Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 114–120

Untersuchungen zur Zuverlässigkeit der Bestimmungen von Blutparametern im Autoanalyzer SMA 7 A und in den Coulter Countern F und S

Automation klinisch-chemischer Bestimmungsmethoden, III. Mitteilung

Von H. HOFFMEISTER, B. JUNGE und J. SCHLEGEL

Aus dem Bundesgesundheitsamt, Institut für Sozialmedizin und Epidemiologie, Berlin

(Eingegangen am 17. September 1971)

Für die hämatologischen Analysenautomaten SMA 7 A, Coulter Counter S, Coulter Counter F sowie entsprechende Handbestimmungsmethoden werden vergleichende Angaben zur Präzision gemacht. Präzisionen von Tag zu Tag lassen sich auf zweierlei Weise aus Blutproben (Sekundärstandards) bestimmen. Die eine Methode geht von zwei täglich entnommenen Kontrollbluten aus. Beim zweiten Verfahren wird dasselbe Kontrollblut über 10 Tage benutzt, wobei der fortschreitende Zerfall von korpuskulären Bestandteilen durch eine Korrektur berücksichtigt wird. Beide Methoden liefern Werte, die zur Kontrolle der Präzision (und der Richtigkeit über kurze Zeit) der hämatologischen Automaten geeignet sind. Weiter werden Beurteilungsgrößen zur Linearität der Analysenergebnisse in allen 7 Kanälen über einen weiten Bereich, über die Größe der Drift, die Konstanz der Basislinie und die Größe der Verschleppung im SMA 7 A mitgeteilt. Einige Experimente geben Aufschluß über die Richtigkeit der Bestimmungen in den drei Analysen-Automaten.

The reliability of values determined for blood parameters in the Autoanalyser SMA 7 A and in the Coulter counters F and S. Automated clinical-chemical determination methods, III.

Precision was compared for the haematological autoanalysers SMA 7 A, Coulter counter S and Coulter counter F and for corresponding determinations by hand. Day to day precision may be determined in two ways in blood samples. The first method uses two control blood samples taken daily. In the second method, the same control sample is used over a period of 10 days, in which case a correction must be made for the progressive breakdown of corpuscular components. Both methods give values that are suitable for checking the precision (and accuracy over a short period) of the haematological autoanalysers. Further it is possible to evaluate the linearity of the analytical results in all 7 channels over a wide range, the extent of drift, the constancy of the base line, and the extent of the carry over in the SMA 7 A. Experimental data are presented for the accuracy of the determinations in the three autoanalysers.

Die Leukocyten- und Erythrocytenzahlen des Blutes, der Hämoglobingehalt, das Zellpackungsvolumen und einige aus diesen Bestimmungen abgeleitete Rechenwerte (mittleres Zellvolumen, mittlerer Zellhämoglobingehalt, mittlere Zellhämoglobin-Konzentration), gehören zu den besonders häufig benutzten diagnostischen Daten¹⁾. Es ist deshalb verständlich, daß eine Reihe von Geräten zur Automatisierung dieser Analysen entwickelt wurde. Die Erstellung eines Blutstatus unter Einsatz moderner Vielkanal-Geräte wie Autoanalyzer SMA 7 A und Coulter Counter S, bringt einen erheblichen Zeitgewinn. Darüber hinaus ist die Präzision der Bestimmungen in den Automaten nach den bisherigen Untersuchungen gleich (1) oder besser (2) als die Präzision üblicher Handmethoden. Ergebnisse dieser Art sind von verschiedenen Benutzern mitgeteilt worden (3, 4, 5, 6). Umfang und Art der Bewertungskriterien differieren aber erheblich, insbesondere deshalb, weil unterschiedliche Standards und Kalibrierungsverfahren benutzt wurden. Über die Richtigkeit der mit den Automaten zu erhaltenden Ergebnisse gibt es bisher keine befriedigenden Angaben.

¹⁾ Abkürzungen: PCV = Packed Cell Volume, Zellpackungsvolumen; MCV = Mean Cell Volume, mittleres Zellvolumen; MCH = Mean Cell Hemoglobin, mittlerer Zellhämoglobingehalt; MCHC = Mean Cell Hemoglobin Concentration, mittlere Zellhämoglobin-Konzentration.

Wenig ist auch bekannt über den Einfluß von Probenahme, Probenaufbewahrung und Transport auf die Präzision und Richtigkeit der Bestimmungen von Blutbestandteilen.

In der vorliegenden Arbeit haben wir die Präzision in der Serie des Autoanalyzers SMA 7 A, der Coulter Counter S und F und einiger Handmethoden miteinander verglichen. Eine Präzision von Tag zu Tag wurde aus korrigierten Langzeituntersuchungen und aus mitgeführten Kontrollblutpaaren errechnet. Aussagen zur Richtigkeit versuchen wir anhand von Vergleichen der absoluten Meßzahlen gleicher Blute in den verschiedenen Analysensystemen zu machen. Weiter werden Angaben zur Linearität der Bestimmungen über größere Bereiche, zur Drift der Basislinien und zur Größe des Verschleppungsfehlers vorgelegt.

Ergebnisse

Die Präzision in der Serie wurde von LAPPIN und Mitarbeitern (2) und NELSON (6) beim Autoanalyzer SMA 4 und von BRITTIN und Mitarbeitern (7), PINKERTON und Mitarbeitern (3) und SHARP und BALLARD (4) beim Coulter Counter S bestimmt. Die angegebenen Variationskoeffizienten stimmen weitgehend mit den von uns gefundenen Werten überein. Bei BRITTIN und Mitarbeitern fehlen allerdings Zahlen über die absolute Größe der Streuung und die Anzahl der Messungen.

Tab. 1

Präzision in der Serie (Wiederholbarkeit) bei der Bestimmung von Blutbestandteilen¹⁾ und Rechenwerten in verschiedenen Geräten. Das Zellpackungsvolumen unter „weitere Methoden“ wurde in einer Mikrohämatokrit-Zentrifuge, der Hämoglobingehalt im Photometer Eppendorf bestimmt. n = 30

Bestimmung		SMA 7 A			SMA 7 A (Angaben des Herstellers)			Coulter Counter S			Coulter Counter F			Weitere Methoden		
		$\bar{x}$	s	V%	$\bar{x}$	s	V%	$\bar{x}$	s	V%	$\bar{x}$	s	V%	$\bar{x}$	s	V%
Leukocyten	$10^3/\text{mm}^3$	6,32	0,10	1,6	8,0	0,138	2,0	6,71	0,13	2,0	7,27	0,20	2,8			
PCV	l/l	0,457	0,003	0,7	0,441	0,003	1,5	0,411	0,003	0,8	0,405	0,012	3,0	0,362	0,008	2,3
Hb	g/l	166,0	1,7	1,0	148,7	0,89	1,0	128,6	1,6	1,3				116,4	1,4	1,2
Erythrocyten	$10^6/\text{mm}^3$	5,57	0,12	2,2	5,0	0,081	2,0	4,36	0,03	0,8	4,36	0,13	3,1			
MCV	μm^3	82,19	1,38	1,7			1—3	94,83	0,59	0,6	90,70	1,21	1,3			
MCH	pg	30,02	0,42	1,4			1—3	29,76	0,39	1,3						
MCHC	%	36,70	0,29	0,8			1—3	31,27	0,46	1,5						

Alle für die nachfolgenden Untersuchungen benutzten Blutproben wurden in Vakutainern mit EDTA-Zusatz (Fa. Becton, Dickinson and Company, Rutherford, New Jersey, USA) abgenommen. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse aufgeführt, die wir bei der parallelen Messung unterteilt, frischer Blutproben in SMA 7 A, Coulter Counter S und Coulter Counter F erhielten. Neben der Bestimmung des Zellpackungsvolumens durch Leitfähigkeitsmessung (CCV) im SMA 7 A und im Coulter Counter S wurde der Hämatokritwert in einer Mikrohämatokrit-Zentrifuge mit Auswertezusatz (Fa. M. Christ, Osterode/Harz) ermittelt. Der Hämoglobingehalt wurde außer in den Automaten auch im Photometer Eppendorf unter Benutzung einer käuflichen Testkombination (Fa. Asid-Institut GmbH, München) bestimmt. Die Präzision in der Serie ist beim SMA 7 A und beim Coulter Counter S für alle 7 Bestandteile etwa gleich groß. Sie liegt zwischen 0,5 und 2% der normalen Blutwerte. Besonders gering streut die Erythrocytenzählung des Coulter Counter S. Der Coulter Counter F zeigt demgegenüber etwas größere Variationskoeffizienten. Auf eine Fehlerbestimmung für die Einzelschritte haben wir verzichtet, weil alle

Kanäle in den beiden 7-Kanal-Geräten trotz unterschiedlicher Meßprinzipien Abweichungen in einer Größenordnung bieten, wie sie auch bei Automaten zur Serumanalyse auftreten. Daraus ist zu schließen, daß die für Teilchenzählung und Leitfähigkeitsmessung benutzten Prinzipien Streuungen verursachen, die denen photometrischer Messungen vergleichbar sind (8, 9).

Die Präzisionen der Tabelle 1 wurden unter den Kalibrierungsbedingungen gefunden, die die Gerätehersteller fordern. Beim SMA 7 A fand eine Korrektur nach jeder 14. Probe statt. Zur Einstellung des Abstandes Basislinie/Blutstandardwert wurden Kontrollblute („Sekundärstandards“) vom gleichen Tag in den entsprechenden Positionen mitgeführt. Der Coulter Counter S wurde vor den Messungen durch den Hersteller kalibriert. Ohne die geforderten Zwischenkorrekturen ergeben sich im SMA 7 A-System bei Läufen über mehrere Stunden Trends, wie sie in Abbildung 1 dargestellt sind. Die Gruppenmittelwerte zeigen anschaulich, welche Größenordnung diese Veränderungen erreichen. Aus den Kurven geht hervor, daß die systematischen Fehler etwa das gleiche Ausmaß

Abb. 1

Lage der Analysenwerte einer Blutprobe, die in Anteilen fortlaufend über mehr als drei Stunden im SMA 7 A analysiert wurde. Die Einzelwerte von 10 aufeinander folgenden Proben sind jeweils zu einem Gruppenmittelwert zusammengefaßt. Punkte: frische Blutprobe; Kreise: gleiche Blutprobe nach 24 Std. Lagerung bei 5°

haben, wie die zufälligen Fehler. Bei der Bestimmung des Zellpackungsvolumens aus Leitfähigkeitsmessungen (CCV) führen gleichmäßig gealterte Proben zu stärkeren Schwankungen, wofür wahrscheinlich Mikrogerinnung in den Proben verantwortlich sind (10, 11, 12).

Die Reagenzien-Basislinien lassen in den Kanälen, wo sie meßbar sind, einen kleinen zufälligen Fehler erkennen (Tab. 2). Am Ende der Analysenläufe von je

Tab. 2

Mittelwerte und Standardabweichungen der Reagenzienbasislinien des SMA 7 A für $n = 10$. Die auf Null eingestellten Basislinien wurden jeweils nach 40 Analysenproben erneut abgelesen

Bestimmung		$\bar{x}$	s	$\bar{x}$ in % der Skalenbreite
Leukocyten	$10^3/\text{mm}^3$	0,019	0,047	0,08
Hb	g/l	—0,04	0,94	—0,02
Erythrocyten	$10^6/\text{mm}^3$	—0,006	0,023	—0,06

40 Proben streuen die Werte der Basislinien um weniger als die Hälfte der Präzision in der Serie, was aus dem Vergleich der entsprechenden Standardabweichungen in Tabelle 1 und Tabelle 2 abzulesen ist. Der Mittelwert aus 10 Messungen liegt praktisch bei 0 und schließt damit eine systematische Drift der Basislinien aus.

Die direkte Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag aus käuflichen Kontrollproben gibt Probleme auf. Die von den Firmen Hyland und Technicon früher vertriebenen Kontrollblute und Suspensionen wurden wieder aus dem Handel gezogen. Das Kontrollblut CH 35 der Firma Dade ist nach unseren Erfahrungen bis zum Zerfallsdatum stabil. Später ist ein Abfall der CCV- und Erythrocytenwerte zu beobachten. Die ermittelten Präzisionen von Tag zu Tag enthält der rechte Teil der Tabelle 4. Ein neues Kontrollblut der Firma Technicon (MHR) scheint ebenfalls stabil zu sein. In Anbetracht des Preises und der begrenzten Verwendungszeit (etwa 20 Tage wegen Zeitverlust durch den Versand) eignen sich diese Blute vorwiegend zur unabhängigen Kontrolle der Richtigkeit. Die täglichen Kalibrierungen und Präzisionsbestimmungen können ohne Nachteil mit Bluten durchgeführt werden, die man selbst gewinnt (Sekundärstandards).

Wir haben die Differenzen zwischen zwei Kontrollbluten zur Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag herangezogen. Grundlage der Kalibrierung unseres Autoanalyzers SMA 7 A sind seit einiger Zeit Zehnfachbestimmungen von zwei frischen Sekundärstandardbluten. Dazu entnehmen wir zwei Personen über 5 Tage lang Blut, das anschließend im Coulter Counter F, in der Hämatokrit-Zentrifuge und im Eppendorf-

Photometer 10mal bestimmt wird. Der Mittelwert des einen Blutes wird als Tagessollwert des SMA 7 A eingestellt, der zweite Sekundärstandard wird in der nächsten Position analysiert. Errechnet man die Standardabweichungen der Kontrollblute 1 und 2 aus den 5 Blutabnahmen einer Woche, so sollten diese der Größe der Präzision von Tag zu Tag entsprechen. Voraussetzung ist, daß die biologische Streuung über 5 Tage bei beiden Spendern nicht größer ist als die Präzision von Tag zu Tag. Diese Voraussetzung kann man prüfen, indem man die Differenzen der beiden täglichen Blute und deren Standardabweichung (s_D) im F-Test mit s_1 und s_2 der beiden Sekundärstandards vergleicht. Ist s_D kleiner oder gleich s_1 und s_2 , trifft die oben gemachte Voraussetzung zu. Wir haben die Prüfung an 15 Wochen-Paaren vorgenommen und die Voraussetzung für $p = 0,05$ 11mal erfüllt gefunden. Die errechneten Standardabweichungen liegen sowohl für den SMA 7 A als auch für die Bestimmungen im Coulter Counter F, in der Hämatokrit-Zentrifuge und im Eppendorf-Photometer innerhalb der in Tabelle 3 aufgeführten Spannweiten. Die hier beschriebene Methode erlaubt in einfacher Weise die Bestimmung einer Präzision von Tag zu Tag, die größer ist als eine Reproduzierbarkeit rein methodischer Herkunft. Es handelt sich mit großer Wahrscheinlichkeit um zufällige Fehler, weil eine gleichzeitig in die gleiche Richtung gehende systematische Abweichung bei beiden Blutspendern, bedingt etwa durch eine Erkrankung, kaum zu erwarten ist. Alle anderen systematischen Abweichungen sind durch die Kriterien der F-Tests ausgeschlossen.

Sieht man den am ersten Tag im Coulter Counter F (oder in einer Zählkammer) gefundenen Mittelwert für die zellulären Bestandteile als Sollwert an, so ergibt sich über die jeweilige Woche eine Kontrolle der Richtigkeit.

Die Standardabweichungen, die man mit unseren Kalibrierungsverfahren bei der Untersuchung derselben Blutprobe über mehrere Tage erhält, setzen sich zusammen aus der Präzision von Tag zu Tag und den durch die Lagerung bedingten Veränderungen in den Proben. Die errechneten Standardabweichungen sollten dann, wenn Temperatur und Lagerung keine Veränderung des analysierten Bestandteils hervorrufen, ebenfalls ein Maß für die Präzision von Tag zu Tag sein. Wir haben die Streuungen bei Blutproben, die über 5 Tage bei drei verschiedenen Temperaturen (0° , 5° , 22°) aufbewahrt wurden, im SMA 7 A bestimmt. Legt man bei diesen Bestimmungen eine Ausgleichs-

Tab. 3

Standardabweichungen von Bestimmungen¹⁾ mit dem SMA 7 A, dem Coulter Counter F, der Hämatokritzentrifuge und dem Photometer Eppendorf (Präzision von Tag zu Tag unter Einschluß der individuellen Streuung des Spenders). Die Blute wurden zwei Spendern über 5 Tage jeweils täglich entnommen. Die aufgeführten Bereiche geben den höchsten und den niedrigsten Wert an, die bei fünf Untersuchungsserien auftraten. Index 1: erster Spender, Index 2: zweiter Spender, Index D: Differenz zwischen den Werten der beiden Spender

Bestimmung		s_1	$V_1\%$	s_2	$V_2\%$	s_D	$V_D\%$
Leukocyten	$10^3/\text{mm}^3$	0,3—0,9	4,2—16,1	0,4—1,3	7,0—21,3	0,3—1,0	5,0—16,7
PCV	l/l	0,005—0,017	1,0—4,2	0,009—0,014	2,2—3,6	0,016—0,025	3,7—6,3
Hb	g/l	0,8—6,0	0,5—4,0	1,2—4,2	0,9—3,2	3,0—5,3	2,1—3,4
Erythrocyten	$10^6/\text{mm}^3$	0,2—0,3	3,4—5,9	0,1—0,3	2,4—6,7	0,2—0,3	4,3—6,7

**Alle reden von der Lösung Ihrer Probleme -
Wir haben sie . . .**

**. . . die ideale Lösung für Ihre Glukose-
und Harnsäureanalysen**

mit dem neuen **Beckman-Glukose-Analysator**

- Spezifische Bestimmungen durch die Verwendung von Enzymen
- Durch die Anwendung eines völlig neuen Meßprinzips keine Verfälschung durch reduzierende Substanzen
- Rationell hinsichtlich Zeit und Kosten
- Probenvolumen im Mikroliterbereich
- 60 Analysen pro Stunde
- Digitale Anzeige der Meßwerte in mg%
- Analysengenauigkeit $\pm 2\%$
- Linearität des Meßbereichs:
500 mg% Glukose, 10 mg% Harnsäure
- Einfache Bedienung,
platzsparende Aufstellung

Fordern Sie bitte Unterlagen an oder lassen sich durch eine Demonstration von der Leistungsfähigkeit unseres Gerätes überzeugen.

BECKMAN INSTRUMENTS GMBH

8 München 45, Frankfurter Ring 115, Tel. 388 71, Telex 5-215761

Technische Büros: Berlin, Tel. 3 12 10 35; Hamburg, Tel. 51 95 54; Hannover, Tel. 66 39 92; Düsseldorf, Tel. 21 20 15; Frankfurt, Tel. (06103) 1003; Stuttgart, Tel. 71 18 37; München, Tel. 88 50 35
Internationale Niederlassungen: Fullerton/USA, Genf, Paris, London, Glenrothes/Schottland, Tokio, Kapstadt, Wien, Amsterdam, Stockholm

KNAUER

ELEKTRONISCHES MEMBRAN-OSMOMETER

schnellmessend

Bestimmung des kolloidosmotischen Druckes in allen Körperflüssigkeiten und von Molekulargewichten zwischen 10 000 und 1 000 000. Sonderausführung für Medizin für 50 µl Probenvolumen. Meßbereiche 2,5/5/10/20/40/80 cm Wassersäule. Preis DM 6 440,— + MWSt.

KG Dr. Ing. H. KNAUER

1 Berlin 37 (West) · Holstweg 18 · Tel. (0311) 84 87 05

Wir stellen aus: 4. Diagnostik-Woche, Düsseldorf, Stand 2, Stand 2008
Analytica 72, München, Halle 2, Stand 2301

Beim Städt. Behring-Krankenhaus ist ab sofort die Stelle eines

Dirigierenden Arztes

— BesGr. A 15 —

für das Chemische Zentrallaboratorium zu besetzen.

Kennziffer 495

Gesucht wird ein gründlich ausgebildeter, möglichst habilitierter Klinischer Chemiker oder Physiologischer bzw. Pathologischer Biochemiker. Facharzt für Laboratoriumsmedizin Bedingung.

Möglichkeiten zu weiteren wissenschaftlichen Arbeiten sind in reichem Maß gegeben. Umhabilitation an die Freie Universität zu Berlin ist möglich.

Es handelt sich um ein Städt. Krankenhaus mit 541 Betten, davon Innere Abteilung 205, Chirurgische Abteilung 174, Abteilung für Langfristig-Kranke 140, für Querschnittsgelähmte 22 Betten, ein Pathologisches Institut und ein Röntgeninstitut mit nuklearmedizinischer Abteilung — jeweils unter eigenen Chefärzten. Der Neubau eines Diagnostischen Zentralgebäudes für Röntgenologie, Nuklearmedizin, klinische und chemische Laboratorien wird angestrebt. Eine Erweiterung des Krankenhauses auf 850 bis 900 Betten ist geplant.

Das vorhandene, modern eingerichtete Chemische Zentrallaboratorium befaßt sich mit der gesamten Klinischen Chemie. Aus organisatorischen Gründen ist diesem Laboratorium das Haematologische-, Blutgerinnungs-, Blutgasanalyse- und Blutgruppen-Labor zugeordnet. Daneben besteht ein Kardiologisches und Pulmonologisches Laboratorium.

Bewerbungen sind mit den üblichen Unterlagen unter Angabe der Kennziffer innerhalb von drei Wochen nach Veröffentlichung an das Bezirksamt Zehlendorf von Berlin, Abt. Personal und Verwaltung, 1 Berlin 37, Kirchstr. 1—3, zu richten.

Analytica 72

Internationale Fachausstellung für
Biochemische und Instrumentelle
Analyse mit Europäischer Tagung:
Biochemische Analytik
München 25. bis 28. April 1972

Münchener Messe- u. Ausstellungsgesellschaft mbH, 8000 München 12, Postfach 200, Theresienhöhe 13, Tel. (0811) 7 67 11

Tab. 4

Präzision von Tag zu Tag des Autoanalyzer SMA 7 A. Die Werte mit dem Index 1 wurden aus täglichen 10fach-Bestimmungen¹⁾ einer bei 5° über 5 Tage aufbewahrten Blutprobe ermittelt, wobei der Zerfall von Zellen und die zeitliche Veränderung des mittleren Zellvolumens über ein Korrekturverfahren berücksichtigt wurden. Mit dem Index 2 sind die Werte der täglichen Bestimmungen einer Kontrollblutcharge (Dade CH 35) innerhalb der Laufzeit gekennzeichnet. $n = 14$

Bestimmung		$\bar{x}_1$	s_1	$V_1\%$	$\bar{x}_2$	s_2	$V_2\%$
Leukocyten	$10^3/\text{mm}^3$	5,2	0,3	5,1	5,6	0,7	11,6
PCV	l/l	0,446	0,013	2,8	0,300	0,006	2,0
Hb	g/l	161	1	0,7	147	2	1,5
Erythrocyten	$10^6/\text{mm}^3$	4,9	0,1	1,8	4,8	0,2	4,6
MCV	μm^3	94,4	4,1	4,4			
MCH	pg	33,9	0,7	2,2			
MCHC	%	37,1	1,1	3,0			

gerade durch die Meßpunkte der einzelnen Tage, dann kann in erster Näherung angenommen werden, daß die Gerade den Einfluß der Aufbewahrung unter den entsprechenden Temperaturbedingungen wiedergibt, da die Präzision in der Serie durch Verwendung der Mittelwerte von 10 Bestimmungen für jeden einzelnen Tagespunkt bereits berücksichtigt wird. Der jeweilige Abstand der Ausgleichskurve zum eingestellten Sollwert der ersten Probe kann als additives Korrekturglied für die Ermittlung der Tageswerte dienen. Aus den korrigierten Tageswerten der Blutproben haben wir dann die Präzision von Tag zu Tag errechnet (Tab. 4). Dabei erhält man für die bei 5° aufbewahrten Proben in allen Kanälen Präzisionen von Tag zu Tag, die kleiner sind als die mit der oben angeführten Differenzenmethode gefundenen und die annähernd doppelt so groß wie die Präzision in der Serie ausfallen (13). Die Standardabweichungen der unkorrigierten Werte

lassen beim Hämoglobingehalt keinen Unterschied zwischen den 3 Temperaturen erkennen, während die Erythrocytenzahl, die Leukocytenzahl und das Zellpackungsvolumen bei 0° und 22° größere Standardabweichungen als bei 5° zeigen (11, 14).

Zur Beurteilung der Analysenergebnisse ist es nötig zu wissen, ob lineare Abhängigkeit der Messungen von den Konzentrationen oder Teilchenzahlen über einen großen Meßbereich besteht. Dazu wurden Untersuchungen im SMA 7 A angestellt. Die ausgezeichneten Korrelationen zwischen berechneten und gemessenen Werten für Erythrocytenzahl, Leukocytenzahl, Zellpackungsvolumen und Hämoglobinkonzentration mit nahe bei 1 liegenden Korrelationskoeffizienten genügen den Ansprüchen weit über die praktisch in Frage kommenden Meßbereiche hinaus (Abb. 2). Die Linearisierung der Rechenwerte MCHC, MCH und MCV ist im SMA 7 A weniger gut. Im Bereich der Normalwerte

Abb. 2a

Abb. 2
Vergleich von berechneten und im SMA 7 A ermittelten Analysenwerten aus verdünnten Proben eines Blutes. Verdünnt wurde mit dem zugehörigen Plasma. Die Abbildung zeigt die Regressionsgeraden. Werte der Korrelationsrechnung:

Hb: $y = 4,20 + 0,994x$
 $sy \cdot x = \pm 3,87$; $r = 0,998$
 Erythrocyten: $y = 0,060 + 1,017x$
 $sy \cdot x = \pm 0,221$; $r = 0,993$
 Leukocyten: $y = 0,172 + 1,003x$
 $sy \cdot x = \pm 1,70$; $r = 0,999$
 PCV: $y = 0,006 + 1,046x$
 $sy \cdot x = \pm 0,064$; $r = 0,996$

Abb. 2b

Abb. 3

Abweichung der vom SMA 7 A errechneten Werte für MCV, MCH und MCHC von theoretischen Werten, die sich aus simulierten Gehalten von Hb, Erythrocyten und PCV ergeben hätten. Zur Simulation der Gehalte wurde uns eine konstante Spannungsquelle von der Fa. Technicon zur Verfügung gestellt

beträgt die Abweichung der angezeigten Werte von den mit Hilfe eines Zusatzgerätes eingestellten Werten -2 bis $+3\%$. Bei hohen Werten erreicht die Abweichung $+5\%$, bei niedrigen -14% vom theoretischen Wert. Wie Abbildung 3 zeigt, tritt unterhalb einer bestimmten Grenze außerdem eine scharfe Umkehr der Abweichung ein.

Bedingt durch den kontinuierlichen Proben- und Reagenzientransport erhält man im SMA 7 A einen Verschleppungsfehler. Hinzu kommt die Verschleppung benachbarter Blutproben durch das notwendig intensive Aufrühren vor der Probenentnahme. Das Ausmaß der Beeinflussung einer Probe durch die vorhergehende (interaction) kann nach HJELM (15) bestimmt werden. Wir haben das Verfahren in modifizierter Weise zur Ermittlung der Verschleppung bei aufeinanderfolgenden Proben mit hohen und niedrigen

Abb. 4 a

Beeinflussung einer Probe durch eine vorangehende höhere Probe

$$q_1 \text{ gesamt} = \frac{C_5 - C_6}{C_4 - C_5}$$

$$q_1 \text{ Rührer} = \frac{C_7 - C_6}{C_4 - C_7}$$

Beeinflussung einer Probe durch eine vorangehende niedrigere Probe

$$q_2 = \frac{C_4 - C_3}{C_3 - C_2}$$

Abb. 4 b

Abb. 4

Reihenfolge von Proben mit Plasma (1, 2, 5, 6) und Blut (3, 4) zur Ermittlung der Verschleppungskoeffizienten q_1 und q_2 . Δ_1 = durch Probe 2 verursachte Erniedrigung des Gehaltes von Probe 3. Δ_2 = durch Probe 4 insgesamt verursachte Erhöhung des Gehaltes von Probe 5. Δ_3 = durch den Rührer aus Probe 4 in Probe 5 verschleppter Anteil

(q_1) bzw. niedrigen und hohen (q_2) Gehalten benutzt. Der von den Rührern verursachte Anteil wurde gesondert bestimmt. Abbildung 4 erläutert die Berechnung der Verschleppungskoeffizienten q_1 und q_2 . Mit den Koeffizienten werden die entsprechenden Meßwerte nach der von HJELM gegebenen Formel korrigiert. Die Formel der Originalarbeit (15) enthält offensichtlich einen Vorzeichenfehler; wir haben die nachstehende Formel verwendet:

$$C_n \text{ kor.} = C_n + q (C_n - C_{n-1})$$

Tabelle 5 enthält die Verschleppungskoeffizienten der SMA 7 A-Kanäle. Bei den Leukocyten werden $4-6\%$, in den anderen Kanälen $1-2\%$ der Differenz zur vorhergehenden Probe in die nachfolgende Probe verschleppt. Der durch den Rührer verursachte Anteil läßt sich gesondert erfassen, wenn der verbleibende Rest der Probe in Position 5 anschließend in Position 7

Tab. 5

Verschleppungsfehler im SMA 7 A. Die ermittelten Koeffizienten q_1 bzw. q_2 zeigen das Ausmaß der Verschleppung bei höherem bzw. niedrigerem Gehalt¹⁾ in der vorhergehenden Probe. Die Berechnung der Koeffizienten geht aus Abbildung 4 hervor. $n = 10$

Bestimmung	gesamt	q_1	Rührer	q_2
Leukocyten	0,045	0,019		0,058
PCV	0,011	0,010		0,020
Hb	0,012	0,008		0,023
Erythrocyten	0,018	0,010		0,023

analysiert wird. Differenzen zwischen der in Position 5 und Position 7 gemessenen Probe können nicht mehr durch den Rührer verursacht sein (vgl. Abb. 4).

Einige Probleme bestehen hinsichtlich der Richtigkeit von Analysen in hämatologischen Automaten. Untersucht man dieselbe Blutprobe mit verschiedenen Methoden oder Geräten, erhält man auch bei strenger Einhaltung der Gerätebedienungs- und Kalibrierungsvorschriften differierende Absolutwerte (16, 17). Unter den hier beschriebenen Kalibrierungsbedingungen fanden wir sowohl im Coulter Counter F als auch im SMA 7 A von Charge zu Charge wechselnde und oft erhebliche Abweichungen der Leukocyten und des CCV gegenüber den Sollwerten der Kontrollblute Dade CH 35 und Technicon MHR. Ähnliche Unterschiede ergaben sich auch bei einem frischen Sekundärstandard-Blut, das in 50 Teile aufgeteilt und analysiert wurde (Tab. 6). Je 10 Blute wurden gleichzeitig im SMA 7 A, im Coulter Counter S und im Coulter Counter F hintereinander analysiert. 10 Hämoglobinwerte wurden außerdem im Eppendorf Photometer und 10 Hämatokritwerte in einer Mikrohämatokritzentrifuge ermittelt. Durch Bildung der Mittelwerte der Zehnfachbestimmungen sind die Schwankungen der Präzision in der Serie weitgehend ausgeglichen. Wie die Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungsmethoden anzeigen, unterscheiden sich die Werte bis zu 17% voneinander. Die Differenzen betragen in fast allen Fällen ein Mehrfaches der Größe der Präzision in der Serie. Im t-Test (unter Verwendung der Präzision in der Serie der jeweiligen Methoden) unterscheiden sich 11 der 20 Kombinationen signifikant ($p < 0,01$).

Aufgrund der Kalibrierung stimmen die Erythrocytenzahlen des Coulter Counter F und des SMA 7 A gut überein. Dagegen differieren die entsprechenden Werte der beiden Coulter Counter. Besonders unterschiedlich fallen die Leukocytenzahlen zwischen den Technicon- und den Coulter-Geräten aus. Die gute

Übereinstimmung der CCV-Werte des SMA 7 A und der PCV-Werte aus der Zentrifugenbestimmung ist bedingt durch die Kalibrierung des CCV-Kanals mit einer stabilen Salzlösung gleichbleibender Qualität. Man kann die Leitfähigkeit der Salzlösung als gleichbleibend richtig betrachten. Für Blute von subjektiv gesunden Probanden erhielten wir gute Korrelationen zwischen dem CCV und dem Hämatokritwert. Die entsprechenden Werte des Coulter Counter S und F korrelieren zwar gut miteinander, weichen aber signifikant von den Zentrifugenwerten ab.

Zur Bestimmung des Hämoglobins im Coulter Counter S und im SMA 7 A sowie mit dem Eppendorf-Photometer dienen stabile Cyanhämoglobin-Lösungen als Standard. Deshalb ist in diesen Fällen die befriedigende Richtigkeit der Bestimmungen in bezug auf den Standard erklärlich. Wir konnten nicht prüfen, ob die nur in größeren Zeitabständen durchzuführende Kalibrierung des Coulter Counter S eine gleichbleibende Richtigkeit gewährleistet. Für den SMA 7 A ist eine gleichbleibende Richtigkeit dann gegeben, wenn zur Einstellung ein käuflicher Hb-Standard benutzt wird, der wöchentlich durch 10fach-Bestimmungen am Eppendorf-Photometer kontrolliert wird.

Diskussion

Aus den Werten für die Wiederholbarkeit der Bestimmungen von Blutbestandteilen im SMA 7 A und im Coulter Counter S geht hervor, daß beide Automaten Analyseergebnisse gleicher Qualität liefern. Bei den PCV-Werten ist die Streuung der Handmethode doppelt so groß, bei den Hämoglobinwerten gleich groß. Leukocyten- und Erythrocytenzählung können unter Benutzung von Präzisionszählkammern zwar mit vergleichbarer Präzision wie in den Automaten erstellt werden; der Aufwand für die Handbestimmungen ist aber ungleich größer.

Tägliche Kontrollen der Präzision können sowohl mit käuflichen Kontrollbluten als auch mit Spenderbluten durchgeführt werden. Die auf dem Markt befindlichen Kontrollblute haben z. Zt. eine Laufdauer von etwa 20 Tagen. Wir benutzen unter Einsatz von billigerem Nativblut zwei Verfahren zur Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag (bei den Automatenanalysen spricht man richtiger von Präzisionen bei unterbrochenen Analysenläufen): Eine tägliche Blutentnahme bei gesunden Spendern gestattet die Gewinnung von Blut-

Tab. 6

Vergleich der Ergebnisse bei der Analyse des gleichen Blutes¹⁾ im Autoanalyzer SMA 7 A (Index 1), Coulter Counter S (2), Coulter Counter F (3), Mikrohämatokrit-Zentrifuge (4) und Eppendorf-Photometer (5). Der Coulter Counter S wurde wenige Tage vor Beginn der Untersuchung vom Gerätehersteller eingestellt. Die Schwellenwerte für die Leukocyten- und Erythrocyten-Zählung im Coulter Counter F wurden für die Tests sorgfältig bestimmt. Die Kalibrierung des SMA 7 A ist im Text beschrieben. $\bar{D}_{1-2}\%$ ist die Differenz zwischen $\bar{x}_1$ und $\bar{x}_2$ in Prozent von $\bar{x}_1$ usw. Die mit einem Stern gekennzeichneten Differenzen sind mit $p < 0,01$ statistisch im t-Test gesichert. $n = 10$

Bestimmung		$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$	$\bar{x}_3$	$\bar{x}_4$	$\bar{x}_5$	$\bar{D}_{1-2}\%$	$\bar{D}_{1-3}\%$	$\bar{D}_{1-4}\%$	$\bar{D}_{1-5}\%$	$\bar{D}_{2-3}\%$	$\bar{D}_{2-4}\%$	$\bar{D}_{2-5}\%$	$\bar{D}_{3-4}\%$	$\bar{D}_{3-5}\%$
Leukocyten	$10^3/\text{mm}^3$	7,65	6,64	6,91			13,2*	9,7*			—4,1				
PVC	l/l	0,378	0,403	0,416	0,370		—6,7*	—9,4*	2,0		—3,2	8,1*			10,9*
Hb	g/l	119,4	126,5			124,9	—5,9*			—4,6			1,3		
Erythrocyten	$10^6/\text{mm}^3$	4,13	4,26	4,05			—3,1	1,9			4,9*				
MCV	μm^3	89,4	95,3	104,6			—6,6*	—17,0*			—9,7*				
MCH	pg	28,56	29,96				—4,9								
MCHC	%	32,19	31,36				2,6								

werten, deren Streuung methodisch und biologisch bedingt ist. Unter Zuhilfenahme der Differenzen zwischen den täglichen Paaren kann man eine Präzision von Tag zu Tag errechnen, die uns als ein brauchbares Maß zur Beurteilung der hämatologischen Parameter erscheint. Das Verfahren ist aber in der Berechnung recht umständlich. Kleinere Präzisionen von Tag zu Tag rein methodischer Natur erhält man mit einem zweiten Verfahren, wobei ein Blut bei 5° aufbewahrt wird und über etwa 5 Tage als täglicher Standard dient. Der Zerfall von korpuskulären Bestandteilen läßt sich näherungsweise rechnerisch eliminieren. Wir glauben, daß ein solches Korrekturverfahren sinnvolle Werte ergibt. Das geht z. B. daraus hervor, daß korrigierte Präzisionen von Tag zu Tag auch dann gut übereinstimmen, wenn das Blut unter verschiedenen Temperaturen gelagert wird und entsprechend verschieden starken Zerfall von Erythrocyten und Leukocyten aufweist. Eine von LUBRAN und MARTENS (18) angegebene Methode, die von Häufigkeitsverteilungen täglicher Doppelanalysen von Kontrollbluten ausgeht, erscheint uns unschärfer als das hier beschriebene Vorgehen.

Die Größe des Verschleppungsfehlers bei den Autoanalyser-Systemen wird häufig überschätzt. Wir fanden beim SMA 7 A mit Ausnahme des Leukocytenkanals Verschleppungen einer Probe in die nachfolgende Probe, die nicht wesentlich über 2% der Differenz zum vorhergehenden Wert liegen. Selbst bei aufeinanderfolgenden Proben mit extrem hohen und extrem niedrigen pathologischen Werten bleiben die Fehler kleiner als die Präzision in der Serie. Das gilt nicht für den Leukocytenkanal, wo bei der oben beschriebenen Konstellation Fehler durch Verschleppung bis zum 10fachen Betrag der Präzision in der Serie auftreten können. In diesen Fällen analysiert man hintereinander stehende Doppelproben und verwendet nur das zweite Ergebnis.

Die korrekte Bestimmung der Richtigkeit setzt voraus, daß die betreffende Substanz oder Standardlösung von einem Standardbüro in gleichbleibender höchster Reinheit, stabiler Form und mit genau beschriebenen phy-

sikalischen und chemischen Eigenschaften erhältlich ist. Ersatzweise könnte die Herstellung des Standards entsprechend ausführlich beschrieben werden. Die Richtigkeit der Teilchenzählungen läßt sich durch die Ermittlung der wahren Erythrocyten- und Leukocytenzahl in einer Blutprobe und sofortige Verwendung dieses Blutes als Kontrollprobe prüfen. Die Ermittlung der wahren Teilchenzahl geschieht am besten durch häufiges, sorgfältiges Auszählen in geeichten Zählkammern und anschließender Mittelwertbildung. Automatisierte Teilchenzählungen, etwa nach dem Coulter-Prinzip sind noch mit methodischen Fehlern behaftet und können daher nicht als einwandfreie Referenzmethoden betrachtet werden (19).

Die korrekte Bestimmung des Zellpackungsvolumens setzt die Einhaltung der DIN-Norm 58 933 voraus (20). Da das mittlere Zellvolumen der Erythrocyten bei Lagerung aber zunimmt (10, 11), kann das wahre Zellpackungsvolumen nur in Abhängigkeit von der Zeit angegeben werden. Eine Standard-Salzlösung konstanter Leitfähigkeit ist demgegenüber leicht zu schaffen. Da die Korrelation zwischen CCV- und Hämatokrit-Werten zumindest bei Normalbluten gut ist (21), wäre die Prüfung der Richtigkeit auf der Grundlage einer Leitfähigkeitsmessung eine einfache Lösung.

Für die Richtigkeit der Hämoglobinbestimmungen gelten die gleichen Überlegungen, die bei den Serumbestandteilen angestellt werden und die auf die Schaffung definierter Richtigkeitskontrollproben hinauslaufen. Erste Vorschriften sind in der DIN-Norm 58 931 enthalten. Die Richtigkeit der MCV-, MCH- und MCHC-Werte hängt — mit methodischen Einschränkungen, wie sie hier für den SMA 7 A beschrieben werden — von der Richtigkeit der Bestimmung der Bestandteile ab, die den Berechnungen zugrunde liegen.

Wir danken Herrn Dr. K. G. VON BOROVICZÉNY, Berlin, für kritische Hinweise.

Literatur

1. GREEN, A. E., V. L. MIDDLETON, K. G. PRENTIS und A. G. SIGNY, *J. clin. Path.*, London 22, 19 (1969). — 2. LAPPIN, T. R. J., A. LAMONT und M. G. NELSON, *J. clin. Path.*, London 22, 11 (1969). — 3. PINKERTON, P. H., I. SPENCE, J. C. OGILVIE, W. A. RONALD, P. MARCHANT und P. K. RAY, *J. clin. Path.*, London 23, 68 (1970). — 4. SHARP, A. A. und B. C. D. BALLARD, *J. clin. Path.*, London 23, 327 (1970). — 5. DUTCHER, T. F., S. A. DESMOND und L. GREENFIELD, *Amer. J. clin. Path.* 55, 302 (1971). — 6. NELSON, M. G., *J. clin. Path.*, London 22, supp. (Coll. Path.), 3, 20 (1969). — 7. BRITTON, G. M., G. BRECHER und C. A. JOHNSON, *Amer. J. clin. Path.* 52, 679 (1969). — 8. HOFFMEISTER, H. und B. JUNGE, *diese Z.* 8, 116 (1970). — 9. HOFFMEISTER, H. und B. JUNGE, *diese Z.* 8, 613 (1970). — 10. HOFFMEISTER, H., B. JUNGE und J. SCHLEGEL, Technicon Symposium, Frankfurt/Main 1971. — 11. HOFFMEISTER, H., *Bundesgesundheitsblatt* 14, 285 (1971). — 12. KRAUSE, W., Technicon Symposium, Bad Homburg 1970. — 13. STAMM, D. und H. BÜTTNER, *diese Z.* 7, 393 (1969). — 14. HOFFMEISTER, H. und E. JAHN, Technicon Intern. Symposium, Tokio, Japan 1971. — 15. HJELM, M., *Z. analyt. Chem.* 243, 781 (1968). — 16. ROSENFELD, R. E., J. DEBROT und K. M. NEGER-SMITH, Technicon Symposium, New York, USA (1966). — 17. V. BOROVICZÉNY K. G., F. SCHRÖDER und C. TISCHER, *GIT Fachz. Lab.*, Sonderheft Labormedizin 450, Mai 1969. — 18. LUBRAN, M. und V. E. MARTENS, Technicon Symposium, New York, USA (1967). — 19. KACHEL, V. *Umschau* 71, 746 (1971). — 20. SCHLIMBACH, H. P. und K. G. v. BOROVICZÉNY, *Ärzt. Lab.* 17, 78 (1971). — 21. AVENARIUS, A. und K. G. v. BOROVICZÉNY, *GIT Fachz. Lab.* 11, 1083 (1967).

Prof. Dr. H. Hoffmeister
Bundesgesundheitsamt
1000 Berlin 33, Postfach