sowie verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut mit der Fragestellung getestet, ob diese Systeme zur Zählung von 0-5 Leukozyten/ $\mu$ l (dem Referenzbereich im Lumballiquor [5]) ausreichend empfindlich und genau sind; als Referenzmethode der Zählung von Leukozyten und Erythrozyten diente die Zählkammermethode mit der geeichten Fuchs-Rosenthal-Kammer. Des weiteren soll geprüft werden, ob die Leukozytendifferenzierung in zwei dieser Systeme für Liquorproben ausreichend empfindlich und richtig ist.

### Material und Methodik

#### Gewinnung und Zellanalyse von Liquor cerebrospinalis

Liquorproben wurden lumbal, subokzipital oder mittels Ventrikeldrainage für Routineuntersuchungen gewonnen und innerhalb von 2 h analysiert (s. u.).

#### Zählkammermethode

Leukozyten und Erythrozyten wurden nach Vitalfärbung mit Toluidinblau (2 g in 100 ml wäßriger NaCO<sub>3</sub>-Lösung [25 g/l]) in der

geeichten Fuchs-Rosenthal-Zählkammer gezählt (0,10 ml durchmischter Liquor plus 0,02 ml Farbregenzer) (6). Das Zählergebnis wurde durch den in Tabelle 1 angegebenen Faktor geteilt und in Zellen pro  $\mu\text{l}$  angegeben.

#### Zytozentrifugenmethode

Die Differenzierung von 100 Leukozyten erfolgte im Zytozentrifugenpräparat (Cytospin I von Shandon Labortechnik, Frankfurt/M) nach Lufttrocknung und Anfärbung nach Pappenheim (vgl. 6): Es wurde in eine lymphozytäre Fraktion und eine granulozytäre-monozytäre Fraktion differenziert.

#### *Gewinnung und Zellanalyse von Leukozytenfraktionen aus Vollblut*

Von EDTA-Blut gesunder Personen wurden je 2 ml mit 2 ml modifizierter Hanks' Balanced Salt Solution (Sigma H1387) vermischt und mit 3 ml Ficoll-Paque™ (Pharmacia Uppsala, Schweden) in zwei Leukozytenfraktionen bei 500  $\times g$  aufgetrennt: Eine Lymphozyten-Monozyten-Fraktion und eine Granulozyten-Fraktion mit Erythrozyten. Beide Leukozytenfraktionen wurden mit Isotone (Coulter Electronics, Krefeld) und 1,0 oder 0,5 g/l Human-Albumin (Behringwerke Marburg) im Verhältnis 1 + 1 fortlaufend verdünnt und bei 1° C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Die Leukozyten- und Erythrozytenzählung bzw. die Differenzierung von 300 Leukozyten erfolgte mit der Zählkammermethode bzw. der Zytozentrifugenmethode wie für Liquorzellen beschrieben.

#### *Maschinelle Zählung von Leukozyten und Erythrozyten*

##### Leerwert

Zur maschinellen Zählung von Leukozyten oder Erythrozyten wurde folgende Leerwertlösung bei allen Geräten verwendet: Isotone mit 1,0 oder 0,5 g/l Humanalbumin (s. o.); diese wurde als Probe im jeweiligen Ansatz eingesetzt. Das Zählergebnis wurde durch die in Tabelle 1 angegebenen geräteabhängigen

Faktoren geteilt. Das in Zellen/ $\mu\text{l}$  angegebene Ergebnis (Leerwert) sollte unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenze (Tab. 1) liegen. Damit konnte eine Probenverschleppung bzw. Verschmutzung im Gerät ausgeschlossen werden.

**Coulter Counter ZBI** mit Koinzidenzkorrektur und 100  $\mu\text{m}$  Durchmesser der Zählpipette (Coulter Electronics, Dunstable Beds, England).

Der Originalansatz (0,04 ml Probe plus 20,0 ml Isotone) wurde wie folgt modifiziert:

##### *Erythrozytenzählung mit unterer Schwelle bei 7 Einheiten:*

Anzeigeanfang: 1000 Zellen pro  $\mu\text{l}$ .

Ansatz: 0,100 ml Probe plus 10,0 ml Isotone; davon wurden je 2 mal 0,500 ml analysiert (Doppelwert).

##### *Leukozytenzählung mit unterer Schwelle bei 12 Einheiten:*

Anzeigeanfang: 1 Zelle pro  $\mu\text{l}$ .

Ansatz wie bei Erythrozytenzählung, jedoch mit Zugabe von 4 Tropfen Sangoquant (E. Merck, Darmstadt) zur Erythrozytenlysierung.

Beide Ansätze wurden unmittelbar vor der Zählung angesetzt und gemischt. Das Zählergebnis wurde durch den entsprechenden Faktor in Tabelle 1 geteilt und der Leerwert abgezogen. Ergebnis: Zellen/ $\mu\text{l}$ . Technische Einzelheiten siehe bei (7).

**Sysmex F-300** mit 100  $\mu\text{m}$  Durchmesser der Zählpipetten (Digtana AG, Frankfurt/M.) und abgeschaltetem Hämoglobin-Modul

Die Originalansätze (0,10 ml bzw. 0,02 ml Probe plus 9,94 ml Cellpack) wurden wie folgt modifiziert:

##### *Erythrozytenzählung:*

Anzeigeanfang: 10000 Zellen pro  $\mu\text{l}$ .

Ansatz A: 0,100 ml Probe plus 4,0 ml Cellpack;

Ansatz B: 0,200 ml Probe plus 4,0 ml Cellpack;

Ansatz C: 0,300 ml Probe plus 4,0 ml Cellpack;

Ansatz D: 0,300 ml Probe plus 3,5 ml Cellpack.

Pro Ansatz wurden zwei Zählungen vorgenommen.

Tab. 1: Leerwerte, Nachweisgrenzen und Vergrößerungsfaktoren bei der Zählung von Leukozyten und Erythrozyten in verschiedenen Ansätzen in zwei mechanisierten und einem automatisierten System im Vergleich zur Zählkammermethode

System	Leerwert $x \pm S. D.$		Nachweisgrenze 3 S. D. des Leerwertes		Vergrößerungsfaktor	
	Leukozyten pro $\mu\text{l}$	Erythrozyten pro $\mu\text{l}$	Leukozyten pro $\mu\text{l}$	Erythrozyten pro $\mu\text{l}$	Leukozyten	Erythrozyten
Zählkammer 100 $\mu\text{l}$ Probe	0	0	0	0	2,7	2,7
Coulter ZBI 100 $\mu\text{l}$ Probe	9,5 $\pm$ 4,8	17,0 $\pm$ 4,2	24	34	5	495
Sysmex F-300 Ansatz A mit 100 $\mu\text{l}$ Probe	10,3 $\pm$ 4,5	13,3 $\pm$ 6,4	24	33	12,1	1220
Sysmex F-300 Ansatz B mit 200 $\mu\text{l}$ Probe	3,9 $\pm$ 3,7	4,8 $\pm$ 3,4	15	15	23,7	2380
Sysmex F-300 Ansatz C mit 300 $\mu\text{l}$ Probe	3,3 $\pm$ 1,5	3,7 $\pm$ 1,7	8	9	34,8	3490
Sysmex F-300 Ansatz D mit 300 $\mu\text{l}$ Probe	2,9 $\pm$ 1,9	2,7 $\pm$ 2,0	9	9	39,3	3950
Cell-Dyn 1600 Ansatz A mit 100 $\mu\text{l}$ Probe	82 $\pm$ 17*	3,7 $\pm$ 1,9*	11	99	7	0,07
Cell-Dyn 1600 Ansatz B mit 200 $\mu\text{l}$ Probe	81 $\pm$ 14*	4,1 $\pm$ 1,7*	7	70	14	0,15
Cell-Dyn 1600 Ansatz C mit 300 $\mu\text{l}$ Probe	86 $\pm$ 13*	4,4 $\pm$ 1,9*	3	42	21	0,22

\* Raw counts

### Leukozytenzählung:

Anzeigebeginn: 100 Zellen pro  $\mu$ l.

Ansätze wie bei Erythrozytenzählung, jedoch mit Zugabe von 0,04 ml Quicklyser I (Reagenzien von Digitana) zur Erythrozytenlysierung. Pro Ansatz wurden zwei Zählungen vorgenommen. Alle Ansätze wurden unmittelbar vor der Zählung hergestellt und gemischt. Das Zählergebnis wurde durch den entsprechenden Faktor aus Tabelle 1 geteilt und der Leerwert abgezogen. Ergebnis: Zellen/ $\mu$ l.

**Sysmex F-800** mit automatischer Schwellensetzung und Leukozyten-Differenzierung (Digitana AG, Frankfurt/M.) und abgeschaltetem Hämoglobin-Modul

Erythrozytenzählung (untere Schwelle bei 50 fl, obere bei 250 fl) und Leukozytenzählung (untere Schwelle bei 50 fl, obere bei 300 fl) erfolgten in den selben Ansätzen in Doppelbestimmungen wie für Sysmex F-300 beschrieben, nur wurden 0,066 ml eines anderen Lysereagenzes zur Leukozytendifferenzierung verwendet. Hierdurch änderten sich die in Tabelle 1 für den F-300 aufgezeigten Faktoren nur wenig. Technische Einzelheiten siehe bei (8).

**Cell-Dyn 1600** mit der Veterinary Software (Sequoia Turner Corp., Mountain View CA, USA; Unipath, Wesel)

Erythrozytenzählung (untere Schwelle 24 fl, obere offen) und Leukozytenzählung (untere Schwelle 35 fl, obere > 345 fl) erfolgte aus dem selben Ansatz.

Anzeigeanfang: 10 000 Zellen bzw. 100 Zellen pro  $\mu$ l.

Der Original-Ansatz (0,03 ml Probe plus 7,5 ml Diluent) wurde wie folgt modifiziert:

Ansatz A: 0,100 ml Probe plus 5,0 ml Diluent;

Ansatz B: 0,200 ml Probe plus 5,0 ml Diluent;

Ansatz C: 0,300 ml Probe plus 5,0 ml Diluent.

Die Ansätze wurden unmittelbar vor der Zählung pipettiert, durchmischt und in das Leukozytengefäß im System überführt. Die Analyse erfolgte mit dem Predilution Modul und 0,70 ml Lyse-Reagenz zur Erythrozytenlysierung und dem Diff-Screen Programm zur Leukozytendifferenzierung (Reagenzien von Unipath). Technische Einzelheiten siehe bei (9).

### Eichung des Cell-Dyn 1600

Die ausgedruckten Raw Counts (y) der Erythrozyten- oder Leukozytenzählung wurden in Beziehung zur Leukozyten- bzw. Erythrozytenzählung in der Zählkammermethode (x) gesetzt und Eichkurven mit verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut erstellt (Abb. 1), die für die Leukozytenzählung im unteren Bereich nicht linear verliefen (Abb. 1A). Deshalb wurden 5-Punkt-Eichkurven mit Leerwertberücksichtigung mit Hilfe eines CP 5000 Clinical Processors (Parabel-Logit-Log-Programm; Syva, Darmstadt) erstellt, der Zellen pro  $\mu$ l errechnete. Erythrozyten/ $\mu$ l wurden wie oben berechnet oder mit einem gemittelten Faktor aus Tabelle 1 und Abbildung 1B aus den Raw Counts; der Leerwert wurde abgezogen.

### Maschinelle Differenzierung von Leukozyten

Eine maschinelle Differenzierung wurde in zwei Systemen durchgeführt:

Im **Sysmex F-800** (Digitana, Frankfurt/M.) wurden in den Leukozytenansätzen A-D „small cells“ (untere Schwelle bei 50 fl, obere zwischen 100 und 150 fl) von „large cells“ (untere Schwelle zwischen 100 und 150 fl, obere bei 300 fl) differenziert. Nach (8) enthält die Fraktion der kleinen Leukozyten überwiegend Lymphozyten, die Fraktion der großen Leukozyten überwiegend Granulozyten und Monozyten.

Im **Cell-Dyn 1600** (Unipath, Wesel) wurden in den Ansätzen A-C drei Leukozyten-Fraktionen differenziert: Nach (9) enthält die er-

Tab. 2: Variationskoeffizient (VK) der intraseriellen Impräzision der Leukozyten- und Erythrozytenzählung in verschiedenen Konzentrationsbereichen und Ansätzen von 3 mechanisierten und einem automatisierten System im Vergleich zur Zählkammermethode

System	Proben-volumen	Leukozytenzählung			Erythrozytenzählung		
		Bereich* Leukozyten/ $\mu$ l	n	VK	Bereich* Erythrozyten/ $\mu$ l	n	VK
Zählkammer	0,100 ml	0-5	96	37,6%			
Zählkammer	0,100 ml	6-50	60	16,7%	0-50	93	29,0%
Zählkammer	0,100 ml	51-500	64	8,1%	51-500	41	8,9%
Coulter ZBI	0,100 ml	0-5	23	56,4%			
Coulter ZBI	0,100 ml	6-50	21	10,3%	0-50	14	20,8%
Coulter ZBI	0,100 ml	51-500	23	6,5%	51-500	12	2,4%
Sysmex F 300/ F 800	0,100 ml	0-5	42	290,5%			
Ansatz A	0,100 ml	6-50	47	26,4%	0-50	23	29,0%
Ansatz A	0,100 ml	51-500	57	3,6%	51-500	42	4,7%
Sysmex F 300/ F 800	0,200 ml	0-5	39	298,5%			
Ansatz B	0,200 ml	6-50	49	27,8%	0-50	45	27,6%
Ansatz B	0,200 ml	51-500	42	2,6%	51-500	27	2,7%
Sysmex F 300/ F 800	0,300 ml	0-5	40	115,9%			
Ansatz C	0,300 ml	6-50	56	12,1%	0-50	34	14,1%
Ansatz C	0,300 ml	51-500	43	2,7%	51-500	24	4,7%
Sysmex F 300/ F 800	0,300 ml	0-5	43	106,6%			
Ansatz D	0,300 ml	6-50	30	11,2%	0-50	37	15,0%
Ansatz D	0,300 ml	51-500	29	4,4%	51-500	21	2,3%
Cell-Dyn 1600	0,100 ml	0-5	31	96,0%			
Ansatz A	0,100 ml	6-50	30	26,0%	0-50	22	94,2%
Ansatz A	0,100 ml	51-500	18	13,8%	51-500	17	36,8%
Cell-Dyn 1600	0,200 ml	0-5	20	95,3%			
Ansatz B	0,200 ml	6-50	10	12,1%	0-50	11	74,8%
Ansatz B	0,200 ml	51-500	11	7,0%	51-500	15	9,1%
Cell-Dyn 1600	0,300 ml	0-5	13	41,4%			
Ansatz C	0,300 ml	6-50	10	6,3%	0-50	9	51,2%
Ansatz C	0,300 ml	51-500	11	4,8%	51-500	11	9,9%

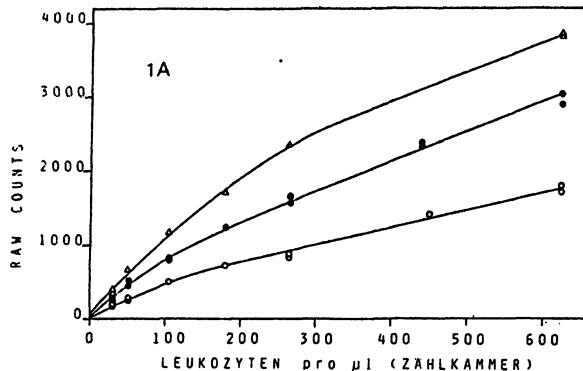


Abb. 1A: Ansatz A (○); Ansatz B (●); Ansatz C (△)

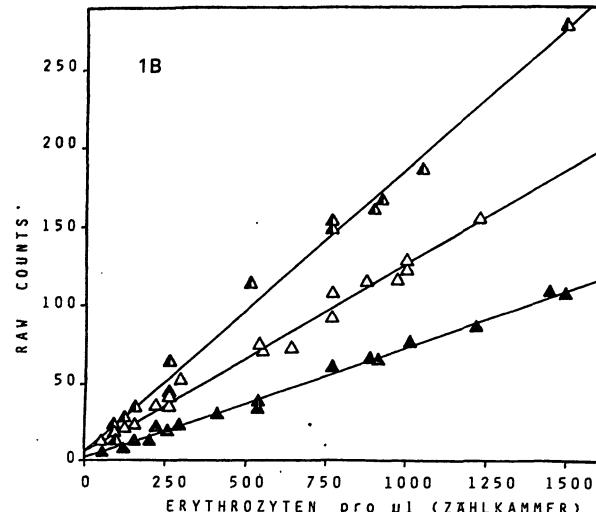


Abb. 1B: Für die Erythrozytenzählung wurden folgende lineare Gleichungen  $y = a + bx$  errechnet: Ansatz A (▲):  $y = 2,5 + 0,07x$ ,  $r = 0,99$ ; Ansatz B (△):  $y = 6,6 + 0,12x$ ,  $r = 0,99$ ; Ansatz C (▲):  $y = 8,4 + 0,18x$ ,  $r = 0,98$ . Weitere Einzelheiten siehe Text.

Abb. 1A/B: Eichkurve zur Zählung von Leukozyten (Abb. 1A) und Erythrozyten (Abb. 1B) im Cell-Dyn 1600. Abszisse (x): Kammerzählungen, Ordinate (y): Raw Counts ohne Abzug des Leerwertes.

ste zwischen 35–98 fl Lymphozyten, die zweite zwischen 98–135 fl u. a. Monozyten, eosinophile und basophile Granulozyten und die dritte Granulozyten mit > 135 fl. Um die Differenzierungsergebnisse beider Systeme vergleichen zu können, werden hier die Ergebnisse der zweiten und dritten Leukozytenfraktion zur Fraktion der großen Leukozyten zusammengefaßt und der Fraktion der kleinen Leukozyten gegenübergestellt.

#### Statistische Berechnungen

Die Nachweisgrenze wurde nach (10) mit 3 Standardabweichungen des Mittelwertes vom Leerwert berechnet, der interseriell ermittelt worden war; der Variationskoeffizient (VK) der intraseriellen Impräzision wurde nach (10) bestimmt.

Der Vergleich zweier Methoden  $x$  und  $y$  wurde mit der Gleichung  $y = b + ax$  nach (11) berechnet; danach waren die Methoden  $x$  und  $y$  identisch, wenn  $b = 0$  und  $a = 1$  waren und der Cusumtest keine signifikante Abweichung von der Linearität aufwies (11).

#### Ergebnisse

##### Methodenvergleich der Zellzählung zwischen Coulter ZBI und Zählkammermethode

Der Methodenvergleich wurde mit Verdünnungen von Leukozytenfraktionen aus Human-Blut vorgenommen und zeigte eine lineare Beziehung zwischen den Ergebnissen der Zählkammermethode ( $x$ ) und von Coulter ZBI ( $y$ ) in einem Bereich von 0 bis 1000 Leukozyten/ $\mu$ l und 0 bis 28 000 Erythrozyten/ $\mu$ l (Tab. 3), jedoch war die Nachweisgrenze im Coulter ZBI höher als bei der Zählkammermethode (Tab. 1). Dies spiegelte sich auch in einer höheren intraseriellen Impräzision bei der Coulter-Zählung im Bereich von 0 bis 5 Leukozyten/ $\mu$ l wider, bei größeren Zellzahlen zählte der ZBI dagegen genauer (Tab. 2).

##### Methodenvergleich der Zellzählung zwischen Sysmex F-300/F-800 und der Zählkammermethode

Mit Verdünnungen von Leukozytenfraktionen aus Vollblut ergab der Methodenvergleich für die Ansätze A–D eine lineare Beziehung zwischen den Ergebnissen der Zählkammermethode ( $x$ ) und denjenigen von Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) in Bereichen von 0 bis 1980 Leukozyten/ $\mu$ l, jedoch mit geringen, aber signifikanten Abweichungen von bis zu  $\pm 5\%$  (Tab. 3, Abb. 2A, B). Für Liquorproben wurde diese Abweichung nur im Ansatz D beobachtet (+ 15%, Tab. 3, Abb. 2C). Dies kann mit einer 3- bis 8mal höheren intraseriellen Impräzision der Zählungen im Sysmex F-300/F-800 im Vergleich zur Zählkammermethode in einem Bereich von 0–5 Leukozyten pro  $\mu$ l erklärt werden. In den Ansätzen C–D mit größeren Probenvolumina und damit niedrigeren Nachweisgren-

zen (Tab. 1) wurde der intraserielle VK kleiner und lag teilweise für die Bereiche 6–50 bzw. 51 bis 500 Leukozyten/ $\mu$ l unterhalb des VK der Zählkammermethode (Tab. 2).

Bei Erythrozytenzählungen in verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut wurde im Sysmex F-300/F-800 nach Abzug der Leukozytenzahlen bis zu 12% weniger ermittelt als bei der Zählkammermethode, in Liquorproben dagegen bis zu 39% mehr in größeren Probenvolumina (Ansatz B, D; Tab. 3). Beides kann auf methodische Fehler bei der Erythrozytenerfassung zurückgeführt werden und nicht auf zu hohe Impräzision (Tab. 2). Trotzdem zeigte der Methodenvergleich nach (11) eine lineare Beziehung zwischen beiden Methoden in Bereichen von 0 bis 6000 Erythrozyten/ $\mu$ l an (Abb. 2 D–E, Tab. 3).

##### Methodenvergleich der Zellzählung zwischen Cell-Dyn 1600 und der Zählkammermethode

Für Leukozytenzählungen wurde eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Zählkammermethode ( $x$ ) und von Cell-Dyn 1600 für Liquorproben und verdünnte Leukozytenfraktionen aus Vollblut in den Bereichen von 0 bis 580 Leukozyten/ $\mu$ l gefunden (einzige Ausnahme Ansatz A in Tab. 4; vgl. Abb. 3A). Mit 300  $\mu$ l Probenvolumen (Ansatz C) war der VK der intraseriellen Impräzision gleich oder kleiner als bei der Zählkammermethode (Tab. 2) und die Nachweisgrenze lag im Bereich des Referenzbereiches der Leukozyten im Lumballiquor (0 bis 5/ $\mu$ l [5]) (Tab. 1; Abb. 3C).

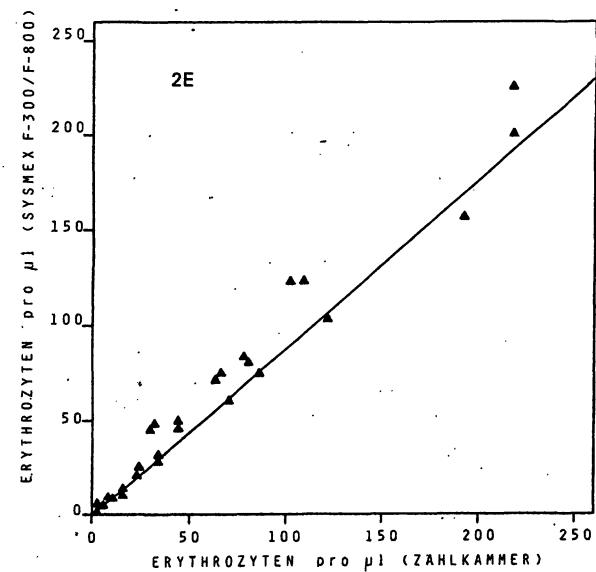
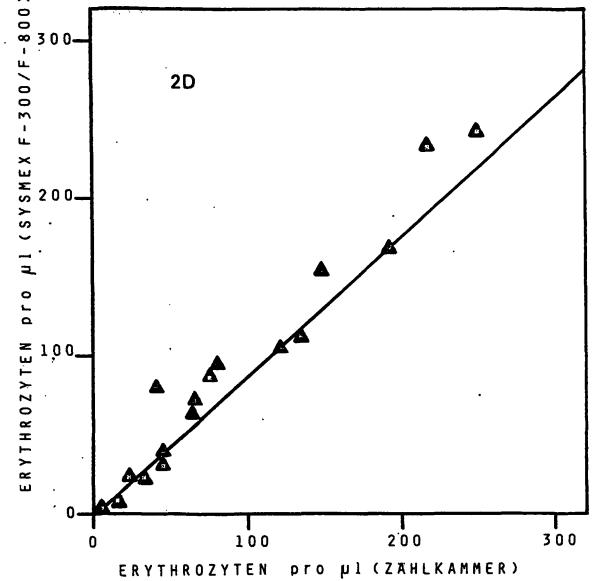
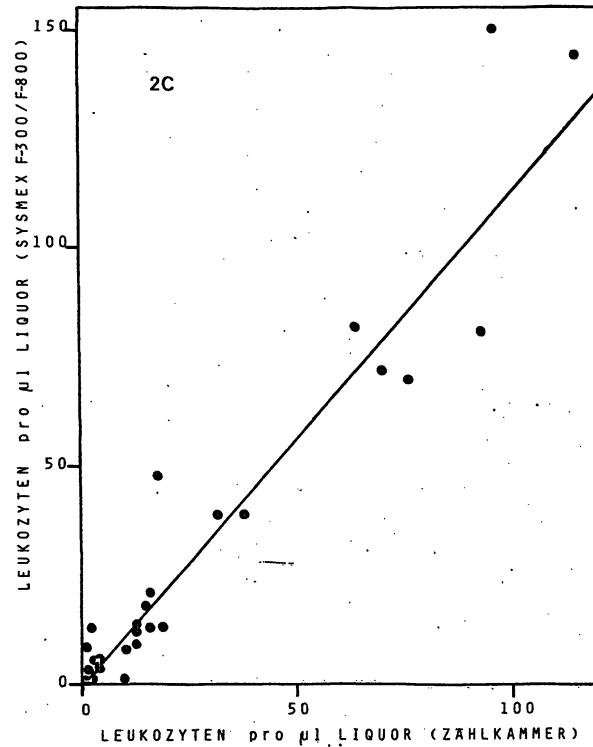
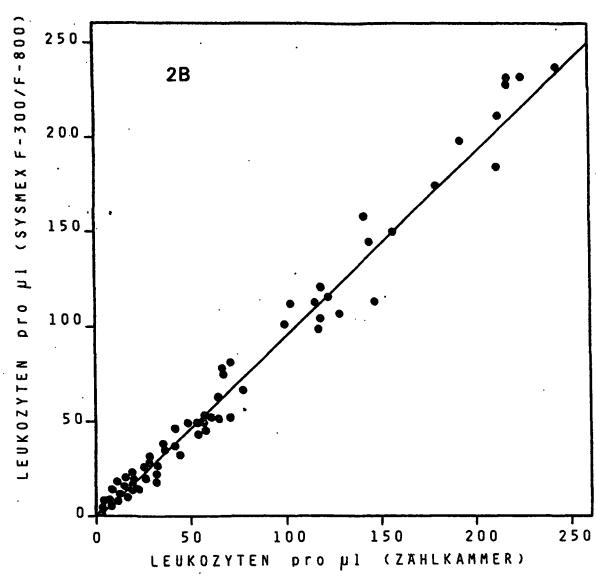
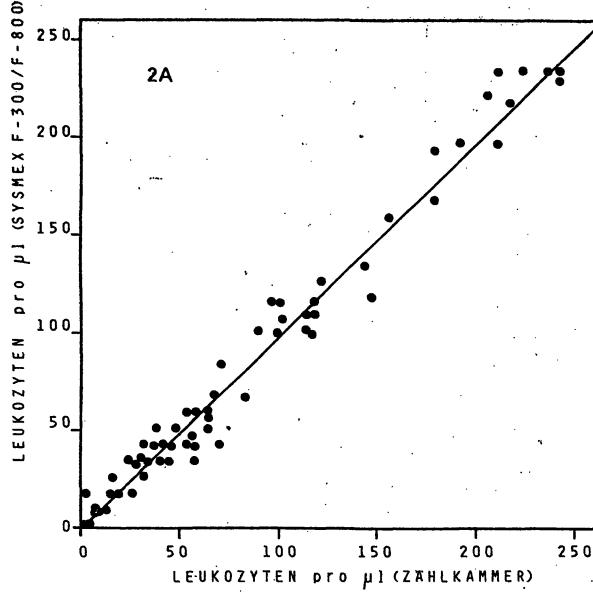
Bei Erythrozytenzählungen zeigte der Methodenvergleich größtenteils niedrigere Werte im Cell-Dyn 1600 ( $y$ ) in Liquorproben und in verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut an als in der Zählkammermethode ( $x$ ) in Bereichen von 0 bis 2500 Erythrozyten/ $\mu$ l nach Abzug der Leukozytenzahl (Tab. 4, Abb. 3 D/E). Dies kann durch die größere Impräzision der Erythrozytenzählung im Cell-Dyn 1600 im Bereich 0 bis 50/ $\mu$ l erklärt werden (2–3mal größer als bei der Zählkammermethode [Tab. 2]), was mit der geringen Empfindlichkeit des Systems bei der Erythrozytenzählung in Zusammenhang zu bringen ist (Tab. 1). Trotzdem bestand eine lineare Beziehung zwischen den beiden Methoden (Tab. 4, Abb. 3 D/E).

##### Methodenvergleiche der Leukozytendifferenzierung

###### Vergleich zwischen Sysmex F-800 und Zytotzentrifugemethode

Der Methodenvergleich zwischen maschineller Leukozytendifferenzierung im Sysmex F-800 (kleine Leukozyten [ $y$ ]) und visueller mit der Zytotzentrifugemethode (lymphozytäre Zellen [ $x$ ]) ergab eine größere Ausbeute an kleinen Leukozyten in Leukozytenproben mit wenigen lymphozytären Zellen und eine kleinere Ausbeute in Leukozytenproben mit vielen lymphozytären Zellen

Abb. 2: Methodenvergleiche bei der Leukozyten- und Erythrozytenzählung im Sysmex F-300/F-800 (y) im Vergleich zur Zählkammermethode (x) (Darstellung niedriger und mittlerer Meßbereiche).



Leukozytenzählung (●) von Leukozytenfraktionen mit Ansatz A (Abb. 2A) und Ansatz C (Abb. 2B) bzw. von Liquorproben mit Ansatz D (Abb. 2C).

Erythrozytenzählung (▲) von Leukozytenfraktionen mit Ansatz A (Abb. 2D) und Ansatz C (Abb. 2E) bzw. von Liquorproben im Ansatz D (Abb. 2F) nach Abzug der jeweiligen Leukozytenzählen.

Die eingezeichnete Gerade entspricht der Gleichung  $y = b + ax$  nach (11) (vgl. Tab. 3 für größere Meßbereiche). Weitere Einzelheiten siehe Text.

(verdünnte Leukozytenfraktionen aus Vollblut mit  $> 25$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$ , Tab. 5). Diese signifikanten Unterschiede wurden mit zunehmenden Probenvolumen (Ansatz B, C, Tab. 5) oder geringeren Leukozytenzahlen in der Probe  $< 25/\mu\text{l}$  größer. Für große Leukozyten wurden ähnliche Unterschiede gefunden. Da Liquorproben sich offensichtlich anders verhielten (Tab. 5), muß es sich hier um Matrixeffekte handeln.

#### Vergleich zwischen Cell-Dyn 1600 und Zytozentrifugenmethode

Der Methodenvergleich zwischen maschineller Leukozytentrennung im Cell-Dyn 1600 (Lymphozyten [ $y$ ]) und visueller mit der Zytozentrifugenmethode (lymphozytäre Zellen [ $x$ ]) zeigte die gleichen Unterschiede in Liquorproben und in verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut wie beim Sysmex F-800: In lym-

phozytenarmen Proben wurden mehr kleine Leukozyten bestimmt und in lymphozytenreichen weniger (Tab. 5); nur waren diese signifikanten Unterschiede in Liquorproben stärker ausgeprägt. Da diese Unterschiede bei größeren Probenvolumen (Ansatz B) im Liquor sowie bei Proben mit Leukozytenzahlen von  $< 25/\mu\text{l}$  weiterhin zunahmen, muß auch hier an Matrixeffekte gedacht werden, zumal für die granulozytäre-monozytäre Fraktion ähnliche Veränderungen gefunden wurden.

#### Diskussion

Bei der Adaptation von drei mechanisierten und einem automatisierten Blutzellzählgerät an die geringe Leukozyten- und Erythrozytenzahl im Liquor cerebrospinalis muß ihre Nachweisgrenze erniedrigt werden. Dabei sollte die hohe Präzision dieser

Tab. 3: Methodenvergleiche der Leukozyten- und Erythrozytenzählung zwischen Zählkammermethode ( $x$ ) und Coulter ZBI ( $y$ ) bzw. System F-300/F-800 ( $y$ ) in Liquorproben und verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut

System-Vergleich	Probe	n*	$y = b + ax$	b**	a**	Cusum-Test**	Meßbereich Zellen/ $\mu\text{l}$
<b>Zählung der Leukozyten</b>							
Zählkammer ( $x$ ) mit Coulter ZBI ( $y$ )	Leukoz.-Fraktion	44	$y = 0,93 + 0,98x$	0	1	nicht signifik.	0–1006
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	135	$y = 0,39 + 0,98x$	0	1	nicht signifik.	0–1236
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz A	Liquor cerebrosp.	35	$y = -1,06 + 1,06x$	<0	1	nicht signifik.	0–1984
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	122	$y = -0,57 + 0,95x$	<0	<1	nicht signifik.	0–1129
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz B	Liquor cerebrosp.	28	$y = -0,97 + 0,97x$	0	1	nicht signifik.	0–185
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz C	Leukoz.-Fraktion	151	$y = -0,76 + 0,96x$	0	<1	nicht signifik.	0–1324
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz D	Leukoz.-Fraktion	102	$y = -0,93 + 1,03x$	<0	>1	nicht signifik.	0–1369
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz D	Liquor cerebrosp.	46	$y = -1,13 + 1,15x$	0	>1	nicht signifik.	0–263
<b>Zählung der Erythrozyten***</b>							
Zählkammer ( $x$ ) mit Coulter ZBI ( $y$ )	Leukoz.-Fraktion	24	$y = -0,02 + 1,06x$	0	1	nicht signifik.	0–28058
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	41	$y = -1,07 + 0,89x$	0	<1	nicht signifik.	0–6144
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz A	Liquor cerebrosp.	30	$y = -1,00 + 1,00x$	0	1	nicht signifik.	0–4764
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	45	$y = -1,05 + 0,88x$	0	<1	nicht signifik.	0–5939
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz B	Liquor cerebrosp.	31	$y = -0,94 + 1,39x$	0	1	nicht signifik.	0–3481
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz C	Leukoz.-Fraktion	43	$y = -0,36 + 0,89x$	0	1	nicht signifik.	0–3686
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz D	Leukoz.-Fraktion	33	$y = -3,04 + 0,88x$	<0	<1	nicht signifik.	0–1433
Zählkammer ( $x$ ) mit Sysmex F-300/F-800 ( $y$ ) Ansatz D	Liquor cerebrosp.	34	$y = -1,35 + 1,35x$	0	>1	nicht signifik.	0–3481

\* Anzahl der Probenpaare

\*\* y-Abschnitt, Anstieg und Cusum-Test auf signifikante lineare Abweichung nach (11)

\*\*\* nach Abzug der Leukozyten

Systeme (interserieller VK zwischen 2 und 5%) beibehalten werden. Die Nachweisgrenze wurde hier a) durch Vermehrung des Probenvolumens (0,1 bis 0,3 ml) erniedrigt (größere Probenvolumen sind für die Liquordiagnostik unrealistisch!) und b) durch Verringerung des Reagenzienvolumens; letzteres kann geräteabhängig beim Coulter ZBI bis auf 9,0 ml, beim Sysmex F-300/F-800 bis auf 3,0 ml und beim Cell-Dyn 1600 bis auf 5,0 ml reduziert werden. Trotz der bei Sysmex F-300/F-800 geringen Probenverdünnung erfolgt die Leukozytenzählung in diesen Systemen mit der höchsten intraseriellen Impräzision bei einer Nachweisgrenze, die mit derjenigen des Coulter ZBI vergleichbar ist! Dies wird durch den relativ hohen Anzeigeanfang von 100 Leukozyten/ $\mu$ l verursacht, der bei diesen Systemen für die Zählung von Liquorzellen erniedrigt werden sollte.

Vergleichende Zählungen von 0,1 ml Probe mit 1 Leukozyt/ $\mu$ l demonstrieren, daß mit den hier vorgenommenen Modifikationen in der Zählkammer 2,7 Leukozyten, mit dem Coulter ZBI 5, im Sysmex F-300/F-800 12 und im Cell-Dyn 1600 7 Leukozyten gezählt werden (Tab. 1). Trotz der geringeren Zählausbeute bei der Zählkammermethode kann die visuelle Zählung mit größerer Genauigkeit durchgeführt werden als bei den vier hier getesteten maschinellen Systemen! Dies kann auf den niedrigen Leerwert und damit auf die minimale Nachweisgrenze dieser visuellen Methode (Tab. 1) mit den hier verwendeten Modifikationen

(vgl. 6) zurückgeführt werden, da die Impräzision früherer Kammertechniken (1) höher ausfiel. Dagegen wurden in einer älteren Arbeit mit dem Coulter Counter Impräzisionen erzielt vergleichbar wie in der Zählkammer (2). Die höheren Zählausbeuten im Coulter Counter bei niedrigen Zellzahlen weisen jedoch auf nicht gelöste Leerwertprobleme hin.

Die hohe Impräzision bei der Zellzählung in maschinellen Systemen ist offensichtlich gerätebedingt und kann durch Verwendung der Raw Counts beim Cell-Dyn 1600 dahingehend verbessert werden, daß mit vergleichbaren intraseriellen Impräzision wie beim Zählkammerverfahren Leukozyten im Bereich von 0 bis 5/ $\mu$ l (dem Referenzbereich für Lumballiquor [5]) in 0,3 ml Liquor ausreichend empfindlich und richtig gezählt werden. Bei der Erythrozytenzählung in einem Bereich von 0 bis 50/ $\mu$ l erweisen sich beide Sysmex-Systeme am empfindlichsten und ähnlich präzise wie das Zählkammerverfahren, da der Cell-Dyn 1600 gerätebedingt zu unempfindlich ist.

Bei Methodenvergleichen von der Leukozytenzählung in Liquorproben wird die beste Übereinstimmung zwischen Cell-Dyn 1600 und der Zählkammermethode erhalten (vgl. 4); bei der Erythrozytenzählung im Liquor werden im Sysmex F-300/F-800 offenbar durch Erfassung von teilzerstörten Erythrozyten mehr und im Cell-Dyn 1600 gerätebedingt weniger als bei der Zähl-

Tab. 4: Methodenvergleiche bei der Leukozyten- und Erythrozytenzählung zwischen Zählkammermethode (x) und Cell-Dyn 1600 (y) in Liquorproben und verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut

System-Vergleich	Probe	n*	y = b + ax	b**	a**	Cusum-Test**	Meßbereich Zellen/ $\mu$ l
<b>Zählung der Leukozyten</b>							
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	91	y = 0,00 + 0,90x	0	<1	nicht signifik.	0-531
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Liquor cerebrosp.	72	y = -0,40 + 1,16x	0	1	nicht signifik.	0-399
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	103	y = 0,40 + 0,99x	0	1	nicht signifik.	0-586
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Liquor cerebrosp.	35	y = -1,00 + 1,00x	<0	1	nicht signifik.	0-185
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz C	Leukoz.-Fraktion	97	y = 0,02 + 0,98x	0	1	nicht signifik.	0-573
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz C	Liquor cerebrosp.	25	y = -0,17 + 1,09x	0	1	nicht signifik.	0-185
<b>Zählung der Erythrozyten***</b>							
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	24	y = 0,00 + 0,81x	0	<1	nicht signifik.	0-1766
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Liquor cerebrosp.	41	y = 0,00 + 0,95x	0	<1	nicht signifik.	0-2509
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	23	y = -0,59 + 0,85x	0	1	nicht signifik.	0-1690
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Liquor cerebrosp.	31	y = 0,00 + 0,82x	0	1	nicht signifik.	0-1933
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz C	Leukoz.-Fraktion	27	y = -1,31 + 1,09x	0	1	nicht signifik.	0-2458
Zählkammer (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz C	Liquor cerebrosp.	21	y = 0,00 + 0,72x	0	1	nicht signifik.	0-1585

\* Anzahl der Probenpaare

\*\* y-Abschnitt, Anstieg und Cusum-Test auf signifikante lineare Abweichung nach (11)

\*\*\* nach Abzug der Leukozyten

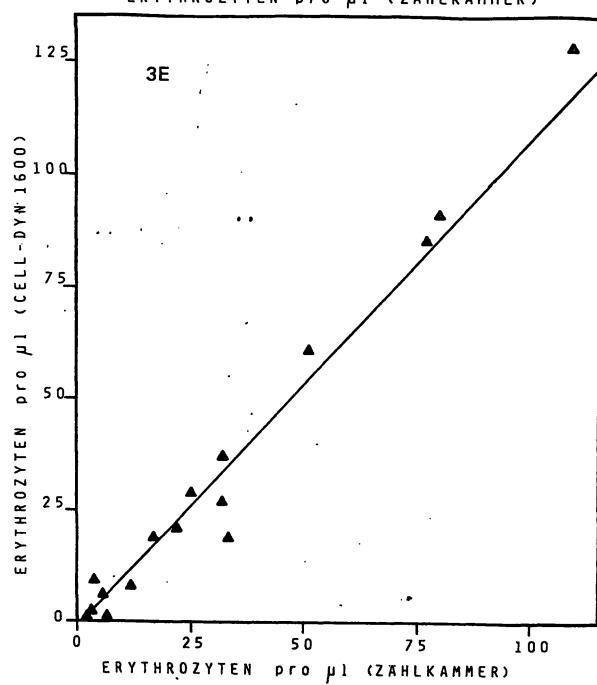
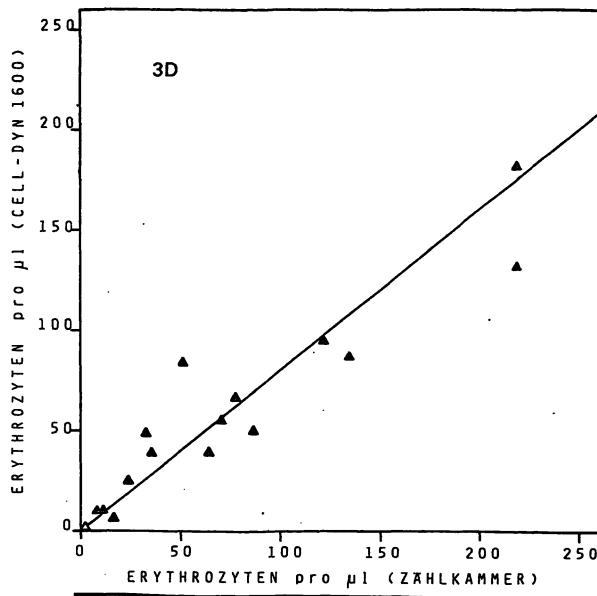
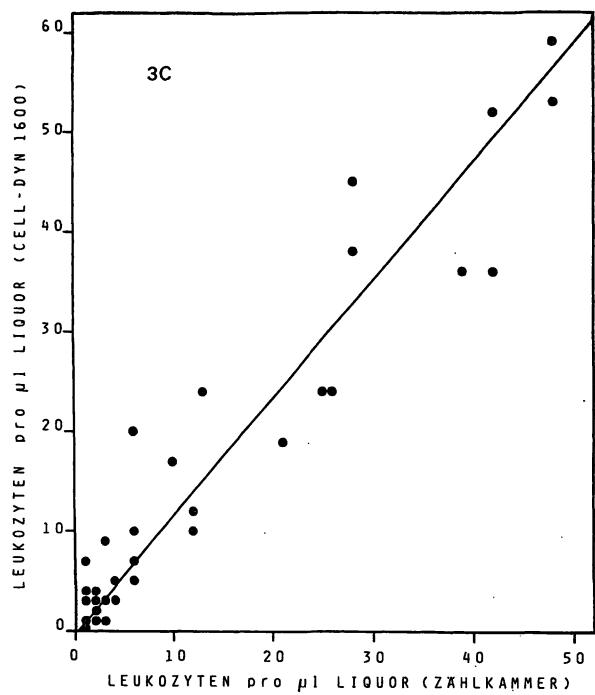
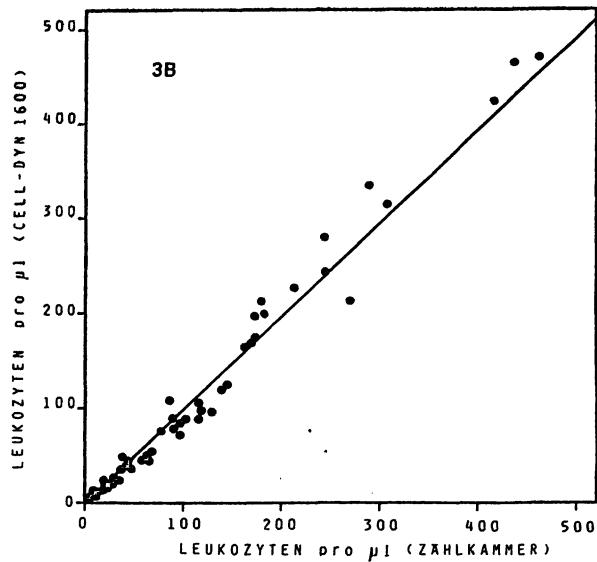
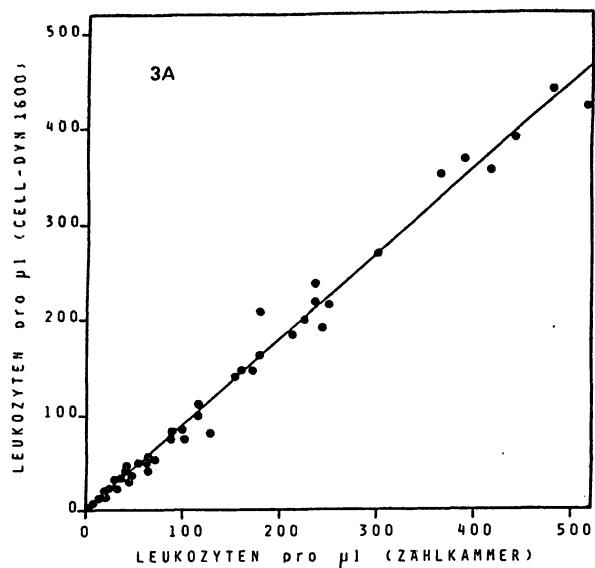


Abb. 3: Methodenvergleiche zwischen Zählkammermethode (x) und Cell-Dyn 1600 (y) bei der Leukozyten- und Erythrozytenzählung (Darstellung niederer und mittlerer Bereiche).

Leukozytenzählung (●) von Leukozytenfraktionen mit Ansatz A (Abb. 3A) und Ansatz C (Abb. 3B) bzw. von Liquorproben mit Ansatz A (Abb. 3C).

Erythrozytenzählung (▲) von Leukozytenfraktionen mit Ansatz A (Abb. 3D) und Ansatz C (Abb. 3E) nach Abzug der jeweiligen Leukozytenzahlen.

Die eingezeichnete Gerade entspricht der Gleichung  $y = b + ax$  nach (11) (vgl. Tab. 4 für größere Meßbereiche). Weitere Einzelheiten siehe Text.

Tab. 5: Methodenvergleiche bei der Leukozytendifferenzierung zwischen Zytosentrifugenmethode (lymphozytäre Fraktion [x]) und Sysmex F-800 bzw. Cell-Dyn 1600 („small cells“ bzw. Lymphozyten [y]) in Liquorproben oder verdünnten Leukozytenfraktionen aus Vollblut.

System-Vergleich	Probe	n*	$y = b + ax$	b**	a**	Cusum-Test**	Meßbereich
Zytosentrifuge (x) mit Sysmex-800 (y) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	26	$y = 7,90 + 0,85x$	>0	>1	nicht signifik.	5–93 %
Zytosentrifuge (x) mit Sysmex F-800 (y) Ansatz A, B, C, D	Liquor cerebrosp.	19	$y = 3,30 + 1,68x$	0	1	nicht signifik.	4–36 %
Zytosentrifuge (x) mit Sysmex F-800 (y) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	23	$y = 15,80 + 0,79x$	>0	<1	nicht signifik.	5–73 %
Zytosentrifuge (x) mit Sysmex F-800 (y) Ansatz C	Liquor cerebrosp.	24	$y = 19,90 + 0,73x$	>0	<1	nicht signifik.	5–75 %
Zytosentrifuge (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Leukoz.-Fraktion	67	$y = 10,20 + 0,84x$	>0	<1	nicht signifik.	5–93 %
Zytosentrifuge (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz A	Liquor cerebrosp.	25	$y = 11,90 + 0,71x$	>0	<1	nicht signifik.	8–95 %
Zytosentrifuge (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Leukoz.-Fraktion	67	$y = 7,20 + 0,87x$	>0	<1	nicht signifik.	5–94 %
Zytosentrifuge (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz B	Liquor cerebrosp.	19	$y = 25,70 + 0,54x$	>0	<1	nicht signifik.	8–80 %
Zytosentrifuge (x) mit Cell-Dyn 1600 (y) Ansatz C	Leukoz.-Fraktion	66	$y = 7,10 + 0,87x$	>0	<1	nicht signifik.	5–93 %

\* Anzahl der Probenpaare

\*\* y-Abschnitt, Anstieg und Cusum-Test auf signifikante lineare Abweichung nach (11)

kammermethode gezählt. Trotzdem bestehen lineare Beziehungen zwischen der Zählkammermethode und allen vier hier untersuchten maschinellen Systemen bei der Leukozyten- und Erythrozytenzählung.

Dagegen tritt bei der Leukozytendifferenzierung der gleiche Fehler im Sysmex F-800 und im Cell-Dyn 1600 auf: Bei relativ geringer Anzahl an lymphozytären Zellen werden mehr kleine Leukozyten und bei relativ großer Anzahl weniger kleine Leukozyten erfaßt. Für die granulozytäre-monozytäre Leukozytenfraktion wurde ein ähnliches Verhalten beobachtet. Dies kann nicht mit einem Verlust an lymphozytären Zellen bei der Zytosentrifugenmethode erklärt werden, sondern beruht offenbar auf einer unterschiedlichen Quellung bzw. Schrumpfung von Leukozyten im Reagenzienansatz, was in laufenden Untersuchungen geklärt wird.

Zusammenfassend wird festgestellt, daß die billige alte Zählkammermethode nach Eichung und Verwendung eines Vitalfarbstoffes und eichfähiger Mikropipetten durchaus ihren Platz in der täglichen Liquordiagnostik behält, da teure maschinelle Blutzellzählsysteme nach Adaptation zellarme Liquorproben nicht präziser und empfindlicher analysieren können; diese Systeme bieten jedoch die Möglichkeit, die hohe intraserielle Impräzision bei der Zellzählung im Liquor durch Mehrfachbestimmungen zu reduzieren.

#### Danksagung

Der Fa. Digitana in Frankfurt am Main danke ich für die großzügige Überlassung von Sysmex F-300- und F-800-Geräten und den Behringwerken Marburg für die Software des Rechenprogrammes von H. Passing und W. Bablok. – Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch den Bundesminister für Forschung und Technologie, Förderungskennzeichen 01 ZR 8513.

#### Schrifttum:

- SCHEID, W.: Der „zufällige Fehler“ bei der üblichen Zählung der Liquorzellen. Dtsch. Z. Nervenheilk. 149, 254–270 (1939).
- SCHÖNENBERG, H., FASSL, H.: Vergleich der Coulter-Counter- und Kammerzählmethode zur Bestimmung des Liquorzellgehaltes. Ärztl. Forsch. 24, 118–124 (1970).
- TALSTAD, I.: Electronic Counting of Spinal Fluid Cells. Am. J. Clin. Pathol. 81, 506–511 (1984).
- KLEINE, T. O.: Adaptation of Leucocyte and Erythrocyte Countings of a Hematology Analyzer to Low Cell Count of Cerebrospinal Fluid (CSF) Samples. Fresenius Z. Anal. Chem. 333, 172–173 (1989).
- KLEINE, T. O.: Liquor. In: THOMAS, L. (Hrsg.): Labor und Diagnose, 939–965. Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg (1984).
- KLEINE, T. O.: Neue Methoden für die Liquordiagnostik. Thieme Verlag (1980).
- Operator's Manual for ZBI. Coulter Electronics Limited. Dunstable, Beds. England.
- Operator's Manual Model F-300 and F-800. Toa Medical Electronics Co., Kobe, Japan (1988).
- Operator's Reference Manual for Cell-Dyn 1600 Multi-Parameter Automated Hematology Analyzer. Sequoia-Turner Corporation Mountain View, Ca. USA (1987).
- STAMM, D.: Der analytische Teilschritt und seine Zuverlässigkeit. In: GREILING, H., GRESSNER, A. M. (Hrsg.): Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. Schattauer Verlag, 8–30 (1987).
- PASSING, H., BABLOK, W.: A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21, 709–720 (1983).

#### Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. T. O. Kleine  
Med. Zentrum für Nervenheilkunde  
Funktionsbereich Neurochemie  
Rudolf-Bultmann-Straße 8  
D-3550 Marburg

# Hinweise für Autoren zur Abfassung von Manuskripten zum Teil Wissenschaft und Fortbildung der Zeitschrift Laboratoriumsmedizin

Die Zeitschrift LABORATORIUMSMEDIZIN erscheint 11 mal jährlich, für die Monate Juli/August als Doppelheft.

Veröffentlicht werden Originalarbeiten, Übersichtsreferate und Kurzmitteilungen auf dem Gebiete der Laboratoriumsmedizin (Medizinische Chemie, Bakteriologie-Serologie, Immunologie, Hämatologie, Hämostaseologie, Zytologie, Zytogenetik).

## Annahmebedingungen für Originalarbeiten

1. Die wissenschaftlichen Ergebnisse dürfen noch nicht veröffentlicht sein, die Autoren müssen das Urheberrecht besitzen.
2. Umfang des Manuskriptes bis 20 Schreibmaschinenseiten inklusive Literatur, Abbildungen und Tabellen.
3. Gliederung in:  
Titel (deutsch und englisch),  
Zusammenfassung (deutsch und englisch),  
Schlüsselwörter (deutsch und englisch),  
Einleitung, Material und Methoden, Ergebnisse, Diskussion, Literatur.  
Der Ergebnisteil muß auch die Interpretation der Ergebnisse beinhalten. In der Diskussion sollen die Ergebnisse kritisch zu den Arbeiten anderer Arbeitsgruppen gleicher Forschungsrichtung beurteilt werden, ferner soll ein Bezug zur klinischen Anwendung hergestellt werden.
4. Arbeiten, die einen direkten Beitrag zu aktuellen Fragestellungen der Laboratoriumsmedizin liefern, werden bevorzugt angenommen und schneller veröffentlicht.

## Annahmebedingungen für Übersichtsreferate

1. Das Thema muß aktuell sein und außer Ärzte für Laboratoriumsmedizin und Naturwissenschaftler im medizinischen Labor mindestens eine weitere Gruppe von Fachärzten und Allgemeinärzten ansprechen.
2. Umfang des Manuskriptes bis 20 Schreibmaschinenseiten inklusive Literatur, Abbildungen und Tabellen.
3. Die Gestaltung ist frei, zwingend sind jedoch: Titel (deutsch und englisch), Zusammenfassung (deutsch und englisch), Schlüsselwörter (deutsch und englisch), Einleitung, Methodenübersicht, Schlußbetrachtung und Literatur.

## Annahmebedingungen für Kurzreferate

1. Vorwiegend methodische oder klinisch-diagnostische Arbeiten, Erfahrungen oder Hinweise zur Praxis oder Fortbildung auf dem Gebiete der Laboratoriumsmedizin werden angenommen.
2. Umfang des Manuskriptes bis 4 Schreibmaschinenseiten.
3. Gestaltung wie Originalarbeiten.
4. Veröffentlichung innerhalb von 2 Monaten nach Annahmedatum.

## Gestaltung der Manuskripte

**Schrift:** Maschinenschrift, fortlaufend nummerierte Blätter (DIN A4).

**1. Seite:** Titel des Beitrages, abgekürzter Vorname und Nachname der Autoren (bei Frauen ausgeschriebener Vorname), Klinik, Institut.

## 2. Seite: Zusammenfassung, Schlüsselwörter.

**Letzte Seite:** Schriftumsverzeichnis und Autorenanschriften.

Die Referenzen werden in fortlaufender Reihenfolge nummeriert, also nicht alphabetisch und nicht chronologisch. Die Literaturstellen werden durch Name, Vorname, Titel der Arbeit, Zeitschriftenname, Band-Nummer, Seite, Erscheinungsjahr in dieser Reihenfolge gekennzeichnet. Die Zeitschriftentitel sollen entsprechend dem Index Medicus abgekürzt werden.

Am Ende des Manuskriptes sollen aufgeführt werden: Ausgeschriebene Vor- und Nachnamen sowie Anschriften aller Autoren, und zwar zuerst der Name jenes Autors, bei dem Sonderdrucke angefordert werden können.

**Abbildungen, Tabellen und Diagramme:** Die Abbildungen sollen reproduktionsreif sein. Für Originale übernimmt der Verlag keine Haftung. Symbole, Einheiten, Buchstaben und Zahlen müssen in Rundschrift und so groß gezeichnet werden, daß sie auch nach der Verkleinerung gut lesbar sind.

Die Legenden zu den Abbildungen und Tabellen sollen auf einem gesonderten Blatt beigefügt werden. Abbildungen müssen auf der Rückseite die Nummer der Abbildung, den Namen des ersten Autors und die gewünschte Position im Text tragen.

**Schreibweise:** maßgebend ist der Duden.

## Begutachtung

Der verantwortliche Schriftleiter entscheidet über die Annahme nach Einholung von 2 sachverständigen Gutachten. Die Gutachter bleiben gegenüber den Autoren anonym und beurteilen unabhängig. Die Autoren erhalten eine Kopie der Gutachten. Die Autoren erhalten spätestens 2 Monate nach Eingang des Manuskriptes die Entscheidung über Annahme oder Ablehnung sowie einen vorläufigen Termin der Veröffentlichung.

## Korrekturen

Dem federführenden Autor werden die Druckfahnen zur Korrektur übersandt. Er hat dafür Sorge zu tragen, daß auch im Falle seiner Abwesenheit die korrigierten Fahnen innerhalb von maximal 2 Wochen dem Verlag zurückgesandt werden. In den Druckfahnen soll nur in Ausnahmefällen und bei eindeutigen Fehlern, deren Korrektur übersehen wurde, berichtet werden: Deshalb darf jedes Manuskript erst nach sorgfältiger Prüfung aller Gesichtspunkte zur endgültigen Fassung der Schriftleitung eingereicht werden. Nachträgliche Textänderungen dürfen 2 Prozent des Textes nicht überschreiten.

## Einsendung: Original und 2 Kopien an:

Schriftleitung Wissenschaft und Fortbildung  
der Zeitschrift LABORATORIUMSMEDIZIN  
Prof. Dr. L. Thomas  
Kirschbaumweg 8  
D-6000 Frankfurt 90