

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Ruland)

**Bestimmung der Referenzbereiche für die Parameter des
großen Blutbildes und der Retikulozyten gesunder Erwachsener
mit den Hämatologie-Analysensystemen Siemens ADVIA 120,
Abbott CELL-DYN Sapphire, Sysmex XT-2000i und Sysmex XE-2100**

Heike Julia Blaha-Kaplans

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny
Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. H. H. E. Baum
2. Univ.-Prof. Dr. J. Ruland

Die Dissertation wurde am 03.04.2012 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.11.2012 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
Abkürzungsverzeichnis	VI
1. Einleitung.....	1
1.1 Das Blutbild	1
1.2 Historie der hämatologischen Laboratoriumsdiagnostik	2
1.3 Die Blutbildbestimmung heutzutage.....	4
1.4 Das Referenzwert-Konzept.....	5
1.5 Fragestellungen und Zielsetzungen	9
2. Material und Methoden.....	11
2.1 Charakterisierung der Referenzstichprobe.....	11
2.1.1 Probanden	11
2.1.2 Herkunft	11
2.1.3 Alter und Einteilung in Altersklassen	11
2.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien	11
2.2 Präanalytik und Analytik.....	12
2.3 Hämatologie-Analysengeräte.....	13
2.3.1 Siemens ADVIA 120	14
2.3.1.1 Erythrozytenanalytik	15
2.3.1.2 Thrombozytenanalytik	15
2.3.1.3 Retikulozytenanalytik.....	16
2.3.1.4 Hämoglobinmessung.....	17
2.3.1.5 Leukozytenanalytik.....	17
2.3.1.5.1 Peroxidasemethode	17
2.3.1.5.2 Basophilen-/Lobularitätsmethode.....	18
2.3.1.6 Materialien zur Qualitätskontrolle.....	19
2.3.2 Abbott CELL-DYN Sapphire.....	19
2.3.2.1 Erythrozytenanalytik	21
2.3.2.2 Thrombozytenanalytik	21

2.3.2.3 Retikulozytenanalytik.....	22
2.3.2.4 Hämoglobinmessung.....	23
2.3.2.5 Leukozytenanalytik.....	23
2.3.2.6 Materialien zur Qualitätskontrolle.....	24
2.3.3 Sysmex XE-2100 und Sysmex XT-2000i.....	24
2.3.3.1 Erythrozytenanalytik.....	26
2.3.3.2 Thrombozytenanalytik.....	26
2.3.3.3 Retikulozytenanalytik.....	27
2.3.3.4 Hämoglobinmessung.....	27
2.3.3.5 Leukozytenanalytik.....	28
2.3.3.5.1 WBC/BASO-Kanal.....	28
2.3.3.5.2 4-DIFF-Kanal.....	28
2.3.3.6 Materialien zur Qualitätskontrolle.....	29
2.4 Statistische Auswertung.....	29
2.4.1 Ermittlung der Referenzbereiche.....	29
2.4.2 Geschlechtsspezifische Referenzbereiche.....	30
2.4.3 Gerätevergleich.....	32
2.4.4 Lagerungsstabilität der Blutproben.....	33
2.5 Bestimmung der Präzision.....	33
2.5.1 Wiederholpräzision.....	33
2.5.2 Präzision von Serie zu Serie.....	33
3. Ergebnisse.....	35
3.1 Referenzbereiche.....	35
3.1.1 Siemens ADVIA 120.....	35
3.1.2 Abbott CELL-DYN Sapphire.....	36
3.1.3 Sysmex XT-2000i.....	36
3.1.4 Sysmex XE-2100.....	36
3.2 Gerätevergleich.....	37
3.2.1 Erythrozytäre Kenngrößen.....	37
3.2.2 Thrombozyten.....	38

3.2.3 Retikulozyten	39
3.2.4 Leukozyten und Differenzierung.....	39
3.3 Lagerungsstabilität der Blutproben.....	40
3.3.1 Siemens ADVIA 120	40
3.3.2 Abbott CELL-DYN Sapphire.....	41
3.3.3 Sysmex XT-2000i.....	41
3.3.4 Sysmex XE-2100	42
3.4 Präzision.....	42
3.4.1 Wiederholpräzision.....	42
3.4.1.1 Siemens ADVIA 120.....	43
3.4.1.2 Abbott CELL-DYN Sapphire	43
3.4.1.3 Sysmex XT-2000i	43
3.4.1.4 Sysmex XE-2100.....	44
3.4.2 Präzision von Serie zu Serie	44
3.4.2.1 Siemens ADVIA 120.....	45
3.4.2.2 Abbott CELL-DYN Sapphire	45
3.4.2.3 Sysmex XT-2000i	46
3.4.2.4 Sysmex XE-2100.....	46
4. Diskussion	48
4.1 Referenzbereiche	48
4.1.1 Referenzbereiche für die Erythrozytenparameter	54
4.1.2 Referenzbereiche für die Thrombozytenparameter	60
4.1.3 Referenzbereiche für die Retikulozytenparameter.....	65
4.1.4 Referenzbereiche für die Leukozytenparameter.....	70
4.1.5 Schlussfolgerungen.....	75
4.2 Lagerungsstabilität hämatologischer Parameter	77
4.2.1 Lagerungsstabilität der Erythrozytenparameter	77
4.2.2 Lagerungsstabilität der Thrombozytenparameter	79
4.2.3 Lagerungsstabilität der Retikulozytenparameter.....	80
4.2.4 Lagerungsstabilität der Leukozytenparameter.....	81

4.2.5 Schlussfolgerungen.....	84
4.3 Präzision.....	85
4.3.1 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Erythrozytenparameter.....	85
4.2.3 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Thrombozytenparameter.....	86
4.3.3 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Retikulozytenparameter	87
4.3.4 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Leukozytenparameter	89
5. Zusammenfassung.....	91
Literaturverzeichnis	93
Tabellenverzeichnis	105
Anhangsverzeichnis.....	106
Anhang A: Abbildungen	109
Anhang B: Tabellen.....	123
Danksagung.....	143
Lebenslauf	144

Abkürzungsverzeichnis

AK	Altersklasse
BASO	basophile Granulozyten (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
CD	CELL-DYN Sapphire
CHCM	direkt gemessene mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration
CHr	Hämoglobingehalt der Retikulozyten
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EOS	eosinophile Granulozyten (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
fl	Femtoliter
FL	Fluoreszenz (FL 1 = 530 nm Fluoreszenz, grün; FL 2 = 570 nm Fluoreszenz, orange; FL 3 = 630 nm Fluoreszenz, rot)
HCT	Hämatokrit
HFR	stark fluoreszierende Retikulozyten
HGB	Hämoglobinkonzentration
H-RTC	stark absorbierende Retikulozyten
ICSH	International Committee for Standardisation in Haematology
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IG	unreife Granulozyten
IRF	Fraktion der unreifen Retikulozyten
IVD	In-vitro-Diagnostika
KI	Konfidenzintervall
LFR	wenig fluoreszierende Retikulozyten
L-RTC	schwach absorbierende Retikulozyten
LUC	Large Unstained Cells = Peroxidase-negative Zellen (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
LYM	Lymphozyten (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
M	Mittelwert
MCH	mittlerer zellulärer Hämoglobingehalt
MCHC	mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration
MCV	mittleres zelluläres Volumen
MFR	mäßig stark fluoreszierende Retikulozyten
MPV	mittleres Plättchenvolumen
M-RTC	mittelstark absorbierende Retikulozyten
n	Anzahl

NCCLS	National Committee on Clinical Laboratory Standards
NEUT	neutrophile Granulozyten (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
NRBC	kernhaltige Erythrozyten
n. s.	nicht signifikant
PCT	Plättchenkrit bzw. Thrombokrit
PDW	Verteilungsbreite der Thrombozyten
pg	Pikogramm
PLCR	prozentualer Anteil der Thrombozyten, die größer als 12 fl sind
PLT	Thrombozytenzahl (PLT = Thrombozytenkonzentration mittels Impedanzmethode gemessen; PLT-O = Thrombozytenkonzentration optisch gemessen)
RBC	Erythrozytenzahl (RBC = Erythrozytenkonzentration mittels Impedanzmethode gemessen; RBC-O = Erythrozytenkonzentration optisch gemessen)
RDW	Erythrozytenverteilungsbreite
RDW-SD	Standardabweichung der Erythrozytenverteilungsbreite
RET	Retikulozytenzahl (# = absolute Konzentration, % = relativer Anteil)
Ret-He	Hämoglobingehalt der Retikulozyten
RNA	Ribonukleinsäure
RPI	Retikulozytenreproduktionsindex
SD	Standardabweichung
SLS	Sodium-Lauryl-Sulfat
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
VK	Variationskoeffizient
WBC	Gesamtleukozytenzahl
WBC-B	Gesamtleukozytenzahl gemessen im Basophilen-/Lobularitätskanal (ADVIA 120), entspricht WBC
WBC-P	Gesamtleukozytenzahl gemessen im Peroxidasekanal
WVF	Fraktion der lebensfähigen Leukozyten
#	Kontrollblutcharge

Anmerkung: Die Handelsnamen der Hämatologie-Analysensysteme **Siemens ADVIA®120 Hematology System**, **Abbott CELL-DYN™Sapphire**, **Sysmex XE-2100™** und **Sysmex XT-2000i™** sind geschützte Begriffe. Wegen der besseren Lesbarkeit wurde daher die Kennzeichnung ® und ™ innerhalb der Dissertation weggelassen.

1. Einleitung

1.1 Das Blutbild

Das Blut bildet im menschlichen Körper ein äußerst komplexes Organsystem. Beim Erwachsenen setzt sich das Blut zu etwa 45 % aus zellulären und zu 55 % aus flüssigen Bestandteilen zusammen. Alle Blutzellen stammen von gemeinsamen pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks ab. Am Ende vieler Differenzierungs- und Reifungsschritte der Vorläuferzellen werden die roten und weißen Blutzellen sowie die Thrombozyten aus dem Knochenmark in das periphere Blut abgegeben. Das Blut als Ganzes übernimmt wichtige Aufgaben wie den Transport von Stoffwechselprodukten, den Gasaustausch, die Immunabwehr und die Blutgerinnung (65).

Die Untersuchung von Blutzellen leistet, neben Anamnese und klinischer Untersuchung, für die Diagnostik und Verlaufskontrolle von Erkrankungen einen wichtigen Beitrag. Denn nicht nur hämatologische Erkrankungen weisen Blutbildveränderungen auf (25 S. 232; 37 S. 401). Dörner betont, dass praktisch jede systemische und (fast) jede Organerkrankung sekundär hämatologische Manifestationen aufweise (25 S. 232). Daher ist die Bestimmung des Blutbildes eines der am häufigsten durchgeführten Analyseverfahren sowohl im klinischen als auch im niedergelassenen Bereich (37 S. 401). Die Abklärung einer Anämie, einer Leukozytose und einer Leukopenie steht hierbei für den Arzt im Vordergrund (25 S. 232).

Es wird zwischen einem „kleinen“ und einem „großen“ Blutbild unterschieden. Das kleine Blutbild beinhaltet die Zählung der zellulären Bestandteile, die Erythrozyten (RBC), Leukozyten (WBC) sowie die Thrombozyten (PLT), die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration (HGB), des Hämatokrits (HCT) und der Erythrozytenindizes. Diese setzen sich aus dem mittleren Erythrozytenvolumen (MCV), dem mittleren zellulären Hämoglobingehalt (MCH) und der mittleren Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) zusammen und werden anhand der folgenden Formeln berechnet: (25 S. 233 ff.; 37 S. 401 ff.)

$$MCV (fl) = \frac{HCT (l/l) * 10}{RBC (10^{12}/l)} \quad MCH (pg) = \frac{HGB (g/dl) * 10}{RBC (10^{12}/l)} \quad MCHC (g/dl) = \frac{HGB (g/dl) * 100}{HCT (l/l)}$$

Bei der Anforderung eines kleinen Blutbildes ermitteln moderne Hämatologie-Analysengeräte weitere Parameter, die dem anfordernden Arzt nicht routinemäßig auf dem Laborbefund mitgeteilt werden. Hierzu gehört die Erythrozytenverteilungsbreite (RDW) als ein Maß für die Anisozytose der Erythrozyten, das mittlere Plättchenvolumen (MPV), die Verteilungsbreite der Thrombozyten (PDW) als Quantität für die Anisozytose der Blutplättchen und der Thrombokrit (PCT).

Die Messung des kleinen Blutbildes findet Anwendung bei Verdacht auf Störungen des blutbildenden Systems, bei einer Anämieabklärung, in der Präventivmedizin, bei unklaren Blutungen und zum Ausschluss einer Blutungsneigung (61 S. 26).

Beim großen Blutbild, welches auch als Differenzialblutbild bezeichnet wird, werden zusätzlich die Leukozyten in Subgruppen differenziert: neutrophile (NEUT), eosinophile (EOS) und basophile (BASO) Granulozyten, Lymphozyten (LYM) und Monozyten (MONO) (25 S. 232; 37 S. 401). Indikationen zur Bestimmung eines Differenzialblutbildes sind Leukozytose, Leukopenie, Infektionen, Intoxikationen, Malignome, Systemerkrankungen, Verdacht auf Knochenmarkerkrankung, Destruktion, Verbrauch oder reaktive Vermehrung (61 S. 26).

Um einen Einblick in die erythropoetische Knochenmarkaktivität zu gewinnen, wird ergänzend noch der Anteil Erythrozyten bestimmt, der noch RNA enthält. Diese Zellen werden als Retikulozyten (RET) bezeichnet (112 S. 702). Hämatologiegeräte jüngerer Generation analysieren gleichzeitig mit RET den Anteil unreifer Retikulozyten (IRF), der aber in der Regel nicht mit dem Laborbefund dem Kliniker oder dem Niedergelassenen übermittelt wird. Die Retikulozytenpopulation wird je nach RNA-Gehalt in drei Reifungsstufen unterteilt: wenig fluoreszierende RET (LFR), mäßig stark fluoreszierende RET (MFR) und stark fluoreszierende RET (HFR), wobei $MFR + HFR = IRF$ (112 S. 705).

Abhängig vom verwendeten Analysensystem werden weitere Parameter bestimmt. Beispiele dafür sind der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (Ret-He), die lebensfähige Fraktion der Leukozyten im Verhältnis zur WBC-Gesamtzahl (WVF) oder Large Unstained Cells (LUC) – große Peroxidase-negative Zellen – zu welchen unter anderem große Lymphozyten, lymphozytäre Reizformen, Plasmazellen und Lymphoblasten gezählt werden und die neben den oben beschriebenen Leukozytensubpopulationen als Sechste aufgeführt wird.

1.2 Historie der hämatologischen Laboratoriumsdiagnostik

Die Geschichte der hämatologischen Laboratoriumsdiagnostik reicht mehr als 2500 Jahre zurück und hat ihre Anfänge in Griechenland. Schon Hippokrates (460-377) beobachtete, ob sich auf gesammeltem Aderlassblut eine Crusta phlogistica (Speckhaut) bildete und deutete deren Vorhandensein als prognostisch ungünstiges Zeichen. Seit Aristoteles (384-322) wurden häufig Farb-, Geschmacks-, und Geruchsprüfungen am Blut durchgeführt. Da es an technischen Voraussetzungen mangelte, ergibt sich, dass es im Altertum und Mittelalter noch recht wenig hämatologische Laboratoriumsdiagnostik gegeben hat (9).

Mit der Erfindung des Mikroskops gegen Ende des 16. Jahrhunderts durch H. und Z. Janssen konnte sich die Hämatologie von nun an fortwährend weiterentwickeln. Bereits im 17. Jahrhundert gelang es Wissenschaftlern, wie P. Borel, M. Malpighi, J. Swamerdamm und A. van Leeuwenhoek, Blutzellen zu erkennen und diese zu beschreiben. Van Leeuwenhoek konnte eindeutig rote und weiße Blutkörperchen voneinander unterscheiden. Zudem berichtete er bereits vor mehr als 300 Jahren über deren morphologische Veränderungen während fieberhaften Erkrankungen. Der Begriff Hämatologie taucht um 1740 erstmals auf, beschränkt sich aber erst seit dem 19. Jahrhundert nur auf die chemische und physikalische Blutuntersuchung. Vorher ordnete man ihr alles, was mit Blut zusammenhängt, wie auch Kreislauf und Kardiologie, zu. Erst um 1820 entdeckte E. Home die Thrombozyten und H. Nasse beschrieb ihre Aufgabe in der Blutgerinnung und unterschied schon zwischen segmentkernigen und rundkernigen Leukozyten (9).

Die Weiterentwicklung des Mikroskops war wichtig für die Hämatologie, ebenso dessen Einführung in die Klinik und Forschung. F. Vierordt bestimmte 1852 erstmals quantitativ die Blutkörperchen, zwei Jahre später H. Welcker die Leukozyten. P. Ehrlich führte 1877 die Färbung in der Hämatologie ein, diese wurde von G. Giemsa, J. H. Wright, R. May, L. Grünwald und A. Pappenheim weiterentwickelt. Nun war es möglich, die Leukozyten zu differenzieren und wesentliche Fragen in Bezug auf die Hämatopoese zu klären (9).

In der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts war es in der Klinik weit verbreitet, Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten mittels spezieller Zählkammern, die in speziellen Fällen auch heute noch eingesetzt werden, zu zählen und Hämoglobin sowie Hämatokrit manuell zu bestimmen. Gleichzeitig untersuchte man mikroskopisch gefärbte Blutaussstriche, um einen umfassenden Befund zu erhalten (8). W. Coulter entwickelte in den 1950er Jahren das erste Hämatologiegerät, welches unter Verwendung des Impedanzprinzips eine elektronische Zählung und Größenbestimmung von Zellen ermöglichte. Der „Coulter Counter“ revolutionierte die bis dahin gebräuchliche umständliche und unpräzise Kammerzählung in den klinischen Laboratorien. Anfang der 70er Jahre entwickelte Technicon Corporation den Hemalog D, der erste Automat, welcher durch Kombination von zytochemischer Färbung und Durchflusszytometrie Leukozyten differenzieren konnte (8; 97 S. 6 f.). Seit den 80er Jahren ist es möglich, die Blutzellzählung und Leukozytendifferenzierung in einem Multiparameter-Hämatologie-Analysensystem zu vereinen (8). Seither gab es enorme Fortschritte bei den Blutzellgeräten im Hinblick auf neue Parameter und immer neuere Messtechniken, Reagenzien sowie Softwarepakete.

1.3 Die Blutbildbestimmung heutzutage

Die Blutzellzählung und -differenzierung wird gegenwärtig überwiegend maschinell mit Hämatologie-Analysensystemen durchgeführt (25 S. 232; 37 S. 401). Die Automaten arbeiten sehr effizient und präzise (7; 115 S. 755; 125), da sie innerhalb weniger Sekunden eine sehr große Zahl an Zellen analysieren (7). Aber trotz des technischen Fortschritts ist die zeitaufwendige und unpräzise mikroskopische Untersuchung eines gefärbten Blutausstriches immer noch eine essenzielle Komponente im hämatologischen Alltag (7; 8; 115 S. 755). Die Geräte sind im Hinblick auf die Zellzählung sowie bei der Differenzierung von reifen Leukozyten der Mikroskopie überlegen (8), allerdings können sie Zellen nur hinsichtlich physikalischer Eigenschaften wie zum Beispiel Größe, Widerstand und Lichtstreuung beurteilen (125). Bei der mikroskopischen Begutachtung eines Blutausstriches erhält der Untersucher hingegen einen direkten Einblick in die Morphologie der Blutzellen, was mit der automatisierten Zählung und Differenzierung allein nicht möglich ist (115 S. 755). Beispielsweise können mit Hilfe des Mikroskops atypische Zellpopulationen, vor allem unreife Zellen, genauer charakterisiert (8), morphologische Veränderungen der Zellen evaluiert und ausgeprägte Abweichungen der Zellzahl verifiziert werden (115 S. 755).

Anfangs – nach Einführung der Hämatologiegeräte – war es noch üblich, die Resultate der Analysensysteme mit einer anschließenden mikroskopischen Untersuchung der Patientenblutprobe zu komplementieren. Heute dagegen ist dies aufgrund des hohen technischen Standards weder nötig noch aufgrund von Kosten- und Personaleinsparung möglich. Jedes Labor hat daher eigene Kriterien erstellt, welche das weitere Prozedere nach einer maschinellen Blutbildbestimmung statuieren. Ziel ist die größtmögliche Reduktion von weiterführenden Untersuchungen – für gewöhnlich die Anfertigung und Beurteilung von Blutausstrichen – ohne die Patienten durch falsch negative Ergebnisse zu gefährden (8).

Um aber in diesem Bereich mehr Homogenität zwischen den Laboratorien zu erzielen, hat die International Consensus Group for Hematology ein Regelwerk mit 41 Richtlinien für die anschließende Verfahrensweise an eine automatisierte Blutzellzählung und -differenzierung veröffentlicht. Diese regeln das weitere Vorgehen, vor allem die nachgeschaltete mikroskopische Untersuchung von Blutausstrichen, bei erstmaliger Verletzung definierter Referenzbereichsgrenzen von Erythrozyten, Retikulozyten, Thrombozyten und Leukozyten oder beim Erscheinen von gerätegenerierten Alarmmeldungen, sogenannter Flags, bei Vorhandensein anormaler Zellpopulationen wie beispielsweise unreife Granulozyten, Blasten oder lymphatische Reizformen (8).

1.4 Das Referenzwert-Konzept

Das Referenzwert-Konzept wurde 1969 von den Finnen N. Gräsbeck und N. E. Saris ins Leben gerufen (34; 42; 44; 45; 98; 99 S. 2). Es ersetzt das schlecht definierte und wissenschaftlich wenig fundierte Normalwert-Konzept und leistet somit einen wichtigen Beitrag für die Etablierung einer wissenschaftlichen Grundlage zur klinischen Interpretation von Labormesswerten (26; 34; 76 S. IX; 83; 104).

Die Referenzwert-Theorie wird von nationalen und internationalen Fachgesellschaften empfohlen. Ein bedeutsames Konzept mit Definitionen, Richtlinien und Vorgehensweisen für die Ermittlung von Referenzwerten und die Determination von Referenzintervallen wurde von einem Expertenausschuss (Expert Panel on the Theory of Reference Values, EPTRV) der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ausgearbeitet. Zwischen 1987 und 1991 wurden diesbezüglich sechs Regelwerke veröffentlicht, drei davon wurden vom International Committee for Standardisation in Haematology (ICSH) übernommen (34; 51; 52; 53; 54; 55; 56; 98; 99 S. 6). Ein Ausschuss (Subcommittee on Reference Intervals) des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) - ehemals National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS) - hat in den Jahren 2000 (78) und 2008 (18) jeweils eine revidierte Version seines wichtigen Dokuments C28-A (76) zu dieser Thematik herausgegeben. Diese Grundsatzschriften orientieren sich inhaltlich an den IFCC-Publikationen. Es erscheinen bis heute zur Referenzwertermittlung regelmäßig Beiträge in wissenschaftlichen Journalen, die eben genannte Schriften zitieren (34; 42; 44; 45; 98). Dennoch beklagen Petitclerk und Henny, dass das Referenzwert-Konzept zwar akzeptiert, aber im Laufe der Jahre zu locker genommen und nicht mit der notwendigen Strenge umgesetzt wird (44; 45; 83).

Das Referenzwert-Konzept basiert auf der Etablierung von Referenzwerten einer definierten, adäquaten Referenzstichprobe, welche dem Vergleich mit klinisch-chemischen sowie hämatologischen Patientenmesswerten dienen und somit deren Interpretation. Dieses Konzept leistet daher für medizinische Entscheidungen einen wichtigen Beitrag (34; 54; 60; 98; 99 S. 4 f.).

Die Erstellung von Referenzwerten umfasst die Auswahl adäquater Probanden, ihre Vorbereitung auf eine standardisierte Probenentnahme und deren Durchführung, den Transport der Probe zum Labor und die analysengerechte Vorbereitung sowie die Analyse der Probe selbst, die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse und deren Präsentation (34; 98).

Bei alledem ist es obligat, dass folgende Aspekte genau dargelegt werden:

- 1.) Ein- und Ausschlusskriterien, die der Selektion von Referenzindividuen dienen.

- 2.) Charakteristika der Probanden wie Alter, Geschlecht und Zugehörigkeit zu einer ethnischen Gruppe
- 3.) Umweltbedingungen und physiologische Verfassung der Probanden zum Zeitpunkt der Probenentnahme
- 4.) Vorgang bei der Probengewinnung inklusive Vorbereitung der Individuen, Art des Probenmaterials, dessen weitere Behandlung und eventuelle Lagerung
- 5.) Analysemethoden sowie Analysengerät mit Reagenzien und Qualitätskontrollen
- 6.) statistische Methoden zur Datenauswertung und Ermittlung der Referenzbereichsgrenzen (35; 54; 76 S.9; 98; 99 S. 5).

Im folgenden Flussdiagramm werden wichtige Begriffe der Referenzwert-Theorie definiert und ihr Zusammenhang dargestellt.

Referenzindividuen sind Personen, welche anhand definierter Ein- und Ausschlusskriterien für Vergleichszwecke selektiert wurden. Es ist wichtig, deren Gesundheitsstatus genau zu definieren (54; 76 S.2; 99 S. 7).

bilden


Eine **Referenzpopulation** ist die Anzahl **aller** Referenzindividuen, welche die definierten Kriterien erfüllen (54; 76 S.2; 99 S. 9).

wird
repräsentiert
von

Eine **Referenzstichprobe** ist der tatsächlich untersuchte Anteil der Referenzpopulation (54; 76 S.3). Sie ist dann repräsentativ, wenn alle Referenzindividuen die gleiche Chance haben, in die Stichprobe eingeschlossen zu werden (99 S. 9 f.).

bei ihr werden
bestimmt

Ein **Referenzwert** ist ein Wert, welcher durch Beobachtung oder Messung einer bestimmten Messgröße von einem Individuum aus der Referenzstichprobe stammt (54; 76 S. 3; 100 S. 8). Die **Referenzverteilung** ergibt sich aus der graphischen Darstellung der Referenzwerte. Aus ihr leiten sich mittels statistischer Berechnung die **Referenzbereichsgrenzen** ab, welche deskriptiven Zwecken dienen. Zwischen unterer und oberer Grenze liegt das **Referenzintervall**, in dem gewöhnlich 95 % der Messwerte liegen. Referenzgrenzen mit zugehörigem Referenzintervall machen die vielen Einzelreferenzwerte überschaubar und erleichtern den Vergleich der Patientenmesswerte mit den Referenzdaten (34; 54; 76 S. 3 f.; 98; 99 S. 10 f.).



Transversal-
beurteilung

Der **beobachtete Wert** ist ein Wert, welcher durch Beobachtung oder Messung einer bestimmten Messgröße von einem Patienten stammt und bestimmt wurde, um eine medizinische Entscheidung zu treffen. Dieser Wert kann mit Referenzwerten, der Referenzverteilung, Referenzgrenzen und dem Referenzintervall oder mit Vorwerten des Patienten verglichen und dann interpretiert werden (34; 54; 76. S. 3; 99 S. 12).



Longitudinal-
beurteilung

Der beobachtete Wert kann mit **Vorwerten** desselben Patienten verglichen werden. Ein Referenzintervall, berechnet aus den Werten einer Referenzstichprobe, kann im Vergleich, zum engen Schwankungsbereich der Ergebnisse serieller Messungen von einer einzelnen Person groß sein. Daher kann es von Vorteil sein, sich mehr auf die „individuellen Referenzwerte“ als auf die Werte eines Referenzkollektivs zu verlassen (54; 104).

Das Referenzwert-Konzept setzt nicht automatisch Gesundheit der Referenzindividuen voraus. Gefordert werden lediglich eine genaue Beschreibung und Dokumentation deren Gesundheitszustands und der verwendeten Kriterien für ihre Auswahl. Je nach Verwendungszweck der Referenzwerte sollen die Referenzindividuen unterschiedliche Kriterien erfüllen. Es ist deshalb sinnvoll, einen Term wie „gesundheitsassoziiert“, den Krankheitsnamen oder die Bedingungen bei der Probenentnahme (nüchtern, liegend) ergänzend zum Begriff Referenz zu verwenden (34; 35; 51; 54; 76 S. 4; 99 S. 12).

Klee erörtert, dass Gesundheit ein stabiler Status ist, der eine allgemeingültige Referenz für alle Krankheiten darstellt. Da Erkrankungen meist kontinuierlich verlaufen und „kranke“ Referenzindividuen eine höhere intra- und interindividuelle Variabilität aufweisen, erklärt es sich, dass hauptsächlich die Referenzwerte gesunder Individuen zur Verfügung gestellt werden, da ein gesundes Referenzkollektiv homogener und seine Referenzbereiche besser reproduzierbar sind als die von erkrankten Referenzpersonen (60). Außerdem hat die Medizin die Erhaltung und Wiederherstellung von Gesundheit als Ziel. Daher ist es nötig zu wissen, welche Werte bei gesunden Menschen vorkommen, die die Ziel- oder Sollwerte repräsentieren (34; 51; 99 S. 15 f.).

Aber was ist Gesundheit? Die Weltgesundheitsorganisation veröffentlichte 1946 folgende Definition: „Gesundheit ist ein Zustand vollkommenen körperlichen, geistigen und sozialen Wohlbefindens und nicht die bloße Abwesenheit von Krankheit oder Gebrechen“. Der Makel dieser Definition ist, dass Gesundheit als Absolutes gesehen wird und nur sehr wenig

Menschen diese Kriterien erfüllen. Gräsbeck ist der Ansicht, dass absolute Gesundheit nicht existiert und in jedem Menschen ein gewisser Grad an Pathologischem vorhanden ist (34). Gesundheit ist ein relativer Zustand und als solcher in der Referenzwert-Theorie verankert (26; 34; 54; 76 S. 6; 98; 99 S. 16). Gräsbeck definiert Gesundheit folgendermaßen: „Gesundheit ist charakterisiert durch ein Minimum an subjektiven Gefühlen und objektiven Krankheitsanzeichen, die beurteilt werden in Bezug auf die soziale Situation der Person und welche das Ziel medizinischen Handelns ist und im absoluten Sinn ein unerreichbarer Idealzustand“ (34; 99 S. 16). Mit dieser Ansicht ergibt sich ein beachtlicher Spielraum bei der Auswahl „gesunder“ Referenzindividuen (34).

Labormesswerte von Patienten, aber auch die Referenzwerte und die daraus resultierenden Referenzintervalle, werden durch präanalytische und analytische Faktoren beeinflusst. Man unterscheidet in-vivo und in-vitro wirksame Faktoren. Erst genannte beziehen sich auf die Person selbst vor oder während der Probennahme. Sie werden wiederum in nicht beeinflussbare (z.B. Geschlecht, Alter, Rasse) und beeinflussbare (z.B. Nahrungsaufnahme, Medikamenteneinnahme, Hormone, Alkohol) Faktoren eingeteilt. Die nicht veränderlichen Einflussgrößen dienen ihrerseits als Kriterien für die Bildung homogener Subgruppen und somit der Erstellung engerer Referenzintervalle mit höherer diagnostischer Aussagekraft (55; 60; 76 S. 7; 99 S. 18). Die in-vitro Faktoren beeinflussen die Probe nach der Abnahme.

Klee stellt fest, dass die Notwendigkeit lokaler Referenzbereiche mehr durch eine mangelnde Standardisierung der Präanalytik und der Analytik bedingt ist als durch örtliche Differenzen in der Patientengrundgesamtheit (60). Es ergibt sich die Notwendigkeit, die Vorbereitung der Referenzindividuen und der Patienten auf die Probennahme, die Probennahme selbst und die analysengerechte Vorbereitung der Spezimen möglichst ähnlichen, sprich standardisierten Bedingungen auszusetzen, um die Einflüsse auf die Messwerte möglichst gering zu halten und eine effektive Interpretation zu ermöglichen (34; 52). Es wurden dazu Richtlinien zur Standardisierung der genannten Prozeduren veröffentlicht. Während einer Referenzwertstudie ist es nicht schwer solche Standards einzuhalten, im Klinikalltag ist dies oft nicht realisierbar. Dies muss dann bei der Interpretation des Messergebnisses berücksichtigt werden (52; 99 S. 27).

Das Referenzwert-Konzept fordert für die Referenzwertermittlung die Verwendung präziser, richtiger und gut kontrollierter Analysenmethoden, da analytische Unpräzision und Unrichtigkeit mit zur Variabilität der Messwerte beitragen. Die Messmethode sowie das Analysensystem und die Reagenzien sind genau zu beschreiben, um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die IFCC empfiehlt, die Messungen bei der Referenzwertermittlung zwar unter streng kontrollierten, aber dennoch realistischen

Bedingungen durchzuführen. Ein guter Weg, um dies zu realisieren, ist die Proben der Referenzindividuen zusammen mit den Patientenproben in der Routinediagnostik mit guter Qualitätskontrolle in mehreren Messserien zu analysieren (53; 99 S. 34 f.).

1.5 Fragestellungen und Zielsetzungen

Wie bereits angedeutet, gibt es bei der automatisierten Blutzellzählung und -differenzierung immer wieder Modifikationen in Bezug auf Messtechniken, Reagenzien, Software und Parameter, was die Etablierung von Referenzintervallen für die neuen Techniken und Parameter nötig macht. Bei der Einführung neuer Hämatologiegeräte werden zwar Untersuchungen zu den Referenzbereichsgrenzen durchgeführt, die auch in der täglichen Routine verwendet werden, diese gelten jedoch nur für dieses Analysensystem und für die untersuchte regionale Population. Es ist aber auch üblich, Referenzbereiche zu verwenden, welche auf älteren automatisierten Methoden oder sogar Handmethoden basieren. Des Weiteren werden diese von anderen Laboratorien oder aus der Literatur übernommen (22; 45).

Um die Interpretation von Laborwerten in der täglichen Praxis zu erleichtern, wurden im Rahmen einer deutschlandweiten Multicenterstudie erneut Referenzbereiche für hämatologische Parameter der Bevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland für die automatisierte Blutzellzählung und -differenzierung etabliert. Die Ergebnisse dieser Dissertation stellen einen Teil dieser Multicenterstudie dar und beschränken sich auf die Messungen, die an dem teilnehmenden Studienzentrum, dem Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, durchgeführt wurden.

Das **Hauptziel** dieser Doktorarbeit war die Etablierung von Referenzbereichen für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten gesunder Erwachsener. Die Messungen wurden mit vier automatisierten Multiparameter-Hämatologie-Analysengeräten – Siemens ADVIA 120, Abbott CELL-DYN Sapphire, Sysmex XE-2100 und Sysmex XT-2000i – im Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München durchgeführt. Das Studienzentrum München verfügt als Einziges über alle vier Geräte. Es wurde untersucht, für welche Parameter geschlechtsspezifische Referenzbereiche gebildet werden müssen.

Erstes Nebenziel der Studie war der Vergleich der Messwerte, welche mit den vier Analysensystemen ermittelt wurden. Es wurde geprüft, inwieweit die Geräte untereinander konsistent sind und ob gerätespezifische Referenzbereiche kalkuliert werden müssen.

Zweites Nebenziel der Arbeit war die Überprüfung der Stabilität von Blutproben nach einer Lagerungszeit von etwa 24 Stunden bei Raumtemperatur.

Die Studie wurde koordiniert vom „Arbeitskreis Laboratorium“ der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie. Die Studienleitung oblag Prof. Dr. H. Baum, seit 12/2006 Ärztlicher Direktor des Zentrums für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie, Blutdepot und Krankenhaushygiene, Regionale Kliniken Holding RKH GmbH, Ludwigsburg und Prof. Dr. P. Schuff-Werner, Ärztlicher Direktor des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum der Universität Rostock.

2. Material und Methoden

2.1 Charakterisierung der Referenzstichprobe

2.1.1 Probanden

Die Studie zur Ermittlung der Referenzbereiche für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten erfolgte am Studienzentrum München im Zeitraum vom 21.02.2006 bis zum 28.10.2006. In die Auswertung wurden die Analysenergebnisse von 422 Blutproben, die von gesunden Erwachsenen stammten, einbezogen.

In der Referenzstichprobe war die Verteilung des Geschlechts mit 203 Männern (= 48,1 %) und 219 Frauen (= 51,9 %) relativ ausgeglichen.

2.1.2 Herkunft

259 Blutproben stammten von gesunden Erstblutspendern beim Amtlichen Blutspendedienst München, wovon 39 Eigenblutspender waren. Die anderen 163 Proben waren von gesunden freiwilligen Spendern, vor allem Personal des Klinikums rechts der Isar in München und Personen, die im Großraum München wohnhaft sind. 138 Blutproben der Männer waren vom Blutspendedienst und 65 Proben stammten von freiwilligen Spendern. Bei den Frauen waren 121 Blutproben vom Blutspendedienst und 98 Proben von freiwilligen Spenderinnen.

2.1.3 Alter und Einteilung in Altersklassen

Das Durchschnittsalter der untersuchten Männer betrug 36,8 Jahre mit einer Altersspannweite zwischen 18 und 71 Jahren. Das mittlere Alter der Frauen lag bei 35,3 Jahren mit einer Altersspannweite zwischen 18 und 75 Jahren. Anhand des Alters wurden die Probanden in vier Altersklassen (AK) eingeteilt. Die Abbildung A1 im Anhang stellt die Einteilung der untersuchten Männer und Frauen in die vier AK dar.

2.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien

Der Gesundheitszustand der Probanden sowie Geschlecht, Alter, regelmäßige Einnahme von Medikamenten und Raucherstatus wurde mit Hilfe eines kurzen Anamnesegesprächs und eines Fragebogens eruiert, der vor der Blutentnahme ausgefüllt wurde.

Der Einschluss in die Referenzstichprobe bzw. der Ausschluss aus dieser erfolgte anhand diverser Ein- und Ausschlusskriterien, die nachfolgend aufgeführt sind.

Einschlusskriterien:

- Proband muss offensichtlich gesund und mindestens 18 Jahre alt sein

- keine regelmäßige Medikamenteneinnahme, die zur Beeinflussung hämatologischer Parameter führt (außer Hormonersatztherapie und orale Kontrazeptiva)
- Proband muss das Studieninformationsblatt gelesen sowie dessen Inhalt verstanden und seine schriftliche Zustimmung zur Teilnahme an der Studie gegeben haben

Ausschlusskriterien:

- kardiale, pulmonale, hämatologische, hepatische, gastrointestinale, endokrine oder nephrologische Erkrankungen
- akute Blutung nicht länger als drei Monate zurückliegend oder chronischer Blutverlust
- Blutungsübel oder Thromboseneigung
- chirurgische Eingriffe, die nicht länger als drei Monate zurückliegen
- Schwangerschaft
- regelmäßige Medikamenteneinnahme, die hämatologische Parameter mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 1:10000 beeinflussen (außer orale Kontrazeptiva und Hormonersatztherapie)
- Proband unterzeichnet die Einverständniserklärung nicht oder widerruft diese

2.2 Präanalytik und Analytik

Mit ihrer Unterschrift gaben die Probanden das Einverständnis zur Abnahme von etwa 2-3 ml venösem Vollblut. Für die Probenentnahme wurden zwei unterschiedliche Abnahmesysteme verwendet: S-Monovetten® (Sarstedt, Nümbrecht) und BD-Vacutainer™ (Becton Dickinson, Heidelberg). Antikoagulans war Di-Kalium-Ethylendiamintetraacetat (K_2 -EDTA) bei den S-Monovetten bzw. Tri-Kalium-Ethylendiamintetraacetat (K_3 -EDTA) bei den BD-Vacutainer.

Gemäß der Standardvorschrift wurde den Probanden das Blut nach einer circa 10-minütigen Ruhepause, im Sitzen oder in halbliegender Position, zumeist aus den Cubitalvenen, entnommen. Die Entnahme wurde von verschiedenen Personen durchgeführt und erfolgte zwischen 8 und 12 Uhr. Das Blut wurde unmittelbar nach der Abnahme durch mehrmaliges Schwenken des Probengefäßes mit dem Antikoagulans durchmischt. Die Röhrchen wurden mit einer anonymisierten und eindeutigen Identifikationsnummer gekennzeichnet.

Bis zur Untersuchung wurden die Proben bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die Analyse der Blutproben erfolgte an vier Hämatologie-Analysensystemen innerhalb von vier Stunden gemäß den Vorschriften der Gerätehersteller zusammen mit dem Probenaufkommen der Routine-Diagnostik. Die Analyseergebnisse wurden direkt nach der Messung auf Diskette abgespeichert und ausgedruckt. Von jeder Blutprobe wurde ein nach May-Grünwald-Giemsa gefärbtes Ausstrichpräparat angefertigt, welches mit der gleichen Identifikationsnummer wie das Probenröhrchen versehen wurde.

Für die Überprüfung der Lagerungsstabilität der Blutbildparameter wurde ein Großteil der Blutproben für eine zweite Messung circa 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelagert.

2.3 Hämatologie-Analysengeräte

Zur Messung der Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten wurden folgende Multiparameter-Hämatologie-Analysengeräte eingesetzt: **Abbott CELL-DYN Sapphire™** (CD-Sapphire) (Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA), **Siemens ADVIA® 120 Hematology System** (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland), **Sysmex XE-2100™** und **Sysmex XT-2000i™** (TOA Medical Electronics Co., Kobe, Japan). An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass das Gerät ADVIA 120 zum Zeitpunkt der Studiendurchführung noch vom Bayer-Konzern vertrieben wurde. Die Division Diagnostika von Bayer Healthcare wurde Anfang 2007 an die Siemens AG verkauft (133).

Die Geräte der Firma Sysmex werden im Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie im Klinikum rechts der Isar für die tägliche hämatologische Routineanalyse verwendet. Das Analysengerät der Firma Abbott war ein Leihgerät und während der Studiendauer für die Messung der Studienproben im oben genannten Institut aufgestellt. Der ADVIA 120 ist im hämatologischen Labor der 3. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar im Einsatz.

Vor Studienbeginn übernahmen die Herstellerfirmen die Justierung und Kalibrierung der Analysengeräte. Die Geräte wurden dann gemäß den Herstellerangaben bedient, gewartet und kalibriert.

Aufgrund von temporären Gerätedefekten oder Systemfehlern konnten nicht mit jedem Blutbildanalysengerät alle Blutproben der 422 in die Studie einbezogenen Probanden analysiert werden. Teilweise fehlten Qualitätskontrollen oder lagen manchmal außerhalb der erlaubten Grenzen. Die betroffenen Messwerte wurden nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Deshalb ergibt sich für die vier Analysensysteme eine unterschiedliche Anzahl an Messungen von den einzelnen Blutbildparametern, die für die Ermittlung der Referenzbereiche verwendet werden konnten.

Die als Durchflusszytometer konzipierten Hämatologie-Analysensysteme ermitteln die Parameter des kleinen Blutbildes und des Differenzialblutbildes sowie die Retikulozyten im EDTA-Vollblut. Dazu werden von den Herstellerfirmen unterschiedliche Messtechnologien und Reagenzien verwendet. Da die Referenzwert-Theorie für die Ermittlung von Referenzwerten fordert, die verwendeten Analysenmethoden sowie das Analysengerät mit Reagenzien und Qualitätskontrollen genau zu beschreiben (54; 99 S. 34 f.), sollen die vier eingesetzten Hämatologiegeräte im Folgenden vorgestellt werden.

2.3.1 Siemens ADVIA 120

Das vollautomatische Hämatologie-Analysensystem ADVIA 120 verwendet für die hämatologische Diagnostik die Technologie der fokussierten Durchflusszytometrie und erfasst mit Hilfe des optoelektrischen Messprinzips das Streulicht und die Lichtabsorption einer einzelnen Blutzelle. Für die Messung der Hämoglobinkonzentration wird die Absorptionsspektrometrie eingesetzt (126).

Der ADVIA 120 kann fünf Arten von Blutanalysen durchführen: 1. Kleines Blutbild, 2. Großes Blutbild, 3. Großes Blutbild und Retikulozytenanalytik, 4. Kleines Blutbild und Retikulozytenanalytik und 5. Retikulozytenanalytik. Die Probennahme kann über den automatischen Probennehmer, den manuellen Probennehmer für geschlossene Probenröhrchen oder über den manuellen Probennehmer für offene Probenröhrchen erfolgen (126). Im Rahmen der Studie wurde für die Messung der Blutproben der Analysenmodus Nummer 3 gewählt und die Probennahme erfolgte über den manuellen Probennehmer für geschlossene Probenröhrchen.

Aus dem angesaugten Probenvolumen werden Aliquote gebildet und dem UFC-Block (Unified Fluidic Circuit) zugeführt. Dort befinden sich alle Reagenzien und Reaktionskammern (PEROX-, BASO/LOBULARITÄTS-, HB-, RETI- und ERY/THROMBO-Reaktionskammer). In den Kammern werden die Blutproben mit den entsprechenden Reagenzien vermischt und es laufen zytochemische Reaktionen ab. Nach Ablauf dieser Reaktionen wird ein konstantes Volumen der Reaktionsgemische aus den Reaktionskammern mit Hilfe der hydrodynamischen Fokussierung zur Analyse durch eine Flusszelle geleitet. Die Probe wird dabei von einem Mantelstrom, gebildet aus SHEATH/SPÜLLÖSUNG, vollständig umschlossen. Dadurch werden die Blutzellen vereinzelt und passieren hintereinander die Flusszelle. Die Lichtquellen zur Erzeugung von Streulicht sind eine Laserdiode (Wellenlänge $\lambda = 670 \text{ nm}$) und eine Halogenlampe. Mit Hilfe der Zweiwinkelstreulichtmessung werden Erythrozyten, Thrombozyten und Retikulozyten analysiert. Der Winkelbereich des Kleinwinkelstreulichtsignals liegt bei $2\text{-}3^\circ$, der des Großwinkelstreulichts bei $5\text{-}15^\circ$. Das detektierte Kleinwinkelstreulicht gibt Auskunft über das Zellvolumen, das Großwinkelstreulicht über die intrazelluläre Beschaffenheit. Mit der Halogenstreulichtmessung wird das Leukozytenvolumen ermittelt. Die Absorptionssmessung dient der Leukozytendifferenzierung und der Analyse der Retikulozyten. Die HB-Reaktionskammer dient als optische Küvette, in der die Messung der Hämoglobinkonzentration durchgeführt wird (126).

2.3.1.1 Erythrozytenanalytik

Bei der Analyse der Erythrozyten gehen die Ergebnisse folgender Parameter in den Patientenbericht für den Arzt ein: Erythrozytenkonzentration optisch gemessen (RBC-O), mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) und mittlere gemessene zelluläre Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (CHCM), Hämatokrit (HCT), mittlerer Hämoglobingehalt der Erythrozyten (MCH), mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC), die zelluläre Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenverteilungsbreite (RDW) und die Hämoglobinverteilungsbreite. Durch den Vergleich der direkt gemessenen CHCM mit der berechneten MCHC führt das Gerät eine interne Plausibilitätskontrolle durch (126).

Die Blutprobe wird in der ERY-Reaktionskammer mit ERY/THROMBO-Reagenz verdünnt. Die Erythrozyten werden zunächst mit Natriumdodecylsulfat isovolumetrisch aufgekugelt und dann mit Glutaraldehyd fixiert. Die chemisch aufbereitete Probe wird mittels hydrodynamischer Fokussierung zur Flusszelle geleitet. Dort trifft der Laserstrahl auf die aufgekugelten Erythrozyten und erzeugt Streulicht. Das Streulicht wird von Detektoren in einem Kleinwinkel ($2-3^\circ$) und einem Großwinkel ($5-15^\circ$) registriert und verarbeitet. Unter Verwendung der Mie-Theorie über die Lichtstreuung homogener Sphären werden die Streulichtsignale für jede Zelle in Hämoglobinkonzentration (Großwinkelstreulichtsignale) und Volumen (Kleinwinkelstreulichtsignale) umgerechnet. Die Ergebnisse werden in einem Erythrozyten-Volumen/Hämoglobin-Konzentrations-Zytogramm graphisch dargestellt und dienen der Interpretation der Erythrozytenmorphologie. Das mittlere Zellvolumen und die Erythrozytenverteilungsbreite werden aus dem Erythrozyten-Volumen-Histogramm abgeleitet. Aus den direkt gemessenen Parametern RBC, MCV und HGB werden HCT, MCH und MCHC rechnerisch abgeleitet. Die direkt gemessene CHCM bildet den Mittelwert des Erythrozyten-Hämoglobin-Konzentrations-Histogramm (126).

2.3.1.2 Thrombozytenanalytik

Die Thrombozytenzählung erfolgt simultan zur Erythrozytenzählung. Mit einer zweidimensionalen Thrombozytenanalyse werden die Thrombozytenkonzentration optisch (PLT-O), mittleres Thrombozytenvolumen (MPV), Thrombokrit (PCT), Verteilungsbreite der Thrombozyten (PDW), Thrombozytendichteverteilungsbreite, mittlere Thrombozytendichte, mittlere Thrombozytenmasse und deren Verteilungsbreite, große Thrombozyten (Volumen > 20 fl) sowie Erythrozyten-Fragmente und leere Membranen ermittelt. Im Patientenbericht für den Arzt erscheinen aber nur PLT-O und MPV (126).

Die zytochemische Reaktion entspricht der der Erythrozyten (siehe Punkt 2.3.1.1). Die gekugelten Thrombozyten werden in der Flusszelle von einem Laserstrahl durchleuchtet. Entstehendes Großwinkelstreulicht wird um das 12-fache und das Kleinwinkelstreulicht um das 30-fache verstärkt. Unter der Verwendung der Mie-Theorie über die Lichtstreuung für homogene Kugeln wird das Kleinwinkelstreulicht in das Zellvolumen und das Großwinkelstreulicht in den Brechungsindex umgerechnet. Der Brechungsindex hängt von der Konzentration der inneren Bestandteile der Thrombozyten ab. In einem Thrombozyten-Streulicht-Zytogramm werden die verstärkten Kleinwinkel- und die Großwinkelstreulichtsignale dargestellt. Dieses Zytogramm zeigt Zellen mit einem Volumen zwischen 0 fl und 30 fl und einem Brechungsindex zwischen 1,35 und 1,40 an. Hierbei handelt es sich um PLT und große PLT sowie Zellbestandteile wie Mikrozyten, Fragmentozyten und Erythrozytenmembranen, welche aufgrund des unterschiedlichen Brechungsindex von den Thrombozyten unterschieden und durch Beflagung kenntlich gemacht werden. Die Identifizierung und Zählung von Zellen mit größeren Volumina als 30 fl wird über das Erythrozyten-Streulicht-Zytogramm vorgenommen (126).

2.3.1.3 Retikulozytenanalytik

Mit der Retikulozytenmethode wird die Retikulozytenkonzentration absolut (#RET) und relativ (%RET) bestimmt. Weiterhin erfolgt eine Subklassifizierung der Retikulozyten nach Reifegraden: schwach (L-RTC), mittelstark (M-RTC) und stark (H-RTC) absorbierende Retikulozyten. Von den Retikulozytenindizes ist der retikulozytäre Hämoglobingehalt (CHR) für den ärztlichen Patientenbefund bestimmt, das mittlere Retikulozytenvolumen und die mittlere Hämoglobinkonzentration der Retikulozyten für wissenschaftliche Zwecke (126).

Die Retikulozyten werden wie die Erythrozyten und Thrombozyten mit der Laserstreulicht-Methode optisch gemessen, wobei die Aufbereitung der Probe auf die gleiche Weise erfolgt. In den isovolumetrisch aufgekuugelten Retikulozyten wird mit dem im auto-RETI-Reagenz enthaltenen Nukleinsäurefarbstoff Oxazin 750, einem Methylenblauabkömmling, vorhandene RNA angefärbt. Von der RETI-Reaktionskammer wird ein Teil der Zellsuspension durch die Flusszelle geleitet. Die dort gemessenen verstärkten Kleinwinkel- und Großwinkelstreulichtsignale sind proportional zur Zellgröße bzw. zur Hämoglobinkonzentration, die gemessene Lichtabsorption hingegen ist zum RNA-Gehalt direkt proportional. Die Streulichtsignale werden in einem Retikulozyten-Streulicht-Absorptions-Zytogramm dargestellt. Anhand der Lichtabsorptionsmessung erfolgt abhängig vom RNA-Gehalt die Klassifizierung in vier Reifungsstufen der roten Blutzellen:

1. Reife Erythrozyten ohne RNA (RBC, keine Absorption)
2. Retikulozyten mit geringem RNA-Gehalt (L-RTC, schwache Absorption, hohe Reifung)

3. Retikulozyten mit mittlerem RNA-Gehalt (M-RTC, mittelstarke Absorption, mittlere Reifung)
4. Retikulozyten mit hohem RNA- Gehalt (H-RTC, starke Absorption, niedrige Reifung).

Im Retikulozyten/zelluläres Hämoglobin-Histogramm wird die Verteilung der reifen Erythrozyten und Retikulozyten nach der tatsächlichen Beladung oder der eingelagerten Masse an Hämoglobin in jeder einzelnen Zelle dargestellt. Aus diesem Histogramm wird der Mittelwert des zellulären Hämoglobins der Retikulozyten-Population (Chr) abgeleitet (126).

2.3.1.4 Hämoglobinmessung

Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration erfolgt mittels der Cyanhämoglobinmethode, gemäß einer modifizierten ICSH-Richtlinie. Nach der Aufbereitung der Blutprobe in der Hämoglobinreaktionskammer wird die Messung des Gesamthämoglobins in einer Durchflussküvette photometrisch bei einer Wellenlänge von 546 nm durchgeführt. Das zur Analyse notwendige HB-Reagenz enthält eine oberflächenaktive Substanz und Cyanid in einer stark alkalischen Boratlösung (126).

2.3.1.5 Leukozytenanalytik

Die Leukozytenzählung wird mit unterschiedlichen Methoden in zwei separaten Kanälen durchgeführt, dem Peroxidasekanal und dem Basophilen-/Lobularitätskanal. Die Ergebnisse der Gesamtleukozytenzahl von beiden Kanälen werden miteinander verglichen. Überschreitet die Differenz beider Werte einen vorher definierten Wert, werden die betroffenen Ergebnisse gekennzeichnet und eine Fehlermeldung wird angezeigt (126).

2.3.1.5.1 Peroxidasemethode

Im Peroxidasekanal wird die Gesamtleukozytenkonzentration (WBC-P) optisch gemessen und die Leukozytendifferenzierung über die unterschiedliche Peroxidaseaktivität in den Leukozytengranula und die unterschiedliche Zellgröße durchgeführt. Die Differenzierung erfolgt in den prozentualen und absoluten Anteil der Monozyten (%MONO und #MONO) und Lymphozyten (%LYM und #LYM) sowie der neutrophilen (%NEUT und #NEUT), eosinophilen (%EOS und #EOS) und basophilen (%BASO und #BASO) Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl. Zusätzlich werden Große-Ungefärbte-Zellen (LUC = Large Unstained Cells) in absoluter Anzahl und als prozentualer Anteil ermittelt. LUC bilden eine eigenständige Zellkategorie zu welcher große Lymphozyten, lymphozytäre Reizformen, Plasmazellen, Lymphoblasten, Myeloblasten und hämatopoetische Stammzellen zählen (126).

Nach Aufnahme der Blutprobe in die PEROX-Reaktionskammer läuft die zytochemische Peroxidasereaktion in drei Schritten ab. Zuerst werden die Erythrozyten durch PEROX 1-

Reagenz (Natriumlaurylsulfat und Brij-35) und die hohe Temperatur (64-72 °C) in der Reaktionskammer lysiert. Danach werden die Leukozyten durch den Formaldehyd im PEROX 1-Reagenz fixiert. Im dritten Schritt werden die Leukozyten durch die Zugabe von 4-Chloro-1-Naphtol (PEROX 2-Reagenz), das in Verbindung mit Wasserstoffperoxid (PEROX 3-Reagenz) die endogene zelluläre Peroxidase in den Leukozytengranula als einen dunkles Präzipitat sichtbar macht, angefärbt. Da Lymphozyten, basophile Granulozyten und LUC Peroxidase-negativ sind, bleiben sie ohne Farbreaktion. Bei den neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie bei den Monozyten hängt die Färbbarkeit von der Intensität der Peroxidaseaktivität ab. Ein Teil des Reaktionsgemischs fließt durch eine Flusszelle und wird dort von einer Halogen-Lichtquelle bestrahlt. Dabei wird von jeder Zelle ein Vorwärtsstreulichtsignal (Volumen) und ein Absorptionssignal (Peroxidasefärbung) gemessen und in ein Peroxidasezytogramm projiziert. Die Zählung und Differenzierung der Leukozyten erfolgt anhand des Volumens und der unterschiedlichen Intensität der Peroxidasereaktion. Es bilden sich deutlich voneinander getrennte Populationen, wobei sich Zellen mit ähnlicher Peroxidaseaktivität und ähnlichem Volumen in einem Clustersegment befinden. Mittels Cluster-Analyse werden die einzelnen Zellpopulationen identifiziert und die Gesamtleukozytenzahl und die absolute und relative Zellzahl der einzelnen Leukozytenpopulationen ermittelt. Eine eindeutige Trennung der basophilen Granulozyten von den Lymphozyten ist im Peroxidasekanal wegen ihrer Peroxidase-Negativität und der ähnlichen Zellgröße nicht garantiert. Deshalb ist eine weitere Methode zur Zelldifferenzierung nötig (126).

2.3.1.5.2 Basophilen-/Lobularitätsmethode

Im Basophilen-/Lobularitätskanal wird die Gesamtleukozytenzahl (WBC-B), #BASO sowie %BASO bestimmt. Die basophilen Granulozyten werden nach der Messung im Basophilenkanal unter Korrektur der Lymphozyten des Peroxidasekanals, dem Gesamtdifferenzialblutbild hinzugefügt. Für den Patientenbefund wird als Wert für die Gesamtleukozytenkonzentration das Ergebnis von WBC-B verwendet (126).

Die zytochemische Reaktion der Basophilen-/Lobularitätsmethode umfasst zwei Schritte. Im ersten Schritt werden die Erythrozyten und Thrombozyten durch das Surfactant im BASO-Reagenz lysiert. In der folgenden Reaktion kommt es durch die im BASO-Reagenz enthaltene Phthalsäure und die erhöhte Temperatur in der Reaktionskammer (32-34 °C) zur Ablösung des Zytoplasmas aller Leukozyten („cytoplasmatic stripping“). Die basophilen Granulozyten bleiben unverletzt. Von der BASO-Reaktionskammer wird ein Teil der Zellsuspension bestehend aus Zellkernen und intakten basophilen Granulozyten mittels hydrodynamischer Fokussierung in die Flusszelle weitergeleitet. Das dort entstandene

Streulicht wird von Groß- und Kleinwinkeldetektoren registriert und in elektrische Signale umgewandelt. Die Ergebnisse des Großwinkelstreulichtsignals (Dichte des Kernchromatins) und die Ergebnisse des Kleinwinkelstreulichtsignals (Zellkerngröße) werden in einem Nukleogramm dargestellt, wobei deutlich voneinander getrennte Zellpopulationen zu sehen sind. Mittels Clusteranalyse erfolgt die Trennung der Zellkerne und der intakten Basophilen über die Kerngröße und die Dichte des Chromatins in mononukleäre Zellkerne (MN, Lymphozyten und Monozyten), polymorphnukleäre (PMN, segmentkernige neutrophile und eosinophile Granulozyten) Zellkerne und basophile Granulozyten (126).

2.3.1.6 Materialien zur Qualitätskontrolle

Zur Überprüfung der Messergebnisse am ADVIA 120 wurde kommerziell erhältliches Kontrollblut in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. Für die Kontrolle der Parameter des großen Blutbildes waren dies Para Tech® Multiparameter Hämatologiekontrollen (Streck, Omaha, USA) in den Konzentrationen low, medium und high. Zur Leistungsüberwachung der Retikulozytenmessung wurden ADVIA® Testpoint™ Retikulozyten-Kontrollen (Bayer HealthCare, Tarrytown, USA) in den Abstufungen low und high verwendet. Da die Studie sich über einen längeren Zeitraum erstreckte, mussten mehrere Kontrollblutchargen verwendet werden. Alle Kontrollen wurden gemäß den Herstellerangaben behandelt und auf die gleiche Weise wie die Vollblutproben gemessen.

2.3.2 Abbott CELL-DYN Sapphire

Das automatische Multiparameter-Hämatologie-Analysengerät CD-Sapphire wird zum Zählen und Identifizieren von Blutzellen in der In-vitro-Diagnostik eingesetzt. Es verwendet die Methodik der fokussierten Durchflusszytometrie sowohl für die optische Messung einer 4-Winkel-Laserlichtstreuung und einer 3-Farben-Fluoreszenz als auch für die elektrische Widerstandsmessung. Die Absorptionsspektrometrie dient der Hämoglobinbestimmung (127 Kap. 3).

Für die Analyse von EDTA-antikoaguliertem Blut stehen sieben Testauswahlmöglichkeiten zur Verfügung: 1. Großes Blutbild, 2. Großes Blutbild mit Leukozyten-Zählzeitverlängerung, 3. Großes Blutbild mit lyseresistenten Erythrozyten, 4. Großes Blutbild und Retikulozytenanalytik, 5. Großes Blutbild mit lyseresistenten Erythrozyten und Retikulozyten, 6. Großes Blutbild mit Leukozyten-Zählzeitverlängerung und CELL-DYN ImmunoPLT™ (CD61) Assay und 7. Großes Blutbild mit Leukozyten-Zählzeitverlängerung und CELL-DYN Immuno T-Zell (CD3/4/8) Assay. Die Probenzufuhr kann über den automatischen Probennehmer-Betrieb und den manuellen Probennehmer für offene Probenröhrchen erfolgen (127 Kap. 1). Im Rahmen der Studie wurde für die Analyse der Blutproben der Test

Nummer 4 gewählt und die Probennahme erfolgte über den automatischen Probennehmer-Betrieb.

Für die Zählung und Charakterisierung der Blutzellen wird die Blutprobe in drei Aliquote aufgeteilt. Eines ist für die Erythrozyten-, Thrombozyten-, und Retikulozytenanalytik bestimmt, das andere für die Leukozytenuntersuchung. Ein drittes Aliquot wird für die photometrische Hämoglobinbestimmung verwendet. Die Aliquote werden in verschiedenen Verdünnungsgefäßen mit den für die jeweilige Analyse benötigten Reagenzien vermischt (127 Kap. 3; 131).

Die optische Streulicht/Fluoreszenz-Messung wird für die Untersuchung der Proben in Bezug auf Leukozyten, kernhaltige Erythrozyten, Thrombozyten, Erythrozyten und Retikulozyten verwendet. Dafür werden die Erythrozyten-/Thrombozyten-, die Leukozyten- und die Retikulozyten-Verdünnungen gleichzeitig bereitgestellt und anschließend getrennt und nacheinander aus den entsprechenden Verdünnungsgefäßen mit Hilfe der hydrodynamischen Fokussierung in die Durchflussküvette geleitet. Dort wird ein, von einem Festkörperlaser (Blaulichtlaser) erzeugter, vertikal polarisierter Lichtstrahl mit einer Wellenlänge von 488 nm auf die vereinzelt Blutzellen in der Probenverdünnung fokussiert und Lichtstreuung und Fluoreszenz hervorgerufen. An jeder Zelle werden gleichzeitig fünf Messungen durchgeführt. Von der Einheit für das Vorwärtsstreulicht wird der 0°-Lichtverlust von einer inneren Photodiode und das 7°-Streulicht von einer äußeren Diode detektiert. Der 0°-Lichtverlust wird zur Bestimmung der Zellgröße verwendet und das 7°-Streulicht dient der Bestimmung der Zellkomplexität. Die Einheit für 90°-Streulicht/Fluoreszenz besteht aus drei Photomultiplern. Der Erste misst das depolarisierte 90°-Streulicht und die 530 nm Fluoreszenz (FL1). Das depolarisierte 90°-Streulicht wird als Maß der depolarisierenden Granularität einer Zelle angesehen und wird zur Differenzierung der neutrophilen Granulozyten von den eosinophilen Granulozyten verwendet. Das FL1-Fluoreszenzsignal ist die grüne Fluoreszenz und dient der Zählung und Charakterisierung von Retikulozyten. Der zweite Photomultiplier detektiert das polarisierte 90°-Streulicht und die 570 nm Fluoreszenz (FL2). Das 90°-Streulichtsignal dient der Bestimmung der Lobularität des Kerns einer Zelle und wird zur Unterscheidung von Leukozyten mit segmentiertem Zellkern von solchen verwendet, deren Zellkern nicht segmentiert ist. Das FL2-Fluoreszenzsignal ist die orange Fluoreszenz und wird bei den Immunologietests verwendet. Der dritte Photomultiplier ermittelt die 630 nm Fluoreszenz (FL3). Das FL3-Fluoreszenzsignal ist die rote Fluoreszenz, welche Informationen über das Vorhandensein und die Eigenschaften nicht-lebensfähiger und fragiler Leukozyten sowie kernhaltiger Erythrozyten liefert (127 Kap. 3; 130).

Die elektrische Widerstandsmessung wird zur Zählung und Charakterisierung der Erythrozyten und der Thrombozyten verwendet. Dazu wird mittels hydrodynamischer

Fokussierung ein Teil der Erythrozyten-/Thrombozytenverdünnung in die Widerstands-Transducer-Einheit geleitet (127 Kap. 3; 130).

Die hydrodynamische Fokussierung wird sowohl bei der Widerstandsmessung als auch bei der optischen Streulicht/Fluoreszenz-Methode verwendet, um eine korrekte Passage der Blutzellen durch die optische Durchflussküvette und den Widerstands-Transducer zu gewährleisten. Das Verdünnungsmittel-/Sheath-Reagenz wird zur Bildung eines zellfreien Mantelstroms benutzt (127 Kap. 3; 130).

Die Immunologietests CELL-DYN ImmunoPLT (CD61) Assay zur Thrombozytenzählung und CELL-DYN T-Zell (CD3/4/8) Assay zur Zählung von T-Lymphozyten und deren T-Zell-Subklassen werden nicht erläutert, da diese in der Studie nicht eingesetzt wurden.

2.3.2.1 Erythrozytenanalytik

Bei der Analyse der Erythrozyten werden die Erythrozytenkonzentration optisch (RBC-O) und mittels Impedanzmessung (RBC), MCV und RDW gemessen. HCT, MCH und MCHC werden mit den gängigen Formeln (siehe Punkt 1.1) berechnet (127 Kap. 3).

Für die Zählung und Charakterisierung der Erythrozyten wird die Blutprobe in der Erythrozyten/Thrombozyten-Verdünnungskammer mit Verdünnungsmittel-/Sheath-Reagenz vermischt. Dadurch werden die roten Blutkörperchen isovolumetrisch gekugelt (127 Kap. 3).

Ein Teil der Probenverdünnung wird mittels hydrodynamischer Fokussierung dem Widerstands-Transducer zugeführt, der andere Teil zur optischen Durchflussküvette geleitet. Die Widerstandsmessung dient der Bestimmung der RBC, des MCV und der RDW, wobei die beiden Letztgenannten aus dem Volumenverteilungs-Histogramm der Erythrozyten abgeleitet werden. Die optische Zählung der Erythrozyten dient nur als Qualitätskontrolle für die Impedanzmessung der Erythrozyten und ist nicht zur Befundung vorgesehen (127 Kap.3).

2.3.2.2 Thrombozytenanalytik

Folgende Parameter werden bei der Untersuchung der Thrombozyten ermittelt: Thrombozytenkonzentration, optisch (PLT-O) und mittels Impedanzmessung (PLT), MPV, PDW und der PCT (127 Kap. 3).

Die Analyse der Thrombozyten erfolgt simultan mit der der Erythrozyten. In der Erythrozyten/Thrombozyten-Verdünnungskammer werden mit dem Verdünnungsmittel-

/Sheath-Reagenz neben den Erythrozyten auch die Thrombozyten isovolumetrisch gekugelt (127 Kap. 3).

Für die Zählung der Thrombozyten in der optischen Durchflussküvette werden die Daten des 7°-Streuwinkellichts und des polarisierten 90°-Streuwinkellichts verwendet. Die elektrische Widerstandsmessung wird zur Charakterisierung und ebenfalls zur Zählung der Thrombozyten eingesetzt. Aus dem Volumenverteilungs-Histogramm der Thrombozyten werden MPV und PDW ermittelt. Die mittels Impedanzmessung gewonnene Thrombozytenkonzentration dient nur als Qualitätskontrolle für die optische Zählung der Thrombozyten. Der PCT, welcher den Anteil der Thrombozyten am gesamten Probenvolumen darstellt, wird aus dem Produkt von PLT-O und MPV dividiert durch 10.000 berechnet (127 Kap. 3).

2.3.2.3 Retikulozytenanalytik

Die Retikulozytenanalytik beinhaltet #RET und %RET sowie die Bestimmung der Fraktion unreifer Retikulozyten (IRF) (127 Kap. 3).

Für die Bestimmung der Retikulozyten wird ein Teil der Erythrozyten-/Thrombozyten-Verdünnung in die Retikulozyten-Verdünnungskammer geleitet und mit RETC-Reagenz gemischt. Der im Reagenz vorhandene Fluoreszenzfarbstoff markiert die RNA der Retikulozyten. Die Intensität der Fluoreszenzfärbung ist proportional zum RNA-Gehalt der Zelle und dieser ist wiederum proportional zur Unreife der Zelle. Die DNA der Leukozyten wird ebenfalls mit dem Farbstoff markiert (127 Kap.3).

Die aufbereitete Probe wird mittels hydrodynamischer Fokussierung der optischen Durchflussküvette zugeführt. Dort wird mit der optischen Streulicht/Fluoreszenz-Technologie die Zählung und Klassifizierung der Retikulozyten vorgenommen. Sobald der an die RNA bzw. DNA der Zellen in der Probenverdünnung gebundene Fluoreszenzfarbstoff mit dem Laserstrahl in Wechselwirkung tritt, fluoresziert er in grüner Farbe in einen Wellenlängenbereich um 530 nm (FL1). Für die Identifizierung und Zählung der Retikulozyten werden neben den Daten der FL1-Fluoreszenz die des 7°-Streulichts verwendet (127 Kap. 3).

Da die Retikulozyten im Gegensatz zu den reifen Erythrozyten viel RNA enthalten, kann mit der FL1-Fluoreszenz zwischen den beiden Populationen unterschieden werden. Die markierte DNA der Leukozyten erzeugt ebenfalls ein FL1-Signal, welches sich aber vom Signal der Retikulozyten unterscheiden lässt, da Leukozyten mehr Farbstoff aufnehmen und daher ein stärkeres FL1-Signal erzeugen. Da Retikulozyten im Verlauf ihres

Reifungsprozesses allmählich RNA verlieren, kann die Intensität der FL1-Fluoreszenz als Indikator für die Reife der Retikulozyten genutzt werden. Aus dem Anteil der Retikulozyten, die eine bestimmte FL1-Fluoreszenz überschreiten, kann die Fraktion der unreifen Retikulozyten ermittelt werden (127 Kap. 3; 131).

2.3.2.4 Hämoglobinnmessung

Die Messung der Hämoglobinkonzentration erfolgt photometrisch. Ein Aliquot der Blutprobe wird dazu mit dem cyanidfreien HGB-Reagenz im HGB-Verdünnungsgefäß vermischt. Nach Lyse der Erythrozyten und Zerstörung der Leukozyten wird das freigesetzte Hämoglobin mittels des im HGB-Reagenz vorhandenen Imidazol in ein Einzelchromagen mit einem Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von 544 nm konvertiert. Die Probenverdünnung wird in die Hämoglobin-Durchflussküvette geleitet und photometrisch gemessen (127 Kap. 3).

2.3.2.5 Leukozytenanalytik

Im Rahmen der Leukozytenanalytik werden folgende Parameter ermittelt: die Leukozytenkonzentration (WBC), #NEUT, %NEUT, #EOS, %EOS, #BASO, %BASO #LYM, %LYM, #MONO und %MONO. Weiterhin kann die Wahrscheinlichkeit geschätzt werden, mit der folgende Leukozyten-Subpopulationen in der Blutprobe vorhanden sind: Segmentkernige Leukozyten, stabkernige Leukozyten, unreife Granulozyten, Blasten und atypische Lymphozyten. WVF (wachstumsfähige Fraktion der Leukozyten) ist ein Parameter, der den Anteil, der in der Probe vorhandener, vitaler Leukozyten beschreibt. Dieser und die Parameter der geschätzten Subpopulationen sind nur für den laborinternen Gebrauch vorgesehen, da ihr klinischer Nutzen nicht eindeutig belegt ist. Gleichzeitig wird mit der Analyse von Leukozyten die Blutprobe auf das Vorhandensein von kernhaltigen Erythrozyten untersucht und deren Konzentration und Anzahl pro 100 Leukozyten bestimmt (127 Kap. 3).

Für die Zählung und Differenzierung der Leukozyten wird ein Aliquot der Blutprobe mit vorgewärmtem WBC-Reagenz (Teile A und B) verdünnt und die Erythrozyten lysiert. Dieses Reagenz enthält einen Farbstoff der DNA färbt und bei einer Wellenlänge von 630 nm rot fluoresziert. Das WBC-Reagenz dient der Aufrechterhaltung der Integrität und Morphologie der Leukozyten. Im Gegensatz zu lebensfähigen Leukozyten kann der Farbstoff in tote und fragile Leukozyten eindringen und ihre DNA anfärben. Durch das WBC-Reagenz werden neben den Erythrozyten auch eventuell die in der Blutprobe vorhandenen kernhaltigen Erythrozyten zerstört, so dass nur noch die Zellkerne übrig bleiben. Die hüllenlosen Zellkerne nehmen den Fluoreszenzfarbstoff auf (127 Kap. 1 und 3).

Die Probenverdünnung wird in die optische Durchflussküvette geleitet. Dort wird an jeder Zelle eine 4-Winkel-Streulichtanalyse und Fluoreszenzmessung durchgeführt. Jede Zelle wird über den 0°-Lichtverlust (Zellgröße), das 7°-Streulicht (Zellkomplexität), das 90°-Streulichtsignal (Lobularität des Kerns einer Zelle) und das depolarisierte 90°-Streulicht (depolarisierende Granularität) und die rote Fluoreszenz bei 630 nm (FL3) charakterisiert. Für die Leukozytenzählung und -differenzierung werden die Daten der 4-Winkel-Streulichtanalyse verwendet. Durch die Messung der roten 630 nm Fluoreszenz werden nicht-lebensfähige Leukozyten und fragile Leukozyten sowie kernhaltige Erythrozyten in jeder Probe identifiziert. Die wachstumsfähige Fraktion der Leukozyten wird aus der Differenz von Gesamtleukozytenzahl und Anteil fragiler bzw. nicht-lebensfähiger Leukozyten berechnet (127 Kap. 3; 130).

2.3.2.6 Materialien zur Qualitätskontrolle

Für die Überwachung der Ergebnisse des großen Blutbildes und der Retikulozyten wurden CELL-DYN® 29 Plus Kontrollen mit Retikulozyten (Abbott, Wiesbaden) in den Konzentrationen Low, Normal und High verwendet. Da die Studie sich über mehrere Monate erstreckte, wurden mehrere Kontrollblutchargen eingesetzt. Alle Kontrollen wurden gemäß den Herstellerangaben behandelt und auf die gleiche Weise wie die Vollblutproben gemessen.

2.3.3 Sysmex XE-2100 und Sysmex XT-2000i

Die Multiparameter-Hämatologie-Analysensysteme XE-2100 und XT-2000i gehören zur selben Gerätefamilie. Die zugrundeliegenden Technologien der beiden Geräte sind sehr ähnlich. Der XE-2100 hat aber - im Vergleich zu seinem „kleinen Bruder“ XT-2000i - mehr Funktionen.

XE-2100 und XT-2000i verwenden für die hämatologische Diagnostik die Technik der fokussierten Durchflusszytometrie, sowohl für die elektrische Widerstandsmessung als auch für die optische Messung einer Laserlichtstreuung und einer Fluoreszenz. Die Hämoglobinbestimmung erfolgt mittels Absorptionsspektrometrie. Eine Hochfrequenz-Gleichstrommessung wird vom XE-2100 zur Analyse unreifer myeloischer Zellen eingesetzt (58; 131; 132).

Folgende Arten von Blutanalysen können durchgeführt werden: 1. Kleines Blutbild, 2. Großes Blutbild, 3. Großes Blutbild mit Normoblasten, 4. Großes Blutbild mit Normoblasten und Retikulozyten, 5. Großes Blutbild mit Retikulozyten, 6. Kleines Blutbild mit Retikulozyten und 7. Kleines Blutbild mit Normoblasten. Die Testprofile Nummer 3, 4 und 7 kann XT-2000i

nicht ausführen. Die Probenzufuhr kann über den automatischen und den manuellen Probennehmermodus sowie über den Kapillarblutmodus erfolgen (58; 128 Kap. 3; 129 Kap. 14; 131; 132). In der Studie wurde für die Analyse der Blutproben für den XE-2100 das Testprofil Nummer 4 und für den XT-2000i das Testprofil Nummer 5 gewählt. Die Probennahme erfolgte über den automatischen Probennehmermodus.

Das Blut wird über eine Vollblutpumpe angesaugt und gelangt dann in einer festgelegten Reihenfolge durch ein Probendosierventil und von dort in die einzelnen Messkanäle: 1. RBC/PLT/HKT-Kanal, 2. Hämoglobinkanal, 3. RET-Kanal, 4. WBC/BASO-Kanal, 5. 4-DIFF-Kanal, 6. IMI-Kanal, 7. NRBC-Kanal (131; 132).

Das Analysengerät XT-2000i verfügt nicht über den NRBC- und den IMI-Kanal. Im NRBC-Kanal werden fluoreszenzmarkierte kernhaltige erythrozytäre Vorstufen (NRBC) quantifiziert. Im IMI-Kanal (Immature Myeloid Information) können mittels Analyse von Hochfrequenz- und Gleichstromsignalen unreife myeloische Vorstufen in Blasten, unreife Granulozyten (Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten) und stabkernige Granulozyten separiert werden (58; 131; 132). Da im Rahmen der Dissertation für die Zellpopulationen dieser beiden Kanäle keine Referenzbereiche ermittelt wurden, werden diese im Folgenden nicht näher erläutert.

Unter Verwendung der fokussierten Durchflusszytometrie mittels Halbleiterlaser (Wellenlänge $\lambda = 633 \text{ nm}$) detektieren die Analysengeräte XE-2100 und XT-2000i von jeder Blutzelle drei unterschiedliche Arten von optischer Information: Vorwärtsstreulicht, Seitwärtsstreulicht und Seitwärts-Fluoreszenzlicht. Durch die Erfassung dieser Signale wird eine Leukozytenzählung sowie eine 5-Part-Leukozytendifferenzierung, die Analyse unreifer Granulozyten, kernhaltiger Erythrozyten (nur XE-2100) sowie Retikulozyten und die optische Messung von Thrombozyten und Erythrozyten durchgeführt. Das Vorwärtsstreulicht gibt Auskunft über die Größe einer Blutzelle und das Seitwärtsstreulicht liefert Informationen über die innere Zellstruktur und Komplexität. Von allen Zellen, deren DNA bzw. RNA mit einem Polymethin-Fluoreszenzfarbstoff angefärbt wurde, wird die Intensität eines Fluoreszenzlichts gemessen, wobei diese proportional zum DNA- bzw. RNA-Gehalt der Zelle ist. Dadurch sind Rückschlüsse auf die Zellaktivität und den Reifegrad der Zellen möglich (58; 131; 132).

Für die Zählung und Charakterisierung der Erythrozyten und Thrombozyten wird die Widerstandsmessung, unter Verwendung der hydrodynamischen Fokussierung, eingesetzt (58; 131; 132).

2.3.3.1 Erythrozytenanalytik

Bei der Analyse der Erythrozyten wird die Erythrozytenkonzentration mittels Impedanzmessung (RBC), MCV, MCH, MCHC, HCT und der Variationskoeffizient der Erythrozytenverteilungsbreite (RDW) sowie deren Standardabweichung (RDW-SD) ermittelt. Die Erythrozytenkonzentration wird auch im Retikulozytenkanal mit der optischen Methode bestimmt (RBC-O), wenn ein Testprofil mit Retikulozytenanalyse aktiviert ist. Dieser Parameter ist nicht für den ärztlichen Befund vorgesehen (131; 132).

Ein definiertes Volumen der in der Erythrozyten-/Thrombozytenreaktionskammer mit dem Reagenz Cellpack vorverdünnten Blutprobe wird dem Widerstandstransducer mittels hydrodynamischer Fokussierung zugeführt. Dort wird die Erythrozytenzahl und simultan der Hämatokrit durch kumulative Impulshöhensummierung ermittelt. MCV, MCH, MCHC werden aus den Parametern RBC, Hämoglobin und Hämatokrit berechnet (131; 132), die RDW-SD und RDW aus der Volumenverteilungskurve der Erythrozyten abgeleitet (58).

2.3.3.2 Thrombozytenanalytik

Bei der Thrombozytenanalyse werden die Thrombozytenkonzentration mittels Impedanzmessung (PLT), MPV, PDW, PCT und PLCR (Platelet large cell ratio) ermittelt. PLCR ist der prozentuale Anteil der Thrombozyten, die größer als 12 fl sind. Wenn ein Testprofil mit Retikulozytenanalyse aktiviert ist, wird die Thrombozytenkonzentration auch optisch (PLT-O) bestimmt (58).

Die Thrombozytenanalyse erfolgt im Widerstandstransducer simultan zur Erythrozytenanalyse aus derselben Blutverdünnung. Wegen der unterschiedlichen Größenbereiche von Erythrozyten und Thrombozyten können diese gut voneinander getrennt und in einem gemeinsamen Messkanal analysiert werden (131; 132). Es werden die Thrombozyten gezählt und gleichzeitig der Plättchenkrit durch eine kumulative Impulshöhensummierung ermittelt. Aus dem Volumen-Verteilungshistogramm der Thrombozyten werden MPV, PDW und PLCR abgeleitet (58).

Im Retikulozytenkanal wird die Thrombozytenkonzentration optisch ermittelt. Hierzu werden die Fluoreszenzintensität und die Seitwärtsstreulichtsignale analysiert. Wenn die Thrombozytenkonzentration sehr niedrig ist oder wenn in der Blutprobe Mikroerythrozyten, Fragmentozyten oder Riesenthrombozyten vorhanden sind, die bei der Impedanzmessung zu Interferenzen führen können, wird mittels eines automatischen Algorithmus PLT-O ausgegeben (58; 120).

2.3.3.3 Retikulozytenanalytik

Die Retikulozytenanalytik des XE-2100 und XT-2000i beinhaltet die Bestimmung von #RET und %RET sowie die Differenzierung der Retikulozyten in verschiedene Reifungsstufen. Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (Ret-He) wird nur vom XE-2100 ermittelt.

In der Retikulozytenmischkammer wird ein Teil der Blutprobe mit Cellpack verdünnt und mit Ret-Search (II) Reagenz vermischt. Dieses besteht aus einem Lysereagenz, welches die Zellmembranen von Leukozyten und Erythrozyten perforiert, und aus einem Polymethin-Fluoreszenzfarbstoff, welcher in den Zellen vorhandene RNA und DNA anfärbt (58; 131; 132).

Ein Teil des aufbereiteten Reaktionsgemisches wird mittels hydrodynamischer Fokussierung zur optischen Durchflussküvette geleitet. Dort werden die vereinzelt Zellen gezählt und die Fluoreszenzintensität und das Vorwärtstreulichtsignal einer jeden angefärbten Zelle gemessen. Eine Abtrennung der Retikulozyten von den Erythrozyten erfolgt über den unterschiedlichen RNA-Gehalt. Da die Leukozyten durch ihren hohen DNA-Gehalt wesentlich stärker fluoreszieren als die Retikulozyten mit ihrem vergleichsweise geringen RNA-Gehalt, können auch diese beiden Zellpopulationen gut voneinander abgegrenzt werden (58; 131; 132).

Die Retikulozyten werden nicht nur gezählt, sondern auch anhand ihres RNA-Gehalts in unterschiedliche Reifestufen differenziert, wobei die Fluoreszenzintensität proportional zum RNA-Gehalt ist. Je intensiver das Fluoreszenzsignal, desto unreifer ist der Retikulozyt. Es werden reife Retikulozyten mit niedriger Fluoreszenzintensität (LFR), halbreife Retikulozyten mit mittlerer Fluoreszenzintensität (MFR) und unreife Retikulozyten mit hoher Fluoreszenzintensität (HFR) unterschieden (58; 131; 132). Die Fraktion unreifer Retikulozyten (IRF, immature reticulocyte fraction) wird aus der Summe von HFR und MFR berechnet.

Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten wird ausgehend von der Analyse der Vorwärtstreulichtsignale der Retikulozyten ermittelt (132).

2.3.3.4 Hämoglobinmessung

Die photometrische Bestimmung der Hämoglobinkonzentration erfolgt beim XE-2100 und XT-2000i in einem separaten Hämoglobin-Kanal mit Hilfe der cyanidfreien Natrium-Lauryl-Sulfat-Hämoglobin-Methode. Dazu wird ein Teil der angesaugten Blutprobe in der Hämoglobinreaktionskammer mit Cellpack und Sulfolyser-Reagenz, welches Natrium-Lauryl-Sulfat (SLS) enthält, verdünnt und die Erythrozyten werden lysiert. An das Globin des

freigesetzten Hämoglobins binden die hydrophoben Gruppen des SLS und bewirken eine Konformationsänderung des Globinmoleküls. Dies führt zu einer Oxidation des Fe^{2+} des Häms zu Fe^{3+} . Nun binden die hydrophilen Gruppen des SLS an das Fe^{3+} und bilden mit diesem ein stabiles SLS-Hb-Reaktionsprodukt. Die aufbereitete Probenverdünnung wird zur Hämoglobin-Durchflussküvette geleitet und photometrisch bei einer Wellenlänge von 555 nm gemessen (131; 132).

2.3.3.5 Leukozytenanalytik

XE-2100 und XT-2000i besitzen folgende Kanäle zur Zählung und Differenzierung der Leukozyten: den WBC/BASO-Kanal und den 4-DIFF-Kanal.

2.3.3.5.1 WBC/BASO-Kanal

Im WBC/BASO-Kanal wird WBC sowie #BASO und %BASO gemessen (58; 131; 132).

Ein Teil der angesaugten Blutprobe wird zunächst in der WBC/BASO-Reaktionskammer mit dem sauren Reagenz Stromatolyser-FB vermischt. Dieses lysiert Erythrozyten und Thrombozyten und bewirkt, dass alle nichtbasophilen Leukozyten bis auf den Kern geschrumpft werden, die basophilen Granulozyten bleiben in ihrer Größe erhalten. Ein Anteil der aufbereiteten Blutprobe wird nun mittels hydrodynamischer Fokussierung zur optischen Durchflussküvette geleitet. Dort treten die basophilen Granulozyten und die „geschrumpften Rest-Leukozyten“ mit dem Laserstrahl in Wechselwirkung. Die Gesamtleukozytenzahl wird bestimmt und die beiden Zellpopulationen werden anhand der Vorwärtsstreulicht- (Zellvolumen) und Seitwärtsstreulichtsignale (innere Struktur, Komplexität) getrennt (58; 131; 132).

2.3.3.5.2 4-DIFF-Kanal

Im 4-DIFF-Kanal wird #LYM, %LYM, #MONO, %MONO, #EOS, %EOS, #NEUT und %NEUT bestimmt. In diesem Kanal werden auch unreife Granulozyten (IG, immature granulocytes) wie Metamyelozyten, Myelozyten und Promyelozyten quantifiziert (131; 132).

Ein Teil der Blutprobe wird mit Stromatolyser-4DL-Reagenz vermischt und in die 4-DIFF-Reaktionskammer geleitet. Das im Reagenz enthaltene Tensid bewirkt eine Lyse der Erythrozyten sowie der Thrombozyten und führt zur Perforation der Leukozytenmembranen. In der Reaktionskammer wird das Stromatolyser-4DS-Reagenz hinzugefügt und dadurch kann der im Reagenz enthaltene Fluoreszenzfarbstoff Polymethin in die Zellen gelangen und dort vorhandene DNA und RNA anfärben (58; 131; 132).

Die aufbereitete Blutprobe wird nun mittels hydrodynamischer Fokussierung in die Durchflusszelle geleitet und dort werden die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten sowie die Lymphozyten und Monozyten anhand ihrer Fluoreszenzintensität (DNA-/RNA-Gehalt) und Seitwärtsstreulichtsignale (innere Struktur, Granularität) voneinander getrennt (58; 131; 132). Befinden sich unreife Granulozyten wie Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten in der Blutprobe, werden diese zusammengefasst als Parameter "IG" (immature granulocytes, unreife Granulozyten) quantifiziert (131; 132). Da sich diese Zellen in einem aktiven Reifungsprozess mit entsprechend hohem Nukleinsäuregehalt befinden, sind ihre Fluoreszenzsignale stärker als die reifer Zellen. Deshalb kann die Population der unreifen Granulozyten gut von den reifen Granulozyten getrennt und quantifiziert werden.

2.3.3.6 Materialien zur Qualitätskontrolle

Für die Qualitätskontrolle der Messresultate der Geräte XE-2100 und XT-2000i wurde das kommerziell erhältliche e-CHECK® Kontrollblut (Sysmex, Norderstedt) in drei Level eingesetzt: Level 1, Level 2 und Level 3. Es wurden auch hier mehrere Kontrollblutchargen verwendet. Alle Kontrollen wurden gemäß den Herstellerangaben behandelt und auf die gleiche Weise wie die Vollblutproben der Probanden gemessen.

2.4 Statistische Auswertung

Die Auswertung der gemessenen Daten erfolgte mit Microsoft® Office Excel® 2007 und mit SPSS® 15.0 für Windows® (Statistical Package for the Social Sciences).

2.4.1 Ermittlung der Referenzbereiche

Ein Referenzbereich bzw. -intervall ist der Bereich zwischen und einschließlich einer oberen und unteren Referenzbereichsgrenze. Das Referenzintervall schließt gewöhnlich 95 % der Messwerte ein, wobei üblicherweise jeweils 2,5 % der Daten außerhalb der unteren und der oberen Grenze liegen. Für die Berechnung der Referenzbereichsgrenzen können parametrische und nichtparametrische Verfahren verwendet werden. Die Anwendung des parametrischen Verfahrens setzt eine Normalverteilung der Daten voraus. Sind die Messdaten nicht normalverteilt, kann mit Hilfe einer geeigneten Transformation, zum Beispiel dem Logarithmus, versucht werden, die Daten in eine Normalverteilung zu überführen. Die nichtparametrische Methode kann immer eingesetzt werden, da es nicht Voraussetzung ist, dass den Messwerten eine bestimmte Verteilungsfunktion zugrundeliegt. Aus diesem Grund wird das nichtparametrische Verfahren für die Ermittlung der Referenzbereiche empfohlen (55; 76 S. 15 f.; 98; 99 S. 42 ff.).

Über den beiden Referenzbereichsgrenzen soll nach Empfehlung der IFCC und des CLSI (ehemals NCCLS), ein 90%-Konfidenzintervall berechnet werden (55; 76 S. 25 f.; 99 S. 43). Das Konfidenzintervall ist ein aus Stichprobenwerten berechnetes Intervall, das den wahren aber unbekanntem Parameter - entspricht der oberen bzw. unteren Referenzbereichsgrenze - mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit, der Vertrauenswahrscheinlichkeit, überdeckt. Eine Vertrauenswahrscheinlichkeit von 90 % besagt, dass bei häufiger berechtigter Anwendung eines Verfahrens die berechneten Konfidenzintervalle in etwa 90 % der Fälle den Parameter überdecken und ihn in 10 % der Fälle nicht erfassen (94 S. 252).

In der vorliegenden Arbeit wurde unter Verwendung des nichtparametrischen Verfahrens die Berechnung der Referenzbereiche für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten für jedes der vier Analysengeräte separat durchgeführt. Die Daten wurden dazu, beginnend mit dem kleinsten Wert, der Größe nach angeordnet und diesen Rangnummern zugeordnet. Im Anschluss wurde die Rangnummer für die 2,5. Perzentile und die 97,5. Perzentile wie folgt ermittelt:

$$\text{Rangnummer für die 2,5. Perzentile} = 0,025 * (\text{Anzahl der Werte} + 1)$$

$$\text{Rangnummer für die 97,5. Perzentile} = 0,975 * (\text{Anzahl der Werte} + 1)$$

Der Messwert, der zur Rangnummer für die 2,5. Perzentile gehörte, entsprach der unteren Referenzbereichsgrenze. Die obere Grenze des Referenzintervalls war der Wert, welcher der Rangnummer für die 97,5. Perzentile zugeordnet werden konnte. Da die berechneten Ränge meist keine ganzen Zahlen waren, wurden die Referenzlimits durch Interpolation kalkuliert (55; 76 S. 23 f.; 98; 99 S. 45 f.). An dieser Stelle soll explizit erwähnt werden, dass im Rahmen dieser Studie keine Ermittlung und Elimination von Ausreißern erfolgte.

Aus einer Tabelle wurden die Rangnummern abgelesen, welche zur Bildung der 90%-Konfidenzintervalle für die untere und obere Referenzbereichsgrenze benötigt wurden. Es ist anzumerken, dass die Rangnummern von der Anzahl der Messwerte abhängig sind und dass bei der nichtparametrischen Methode das 90%-Konfidenzintervall erst ab einer Probengröße von mindestens 120 ermittelt werden kann (55; 76 S. 26; 98; 99 S. 45 f.).

2.4.2 Geschlechtsspezifische Referenzbereiche

Nicht veränderliche Einflussgrößen, wie z.B. Geschlecht, Alter und ethnische Zugehörigkeit können Labormesswerte von Patienten, aber auch die Referenzwerte und die daraus resultierenden Referenzintervalle beeinflussen. Sie dienen daher als Kriterien für die Bildung

homogener Subgruppen und somit der Erstellung engerer Referenzintervalle mit höherer diagnostischer Aussagekraft (55; 60; 99 S. 37 f.).

Um zu überprüfen, für welche Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten geschlechtsspezifische Referenzbereiche verwendet werden sollen, wurde die Methode von Harris und Boyd verwendet. Sie wurde im Jahr 1990 publiziert (38) und vom CLSI (ehemals NCCLS) empfohlen (76 S. 18). Mit dieser Methode wird geprüft, ob eine Partition der Referenzwerte in Subgruppen notwendig ist, für welche dann separate Referenzintervalle berechnet werden. Die Anwendung der Harris-und-Boyd-Methode erfolgte für jedes Analysengerät gesondert. Um zu untersuchen, für welche Blutbildparameter sich die Mittelwerte der beiden Subgruppen (Subgruppe 1 = Männer, Subgruppe 2 = Frauen) signifikant unterscheiden, wurde zuerst die Prüfgröße z mit Hilfe der folgenden Formel berechnet (38; 76 S.19):

$$z = \frac{|\text{Mittelwert Subgruppe 1} - \text{Mittelwert Subgruppe 2}|}{\sqrt{[(\text{Varianz Subgruppe 1} / \text{Anzahl Subgruppe 1}) + (\text{Varianz Subgruppe 2} / \text{Anzahl Subgruppe 2})]}}$$

Im NCCLS-Dokument C28-A wird erläutert, dass, wenn in jeder der beiden Subgruppen mindestens 60 Messwerte enthalten sind, der z -Test nichtparametrisch ist und an den Originaldaten durchgeführt werden kann, unabhängig davon ob die Daten normalverteilt sind oder nicht. Wenn die Werte in den Subgruppen deutlich schiefverteilt sind und eine einfache Transformation, wie beispielsweise die logarithmische Transformation, dazu beiträgt eine annähernde Normalverteilung der Daten zu erreichen, sollte der z -Test vorzugsweise an den transformierten Daten durchgeführt werden (76 S. 19).

Die berechnete Prüfgröße z wurde im zweiten Schritt mit einem „kritischen“ Wert (z^*) verglichen, der wie folgt ermittelt wurde (38; 76 S. 19):

$$z^* = 3 * \sqrt{[(\text{Anzahl Subgruppe 1} + \text{Anzahl Subgruppe 2}) / 240]}$$

Zusätzlich wurde untersucht, ob der Quotient, gebildet aus größerer Standardabweichung dividiert durch die kleinere, größer als 1,5 ist.

Wenn der berechnete z -Wert den kritischen Wert z^* überstieg oder wenn die größere Standardabweichung - unabhängig vom z -Wert - 1,5 Mal größer war als die kleinere, wurden - wie im NCCLS-Dokument C28A empfohlen - dann für jede Subklasse separate Referenzintervalle berechnet, wenn man davon ausgehen konnte, dass der Unterschied zwischen den beiden Referenzintervallen in der ärztlichen Praxis wahrscheinlich von Bedeutung ist (38; 76 S.19).

2.4.3 Gerätevergleich

Wie in den Kapiteln 2.3.1, 2.3.2. und 2.3.3 und Unterpunkten ausgeführt, ist deutlich zu erkennen, dass bei den Hämatologie-Analysensystemen herstellerbedingt unterschiedliche Messtechniken und Reagenzien zum Einsatz kommen. Aus diesem Grund wurden zunächst für jedes Analysengerät separat die Referenzbereiche für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten ermittelt. Ein Nebenziel der Dissertation war der Vergleich der Messwerte, welche mit den vier Analysensystemen ermittelt wurden. Es wurde geprüft inwieweit die Geräte untereinander konsistent sind, für welche Parameter die kalkulierten gerätespezifischen Referenzbereiche verwendet werden müssen und für welche Parameter ein gemeinsamer Referenzbereich benutzt werden kann.

Für den Vergleich der Geräte wurde im ersten Arbeitsschritt der Friedman-Test durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein nichtparametrisches Testverfahren, mit dem ein Vergleich von mehr als zwei abhängigen Stichproben möglich ist. Mit einem festgelegten Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ wurde untersucht, für welche Blutbildparameter die Messungen von mindestens zwei Analysensystemen einen signifikanten Unterschied (p -Wert $< 0,05$) zeigen. War der p -Wert des Friedman-Tests größer oder gleich $0,05$ wurde die Testprozedur beendet, da die Nullhypothese angenommen wurde, d.h., dass sich die Messungen der vier Analysengeräte nicht signifikant voneinander unterscheiden. Ergab der Friedman-Test jedoch ein signifikantes Ergebnis wurden im nächsten Arbeitsschritt mit Hilfe des nichtparametrischen Wilcoxon-Tests für zwei verbundene Stichproben paarweise Einzelvergleiche durchgeführt, um herauszufinden, welche Geräte sich im Einzelnen signifikant voneinander unterscheiden. Folgende Paare wurden getestet: 1. ADVIA 120 – CD-Sapphire, 2. ADVIA 120 – XE-2100, 3. ADVIA 120 – XT-2000i, 4. CD-Sapphire – XE-2100, 5. CD-Sapphire – XT-2000i und 6. XE-2100 – XT-2000i.

Hier ergibt sich jedoch das Problem des multiplen Testens. Durch dieses mehrfache Testen ist es wahrscheinlich ein falsch positives Ergebnis zu erhalten, d.h. es wird ein signifikanter Unterschied angenommen, der aber nicht vorhanden ist. Bei einem festgelegten globalen Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ bedeutet dies bei sechs Tests, dass anstatt mit $5 (1 - 0,95^1)$ von 100 falsch positiven Resultaten nun mit $26 (1 - 0,95^6)$ zu rechnen ist. Um eine solche Überschreitung der vorgegebenen Fehlerwahrscheinlichkeit von $0,05$ zu vermeiden, wurde deshalb die sequentiell verwerfende Holm-Prozedur angewendet. Die p -Werte der sechs Wilcoxon-Tests wurden der Größe nach angeordnet und mit $\alpha/6$, $\alpha/5$, $\alpha/4$, $\alpha/3$, $\alpha/2$, $\alpha/1$ verglichen. Sobald ein p -Wert größer als die zugehörige Schranke war, wurde die Prozedur gestoppt. Alle bis dahin überprüften Nullhypothesen wurden verworfen, alle weiteren Nullhypothesen angenommen (95 S. 428 ff.).

2.4.4 Lagerungsstabilität der Blutproben

Für eine effektive Interpretation von Messergebnissen, welche nicht innerhalb weniger Stunden nach der Blutabnahme ermittelt wurden, ist die Kenntnis über den Einfluss der Lagerungsdauer auf die Stabilität hämatologischer Parameter bedeutsam. Um die Auswirkung der Lagerungszeit auf die Blutparameter zu eruieren, wurde ein Großteil der 422 Blutproben nach der ersten Messung, die innerhalb von vier Stunden nach der Probenentnahme erfolgte, bei Raumtemperatur gelagert und nach circa 24 Stunden ein zweites Mal ein großes Blutbild mit Retikulozyten an allen vier Hämatologie-Analysengeräten bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des nichtparametrischen Wilcoxon-Tests für zwei verbundene Stichproben. Mit einem festgelegten Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ wurde getestet, bei welchen Blutbildparametern sich die Werte der ersten und zweiten Messung signifikant voneinander unterscheiden (p -Wert $< 0,05$). Zusätzlich wurden für jeden Parameter die Mittelwerte beider Messungen miteinander verglichen, indem ihre absolute und relative Abweichung voneinander bestimmt wurde. Die Auswertung wurde für jedes Analysensystem separat durchgeführt.

2.5 Bestimmung der Präzision

Präzision beschreibt die gegenseitige Annäherung voneinander unabhängiger Messergebnisse bei mehrfacher Anwendung einer Methode (116 S. 1975). Sie wird in Form eines Variationskoeffizienten (VK) ausgedrückt. Der VK ist die Standardabweichung relativ zum Mittelwert in Prozent (86 S. 1877).

2.5.1 Wiederholpräzision

Die Wiederholpräzision ist ein Maß für die Übereinstimmung von Messergebnissen unter Wiederholungsbedingungen (116 S. 1975). Um sie zu ermitteln wurde aus dem Blut einer Person, die aus der Referenzstichprobe stammte, das große Blutbild mit Retikulozyten mit ADVIA 120, CD-Sapphire, XE-2100 und XT-2000i je 21-mal hintereinander gemessen und für jeden Parameter der Variationskoeffizient berechnet.

2.5.2 Präzision von Serie zu Serie

Die Präzision von Serie zu Serie ist ein Maß für die Übereinstimmung von Messresultaten bei Bestimmungen am gleichen Material in demselben Laboratorium in aufeinanderfolgenden Messserien (116 S. 1975). Um diese zu bestimmen wurde - abhängig vom Gerätehersteller - kommerziell erhältliches Kontrollblut in verschiedenen Konzentrationen gemessen (siehe 2.3.1.6, 2.3.2.6 und 2.3.3.6). Dies geschah gemäß den Richtlinien der deutschen

Bundesärztekammer bei jeder Analysenserie, in der Studienproben gemessen wurden. Aus diesen Messergebnissen wurde für jedes der vier Analysengeräte, separat für jede Konzentration und für die unterschiedlichen Chargen, der Variationskoeffizient kalkuliert.

3. Ergebnisse

3.1 Referenzbereiche

In dem nun folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Berechnung der 95%-Referenzbereiche für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten vorgestellt.

In die Auswertung wurden die Analysenergebnisse von 422 Blutproben, die von 203 Männern und 219 Frauen stammten, einbezogen. Die Ermittlung der Referenzbereiche erfolgte mit Hilfe des nichtparametrischen Verfahrens. Als Untergrenze bzw. Obergrenze des Referenzbereichs wurde die 2,5. bzw. 97,5. Perzentile festgelegt. Zudem wurden für diese beiden Grenzen die zugehörigen 90%-Konfidenzintervalle bestimmt.

Aufgrund von temporären Gerätedefekten, Systemfehlern, fehlenden oder manchmal außerhalb der erlaubten Grenzen liegenden Qualitätskontrollen, ergibt sich für die vier Analysensysteme eine unterschiedliche Anzahl an Messungen von den einzelnen Blutbildparametern, die für die Ermittlung der Referenzbereiche verwendet werden konnten.

Um eine bessere Übersicht zu gewähren, sind die Ergebnisse der Referenzbereichsermittlung für jedes Analysensystem in einer separaten Tabelle aufgeführt. Die Tabellen B1 bis B4 im Anhang enthalten die Anzahl der Messungen, den Median und die Referenzbereiche mit den zu ihrer Unter- und Obergrenze gehörigen 90%-Konfidenzintervallen. Farblich und symbolisch ist kenntlich gemacht, ob es sich um ein geschlechtsspezifisches oder um ein gemeinsames Referenzintervall handelt.

3.1.1 Siemens ADVIA 120

Tabelle B1 im Anhang zeigt die Resultate der Referenzbereichsermittlung für den ADVIA 120. Unter Zuhilfenahme der Harris-und-Boyd-Methode wurden für die folgenden Parameter geschlechtsspezifische Referenzbereiche ermittelt: RBC-O, HGB, HCT, MCHC, CHCM, PLT-O, PCT, #RET und CHr. Für die Messgrößen MCV, MCH, RDW, MPV, PDW, %RET, die Reifungsindizes der Retikulozyten L-RTC, M-RTC und H-RTC sowie für alle Parameter der Leukozytenanalytik wurde für Männer und Frauen ein gemeinsames Referenzintervall berechnet. Es ist anzumerken, dass ungeachtet der Ergebnisse der angewendeten Harris-und-Boyd-Methode für #MONO, %MONO, #LUC und %LUC keine getrennten, sondern für beide Geschlechter gemeinsame Referenzbereiche gebildet wurden.

3.1.2 Abbott CELL-DYN Sapphire

Für den CD-Sapphire sind die Ergebnisse der Referenzbereichsermittlung in Tabelle B2 im Anhang zusammengefasst. Für die Messgrößen RBC-O, RBC, HGB, HCT, PLT-O, PLT und PCT wurden geschlechtsspezifische Referenzintervalle kalkuliert. Da es in der ärztlichen Praxis wahrscheinlich relevant ist, wurden, entgegen des Resultats der verwendeten Harris-und-Boyd-Methode, für die Parameter MCHC und #RET ebenfalls separate Referenzbereiche für Männer und Frauen berechnet. Ein für beide Geschlechter gemeinsamer Referenzbereich wurde für MCV, MCH, RDW, MPV, PDW, %RET und die Fraktion der unreifen Retikulozyten ermittelt. Im Hinblick auf die Leukozytenanalytik, wurden für alle Messgrößen - unter Nichtachtung der Ergebnisse der Harris-und-Boyd-Methode für %MONO und %EOS - gemeinsame Referenzintervalle gebildet.

3.1.3 Sysmex XT-2000i

In Tabelle B3 im Anhang sind die Resultate der Referenzbereichsermittlung für den XT-2000i dargestellt. Dieser Tabelle kann entnommen werden, dass unter Verwendung der Harris-und-Boyd-Methode, für die Parameter RBC-O, RBC, HGB, HCT, MCHC, PLT-O, PLT, PCT und #RET geschlechtsspezifische Referenzbereiche berechnet wurden. Keine separaten Referenzintervalle wurden für die Messgrößen MCV, MCH, RDW, RDW-SD, MPV, PDW, PLCR, %RET, LFR, MFR, HFR und für alle Parameter der Leukozytenanalyse ermittelt. Es ist zu erwähnen, dass, entgegen der Ergebnisse der angewendeten Harris-und-Boyd-Methode für %MONO kein getrennter, sondern für beide Geschlechter ein gemeinsamer Referenzbereich gebildet wurde.

3.1.4 Sysmex XE-2100

Die Ergebnisse der Referenzbereichsermittlung für den XE-2100 sind in Tabelle B4 im Anhang aufgelistet. Für die Parameter RBC-O, RBC, HGB, HCT, MCHC, PLT-O, PLT, PCT und #RET wurden geschlechtsspezifische Referenzintervalle berechnet. Da es in der ärztlichen Praxis wahrscheinlich relevant ist, wurde, entgegen des Resultats der verwendeten Harris-und-Boyd-Methode, auch für Ret-He ein separater Referenzbereich für Männer und Frauen bestimmt. Ein für beide Geschlechter gemeinsamer Referenzbereich wurde für die Messgrößen MCV, MCH, RDW, RDW-SD, MPV, PDW, PLCR, %RET, LFR, MFR, HFR und für alle Parameter der Leukozytenanalytik ermittelt. Es ist darauf hinzuweisen, dass für %MONO und %BASO die Ergebnisse der Harris-und-Boyd-Methode nicht beachtet wurden und für die beiden Parameter keine geschlechtsspezifischen, sondern gemeinsame Referenzbereiche gebildet wurden.

3.2 Gerätevergleich

Die Abbildungen A2 bis A41 im Anhang enthalten die Ergebnisse des Gerätevergleichs. Im linken Teil sind für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten die Mittelwerte der einzelnen Analysensysteme graphisch dargestellt. Rechts sind die Resultate des Friedman-Tests und der anschließenden sequentiell verwerfenden Holm-Prozedur zusammengestellt. In Klammern stehen die zugehörigen Schranken für die p-Werte der Wilcoxon-Tests. Für die Parameter, welche nur von zwei Geräten bestimmt werden oder die von einem Analysensystem mit zwei unterschiedlichen Methoden gemessen werden, ist das Ergebnis des Wilcoxon-Tests aufgeführt.

3.2.1 Erythrozytäre Kenngrößen

Der Friedman-Test und die anschließende sequentiell verwerfende Holm-Prozedur zeigen, dass sich die Messungen der vier Analysensysteme bezüglich der optisch ermittelten Erythrozytenkonzentration signifikant voneinander unterscheiden (Abbildung A2 im Anhang).

Aus Abbildung A3 im Anhang ist ersichtlich, dass es im Hinblick auf die mit der Impedanzmethode gemessene Erythrozytenkonzentration zwischen den Geräten CD-Sapphire und dem XE-2100 keinen signifikanten Unterschied gibt. Vergleicht man die Messwerte von RBC-O (ADVIA 120) mit denen von RBC (CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100), resultieren aus der sequentiell verwerfenden Holm-Prozedur signifikante Abweichungen.

Beim geräteinternen Vergleich zwischen der optisch und mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration liefert der Wilcoxon-Test sowohl für CD-Sapphire (Abbildung A4 im Anhang) als auch für XT-2000i (Abbildung A5 im Anhang) und für XE-2100 (Abbildung A6 im Anhang) einen signifikanten Unterschied.

Für die Hämoglobinkonzentration zeigen die Messungen von CD-Sapphire und XE-2100 keinen signifikanten Unterschied (Abbildung A7 im Anhang).

Laut Friedman-Test mit nachfolgender sequentiell verwerfender Holm-Prozedur weichen die Messungen der vier Analysengeräte für die Parameter Hämatokrit (Abbildung A8 im Anhang) und mittleres Erythrozytenvolumen (Abbildung A9 im Anhang) signifikant voneinander ab.

Der mittlere zelluläre Hämoglobingehalt ist der einzige Parameter für den der Friedman-Test kein signifikantes Ergebnis liefert (Abbildung A10 im Anhang).

Die Messwerte von allen vier Analysensystemen sind hinsichtlich der mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration signifikant unterschiedlich (Abbildung A11 im Anhang).

Für das Analysensystem ADVIA 120 ergibt der Vergleich zwischen der berechneten und der direkt gemessenen mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration gemäß Wilcoxon-Test keinen signifikanten Unterschied (Abbildung A12 im Anhang).

In Bezug auf die Erythrozytenverteilungsbreite weisen die Messwerte von XT-2000i und XE-2100 keine signifikante Abweichung auf (Abbildung A13 im Anhang).

Für die Standardabweichung der Erythrozytenverteilungsbreite, welche nur von XT-2000i und XE-2100 bestimmt wird, zeigt der Wilcoxon-Test einen signifikanten Unterschied (Abbildung A14 im Anhang).

3.2.2 Thrombozyten

Der Friedman-Test und die nachfolgende sequentiell verwerfende Holm-Prozedur zeigen, dass die Messungen der vier Analysensysteme hinsichtlich der optisch ermittelten Thrombozytenkonzentration signifikant voneinander abweichen (Abbildung A15 im Anhang).

Abbildung A16 im Anhang kann entnommen werden, dass sich die Messwerte der Geräte CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 bezüglich der mit der Impedanzmethode ermittelten Thrombozytenkonzentration signifikant voneinander unterscheiden. Werden die von ADVIA 120 ermittelten Messdaten für PLT-O mit denen für PLT der anderen drei Analysengeräte verglichen, resultieren aus der sequentiell verwerfenden Holm-Prozedur ebenfalls signifikante Abweichungen.

Beim geräteinternen Vergleich zwischen der optisch und mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration werden mit dem Wilcoxon-Test sowohl für CD-Sapphire (Abbildung A17 im Anhang) als auch für XT-2000i (Abbildung A18 im Anhang) signifikante Abweichungen ermittelt. Hingegen wird kein signifikanter Unterschied für das Analysensystem XE-2100 (Abbildung A19 im Anhang) gefunden.

Die Messwerte von allen Geräten weisen in Bezug auf das mittlere Thrombozytenvolumen signifikante Unterschiede auf (Abbildung A20 im Anhang).

Laut Friedman-Test mit nachfolgender sequentiell verwerfender Holm-Prozedur weichen die Messungen von CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 für die Thrombozytenverteilungsbreite (Abbildung A21 im Anhang) signifikant voneinander ab. Die mit ADVIA 120 ermittelten Messwerte von PDW sind nicht mit denen der anderen Geräte vergleichbar.

Vergleicht man die Messwerte für den prozentualen Anteil großer Thrombozyten, welcher nur von XT-2000i und XE-2100 ermittelt wird, so liefert der Wilcoxon-Test ein signifikantes Ergebnis (Abbildung A22 im Anhang).

Für den Thrombokrit zeigen die Messungen der Analysensysteme XT-2000i und XE-2100 keinen signifikanten Unterschied (Abbildung A23 im Anhang).

3.2.3 Retikulozyten

Die Messwerte aller Geräte weisen sowohl für die absolute Retikulozytenkonzentration (Abbildung A24 im Anhang) als auch für den relativen Retikulozytenanteil (Abbildung A25 im Anhang) eine signifikante Abweichung auf.

Bei Betrachtung der retikulozytären Reifungsindizes ist zu erkennen, dass sich die Messwerte von ADVIA 120, XT-2000i und XE-2100 im Hinblick auf die Parameter Retikulozyten mit geringem (Abbildung A26 im Anhang), mittlerem (Abbildung A27 im Anhang) und hohem RNA-Gehalt (Abbildung A28 im Anhang) signifikant voneinander unterscheiden.

Beim Vergleich der Messwerte für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten zwischen ADVIA 120 (CHr) und XE-2100 (Ret-He) weist der Wilcoxon-Test eine signifikante Abweichung auf (Abbildung A29 im Anhang).

3.2.4 Leukozyten und Differenzierung

Der Friedman-Test und die nachfolgende sequentiell verwerfende Holm-Prozedur zeigen, dass die Messungen der vier Analysensysteme bezüglich der Gesamtleukozytenzahl signifikant voneinander abweichen (Abbildung A30 im Anhang).

Wie aus Abbildung A31 im Anhang hervorgeht, ergibt der Vergleich zwischen der im Basophilen-/Lobularitätskanal und im Peroxidasekanal gemessenen Gesamtleukozytenzahl für ADVIA 120 laut Wilcoxon-Test einen signifikanten Unterschied.

Die Messungen aller Geräte zeigen für den absoluten Anteil der neutrophilen Granulozyten eine signifikante Abweichung (Abbildung A32 im Anhang). Im Gegensatz dazu deckt die sequentiell verwerfende Holm-Prozedur für den prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten zwischen CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 keinen signifikanten Unterschied auf (Abbildung A33 im Anhang).

Bei Betrachtung der Lymphozyten und Monozyten ist den Abbildungen A34 bis A37 im Anhang zu entnehmen, dass sich für die absolute Lymphozytenzahl die Messwerte von

ADVIA 120 und XT-2000i nicht signifikant unterscheiden. Im Hinblick auf die Parameter prozentualer Lymphozyten- und Monozytenanteil sowie absolute Monozytenzahl zeigen alle Geräte eine signifikante Abweichung. Der ADVIA 120 bestimmt zusätzlich eine sechste Leukozytenpopulation, die großen Peroxidase-negativen Zellen (LUC), welche bei den anderen Geräten im Lymphozyten- und Monozyten-Cluster zu finden sind. Die Daten von LUC wurden nicht in die Auswertung des Gerätevergleichs mit einbezogen (Mittelwert für #LUC = $0,15 \times 10^9/l$ und für %LUC = 2,3%).

Für die Gerätekombinationen ADVIA 120 und CD-Sapphire sowie XT-2000i und XE-2100 liefert die sequentiell verwerfende Holm-Prozedur für den absoluten Anteil der eosinophilen Granulozyten (Abbildung A38 im Anhang) keinen signifikanten Unterschied. Die Messungen von ADVIA 120 und XT-2000i zeigen auch für den prozentualen Anteil der eosinophilen Granulozyten keine signifikante Abweichung auf (Abbildung A39 im Anhang).

Für den absoluten (Abbildung A40 im Anhang) sowie für den prozentualen Anteil der basophilen Granulozyten (Abbildung A41 im Anhang) weisen die Messungen von XT-2000i und XE-2100 keinen signifikanten Unterschied auf.

3.3 Lagerungsstabilität der Blutproben

In diesem Kapitel wird der Einfluss der Lagerungsdauer auf die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten dargelegt. Um eine bessere Übersicht zu gewährleisten, werden die vier Hämatologie-Analysensysteme separat abgehandelt.

Die Tabellen B5 bis B8 im Anhang enthalten die Mittelwerte von Messung 1 (innerhalb von vier Stunden nach Blutabnahme) und von Messung 2 (nach einer 24-stündigen Lagerungszeit der Blutproben bei Raumtemperatur) sowie die absolute und relative Abweichung der beiden Mittelwerte voneinander. Ebenfalls dargestellt sind die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests.

3.3.1 Siemens ADVIA 120

Tabelle B5 im Anhang zeigt die Resultate der Lagerungsstabilität der Blutproben des ADVIA 120. Die 24-stündige Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur hat sehr wenig Auswirkung auf RBC-O, HGB und MCH. Die Parameter MCV und HCT nehmen im Mittel um etwa 5 % zu, RDW um 1,6 %. Die Werte von CHCM und MCHC verringern sich um durchschnittlich 7,6 % bzw. 4,3 %. Die Zahl der Thrombozyten fällt nach einem Tag um fast 10 % ab und PDW liegt rund 5 % unter dem Ausgangsniveau. MPV ist im Vergleich zum Entnahmepunkt im Mittel um 15,5 % größer, PCT um 4,4 %. Nach 24 Stunden beträgt für die Parameter #RET bzw. %RET die durchschnittliche Abweichung vom Ausgangswert je 13

% und für CHR 2,4 %. Bei den Reifungsindizes zeigen M-RTC und H-RTC eine starke Zunahme um 22,8 % bzw. 143,7 %, L-RTC indessen eine Abnahme um 4,0 %. Der Einfluss der Lagerungszeit auf WBC-B ist geringer als auf WBC-P. Bei den Leukozytensubpopulationen verhalten sich die absoluten und prozentualen Werte kongruent. #NEUT und #LUC unterliegen nur geringen Änderungen. #LYM sowie #EOS nehmen im Durchschnitt um 4,1 % bzw. 15,3 % ab, #MONO und #BASO hingegen um 10,7 % bzw. 8,2 % zu. Der Wilcoxon-Test liefert keine signifikanten Ergebnisse für RBC-O, MCH und #NEUT.

3.3.2 Abbott CELL-DYN Sapphire

In Tabelle B6 im Anhang sind die Ergebnisse der Lagerungsstabilität der Blutproben des CD-Sapphire dargestellt. Die Parameter RBC, RBC-O, HGB und MCH zeigen nach einer 24-stündigen Lagerung der Blutproben bei Zimmertemperatur stabile Werte. MCV, HCT sowie RDW liegen im Mittel rund 5% über dem Ausgangsniveau und MCHC 5,5 % darunter. Einen sehr geringen Einfluss hat die eintägige Lagerungszeit auf PLT, MPV und PDW. Die durchschnittliche Abweichung vom Ausgangswert beträgt für PLT-O und PCT circa 12 %. Für das Gerät CD-Sapphire ist auffällig, dass sich die optisch und mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozyten in ihrer Lagerungsstabilität deutlich voneinander unterscheiden. Die Parameter der Retikulozytenanalyse #RET und %RET sind im Vergleich zum Entnahmezeitpunkt im Mittel um 7,9 % bzw. 8,4 % kleiner, IRF um 3,4 %. Die Gesamtleukozytenzahl ist in den ersten 24 Stunden stabil. #NEUT und #LYM unterliegen nur geringen Änderungen. #EOS sowie #BASO nehmen im Durchschnitt um 33,1 % bzw. 5,0 % ab, #MONO hingegen um etwa 4 % zu. Ganz ähnlich sind die Ergebnisse für die prozentualen Werte der Leukozytendifferenzierung. Die lebensfähige Fraktion der Leukozyten (WVF) sinkt gegenüber dem Ausgangswert um mehr als 20 % ab. Der Wilcoxon-Test zeigt keine signifikanten Ergebnisse für RBC, MPV, PDW und WBC.

3.3.3 Sysmex XT-2000i

Aus Tabelle B7 im Anhang sind die Resultate der Lagerungsstabilität der Blutproben des XT-2000i ersichtlich. Die Parameter RBC, RBC-O, HGB und MCH erweisen sich bei eintägiger Lagerung bei Raumtemperatur als sehr konstant. MCV und HCT nehmen im Mittel um rund 7 % zu, RDW um 7,9 %. Die Werte von MCHC verringern sich um durchschnittlich 6,2 %. Nach 24 Stunden weist PLT keine nennenswerte Abweichung vom Ausgangswert auf, PLT-O liegt 2,0 % unter diesem. MPV ist im Vergleich zum Zeitpunkt der Blutabnahme im Mittel um 1,6 % größer. PDW sowie PCT steigen um etwa 1,5 % an und der Anteil der großen Thrombozyten (PLCR) um 4,9 %. Die Lagerung beeinflusst die Parameter #RET und %RET. Sie liegen im Durchschnitt 10 % unter dem Ausgangsniveau. Die Reifungsindizes MFR und HFR zeigen eine Zunahme um 11,3 % bzw. 21,5 %, die Werte von LFR bleiben stabil. Der

Einfluss der Lagerungszeit auf WBC ist gering. #NEUT und #BASO erfahren einen Anstieg um 3,6 % bzw. 1,6 %. #LYM und #MONO liegen im Mittel 2,2 % bzw. 7,9 % unter dem Ausgangswert. Die Zellzahl der Eosinophilen ändert sich nur minimal. Es ist anzumerken, dass die Ergebnisse für die prozentualen Werte der einzelnen Leukozytensubpopulationen ähnlich sind. Der Wilcoxon-Test liefert keine signifikanten Mittelwertunterschiede für RBC-O, HGB, PLT, WBC, #EOS, %EOS, #BASO und %BASO.

3.3.4 Sysmex XE-2100

In Tabelle B8 im Anhang sind die Ergebnisse der Lagerungsstabilität der Blutproben des XE-2100 aufgelistet. Die Parameter RBC, RBC-O, HGB und MCH werden durch eine 24-stündige Lagerung der Blutproben bei Zimmertemperatur nicht beeinflusst. MCV sowie HCT liegen im Mittel je 6,4 % über dem Ausgangsniveau und RDW 8 % darüber. MCHC ist im Vergleich zum Zeitpunkt der Blutabnahme um 6,3 % kleiner. Die Zahl der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozyten nimmt nach einem Tag um 1,8 % zu, die Zahl der optisch gemessenen Thrombozyten hingegen sinkt um 5,2 %. Die durchschnittliche Abweichung vom Ausgangswert beträgt für MPV und PDW circa 1,5 %. PLCR steigt um 4,8 % an und PCT um 3,6 %. Nach einem Tag sind die Werte von #RET und %RET um 8 % kleiner bei nahezu unverändertem Ret-He. Die Reifungsindizes MFR und HFR zeigen eine Zunahme von 7,8 % bzw. 4,0 %, die Werte von LFR bleiben konstant. WBC ist lagerungsstabil. #LYM und #MONO liegen im Mittel 2,0 % bzw. 7,0 % unter dem Ausgangswert, #NEUT 2,4 % über diesem. Die Zellzahl der Basophilen ändert sich nicht nennenswert und #EOS nimmt durchschnittlich um 1,2 % ab. Bei den Leukozytensubpopulationen verhalten sich die absoluten und prozentualen Werte kongruent. Der Wilcoxon-Test zeigt keine signifikanten Mittelwertunterschiede für RBC, RBC-O, HGB, MCH, HFR, WBC, #EOS, %EOS, #BASO und %BASO.

3.4 Präzision

3.4.1 Wiederholpräzision

Im folgenden Abschnitt sind die Ergebnisse der Wiederholpräzision für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten dargestellt. Um diese zu ermitteln, wurde die Blutprobe einer Person, die aus der Referenzstichprobe stammte, mit ADVIA 120, CD-Sapphire, XE-2100 und XT-2000i je 21-mal hintereinander gemessen. Für die einzelnen Blutbildparameter wurden die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten berechnet. Um eine bessere Übersicht zu gewährleisten, werden die vier Hämatologie-Analysensysteme nacheinander abgehandelt (Tabelle B9 bis B12 im Anhang).

3.4.1.1 Siemens ADVIA 120

In Tabelle B9 im Anhang sind die Resultate der Wiederholpräzision des ADVIA 120 aufgelistet. Die Variationskoeffizienten (VK) für die Parameter der Erythrozytenanalytik sind hervorragend ($VK \leq 1,5 \%$). Die Ergebnisse der Wiederholpräzision für die Messwerte der Thrombozytenanalytik liegen zwischen 2,0 % und 4,5 %. Die Retikulozytenzählung ist mit einem VK von 10,9 % durch eine mäßige Wiederholbarkeit gekennzeichnet. Die Bestimmung des prozentualen Anteils an der Gesamterthrozytenzahl zeigt eine sehr ähnliche Präzision ($VK = 10,5 \%$). Erhebliche Unterschiede sind bei der Wiederholpräzision für die Reifungsindizes zu erkennen. Während L-RTC einen VK von 2,4 % aufweist, ist die Präzision für M-RTC ($VK = 32,8 \%$) und H-RTC ($VK = 95,5 \%$) ungenügend. CHr erreicht eine sehr gute Präzision bei 21-facher Messung der Probe ($VK = 1,1 \%$). Bei der Leukozytenanalytik zeichnen sich die Messwerte von WBC-B respektive WBC-P, #NEUT, %NEUT, #LYM und %LYM durch eine gute Reproduzierbarkeit aus ($VK \leq 4 \%$). Die Ergebnisse der Wiederholpräzision für #MONO, %MONO, #EOS und %EOS liegen unter 10 %, die für #BASO, %BASO, #LUC und %LUC hingegen bei etwa 20 %.

3.4.1.2 Abbott CELL-DYN Sapphire

In Tabelle B10 im Anhang sind die Ergebnisse der Wiederholpräzision des CD-Sapphire dargestellt. Der CD-Sapphire verfügt mit einem VK von unter 1,5 % über eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse für die Parameter der Erythrozytenanalytik. Die Messwerte von PLT, PLT-O, MPV, PDW und PCT zeichnen sich ebenfalls durch eine gute Wiederholbarkeit aus ($VK < 4 \%$). Bei der Retikulozytenanalytik liegt der VK für die Parameter #RET, %RET und IRF zwischen 6,1 % und 11,7 %. Die Wiederholpräzision für WBC sowie für den absoluten und prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten und der Lymphozyten ist mit einem $VK \leq 5 \%$ gut. Die Variationskoeffizienten für #MONO und %MONO ($VK = 7,5 \%$) sowie für #EOS und %EOS ($VK = 11,1 \%$ bzw. $11,5 \%$) sind mäßig. Die Parameter #BASO und %BASO zeigen mit einem VK von über 23% eine schlechte Wiederholbarkeit. WVF erreicht eine hervorragende Präzision bei 21-facher Messung der Blutprobe ($VK = 0,6 \%$).

3.4.1.3 Sysmex XT-2000i

Tabelle B11 im Anhang zeigt die Resultate der Wiederholpräzision des XT-2000i. Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, zeichnen sich die Parameter der Erythrozyten- und Thrombozytenanalyse insgesamt durch eine sehr gute Wiederholpräzision aus ($VK < 3 \%$), lediglich PLT-O liegt mit einem VK von 3,9 % etwas höher. Die Variationskoeffizienten für #RET ($VK = 11,4 \%$) respektive %RET ($VK = 11,2 \%$) sind akzeptabel. Bei den

Reifungsindizes ist die Reproduzierbarkeit von LFR hervorragend (VK = 1,4 %) und die von MFR (VK = 32,2 %) bzw. HFR (VK = 122,1 %) ungenügend. Bei der Leukozytenanalytik liegt der VK für die Parameter WBC, #NEUT, %NEUT, #LYM und %LYM zwischen 1,0 % und 3,1 %. Die Monozyten (VK = 7, 1%) und eosinophilen Granulozyten (VK = 13,7 %) zeigen eine mäßige und die basophilen Granulozyten (VK = 22,7 %) eine schlechte Wiederholbarkeit, wobei die Ergebnisse der absoluten Zellzahlen und prozentualen Angaben ähnlich sind

3.4.1.4 Sysmex XE-2100

Aus Tabelle B12 im Anhang sind die Ergebnisse der Wiederholpräzision des XE-2100 ersichtlich. Der XE-2100 erzielt bei 21-facher Messung der Probe eine sehr gute Präzision für die Parameter der Erythrozyten- und Thrombozytenanalyse (VK ≤ 3,3 %). Die Ergebnisse für #RET sowie für %RET (VK = 7,4 % bzw. 7,5 %) sind befriedigend. Die Wiederholbarkeit der Messwerte ist hinsichtlich von Ret-He und LFR hervorragend (VK ≤ 2 %). Eine schlechte Präzision wurde dagegen für MFR (VK = 32,4 %) und für HFR (VK = 92,0 %) ermittelt. Bei der Leukozytenanalytik zeichnen sich die Messwerte von WBC, #NEUT und %NEUT durch eine sehr gute Reproduzierbarkeit aus (VK ≤ 1,9 %). #LYM bzw. %LYM zeigen eine gute Präzision (VK ≤ 4,1 %). Die Ergebnisse der Wiederholpräzision für #MONO, %MONO, #EOS und %EOS liegen zwischen 9,0 % und 11,5 %. Die Parameter #BASO und %BASO sind mit einem VK von über 27 % bei Mehrfachmessung schlecht reproduzierbar.

3.4.2 Präzision von Serie zu Serie

Dieses Kapitel enthält die Ergebnisse der Präzision von Serie zu Serie für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten. Um diese zu bestimmen, wurde bei jeder Analysenserie, in der die Studienproben gemessen wurden und abhängig vom Gerätehersteller, kommerziell erhältliches Kontrollblut in verschiedenen Konzentrationen gemessen. Aus den Messergebnissen wurden für die einzelnen Blutbildparameter separat für jedes Analysensystem und für jede Konzentration die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten kalkuliert. Da sich die Studie über einen Zeitraum vom 21.02.2006 bis zum 28.10.2006 erstreckte, mussten pro Gerät mehrere Kontrollblutchargen (#) verwendet werden, d.h. für ADVIA 120 und für CD-Sapphire jeweils 5 Chargen und für die beiden Geräte der Firma Sysmex je 6 Chargen. Da eine gemeinsame Auswertung für die unterschiedlichen Kontrollchargen nicht möglich war, werden im Folgenden die Resultate von einer Charge in drei unterschiedlichen Abstufungen präsentiert. Um eine bessere Übersicht zu gewähren, werden die Analysensysteme nacheinander abgehandelt (Tabelle B13 bis B17 im Anhang).

3.4.2.1 Siemens ADVIA 120

Die Tabellen B13 und B14 im Anhang zeigen die Resultate der Präzision von Serie zu Serie für den ADVIA 120. Die Präzision für die Parameter des Differenzialblutbildes wurde aus den Messdaten der Para Tech® Multiparameter Hämatologie-Kontrollen #030 in den Konzentrationen low, normal und high ermittelt (Tabelle B13 im Anhang). Die Messungen fanden zwischen dem 21.02.2006 und dem 08.04.2006 statt. Um für die Retikulozyten die Präzision über verschiedene Serien hinweg zu bestimmen, wurden die Messungen der TESTpoint™ Retikulozyten-Kontrollen #91012 (low) und #92022 (high), welche im Zeitraum vom 21.02.2006 bis zum 01.06.2006 durchgeführt wurden, ausgewertet (Tabelle B14 im Anhang). Die Ergebnisse der Präzision von Serie zu Serie liegen für die Messwerte der Erythrozytenanalytik in allen drei Konzentrationen unter 3,5 %. Die Variationskoeffizienten für die Parameter PLT-O und MPV bewegen sich zwischen 1,8 % und 5,5 %, wobei diese im normalen und hohen Messbereich kleinere Werte aufweisen als im niedrigen Bereich. ADVIA 120 erzielt für WBC-B und WBC-P eine gute Präzision über verschiedene Serien hinweg (VK \leq 5,5 %). Mit den Para Tech® Multiparameter Hämatologie-Kontrollen ist nur die Bestimmung des relativen Anteils der einzelnen Subpopulationen an der Gesamtleukozytenzahl möglich. Die Wiederholbarkeit der Messwerte von %NEUT ist sehr gut (VK \leq 2,8 %) und die von %LYM gut (VK \leq 4,7 %). Die Resultate für %EOS, %MONO sowie %LUC sind mäßig, die Variationskoeffizienten liegen zwischen 7,5 % und 16,7 %. Der Parameter %BASO ist über verschiedene Serien hinweg schlecht reproduzierbar (VK \leq 34,2 %). Aus Tabelle B13 im Anhang ist ersichtlich, dass für die Leukozytensubpopulationen mit dem Kontrollblut in den Abstufungen normal und high bessere Resultate erreicht werden als in der Abstufung low, ausgenommen davon ist %LYM.

Mit den TESTpoint™ Retikulozyten-Kontrollen ist eine absolute Retikulozytenzählung nicht möglich. Tabelle B14 im Anhang zeigt, dass die Erythrozytenkonzentration, die im Retikulozytenkanal bestimmt wird (R-RBC), sehr gut reproduzierbar ist (VK = 1,6 %). Der Variationskoeffizient für %RET liegt im tiefen Messbereich bei 11,2%, im hohen Bereich dagegen bei 5,4 %. Für den Parameter CHr wird mit dem Kontrollblut in der Abstufung high (VK = 2,3 %) eine etwas günstigere Präzision erzielt als in der Abstufung low (VK = 3,0 %).

3.4.2.2 Abbott CELL-DYN Sapphire

In Tabelle B15 im Anhang sind die Resultate der Präzision über verschiedene Serien hinweg für das Analysensystem CD-Sapphire aufgelistet. Die Präzision wurde aus den Messdaten der CELL-DYN® 29 Plus Kontrollen mit Retikulozyten #60169 in den drei Abstufungen low, normal und high ermittelt. Die Messungen fanden zwischen dem 21.02.2006 und dem 30.03.2006 statt. Die Ergebnisse der Präzision von Serie zu Serie sind für die Messwerte der

Erythrozytenanalytik sehr gut ($VK \leq 2,8 \%$). Dabei sind die Resultate im normalen und hohen Konzentrationsbereich geringfügig besser als im niedrigen Bereich, ausgenommen sind HGB und RDW. Die Variationskoeffizienten für die Parameter der Thrombozytenanalyse liegen zwischen 1,2 % und 11,9 %, wobei diese im hohen Messbereich niedrigere Werte aufweisen als im tiefen. Tabelle B15 im Anhang kann entnommen werden, dass die Parameter #RET, %RET und IRF über verschiedene Serien hinweg gut reproduzierbar sind ($VK \leq 4,5 \%$). Allerdings ist mit dem Kontrollblut in den Konzentrationen low und normal die Präzision besser. Bei der Leukozytenanalytik zeichnen sich die Messwerte von WBC, #NEUT und %NEUT durch eine sehr gute Wiederholbarkeit aus ($VK \leq 2,8 \%$). Die Ergebnisse für #LYM, %LYM, #MONO, %MONO, #EOS sowie %EOS liegen zwischen 2,9 % und 22,9 %. Ungenügend reproduzierbar sind die Parameter #BASO und %BASO, deren VKs sich zwischen 41,0 % und 94,6 % bewegen. Es ist anzumerken, dass die Zählung der Leukozyten und deren Subpopulationen im tiefen Messbereich unpräziser ist als im mittleren und hohen Bereich.

3.4.2.3 Sysmex XT-2000i

Tabelle B16 im Anhang enthält die Ergebnisse der Präzision über verschiedene Serien hinweg für das Analysensystem XT-2000i. Für die Ermittlung der Präzision wurden die Messdaten des e-CHECK® Kontrollbluts #602808 in den Level 1 bis 3 herangezogen. Die Messungen wurden zwischen dem 21.02.2006 und dem 31.03.2006 durchgeführt. Der XT-2000i erzielt mit dem Kontrollblut in allen drei Konzentrationen für die Parameter der Erythrozytenanalyse eine sehr gute Präzision über verschiedene Serien hinweg ($VK \leq 1,6 \%$). Die Variationskoeffizienten für die Parameter der Thrombozytenanalytik bewegen sich zwischen 0,8 % und 9,5 %. Dabei ist die Präzision im tiefen Messbereich ungünstiger als im mittleren und hohen Bereich. Die Ergebnisse für #RET sowie für %RET liegen zwischen 4,0 % und 6,5 %. Die Wiederholbarkeit der Messwerte von LFR ($VK \leq 3,6 \%$) ist besser als die von MFR ($VK \leq 9,8 \%$) und HFR ($VK \leq 18,0 \%$). Allerdings sind die Messungen mit dem Kontrollblut in den Level 1 und 2 präziser als in Level 3, ausgenommen LFR. Bei der Leukozytenanalytik werden im hohen Konzentrationsbereich bessere Resultate erzielt als im tiefen Bereich. Die Parameter WBC, #NEUT, %NEUT, #LYM, %LYM, #BASO und %BASO zeichnen sich durch eine gute bis sehr gute Reproduzierbarkeit aus ($VK \leq 5,1 \%$). #MONO, %MONO, #EOS sowie %EOS sind dagegen über verschiedene Serien hinweg nur mäßig wiederholbar ($VK \leq 11,8 \%$).

3.4.2.4 Sysmex XE-2100

Für die Berechnung der Präzision von Serie zu Serie für das Gerät XE-2100 wurden die Messungen des e-CHECK® Kontrollbluts #602808 in den Level 1 bis 3, welche im Zeitraum

vom 21.02.2006 bis zum 31.03.2006 durchgeführt wurden, ausgewertet. In Tabelle B17 im Anhang sind die Ergebnisse zusammengefasst. Die Variationskoeffizienten für die Parameter der Erythrozytenanalytik sind in den Level 1 bis 3 hervorragend ($VK \leq 1,3 \%$). Die Resultate der Präzision von Serie zu Serie für die Messwerte der Thrombozytenanalytik liegen zwischen 0,5 % und 8,1 %. Dabei ist die Präzision im tiefen Messbereich ungünstiger als im mittleren und hohen Bereich. Die Ergebnisse für #RET sowie für %RET ($VK \leq 5,1 \%$) sind gut und für Ret-He hervorragend ($VK \leq 1,6 \%$). Bei den Reifungsindizes ist die Reproduzierbarkeit von LFR ($VK \leq 4\%$) besser als die von MFR ($VK \leq 10,9 \%$) bzw. HFR ($VK \leq 21,5 \%$). Mit dem Kontrollblut in den Level 1 und 2 wird für die Parameter der Retikulozytenmessung eine bessere Präzision erzielt als in Level 3. Wie aus Tabelle B17 im Anhang ersichtlich, sind die Variationskoeffizienten in allen drei Messbereichen für WBC, #NEUT, %NEUT, #LYM, %LYM, #BASO und %BASO kleiner als 4,5 %. Die Parameter #MONO und %MONO sind mit einem VK zwischen 8,2 % und 10,1 % mäßig reproduzierbar, ebenso #EOS und %EOS, deren VK sich zwischen 6,2 % und 7,0 % bewegt.

4. Diskussion

4.1 Referenzbereiche

Die Bestimmung des Blutbildes ist eines der am häufigsten durchgeführten Analysenverfahren in medizinischen Laboratorien, da nicht nur die primären hämatologischen Erkrankungen Blutbildveränderungen hervorrufen, sondern im Grunde genommen alle systemischen Erkrankungen und zahlreiche Organerkrankungen sekundäre hämatologische Manifestationen aufweisen (25 S. 232; 37 S. 401). Die Interpretation der Laborergebnisse wird den Klinikern und auch dem Laborpersonal erleichtert, wenn für die quantifizierten Messgrößen die zugehörigen Referenzbereiche für Vergleichszwecke verfügbar sind. Die Referenzbereiche stellen eine Orientierungshilfe dar und unterstützen die Mediziner bei der Beurteilung, ob das Ergebnis einer Laboruntersuchung auffällig ist oder ob sich dieses im typischen Bereich für eine genau definierte Referenzpopulation befindet (43; 85). Voraussetzung für die richtige Einschätzung des Messresultats ist jedoch, dass die Referenzindividuen in Bezug auf Alter, Geschlecht und Ethnie so vergleichbar wie möglich mit den Personen sind, für welche die Referenzbereiche verwendet werden und dass die Messwerte in beiden Gruppen unter denselben Bedingungen generiert wurden (43; 60; 76 S. 30 f.; 101). In der Verlaufsbeobachtung einer Erkrankung ist es allerdings zweckmäßiger, für den Vergleich des aktuellen Labormesswerts Vorwerte desselben Patienten heranzuziehen als die Werte eines Referenzkollektivs. Der Grund dafür ist, dass beim intraindividuellen Vergleich eine Verbesserung bzw. eine Verschlechterung des biochemischen, hämatologischen oder physiologischen Status besser beurteilt werden kann. Zudem ist die Variabilität innerhalb eines Individuums geringer als diejenige zwischen den Individuen (34; 54; 87; 104).

Gesundheit ist ein stabiler Status und stellt somit eine allgemeingültige Referenz für Krankheit dar. In der Klinischen Chemie und Hämatologie ist es daher üblich, ein klinisch gesundes Referenzkollektiv für die Ermittlung von Referenzwerten heranzuziehen. Außerdem ist eine Gruppe gesunder Referenzindividuen aufgrund der geringeren intra- und interindividuellen Variabilität homogener, und ihre Referenzbereiche sind besser reproduzierbar als die von kranken Referenzpersonen (60). Hinsichtlich der hämatologischen Messgrößen sind eingeschränkt auch Referenzbereiche für andere klinisch relevante Referenzgruppen wie z. B. Schwangere (1; 4 S. 158; 69; 72) oder Hochleistungssportler (6; 62) verfügbar. In der Regel umfasst das Referenzintervall die zentralen 95 % der Messwerte, die von einer repräsentativen Referenzstichprobe klinisch Gesunder stammen. Die oberen und unteren 2,5 % werden nicht berücksichtigt (46; 55; 76 S. 15). Liegt ein Laborergebnis eines Patienten außerhalb des Referenzintervalls, bedeutet das nicht automatisch das

Vorhandensein einer Krankheit und die Notwendigkeit medizinischer Schritte. Insbesondere ein Messwert, der sich nur geringfügig außerhalb der unteren bzw. oberen Referenzbereichsgrenze befindet, gehört möglicherweise zu den 5%-Werten gesunder Referenzindividuen, die außerhalb eines festgelegten 95%-Referenzbereichs zu erwarten sind (46; 60; 101). In der vorliegenden Dissertation wurden für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten Referenzbereiche ermittelt, welche die zentralen 95 % der Referenzwerte einschließen. Ein kurzes Anamnesegespräch sowie ein Fragebogen halfen bei der Beurteilung des Gesundheitszustandes der Probanden. Anhand definierter Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte die Aufnahme in die Referenzstichprobe bzw. der Ausschluss aus dieser. Das Referenzkollektiv bestand schließlich aus 422 offensichtlich gesunden Erwachsenen.

Geschlecht, Alter sowie Ethnie sind die wichtigsten unveränderlichen Einflussfaktoren, die zu signifikant unterschiedlichen Referenzintervallen führen können (46). Aufgrund des ausgewogenen Geschlechtsverhältnisses bei den Studienteilnehmern (203 Männer und 219 Frauen) wurden in der vorliegenden Arbeit jede hämatologische Messgröße auf geschlechtsspezifische Unterschiede geprüft und für Männer und Frauen separate Referenzbereiche berechnet, wenn dies erforderlich war. Die Resultate werden in den Unterkapiteln 4.1.1 bis 4.1.4 diskutiert. Die Berechnung altersspezifischer Referenzbereiche war nicht Gegenstand dieser Dissertation. Die Studienteilnehmer waren zwischen 18 und 75 Jahre alt. Wie aus Abbildung A1 im Anhang hervorgeht, konnten deutlich mehr jüngere Probanden rekrutiert werden. Da aber altersbedingte Veränderungen bei den hämatologischen Parametern bekannt sind, wird an dieser Stelle auf diverse Quellen verwiesen, in denen für unterschiedliche Altersgruppen Referenzbereiche zur Verfügung gestellt werden (4 S.152 ff.; 12 S. 1250 ff.; 17; 32; 40 S. 78 ff.; 46; 70 S. 206; 92; 100 S. 217 ff.; 103; 106; 107 S. 12 f.). In der Literatur wurde beschrieben, dass die Referenzwerte einiger hämatologischer Messgrößen in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen differieren (2; 5; 17; 30; 66; 93; 96). Um aber die Ergebnisse einer maschinellen Blutbilduntersuchung richtig interpretieren und folglich richtige Diagnosen und Therapieentscheidungen treffen zu können, ist es für den Vergleich maßgeblich, solche Referenzbereiche heranzuziehen, die charakteristisch für die Bevölkerungsgruppe sind, welcher der Patient angehört. Die Teilnehmer an dieser Referenzwertstudie waren mitteleuropäischer Herkunft und Bewohner Südbayerns, wobei der überwiegende Teil aus dem Großraum München stammt. Die hier bestimmten Referenzbereiche sind somit repräsentativ für die Bevölkerung dieser Region.

Neben den unveränderlichen Einflussgrößen wirkt sich auch das Prozedere in der präanalytischen und analytischen Phase auf die ermittelten Referenzwerte und folglich auf die Referenzbereiche aus. Um korrekte Messergebnisse zu erhalten und um

Fehlinterpretationen eines Laborbefundes zu vermeiden, ist es von zentraler Bedeutung die präanalytischen Faktoren akkurat zu definieren und zu standardisieren. Hierzu zählen die Vorbereitung der Personen auf die Probenentnahme sowie die Gewinnung und die Handhabung des Untersuchungsmaterials (43; 46). Von großer Wichtigkeit ist es, dass die präanalytischen Bedingungen sowohl bei den Referenzindividuen als auch bei den Patienten möglichst ähnlich sind (52; 60; 76 S. 9). An dieser Stelle sei explizit erwähnt, dass bezüglich der Präanalytik die Effekte, die bei einer 24-stündigen Lagerung des Probenmaterials bei Raumtemperatur Einfluss auf die Stabilität hämatologischer Parameter haben, im Rahmen dieser Dissertation überprüft wurden und in Punkt 4.2 diskutiert werden. Unterschiedliche Messtechniken, die Verwendung verschiedener Analysengeräte bzw. Reagenzien und voneinander abweichende Arbeitsweisen in unterschiedlichen Laboratorien können ebenfalls die Messergebnisse beeinflussen. Daher ist es bedeutend, dass auch die Analytik möglichst standardisiert ist und genauestens kontrolliert wird (53; 60; 76 S. 9). Herklotz et al. (46) führen in ihrer Studie an, dass die benutzte Messmethode und die apparative Ausrüstung dank der weitgehenden Standardisierung in der Hämatologie eine untergeordnete Rolle in Bezug auf die diskrepanten Referenzbereichsangaben in unterschiedlichen Laboratorien spielen. Zumeist sind die Auswahlkriterien des Referenzkollektivs, was die Einflussfaktoren betrifft, für die scheinbaren Unterschiede ursächlich. Viele Studien zur Etablierung von Referenzbereichen in der Hämatologie wurden nur mit einem Gerätetyp durchgeführt. Jedoch geht aus Ringversuchsergebnissen hervor, dass deutliche gerätespezifische Unterschiede bestehen, besonders bei den Retikulozyten (80). In der Literatur gibt es aber kaum Arbeiten, in denen gerätespezifische Referenzbereiche zur Verfügung gestellt werden (59; 80; 105; 121). In der vorliegenden Studie wurden daher für vier Multiparameter-Hämatologie-Analysensysteme (Siemens ADVIA 120, Abbott CELL-DYN Sapphire, Sysmex XT-2000i und Sysmex XE-2100), die den derzeitigen Gerätestandards entsprechen, gerätespezifische Referenzintervalle berechnet. Die Konsistenz der Analysengeräte untereinander wurde ebenfalls geprüft. Die Ergebnisse werden zusammen mit den Referenzbereichen in den Punkten 4.1.1 bis 4.1.4 erörtert. Da bei der Erhebung der Referenzwerte die präanalytische Phase vereinheitlicht und für die Messung des Probenmaterials standardisierte, präzise und gut kontrollierte Analysenmethoden verwendet wurden, konnten hier die Einflüsse der Präanalytik und Analytik auf die Messwerte gering gehalten werden, was Voraussetzung für korrekte Ergebnisse und für deren richtige Beurteilung ist. Die Ergebnisse der Wiederholpräzision und der Präzision über verschiedene Serien hinweg werden in Punkt 4.3 diskutiert.

Für die Berechnung der Referenzbereiche kommen in der Regel zwei Verfahren in Betracht: das nichtparametrische Verfahren, welches keine bestimmte Verteilung der Daten

voraussetzt und das parametrische Verfahren, das nur bei normalverteilten Daten angewendet werden darf (55; 76 S. 15). Von der IFCC und dem CLSI (ehemals NCCLS) wird empfohlen für die beiden Referenzbereichsgrenzen je ein 90%-Konfidenzintervall zu berechnen. Diese Intervalle, die aus den Messwerten einer Referenzstichprobe geschätzt werden, enthalten mit einer Wahrscheinlichkeit von 90 % den „wahren“ aber unbekanntem Wert der oberen bzw. unteren Referenzbereichsgrenze der gesamten Referenzpopulation (55; 76 S. 25 f.). Da in der Klinischen Chemie und der Hämatologie ein Großteil der Messgrößen keine Normalverteilung aufweist, wird das nichtparametrische Verfahren für die Kalkulation der Referenzintervalle empfohlen. Jedoch sind für dessen Anwendung mindestens 120 Messwerte notwendig, damit für die Referenzbereichsgrenzen aussagekräftige zweiseitige 90%-Konfidenzintervalle ermittelt werden können. Es ist zu berücksichtigen, dass bei der Partition der Referenzdaten in mehrere Subgruppen in jeder einzelnen Untergruppe 120 Referenzwerte notwendig sind (55; 76 S. 16). Kann das parametrische Verfahren eingesetzt werden, sind für die Berechnung der Referenzbereiche mit zweiseitigen 90%-Konfidenzintervallen nur noch 60 Messwerte je Subgruppe erforderlich (68). Horn und Pesce (48) haben eine robuste Methode beschrieben, die mit deutlich weniger Messdaten durchgeführt werden kann. In dieser Studie kam für die Kalkulation der 95%-Referenzbereiche das nichtparametrische Verfahren zum Einsatz. Für die Referenzbereichsgrenzen sind die zugehörigen 90%-Konfidenzintervalle ermittelt worden. Die Berechnung geschlechtsspezifischer Referenzbereiche mit zweiseitigen Konfidenzintervallen war hier problemlos möglich, da die geforderte Mindestanzahl von 120 Messwerten in jeder Subgruppe aufgrund der großen Referenzstichprobe mit 422 Probanden erfüllt wurde.

Die Durchführung einer Studie zur Etablierung von zuverlässigen Referenzbereichen ist eine kostspielige Angelegenheit und mit einem erheblichen Arbeitsaufwand verbunden. Vor allem die Rekrutierung einer adäquaten Anzahl an Referenzindividuen stellt eine große Herausforderung dar und ist teilweise unmöglich, beispielsweise in der Neonatologie, Pädiatrie oder Geriatrie (43; 76 S. 27). Dies ist auch mit ein Grund dafür, dass die von Laboratorien für Blutbildparameter verwendeten Referenzbereiche oftmals auf älteren Studierenerhebungen basieren, bei welchen die Messungen an Analysengeräten vorgenommen wurden, deren Technologien jedoch nicht mehr den heutigen Standards entsprechen. Oder das analysierte Probenmaterial für die Referenzwertstudie stammte teilweise von ambulanten Patienten ohne sorgfältig geprüften Gesundheitsstatus (80). Allerdings sind medizinische Laboratorien durch die Direktive EN ISO 15189:2007 in die Pflicht genommen, ihre Referenzbereiche periodisch zu überprüfen, und bei der begründeten Auffassung, dass ein bestimmtes Referenzintervall nicht mehr für die Referenzpopulation

geeignet ist oder bei der Veränderung eines Untersuchungsverfahrens bzw. einer präanalytischen Maßnahme sind die Referenzbereiche gegebenenfalls zu überarbeiten (23 S. 27). Aufgrund der hohen Arbeitsbelastung die mit der Durchführung einer Referenzbereichsstudie einhergeht, ist es jedoch unrealistisch zu erwarten, dass jedes Labor für alle neu eingeführten Labortests und die neuen Methoden eigene Referenzbereiche bestimmt (43; 76 S. 27). Für dieses Problem gibt es verschiedene Lösungsmöglichkeiten:

1.) Hat ein Laboratorium für ein Analysensystem, das es derzeit noch verwendet, bereits zuverlässige Referenzintervalle etabliert und möchte diese auf ein neu erworbenes Analysengerät übertragen, dann ist es wichtig, dass die beiden Instrumente und ihre Messmethoden vergleichbar sind (43; 76 S. 28). Die Durchführung des Methodenvergleichs ist beispielsweise ausführlich im NCCLS-Dokument EP9-A (75) beschrieben. Sind die zwei Geräte gemäß der Richtlinie gut miteinander vergleichbar, dann können die vorhandenen Referenzbereiche auf das neue Analysensystem transferiert werden. Kann jedoch keine akzeptable Komparabilität bestätigt werden, so ist eine neue Referenzwertstudie durchzuführen (76 S. 28).

2.) Da regelmäßig Referenzbereiche in der wissenschaftlichen Literatur publiziert werden und die Hersteller von In-vitro-Diagnostika (IVD) durch die Direktive 98/79/EG verpflichtet sind, in den Gebrauchsanweisungen Referenzbereiche bereitzustellen (24 S. 21), kann es für ein medizinisches Labor sinnvoll sein, Referenzbereiche aus externen Quellen zu übernehmen (43). Soll ein Referenzintervall für das gleiche oder ein vergleichbares Analysensystem von einem anderen Labor oder von einem IVD-Hersteller übernommen werden, muss die Referenzpopulation des „Geber-Labors“ mit der Population des „Nehmer-Labors“ vergleichbar sein. Des Weiteren muss sowohl die Präanalytik als auch die Analytik in beiden Laboratorien weitgehend übereinstimmen. Für die Validierung extern ermittelter Referenzbereiche gibt es für das „Nehmer-Labor“ folgende Möglichkeiten:

a.) Bei der subjektiven Einschätzung kann das Referenzintervall ohne Validierungsstudie transferiert werden, wenn sowohl die demographischen und geographischen Gegebenheiten in der Population des Labors als auch die präanalytischen und analytischen Verfahrensabläufe mit denen in der Originalstudie konsistent sind. Für den Vergleich müssen vom „Geber-Labor“ bzw. vom IVD-Hersteller alle Details der Referenzwertstudie dem „Nehmer-Labor“ zur Verfügung gestellt werden (43; 76 S. 27 ff.).

b.) Von Seiten des „Empfänger-Labors“ kann eine kleine Validierungsstudie mit nur 20 Referenzindividuen realisiert werden, um deren Ergebnisse mit den Referenzbereichen des „Geber-Labors“ zu vergleichen. Wenn nicht mehr als zwei Werte der 20 getesteten Probanden außerhalb des zu transferierenden Referenzintervalls liegen, dann kann dieses als valide betrachtet werden. Liegen mehr als zwei Werte jenseits der vorgeschlagenen

Referenzbereichsgrenzen, müssen neue Messwerte von anderen 20 Referenzindividuen gesammelt werden, oder das Labor muss eine eigene Referenzwertstudie durchführen. Alternativ können mehr als 20 Referenzindividuen für die Validierung verwendet werden, wodurch die Genauigkeit des Verfahrens erhöht wird. Auch hier müssen die präanalytischen und analytischen Bedingungen zwischen „Geber“- und „Empfänger-Labor“ kompatibel sein. Sollten erhebliche Unterschiede in der Demographie und Geographie zwischen den Populationen der beiden Laboratorien bestehen, wird von der Übertragung der Referenzbereiche abgeraten (43; 76 S. 27 ff.).

3.) Eine weitere Lösung ist die Bestimmung „gemeinsamer Referenzbereiche“ im Rahmen von Multicenterstudien. Hierfür müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein: die Selektion der Referenzindividuen a priori gemäß eines gemeinsamen Studienprotokolls, die Vergleichbarkeit der Analysensysteme der teilnehmenden Laboratorien, eine einheitliche und standardisierte präanalytische und analytische Phase sowie eine konforme Qualitätssicherung und die Rückverfolgbarkeit der Ergebnisse (43). Im Bereich der Hämatologie haben Nebe et al. (80) Anfang des Jahres 2011 die Ergebnisse einer deutschlandweiten Multicenterstudie zur Ermittlung von Referenzbereichen für Parameter des maschinellen Blutbildes veröffentlicht. Hier wurden bei 1158 gesunden Erwachsenen die großen Blutbilder mit verschiedenen - aktuell in der Routinediagnostik eingesetzten - Hämatologiegeräten analysiert. Es werden hierbei geschlechts- sowie gerätespezifische Referenzbereiche für gesunde Erwachsene zur Verfügung gestellt und zudem wird auf Altersabhängigkeiten eingegangen. Diese Multicenterstudie liefert umfassende Informationen über die Referenzindividuen, über die präanalytische und analytische Phase der Referenzwertstudie und über die Berechnung der Referenzbereiche. Es ist somit nachvollziehbar, wie die Referenzbereiche zustande gekommen sind, was wiederum den Transfer der Ergebnisse auf andere Laboratorien erleichtert. Eines der insgesamt sieben teilnehmenden Studienzentren war das Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München. Die Auswertungen und Resultate der vorliegenden Dissertation basieren auf den Messungen, die am eben genannten Institut durchgeführt wurden. Eine weitere multizentrisch angelegte Studie für die Etablierung von Referenzintervallen für hämatologische Messgrößen, an der 60 Laboratorien aus den Ländern Dänemark, Finnland, Schweden, Norwegen und Island beteiligt waren, wurde 2004 publiziert (82).

In den nachfolgenden Punkten 4.1.1 bis 4.1.4 werden einerseits die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten gerätespezifischen Referenzbereiche untereinander verglichen und andererseits wird untersucht, inwieweit die eigenen Ergebnisse mit bereits publizierten Referenzbereichen übereinstimmen. Für den Vergleich werden folgende drei Quellen herangezogen:

1.) L. Thomas (Hrsg). **Labor und Diagnose**, TH-Books Verlagsgesellschaft, 6. Auflage, 2005 (109 S. 675 ff.; 110 S. 682; 111 S. 693; 112 S. 703 ff; 113 S. 733; 114 S. 744).

In diesem umfassenden Nachschlagewerk ist die Herkunft der angegebenen Referenzbereiche für die verschiedenen hämatologischen Parameter nachvollziehbar, da die Originalquellen der einzelnen Referenzbereichsstudien angeführt sind.

2.) R. Mahlberg, A. Gilles, A. Läsch (Hrsg). **Hämatologie: Theorie und Praxis für medizinische Assistenzberufe**, Wiley-VCH Verlag, 2. Auflage, 2005 (70 S. 206).

In diesem Lehrbuch werden sowohl für Kinder als auch Erwachsene Referenzbereiche angeführt. Sie sind teilweise für Männer und Frauen separat angegeben. Jedoch gibt es keine Information darüber woher die Referenzbereiche stammen und wie sie ermittelt wurden.

3.) H. Theml, H. Diem, T. Haferlach (Hrsg). **Taschenatlas der Hämatologie: Mikroskopische und klinische Diagnostik für die Praxis**, Georg Thieme Verlag, 5. Auflage, 2002 (107 S. 12 f.).

In dem Taschenatlas sind für Kinder und Erwachsene separate Referenzbereiche aufgelistet. Für einige Messgrößen sind geschlechtsspezifische Referenzbereiche vorhanden. Da hier keine Quellen angegeben sind, bleibt die Frage nach der Herkunft und dem Prozedere bei der Generierung dieser Referenzintervalle unbeantwortet.

4.1.1 Referenzbereiche für die Erythrozytenparameter

Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration ist die wichtigste Untersuchung zur Diagnostik sowie zur Verlaufs- und Therapiebeurteilung einer Anämie. Voraussetzung für die korrekte Beurteilung der HGB ist jedoch ein normales Blutvolumen (37 S. 409; 88 S. 593 f.; 110 S. 682). Gemäß den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation ist die Anämie durch einen Hämoglobinwert < 12 g/dl bei Frauen und < 13 g/dl bei Männern definiert (124). Die Erythrozytenkonzentration alleine hat diagnostisch wenig Aussagekraft und ist kein empfindlicher Parameter zur Erkennung einer Anämie (37 S. 408) oder Erythrozytose (108 S. 673). Die richtige Bewertung der Erythrozytenzahl ist erst in Kombination mit dem Hämatokrit möglich (109 S. 676). RBC und HCT sind nicht nur sehr bedeutende Messgrößen für die Diagnosesicherung einer Polyglobulie, sondern sie tragen wesentlich zur Einschätzung der Hydratation und der rheologischen Eigenschaften des Blutes bei (88 S. 594 f.). Die Erythrozytenkonzentration ist zudem maßgeblich für die Ermittlung der von ihr abgeleiteten Parameter HCT, MCH und MCHC (37 S. 408; 109 S. 675).

Die Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC werden für die Früherkennung, Differenzierung und Therapiebeurteilung von Anämien bestimmt. Anhand des mittleren Erythrozytenvolumens werden Anämien in mikrozytäre, normozytäre und makrozytäre Formen unterteilt (88 S. 596). Es ist zu berücksichtigen, dass das MCV sowohl vom

Hämoglobingehalt des Erythrozyten als auch von der Plasmaosmolalität abhängig ist (37 S. 408 f.; 109 S. 679). Bei beginnenden mikro- bzw. makrozytären Anämien liegt nur eine relativ geringe Zahl anormaler Erythrozyten vor, sodass das MCV noch keine Veränderung zeigt. Hier ist im Gegensatz zur maschinellen Blutbildanalyse die mikroskopische Untersuchung eines Blutaussstrichs deutlich im Vorteil (37 S. 408 f.). Anhand des mittleren korpuskulären Hämoglobingehalts werden die Anämien in hypochrome, normochrome und hyperchrome Formen klassifiziert. Bei den verschiedenen Anämien sind in der Mehrzahl der Fälle MCV und MCH gleichsinnig verändert (237 S. 409; 88 S. 596; 109 S. 479 f.). Aufgrund dieser Tatsache bleibt die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration bei vielen Veränderungen des roten Blutbildes konstant, und ist daher von eingeschränktem klinischen Nutzen (37 S. 409). So liegt die MCHC bei zahlreichen Anämieformen im Referenzbereich. Eine Erniedrigung findet sich beispielsweise bei Mangelanämien. Es gibt keine Anämie die eine erhöhte MCHC aufweist. Ein außerhalb der oberen Referenzbereichsgrenze liegender Messwert ist meist artifiziell und ist unter anderem bei Kälteagglutininen und bei der hereditären Sphärozytose nachweisbar (37 S. 409; 88 S. 596; 109 S. 680).

Die Erythrozytenverteilungsbreite ist ein wichtiger Marker, der das Vorhandensein einer Anisozytose aufzeigt (16; 88 S. 596; 109 S. 680). Im Gegensatz zum MCV, das bei Anwesenheit mehrerer Erythrozytenpopulationen nur den arithmetischen Mittelwert darstellt, zeigt die RDW empfindlicher die Existenz kleiner Subpopulationen von Mikrozyten oder Makrozyten an (37 S. 408). Jedoch weist die RDW eine große Streuung innerhalb einer gegebenen Erkrankung auf und ist somit für die Differenzialdiagnose von Anämien nur eingeschränkt geeignet (16).

In Ergänzung zur automatisierten Erythrozytenanalytik sollte bei erstmaliger Verletzung der Referenzbereiche oder bei Auftreten von gerätegenerierten Warnmeldungen, die auf Veränderungen der roten Blutzellen hinweisen, unbedingt die Erythrozytenmorphologie mikroskopisch beurteilt werden (8; 88 S. 594). Nur so können beispielsweise Formveränderungen der Erythrozyten oder Zelleinschlüsse zuverlässig nachgewiesen werden (79).

Die in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Analysensysteme und ihre Messtechnologien wurden in den Punkten 2.3.1 bis 2.3.3 ausführlich beschrieben. An dieser Stelle soll die Erythrozytenanalytik noch einmal kurz rekapituliert werden: Die Geräte erfassen die Erythrozytenzahl durchflusszytometrisch über die optische Methode bzw. über die Impedanzmessung. Der ADVIA 120 kann nur die optische Messung durchführen. CD-Sapphire, XE-2100 und XT-2000i geben primär die mittels Impedanzmethode bestimmte Erythrozytenkonzentration aus, die optische Messung dient nur der internen Qualitätskontrolle. Die Hämoglobinkonzentration wird photometrisch ermittelt. Das mittlere

Zellvolumen wird von ADVIA 120 und CD-Sapphire direkt gemessen. Aus RBC, HGB und MCV werden HCT, MCH und MCHC errechnet. Bei den beiden Analysengeräten der Firma Sysmex wird das MCV aus dem Produkt vom direkt gemessenen HCT und RBC kalkuliert. Die Erythrozytenverteilungsbreite wird bei allen Analysengeräten aus dem Erythrozytenvolumen-Histogramm abgeleitet.

In Tabelle 1 sind für die Erythrozytenparameter die eigenen Ergebnisse zusammengefasst dargestellt, für Vergleichszwecke sind die Referenzbereiche der drei in Punkt 4.1 erwähnten Quellen angeführt. Da es sich bei RDW-SD (Sysmex) und CHCM (Siemens) um firmenspezifische Parameter handelt, sind diese in der folgenden Diskussion nicht berücksichtigt worden. Die Referenzbereiche dieser Messgrößen sind in den Tabellen B1 bis B4 im Anhang zu finden.

Tabelle 1: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Erythrozytenparameter

Quellen für die Referenzbereiche der Erythrozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (109 S.675 ff.; 110 S.682; 111 S.693)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
RBC ($10^{12}/l$)	CD-Sapphire: ♂ 4,46 - 5,83 ♀ 4,01 - 5,25 XE-2100: ♂ 4,52 - 5,81 ♀ 4,12 - 5,24 XT-2000i: ♂ 4,53 - 5,92 ♀ 4,10 - 5,37	Gerät unbekannt: ♂ 4,5 - 5,9 ^{*, ****} ♀ 4,1 - 5,1 ^{*, ****}	Gerät unbekannt: ♂ 4,6 - 5,9 ^{****} ♀ 4,2 - 5,4 ^{****}	Gerät unbekannt: ♂ 4,69 - 6,13 ^{****} ♀ 4,04 - 5,48 ^{****}
RBC-O ($10^{12}/l$)	ADVIA 120: ♂ 4,60 - 6,00 ♀ 4,19 - 5,34 CD-Sapphire: ♂ 4,24 - 5,49 ♀ 3,83 - 4,97 XE-2100: ♂ 4,56 - 6,03 ♀ 4,12 - 5,36 XT-2000i: ♂ 4,42 - 5,71 ♀ 4,01 - 5,15	Gerät unbekannt: ♂ 4,5 - 5,9 ^{*, ****} ♀ 4,1 - 5,1 ^{*, ****}	Gerät unbekannt: ♂ 4,6 - 5,9 ^{****} ♀ 4,2 - 5,4 ^{****}	Gerät unbekannt: ♂ 4,69 - 6,13 ^{****} ♀ 4,04 - 5,48 ^{****}

Fortsetzung 1 Tabelle 1

Quellen für die Referenzbereiche der Erythrozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (109 S.675 ff.; 110 S.682; 111 S.693)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
HGB (g/l)	ADVIA 120: ♂ 14,0 - 17,9 ♀ 12,5 - 16,2 CD-Sapphire: ♂ 13,8 - 17,6 ♀ 12,4 - 15,7 XE-2100: ♂ 13,8 - 17,7 ♀ 12,3 - 15,9 XT-2000i: ♂ 13,9 - 17,8 ♀ 12,4 - 16,1	Coulter S-Plus Jr: ♂ 13,5 - 17,5** ♀ 12,0 - 16,0**	Gerät unbekannt: ♂ 14,0 - 18,0**** ♀ 12,0 - 16,0****	Gerät unbekannt: ♂ 14,1 - 18,1**** ♀ 12,2 - 16,2****
HCT (l/l)	ADVIA 120: ♂ 0,41 - 0,52 ♀ 0,36 - 0,47 CD-Sapphire: ♂ 0,41 - 0,53 ♀ 0,36 - 0,48 XE-2100: ♂ 0,41 - 0,53 ♀ 0,37 - 0,47 XT-2000i: ♂ 0,41 - 0,53 ♀ 0,37 - 0,48	Gerät unbekannt: ♂ 0,40 - 0,53*** ♀ 0,36 - 0,48***	Gerät unbekannt: ♂ 0,42 - 0,48 ♀ 0,38 - 0,43	Gerät unbekannt: ♂ 0,44 - 0,54 ♀ 0,38 - 0,48
MCV (fl)	ADVIA 120: ◇ 80,1 - 94,6 CD-Sapphire: ◇ 83,7 - 97,9 XE-2100: ◇ 82,7 - 97,2 XT-2000i: ◇ 81,6 - 97,3	Gerät unbekannt: ◇ 80,0 - 96,0 *	Gerät unbekannt: ◇ 77,0 - 99,0	Gerät unbekannt: ◇ 80,0 - 97,0
MCH (pg)	ADVIA 120: ◇ 27,2 - 32,8 CD-Sapphire: ◇ 27,6 - 33,6 XE-2100: ◇ 27,6 - 32,9 XT-2000i: ◇ 27,6 - 32,9	Gerät unbekannt: ◇ 28,0 - 33,0*	Gerät unbekannt: ◇ 26,0 - 32,0	Gerät unbekannt: ◇ 27,0 - 31,2

Fortsetzung 2 Tabelle 1

Quellen für die Referenzbereiche der Erythrozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (109 S.675 ff.; 110 S.682; 111 S.693)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
MCHC (g/dl)	ADVIA 120: ♂ 32,9 - 37,2 ♀ 32,5 - 36,5 CD-Sapphire: ♂ 31,9 - 35,5 ♀ 31,9 - 36,2 XE-2100: ♂ 31,8 - 35,6 ♀ 31,8 - 35,3 XT-2000i: ♂ 32,6 - 36,0 ♀ 32,1 - 35,1	Gerät unbekannt: ◇ 33,0 - 36,0*	Gerät unbekannt: ◇ 33,0 - 36,0	Gerät unbekannt: ◇ 31,8 - 35,4
RDW (%)	ADVIA 120: ◇ 11,4 - 14,1 CD-Sapphire: ◇ 10,7 - 13,0 XE-2100: ◇ 12,2 - 15,0 XT-2000i: ◇ 12,1 - 15,1	Gerät unbekannt: ◇ < 15*	nicht verfügbar	nicht verfügbar

◇ beide Geschlechter; ♂ männlich; ♀ weiblich

* entnommen aus: Jacobs, Kasten, Demott, Wolfson, eds. *Laboratory handbook*. Hudson: Lexi Comp, 1990:476 (119)** entnommen aus: Cheng et al. *Lab Hematol* 2004;10: 42-53 (17)*** entnommen aus: Fairbanks et al. *Eur J Hematol* 2000;65: 285-96 (27); Anmerkung: Die Referenzbereiche für den Hämatokrit wurden aus den Ergebnissen mehrerer Studien gemittelt

**** keine Angabe, ob die Erythrozytenzahl optisch oder mittels Impedanzmethode bestimmt wurde

Die bereits bekannten geschlechtsspezifischen Unterschiede (70 S. 206; 107 S. 12 f.; 109 S. 675 ff.; 110 S. 682; 111 S. 693) konnten im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls für die Erythrozytenkonzentration, das Hämoglobin und den Hämatokrit gezeigt werden. Frauen weisen hierbei generell niedrigere Werte auf. Im Hinblick auf die Erythrozytenkonzentration erbrachte der Vergleich der vier Analysensysteme untereinander für beide Zählverfahren statistisch signifikante Unterschiede (siehe Abb. A2 und A3 im Anhang). Auch beim geräteinternen Vergleich konnte gezeigt werden, dass es zwischen den Messwerten der optisch und der mittels der Impedanzmethode ermittelten Erythrozytenzahl signifikante Unterschiede gibt (siehe Abb. A4 bis A6 im Anhang). Berücksichtigt man nur die Erythrozytenkonzentrationen, die von den vier in dieser Studie eingesetzten Geräten primär ausgegeben werden - d.h. RBC-O von ADVIA 120 und RBC von CD-Sapphire, XE-2100 sowie von XT-2000i - so ist aus Tabelle 1 abzuleiten, dass die Unterschiede zwischen den gerätespezifischen Referenzbereichen bei beiden Geschlechtern im Grunde von keiner wesentlichen Bedeutung sind. Die Erythrozytenkonzentration gesunder Männer liegt

demzufolge über $4,5 \times 10^{12}/l$ und unter $6,0 \times 10^{12}/l$, und die der Frauen bewegt sich zwischen $4,0$ und $5,4 \times 10^{12}/l$. Die Werte der drei, in der obenstehenden Tabelle angeführten, Vergleichsquellen erstrecken sich bei den Männern zwischen $4,5$ und $6,1 \times 10^{12}/l$ und gehen bei den Frauen von $4,0 \times 10^{12}/l$ bis $5,5 \times 10^{12}/l$. Das heißt, dass im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen keine essenziellen Abweichungen bestehen. Für das Hämoglobin und den Hämatokrit ergaben sich in dieser Arbeit für sämtliche Gerätekombinationen wiederum statistisch signifikante Unterschiede (siehe Abb. A7 und A8 im Anhang). Diese Tatsache dürfte allerdings eine untergeordnete Rolle in der Praxis spielen, zumal sich zwischen den vier Geräten sowohl für die unteren als auch die oberen Referenzbereichsgrenzen bei beiden Geschlechtern keine signifikanten Abweichungen zeigen. Werden die Werte der Ober- und Untergrenzen gerundet, so ergibt sich für alle Analysengeräte, dass sich die Messwerte für das Hämoglobin bei den Männern zwischen 14 und 18 g/dl und bei den Frauen zwischen 12 und 16 g/dl bewegen. Der Hämatokrit der Männer liegt über $0,41$ und unter $0,53$ und der der Frauen erstreckt sich von $0,36$ bis $0,48$.

Die Gegenüberstellung der eigenen Resultate mit den in den drei Vergleichsquellen angeführten Referenzbereichen in Tabelle 1 ergibt für das Hämoglobin und den Hämatokrit insgesamt eine sehr gute Übereinstimmung. Lediglich die von Theml et al. publizierten Referenzintervalle für den Hämatokrit weisen enger beieinanderliegende Referenzbereichsgrenzen auf.

Für die beiden Erythrozytenindizes - MCV und MCH - sowie für die RDW konnten in der vorliegenden Dissertation in Übereinstimmung mit den drei Vergleichsquellen keine signifikanten Abweichungen zwischen den Geschlechtern nachgewiesen werden. Dagegen zeigte sich hier - mit Ausnahme des Analysengeräts CD-Sapphire - für die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration eine Geschlechtsabhängigkeit. Wegen der Einheitlichkeit wurden jedoch für alle vier Geräte geschlechtsspezifische Referenzintervalle ermittelt. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, ist der Geschlechtsunterschied allerdings nicht so stark ausgeprägt, sodass seine klinische Relevanz infrage gestellt werden kann. Demnach ließen sich aus den in dieser Studie erhobenen Referenzwerten für die MCHC folgende vier geschlechtsübergreifende Referenzbereiche berechnen: 1. ADVIA 120: $32,6 - 36,9$ g/dl, 2. CD-Sapphire: $31,9 - 35,8$ g/dl, 3. XE-2100: $32,1 - 35,6$ g/dl und 4. XT-2000i: $32,3 - 35,7$ g/dl. Für das MCV konnte beim Gerätevergleich ein signifikanter Unterschied gezeigt werden (siehe Abb. A9 im Anhang), der die Verwendung gerätespezifischer Referenzbereiche unbedingt erfordert. Dies ist insofern notwendig, als es sich beim MCV um einen kalibrationsabhängigen Parameter handelt, der direkt gemessen wird. Des Weiteren ist diese Messgröße für die Differenzierung der Anämien in mikro-, normo- und makrozytäre Formen sehr wichtig (80). Folglich sind zuverlässige Referenzbereiche für die korrekte Interpretation

des MCV unabdingbar. Auch für die MCHC ergibt sich beim Gerätevergleich ein signifikanter Unterschied (siehe Abb. A11 im Anhang), dessen klinische Relevanz jedoch mit einem Fragezeichen versehen werden kann. Bei Betrachtung der weiter oben im Text aufgezählten vier Referenzbereiche fällt auf, dass sich diese doch sehr ähneln. Lediglich die Messwerte des ADVIA 120 sind geringfügig höher als die der drei anderen Analysensysteme. Gesunde Personen weisen demnach für MCHC im unteren Grenzbereich Werte von etwa 32 g/dl auf und im oberen Grenzbereich Werte zwischen 35,6 g/dl und 36,9 g/dl. Der MCH ist der einzige Parameter, bei welchem die vier in dieser Studie eingesetzten Geräte keine signifikanten Messabweichungen zeigen (siehe Abb. A10 im Anhang). Aus den Referenzwerten lässt sich für den MCH ein geräteübergreifender Referenzbereich von 27,6 - 32,9 pg berechnen.

Stellt man die eigenen Resultate von MCH und MCHC den drei Vergleichsquellen gegenüber, so ist aus Tabelle 1 abzuleiten, dass keine gravierenden Unterschiede bestehen. Was das MCV betrifft sind die eigenen unteren Referenzbereichsgrenzen etwas höher als die der drei anderen Quellen, die eigenen Obergrenzen liegen jedoch im Bereich derer, die von Thomas, Theml et al. sowie Mahlberg et al. angegeben wurden. In beiden Fällen bildet das Gerät ADVIA 120 aber eine Ausnahme.

In Bezug auf die Verteilungsbreite der Erythrozyten kann festgehalten werden, dass - mit Ausnahme der Gerätekombination XE-2100 und XT-2000i - die Mittelwerte dieses Parameters zwischen den hier eingesetzten Geräten signifikant voneinander abweichen (siehe Abb. A13 im Anhang). Da die Bestimmung der RDW mit nicht standardisierten Verfahren erfolgt, ergeben sich zwischen den Herstellerfirmen klare Differenzen, was die Verwendung geräte- bzw. methodenspezifischer Referenzbereiche erforderlich macht (16). Die eigenen Ergebnisse für die RDW stimmen mit denen von Thomas insgesamt gut überein (RDW-Wert < 15).

4.2.2 Referenzbereiche für die Thrombozytenparameter

Vorweg soll angemerkt werden, dass die in dieser Studie eingesetzten Analysensysteme und ihre verwendeten Messmethoden in den Punkten 2.3.1 bis 2.3.3 mit zugehörigen Unterpunkten ausführlich beschrieben wurden. Die vier Geräte erfassen die Thrombozytenzahl durchflusszytometrisch über die zweidimensionale optische Methode bzw. über die Impedanzmessung. ADVIA 120 kann nur die optische Messung durchführen. Der CD-Sapphire gibt primär die optisch ermittelte Thrombozytenkonzentration aus, die Impedanzmethode dient der internen Qualitätskontrolle. Die beiden Analysengeräte der Firma Sysmex bestimmen routinemäßig PLT, bei Interferenzen und sehr niedrigen

Thrombozytenzahlen wird jedoch über einen automatischen Algorithmus bei aktivierter Retikulozytenanalyse zusätzlich PLT-O bestimmt (11; 58; 120).

Da bei der Impedanzmessung die Thrombozyten und die Erythrozyten nur aufgrund der Größe unterschieden werden, ist die zuverlässige Trennung dieser beiden Zellpopulationen voneinander nicht immer möglich. So würden unzutreffend hohe Thrombozytenwerte ermittelt, wenn in der Blutprobe Fragmentozyten oder Zellfragmente von Leukozyten vorhanden sind, und auch bei einer extremen Mikrozytose käme es zu falschen Resultaten. In diesen Fällen ist vor allem bei thrombozytopenischen Patienten die zweidimensionale optische Thrombozytenzählung im Vorteil und liefert wesentlich genauere Ergebnisse. Jedoch sollte beim Hinweis auf Interferenzen das Messergebnis anhand eines Blutausstriches überprüft werden. Eine falsch niedrige Thrombozytenkonzentration kann durch Gerinnungsvorgänge in der Probe, Thrombozytenaggregate, Satellitenbildung oder durch Riesenthrombozyten, die fehlerhaft zu den Erythrozyten gezählt werden, bedingt sein. Im letztgenannten Fall liefert die optische Methode im Vergleich zur Impedanzmessung ebenfalls zuverlässigere Resultate (3 S. 138 f.; 11; 63; 71 S. 281 f.; 79; 113 S. 732 ff.). Die Richtigkeit einer unerwartet niedrigen Thrombozytenzahl bei der Erstuntersuchung muss immer überprüft werden. Dazu gehört in jedem Fall die Untersuchung eines Blutausstriches und gegebenenfalls die manuelle Zählung der Thrombozyten in der Zählkammer (3 S. 138 f.; 79; 91; 113 S. 735).

Bei der Anforderung eines kleinen Blutbildes ermitteln die Hämatologie-Analysengeräte weitere Thrombozytenparameter. Hierzu gehört unter anderem das mittlere Plättchenvolumen und die Verteilungsbreite der Thrombozyten, welche in Kombination dazu eingesetzt werden können, Zustände mit verminderter Bildung von solchen mit vermehrter Thrombozytenzerstörung zu unterscheiden (16; 113 S. 740). Der Plättchenkrit stellt analog zum Hämatokrit den Anteil der Thrombozyten am gesamten Probenvolumen dar. Der Anteil der großen Thrombozyten (PLCR; Plättchenvolumen > 12 fl) wird nur von den Geräten XE-2100 und XT-2000i bestimmt. Eine Erhöhung dieses Parameters kann ein Hinweis auf Thrombozytenaggregate, Mikrozyten oder Riesenthrombozyten sein.

In Tabelle 2 sind für die einzelnen Thrombozytenparameter die eigenen Ergebnisse zusammengefasst dargestellt. Für den Vergleich werden diesen die Referenzbereiche aus drei unterschiedlichen Quellen gegenübergestellt, die in Punkt 4.1 kurz vorgestellt wurden. Da der Parameter PLCR firmenspezifisch ist, wird er im Folgenden nicht berücksichtigt. Die Referenzbereiche dieser Messgröße sind den Tabellen B3 und B4 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 2: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Thrombozytenparameter

Quellen für die Referenzbereiche der Thrombozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (113 S. 733)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
PLT (10 ⁹ /l)	CD-Sapphire: ♂ 157 - 346 ♀ 182 - 418 XE-2100: ♂ 155 - 328 ♀ 178 - 394 XT-2000i: ♂ 157 - 354 ♀ 181 - 404	Geräte:** ◇ 140 - 360*	Gerät unbekannt: ◇ 140 - 440***	Gerät unbekannt: ◇ 140 - 424***
PLT-O (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ♂ 157 - 361 ♀ 183 - 404 CD-Sapphire: ♂ 141 - 334 ♀ 167 - 387 XE-2100: ♂ 152 - 338 ♀ 183 - 397 XT-2000i: ♂ 166 - 392 ♀ 188 - 441	Geräte:** ◇ 140 - 360*	Gerät unbekannt: ◇ 140 - 440***	Gerät unbekannt: ◇ 142 - 424***
MPV (fl)	ADVIA 120: ◇ 7,8 - 12,1 CD-Sapphire: ◇ 6,4 - 10,1 XE-2100: ◇ 9,5 - 12,6 XT-2000i: ◇ 9,3 - 12,2	ADVIA 120: ◇ 6,4 - 9,7* CD-4000: ◇ 6,9 - 10,6* SE-9500: ◇ 9,4 - 12,9* Gen-S: ◇ 7,6 - 10,7* Pentra 120 Retic: ◇ 6,8 - 10,0*	nicht verfügbar	nicht verfügbar
PDW (%)	ADVIA 120: ◇ 38,5 - 65,3 CD-Sapphire: ◇ 15,0 - 17,5 XE-2100: ◇ 10,5 - 17,3 XT-2000i: ◇ 9,9 - 16,8	nicht verfügbar	nicht verfügbar	nicht verfügbar

Fortsetzung Tabelle 2

Quellen für die Referenzbereiche der Thrombozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (113 S. 733)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
PCT (%)	ADVIA 120: ♂ 0,16 - 0,32 ♀ 0,18 - 0,39 CD-Sapphire: ♂ 0,12 - 0,24 ♀ 0,13 - 0,29 XE-2100: ♂ 0,18 - 0,35 ♀ 0,20 - 0,41 XT-2000i: ♂ 0,18 - 0,34 ♀ 0,19 - 0,40	nicht verfügbar	nicht verfügbar	nicht verfügbar

◇ beide Geschlechter; ♂ männlich; ♀ weiblich

* entnommen aus: van den Bossche et al. *Clin Chem Lab Med* 2002;40: 69-73 (121)

** Thomas gibt hier einen gemeinsamen Referenzbereich an, der von den Referenzintervallen 5 verschiedener Analysengeräte abgeleitet wurde (ADVIA 120, Siemens; Pentra 120 Retic, abx; SE-9500, Sysmex; CD-4000, Abbott; Gen-S, Beckman Coulter).

*** keine Angabe ob die Thrombozytenzahl optisch oder mittels Impedanzmethode bestimmt wurde

Nicht nur bei der optisch bestimmten Thrombozytenkonzentration, sondern auch bei der Impedanzmethode bestehen deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede, weshalb für Männer und Frauen separate Referenzbereiche zu verwenden sind. Dabei weisen Frauen im Mittel höhere Werte auf. Es konnten beim Vergleich der vier Analysensysteme für beide Zählverfahren statistisch signifikante Unterschiede nachgewiesen werden (siehe Abb. A15 und A16 im Anhang). Werden die Werte der oberen und unteren Referenzbereichsgrenzen jedoch gerundet, so sind die Differenzen zwischen den Referenzbereichen bei beiden Geschlechtern sowohl bei der Impedanzmessung als auch der optischen Methode im Prinzip nicht gravierend. Eine Ausnahme bildet nur die optisch bestimmte Thrombozytenkonzentration von XT-2000i, die bei den Männern sowie bei den Frauen eine deutlich höhere Obergrenze aufweist. Die zwingende Notwendigkeit gerätespezifischer Referenzbereiche kann bis auf den eben genannten Ausnahmefall daher hinterfragt werden. Es kann festgehalten werden, dass die Thrombozytenkonzentration gesunder Männer über $140 \times 10^9/l$ und unter $360 \times 10^9/l$ liegt, und sich die der gesunden Frauen approximativ zwischen 170 bis $420 \times 10^9/l$ bewegt. Beim geräteinternen Vergleich konnte in dieser Arbeit bis auf das Analysengerät XE-2100 gezeigt werden, dass die Messwerte von PLT und PLT-O signifikant voneinander abweichen (siehe Abb. A17 bis A19 im Anhang). Die Referenzbereiche der optischen Messung sind im Vergleich zur Impedanzmessung bei CD-Sapphire niedriger und bei XT-2000i höher.

Tabelle 2 zeigt, dass die für Vergleichszwecke herangezogenen drei Quellen für Männer und Frauen keine separaten Referenzintervalle zur Verfügung stellen. Sie weisen alle für die

Thrombozytenzahl eine einheitliche untere Referenzbereichsgrenze mit rund $140 \times 10^9/l$ auf. Diese entspricht in etwa derjenigen, die im Rahmen dieser Dissertation für die Männer berechnet wurde. Die Untergrenze der Frauen liegt demgegenüber deutlich höher. Bezüglich der oberen Grenze des Referenzintervalls sind bei den drei Quellen untereinander eindeutige Differenzen feststellbar. Der von Thomas für die Obergrenze der Thrombozytenzahl angegebene Wert von $360 \times 10^9/l$ entspricht beim Vergleich mit den eigenen Resultaten ungefähr dem der Männer. Dagegen haben Frauen eine deutlich höhere obere Referenzbereichsgrenze. Stellt man die von Theml et al. und Mahlberg et al. publizierten Obergrenzen von 440 bzw. $424 \times 10^9/l$ den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit gegenüber, so ergibt sich, dass diese beiden Werte der oberen Referenzbereichsgrenze der Frauen zugeordnet werden können.

Da der Plättchenkrit eng mit der Thrombozytenzahl korreliert, sind für diese Messgröße ebenfalls geschlechtsspezifische Referenzbereiche zu verwenden. Zudem konnte, mit Ausnahme der Gerätekombination XE-2100 und XT-2000i, gezeigt werden, dass der Referenzbereich des PCT vom verwendeten Hämatologiegerät abhängig ist (siehe Abb. A23 im Anhang) und die Verwendung gerätespezifischer Referenzbereiche erforderlich macht. In Bezug auf die Indizes MPV und PDW kann festgehalten werden, dass keine geschlechtsspezifischen Unterschiede bestehen, die Mittelwerte dieser Parameter jedoch zwischen den hier eingesetzten Geräten signifikant voneinander abweichen (siehe Abb. A20 und A21 im Anhang). Ein Grund für diese Differenzen ist, dass die Bestimmung der genannten Messgrößen mit nicht standardisierten Verfahren erfolgt (16). Demzufolge sind auch für die Thrombozytenindizes geräte- bzw. methodenspezifische Referenzbereiche zu benutzen.

Thomas berücksichtigt im Hinblick auf das MPV ebenfalls die Geräteabhängigkeit und listet daher für diesen Parameter die Referenzbereiche fünf verschiedener Hersteller auf. Das Analysensystem ADVIA 120 wurde sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in der von Thomas zitierten Studie, die 2002 von van den Bossche et al. (121) durchgeführt wurde, eingesetzt. Jedoch ist der Tabelle 2 zu entnehmen, dass der Unterschied zwischen dem eigenen und dem von Thomas angeführten Referenzintervall für MPV auffallend hoch ist, obwohl die Referenzwerte mit demselben Gerätetyp bestimmt wurden. Demgegenüber sind zum Beispiel die Differenzen zwischen den Referenzbereichen der Geräte der Firma Abbott (CD-Sapphire vs. CD-4000) und die Differenzen zwischen den Analysengeräten von Sysmex (XE-2100 bzw. XT-2000i vs. SE-9500) weniger ins Gewicht fallend.

4.1.3 Referenzbereiche für die Retikulozytenparameter

Heimpel et al. (41) führen in ihrer Übersichtsarbeit an, dass die Bestimmung der Retikulozytenzahl im peripheren Blut die einfachste und zuverlässigste Methode zur orientierenden Beurteilung der Erythrozytenproduktion und der Erythrozytenüberlebenszeit in der klinischen Praxis ist. Die Autoren legen dar, dass die Retikulozytenzahl trotz ihres hohen Aussagewerts bei Anämien zu selten verwendet wird und die pathophysiologisch korrekte Deutung problematisch ist. Da die Interpretation hauptsächlich durch den Vergleich mit den Referenzbereichen bei Gesunden vorgenommen wird (81), wird oft nicht bedacht, dass die normale oder nicht normale Funktion der Erythropoese nur unter Berücksichtigung der Hämoglobinkonzentration oder des Hämatokrits beurteilt werden kann. Die richtige Einschätzung der relativen und absoluten Retikulozytenzahl ist dadurch erschwert, dass bei einer stärkeren Anämie die jungen Erythrozyten in einem unreiferen Zustand aus dem Knochenmark freigesetzt werden. Während reife Retikulozyten ca. einen Tag im peripheren Blut verweilen, um dort zum Erythrozyten auszureifen, dauert dieser Prozess bei sehr jungen Retikulozyten bis zu drei Tage. Ein erhöhter Retikulozytenwert kann somit nicht nur Ausdruck einer verringerten Erythrozytenüberlebenszeit und einer erhöhten medullären Erythrozytenproduktion sein, sondern auch Zeichen einer verlängerten Verweildauer der Retikulozyten im Blut. Ohne Korrektur der verlängerten in-vivo-Reifungszeit wird deshalb mit zunehmender Anämie die Erythrozytenüberlebenszeit, welche anhand der relativen Retikulozytenzahl beurteilt wird, unterschätzt. In gleicher Weise wird die Erythrozytenproduktion, für deren Bewertung die absolute Retikulozytenzahl herangezogen wird, überschätzt. Beim Retikulozytenreproduktionsindex (RPI) wird die relative Retikulozytenzahl durch die Intensität der Anämie (aktueller HCT im Verhältnis zum Ideal-HCT [0,45]) und die Verweildauer der Retikulozyten im Blut berichtigt (41; 81). Es wurde für die Reifungszeit der Retikulozyten das Postulat aufgestellt, dass mit fallendem HCT der Erythropoietinspiegel steigt und die Verweildauer der Retikulozyten im peripheren Blut zunimmt (81). Der RPI kann jedoch nicht benutzt werden bei gestörter Erythropoietinbildung sowie bei einer nicht intakten Knochenmark-Blutsschranke oder einer extramedullären Blutbildung, bei der unabhängig vom Erythropoietin unreife Retikulozyten und Erythroblasten ins periphere Blut ausgeschwemmt werden (41; 81). Der RPI beim Gesunden beträgt 1, der RPI von 2 weist auf eine regenerative, ein RPI > 2 auf eine hyperregenerative Erythropoese hin. Ein RPI < 2 ist kennzeichnend für eine hyporegenerative Erythropoese (112 S. 703).

Da die durchflusszytometrische Retikulozytenzählung heute mit allen größeren Hämatologie-Analysensystemen präzise, kostengünstig und zeitökonomisch durchgeführt werden kann, spielt die manuelle Methode in medizinischen Laboratorien nur noch eine untergeordnete Rolle (41; 81). Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Analysensysteme und ihre

differenten Messmethoden sind in den Punkten 2.3.1 bis 2.3.3 näher beschrieben. An dieser Stelle soll die Retikulozytenanalytik nochmals kurz zusammengefasst werden: Für die Bestimmung der absoluten und relativen Retikulozytenzahl werden beim ADVIA 120 die Streulichtsignale und die Lichtabsorption ausgewertet. Die in den Retikulozyten vorhandene RNA wird bei diesem Analysengerät mit dem Nukleinsäurefarbstoff Oxazin 750 angefärbt. CD-Sapphire, XE-2100 und XT-2000i benutzen für die Retikulozytenzählung Streulicht- und Fluoreszenzsignale. Für die Färbung der retikulozytären RNA kommt beim erstgenannten Gerät ein grünfluoreszierender Farbstoff zum Einsatz, die beiden Geräte der Firma Sysmex verwenden einen Polymethin-Fluoreszenzfarbstoff. Da die Intensität der Lichtabsorption bzw. der Fluoreszenzemission proportional zum RNA-Gehalt der Retikulozyten ist, können durch Schwellenwertsetzung reife, mittelreife und unreife Retikulozyten voneinander abgegrenzt werden. Der RNA-Gehalt der Retikulozyten ist ein Indikator für das Ausmaß der Stimulation der Erythropoese. Ein hoher Anteil an unreifen Retikulozyten weist auf eine intensive Stimulation hin (108 S. 674).

ADVIA 120 (CHr) und XE-2100 (Ret-He) können zusätzlich den Hämoglobingehalt der Retikulozyten bestimmen. Hierbei handelt es sich um einen frühen und dynamischen Indikator der Eisenversorgung der Erythropoese. Er ist ein hilfreicher Parameter zur Diagnostik des funktionellen Eisenmangels (41; 81). Dieser tritt auf, wenn der Eisenbedarf der Erythropoese stärker als ihre Versorgung ist, unabhängig vom Speichereisengehalt (108 S. 674). Bei vermindertem Angebot oder erhöhtem Bedarf an Eisen nehmen CHr und Ret-He innerhalb von 48 bis 72 Stunden ab. Andere Messgrößen für die Beurteilung des Eisenstoffwechsels wie Ferritin oder löslicher Transferrinrezeptor zeigen frühestens nach 10 bis 20 Tagen Veränderungen, MCH, MCV und HGB aufgrund der langen Lebenszeit der Erythrozyten sogar erst nach Wochen (112 S. 707).

In Tabelle 3 sind bezüglich der Retikulozytenparameter die eigenen Ergebnisse zusammengefasst dargestellt und für Vergleichszwecke sind - soweit vorhanden - die Referenzbereiche der drei in Punkt 4.1 erwähnten Quellen angeführt.

Tabelle 3: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Retikulozytenparameter

Quellen für die Referenzbereiche der Retikulozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (112 S. 703 ff.)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
#RET (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ♂ 37,9 - 101,8 ♀ 26,8 - 104,0 CD-Sapphire: ♂ 33,8 - 116,0 ♀ 30,6 - 111,4 XE-2100: ♂ 21,8 - 74,5 ♀ 17,7 - 69,7 XT-2000i: ♂ 26,6 - 91,8 ♀ 19,6 - 80,9	ADVIA 120: ♂ 29 - 69* ♀ 19 - 64* CD-4000: ♂ 30 - 110* ♀ 21 - 98* SE-9500: ♂ 16 - 70* ♀ 16 - 66* Gen-S: ♂ 30 - 90* ♀ 24 - 73* Pentra 120 Retic: ♂ 31 - 130* ♀ 22 - 95*	nicht verfügbar	nicht verfügbar
%RET (%)	ADVIA 120: ◇ 0,65 - 2,00 CD-Sapphire: ◇ 0,67 - 2,40 XE-2100: ◇ 0,41 - 1,42 XT-2000i: ◇ 0,45 - 1,69	ADVIA 120: ◇ 0,5 - 1,4* CD-4000: ◇ 0,6 - 2,4* SE-9500: ◇ 0,4 - 1,6* Gen-S: ◇ 0,6 - 1,8* Pentra 120 Retic: ◇ 0,6 - 2,2*	Gerät/ Methode unbekannt: ♂ 0,8 - 2,5**** ♀ 0,8 - 4,0****	nicht verfügbar
L-RTC bzw. LFR (%)	ADVIA 120: ◇ 80,1 - 97,8 XE-2100: ◇ 87,8 - 98,9 XT-2000i: ◇ 88,4 - 99,3	ADVIA 120: ◇ 88 - 98* SE-9500: ◇ 85 - 97*	nicht verfügbar	nicht verfügbar
M-RTC bzw. MFR (%)	ADVIA 120: ◇ 1,9 - 17,4 XE-2100: ◇ 1,1 - 11,2 XT-2000i: ◇ 0,7 - 10,5	ADVIA 120: ◇ 2 - 11* SE-9500: ◇ 3 - 14*	nicht verfügbar	nicht verfügbar
H-RTC bzw. HFR (%)	ADVIA 120: ◇ 0,0 - 3,6 XE-2100: ◇ 0,0 - 1,5 XT-2000i: ◇ 0,0 - 1,5	ADVIA 120: ◇ ≤ 2,0 SE-9500: ◇ < 2,5	nicht verfügbar	nicht verfügbar

Fortsetzung Tabelle 3

Quellen für die Referenzbereiche der Retikulozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (112 S. 703 ff.)	Theml et al. (107 S. 12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
IRF (%)	CD-Sapphire: ◇ 15,6 - 37,4 XE-2100: ◇ 1,1 - 12,2 XT-2000i: ◇ 0,7 - 11,6	CD-4000: ◇ 14 - 35*	nicht verfügbar	nicht verfügbar
CHR bzw. Ret-He (p/g)	ADVIA 120: ♂ 29,8 - 35,8 ♀ 28,9 - 34,8 XE-2100: ♂ 30,8 - 36,4 ♀ 30,1 - 36,2	ADVIA 120: ◇ 28 - 35** XE-2100: ◇ 28 - 35***	nicht verfügbar	nicht verfügbar

◇ beide Geschlechter; ♂ männlich; ♀ weiblich

* entnommen aus: van den Bossche et al. *Clin Chem Lab Med* 2002;40: 69-73 (121)

** entnommen aus: Thomas et al. *Clin Chem* 2002;48: 1066-76 (118)

*** entnommen aus: Franck et al. *Clin Chem* 2004; 50: 1240-2 (29)

**** vermutlich entnommen aus: Deiss et al. *Am J Clin Pathol* 1970;53: 481- 484 (21)

Im Gegensatz zum prozentualen Anteil der Retikulozyten an der Gesamterthrozytenzahl zeigt ihre absolute Konzentration eine Abhängigkeit vom Geschlecht, weshalb für den Parameter #RET geschlechtsspezifische Referenzbereiche zu verwenden sind. Zudem konnten in dieser Arbeit für #RET und %RET ganz deutliche geräteabhängige Unterschiede gezeigt werden (siehe Abb. A24 und A25 im Anhang), die gerätespezifische Referenzbereiche erforderlich machen. Dies kann dadurch erklärt werden, dass im Vergleich zur durchflusszytometrischen Referenzmethode in den Routinegeräten herstellerabhängig die Inkubationszeiten, in denen der Farbstoff an die retikulozytäre RNA bindet, verkürzt sind und teilweise weniger affine Farbstoffe eingesetzt werden, woraus eine erhöhte Streuung und eine geringere Sensitivität resultiert (81). Es muss also unbedingt berücksichtigt werden, dass die Retikulozytenwerte eines Patienten, die mit verschiedenen Geräten bzw. Methoden ermittelt wurden im Prinzip nicht vergleichbar sind und für ihre Interpretation gerätespezifische Referenzbereiche heranzuziehen sind. Für diese beiden Messgrößen ist auffällig, dass in der vorliegenden Arbeit die Referenzbereiche zwischen XE-2100 und XT-2000i bemerkenswert voneinander abweichen, obwohl bei den zwei Geräten dieselbe Methode für die Retikulozytenzählung zum Einsatz kommt.

Tabelle 3 zeigt, dass Thomas ebenfalls die Geräteabhängigkeit beachtet. Er führt in seinem Standardwerk für #RET und %RET Referenzintervalle von fünf verschiedenen Geräteherstellern an. Es ist zu beachten, dass für den ADVIA 120, der sowohl in dieser Arbeit als auch in der von Thomas zitierten Studie, die 2002 von van den Bossche et al. (121) durchgeführt wurde, zum Einsatz kam, die Differenzen zwischen den

Referenzbereichen beachtlich hoch sind. Es wird deutlich, dass in diesem Fall wohl eine Abhängigkeit vom Studienzentrum und von den Geräteeinstellungen vorliegt. Des Weiteren dürften mögliche Unterschiede in der Zusammensetzung der beiden Referenzstichproben eine Rolle spielen und die Tatsache, dass im Gegensatz zu der Vergleichsstudie in dieser Dissertation keine Ausreißerelimination durchgeführt wurde. Bezüglich #RET ist aus Tabelle 3 abzuleiten, dass beispielsweise die Differenzen zwischen den Referenzbereichen der Geräte der Firma Abbott (CD-Sapphire vs. CD-4000) und die Differenzen zwischen den Analysengeräten von Sysmex XE-2100 vs. SE-9500 nicht so sehr ausgeprägt sind, wohl aber die zwischen den Sysmex-Automaten XT-2000i und SE-9500. Theml et al. publizieren für %RET geschlechtsspezifische Referenzbereiche, welche im Vergleich zu den eigenen Resultaten für die hier eingesetzten Geräte sowohl höhere Unter- als auch Obergrenzen aufweisen. Diese Referenzintervalle können somit nicht auf Analysensysteme, die den derzeitigen Standards entsprechen, transferiert werden. Eigene Recherchen ergaben, dass die Referenzbereiche von Theml et al. vermutlich auf den Ergebnissen einer Studie von 1970 (21) basieren, in welcher die Retikulozyten nach Anfärbung mit dem Farbstoff Neu-Methylenblau manuell mittels mikroskopischer Technik gezählt wurden.

Für die retikulozytären Reifungsindizes kann festgehalten werden, dass bezüglich der Parameter Retikulozyten mit niedrigem, mittlerem und hohem RNA-Gehalt sowie für die Fraktion der unreifen Retikulozyten keine geschlechtsspezifischen, wohl aber gerätespezifische Referenzbereiche zu verwenden sind (siehe Abb. A26 bis A28 im Anhang). Die unterschiedlichen Messmethoden der Analysengeräte sind also für diese Parameter nicht miteinander vergleichbar, da keine geeigneten Referenzmaterialien zur Kalibrierung der Retikulozytenfraktionen zur Verfügung stehen (41; 112 S. 706) und die Einstellung der Schwellenwerte vom Gerätehersteller konfiguriert wird, sie aber meist nicht vom Anwender verändert werden kann (81). Es ist zu beachten, dass in dieser Arbeit zwischen den von XE-2100 und XT-2000i ermittelten Messwerten für alle Reifungsindizes und den Parameter IRF zwar ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen wurde, dieser aber in der Praxis keine besondere Bedeutung hat.

Auch Thomas berücksichtigt für die unterschiedlichen Reifegrade der Retikulozyten die Geräte- bzw. Methodenabhängigkeit. Aus Tabelle 3 geht hervor, dass im Vergleich zu den Resultaten dieser Dissertation im Allgemeinen keine gravierenden Abweichungen vorhanden sind. In Bezug auf die Messgröße IRF stimmt das eigene Ergebnis für CD-Sapphire ebenfalls gut mit dem von Thomas angegebenen Referenzbereich für das Analysengerät CD-4000 überein.

Für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten konnte hier gezeigt werden, dass gerätespezifische Unterschiede vorhanden sind (siehe Abb. A29 im Anhang). Der ADVIA

120 liefert im Gegensatz zum XE-2100 im Durchschnitt etwas niedrigere Werte, was sich auch in den Referenzbereichen für beide Geräte widerspiegelt. Die Relevanz dieser Differenz in der Praxis kann mit einem Fragezeichen versehen werden. Die in der vorliegenden Arbeit angewandte Harris-und-Boyd-Methode ergab, dass für den retikulozytären Hämoglobingehalt in Bezug auf das Gerät ADVIA 120 geschlechtsspezifische Referenzbereiche zu bilden sind. Dieses Ergebnis konnte aber für XE-2100 nicht bestätigt werden. Aufgrund der Einheitlichkeit wurden in dieser Arbeit jedoch für beide Analysensysteme nach Geschlecht getrennte Referenzintervalle bestimmt. Da, wie aus Tabelle 3 hervorgeht, der Unterschied zwischen Männern und Frauen sowohl bei ADVIA 120 als auch bei XE-2100 nicht sonderlich groß ist, kann die Notwendigkeit geschlechtsspezifischer Referenzbereiche infrage gestellt werden. Aus den im Rahmen dieser Studie erhobenen Referenzwerten lässt sich für CHr ein geschlechtsübergreifender Referenzbereich zwischen 29,4 und 35,6 pg errechnen und für Ret-He einer zwischen 30,2 und 36,3 pg. Die beiden Referenzintervalle zeigen allerdings nur eine geringe Abweichung voneinander, sodass für den retikulozytären Hämoglobingehalt ein geräteübergreifender Referenzbereich verwendet werden könnte. Aus den Studiendaten ließe sich für die genannte Messgröße für die Analysensysteme ADVIA 120 und XE-2100 folgendes gemeinsames Referenzintervall berechnen: 29,8 - 36,1 pg.

Von den von Thomas für CHr bzw. Ret-He angeführten Referenzbereichen von jeweils 28 - 35 pg weisen die eigenen unteren und oberen Referenzbereichsgrenzen für ADVIA 120 bzw. für XE-2100 etwas höhere Werte auf. Thomas führt an, dass Laboratorien für diese Messgrößen trotz gleicher Analysensysteme unterschiedliche Referenzbereiche angeben, da die Kalibratoren nicht auf Standardpräparationen beruhen (112 S. 708).

4.1.4 Referenzbereiche für die Leukozytenparameter

Die Untersuchung der Leukozyten dient der Diagnose und Verlaufsbeobachtung infektiöser und inflammatorischer Prozesse sowie zur Überwachung der Knochenmarksfunktion unter potentiell toxischen Therapien (89 S. 659). Die Leukozytenzählung und -differenzierung wird in den Laboratorien fast nur noch maschinell durchgeführt, da die Hämatologiegeräte präzise und zeiteffizient arbeiten (108 S. 674). Jedoch ist bei erstmaliger Verletzung der Referenzbereiche oder bei Auftreten von gerätegenerierten Warnhinweisen wie, z.B. Hinweise auf unreife Granulozyten oder eine Linksverschiebung, auf atypische Lymphozyten, Blasten oder Erythroblasten, zusätzlich eine mikroskopische Untersuchung eines Blutausstriches und eine manuelle Differenzierung durchzuführen (8; 89 S. 659)

Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Analysensysteme und ihre bezüglich der Leukozytenanalytik differenten Messmethoden sind in den Punkten 2.3.1 bis 2.3.3

ausführlich beschrieben. Hier folgt eine knappe Zusammenfassung: Bei allen hier eingesetzten Geräten erfolgt die Zählung und Differenzierung der weißen Blutzellen durchflusszytometrisch nach Lyse der Erythrozyten unter Verwendung der optischen Methode. Bei ADVIA 120 werden die Peroxidaseaktivität und die Streuung von Halogenlicht in unterschiedlichen Winkeln erfasst. Im Rahmen der Leukozytenzählung und -differenzierung werden bei CD-Sapphire die Daten einer 4-Winkel-Laserstreulichtanalyse und Fluoreszenzsignale verarbeitet. Bei der Leukozytenanalyse des XE-2100 und XT-2000i wird neben Fluoreszenzsignalen auch die Vorwärts- und Seitwärtsstreuung von Laserlicht registriert. Bei den vier Geräten werden die Zellen anhand ihrer Eigenschaften Clustern zugeordnet. Mittels herstellerabhängiger Cluster-Analyse werden dann die verschiedenen Zellpopulationen identifiziert und die Gesamtleukozytenzahl sowie die absolute und relative Zellzahl der einzelnen Leukozytenpopulationen ermittelt.

In frischen Blutproben von Gesunden können von den modernen Hämatologiegeräten die weißen Blutzellen, insbesondere die Neutrophilen, Eosinophilen und Lymphozyten, in der Regel den jeweiligen Subpopulationen richtig zugeordnet werden. Die korrekte Abtrennung der Basophilen und der vielgestaltigen Monozyten vor allem von den Lymphozyten bereitet zuweilen Schwierigkeiten (16; 79). Bei Vorhandensein vieler pathologischer Zellen werden von den Analysengeräten im Allgemeinen zuverlässig Warnhinweise generiert, die eine weiterführende mikroskopische Untersuchung eines Ausstriches ermöglichen. Nicht sicher wird dagegen vor auffälligen Blutbildern gewarnt, wenn nur kleine Populationen pathologischer Zellen im Probenmaterial vorhanden sind oder wenn die pathologischen Zellen den normalen Leukozytensubpopulationen sehr ähnlich sind (107 S. 20). Im Gegensatz zur zuverlässigen qualitativen Angabe von unreifen Vorläuferzellen bzw. atypischen Zellen (16) ist deren Quantifizierung durch die Analysengeräte trotz modernster Technik immer noch mit Schwierigkeiten verbunden und folglich kein Ersatz für die Mikroskopie oder Immunfluoreszenzverfahren. Nebe et al. (79) und Ruby (90) führen in ihren Publikationen zu den genannten Sachverhalten mehrere Beispiele an. Es ist zu berücksichtigen, dass aufgrund der unterschiedlichen Messtechniken und Auswertungen die Warnhinweise zwischen den verschiedenen Gerätetypen sehr stark variieren (79).

In Tabelle 4 sind für die Leukozytenparameter die eigenen Ergebnisse zusammengefasst dargestellt, und für Vergleichszwecke sind die Referenzbereiche der drei in Punkt 4.1 genannten Quellen angeführt. Da die absolute Zahl der einzelnen Leukozytensubpopulationen für die klinische Interpretation die relevante Größe darstellt (16; 50; 80; 89 S. 661; 90), wird in der folgenden Diskussion nur diese berücksichtigt. In den Tabellen B1 bis B4 im Anhang sind separat für jedes Gerät die Referenzbereiche für die prozentualen Anteile der verschiedenen Subpopulationen der weißen Blutzellen aufgelistet

und darüber hinaus sind dort die Referenzintervalle für die firmenspezifischen Parameter WVF (Abbott), WBC-P und %LUC (beide Siemens) zu finden.

Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Leukozytenparameter

Quellen für die Referenzbereiche der Leukozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (114 S. 744)	Theml et al. (107 S.12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
WBC (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 4,03 - 10,99 CD-Sapphire: ◇ 3,95 - 10,94 XE-2100: ◇ 3,89 - 10,63 XT-2000i: ◇ 3,81 - 10,50	ADVIA 120: ◇ 3,5 - 9,8* CD-4000: ◇ 3,7 - 10,1* SE-9500: ◇ 3,5 - 9,8* Gen-S: ◇ 3,6 - 10,0*	Gerät unbekannt: ◇ 4,3 - 10,0	Gerät unbekannt: ◇ 4,6 - 10,2
NEUT (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 1,90 - 7,61 CD-Sapphire: ◇ 1,79 - 7,35 XE-2100: ◇ 1,77 - 7,20 XT-2000i: ◇ 1,76 - 7,14	ADVIA 120: ◇ 1,7 - 6,8* CD-4000: ◇ 1,6 - 7,0* SE-9500: ◇ 1,6 - 7,1* Gen-S: ◇ 1,7 - 7,2*	Gerät unbekannt: ◇ 1,85 - 7,25	Gerät unbekannt: ◇ 2,0 - 6,9
#LYM (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 1,14 - 3,34 CD-Sapphire: ◇ 1,51 - 3,61 XE-2100: ◇ 1,16 - 3,43 XT-2000i: ◇ 1,13 - 3,45	ADVIA 120: ◇ 0,9 - 2,6* CD-4000: ◇ 1,1 - 3,0* SE-9500: ◇ 1,0 - 2,9* Gen-S: ◇ 1,0 - 2,9*	Gerät unbekannt: ◇ 1,50 - 3,50	Gerät unbekannt: ◇ 0,6 - 3,4
#MONO (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 0,22 - 0,71 CD-Sapphire: ◇ 0,28 - 0,91 XE-2100: ◇ 0,25 - 0,93 XT-2000i: ◇ 0,29 - 1,02	ADVIA 120: ◇ 0,2 - 0,5* CD-4000: ◇ 0,2 - 0,8* SE-9500: ◇ 0,2 - 0,6* Gen-S: ◇ 0,2 - 0,8*	Gerät unbekannt: ◇ 0,07 - 0,84	Gerät unbekannt: ◇ 0,0 - 0,9

Fortsetzung Tabelle 4

Quellen für die Referenzbereiche der Leukozytenparameter von Erwachsenen				
	diese Studie	Thomas (114 S. 744)	Theml et al. (107 S.12 f.)	Mahlberg et al. (70 S. 206)
#EOS (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 0,03 - 0,46 CD-Sapphire: ◇ 0,04 - 0,47 XE-2100: ◇ 0,03 - 0,44 XT-2000i: ◇ 0,03 - 0,43	ADVIA 120: ◇ 0,03 - 0,38* CD-4000: ◇ 0,03 - 0,44* SE-9500: ◇ 0,06 - 0,46* Gen-S: ◇ 0,03 - 0,41*	Gerät unbekannt: ◇ 0,00 - 0,40	Gerät unbekannt: ◇ 0,0 - 0,7
#BASO (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 0,02 - 0,12 CD-Sapphire: ◇ 0,01 - 0,09 XE-2100: ◇ 0,01 - 0,08 XT-2000i: ◇ 0,01 - 0,07	ADVIA 120: ◇ 0,02 - 0,08* CD-4000: ◇ 0,00 - 0,08* SE-9500: ◇ 0,00 - 0,08* Gen-S: ◇ 0,01 - 0,07*	nicht verfügbar	Gerät unbekannt: ◇ 0,0 - 0,2
#LUC (10 ⁹ /l)	ADVIA 120: ◇ 0,07 - 0,29	ADVIA 120: ◇ 0,10 - 0,31*	nicht verfügbar	nicht verfügbar

◇ beide Geschlechter

* entnommen aus: van den Bossche et al. Clin Chem Lab Med 2002;40: 69-73 (121)

Für die Gesamtleukozytenzahl sowie für die einzelnen Leukozytensubpopulationen konnte im Rahmen dieser Arbeit keine Geschlechtsabhängigkeit nachgewiesen werden. Daher wurden für Männer und Frauen gemeinsame Referenzbereiche berechnet. Lediglich die von ADVIA 120 zusätzlich ausgewiesene Untergruppe der großen Peroxidase-negativen Zellen (LUC) zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern. Dieser Sachverhalt wurde hier aber nicht berücksichtigt, da eine solche Zellpopulation ein firmenspezifischer Parameter mit mangelnder Spezifität ist (16) und somit der Bildung geschlechtsspezifischer Referenzbereiche keine klinische Relevanz beigemessen wird.

Die eigenen Ergebnisse erbringen für die Leukozytenkonzentration einen signifikanten Unterschied zwischen den verwendeten Analysensystemen (siehe Abb. A30 im Anhang). Diese Tatsache dürfte erneut eine untergeordnete Rolle in der Praxis spielen, da sich zwischen den vier Geräten sowohl für die unteren als auch die oberen Referenzbereichsgrenzen keine bedeutenden Abweichungen zeigen. Rundet man die Werte der Ober- und Untergrenzen auf, so ergibt sich für alle Analysengeräte, dass sich bei Gesunden die Messwerte der Leukozyten zwischen 4 und 11 x 10⁹/l bewegen. Indes können Raucher Werte bis 12 x 10⁹/l und starke Raucher sogar bis zu 15 x 10⁹/l haben, ohne dass diese als pathologisch zu werten sind (114 S. 744).

Der Vergleich der Resultate dieser Arbeit mit den Referenzbereichen der in Tabelle 4 angeführten Quellen liefert keine gravierenden Unterschiede. Die oberen Grenzen der drei Vergleichsquellen fallen mit rund $10 \times 10^9/l$ insgesamt etwas kleiner aus als in der vorliegenden Studie. Die eigenen Untergrenzen für die Gesamtleukozytenzahl befinden sich dagegen zwischen den von Thomas, Theml et al. und Mahlberg et al. angegebenen Werten, die zwischen $3,5$ und $4,6 \times 10^9/l$ liegen.

Wie bereits weiter oben angeführt wurde, werden zur Differenzierung der Leukozyten herstellerabhängig sehr unterschiedliche Messtechnologien verwendet. Dieser Sachverhalt spiegelt sich in den Ergebnissen des Gerätevergleichs (siehe Abb. A32 bis A41 im Anhang) wider. Aus ihm lässt sich ableiten, dass die Verwendung gerätespezifischer Referenzbereiche für die Parameter der automatisierten Differenzierung notwendig ist, um eine korrekte Interpretation der Laborergebnisse eines Patienten zu gewährleisten. Da die Messtechniken von XE-2100 und XT-2000i für die Identifizierung und Zählung der unterschiedlichen weißen Blutzellen identisch sind, weichen ihre Referenzbereiche mit Ausnahme der Monozyten nur wenig voneinander ab. In Bezug auf die eosinophilen Granulozyten ergibt sich auch für ADVIA 120 und CD-Sapphire keine signifikante Messabweichung, was an den ähnlichen Referenzbereichen zu sehen ist. Aus Tabelle 4 geht hervor, dass im Vergleich zu den drei anderen Analysengeräten die von ADVIA 120 bestimmte Lymphozyten- und besonders aber die Monozytenkonzentration deutlich niedriger ist. Der Grund hierfür: Von ADVIA 120 werden die großen Peroxidase-negativen Zellen zusätzlich - als sechste Leukozytenpopulation - ausgewiesen. Diese Zellen sind bei den anderen Geräten im Lymphozyten- und Monozyten-Cluster wiederzufinden (121). Aus Tabelle B1 im Anhang ist abzuleiten, dass ihr Anteil beim Gesunden etwa 1 bis 4 Prozent beträgt. Der Referenzbereich für die absolute Zellzahl von LUC ist in der obenstehenden Tabelle mit angeführt.

Aus Tabelle 4 ist des Weiteren folgender Tatbestand ersichtlich: Werden die eigenen Ergebnisse der Leukozytendifferenzierung den Referenzbereichen von Thomas, Theml et al. und Mahlberg et al. gegenübergestellt, ergeben sich im Grunde genommen für alle Messgrößen Abweichungen, die in einigen Fällen durchaus von ganz wesentlicher Bedeutung sind. Diese Tatsache bestätigt, dass für die zuverlässige Interpretation der Messergebnisse der maschinellen Differenzierung geräte- bzw. methodenspezifische Referenzbereiche herangezogen werden sollten. Thomas berücksichtigt ebenfalls für die einzelnen Leukozytensubpopulationen die Geräteabhängigkeit und führt daher Referenzbereiche für vier unterschiedliche Analysensysteme an. Auffallend hoch sind allerdings die Differenzen zwischen den eigenen und den von Thomas angeführten Referenzbereichen für das Gerät ADVIA 120. Dagegen sind, abgesehen von den

Lymphozyten und Monozyten, die Abweichungen zwischen den drei anderen in dieser Arbeit verwendeten Analysengeräten und denen, die in der von Thomas zitierten Studie (121) außerdem noch eingesetzt wurden, weit weniger groß.

4.1.5 Schlussfolgerungen

Die Interpretation der Ergebnisse einer maschinellen Blutbilduntersuchung erfolgt gewöhnlich durch den Vergleich mit Referenzbereichen. Voraussetzung für die richtige Einschätzung der Messresultate ist jedoch, dass die verwendeten Referenzbereiche zum Alter, Geschlecht und zur Bevölkerungszugehörigkeit des Patienten passen. Ebenso ist es wichtig, dass die präanalytischen und analytischen Bedingungen in der täglichen Praxis gut mit denen der Referenzwertstudie vergleichbar sind.

Liegt das Laborergebnis eines Patienten geringfügig außerhalb des Referenzintervalls, bedeutet das nicht automatisch das Vorhandensein einer Krankheit. Der Messwert gehört möglicherweise zu den 5%-Werten gesunder Referenzindividuen, die außerhalb des zuvor festgelegten 95%- Referenzbereichs zu erwarten sind.

Die Durchführung einer Studie zur Etablierung von zuverlässigen Referenzbereichen ist kostspielig und mit einem erheblichen Arbeitsaufwand verbunden. Vor allem die Rekrutierung einer adäquaten Anzahl an geeigneten Referenzindividuen stellt eine sehr große Herausforderung dar und ist nicht von jedem Labor zu bewerkstelligen. Somit werden immer wieder die Referenzbereiche von älteren Analysengeräten oder aus externen Quellen herangezogen. Teilweise sind hierbei aber die Informationen über das Referenzkollektiv, die präanalytischen und analytischen Gegebenheiten sowie die verwendete statistische Methode zur Berechnung der Referenzintervalle nur eingeschränkt verfügbar. Die für diese Arbeit rekrutierten Referenzindividuen wurden hinsichtlich ihres Gesundheitsstatus hinlänglich überprüft. Da beispielsweise Rauchen, Alkoholgenuss oder die Einnahme von Östrogenen nicht zum Ausschluss aus der Studie führte, dürften die Probanden für die hier untersuchte gegenwärtige erwachsene Bevölkerung mit ihren Lebensgewohnheiten repräsentativ sein. Ferner handelt es sich bei den vier verwendeten Analysensystemen um Geräte, die die aktuellen Standards gut widerspiegeln.

Im Gegensatz zu den drei Quellen, die für den Vergleich der eigenen Ergebnisse herangezogen wurden, konnte eine Geschlechtsabhängigkeit nicht nur für die Erythrozytenzahl, die Hämoglobinkonzentration, den Hämatokrit und die absolute Retikulozytenzahl gezeigt werden, sondern zusätzlich für die Thrombozyten, den Plättchenkrit, die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration und den Hämoglobingehalt der Retikulozyten. In Bezug auf die beiden letztgenannten Parameter ist der Unterschied

zwischen den Referenzbereichen der Frauen und Männer aber so gering, dass die Verwendung geschlechtsspezifischer Referenzbereiche wahrscheinlich nur von eingeschränktem klinischen Nutzen ist.

Der Gerätevergleich erbrachte für alle Parameter mit Ausnahme des mittleren zellulären Hämoglobingehalts, dass zwischen zahlreichen Gerätekombinationen statistisch signifikante Messabweichungen existieren. Um die korrekte Interpretation der Laborergebnisse eines Patienten zu gewährleisten, müssen für den kalibrationsabhängigen Parameter MCV und für die noch unzureichend standardisierten Messgrößen Verteilungsbreite der Erythrozyten sowie der Thrombozyten, das mittlere Plättchenvolumen, den Plättchenkrit, die absolute und relative Retikulozytenzahl sowie für die retikulozytären Reifungsindizes und die Leukozytensubpopulationen geräte- bzw. methodenspezifische Referenzbereiche verwendet werden. Für die Erythrozyten- und die Hämoglobinkonzentration, den Hämatokrit, die mittlere zelluläre Erythrozytenkonzentration, den retikulozytären Hämoglobingehalt, die Thrombozyten sowie die Gesamtleukozytenzahl ergab sich zwar auch ein statistisch signifikanter Messunterschied zwischen den Geräten, dessen Bedeutung dürfte aber in der Praxis eher eine untergeordnete Rolle spielen. Obwohl die Geräte XE-2100 und XT-2000i für die Zählung der Retikulozyten sowie der optischen Thrombozyten identische Messtechnologien verwenden, ergab sich in dieser Arbeit eine deutliche Differenz zwischen den Geräten. Es zeigt sich an diesem Beispiel, wie wichtig es ist, dass die Analysensysteme innerhalb eines Labors oder Krankenhauses untereinander abgeglichen werden.

Die eigenen Referenzbereiche zeigen bei der Gegenüberstellung mit denen der Vergleichsquellen für die Erythrozytenparameter im Großen und Ganzen keine gravierenden Abweichungen. Im Hinblick auf die Thrombozytenkonzentration wird allerdings deutlich, dass in Zukunft nur noch geschlechtsspezifische Referenzbereiche verwendet werden sollten. Zwischen den hier ermittelten Referenzbereichen für die absolute und relative Retikulozytenzahl und denen der Vergleichsquellen ergeben sich zum Teil beträchtliche Unterschiede, jedoch nicht für den retikulozytären Hämoglobingehalt und die Reifungsindizes. Die eigenen Referenzbereiche für die Leukozytenkonzentration stimmen gut mit denen der Vergleichsquellen überein. Was die Leukozytensubpopulationen betrifft, sind partiell sehr starke Abweichungen zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zu verzeichnen.

Da die Blutbildanalysengeräte sehr effizient und präzise arbeiten wird die Blutzellzählung und -differenzierung gegenwärtig fast ausschließlich maschinell durchgeführt. Trotz der ständigen Weiterentwicklung der Messtechnologien wird die mikroskopische Untersuchung eines gefärbten Blutausriches aber weiterhin eine wichtige Komponente im

hämatologischen Alltag bleiben. Nur so erhält der erfahrene Untersucher einen direkten Einblick in die Morphologie der Blutzellen, was mit der automatisierten Zählung und Differenzierung allein nicht möglich ist. Beispielsweise können mit Hilfe des Mikroskops atypische Zellpopulationen und unreife Zellen genauer charakterisiert, morphologische Veränderungen der Zellen zuverlässig beurteilt und ausgeprägte Abweichungen der Zellzahl vom Referenzbereich bestätigt werden.

4.2 Lagerungsstabilität hämatologischer Parameter

Die organisatorischen Veränderungen der Laboratorien und die damit verbundene Umverteilung der Aufgabenbereiche haben zur Folge, dass es zunehmend große Zentrallaboratorien gibt. Daraus ergibt sich, dass immer mehr Blutproben über eine weite Entfernung in ein solches Labor gesendet werden und deren Analyse erst einige Stunden oder sogar Tage nach der Blutentnahme durchgeführt werden kann (15; 39). Da die zellulären Bestandteile im EDTA-antikoagulierten Vollblut eine eingeschränkte Haltbarkeit aufweisen, soll gemäß den Richtlinien der ICSH und des CLSI (ehemals NCCLS), die Messung der Parameter des kleinen Blutbildes, die Leukozytendifferenzierung und die Retikulozytenanalyse innerhalb der ersten sechs Stunden nach Blutentnahme erfolgen, wenn die Blutproben bei Raumtemperatur gelagert werden (15; 39; 49; 74; 77). Eine Aufbewahrung des Probenmaterials bei 4 °C erhöht zwar die Stabilität einiger hämatologischer Parameter, was die Messung mit einer zeitlichen Verzögerung ermöglicht, jedoch kann dies, trotz der Gewährleistung eines richtigen und präzisen Analysenverfahrens, zu unzuverlässigen Resultaten führen (15; 39; 49). Deshalb ist es wichtig, dass dem Laborpersonal die durch Lagerung bedingten Veränderungen im EDTA-antikoagulierten Vollblut bekannt sind (39). Diese Informationen sind maßgeblich dafür, ob eine gealterte Blutprobe überhaupt untersucht wird, ob alle geforderten Tests durchgeführt werden oder nur diejenigen, welche unter Berücksichtigung des Alters des Probenmaterials als angemessen erachtet werden. Des Weiteren entscheidet sich dadurch, welche Kommentare den Messergebnissen, bezüglich ihrer Verlässlichkeit oder den Limitationen der Analyse, im Laborbericht hinzugefügt werden sollen (20; 36). Da bei den unterschiedlichen Hämatologie-Analysensystemen diverse Messtechniken zur Charakterisierung und Quantifizierung von Blutzellen benutzt werden, ist es zudem möglich, dass die Probenstabilität in Abhängigkeit vom verwendeten Analysensystem variiert (15; 39; 57).

4.2.1 Lagerungsstabilität der Erythrozytenparameter

Gemäß den Stabilitätsmessungen für alle in der Studie verwendeten Hämatologie-Analysensysteme hat eine 24-stündige Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur keine Auswirkung auf RBC, RBC-O, HGB und MCH. Mehrere Forschungsgruppen kommen zu

dem Ergebnis, dass die genannten Messgrößen bis zu 72 Stunden respektive sieben Tage - unabhängig von der Lagerungstemperatur - stabil sind (20; 36; 39; 47; 57). Dahingegen bewirkt die ungekühlte Aufbewahrung des Probenmaterials schon nach mehreren Stunden eine Anschwellung der roten Blutzellen, was mit einer Zunahme von MCV und HCT einhergeht. In Studien, die über einen Zeitraum von wenigen Tagen durchgeführt wurden, konnte nachgewiesen werden, dass die Messwerte dieser beiden Parameter mit der Zeit kontinuierlich weiter ansteigen, wenn das Probenmaterial bei Raumtemperatur gelagert wird (19; 20; 36; 39; 47; 57). Die Veränderungen von MCHC und RDW sind ebenfalls durch die Vergrößerung des Zellvolumens der Erythrozyten bedingt. Die MCHC zeigt nach einer 24-stündigen Lagerungsdauer bei Zimmertemperatur eine Abnahme der gemessenen Werte, RDW dagegen eine Zunahme. Bereits veröffentlichte Arbeiten stimmen mit diesen Ergebnissen überein und zeigen, dass die durchschnittlichen Abweichungen vom Ausgangswert mit fortschreitender Lagerungszeit noch größer werden (19; 20; 36; 39; 47; 57). Zwischen den vier hier untersuchten Hämatologiegeräten wurden für MCV, HCT und MCHC keine essenziellen Unterschiede gefunden, wobei anzumerken ist, dass XE-2100 und XT-2000i im Gegensatz zu CD-Sapphire und ADVIA 120 für die genannten Parameter marginal höhere durchschnittliche Abweichungen vom Ausgangswert aufweisen. Aus den Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die von ADVIA 120 berechnete MCHC im Gegensatz zur direkt gemessenen CHCM durch die eintägige Lagerung etwas weniger beeinflusst wird und daher stabiler ist. Die Werte von RDW sind für die Geräte der Firma Sysmex nach 24 Stunden bereits um durchschnittlich 8 % höher und die von Sapphire um 5,5 %. Die Werte von ADVIA 120 hingegen sind nur um 1,6 % höher. Für die Analysensysteme XE-2100 und XT-2000i ist beim Vergleich der Resultate der Messgrößen RDW und RDW-SD eine deutlich höhere Variabilität für RDW-SD erkennbar. Untersuchungen von Hill et al. (47) bestätigen diese Beobachtung für den XT-2000i.

Wegen des progredienten Anstiegs von MCV, HCT und RDW sowie der Verringerung von MCHC während der Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur, ist eine zuverlässige klinische Interpretation der Ergebnisse dieser Parameter mit fortschreitender Lagerungszeit immer eingeschränkter möglich. Dieser Sachverhalt ist umso relevanter, je näher sich die gemessenen Werte an der oberen bzw. unteren Grenze des Referenzbereichs befinden (36). Die Problematik kann durch eine Aufbewahrung der Blutproben bei 4 °C reduziert werden, da die Stabilität von MCV, HCT und MCHC bei Kühlschranktemperaturen deutlich höher ist (19; 39; 57; 123).

4.2.2 Lagerungsstabilität der Thrombozytenparameter

Einen geringen Einfluss hat die eintägige Lagerungszeit auf die mittels der Impedanzmethode gemessene Thrombozytenkonzentration. Bereits veröffentlichte Arbeiten stimmen mit dieser Beobachtung überein, wobei eine mehrtägige Stabilität von PLT unabhängig von der Lagerungstemperatur nachgewiesen wurde (19; 20; 36; 39; 47). Gulati et al. haben herausgearbeitet, dass die Variabilität von PLT in thrombozytopenischen Proben im Vergleich zu Proben mit einer normalen bzw. einer initial hohen Thrombozytenkonzentration größer ist. Mit zunehmender Lagerungszeit wird im thrombozytopenischen Untersuchungsmaterial eine Zunahme der Thrombozyten verzeichnet. Im Gegensatz dazu nimmt die Zahl der Blutplättchen in thrombozytischen Blutproben etwas ab (36). Die Zahl der optisch bestimmten Thrombozyten ist nach 24 Stunden Lagerungszeit geringer, wobei es zwischen den vier Hämatologie-Analysensystemen deutliche Unterschiede gibt. Während PLT-O bei CD-Sapphire und ADVIA 120 im Mittel 12,7 % bzw. 9,8 % unter dem Ausgangswert liegt, sind die Werte von PLT-O bei XE-2100 und XT-2000i nur 5,2 % bzw. 2,0 % niedriger als zum Zeitpunkt der Blutentnahme. Hedberg und Letho, welche Stabilitätsuntersuchungen am CD-Sapphire durchgeführt haben, kommen zu einem ähnlichen Ergebnis und demonstrieren, dass PLT-O mit fortschreitender Aufbewahrung bei Zimmertemperatur kontinuierlich sinkt und eine Lagerung des Probenmaterials bei 4 °C diesem Trend etwas entgegenwirken kann. Da in gealterten Blutproben PLT stabiler und somit zuverlässiger ist, wird empfohlen, diesen Parameter anstatt der optischen Thrombozytenkonzentration zu benutzen, welche routinemäßig vom Gerät ausgegeben wird (39). Hill et al. konnten in ihrer Studie unter Verwendung des XT-2000i ebenfalls nachweisen, dass die Werte von PLT-O zu jedem Messzeitpunkt unter denen von PLT liegen und dass dieser Unterschied mit zunehmender Lagerzeit größer wird. Sie berichten des Weiteren von einer steigenden Anzahl an Warnmeldungen, die im Zusammenhang mit einer progredienten Bildung von Thrombozytenaggregaten stehen, wobei die optische Thrombozytenzählung durch die Plättchenaggregate mehr beeinflusst wird als die Impedanzmessung. Wenn für eine mindestens 24 Stunden alte Probe vom Analysengerät - aufgrund eines automatischen Algorithmus - PLT-O statt PLT ausgegeben wird, solle dieser Messwert gemäß Hill et al. möglichst nicht herangezogen werden (47).

Eine Arbeit, dessen Gegenstand die Lagerungsstabilität in verschiedenen Blutbildanalysengeräten war, hat für XE-2100 und ADVIA 120 gezeigt, dass die Thrombozytenzahl nach einer 24-stündigen Lagerungszeit sowohl bei Raumtemperatur als auch bei 4 °C nur wenig vom Ausgangsniveau abweicht. Die Werte bewegen sich zwischen - 2,5 % und 3,3 %. (57). In der vorliegenden Dissertation war die von ADVIA 120 gemessene

Thrombozytenkonzentration bereits nach 24 Stunden ca. 10 % niedriger, in der eben zitierten Studie war dies erst nach zwei Tagen der Fall.

Die Forschungsgruppe von Lippi et al. kommt hinsichtlich des ADVIA 120 zu dem Ergebnis, dass die eintägig gekühlte Lagerung des Untersuchungsmaterials eine Zunahme der optisch bestimmten Thrombozytenzahl um 5,9 % bewirkt (67).

Die Stabilität von MPV, PDW, PLCR und PCT variiert nach einer 24-stündigen Aufbewahrung des Probenmaterials bei Raumtemperatur in Abhängigkeit vom verwendeten Analysensystem. Die von CD-Sapphire, XE-2100 sowie XT-2000i ermittelten Parameter MPV und PDW sind einen Tag stabil. Der ADVIA 120 misst dagegen für MPV durchschnittlich 15,5 % höhere Werte und für PDW 5,4 % niedrigere Werte. In verschiedenen Veröffentlichungen wird auch die Zunahme des MPV beschrieben, wobei dieses mit fortschreitender Lagerungszeit größer wird (20; 36; 47). Die Aufbewahrung bei 4 °C hat keinen Vorteil (19; 39; 67). Im Hinblick auf PCT ist für XE-2100 und XT-2000i nach einem Tag nur eine geringfügige Zunahme zu verzeichnen. ADVIA 120 misst im Vergleich dazu für PCT etwas höhere Werte, was die deutliche Erhöhung des MPV nach einer 24-stündigen Lagerung widerspiegelt. Bei CD-Sapphire liegt PCT nach 24 Stunden analog zu PLT-O mehr als 12 % unter dem Ausgangsniveau. Der von den Geräten der Firma Sysmex detektierte Anstieg des PLCR um fast 5 % kann einerseits im Zusammenhang mit dem tendenziell zunehmenden mittleren Plättchenvolumen gesehen werden und andererseits ein Hinweis auf das Vorhandensein von Thrombozytenaggregaten sein, deren Bildung durch die Aufbewahrung der Blutproben bei Raumtemperatur begünstigt wird.

4.2.3 Lagerungsstabilität der Retikulozytenparameter

Einen klinisch relevanten Einfluss hat die eintägige Lagerung von Blutproben bei 22 °C auf die Retikulozytenkonzentration und deren relativen Anteil. Zwischen den vier Analysensystemen ist ein geringer Unterschied festzustellen. Die Geräte CD-Sapphire und XE-2100 messen für #RET und %RET durchschnittlich 8 % niedrigere Werte. Bei XT-2000i und ADVIA 120 sind die Messwerte nach 24 Stunden im Mittel 10 % bzw. 13 % kleiner als zum Zeitpunkt der Blutentnahme. Die Ergebnisse stimmen mit denen bereits veröffentlichter Studien überein. Es konnte eine Abnahme der Retikulozytenzahl mit fortdauernder Lagerungszeit dokumentiert werden, was wohl auf eine Nachreifung der Retikulozyten bei Raumtemperatur zurückzuführen ist (39; 47; 57). De Baca beschreibt für XE-2100 in den ersten 48 Stunden einen Rückgang von #RET bzw. %RET von etwa 4 %, dem aber in den folgenden Tagen wieder ein leichter Anstieg folgt (20). Die Untersuchungen von Imeri et al. (57) sowie von Hedberg und Letho (39) machen deutlich, dass die Aufbewahrung des Probenmaterials bei 4 °C einen positiven Effekt auf die Stabilität der Retikulozyten hat.

Ebenso zeigen die Stabilitätsmessungen von Lippi et al., dass für ADVIA 120 die Messwerte von #RET und %RET nach 24 Stunden bei gekühlter Lagerung im Mittel nur ca. 5 % unter dem Ausgangswert liegen (67).

Für die Analysensysteme ADVIA 120, XE-2100 und XT-2000i ist bezüglich der Reifungsindizes der Retikulozyten festzustellen, dass die Fraktion der halbreifen (MFR bzw. M-RTC) und unreifen Retikulozyten (HFR bzw. H-RTC) deutlich größer wird; im Gegensatz dazu weist der Anteil der reifen Retikulozyten (LFR bzw. L-RTC) nach 24 Stunden konstante Werte auf. Ähnliche Ergebnisse verzeichnen de Baca et al. (20) und Lippi et al. (67). Lippi et al. betrachten die durch die Lagerung der Blutproben bedingte Zunahme des Anteils der unreifen Retikulozyten als Artefakt. Sie könne als Folge von Interferenzen gesehen werden, welche wahrscheinlich durch gealterte Leukozyten oder Thrombozyten hervorgerufen werden (67). Die von CD-Sapphire gemessene Fraktion der unreifen Retikulozyten (IRF) nimmt geringfügig ab. Diese Beobachtung ist konsistent mit den Untersuchungen von Hedberg und Letho. Aus ihren Untersuchungen ist abzuleiten, dass die Messwerte von IRF mit zunehmender Lagerungszeit bei Raumtemperatur progredient abfallen (39).

Der Hämoglobingehalt der Retikulozyten (CHr bei ADVIA 120 bzw. Ret-He bei XE-2100) ist sehr stabil und weist nach 24 Stunden keine nennenswerte Veränderung auf. Untersuchungen von Brugnara et al. (13) sowie von Lippi et al. (67) stimmen für Ret-He respektive CHr mit den vorliegenden Ergebnissen überein.

4.2.4 Lagerungsstabilität der Leukozytenparameter

Die Stabilitätsmessungen zeigen für die vier verwendeten Analysensysteme, dass eine eintägige Lagerung der EDTA-Vollblutproben bei Raumtemperatur keine Auswirkung auf die Gesamtleukozytenzahl hat. Diese Beobachtung wurde in bereits veröffentlichten Studien beschrieben, wobei für WBC bis zu 72 Stunden nach Blutentnahme konstante Werte nachgewiesen werden konnten (19; 20; 36; 47; 57). Imeri et al. stellten in ihren Untersuchungen fest, dass bei ungekühlter Aufbewahrung der Proben mit den Geräten XE-2100 und ADVIA 120 die Haltbarkeit von WBC 24 bzw. 48 Stunden beträgt, diese aber durch die Lagerung bei 4 °C auf 72 Stunden verlängert werden kann (57). Für das Analysensystem CD-Sapphire haben Hedberg und Letho dargelegt, dass WBC unabhängig von der Aufbewahrungstemperatur drei Tage beständige Werte zeigt (39). Gulati et al., die Stabilitätsmessungen am Coulter Gen. S vorgenommen haben, konnten aufzeigen, dass die Variabilität von WBC in leukopenischen Blutproben im Vergleich zu solchen mit einer normalen bzw. einer initial hohen Leukozytenkonzentration größer ist. Nach einer mehrtägigen Lagerungszeit wird im Untersuchungsmaterial mit niedrigen Leukozytenzahlen eine tendenzielle Zunahme derselben verzeichnet und im Gegensatz dazu nimmt die

Konzentration der weißen Blutzellen in den Blutproben mit initial hohen Leukozytenzahlen etwas ab (36). Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist, bezüglich der Lagerungsstabilität für das Gerät ADVIA 120 ersichtlich, dass sich die im Basophilen-/Lobularitätskanal (WBC) und im Peroxidasekanal (WBC-P) durchgeführten Zählungen der Leukozyten nur geringfügig voneinander unterscheiden.

Die lebensfähige Fraktion der Leukozyten (WVF), die von CD-Sapphire ermittelt wird, sinkt nach 24 Stunden gegenüber dem Ausgangswert um mehr als 20 % ab. Dies ist konsistent mit der Publikation von Hedberg und Letho, in der eine kontinuierliche, starke Abnahme von WVF innerhalb von 72 Stunden beschrieben wird. Demgegenüber kann durch die Lagerung der Proben bei 4 °C eine signifikante Stabilisierung der lebensfähigen Fraktion der weißen Blutzellen erzielt werden (39).

Bei den Leukozytensubpopulationen differieren die absoluten und prozentualen Werte nur wenig voneinander. Die Konzentration der neutrophilen Granulozyten ist lagerungsstabil. Die Geräte der Firma Sysmex weisen nach 24 Stunden im Durchschnitt geringfügig höhere Messwerte als ADVIA 120 und CD-Sapphire auf. Die Anzahl der Lymphozyten nimmt nach einem Tag unwesentlich ab. Es ist anzumerken, dass für diesen Parameter die durchschnittliche Abweichung von minus 4 % für ADVIA 120 etwas größer ist als für die drei anderen Analysensysteme. In Bezug auf die Parameter #MONO, #EOS und #BASO unterscheiden sich die Analysensysteme signifikant voneinander. ADVIA 120 sowie CD-Sapphire verzeichnen nach 24 Stunden eine mittlere Zunahme der Monozyten um circa 11 % respektive 4 %. Im Gegensatz dazu liegen die Messwerte für #MONO bei XE-2100 und XT-2000i etwa 8 % unter dem Ausgangsniveau. Die Eosinophilenkonzentration nimmt drastisch ab, wenn sie von ADVIA 120 oder CD-Sapphire ermittelt wird (- 15,3 % bzw. - 33,1 %). Die Werte von #BASO sind bei ADVIA 120 im Vergleich zur ersten Messung durchschnittlich 8,2 % höher und bei CD-Sapphire etwa 5 % niedriger. Die Analysensysteme der Firma Sysmex hingegen messen nach einem Tag für #EOS und #BASO konstante Werte. Die Zellpopulation der großen ungefärbten Zellen (LUC), die nur von ADVIA 120 bestimmt wird, wird durch eine eintägige Aufbewahrung des Probenmaterials bei Raumtemperatur nicht beeinflusst.

Die beobachteten Veränderungen der Leukozytensubpopulationen in gealterten Blutproben sind vermutlich einerseits das Resultat der Zelldegeneration und andererseits durch den damit verbundenen Verlust der speziellen Zellcharakteristika bedingt, die von den Analysengeräten zur Leukozytendifferenzierung herangezogen werden. Die Folge davon ist, dass nicht mehr alle Leukozyten den richtigen Subpopulationen zugeordnet werden können (20). Dabei ist die Stabilität der Leukozytenparameter vom verwendeten Analysensystem und dessen Messmethoden abhängig.

Die Publikationen von de Baca et al. (20) und Hill et al. (47), die Stabilitätsmessungen mit XE-2100 bzw. XT-2000i durchgeführt haben, zeigen für die Leukozytendifferenzierung nach einer Lagerungszeit von 24 Stunden ähnliche Ergebnisse, wie sie oben bereits dargelegt wurden. Sie beschreiben bei stabilen #EOS und #BASO einen leichten Anstieg von #NEUT, einen minimalen Abfall von #LYM sowie eine progrediente Abnahme von #MONO während der dreitägigen Studiendauer.

Die in dieser Arbeit, bezüglich der Lagerungsstabilität, ermittelten Ergebnisse für die Geräte XE-2100 und ADVIA 120 stimmen größtenteils mit den Untersuchungen von Imeri et al. (57) überein, wobei für #BASO und #LUC keine Daten vorhanden sind. Für XE-2100 zeigt sich, dass die 72-stündige Lagerung der Blutproben bei Raumtemperatur eine leichte Zunahme von #NEUT bewirkt. Im Gegensatz dazu nimmt #NEUT bei ADVIA 120 geringfügig ab. Die Anzahl der Lymphozyten zeigt für die zwei Geräte eine deutliche, kontinuierliche Abnahme. In Bezug auf #MONO verhalten sich die Hämatologiegeräte konträr. XE-2100 weist für #MONO nach 24 Stunden im Mittel 8 % niedrigere Messwerte auf, wobei die Abweichungen im Verlauf signifikant zunehmen. Bei ADVIA 120 hingegen liegen die Messergebnisse nach einem Tag durchschnittlich 37 % über den Ausgangswerten und nach 72 Stunden etwa 31 % darüber. Die Konzentration der eosinophilen Granulozyten liegt während der Studiendauer bei beiden Analysensystemen unter dem Ausgangsniveau.

Eine Stabilitätsstudie, die mit dem Gerät ADVIA 120 an 24 Stunden alten und bei 4 °C aufbewahrten Blutproben durchgeführt wurde, demonstriert, dass die Neutrophilen, die Lymphozyten und LUC relativ konstante Werte aufweisen. Im Vergleich zu dieser Dissertation liegen die Monozyten nur 4,6 % höher als bei der ersten Messung und die Eosinophilen nehmen im Schnitt nur um 6,1 % ab. Die Basophilen weisen mit knapp 12 % eine größere Zunahme auf (67).

Hedberg und Letho konnten in ihrer Studie für CD-Sapphire aufzeigen, dass #NEUT bis zu 72 Stunden konstante Werte aufweist. Nach 24 Stunden werden für #LYM, #MONO und #BASO rund 9 % niedrigere Messergebnisse verzeichnet. Diese Beobachtungen stimmen nicht mit denen aus dieser Dissertation überein. Hier konnten für #LYM nach 24 Stunden nahezu unveränderte Messwerte nachgewiesen werden, für #MONO wurde eine mäßige Zunahme von 4 % gefunden und für #BASO konnte mit minus 5,4% eine etwas geringere Abnahme eruiert werden. Bezüglich #EOS registrierten die Autoren Hedberg und Letho nach einer eintägigen Lagerungszeit einen drastischen Rückgang um 79 %, der im Vergleich zu dieser Arbeit mehr als doppelt so hoch ist. Die Verringerung von #EOS, die im Verlauf von drei Tagen noch stärker zunimmt, kann durch eine Lagerung des Probenmaterials bei 4 °C signifikant reduziert werden (39).

Aus Untersuchungen, die am Coulter Gen. S vorgenommen wurden, geht hervor, dass die Parameter #NEUT, #EOS und #BASO durch eine 24-stündige Aufbewahrung des

Probenmaterials kaum beeinflusst werden. Die Messwerte von #LYM liegen 12,6 % über dem Ausgangsniveau und von #MONO circa 20 % darunter. Im Verlauf der sieben Tage dauernden Studie zeigte sich, dass #NEUT, #LYM und #EOS tendenziell zunehmen und im Gegensatz dazu #MONO mit fortdauernder Lagerung immer weiter abnimmt, d. h. unter dem Ausgangsniveau liegt. #BASO bleibt hingegen stabil (36).

Hill et al. haben zusätzlich das maschinelle und manuelle Differenzialblutbild miteinander verglichen. Die Unterschiede zwischen der automatisierten und der manuellen Leukozytendifferenzierung waren für circa vier Stunden alte Blutproben nicht klinisch signifikant. Es konnte aber gezeigt werden, dass sich aus Untersuchungsmaterial, das bereits einen Tag oder älter war, kein brauchbares manuelles Differenzialblutbild mehr erstellen lässt. Das bedeutet, dass aus gealterten Proben keine Blutausrichungen für die Evaluierung von abnormen Ergebnissen des maschinell angefertigten Blutbilds oder der automatisierten Leukozytendifferenzierung sowie gerätegenerierter Warnmeldungen angefertigt werden können (47).

4.2.5 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die 24-stündige Lagerung von EDTA-Vollblutproben bei Raumtemperatur einige Parameter des kleinen Blutbildes, der Leukozytendifferenzierung und der Retikulozytenanalytik beeinflusst. Somit ist eine zuverlässige klinische Interpretation der Ergebnisse nicht mehr für alle Messgrößen möglich, was besonders relevant ist, je näher sich die gemessenen Werte an der oberen bzw. unteren Grenze des Referenzbereichs befinden. Daher sollte das Probenmaterial nach der Blutentnahme schnellstmöglich analysiert werden. Nach Bewertung der Literatur, ist die Aufbewahrung der Proben bei 4 °C zu bevorzugen, sofern deren Analyse erst mit einer Verzögerung von vielen Stunden durchgeführt werden kann. Die Parameter, bei denen eine zeitverzögerte Untersuchung zu unzuverlässigen Ergebnissen führt, sollten nicht im Patientenbefund erscheinen, sondern durch einen Kommentar ersetzt werden. Wenn ein solches Untersuchungsergebnis dennoch mit dem Patientenbefund herausgegeben wird, dann sollte darauf hingewiesen werden, dass dieses nur mit Einschränkungen zu verwenden ist. Um fragliche sowie pathologische Ergebnisse der maschinellen Blutanalyse oder gerätegenerierte Warnmeldungen zuverlässig mittels mikroskopischer Untersuchung evaluieren zu können, sollte unmittelbar nach der Blutabnahme ein Ausstrich angefertigt und mit an das Labor gesendet werden, sofern eine Blutprobe nicht innerhalb kurzer Zeit analysiert werden kann. Die Stabilität hämatologischer Parameter ist neben der Lagerungstemperatur und -zeit auch von den Messmethoden der eingesetzten Analysensysteme abhängig.

Eine Einschränkung dieser Dissertation ist, dass nur Blutproben von gesunden Probanden ausgewertet wurden sodass das Ausmaß der veränderten Ergebnisse aufgrund der Lagerung letztlich nicht auf pathologisches Untersuchungsmaterial übertragen werden kann.

4.3 Präzision

Die Präzision bezeichnet das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen den unter festgesetzten Bedingungen erhaltenen unabhängigen Messergebnissen. Ihr quantitatives Maß ist die Unpräzision, welche mit der zufälligen Messabweichung korrespondiert. Die Unpräzision wird anhand der Abweichung des Messergebnisses vom Mittelwert geschätzt. Beim Vorliegen mehrerer Messresultate dient deren Standardabweichung oder deren relative Standardabweichung (Variationskoeffizient) der Beurteilung der Präzision der Messung. Bei der Präzision in Serie bzw. der Wiederholpräzision bezieht sich die Wiederholbarkeit im Wesentlichen auf unveränderte Bedingungen, d. h., die Messungen werden am gleichen Tag bei unveränderter Kalibrierung auf demselben Analysengerät mit denselben Reagenzien von derselben Person durchgeführt. Die Präzision von Analyseserie zu Analyseserie spiegelt die Variation eines oder mehrerer der Faktoren wider, die gewöhnlich innerhalb eines Laboratoriums auftreten. Diese können die Zeit, die Kalibrierung, die Reagenzien, der Untersucher oder das Messgerät sein (14; 84 S. 13). In der Regel führt die Präzision in der Serie zu besseren Ergebnissen, als die Präzision von Serie zu Serie. Darüber hinaus ist der Wert des Variationskoeffizienten neben der Messgröße vom Messniveau abhängig. Im Vergleich zum hohen und mittleren Messbereich zeigt sich für den niedrigen Bereich im Allgemeinen eine höhere Unpräzision (84 S. 13).

4.3.1 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Erythrozytenparameter

Die vier verwendeten Hämatologie-Analysensysteme zeigen in Bezug auf die Wiederholpräzision für sämtliche Messgrößen der Erythrozytenanalytik eine hervorragende Präzision ($VK \leq 1,5 \%$). Lediglich die von XT-2000i optisch bestimmte Konzentration der Erythrozyten weist mit 2,3 % eine etwas höhere Unpräzision auf. Die Resultate der Präzision von Serie zu Serie sind für alle Messgeräte im hohen, mittleren und tiefen Messbereich sehr gut. Der höchste ermittelte Variationskoeffizient für ADVIA 120 ist 3,3 % (MCHC), für CD-Sapphire 2,8 % (MCHC), für XT-2000i 1,6 % (MCHC) und für XE-2100 1,3 % (RBC-O & RDW-SD). Für die Erythrozytenparameter werden für die Präzision in Serie im Vergleich zur Präzision über verschiedene Serien hinweg im Allgemeinen bessere Ergebnisse erzielt.

Bezüglich der Wiederholpräzision der Erythrozytenparameter liegen XE-2100 und XT-2000i sowie CD-Sapphire unter den Angaben der Hersteller (127 Kap. 4; 129 Kap. 14; 128 Kap.

14). Der Vergleich der Ergebnisse der Reproduzierbarkeit von Messungen im Benutzerhandbuch von ADVIA 120 mit den eigenen Untersuchungen zeigt, dass die Resultate der vorliegenden Arbeit von HGB und MCV geringfügig über den Herstellerangaben liegen (126).

In Übereinstimmung mit dieser Arbeit wurden in mehreren Geräte-Evaluationsstudien für die Präzision in Serie für die Erythrozytenparameter am ADVIA 120, CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 ebenfalls exzellente Ergebnisse erzielt (VK < 1,5 %) (10; 28; 33; 58; 64; 73; 121; 122).

Bezüglich der Präzision über verschiedene Serien hinweg veröffentlichten Walters et al. für das Analysensystem XE-2100 für die Messgrößen RBC, HGB und HCT im mittleren und hohen Messbereich ähnliche Resultate. Im tiefen Bereich liefern die eigenen Untersuchungen jedoch bessere VK-Werte (122). Für das Analysensystem XT-2000i wurden, im Hinblick auf die Präzision von Serie zu Serie, von Fernandes und Hamaguchi Daten publiziert, die größtenteils mit den Ergebnissen dieser Dissertation korrespondieren (28).

4.2.3 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Thrombozytenparameter

Die eigenen Untersuchungen erbringen für die vier eingesetzten Hämatologie-Analysensysteme im Hinblick auf die Thrombozytenparameter gute bis sehr gute Resultate für die Präzision in Serie. Die Ergebnisse liegen für ADVIA 120 zwischen 2,0 % (MPV) und 4,5 % (PDW), für CD-Sapphire zwischen 1,2 % (MPV) und 3,9 % (PDW), für XT-2000i zwischen 1,4 % (MPV) und 3,9 % (PLT-O) und für XE-2100 zwischen 1,6 % (PLT) und 3,3 % (PLCR). Die Wiederholpräzision ist im Vergleich zum tiefen Messbereich der Präzision von Serie zu Serie bei allen Geräten generell besser. Konträr verhält es sich für den hohen Konzentrationsbereich der Präzision über verschiedene Serien hinweg, für welchen, im Gegensatz zur Präzision in Serie, in der Mehrzahl der Fälle niedrigere Variationskoeffizienten ermittelt werden konnten.

In Bezug auf die Präzision von Serie zu Serie kann festgehalten werden, dass bei allen Analysengeräten für jede Messgröße der Thrombozytenanalytik die Unpräzision im tiefen Messbereich sichtlich höher ist als im mittleren und hohen Bereich. Der ADVIA 120 weist in allen drei Messleveln insgesamt eine gute bis sehr gute Wiederholbarkeit der Messungen mit VKs zwischen 5,5 % (PLT-O) und 1,8 % (MPV) auf. Bei CD-Sapphire bewegen sich die Variationskoeffizienten in den unterschiedlichen Konzentrationen der Kontrollblutproben zwischen 11,9 % (PCT) bzw. 11,0 % (PLT-O) und 1,2 % (MPV). Für XT-2000i kann mit VKs zwischen 9,5 % (PLT-O) und 0,8 % (MPV) eine zumeist gute bis sehr gute Präzision nachgewiesen werden. Ebenfalls erzielt das Analysensystem XE-2100 in den

unterschiedlichen Messbereichen für die Thrombozytenparameter über verschiedene Serien hinweg überwiegend gute bis sehr gute Resultate mit VKs zwischen 8,1 % (PLCR) und 0,5 % (MPV). Beim Vergleich der Ergebnisse der Präzision von Serie zu Serie von PLT mit denen von PLT-O manifestiert sich für CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100, dass die Impedanzmethode der optischen Methode überlegen ist.

Die Geräte ADVIA 120, CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 überschreiten die für die Präzision in Serie in den Benutzerhandbüchern angeführten Variationskoeffizienten nicht (126; 127 Kap. 4; 128 Kap. 14; 129 Kap. 14).

Für die Wiederholpräzision der Messgrößen der Thrombozytenanalyse zeigen sich bei der Nebeneinanderstellung der eigenen Ergebnisse und denen der Literatur im Großen und Ganzen relativ ähnliche Resultate für ADVIA 120, CD-Sapphire, XT-2000i und XE-2100 (10; 28; 31; 33; 58; 64; 73; 121; 122).

In Konsens mit den eigenen Untersuchungen geben Walters et al. - im Hinblick auf die Präzision von Serie zu Serie - für die von XE-2100 mittels Impedanzmethode bestimmte Thrombozytenkonzentration für die drei Messbereiche sehr gute VK-Werte an ($VK \leq 2,2\%$) (122). Im Vergleich zu den eigenen Messdaten können Giacomini et al. für ADVIA 120 für PLT-O und MPV sowohl im tiefen als auch im mittleren Messniveau etwas bessere Ergebnisse vorweisen (31). Für das Gerät XT-2000i können Fernandes und Hamaguchi in Übereinstimmung mit dieser Arbeit für PLT im hohen und mittleren Konzentrationsbereich eine bessere Präzision aufzeigen als für PLT-O. Für das tiefe Messlevel verhalten sich die von den beiden Autoren angegeben Daten konträr zu den eigenen (VK für PLT = 6,0 % und für PLT-O = 4,9 % vs. VK für PLT = 3,9 % und für PLT-O = 9,5 %, eigene Resultate) (28).

4.3.3 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Retikulozytenparameter

Für die vier in der Studie eingesetzten Analysengeräte kann im Hinblick auf die Präzision in Serie für die Retikulozytenzählung nur eine mäßige Wiederholbarkeit verzeichnet werden. Da die Ergebnisse der absoluten Retikulozytenzahl (#RET) und des prozentualen Retikulozytenanteils (%RET) fast identisch sind, werden im Folgenden nur die von #RET angeführt. Für ADVIA 120 wurde ein VK von 10,9 % berechnet, für CD-Sapphire ein VK von 6,1 %, für XT-2000i ein VK von 11,4 % und für XE-2100 ein VK von 7,4 %. Erhebliche Unterschiede sind bei der Wiederholpräzision für die Reifungsindizes zu erkennen. Während die Reproduzierbarkeit von L-RTC bzw. LFR sehr gut ist ($VK \leq 2,4\%$), kann erwartungsgemäß den Parametern M-RTC bzw. MFR ($VK \leq 32,8\%$) und H-RTC bzw. HFR (VKs zwischen 92 % und 122,1 %) nur eine ungenügende Präzision attestiert werden. Ebenso ist die von CD-Sapphire bestimmte Fraktion der unreifen Retikulozyten (IRF) in Serie

nur mittelmäßig wiederholbar (VK = 11,7 %). Bei 21-facher Messung einer Blutprobe werden für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten von ADVIA 120 (CHr) und XE-2100 (Ret-He) hervorragende Resultate erzielt (VK = 1,1 % bzw. VK = 1,8 %).

Was die Präzision der Messgrößen der Retikulozytenanalytik über verschiedene Serien hinweg anbelangt, kann für alle Geräte gesagt werden, dass die Messungen im hohen und mittleren Messbereich generell etwas präziser sind als im tiefen Bereich. ADVIA 120 weist insgesamt eine mäßige bis sehr gute Wiederholbarkeit der Messungen mit VKs zwischen 11,2 % (%RET) und 2,3 % (CHr) auf. Für CD-Sapphire kann mit VKs zwischen 4,5 % (#RET & IRF) und 2,3 % (%RET) eine gute bis sehr gute Präzision nachgewiesen werden. Bei XT-2000i bewegen sich die Variationskoeffizienten in den unterschiedlichen Konzentrationen der Kontrollblutproben zwischen 18,0 % (HFR) und 3,4 % (LFR). XE-2100 erzielt von Serie zu Serie in allen Messleveln schlechte bis sehr gute Resultate mit VKs zwischen 21,5 % (HFR) und 1,0 % (Ret-He). Was die von den beiden Analysengeräten der Firma Sysmex ermittelten Reifungsindizes anbelangt, kann festgehalten werden, dass die Messungen von LFR wie erwartet wesentlich besser reproduzierbar sind als HFR. Die eigenen Untersuchungen zeigen für die von den vier Analysesystemen bestimmten Retikulozytenparameter, dass im Allgemeinen die Wiederholpräzision der Präzision über verschiedene Serien hinweg sichtlich unterlegen ist.

Der Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den in den Benutzerhandbüchern gemachten Angaben bezüglich der Reproduzierbarkeit der Retikulozytenzählung ergibt, dass diese von allen vier Geräten eingehalten werden (126; 127 Kap. 4). Die Herstellerangaben der für XT-2000i und XE-2100 ermittelten Reifungsindizes werden nicht überschritten - mit Ausnahme der von XT-2000i bestimmten HFR (128 Kap. 14; 129 Kap. 14).

In der Literatur wird bezüglich der Wiederholpräzision der Retikulozytenzählung für XT-2000i ein VK von 6,3 % (64) bzw. 8,6 % (28) angegeben. Für das Gerät XE-2100 werden im Vergleich zur eigenen Untersuchung für #RET sehr ähnliche VK-Werte gefunden (33; 58). Müller et al. ermittelten mit CD-Sapphire für #RET einen VK von 4%, für %RET einen VK von 6,3 % und für IRF einen VK von 5,6 %, welcher deutlich unter dem eigenen Wert von 11,7 % liegt (73). In Übereinstimmung mit dieser Arbeit werden für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten in Serie und von Serie zu Serie für ADVIA 120 und XE-2100 ebenfalls sehr gute bzw. gute Präzisionsdaten angegeben (13; 117). Fernandes und Hamaguchi publizieren für XT-2000i im Hinblick auf die Präzision über verschiedene Serien hinweg für #RET in den drei Messbereichen mäßige Ergebnisse mit VKs zwischen 6,4 % und 9,6 %, welche etwas höher als die eigenen VK-Werte sind (28).

4.3.4 Wiederholpräzision und Präzision von Serie zu Serie der Leukozytenparameter

Im Folgenden wird, was die Leukozytendifferenzierung betrifft, nur auf die Ergebnisse der absoluten Zählung eingegangen. Eine Ausnahme ist die Präzision von Serie zu Serie des ADVIA 120, weil hier nur die Variationskoeffizienten für den relativen Anteil der einzelnen Subpopulationen vorliegen. Die vier verwendeten Analysengeräte zeichnen sich, die Messwerte von WBC betreffend, durch eine sehr gute Wiederholpräzision aus ($VK \leq 2,8 \%$). Bei der Leukozytendifferenzierung zeigt sich für die unterschiedlichen Subpopulationen Folgendes: Je geringer ihr Anteil an der Gesamtleukozytenzahl ist, desto größer wird die Unpräzision der aufeinanderfolgenden Messungen. So sind #NEUT und #LYM mit Variationskoeffizienten, die sich zwischen 1,6 % und 5,0 % bewegen, gut bis sehr gut reproduzierbar. Die Resultate für #MONO und #EOS sind nur mäßig (VKs zwischen 6,4 % und 13,7 %) und die für #BASO ungenügend (VKs zwischen 19,7 % und 27,2 %). Die von ADVIA 120 bestimmte Messgröße LUC zeigt mit einem VK von 17,4 % ebenfalls eine schlechte Wiederholbarkeit. Die von CD-Sapphire quantifizierte Fraktion lebensfähiger Leukozyten erreicht eine hervorragende Präzision bei 21-facher Messung einer Blutprobe ($VK = 0,6 \%$).

Für die Präzision von Serie zu Serie der Leukozytenparameter lässt sich für alle Geräte zusammenfassen, dass im Allgemeinen mit den Kontrollblutproben mit hohen Zellzahlen bessere Ergebnisse erreicht werden, als mit den Kontrollmaterialien, bei denen die Gesamtleukozytenzahl niedrig ist. Die vier Analysensysteme weisen in den drei Messbereichen für die Messgrößen WBC, neutrophile Granulozyten und Lymphozyten eine überwiegend gute bis sehr gute Präzision auf. Die Variationskoeffizienten liegen zwischen 1,0 % und 7,0 %. Die Wiederholbarkeit der Messwerte der Monozyten und eosinophilen Granulozyten und den LUC ist in der Mehrzahl der Fälle mäßig (VKs zwischen 5,7 % und 13,5 %). Der von ADVIA 120 bestimmte Parameter %EOS (tiefes Messlevel) und die von CD-Sapphire ermittelte #MONO und #EOS (jeweils tiefes Messniveau) liegen mit VK-Werten von 16,7 % bzw. 22,5 % und 17,8 % noch etwas höher. Mit dem Kontrollblut von ADVIA 120 und CD-Sapphire werden für die basophilen Granulozyten über verschiedene Serien hinweg nur schlechte Ergebnisse erzielt (ADVIA 120: $VK > 23,5 \%$ und CD-Sapphire: $VK > 41,5 \%$). Aufgrund der besonderen Zusammensetzung der Kontrollproben, welche für die interne Qualitätskontrolle der Messungen des XT-2000i und XE-2100 eingesetzt werden, ist für die beiden Geräte die Zählung der Basophilen in allen drei Messleveln sehr präzise (VKs zwischen 1,2 % und 3,6 %).

In Bezug auf die Wiederholpräzision der Leukozytenanalytik liegen die Resultate von allen Hämatologiegeräten unter den Angaben der Hersteller (126; 127 Kap. 4; 128 Kap. 14; 129 Kap. 14).

In der Literatur ist für die Wiederholpräzision und die Präzision von Serie zu Serie bezüglich der Gesamtleukozytenzahl und der Leukozytendifferenzierung für die Analysensysteme XT-2000i und XE-2100 im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen in der Mehrzahl der Fälle eine ähnliche oder höhere Präzision zu finden (28; 33; 58; 64; 102; 122). Müller et al. (73) erzielten mit CD-Sapphire für 31 aufeinanderfolgende Messungen einer Blutprobe für WBC, #NEUT und #LYM Variationskoeffizienten unter 3,5 %, welche somit etwas niedriger sind, als in der vorliegenden Arbeit. Bezüglich der Präzision in Serie des ADVIA 120 wurden für WBC ebenfalls sehr gute Ergebnisse veröffentlicht ($VK \leq 1,9 \%$) (10; 121).

5. Zusammenfassung

Die Bestimmung des maschinellen Blutbildes ist eines der am häufigsten durchgeführten Analysenverfahren in medizinischen Laboratorien. Die Interpretation der Laborergebnisse erfolgt gewöhnlich durch den Vergleich mit adäquaten Referenzbereichen. Jedoch sind in der Verlaufsbeobachtung patienteneigene Vorwerte diagnostisch aussagekräftiger. Die Durchführung einer Referenzwertstudie ist mit einem hohen Arbeits- und Kostenaufwand verbunden was bedeutet, dass bei der Einführung eines neuen Analysengeräts oder einer neuen Messmethode die Ermittlung laboreigener Referenzbereiche nicht immer realisierbar ist. Deshalb basieren die in Laboratorien verwendeten Referenzbereiche oftmals auf älteren Studierenerhebungen, bei welchen die Messungen an Analysengeräten vorgenommen wurden, deren Technologien nicht mehr den heutigen Standards entsprechen; oder das analysierte Probenmaterial für die Referenzwertstudie stammte teilweise von ambulanten Patienten ohne sorgfältig geprüften Gesundheitsstatus. Immer wieder werden aber auch Referenzbereiche ohne gründliche Validierung aus externen Quellen transferiert.

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Etablierung von Referenzbereichen für die Parameter des großen Blutbildes und der Retikulozyten gesunder Erwachsener unter Berücksichtigung von Geschlecht und Analysengerät. Die Messungen wurden mit vier automatisierten Multiparameter-Hämatologie-Analysensystemen durchgeführt, die den derzeitigen Gerätestandards entsprechen: Siemens ADVIA 120, Abbott CELL-DYN Sapphire, Sysmex XE-2100 und Sysmex XT-2000i. In die Auswertung wurden die Analyseergebnisse von 422 Blutproben einbezogen, welche von 203 Männern und 219 Frauen im Alter zwischen 18 und 75 Jahren stammten. Die Resultate dieser Dissertation stellen einen Teil einer deutschlandweiten Multicenterstudie zur Ermittlung von Referenzbereichen für die Parameter des maschinellen Blutbildes dar und beschränken sich auf die Messungen im Studienzentrum des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München.

In dieser Studie konnte für die Erythrozytenzahl, die Hämoglobinkonzentration, den Hämatokrit, die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration, die absolute Retikulozytenzahl, den retikulozytären Hämoglobingehalt, die Thrombozyten und den Plättchenkrit eine Abhängigkeit vom Geschlecht gezeigt werden. Mit Ausnahme der Thrombozyten wiesen die Männer hierbei gemeinhin höhere Werte auf als die Frauen. Da bezüglich der mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration und des Hämoglobingehalts der Retikulozyten zwischen den Referenzbereichen der Männer und Frauen jedoch kein wesentlicher Unterschied besteht, kann dessen klinische Relevanz infrage gestellt werden. Der Vergleich der Messwerte, welche mit den vier hier eingesetzten Analysensystemen ermittelt wurden, führte für alle Parameter bis auf den mittleren zellulären Hämoglobingehalt zu dem Ergebnis, dass

zwischen einigen Gerätekombinationen statistisch signifikante Messabweichungen existieren. Um die korrekte Interpretation der Laborergebnisse eines Patienten zu gewährleisten, müssen unter anderem für das mittlere Volumen und die Verteilungsbreite der Erythrozyten, die Thrombozytenindizes, den Plättchenkrit, die absolute und relative Retikulozytenzahl sowie für die retikulozytären Reifungsindizes und die Leukozytensubpopulationen geräte- bzw. methodenspezifische Referenzbereiche verwendet werden. Für die Erythrozyten- und die Hämoglobinkonzentration, den Hämatokrit, die mittlere zelluläre Erythrozytenkonzentration, den retikulozytären Hämoglobingehalt, die Thrombozyten sowie für die Gesamtleukozytenzahl ergab sich zwar auch ein statistisch signifikanter Messunterschied zwischen den Geräten, dessen Bedeutung dürfte aber in der Praxis eher eine untergeordnete Rolle spielen.

Als Nebenziel dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die 24-stündige Aufbewahrung von EDTA-Vollblutproben bei Raumtemperatur Effekte auf die Stabilität einiger hämatologischer Messgrößen hat. Somit ist die zuverlässige klinische Interpretation bei zeitlich verzögerter Analyse nicht mehr für alle Blutbildparameter gewährleistet. Daher sollte das Probenmaterial nach der Blutentnahme schnellstmöglich untersucht werden. Falls die maschinelle Erstellung des Blutbildes erst nach einigen Stunden durchgeführt werden kann, ist nach Bewertung der Literatur die Aufbewahrung der Proben bei 4 °C zu bevorzugen und die Anfertigung eines Ausstrichpräparats für eine mögliche mikroskopische Nachuntersuchung unmittelbar nach der Probenentnahme vorzunehmen.

Die Erythrozytenzahl, das Hämoglobin und der mittlere zelluläre Hämoglobingehalt bleiben konstant. Es zeigt sich aber, dass nach einem Tag die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration abnimmt und die Messwerte des mittleren Erythrozytenvolumens, des Hämatokrits und der Erythrozytenverteilungsbreite über dem Ausgangsniveau liegen. Im Vergleich zur unveränderten mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration sinkt die Zahl der optisch bestimmten Thrombozyten, wobei zwischen den vier Analysensystemen deutliche Differenzen zu verzeichnen sind. Die Stabilität des mittleren Plättchenvolumens, der Verteilungsbreite der Thrombozyten und des Plättchenkrits variiert ebenfalls in Abhängigkeit vom Analysengerät. Die absolute und relative Retikulozytenzahl weist bei allen in der Studie eingesetzten Geräten eine klinisch relevante Abnahme auf. Die Fraktion der halbreifen und unreifen Retikulozyten wird nach 24-stündiger ungekühlter Lagerung der Blutproben deutlich größer. Im Gegensatz dazu weist der Anteil der reifen Retikulozyten ebenso wie der retikulozytäre Hämoglobingehalt keine nennenswerte Veränderung auf. Die Gesamtleukozytenzahl bleibt unverändert, für die einzelnen Subpopulationen konnte in dieser Studie jedoch demonstriert werden, dass deren Stabilität eindeutig vom eingesetzten Gerät und seinen Messtechnologien abhängig ist.

Literaturverzeichnis

- 1.) Akingbola, T. S., Adewole, I. F., Adesina, O. A., Afolabi, K. A., Fehintola, F. A., Bamgboye, E. A., Aken`Ova, Y. A., Shokunbi, W. A., Anwo, J. A., Nwegbu, M. M. Haematological profile of healthy pregnant women in Ibadan, South-western Nigeria. J Obstet Gynaecol 2006;26(8):763-9
- 2.) Bain, B. Ethnic and sex differences in the total and differential white cell count and platelet count. J Clin Pathol 1996;49(8):664-6
- 3.) Bain, B., Huhn, D. Nachweis fehlerhafter Parameter im Blutbild. In "Roche Grundkurs hämatologische Morphologie", Bain, B., Huhn, D. (Hrsg.) unter Mitarbeit von Kage, A.; EX LIBRIS <Roche> Band 7. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 1997, 131-47
- 4.) Bain, B., Huhn, D. Referenzbereiche. In "Roche Grundkurs hämatologische Morphologie", Bain, B., Huhn, D. (Hrsg.) unter Mitarbeit von Kage, A.; EX LIBRIS <Roche> Band 7. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 1997, 148-61
- 5.) Bain B., Seed, M., Godsland, I. Normal values for peripheral blood white cell counts in women of four different ethnic origins. J Clin Pathol 1984;37(2):188-93
- 6.) Banfi, G., Mauri, C., Morelli, B., Di Getano, N., Malgeri, U., Melegati, G. Reticulocyte count, mean reticulocyte volume, immature reticulocyte fraction, and mean spheroid cell volume in elite athletes: reference value and comparison with the general population. Clin Chem Lab Med 2006;44(4):616-22
- 7.) Bargetzi, M. Ist die mikroskopische Differenzierung des Blutbildes dank der neuen Analyseautomaten im Hämatologielabor obsolet?. Praxis 2003;92(45):1907-8
- 8.) Barnes, P.W., McFadden, S.L., Machin, S.J., Simson, E. The International Consensus Group for Hematology Review: Suggested criteria for action. Following automated CBC and WBC differential analysis. Lab Hematol 2005;11(2):83-90
- 9.) Boroviczény, K.G. Beiträge zur Geschichte der hämatologischen Laboratoriumsdiagnostik. Ärztl. Lab. 1967;13:493-500
- 10.) Bourner, G., Dhaliwal, J., Sumner, J. Performance evaluation of the latest fully automated hematology analyzers in a large, commercial laboratory setting: a 4-way, side-by-side study. Lab Hematol 2005;11(4):1-13

- 11.) Briggs, C., Harrison, P., Machin, S. J.
Continuing developments with the automated platelet count.
Int Jnl Lab Hematol 2007;29(2):77-91
- 12.) Bruchelt, G., Gerber, C. E.
Referenzwerte.
In "Pädiatrie", Speer, C. P., Gahr, M. (Hrsg.)
Springer Verlag, Heidelberg, 2005, 2. Auflage, 1250-1275
- 13.) Brugnara C., Schiller, B., Moran, J.
Reticulocyte, hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states.
Clin Lab Haematol 2006;28(5):303-8
- 14.) Bundesärztekammer
Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer
laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (RiliBÄK) – Beschluss des Vorstandes der
Bundesärztekammer vom 24. August 2001.
Dtsch Ärztebl 2001;98(42):A2747-59
- 15.) Buttarello, M.
Quality specification in hematology: the automated blood cell count.
Clin Chim Acta 2004;346(1):45-54
- 16.) Buttarello, M., Plebani, M.
Automated blood cell counts: state of the art.
Am J Clin Pathol 2008;130(1):104-116
- 17.) Cheng, C. K., Chan, J., Cembrowski, G. S., van Assendelft, O. W.
Complete Blood Count Reference Interval Diagrams Derived from NHANES III: Stratification
by Age, Sex, and Race.
Lab Hematol 2004;10(1):42-53
- 18.) CLSI
Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved
guideline -Third Edition.
CLSI document C28-A2, Wayne, PA: CLSI, 2008
- 19.) Cohle, S. D., Saleem, A., Makkaoui, D. E.
Effects of storage of blood on stability of hematologic parameters.
Am J Clin Pathol 1981;76(1):67-9
- 20.) de Baca, M., Gulati, G., Kocher, W., Schwarting, R.
Effects of storage of blood at room temperature on hematologic parameters measured on
Sysmex XE-2100.
Lab Med 2006;37(1):28-36
- 21.) Deiss, A., Kurth, D.
Circulating reticulocytes in normal adults as determined by the new methylene blue method.
Am J Clin Pathol 1970;53(4):481-4
- 22.) DGHO (Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie)
Studienprotokoll: Bestimmung der Referenzwerte hämatologischer Parameter in der
Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland (2005).

- 23.) DIN EN ISO 15189:2007 Deutsche Fassung
Medizinische Laboratorien - Besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz.
- 24.) Direktive 98/79/CE
Richtlinie 98/79/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Oktober 1998
über In-vitro-Diagnostika.
- 25.) Dörner, K.
Hämatologie.
In: "Klinische Chemie und Hämatologie", Dörner, K. (Hrsg.)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006, 6. Auflage, 232-79
- 26.) Dybkaer, R., Gräsbeck, R.
Editorial: Theory of reference values.
Scand J Clin Lab Invest 1973;32(1):1-7
- 27.) Fairbanks, V. F., Tefferi, A.
Normal ranges for packed cell volume and hemoglobin concentration in adults: relevance to
"apparent polycythemia".
Eur J Haematol 2000;65(5):285-96
- 28.) Fernandes, B., Hamaguchi, Y.
Performance characteristics of the Sysmex XT-2000i hematology analyzer.
Lab Hematol 2003;9(4):189-97
- 29.) Franck, S., Linsen, J., Messinger, M., Thomas, L.
Potential utility of Ret-Y in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis.
Clin Chem 2004;50(7):1240-2
- 30.) Freedman, D. S., Gates, L., Flanders, D., van Assendelft, O. W., Barboriak, J. J.,
Joesoef, M. R., Byers, T.
Black/white differences in leucocyte subpopulations in men.
Int J Epidemiol 1997;26(4):757-64
- 31.) Giacomini, A., Legovini, P., Gessoni, G., Valverde, S., Salvadego, M., Manoni, F.
Evaluation of platelet analysis on the ADVIA 120 hematology system.
Lab Hematol 2001;7(4):180-5
- 32.) Giorno, R., Clifford, J. H., Beverly, S., Rossing, R. G.
Hematology reference values. Analysis by different statistical technics and variations with
age and sex.
Am J Clin Pathol 1980;74(6):765-70
- 33.) Gould, N., Connell, B., Dyer, K., Richmond, T.
Performance evaluation of the Sysmex XE-2100, automated hematology analyzer.
Sysmex J Int 2002;8(2):120-8
- 34.) Gräsbeck, R.
The evolution of reference value concept.
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):692-7
- 35.) Gräsbeck, R., Solberg H.E.
Can reference values be properly used?.
Clin Chem 1981;27(10):1795-6

- 36.) Gulati, G. L., Hyland, L. J., Kocher, W., Schwarting, R.
Changes in automated complete blood cell count and differential leucocyte count results induced by storage of blood at room temperature.
Arch Pathol Lab Med 2002;126(3):336-42
- 37.) Hallbach, J.
Hämatologie und Blutgruppenserologie.
In: "Klinische Chemie und Hämatologie für den Einstieg", Hallbach, J. (Hrsg.)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006, 2. Auflage, 394-454
- 38.) Harris, E. K., Boyd, J. C.
On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges.
Clin Chem 1990;36(2):265-70
- 39.) Hedberg, P., Letho, T.
Aging stability of complete blood count and white blood cell differential parameters analyzed by Abbott CELL-DYN Sapphire hematology analyzer.
Int Jnl Lab Hem 2009;31(1):87-96
- 40.) Heil, W., Koberstein, R., Zawata, B.
Referenzbereiche Hämatologie.
In "Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene. Präanalytik", Heil, W. (Hrsg.)
Roche Diagnostics, Mannheim, 2002, 7. Auflage, 78-87
- 41.) Heimpel, H., Diem, H., Nebe, T.
Die Bestimmung der Retikulozytenzahl: Eine alte Methode gewinnt neue Bedeutung.
Med Klin 2010;105(8):538-43
- 42.) Henny, J.
Interpretation of laboratory results: the reference intervals, a necessary evil?
Clin Chem Lab Med 2007;45(8):939-41
- 43.) Henny, J.
The IFCC recommendations for determining reference intervals: strengths and limitations.
J Lab Med 2009;33(2):45-51
- 44.) Henny, J., Petersen, H.
Reference values: from philosophy to a tool for laboratory medicine.
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):686-91
- 45.) Henny, J., Petitclerk, C., Fuentes-Arderiu, X., Petersen, P.H., Queralto, J.M., Schiele, F., Siest, G.
Need for revisiting the concept of reference values.
Clin Chem Lab Med. 2000;38(7):589-95
- 46.) Herklotz, R., Lüthi, U., Ottinger, C., Huber, A.R.
Referenzbereiche in der Hämatologie.
Ther Umsch 2006;63(1):5-24
- 47.) Hill V. L., Simpson V. Z., Higgins J. M., Zonghui H., Stevens R., Metcalf J. A., Baseler M.
Evaluation of the performance of the Sysmex XT-2000i hematology analyzer with whole blood specimens stored at room temperature.
Lab Med 2009;40(2):709-18

- 48.) Horn, P.S., Pesce, A. J.
Reference Intervals: A User's Guide.
AACC Press, Washington, DC, 2005
- 49.) ICSH
Recommendations of the International Council for Standardization in Haematology for ethylenediamine-tetraacetic acid anticoagulation of blood for blood cell counting and sizing.
Am J Clin Pathol 1993;100(4):371-2
- 50.) ICSH
Expert Panel on Cytometry. Recommendation of International Council for Standardization in Haematology on reporting differential leucocyte counts [letter].
Clin Lab Haematol 1995;17:113
- 51.) IFCC
Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values.
Clin Chim Acta 1987;170(2-3):S1-11
- 52.) IFCC
Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values.
Clin Chim Acta 1988;177(3):S3-11
- 53.) IFCC
IFCC Recommendation - the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer, and application of reference values.
Clin Chim Acta 1991;202(1-2):S5-11
- 54.) IFCC, ICSH
Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values.
Clin Chim Acta 1987;165(1):111-8
- 55.) IFCC, ICSH
Approved recommendation (1987) on the Theory of Reference Values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits.
Clin Chim Acta 1987;202(2-3):S13-32
- 56.) IFCC, ICSH
Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values.
Clin Chim Acta 1987;202(2-3):S33-41
- 57.) Imeri, F., Herklotz, R., Risch, L., Arbetsleitner, C., Zerlauth, M., Risch, G. M., Huber, A. R.
Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer ADVIA 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100.
Clin Chim Acta 2008;397(1-2):68-71
- 58.) Inoue, H.
Overview of automated hematology analyzer XE-2100.
Sysmex J Int 1999;9(1):58-64

- 59.) Kang, S.H., Kim, H. K., Ham, C. K, Lee, D. S. Cho, H. I.
Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness.
Int J Lab Hematol 2008;30(6):480-6
- 60.) Klee, G. G.
Clinical interpretation of reference intervals and reference limits. A plea for assay harmonization.
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):752-7
- 61.) Krempien, A. K.
Klinisch-chemische Verfahren.
In: "Innere Medizin", Berdel, W.E., Böhm, M., Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K., Schmiegel, W. (Hrsg.)
Urban & Fischer Verlag, München, 2004, 5. Auflage, 22-7
- 62.) Kujala, U. M.
Hemoglobin and packed-cell volume in endurance athletes prior to rhEPO.
Int J Sports Med 2000;21(3):228-30
- 63.) Kunicka, J. E., Fischer, G., Murphy, J., Zelmanovic, D.
Improved platelet counting using two-dimensional laser light scatter.
Am J Clin Pathol 2000;114(2):283-9
- 64.) Langford, K., Luchtman-Jones, L., Miller, R., Walck, D.
Performance evaluation of the Sysmex XT-2000i automated hematology analyzer.
Lab Hematol 2003;9(1):29-37
- 65.) Lehner, J., Greve, B., Cassens U.
Automation in hematology.
Transfus Med Hemother 2007;34(5):328-39
- 66.) Lim, E. M., Cembrowski, G., Clarke, G.
Race-specific WBC and neutrophil count reference intervals.
Int Jnl Lab Hem 2010;32(6 Pt 2):590-7
- 67.) Lippi, G., Salvagno, G. L., Solero, G. P., Franchin, i M., Guidi, G. C.
Stability of blood cell counts, hematologic parameters and reticulocytes indexes on the Advia A 120 hematologic analyzer.
J Lab Clin Med 2005;146(6):330-40
- 68.) Lumsden, J. H.
"Normal" or reference values: questions and comments.
Veterinary Clinical Pathology 1998;27(4):102-6
- 69.) Lurie, S., Rahamim, E., Piper, I., Golan, A., Sadan, O.
Total and differential leukocyte counts percentiles in normal pregnancy.
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2008;136(1):16-9
- 70.) Mahlberg, R., Gilles, A., Läsch, A.
Referenzwerte in der Hämatologie.
In: "Hämatologie - Theorie und Praxis für medizinische Assistenzberufe", Mahlberg, R., Gilles, A., Läsch, A. (Hrsg.)
Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2005, 2. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, 206-7

71.) Mahlberg, R., Gilles, A., Läsch, A.
Anhang.

In: "Hämatologie - Theorie und Praxis für medizinische Assistenzberufe", Mahlberg, R., Gilles, A., Läsch, A. (Hrsg.)
Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2005, 2. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, 269-85

72.) Milman, N., Bergholt, T., Byg, K. E., Eriksen, L., Hvas, A. M.
Reference intervals for haematological variables during normal pregnancy and postpartum in 434 healthy Danish women.
Eur J Haematol 2007;79(1):39-46

73.) Müller, R., Mellors, I., Johannessen, B., Aasand, A. K., Kiefer, P., Hardy, J., Kendal, I R., Scott, C. S.
European multi-center evaluation of the Abbott Cell-Dyn Sapphire hematology analyzer.
Lab Hematol 2006;12(1):15-31

74.) NCCLS
Additives to blood collection devices: EDTA. Tentative standard.
NCCLS document H35-T, Wayne, PA: NCCLS, 1992

75.) NCCLS
Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline - First edition.
NCCLS document EP9-A, Wayne, PA: NCCLS, 1995

76.) NCCLS
How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline - First Edition.
NCCLS document C28-A, Villanova, PA: NCCLS, 1995

77.) NCCLS
Methods for reticulocyte counting (flow cytometry and supravital dyes); Approved guideline - First edition.
NCCLS document H44-A, Wayne, PA: NCCLS, 1997

78.) NCCLS
How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; Approved guideline - Second Edition.
NCCLS document C28-A2, Wayne, PA: NCCLS, 2000

79.) Nebe, C. T., Baurmann, H., Kuling, G., Diem, H.
Automatisiertes Differentialblutbild: Gegenwärtiger Stand und Perspektiven.
J Lab Med 2008;32(6):406-17

80.) Nebe, T., Bentzien, F., Bruegel, M., Fiedler, G. M., Gutensohn, K., Heimpel, H., Krebs, N., Ossendorf, M., Schuff-Werner, P., Stamminger, G., Baum, H.
Multizentrische Ermittlung von Referenzbereichen für Parameter des maschinellen Blutbildes.
J Lab Med 2011;35(1):3-28

81.) Nebe, C. T., Diem, H., Heimpel, H.
Aktuelle Aspekte zur Bestimmung der Retikulozytenzahl.
J Lab Med 2010;34(6):295-304

- 82.) Nordin, G. Martensson, A., Swolin, B., Sandberg, S. Christensen, N. J., Thorsteinsson, V., Franzoson, L., Kairisto, V., Savolainen, E. R.
A multicentre study of reference intervals for hemoglobin, basic blood cell counts and erythrocyte indices in the adult population of the Nordic countries.
Scand J Clin Lab Invest 2004;64(4):385-98
- 83.) Petitclerc, C.
Normality: the unreachable star?
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):698-701
- 84.) Reinauer, H., Broers, H., Bruhn, H. D.
Datengewinnung und Qualitätssicherung: Qualitätssicherung quantitativer Analysen in medizinischen Laboratorien.
In: "Labormedizin: Indikation, Methodik und Laborwerte; Pathophysiologie und Klinik", Bruhn, H. D., Fölsch, U., Schäfer, H. (Hrsg.)
Schattauer Verlag, Stuttgart, 2008, 2. Auflage, 10-23
- 85.) Ritchie, R. F., Palomaki G.
Selecting clinically relevant populations for reference intervals.
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):702-9
- 86.) Röhle G., Siekmann L.
Qualitätssicherung quantitativer Bestimmungen.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 1872-81
- 87.) Ross, D. W., Ayscue, L. H., Watson, J., Bentley, S. A.
Stability of hematologic parameters in healthy subjects. Intraindividual versus interindividual variation.
Am J Clin Pathol 1988;90(3):262-7
- 88.) Rothe, G.
Blutbild.
In "Das Laborbuch für Klinik und Praxis", Guder, W., Nolte, J. (Hrsg.)
Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, 1. Auflage, 2005, 593-9
- 89.) Rothe, G.
Differenzialblutbild, mechanisierte Differenzierung von Leukozyten.
In "Das Laborbuch für Klinik und Praxis", Guder, W., Nolte, J. (Hrsg.)
Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, 1. Auflage, 2005, 659-62
- 90.) Ruby, C.
Das Differenzialblutbild. Manuelle und automatische Differenzierung (Teil 2).
MTA Dialog 2007;8(10):778-81
- 91.) Ruby, C.
Das Differenzialblutbild. Manuelle und automatische Differenzierung (Teil 3).
MTA Dialog 2007;8(11):842-4
- 92.) Ruocco, L., Del Corso, L., Romanelli, A. M., Deri, D., Pentimone, F.
New hematological indices in the healthy elderly.
Minerva Med 2001;92(2):69-73

- 93.) Saathoff, E., Schneider, P., Kleinfeldt, V., Geis, S., Haule D., Maboko, L., Samky, E. de Souza M., Robb, M., Hoelscher, M.
Laboratory reference values for healthy adults from southern Tanzania.
Trop Med Int Health 2008;13(5):612-25
- 94.) Sachs, L., Hedderich, J.
Schätzen: Konfidenzintervalle.
In: "Angewandte Statistik. Methodensammlung mit R.", Sachs, L., Hedderich, J. (Hrsg.)
Springer Verlag, Berlin, 2006, 12. Auflage, 252-4
- 95.) Sachs, L., Hedderich, J.
Hypothesentest: Mehrstichproben Verfahren, varianzanalytische Methoden.
In: "Angewandte Statistik. Methodensammlung mit R.", Sachs, L., Hedderich, J. (Hrsg.)
Springer Verlag, Berlin, 2006, 12. Auflage, 418-77
- 96.) Segal, J. B., Moliterno, A. R.
Platelet counts differ by sex, ethnicity, and age in the United States.
Ann Epidemiol 2006;1(2):123-30
- 97.) Shapiro, H.M.
Cytometry and Cytometers: Development.
In: "Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes",
Doležel, J., Greilhuber, J., Suda, J. (Ed.)
Wiley-VCH, Weinheim, 2007, first edition, 1-17
- 98.) Solberg, H.E.
The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal Program.
Clin Chem Lab Med 2004;42(7):710-4
- 99.) Solberg, H.E., Gräsbeck, R.
Reference Values.
In: "Advances in Clinical Chemistry: 27", Spiegel, H. (Ed.)
Academic Press, Inc., San Diego, 1989, 1-79
- 100.) Soldin, S., Brungnara, C., Wong, E. C.
Hematology Tests
In "Pediatric reference intervals", Soldin, S., Brungnara, C., Wong, E. (Hrsg.)
AACC Press, Washington, DC, 2007, 6. Auflage, 217-71
- 101.) Sonntag, O.
Ist das normal? - Das ist normal! Über die Bedeutung und Interpretation des so genannten Normalwertes.
J Lab Med 2003;27(7/8):302-10
- 102.) Stamminger, G., Auch, D., Diem, H., Sinha, P.
Performance of the XE-2100 leucocyte differential.
Clin Lab Haemtol 2002;24(5):271-80
- 103.) Streichert, T.
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für klinische Chemie/ Zentrallaboratorien >
Laborführer > Hämatologische Analytik
http://www.uke.de/institute/klinische-chemie/index_9322.php, überprüft am 13.1.2012

- 104.) Sundermann, F. W.
Current concepts of "Normal Values," "Reference Values," and "Discrimination Values" in clinical chemistry.
Clin Chem 1975;21(13):1873-7
- 105.) Takubo, T., Tatsumi, N., Satoh, N., Matsuno, K., Fujimoto, K., Soga, M., Yamagami, Y., Akiba, S., Sudoh, T., Miyazaki, M.
Evaluation of hematological values obtained with reference automated hematology analyzers of six manufacturers.
Southeast Asian J Trop Med Pub Health 2002;33(Suppl 2):62-7
- 106.) Taylor, M. R., Holland, C. V., Spencer, R., Jackson, J. F., O'Connor, G. I., O'Donnell, J. R.
Haematological reference ranges for schoolchildren.
Clin Lab Haematol 1997;19(1):1-15
- 107.) Thöml, H., Diem, H., Haferlach, T.
Untersuchungstechniken und Normalwert.
In "Taschenatlas der Hämatologie: morphologische und klinische Diagnostik für die Praxis", Thöml, H., Diem, H., Haferlach, T (Hrsg.)
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2002, 5. vollständig überarbeitete Auflage, 9-23
- 108.) Thomas, C., Thomas, L.
Hämatopoese.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 668-75
- 109.) Thomas, C., Thomas, L.
Erythrozyten (Zellzahl und –indices).
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 675-81
- 110.) Thomas, C., Thomas, L.
Hämoglobinkonzentration.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 682-92
- 111.) Thomas, C., Thomas, L.
Hämatokrit (Hkt).
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 692-97
- 112.) Thomas, C., Thomas, L.
Retikulozytenzahl und –indices.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 702-9

- 113.) Thomas, L.
Thrombozytenzahl.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 732-42
- 114.) Thomas, L.
Leukozytenzahl und -differenzierung.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 742-55
- 115.) Thomas, L.
Blutausstrich.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 755-66
- 116.) Thomas, L.
Analytik, analytische Beurteilung und klinische Bewertung von Laborbefunden.
In: "Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik", Thomas, L. (Hrsg.)
TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main, 2005, 6. Auflage, 1974-85
- 117.) Thomas, L., Franck, S., Messinger, M., Linssen, J., Thome, M., Thomas, C.
Reticulocyte hemoglobin measurement – comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis.
Clin Chem Lab Med 2005;43(11):1193-202
- 118.) Thomas, L., Thomas, C.
Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency.
Clin Chem 2002;48(7):1066-76
- 119.) Tilzer, L. L., DeMott, W. R.
Hematology.
In: "Laboratory Test Handbook", Jacobs, D.S., Kasten, B. L., DeMott, W.R., Wolfson, W. L., (Hrsg)
Lexi -Comp Inc, Hudson, 1990, 2. Auflage, 457-553
- 120.) Tsurada, K., Tsuji, T., Usui, T., Kitajima, A., Kihara, A., Murai, M., Kasada, Y., Li, Q., Yamada, Y., Kamihira, S.
Evaluation and clinical usefulness of the automated hematology analyzer, Sysmex XE-2100.
Sysmex J Int 1999;9(2):129-38
- 121.) van den Bossche, J., Devreese, K., Malfait, R., van de Vyvere, M., Wauters, A., Neels, H., de Schouwer, P.
Reference intervals for a complete blood count determination on different automated haematology analysers: ABX Pentra 120 Retic, Coulter Gen-S, Sysmex Se 9500, Abbott Cell-Dyn 4000 and Bayer Advia 120.
Clin Chem Lab Med 2002;40(1):69-73
- 122.) Walters, J., Garrity, P.
Performance evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyzer.
Lab Hematol 2000;6(2):83-92

- 123.) Wood, B. L., Andrews, J., Miller, S., Sabath, D. E.
Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential.
Am J Clin Pathol 1999;112(5):687-95
124.) World Health Organization
Nutritional anemias: report of a WHO Scientific Group.
Technical Report Series No.405.WHO (1968), Geneva
- 125.) Zandecki, M., Genevieve, F., Gerard, J., Godon, A.
Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets.
Int J Lab Hematol 2007;29(1):4-20
- 126.) [Keine Autoren angegeben]
ADVIA® 120 Hematology System Benutzerhandbuch, CD-ROM, V. 3.00.00 Deutsch,
Copyright © 2003 Bayer Corporation
- 127.) [Keine Autoren angegeben]
CELL-DYN Sapphire™ Bedienungsanleitung, 56-0302/R1 – Juni 2005, Copyright © 2005
Abbott Diagnostics Division
- 128.) [Keine Autoren angegeben]
XE-2100 Gebrauchsanweisung – Januar 2010, Copyright © 2006-2010 Sysmex Corporation
- 129.) [Keine Autoren angegeben]
XT-2000i/ XT-1800i Gebrauchsanweisung – April 2003, Copyright © 2003 Sysmex
Corporation
- 130.) [Keine Autoren angegeben]
Das neue hämatologische Analysensystem CELL-DYN Sapphire.
Abbott Times 2005;1:30-32
<http://www.abbottdiagnostik.de/images/content/file/Abbott%20Times%20Sapphire.pdf>,
überprüft am 21.01.2010
- 131.) [Keine Autoren angegeben]
Fluoreszenz-Durchflusszytometrie in der Hämatologie (XT-Serie).
Sysmex Xtra 2008;1:1-11
http://www.sysmex.de/files/articles/Xtra_FFC_XT-Serie.pdf, überprüft am 21.01.2010
- 132.) [Keine Autoren angegeben]
Fluoreszenz-Durchflusszytometrie in der Hämatologie (XE-2100).
Sysmex Xtra 2008;2:1-11
http://www.sysmex.de/files/articles/Xtra_Messsprinzipien_XE-2100.pdf, überprüft am
21.01.2010
- 133.) [Keine Autoren angegeben]
Homepage von Bayer > Bayer Unternehmensgeschichte > 1996-2010
<http://www.bayer.de/de/unternehmensgeschichte-ab-1996.aspx>, überprüft am 17.1.2012

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Erythrozytenparameter.....	56
Tabelle 2: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Thrombozytenparameter.....	62
Tabelle 3: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Retikulozytenparameter.....	67
Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung der Referenzbereiche für die Leukozytenparameter.....	72

Anhangsverzeichnis

Anhang A: Abbildungen

Abbildung A1: Einteilung der untersuchten Männer und Frauen in vier Altersklassen.....	109
Abbildung A2: Gerätevergleich für die optisch gemessene Erythrozytenkonzentration.....	109
Abbildung A3: Gerätevergleich für die mittels Impedanzmethode gemessene Erythrozytenkonzentration.....	109
Abbildung A4: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät CD-Sapphire.....	110
Abbildung A5: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät XT-2000i.....	110
Abbildung A6: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät XE-2100	110
Abbildung A7: Gerätevergleich für die Hämoglobinkonzentration	111
Abbildung A8: Gerätevergleich für den Hämatokrit.....	111
Abbildung A9: Gerätevergleich für das mittlere Erythrozytenvolumen	111
Abbildung A10: Gerätevergleich für den zellulären Hämoglobingehalt	112
Abbildung A11: Gerätevergleich für die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration	112
Abbildung A12: Vergleich zwischen der berechneten und der direkt gemessenen mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration für das Gerät ADVIA 120	112
Abbildung A13: Gerätevergleich für die Erythrozytenverteilungsbreite	113
Abbildung A14: Gerätevergleich für die Standardabweichung der Erythrozytenverteilungsbreite.....	113
Abbildung A15: Gerätevergleich für die optisch gemessene Thrombozytenkonzentration.....	113
Abbildung A16: Gerätevergleich für die mittels Impedanzmethode gemessene Thrombozytenkonzentration	114
Abbildung A17: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät CD-Sapphire	114
Abbildung A18: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät XT-2000i	114
Abbildung A19: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät XE-2100.....	115
Abbildung A20: Gerätevergleich für das mittlere Thrombozytenvolumen.....	115
Abbildung A21: Gerätevergleich für die Thrombozytenverteilungsbreite.....	115
Abbildung A22: Gerätevergleich für den Anteil großer Thrombozyten (Volumen > 12 fl) ..	116
Abbildung A23: Gerätevergleich für den Thrombokrit	116

Abbildung A24: Gerätevergleich für die absolute Retikulozytenkonzentration.....	116
Abbildung A25: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Retikulozyten.....	117
Abbildung A26: Gerätevergleich für Retikulozyten mit geringem RNA-Gehalt	117
Abbildung A27: Gerätevergleich für Retikulozyten mit mittlerem RNA-Gehalt.....	117
Abbildung A28: Gerätevergleich für Retikulozyten mit hohem RNA-Gehalt	118
Abbildung A29: Gerätevergleich für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten	118
Abbildung A30: Gerätevergleich für die Gesamtleukozytenzahl	118
Abbildung A31: Vergleich zwischen der im Basophilen-/Lobularitätskanal und im Peroxidasekanal gemessenen Gesamtleukozytenzahl für das Gerät ADVIA 120	119
Abbildung A32: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der neutrophilen Granulozyten.....	119
Abbildung A33: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten.....	119
Abbildung A34: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der Lymphozyten	120
Abbildung A35: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Lymphozyten.....	120
Abbildung A36: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der Monozyten.....	120
Abbildung A37: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Monozyten	121
Abbildung A38: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der eosinophilen Granulozyten.....	121
Abbildung A39: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der eosinophilen Granulozyten.....	121
Abbildung A40: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der basophilen Granulozyten.....	122
Abbildung A41: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der basophilen Granulozyten.....	122

Anhang B: Tabellen

Tabelle B1: Referenzbereiche für das Analysensystem ADVIA 120	123
Tabelle B2: Referenzbereiche für das Analysensystem CD-Sapphire	125
Tabelle B3: Referenzbereiche für das Analysensystem XT-2000i.....	127
Tabelle B4: Referenzbereiche für das Analysensystem XE-2100	129
Tabelle B5: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von ADVIA 120 gemessenen Parameter	131
Tabelle B6: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von CD-Sapphire gemessenen Parameter	132
Tabelle B7: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von XT-2000i gemessenen Parameter ..	133
Tabelle B8: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von XE-2100 gemessenen Parameter ..	134
Tabelle B9: Wiederholpräzision des ADVIA 120 bei 21-facher Messung einer Blutprobe ..	135
Tabelle B10: Wiederholpräzision des CD-Sapphire bei 21-facher Messung einer Blutprobe.....	136
Tabelle B11: Wiederholpräzision des XT-2000i bei 21-facher Messung einer Blutprobe ...	137
Tabelle B12: Wiederholpräzision des XE-2100 bei 21-facher Messung einer Blutprobe	138
Tabelle B13: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem ADVIA 120 (Differenzialblutbild).....	139
Tabelle B14: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem ADVIA 120 (Retikulozyten)	139
Tabelle B15: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem CD-Sapphire	140
Tabelle B16: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem XT-2000i	141
Tabelle B17: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem XE-2100.....	142

Anhang A: Abbildungen

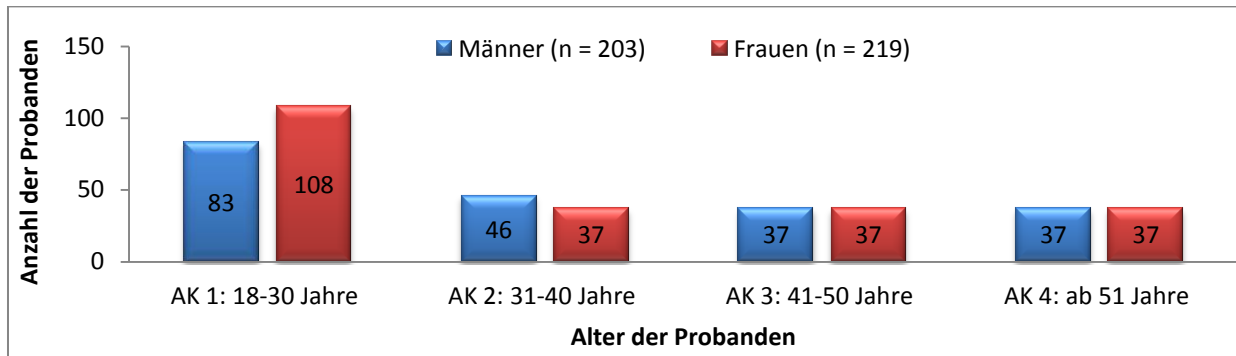
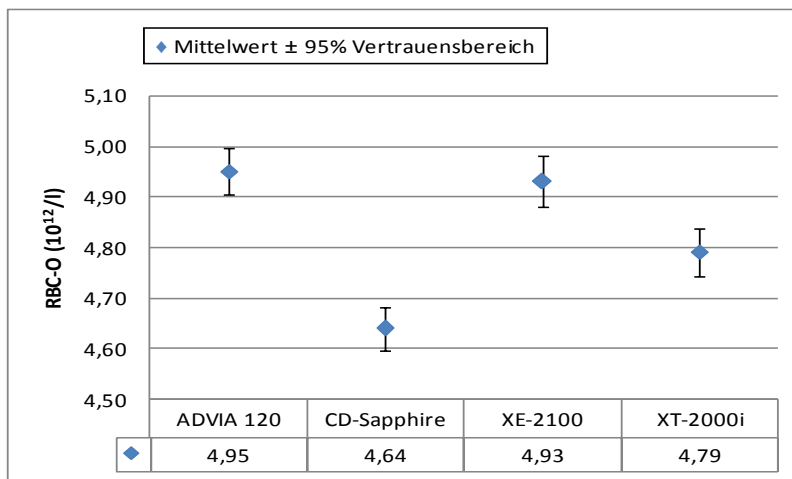


Abbildung A1: Einteilung der untersuchten Männer und Frauen in vier Altersklassen



Friedman-Test: $p < 0,001$

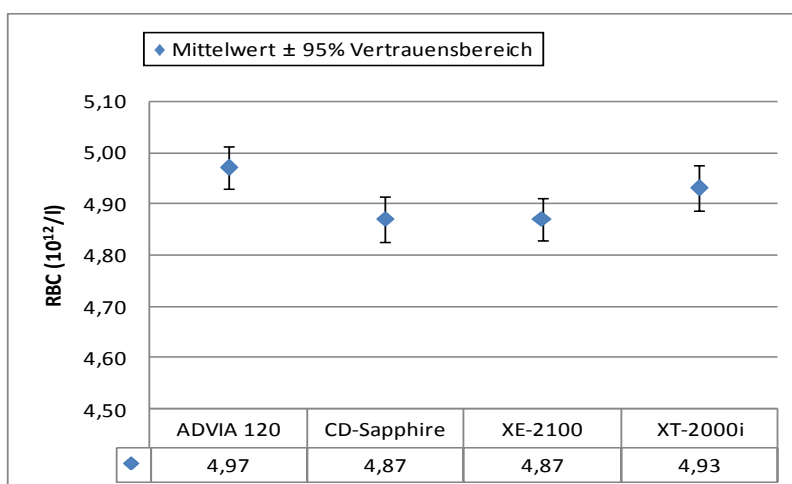
sequentiell verworfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0100)
3. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0167)
5. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. AD-XT: $p = 0,002$ (0,0500)

Messungen: 344

Abbildung A2: Gerätevergleich für die optisch gemessene Erythrozytenkonzentration



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verworfende

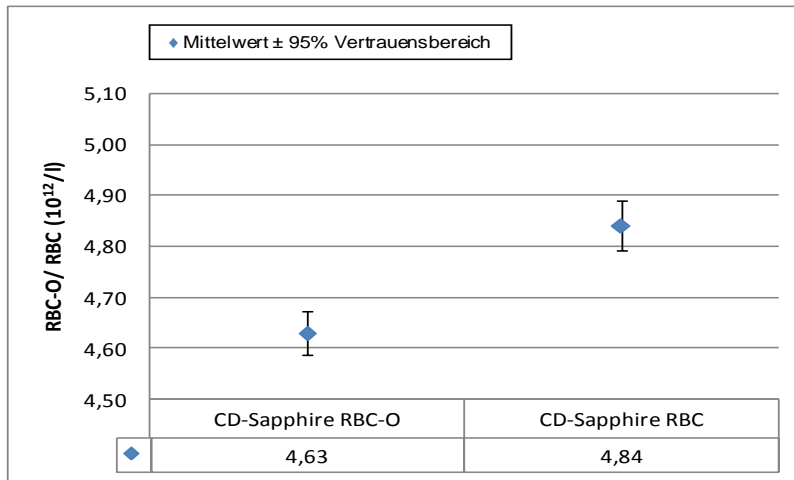
Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0167)
5. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. SA-XE: $p = 0,366^*$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A3: Gerätevergleich für die mittels Impedanzmethode gemessene Erythrozytenkonzentration

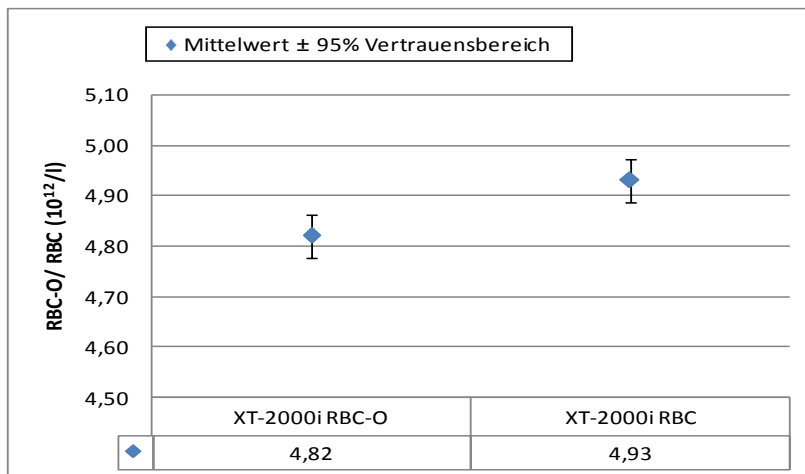
* = Ergebnis ist nicht signifikant ; **Anmerkung:** ADVIA 120 misst die Erythrozytenkonzentration nur optisch



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 347

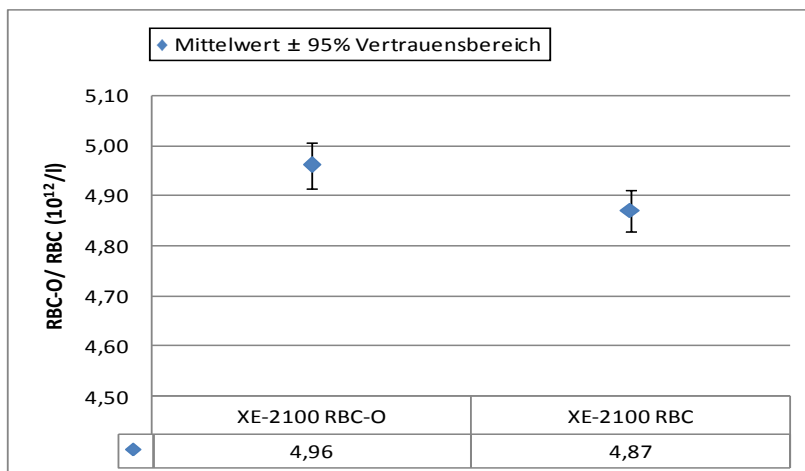
Abbildung A4: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät CD-Sapphire



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 422

Abbildung A5: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät XT-2000i



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 422

Abbildung A6: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Erythrozytenkonzentration für das Gerät XE-2100

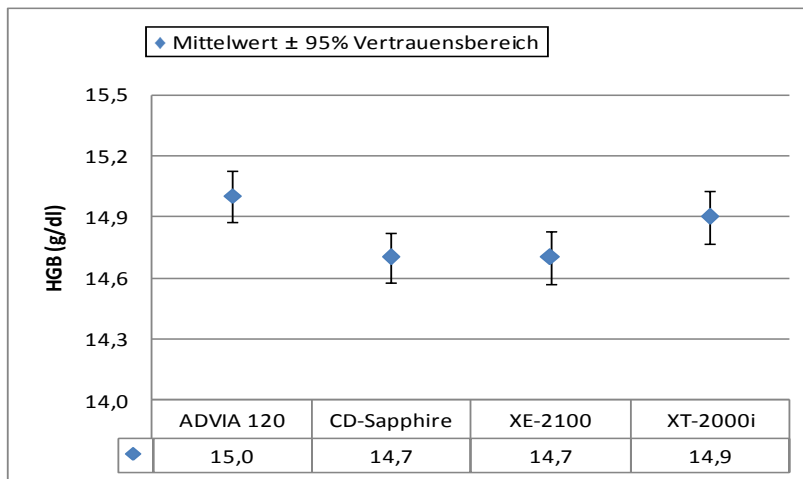


Abbildung A7: Gerätevergleich für die Hämoglobinkonzentration

* = Ergebnis ist nicht signifikant

Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0167)
5. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. SA-XE: $p = 0,269^*$ (0,0500)

Messungen: 412

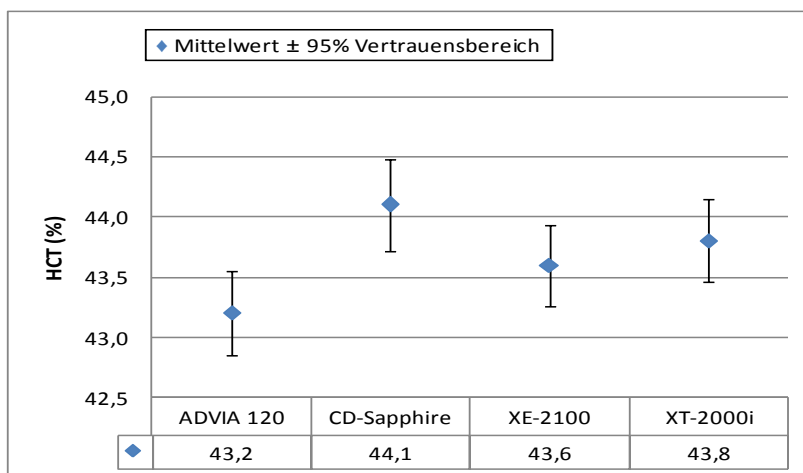


Abbildung A8: Gerätevergleich für den Hämatokrit

Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

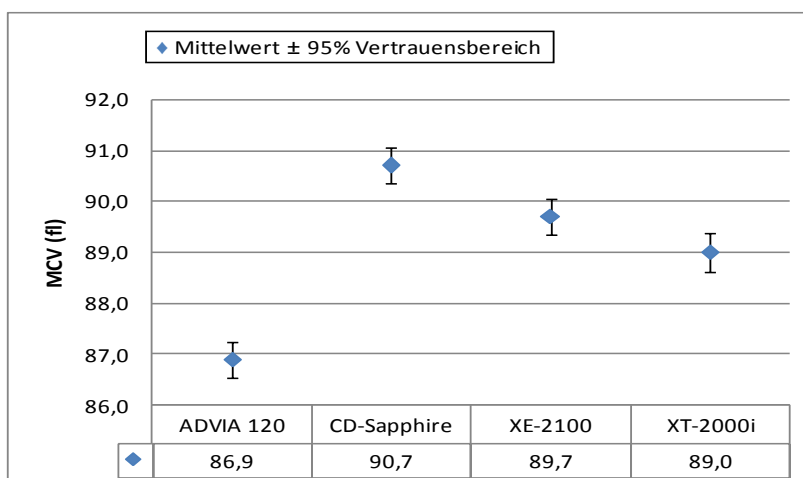


Abbildung A9: Gerätevergleich für das mittlere Erythrozytenvolumen

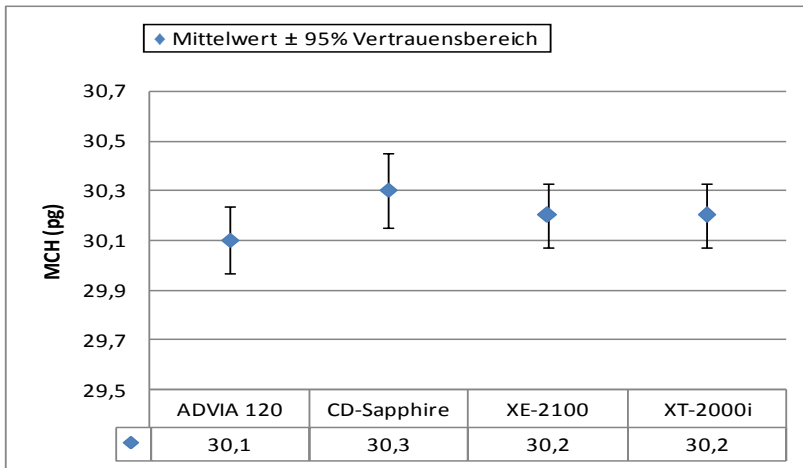
Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

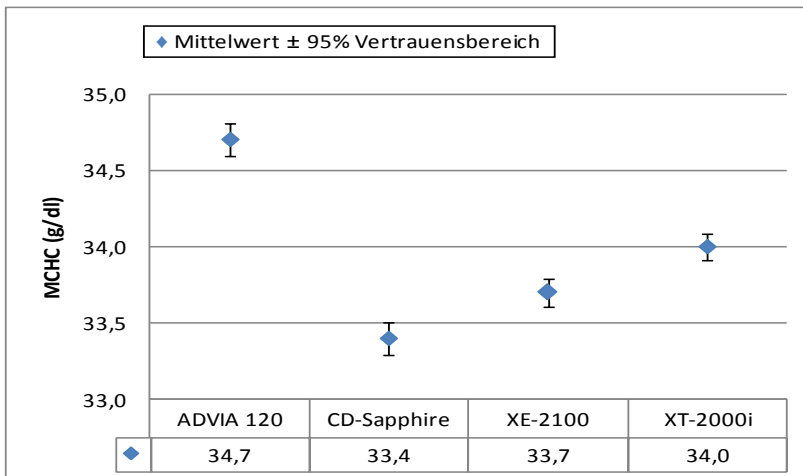


Friedman-Test: $p > 0,05^*$

Messungen: 412

Abbildung A10: Gerätevergleich für den mittleren zellulären Hämoglobingehalt

* = Ergebnis ist nicht signifikant



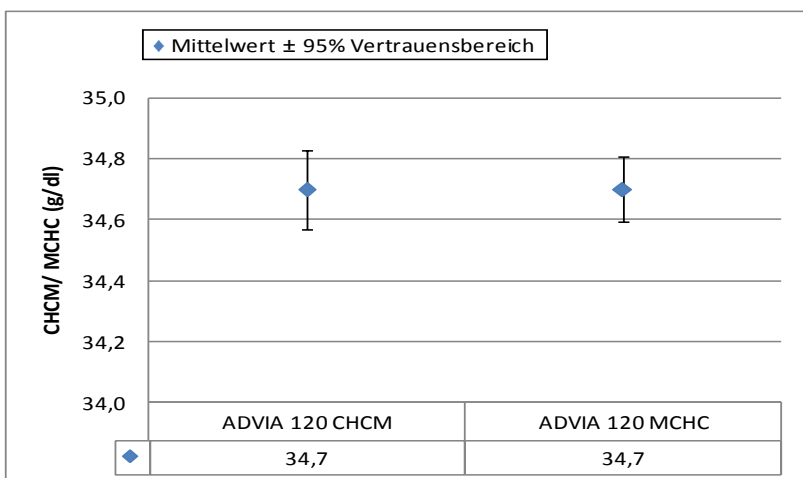
Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A11: Gerätevergleich für die mittlere zelluläre Hämoglobinkonzentration

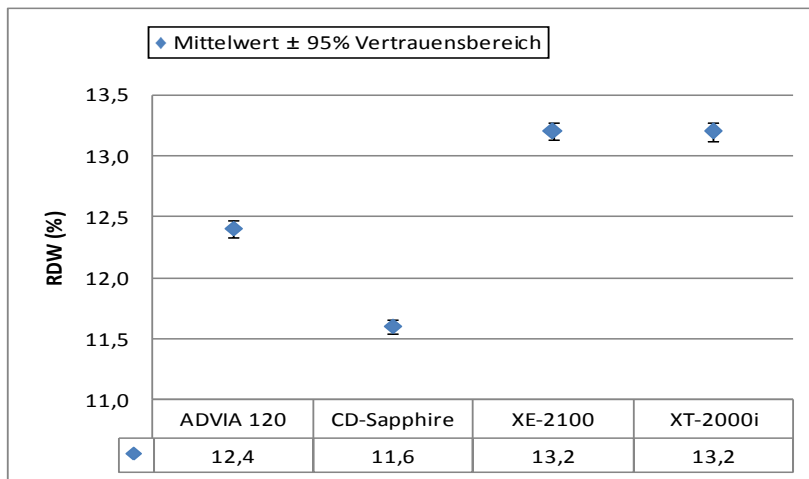


Wilcoxon-Test: $p > 0,05^*$

Messungen: 412

Abbildung A12: Vergleich zwischen der berechneten und der direkt gemessenen mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration für das Gerät ADVIA 120

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

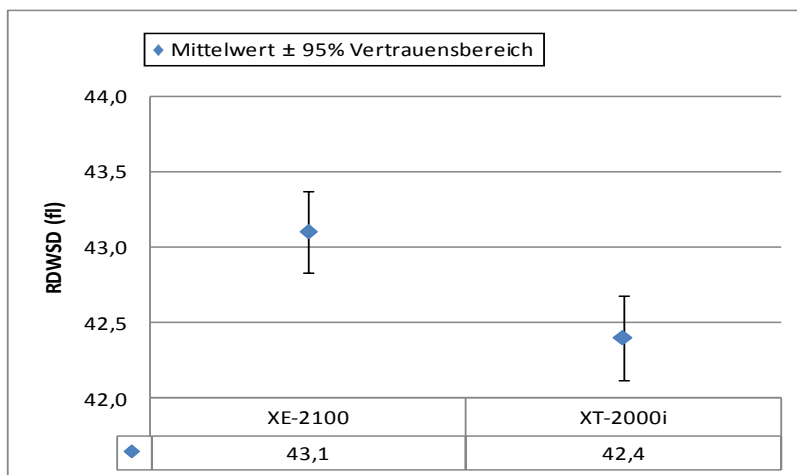
Holm- Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p = 0,667^*$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A13: Gerätevergleich für die Erythrozytenverteilungsbreite

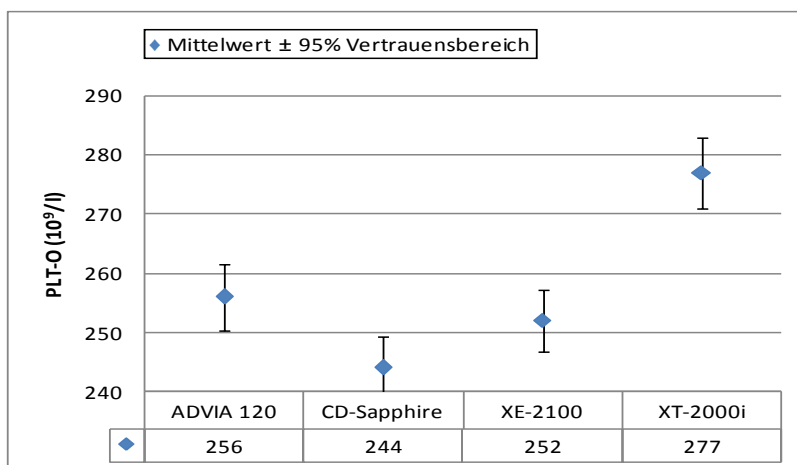
* = Ergebnis ist nicht signifikant



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 422

Abbildung A14: Gerätevergleich für die Standardabweichung der Erythrozytenverteilungsbreite



Friedman-Test: $p < 0,001$

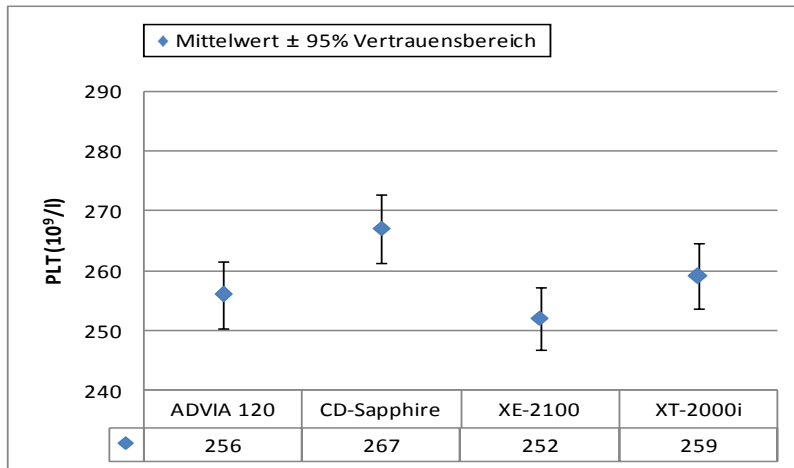
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A15: Gerätevergleich für die optisch gemessene Thrombozytenkonzentration



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

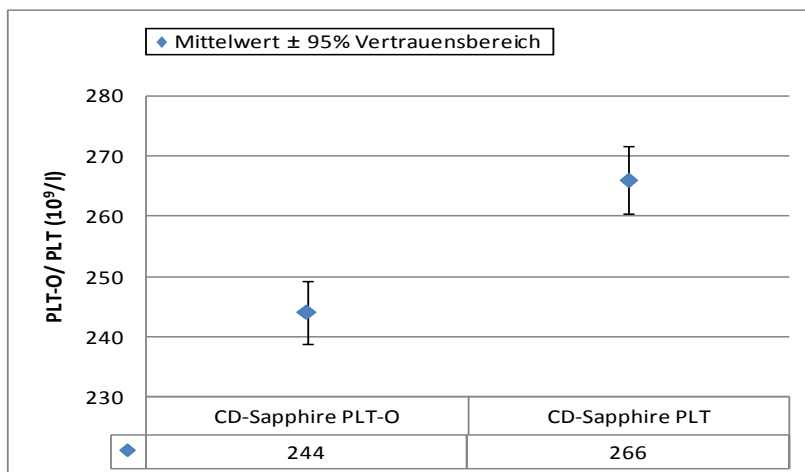
Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A16: Gerätevergleich für die mittels Impedanzmethode gemessene Thrombozytenkonzentration

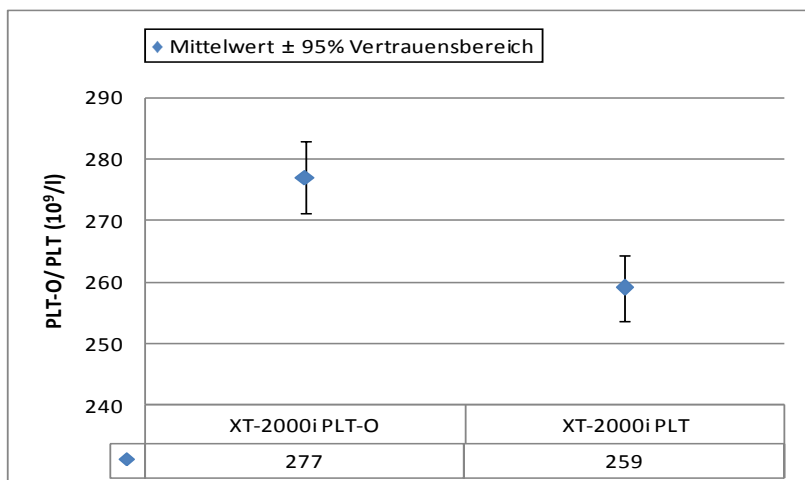
Anmerkung: ADVIA 120 misst die Thrombozytenkonzentration nur optisch



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 422

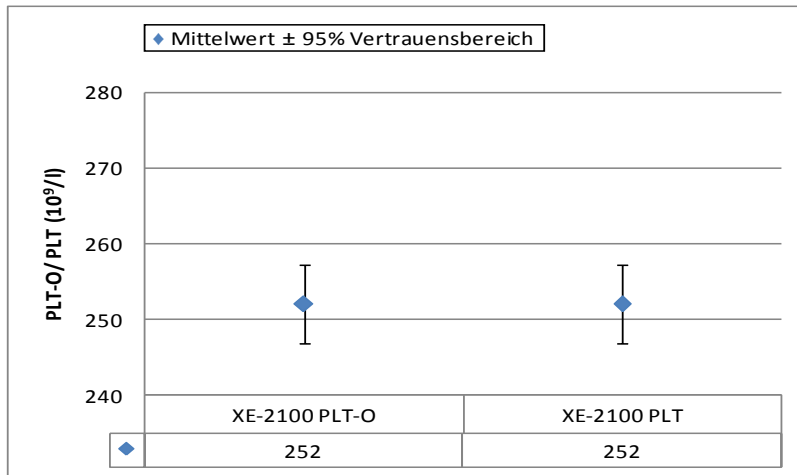
Abbildung A17: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät CD-Sapphire



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 422

Abbildung A18: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät XT-2000i

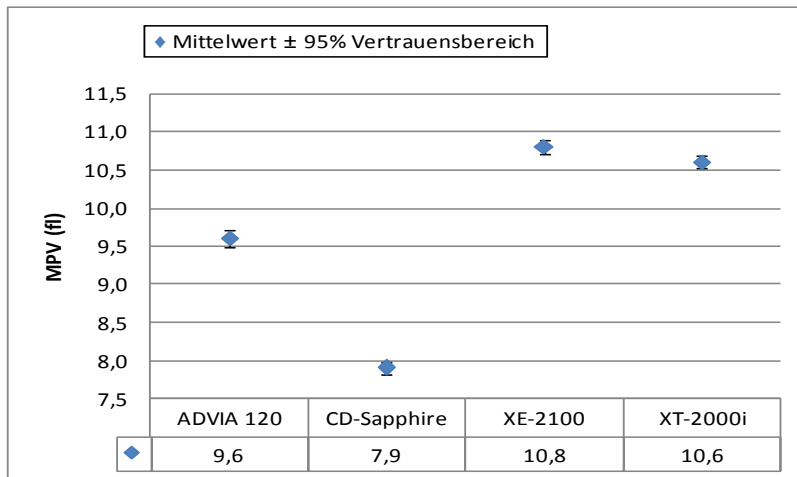


Wilcoxon-Test: $p > 0,05^*$

Messungen: 422

Abbildung A19: Vergleich zwischen der optisch und der mittels Impedanzmethode gemessenen Thrombozytenkonzentration für das Gerät XE-2100

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

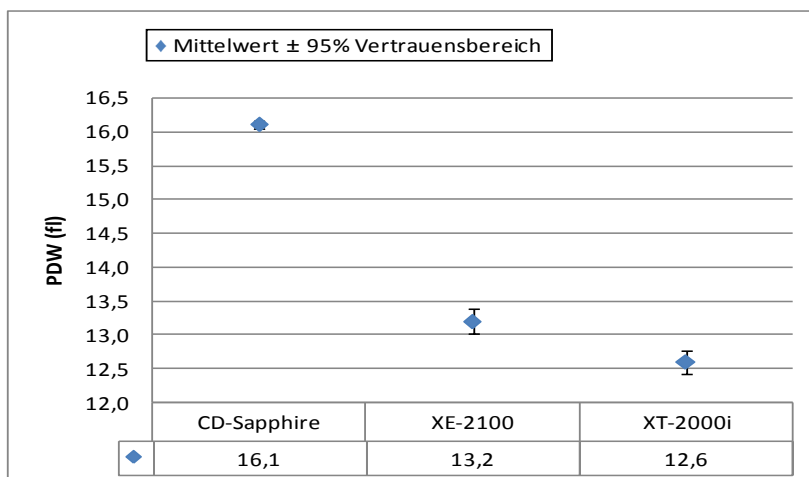
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 411

Abbildung A20: Gerätevergleich für das mittlere Thrombozytenvolumen



Friedman-Test: $p < 0,001$

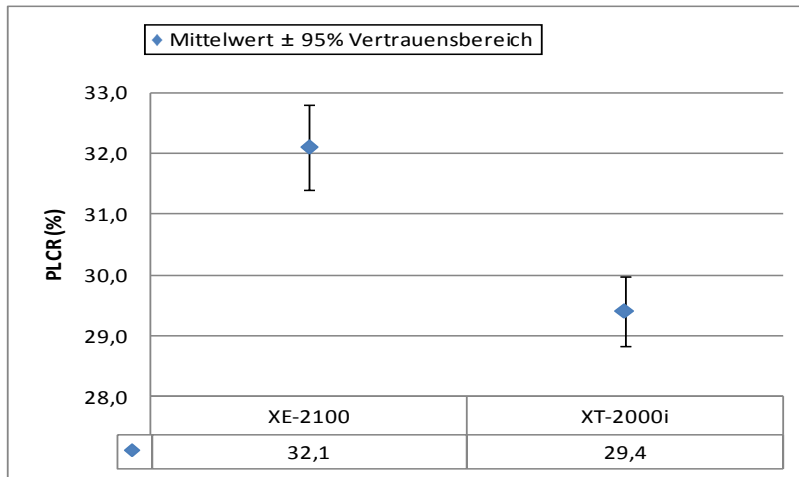
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0167)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0250)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 411

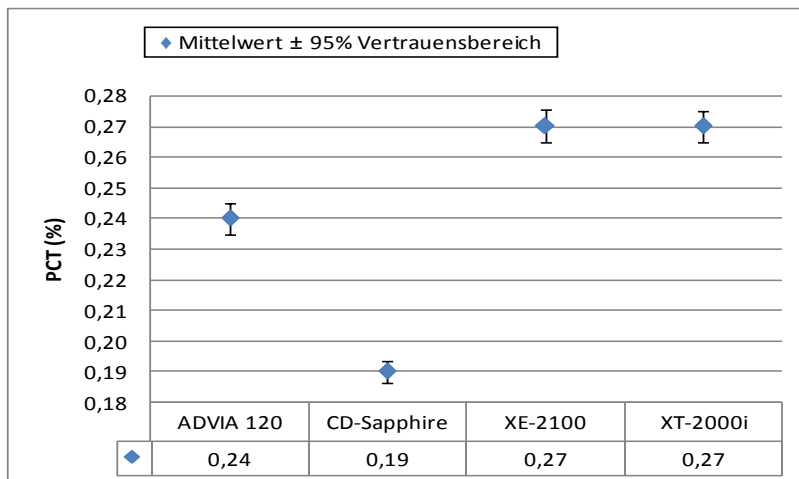
Abbildung A21: Gerätevergleich für die Thrombozytenverteilungsbreite



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 421

Abbildung A22: Gerätevergleich für den Anteil großer Thrombozyten (Volumen > 12 fl)



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

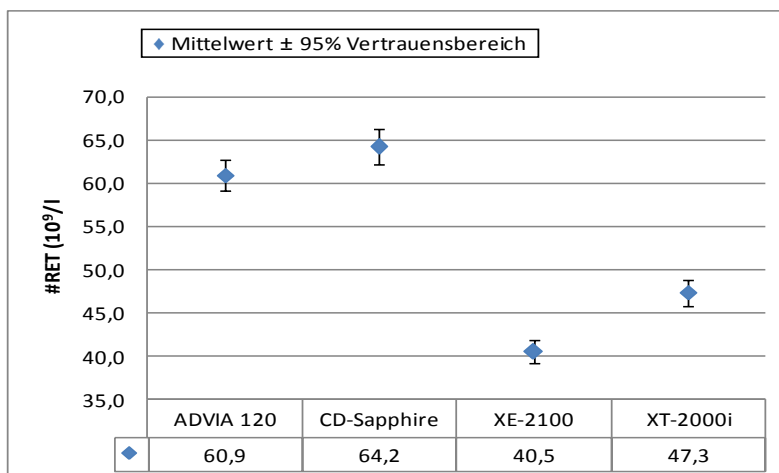
Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p = 0,248^*$ (0,0500)

Messungen: 411

Abbildung A23: Gerätevergleich für den Thrombokrit

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

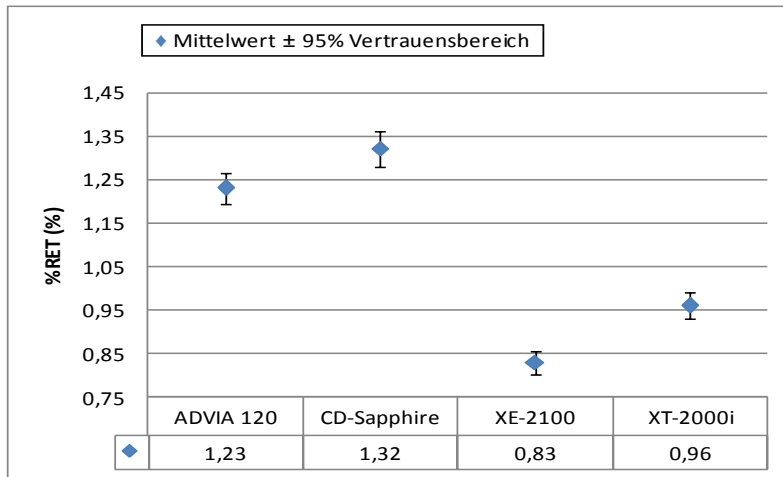
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A24: Gerätevergleich für die absolute Retikulozytenkonzentration



Friedman-Test: $p < 0,001$

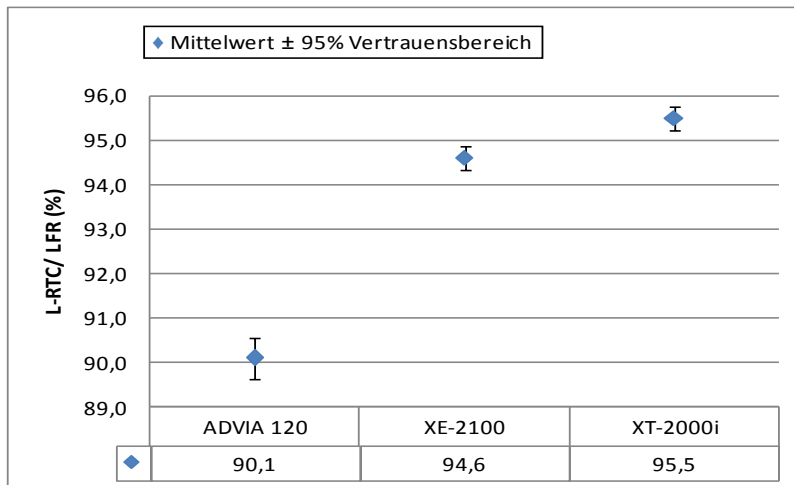
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A25: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Retikulozyten



Friedman-Test: $p < 0,001$

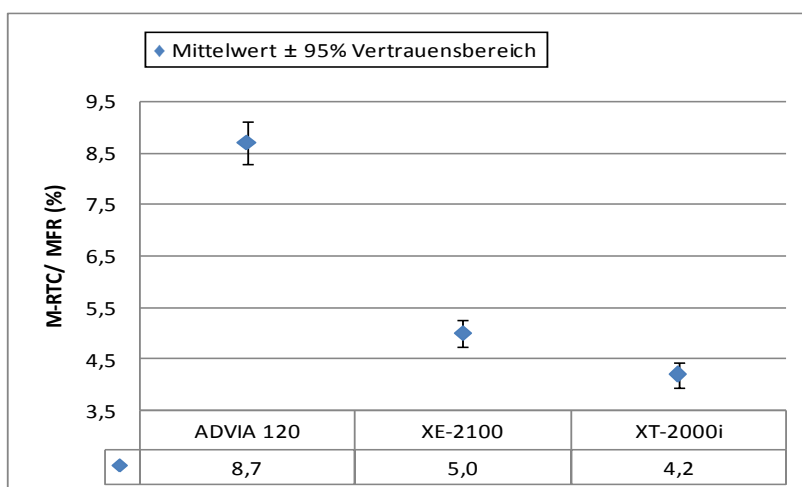
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0167)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0250)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A26: Gerätevergleich für Retikulozyten mit geringem RNA-Gehalt



Friedman-Test: $p < 0,001$

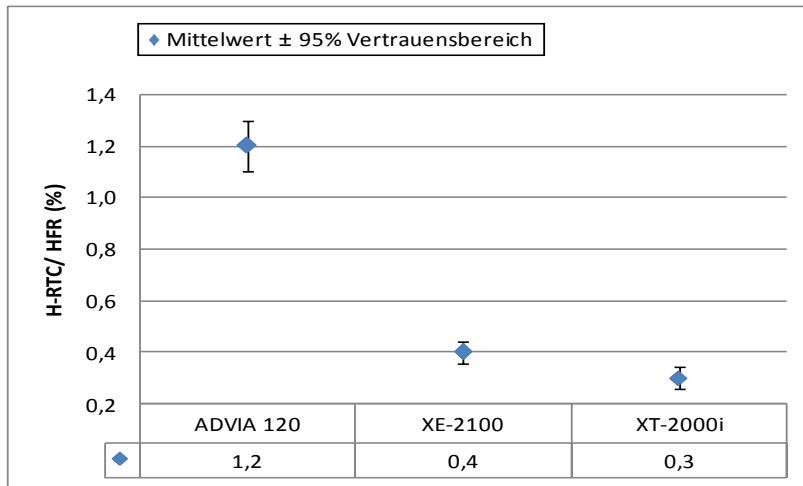
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0167)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0250)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

Abbildung A27: Gerätevergleich für Retikulozyten mit mittlerem RNA-Gehalt



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

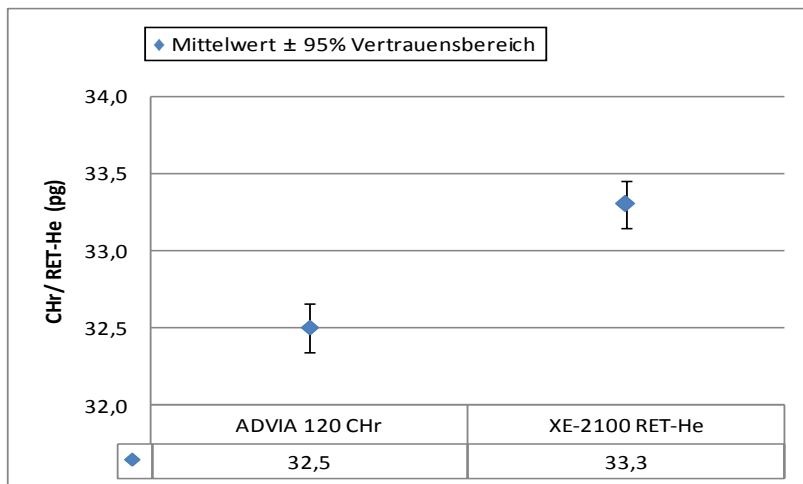
1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0167)

2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0250)

3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 412

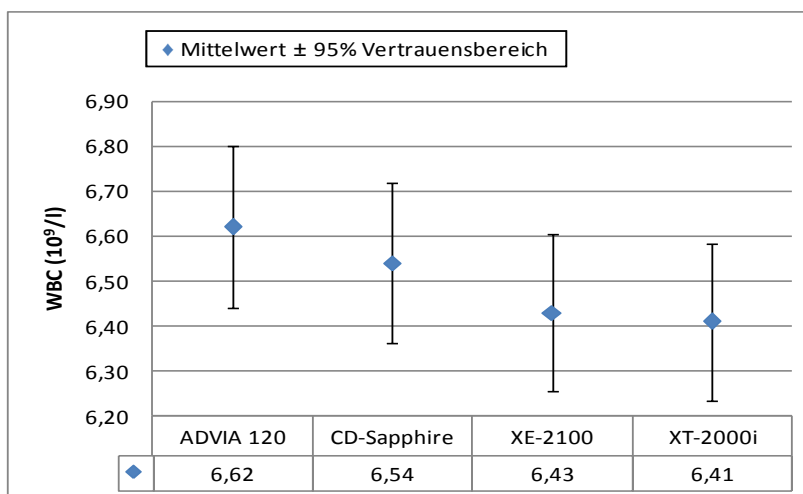
Abbildung A28: Gerätevergleich für Retikulozyten mit hohem RNA-Gehalt



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 412

Abbildung A29: Gerätevergleich für den Hämoglobingehalt der Retikulozyten



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)

2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)

3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)

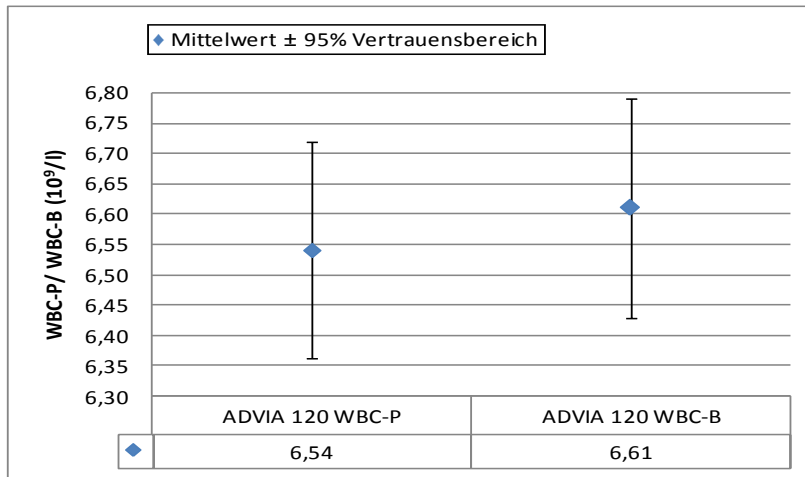
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)

5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)

6. XE-XT: $p = 0,016$ (0,0500)

Messungen: 412

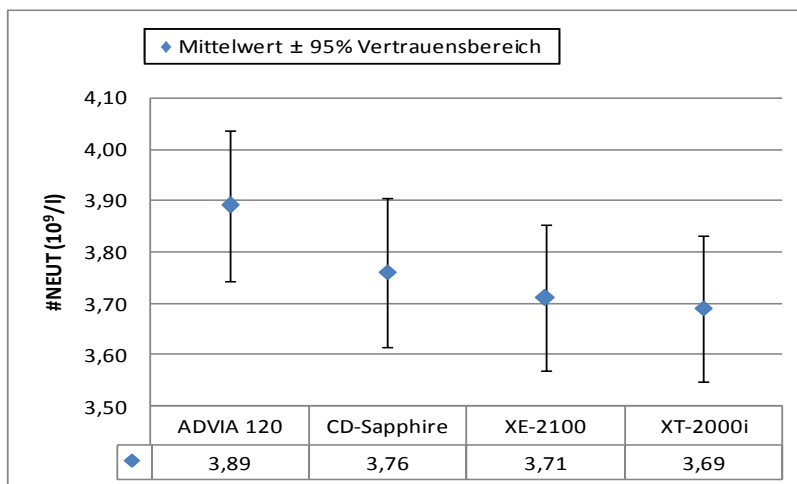
Abbildung A30: Gerätevergleich für die Gesamtleukozytenzahl



Wilcoxon-Test: $p < 0,001$

Messungen: 411

Abbildung A31: Vergleich zwischen der im Basophilen-/Lobularitätskanal und im Peroxidasekanal gemessenen Gesamtleukozytenzahl für das Gerät ADVIA 120



Friedman-Test: $p < 0,001$

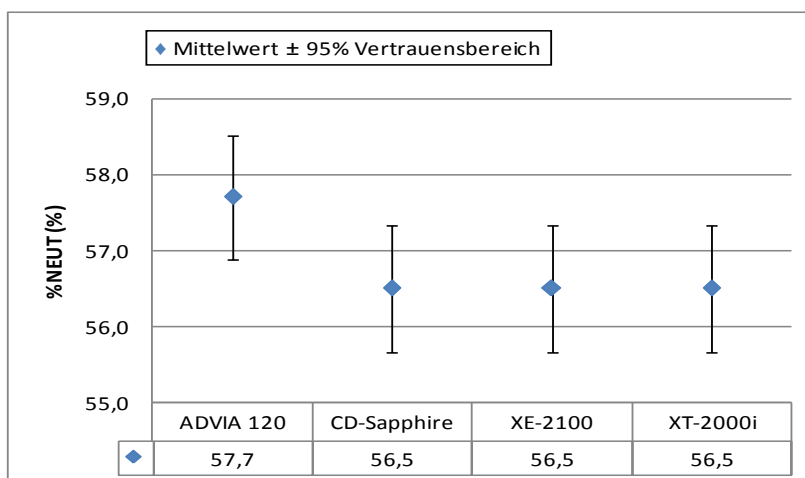
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p = 0,029$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A32: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der neutrophilen Granulozyten



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

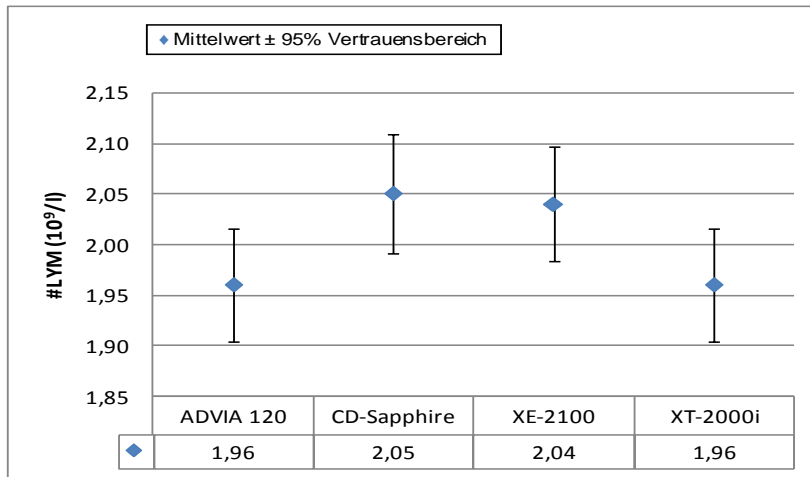
Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. XE-XT: $p = 0,530^*$ (0,0167)
5. SA-XE: $p = 0,810^*$ (0,0250)
6. SA-XT: $p = 0,904^*$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A33: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der neutrophilen Granulozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

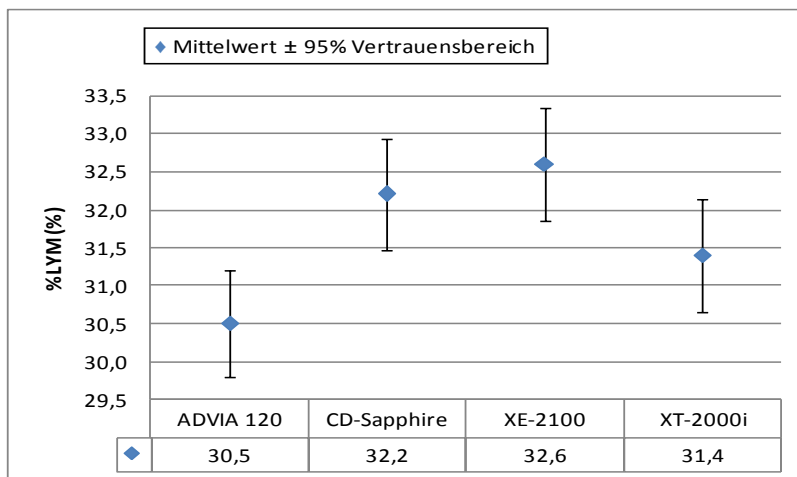
Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XE: $p = 0,018$ (0,0250)
6. AD-XT: $p = 0,288^*$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A34: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der Lymphozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

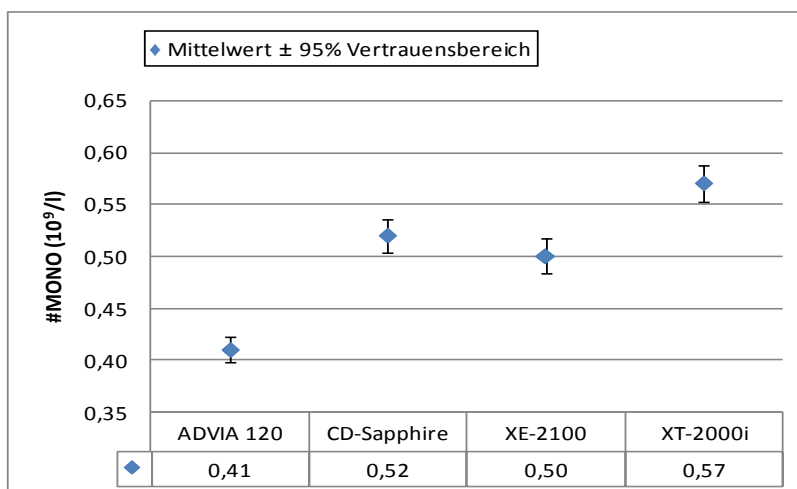
sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A35: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Lymphozyten



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A36: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der Monozyten

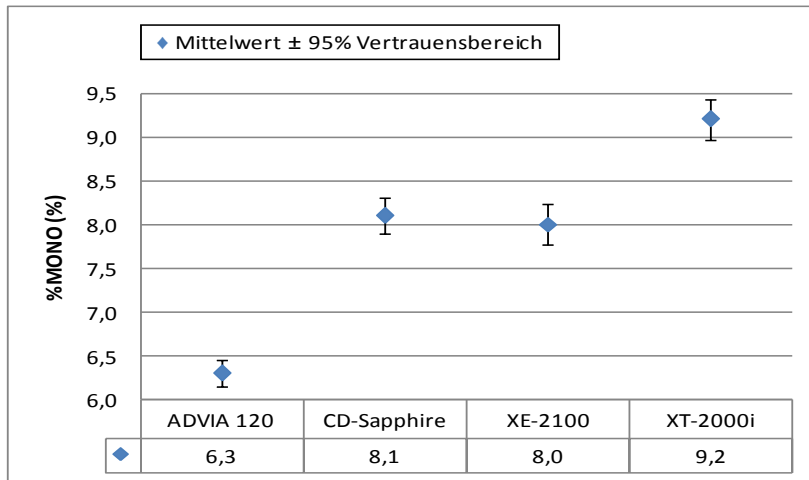


Abbildung A37: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der Monozyten

Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0167)
5. XE-XT: $p < 0,001$ (0,0250)
6. SA-XE: $p = 0,030$ (0,0500)

Messungen: 408

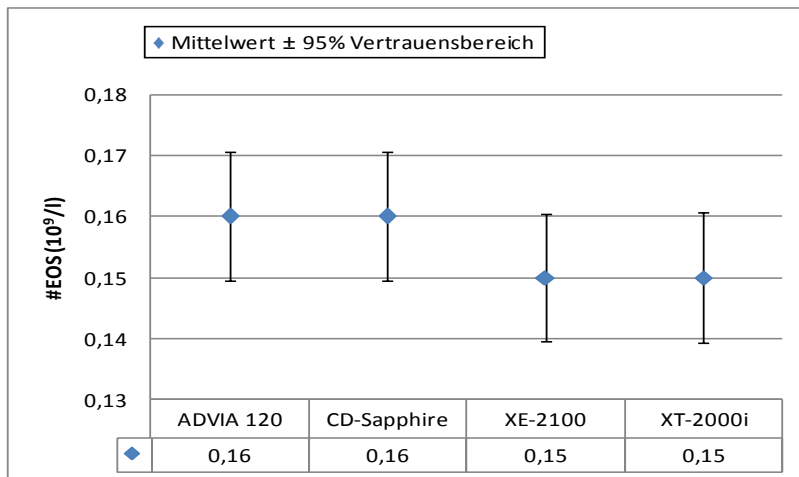


Abbildung A38: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der eosinophilen Granulozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant

Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0083)
2. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0100)
3. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0125)
4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)
5. AD-SA: $p = 0,611^*$ (0,0250)
6. XE-XT: $p = 0,707^*$ (0,0500)

Messungen: 408

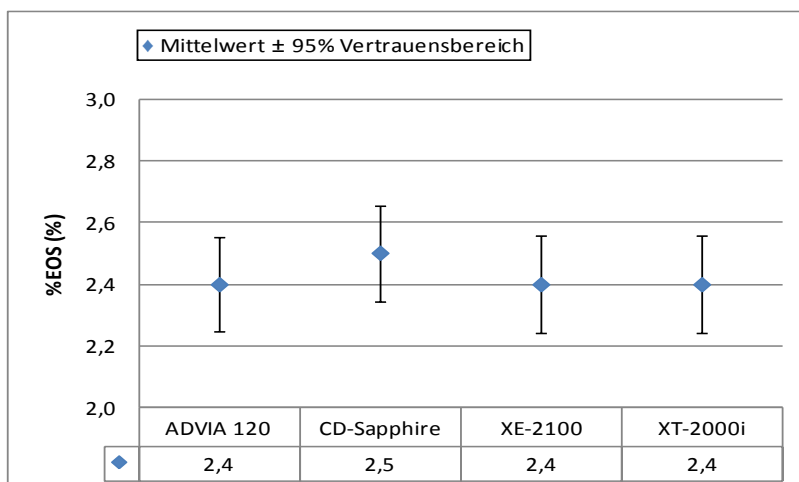


Abbildung A39: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der eosinophilen Granulozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant

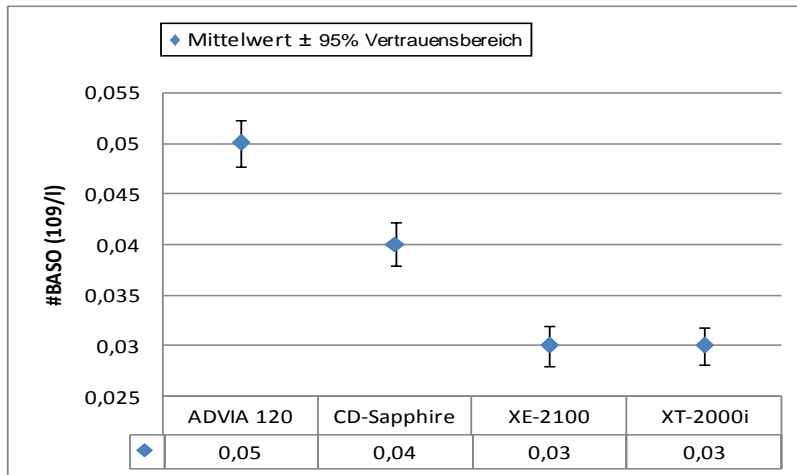
Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0083)
2. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0100)
3. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0125)
4. AD-SA: $p = 0,024^*$ (0,0167)
5. AD-XT: $p = 0,051^*$ (0,0250)
6. XE-XT: $p = 0,358^*$ (0,0500)

Messungen: 408



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)

2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)

3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)

4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)

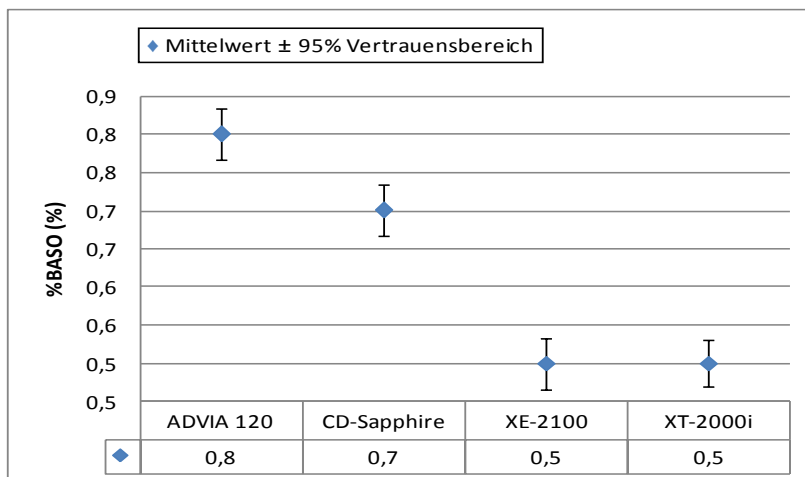
5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)

6. XE-XT: $p = 0,152^*$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A40: Gerätevergleich für den absoluten Anteil der basophilen Granulozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant



Friedman-Test: $p < 0,001$

sequentiell verwerfende

Holm-Prozedur:

1. AD-SA: $p < 0,001$ (0,0083)

2. AD-XE: $p < 0,001$ (0,0100)

3. AD-XT: $p < 0,001$ (0,0125)

4. SA-XE: $p < 0,001$ (0,0167)

5. SA-XT: $p < 0,001$ (0,0250)

6. XE-XT: $p = 0,251^*$ (0,0500)

Messungen: 408

Abbildung A41: Gerätevergleich für den prozentualen Anteil der basophilen Granulozyten

* = Ergebnis ist nicht signifikant

Anhang B: Tabellen

Tabelle B1: Referenzbereiche für das Analysensystem ADVIA 120

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
RBC-O (10 ¹² /l)	197	5,21	♂ 4,60 - 6,00	4,50 - 4,71	5,88 - 6,23
	215	4,70	♀ 4,19 - 5,34	4,13 - 4,22	5,27 - 5,55
HGB (g/dl)	197	15,8	♂ 14,0 - 17,9	13,3 - 14,3	17,6 - 19,0
	215	14,1	♀ 12,5 - 16,2	11,8 - 12,6	16,0 - 16,7
HCT (l/l)	197	0,45	♂ 0,41 - 0,52	0,38 - 0,41	0,51 - 0,55
	215	0,41	♀ 0,36 - 0,47	0,35 - 0,37	0,46 - 0,49
MCV (fl)	412	86,8	◇ 80,1 - 94,6	78,9 - 81,1	93,1 - 96,4
MCH (pg)	412	30,2	◇ 27,2 - 32,8	26,9 - 27,5	32,6 - 33,3
MCHC (g/dl)	197	35,0	♂ 32,9 - 37,2	32,6 - 33,4	36,9 - 37,8
	215	34,4	♀ 32,5 - 36,5	32,2 - 32,6	36,2 - 37,0
CHCM (g/dl)	197	35,2	♂ 32,6 - 37,5	31,7 - 32,7	37,3 - 37,9
	215	34,3	♀ 31,9 - 36,7	31,4 - 32,1	36,2 - 37,4
RDW (%)	412	12,3	◇ 11,4 - 14,1	11,3 - 11,5	13,7 - 14,6
PLT-O (10 ⁹ /l)	197	231	♂ 157 - 361	134 - 169	320 - 401
	215	266	♀ 183 - 404	156 - 192	391 - 463
MPV (fl)	412	9,5	◇ 7,8 - 12,1	7,5 - 8,0	11,6 - 13,2
PDW (%)	412	49,7	◇ 38,5 - 65,3	37,6 - 39,2	63,7 - 67,6
PCT (%)	197	0,22	♂ 0,16 - 0,32	0,15 - 0,16	0,30 - 0,43
	215	0,25	♀ 0,18 - 0,39	0,16 - 0,18	0,36 - 0,48
#RET (10 ⁹ /l)	197	64,1	♂ 37,9 - 101,8	27,9 - 41,0	94,5 - 129,4
	215	54,1	♀ 26,8 - 104,0	23,4 - 31,4	85,7 - 117,3
%RET (%)	412	1,18	◇ 0,65 - 2,00	0,54 - 0,69	1,88 - 2,36
L-RTC (%)	412	90,5	◇ 80,1 - 97,8	77,6 - 81,5	97,3 - 98,2
M-RTC (%)	412	8,6	◇ 1,9 - 17,4	1,4 - 2,4	15,8 - 20,0
H-RTC (%)	412	1,0	◇ 0,0 - 3,6	0,0 - 0,1	3,4 - 4,2
CHr (pg)	197	32,9	♂ 29,8 - 35,8	28,7 - 30,1	35,5 - 37,1
	215	32,3	♀ 28,9 - 34,8	26,7 - 29,6	34,6 - 36,0
WBC-B (10 ⁹ /l)	412	6,34	◇ 4,03 - 10,99	3,49 - 4,14	10,29 - 12,97
WBC-P (10 ⁹ /l)	411	6,27	◇ 3,96 - 10,61	3,58 - 4,06	10,25 - 12,81
#NEUT (10 ⁹ /l)	408	3,68	◇ 1,90 - 7,61	1,56 - 2,06	6,77 - 9,05
#LYM (10 ⁹ /l)	408	1,86	◇ 1,14 - 3,34	0,94 - 1,23	3,12 - 3,78
#MONO (10 ⁹ /l)	408	0,38	◇ 0,22 - 0,71	0,19 - 0,23	0,65 - 0,84
#EOS (10 ⁹ /l)	408	0,13	◇ 0,03 - 0,46	0,02 - 0,04	0,41 - 0,53
#BASO (10 ⁹ /l)	408	0,05	◇ 0,02 - 0,12	0,01 - 0,02	0,11 - 0,12

Fortsetzung Tabelle B1

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
#LUC (10 ⁹ /l)	408	0,14	◇ 0,07 - 0,29	0,06 - 0,07	0,26 - 0,35
%NEUT (%)	408	57,2	◇ 40,5 - 73,0	35,8 - 43,3	71,8 - 74,9
%LYM (%)	408	30,5	◇ 17,2 - 45,2	14,4 - 18,5	44,1 - 48,1
%MONO (%)	408	6,0	◇ 3,7 - 10,0	3,2 - 4,0	9,4 - 10,8
%EOS (%)	408	2,0	◇ 0,5 - 6,5	0,3 - 0,6	6,1 - 7,7
%BASO (%)	408	0,7	◇ 0,3 - 1,6	0,2 - 0,3	1,5 - 2,0
%LUC (%)	408	2,2	◇ 1,1 - 4,1	1,0 - 1,2	3,9 - 4,9

KI = Konfidenzintervall; ■ = männlich; ■ = weiblich; ◇ = beide Geschlechter

Tabelle B2: Referenzbereiche für das Analysensystem CD-Sapphire

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
RBC (10 ¹² /l)	203	5,14	♂ 4,46 - 5,83	4,18 - 4,59	5,77 - 6,24
	219	4,58	♀ 4,01 - 5,25	3,78 - 4,08	5,14 - 5,59
RBC-O (10 ¹² /l)	157	4,91	♂ 4,24 - 5,49	3,92 - 4,34	5,42 - 5,82
	190	4,38	♀ 3,83 - 4,97	3,72 - 3,85	4,91 - 5,27
HGB (g/dl)	203	15,6	♂ 13,8 - 17,6	13,1 - 14,2	17,1 - 18,7
	219	13,9	♀ 12,4 - 15,7	11,8 - 12,6	15,4 - 16,6
HCT (l/l)	203	46,5	♂ 0,41 - 0,53	0,40 - 0,42	0,52 - 0,56
	219	41,4	♀ 0,36 - 0,48	0,35 - 0,37	0,47 - 0,50
MCV (fl)	422	90,9	◇ 83,7 - 97,9	78,9 - 81,1	93,1 - 96,4
MCH (pg)	422	30,3	◇ 27,6 - 33,6	27,3 - 27,8	33,4 - 34,0
MCHC (g/dl)	203	33,4	♂ 31,9 - 35,5	31,7 - 32,1	35,3 - 36,7
	219	33,2	♀ 31,9 - 36,2	31,5 - 32,0	35,3 - 38,6
RDW (%)	422	11,6	◇ 10,7 - 13,0	10,6 - 10,8	12,8 - 13,6
PLT (10 ⁹ /l)	203	237	♂ 157 - 346	123 - 182	329 - 412
	219	281	♀ 182 - 418	158 - 193	391 - 474
PLT-O (10 ⁹ /l)	203	219	♂ 141 - 334	115 - 160	305 - 382
	219	258	♀ 167 - 387	152 - 175	360 - 426
MPV (fl)	422	7,8	◇ 6,4 - 10,1	6,3 - 6,6	9,7 - 10,4
PDW (%)	422	16,1	◇ 15,0 - 17,5	14,9 - 15,1	17,3 - 17,8
PCT (%)	203	0,18	♂ 0,12 - 0,24	0,11 - 0,13	0,23 - 0,26
	219	0,20	♀ 0,13 - 0,29	0,12 - 0,14	0,28 - 0,32
#RET (10 ⁹ /l)	203	65,6	♂ 33,8 - 116,0	27,6 - 38,1	111,0 - 140,0
	217	59,7	♀ 30,6 - 111,4	27,5 - 33,5	95,6 - 131,0
%RET (%)	420	1,29	◇ 0,67 - 2,40	0,63 - 0,71	2,12 - 2,56
IRF (%)	420	25,2	◇ 15,6 - 37,4	14,5 - 16,4	36,5 - 39,3
WBC (10 ⁹ /l)	422	6,19	◇ 3,95 - 10,94	3,84 - 4,03	10,10 - 12,30
#NEUT (10 ⁹ /l)	422	3,55	◇ 1,79 - 7,35	1,57 - 1,93	6,99 - 8,43
#LYM (10 ⁹ /l)	422	1,98	◇ 1,51 - 3,61	1,04 - 1,25	3,25 - 3,75
#MONO (10 ⁹ /l)	422	0,50	◇ 0,28 - 0,91	0,24 - 0,29	0,84 - 1,02
#EOS (10 ⁹ /l)	422	0,13	◇ 0,04 - 0,47	0,03 - 0,04	0,41 - 0,57
#BASO (10 ⁹ /l)	422	0,04	◇ 0,01 - 0,09	0,01 - 0,01	0,08 - 0,09
%NEUT (%)	422	56,6	◇ 38,6 - 71,8	35,7 - 41,1	70,8 - 73,3
%LYM (%)	422	31,9	◇ 18,1 - 47,6	15,3 - 19,6	46,8 - 50,6
%MONO (%)	422	7,9	◇ 4,4 - 13,1	4,1 - 4,9	12,3 - 14,5
%EOS (%)	422	2,1	◇ 0,6 - 6,8	0,3 - 0,7	6,1 - 7,8
%BASO (%)	422	0,6	◇ 0,1 - 1,4	0,1 - 0,1	1,4 - 1,6

Fortsetzung Tabelle B2

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
WVF (%)	422	99,3	◇ 98,2 - 99,8	97,9 - 98,3	99,8 - 99,8

KI = Konfidenzintervall; ♀ = männlich; ♀ = weiblich; ◇ = beide Geschlechter

Tabelle B3: Referenzbereiche für das Analysensystem XT-2000i

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
RBC (10 ¹² /l)	203	5,20	♂ 4,53 - 5,92	4,38 - 4,66	5,86 - 6,20
	219	214	♀ 4,10 - 5,37	4,08 - 4,15	5,18 - 5,59
RBC-O (10 ¹² /l)	203	5,09	♂ 4,42 - 5,71	4,35 - 4,49	5,68 - 6,12
	219	4,53	♀ 4,01 - 5,15	3,96 - 4,07	5,04 - 5,40
HGB (g/dl)	203	15,8	♂ 13,9 - 17,8	13,1 - 14,2	17,4 - 18,8
	219	14,0	♀ 12,4 - 16,1	11,9 - 12,6	15,6 - 16,8
HCT (l/l)	203	0,46	♂ 0,41 - 0,53	0,41 - 0,42	0,51 - 0,55
	219	0,42	♀ 0,37 - 0,48	0,35 - 0,37	0,46 - 0,50
MCV (fl)	422	89,0	◇ 81,6 - 97,3	79,5 - 82,5	95,9 - 99,1
MCH (pg)	422	30,2	◇ 27,6 - 32,9	27,1 - 27,8	32,6 - 33,4
MCHC (g/dl)	203	34,3	♂ 32,6 - 36,0	32,0 - 32,8	35,7 - 36,4
	219	33,6	♀ 32,1 - 35,1	31,5 - 32,4	35,0 - 36,2
RDW (%)	422	13,1	◇ 12,1 - 15,1	12,0 - 12,1	14,9 - 15,5
RDWSD (fl)	422	41,9	◇ 38,0 - 48,6	37,5 - 38,2	48,1 - 49,9
PLT (10 ⁹ /l)	203	235	♂ 157 - 354	125 - 176	330 - 386
	219	268	♀ 181 - 404	161 - 188	381 - 467
PLT-O (10 ⁹ /l)	203	250	♂ 166 - 392	141 - 185	352 - 420
	219	287	♀ 188 - 441	171 - 205	415 - 493
MPV (fl)	421	10,5	◇ 9,3 - 12,2	9,0 - 9,3	12,1 - 12,7
PDW (%)	421	12,3	◇ 9,9 - 16,8	9,7 - 10,1	16,3 - 17,8
PLCR (%)	421	28,9	◇ 19,0 - 41,5	17,5 - 19,9	39,9 - 43,7
PCT (%)	202	0,25	♂ 0,18 - 0,34	0,14 - 0,19	0,33 - 0,41
	219	0,28	♀ 0,19 - 0,40	0,18 - 0,21	0,39 - 0,47
#RET (10 ⁹ /l)	203	49,2	♂ 26,6 - 91,8	21,6 - 28,1	83,1 - 102,8
	219	41,7	♀ 19,6 - 80,9	18,3 - 22,4	74,7 - 103,2
%RET (%)	422	0,93	◇ 0,45 - 1,69	0,43 - 0,49	1,64 - 1,97
LFR (%)	422	96,0	◇ 88,4 - 99,3	87,0 - 89,1	99,1 - 99,5
MFR (%)	422	3,8	◇ 0,7 - 10,5	0,4 - 0,8	10,0 - 11,1
HFR (%)	422	0,0	◇ 0,0 - 1,5	0,0 - 0,0	1,4 - 1,8
IRF (%)	422	4,0	◇ 0,7 - 11,6	0,5 - 0,9	10,9 - 13,0
WBC (10 ⁹ /l)	422	6,08	◇ 3,81 - 10,50	3,72 - 4,00	9,91 - 12,00
#NEUT (10 ⁹ /l)	422	3,48	◇ 1,76 - 7,14	1,51 - 1,87	6,66 - 8,09
#LYM (10 ⁹ /l)	422	1,86	◇ 1,13 - 3,45	1,01 - 1,17	3,11 - 3,64
#MONO (10 ⁹ /l)	422	0,55	◇ 0,29 - 1,02	0,28 - 0,32	0,95 - 1,12
#EOS (10 ⁹ /l)	422	0,12	◇ 0,03 - 0,43	0,02 - 0,03	0,39 - 0,54
#BASO (10 ⁹ /l)	422	0,03	◇ 0,01 - 0,07	0,01 - 0,01	0,06 - 0,09

Fortsetzung Tabelle B3

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
%NEUT (%)	422	56,9	◇ 38,3 - 71,4	34,1 - 40,9	70,7 - 73,7
%LYM (%)	422	30,8	◇ 16,9 - 47,4	14,6 - 18,0	45,4 - 49,7
%MONO (%)	422	9,0	◇ 5,5 - 14,5	4,8 - 5,7	14,0 - 15,4
%EOS (%)	422	2,0	◇ 0,4 - 6,9	0,3 - 0,5	6,1 - 8,0
%BASO (%)	422	0,4	◇ 0,1 - 1,1	0,1 - 0,2	1,1 - 1,4

KI = Konfidenzintervall; ♀ = männlich; ♀ = weiblich; ◇ = beide Geschlechter

Tabelle B4: Referenzbereiche für das Analysensystem XE-2100

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
RBC (10 ¹² /l)	203	5,13	♂ 4,52 - 5,81	4,41 - 4,60	5,73 - 6,07
	219	4,60	♀ 4,12 - 5,24	4,03 - 4,15	5,08 - 5,41
RBC-O (10 ¹² /l)	203	5,26	♂ 4,56 - 6,03	4,47 - 4,60	5,96 - 6,51
	219	4,65	♀ 4,12 - 5,36	4,07 - 4,16	5,25 - 5,57
HGB (g/dl)	203	15,6	♂ 13,8 - 17,7	13,1 - 14,1	17,4 - 18,8
	219	13,8	♀ 12,3 - 15,9	11,8 - 12,4	15,3 - 16,5
HCT (l/l)	203	0,46	♂ 0,41 - 0,53	0,41 - 0,42	0,51 - 0,54
	219	0,41	♀ 0,37 - 0,47	0,35 - 0,38	0,46 - 0,49
MCV (fl)	422	89,6	◇ 82,7 - 97,2	80,6 - 83,7	96,0 - 99,0
MCH (pg)	422	30,3	◇ 27,6 - 32,9	27,4 - 27,9	32,7 - 33,1
MCHC (g/dl)	203	34,1	♂ 31,8 - 35,6	32,1 - 32,8	35,6 - 35,8
	219	33,3	♀ 31,8 - 35,3	31,1 - 32,1	34,7 - 35,6
RDW (%)	422	13,1	◇ 12,2 - 15,0	12,1 - 12,2	14,8 - 15,3
RDWSD (fl)	422	42,7	◇ 38,6 - 48,9	37,8 - 39,2	48,6 - 49,6
PLT (10 ⁹ /l)	203	226	♂ 155 - 328	125 - 168	313 - 382
	219	267	♀ 178 - 394	164 - 190	374 - 449
PLT-O (10 ⁹ /l)	203	225	♂ 152 - 338	132 - 171	313 - 369
	219	262	♀ 183 - 397	157 - 187	370 - 431
MPV (fl)	421	10,7	◇ 9,5 - 12,6	9,3 - 9,6	12,4 - 13,3
PDW (%)	421	12,9	◇ 10,5 - 17,3	10,1 - 10,7	16,8 - 18,5
PLCR (%)	421	31,3	◇ 20,2 - 46,1	18,2 - 21,5	44,8 - 50,9
PCT (%)	202	0,25	♂ 0,18 - 0,35	0,15 - 0,19	0,32 - 0,39
	219	0,28	♀ 0,20 - 0,41	0,19 - 0,20	0,38 - 0,49
#RET (10 ⁹ /l)	203	42,0	♂ 21,8 - 74,5	16,5 - 25,6	68,9 - 89,4
	219	35,0	♀ 17,7 - 69,7	15,2 - 19,4	63,6 - 91,8
%RET (%)	422	0,80	◇ 0,41 - 1,42	0,37 - 0,43	1,35 - 1,80
LFR (%)	422	95,0	◇ 87,8 - 98,9	86,7 - 88,9	98,7 - 11,9
MFR (%)	422	4,7	◇ 1,1 - 11,2	0,7 - 1,2	9,8 - 1
HFR (%)	422	0,4	◇ 0,0 - 1,5	0,0 - 0,0	1,4 - 1,7
IRF (%)	422	5,0	◇ 1,1 - 12,2	0,9 - 1,3	11,1 - 13,3
Ret-He (pg)	203	33,6	♂ 30,8 - 36,4	28,9 - 31,2	35,9 - 37,3
	219	33,0	♀ 30,1 - 36,2	26,6 - 30,5	35,6 - 37,1
WBC (10 ⁹ /l)	422	6,13	◇ 3,89 - 10,63	3,60 - 3,98	10,12 - 11,83
#NEUT (10 ⁹ /l)	422	3,50	◇ 1,77 - 7,20	1,37 - 1,94	6,78 - 8,26
#LYM (10 ⁹ /l)	422	1,95	◇ 1,16 - 3,43	1,05 - 1,25	3,26 - 3,65
#MONO (10 ⁹ /l)	422	0,47	◇ 0,25 - 0,93	0,24 - 0,27	0,85 - 1,03

Fortsetzung Tabelle B4

Parameter	Anzahl	Median	Referenzbereich (2,5. - 97,5. Perzentile)	90%-KI für untere Referenzbereichs- grenze	90%-KI für obere Referenzbereichs- grenze
#EOS (10 ⁹ /l)	422	0,12	◇ 0,03 - 0,44	0,02 - 0,03	0,39 - 0,51
#BASO (10 ⁹ /l)	422	0,03	◇ 0,01 - 0,08	0,01 - 0,01	0,07 - 0,09
%NEUT (%)	422	56,5	◇ 38,7 - 72,0	34,8 - 40,2	71,0 - 74,0
%LYM (%)	422	32,3	◇ 18,3 - 48,6	15,9 - 19,4	46,6 - 50,4
%MONO (%)	422	7,6	◇ 4,5 - 13,7	4,1 - 4,7	13,1 - 14,5
%EOS (%)	422	2,0	◇ 0,5 - 6,8	0,4 - 0,6	6,1 - 7,3
%BASO (%)	422	0,4	◇ 0,1 - 1,3	0,1 - 0,2	1,1 - 1,7

KI = Konfidenzintervall; ■ = männlich; ■ = weiblich; ◇ = beide Geschlechter

Tabelle B5: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von ADVIA 120 gemessenen Parameter

Parameter	Messpaare	Mittelwert Messung 1	Mittelwert Messung 2	Abweichung absolut	Abweichung relativ (%)	p-Wert (Wilcoxon-Test)
RBC-O (10 ¹² /l)	343	4,98	4,98	- 0,01	- 0,1	n. s.
HGB (g/dl)	343	15,0	15,0	0,0	+ 0,1	< 0,05
HCT (l/l)	343	0,43	0,45	+ 0,02	+ 4,7	< 0,001
MCV (fl)	343	86,9	91,1	+ 4,2	+ 4,8	< 0,001
MCH (pg)	343	30,1	30,2	+ 0,1	+ 0,2	n. s.
MCHC (g/dl)	343	34,7	33,2	- 1,5	- 4,3	< 0,001
CHCM (g/dl)	343	34,6	32,0	- 2,6	- 7,6	< 0,001
RDW (%)	343	12,4	12,6	+ 0,2	+ 1,6	< 0,001
PLT-O (10 ⁹ /l)	343	254	229	- 25	- 9,8	< 0,001
MPV (fl)	343	9,7	11,2	+ 1,5	+ 15,5	< 0,001
PDW (%)	343	50,0	47,3	- 2,7	- 5,4	< 0,001
PCT (%)	343	0,24	0,26	+ 0,01	+ 4,4	< 0,001
#RET (10 ⁹ /l)	342	59,9	51,8	- 8,0	- 13,4	< 0,001
%RET (%)	342	1,20	1,04	- 0,16	- 13,2	< 0,001
L-RTC (%)	342	90,3	86,7	- 3,6	- 4,0	< 0,001
M-RTC (%)	342	8,6	10,6	+ 2,0	+ 22,8	< 0,001
H-RTC (%)	342	1,1	2,7	+ 1,6	+ 143,7	< 0,001
CHr (pg)	342	32,4	31,6	- 0,8	- 2,4	< 0,001
WBC-B (10 ⁹ /l)	343	6,59	6,54	- 0,06	- 0,9	< 0,001
WBC-P (10 ⁹ /l)	343	6,51	6,67	+ 0,16	+ 2,5	< 0,001
#NEUT (10 ⁹ /l)	340	3,89	3,89	0,00	+ 0,1	n. s.
#LYM (10 ⁹ /l)	340	1,94	1,86	- 0,08	- 4,1	< 0,001
#MONO (10 ⁹ /l)	340	0,41	0,45	+ 0,04	+ 10,7	< 0,001
#EOS (10 ⁹ /l)	340	0,15	0,13	- 0,02	- 15,3	< 0,001
#BASO (10 ⁹ /l)	340	0,05	0,06	0,00	+ 8,2	< 0,001
#LUC (10 ⁹ /l)	340	0,15	0,14	0,00	- 1,5	< 0,01
%NEUT (%)	340	58,0	58,5	+ 0,6	+ 1,0	< 0,001
%LYM (%)	340	30,3	29,3	- 1,0	- 3,3	< 0,001
%MONO (%)	340	6,3	7,0	+ 0,7	+ 11,5	< 0,001
%EOS (%)	340	2,4	2,0	- 0,3	- 14,7	< 0,001
%BASO (%)	340	0,8	0,9	+ 0,1	+ 8,3	< 0,001
%LUC (%)	340	2,3	2,3	0,0	- 1,0	< 0,05

In die Spalten 3 bis 6 wurden die bereits in EXCEL gerundeten Ergebnisse übertragen; n. s. = nicht signifikant

Tabelle B6: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von CD-Sapphire gemessenen Parameter

Parameter	Messpaare	Mittelwert Messung 1	Mittelwert Messung 2	Abweichung absolut	Abweichung relativ (%)	p-Wert (Wilcoxon-Test)
RBC (10 ¹² /l)	389	4,85	4,89	+ 0,03	+ 0,7	< 0,001
RBC-O (10 ¹² /l)	389	4,62	4,63	+ 0,01	+ 0,2	n. s.
HGB (g/dl)	389	14,7	14,7	0,0	+ 0,2	< 0,01
HCT (l/l)	389	0,44	0,46	+ 0,02	+ 5,5	< 0,001
MCV (fl)	389	90,8	95,1	+ 4,3	+ 4,8	< 0,001
MCH (pg)	389	30,3	30,2	- 0,1	- 0,4	< 0,01
MCHC (g/dl)	389	33,4	31,7	- 1,7	- 5,0	< 0,001
RDW (%)	389	11,6	12,2	+ 0,6	+ 5,4	< 0,001
PLT (10 ⁹ /l)	389	267	269	+ 1	+ 0,5	< 0,05
PLT-O (10 ⁹ /l)	389	245	214	- 31	- 12,6	< 0,001
MPV (fl)	389	7,9	8,0	0,0	+ 0,4	n. s.
PDW (fl)	389	16,1	16,1	- 0,1	- 0,5	n. s.
PCT (%)	389	0,19	0,17	- 0,02	- 12,0	< 0,001
#RET (10 ⁹ /l)	387	64,6	59,5	- 5,1	- 7,9	< 0,001
%RET (%)	387	1,34	1,22	- 0,11	- 8,4	< 0,001
IRF (%)	387	25,6	24,7	- 0,9	- 3,4	< 0,001
WBC (10 ⁹ /l)	389	6,55	6,55	0,00	0,0	n. s.
#NEUT (10 ⁹ /l)	389	3,79	3,85	+ 0,06	+ 1,6	< 0,001
#LYM (10 ⁹ /l)	389	2,05	2,02	- 0,03	- 1,4	< 0,001
#MONO (10 ⁹ /l)	389	0,52	0,54	+ 0,02	+ 3,9	< 0,001
#EOS (10 ⁹ /l)	389	0,16	0,10	- 0,05	- 33,1	< 0,001
#BASO (10 ⁹ /l)	389	0,04	0,04	0,00	- 5,0	< 0,05
%NEUT (%)	389	56,8	57,7	+ 0,9	+ 1,6	< 0,001
%LYM (%)	389	32,0	31,7	- 0,4	- 1,2	< 0,001
%MONO (%)	389	8,1	8,4	+ 0,3	+ 3,8	< 0,001
%EOS (%)	389	2,4	1,6	- 0,8	- 32,8	< 0,001
%BASO (%)	389	0,7	0,6	0,0	- 4,5	< 0,05
WVF (%)	389	99,2	78,1	- 21,1	- 21,3	< 0,001

In die Spalten 3 bis 6 wurden die bereits in EXCEL gerundeten Ergebnisse übertragen; n. s. = nicht signifikant

Tabelle B7: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von XT-2000i gemessenen Parameter

Parameter	Messpaare	Mittelwert Messung 1	Mittelwert Messung 2	Abweichung absolut	Abweichung relativ (%)	p-Wert (Wilcoxon-Test)
RBC (10 ¹² /l)	398	4,92	4,91	- 0,01	- 0,2	< 0,001
RBC-O (10 ¹² /l)	398	4,80	4,80	0,00	- 0,1	n. s.
HGB (g/dl)	398	14,9	14,9	0,0	0,0	n. s.
HCT (l/l)	398	0,44	0,47	+ 0,03	+ 6,6	< 0,001
MCV (fl)	398	89,1	95,1	+ 6,0	+ 6,8	< 0,001
MCH (pg)	398	30,2	30,3	+ 0,1	+ 0,2	< 0,01
MCHC (g/dl)	398	34,0	31,9	- 2,1	- 6,2	< 0,001
RDW (%)	398	13,2	14,2	+ 1,0	+ 7,9	< 0,001
RDWSD (fl)	398	42,3	48,8	+ 6,5	+ 15,3	< 0,001
PLT (10 ⁹ /l)	398	259	259	0,0	+ 0,1	n. s.
PLT-O (10 ⁹ /l)	398	278	272	- 6	- 2,0	< 0,001
MPV (fl)	397	10,6	10,8	+ 0,2	+ 1,6	< 0,001
PDW (fl)	397	12,6	12,8	+ 0,2	+ 1,5	< 0,001
PLCR (%)	397	29,5	30,9	+ 1,4	+ 4,9	< 0,001
PCT (%)	397	0,27	0,28	0,00	+ 1,6	< 0,001
#RET (10 ⁹ /l)	398	47,5	42,8	- 4,7	- 9,9	< 0,001
%RET (%)	398	0,97	0,87	- 0,09	- 9,5	< 0,001
LFR (%)	398	95,5	95,0	- 0,5	- 0,6	< 0,001
MFR (%)	398	4,2	4,7	+ 0,5	+ 11,3	< 0,001
HFR (%)	398	0,3	0,4	+ 0,1	+ 21,5	< 0,01
WBC (10 ⁹ /l)	398	6,43	6,47	+ 0,05	+ 0,7	n. s.
#NEUT (10 ⁹ /l)	398	3,71	3,85	+ 0,13	+ 3,6	< 0,001
#LYM (10 ⁹ /l)	398	1,96	1,92	- 0,04	- 2,2	< 0,001
#MONO (10 ⁹ /l)	398	0,57	0,53	- 0,05	- 7,9	< 0,001
#EOS (10 ⁹ /l)	398	0,15	0,15	0,00	- 0,6	n. s.
#BASO (10 ⁹ /l)	398	0,03	0,03	0,00	+ 1,6	n. s.
%NEUT (%)	398	56,7	58,3	+ 1,7	+ 2,9	< 0,001
%LYM (%)	398	31,3	30,5	- 0,9	- 2,8	< 0,001
%MONO (%)	398	9,1	8,4	- 0,7	- 8,1	< 0,001
%EOS (%)	398	2,3	2,3	0,0	- 1,0	n. s.
%BASO (%)	398	0,5	0,5	0,0	+ 1,5	n. s.

In die Spalten 3 bis 6 wurden die bereits in EXCEL gerundeten Ergebnisse übertragen; n. s. = nicht signifikant

Tabelle B8: Einfluss der Lagerungsdauer auf die von XE-2100 gemessenen Parameter

Parameter	Messpaare	Mittelwert Messung 1	Mittelwert Messung 2	Abweichung absolut	Abweichung relativ (%)	p-Wert (Wilcoxon-Test)
RBC (10 ¹² /l)	393	4,86	4,85	0,0	0,0	n. s.
RBC-O (10 ¹² /l)	393	4,95	4,95	+ 0,01	+ 0,1	n. s.
HGB (g/dl)	393	14,7	14,7	0,0	0,0	n. s.
HCT (l/l)	393	0,43	0,46	+ 0,03	+ 6,7	< 0,001
MCV (fl)	393	89,9	95,8	+ 6,0	+ 6,7	< 0,001
MCH (pg)	393	30,2	30,2	0,0	0,0	n. s.
MCHC (g/dl)	393	33,7	31,6	- 2,1	- 6,3	< 0,001
RDW (%)	393	13,2	14,2	+ 1,1	+ 8,0	< 0,001
RDWSD (fl)	393	43,2	49,7	+ 6,6	+ 15,3	< 0,001
PLT (10 ⁹ /l)	393	252	257	+ 5	+ 1,8	< 0,001
PLT-O (10 ⁹ /l)	393	253	240	- 13	- 5,2	< 0,001
MPV (fl)	391	10,9	11,0	+ 0,2	+ 1,6	< 0,001
PDW (fl)	391	13,2	13,4	+ 0,2	+ 1,4	< 0,001
PLCR (%)	391	32,1	33,7	+ 1,5	+ 4,8	< 0,001
PCT (%)	391	0,27	0,28	+ 0,01	+ 3,6	< 0,001
#RET (10 ⁹ /l)	393	40,7	37,4	- 3,3	- 8,0	< 0,001
%RET (%)	393	0,84	0,77	- 0,07	- 7,9	< 0,001
LFR (%)	393	94,6	94,1	- 0,4	- 0,4	< 0,01
MFR (%)	393	5,0	5,4	+ 0,4	+ 7,8	< 0,001
HFR (%)	393	0,5	0,5	+ 0,0	+ 4,0	n. s.
Ret-He (pg)	393	33,3	33,1	- 0,2	- 0,5	< 0,001
WBC (10 ⁹ /l)	393	6,45	6,46	+ 0,01	+ 0,2	n. s.
#NEUT (10 ⁹ /l)	393	3,73	3,72	+ 0,09	+ 2,4	< 0,001
#LYM (10 ⁹ /l)	393	2,03	1,99	- 0,04	- 2,0	< 0,001
#MONO (10 ⁹ /l)	393	0,50	0,47	- 0,04	- 7,0	< 0,001
#EOS (10 ⁹ /l)	393	0,15	0,15	0,00	- 1,2	n. s.
#BASO (10 ⁹ /l)	393	0,03	0,03	0,00	+ 0,1	n. s.
%NEUT (%)	393	56,7	58,0	+ 1,3	+ 2,2	< 0,001
%LYM (%)	393	32,4	31,8	- 0,7	- 2,0	< 0,001
%MONO (%)	393	8,0	7,4	- 0,6	- 7,1	< 0,001
%EOS (%)	393	2,3	2,3	0,0	- 1,1	n. s.
%BASO (%)	393	0,5	0,5	0,0	- 0,8	n. s.

In die Spalten 3 bis 6 wurden die bereits in EXCEL gerundeten Ergebnisse übertragen; n. s. = nicht signifikant

Tabelle B9: Wiederholpräzision des ADVIA 120 bei 21-facher Messung einer Blutprobe

Parameter	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient (%)
RBC-O (10 ¹² /l)	4,39	0,06	1,4
HGB (g/dl)	12,8	0,12	1,0
HCT (l/l)	0,37	0,01	1,5
MCV (fl)	83,7	0,75	0,9
MCH (pg)	29,2	0,28	1,0
MCHC (g/dl)	34,9	0,44	1,3
CHCM (g/dl)	36,7	0,47	1,3
RDW (%)	14,1	0,08	0,5
PLT-O (10 ⁹ /l)	231	6,62	2,9
MPV (fl)	9,9	0,20	2,0
PDW (%)	55,3	2,51	4,5
PCT (%)	0,23	0,01	3,9
#RET (10 ⁹ /l)	42,2	4,59	10,9
%RET (%)	0,96	0,10	10,5
L-RTC (%)	92,6	2,26	2,4
M-RTC (%)	6,8	2,21	32,8
H-RTC (%)	0,6	0,60	95,5
CHr (pg)	34,2	0,38	1,1
WBC-B (10 ⁹ /l)	6,28	0,18	2,8
WBC-P (10 ⁹ /l)	6,53	0,20	3,1
#NEUT (10 ⁹ /l)	4,02	0,13	3,2
#LYM (10 ⁹ /l)	1,56	0,06	4,0
#MONO (10 ⁹ /l)	0,39	0,02	6,4
#EOS (10 ⁹ /l)	0,14	0,01	9,7
#BASO (10 ⁹ /l)	0,04	0,01	19,7
#LUC (10 ⁹ /l)	0,12	0,02	17,4
%NEUT (%)	64,1	0,45	0,7
%LYM (%)	24,9	0,74	3,0
%MONO (%)	6,2	0,40	6,4
%EOS (%)	2,3	0,20	8,9
%BASO (%)	0,6	0,13	20,2
%LUC (%)	1,9	0,33	17,5

Tabelle B10: Wiederholpräzision des CD-Sapphire bei 21-facher Messung einer Blutprobe

Parameter	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient (%)
RBC (10 ¹² /l)	4,35	0,03	0,7
RBC-O (10 ¹² /l)	4,19	0,03	0,7
HGB (g/dl)	13,0	0,11	0,8
HCT (l/l)	0,39	0,003	0,8
MCV (fl)	90,0	0,23	0,2
MCH (pg)	29,8	0,38	1,3
MCHC (g/dl)	33,1	0,47	1,4
RDW (%)	13,3	0,07	0,5
PLT (10 ⁹ /l)	243	6,05	2,5
PLT-O (10 ⁹ /l)	211	4,43	2,1
MPV (fl)	8,3	0,10	1,2
PDW (fl)	15,8	0,62	3,9
PCT (%)	0,18	0,004	2,3
#RET (10 ⁹ /l)	34,0	2,07	6,1
%RET (%)	0,78	0,05	6,1
IRF (%)	21,4	2,50	11,7
WBC (10 ⁹ /l)	6,31	0,16	2,5
#NEUT (10 ⁹ /l)	3,92	0,10	2,7
#LYM (10 ⁹ /l)	1,69	0,08	5,0
#MONO (10 ⁹ /l)	0,48	0,04	7,5
#EOS (10 ⁹ /l)	0,16	0,02	11,1
#BASO (10 ⁹ /l)	0,05	0,01	23,5
%NEUT (%)	62,1	0,86	1,4
%LYM (%)	26,8	0,96	3,6
%MONO (%)	7,7	0,57	7,5
%EOS (%)	2,6	0,30	11,5
%BASO (%)	0,8	0,20	23,2
WVF (%)	98,5	0,01	0,6

Tabelle B11: Wiederholpräzision des XT-2000i bei 21-facher Messung einer Blutprobe

Parameter	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient (%)
RBC (10 ¹² /l)	4,37	0,03	0,6
RBC-O (10 ¹² /l)	4,34	0,10	2,3
HGB (g/dl)	12,8	0,10	0,8
HCT (l/l)	0,37	0,003	0,7
MCV (fl)	85,2	0,30	0,4
MCH (pg)	29,3	0,30	1,0
MCHC (g/dl)	34,4	0,35	1,0
RDW (%)	15,0	0,07	0,5
RDWSD (fl)	45,5	0,39	0,9
PLT (10 ⁹ /l)	234	3,91	1,7
PLT-O (10 ⁹ /l)	238	9,37	3,9
MPV (fl)	10,9	0,15	1,4
PDW (fl)	12,5	0,36	2,9
PLCR (%)	31,2	0,79	2,5
PCT (%)	0,25	0,01	2,7
#RET (10 ⁹ /l)	28,8	3,27	11,4
%RET (%)	0,66	0,07	11,2
LFR (%)	94,6	1,50	1,6
MFR (%)	4,9	1,57	32,2
HFR (%)	0,5	0,63	122,1
WBC (10 ⁹ /l)	6,11	0,15	2,5
#NEUT (10 ⁹ /l)	3,81	0,11	2,8
#LYM (10 ⁹ /l)	1,56	0,05	3,1
#MONO (10 ⁹ /l)	0,57	0,04	7,1
#EOS (10 ⁹ /l)	0,14	0,02	13,7
#BASO (10 ⁹ /l)	0,03	0,01	22,7
%NEUT (%)	62,4	0,64	1,0
%LYM (%)	25,5	0,67	2,6
%MONO (%)	9,3	0,51	5,5
%EOS (%)	2,3	0,34	14,7
%BASO (%)	0,5	0,13	26,3

Tabelle B12: Wiederholpräzision des XE-2100 bei 21-facher Messung einer Blutprobe

Parameter	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient (%)
RBC (10 ¹² /l)	4,35	0,03	0,6
RBC-O (10 ¹² /l)	4,44	0,05	1,1
HGB (g/dl)	12,7	0,05	0,4
HCT (l/l)	0,37	0,003	0,9
MCV (fl)	85,1	0,33	0,4
MCH (pg)	29,2	0,19	0,6
MCHC (g/dl)	34,3	0,28	0,8
RDW (%)	14,9	0,07	0,5
RDWSD (fl)	46,5	0,29	0,8
PLT (10 ⁹ /l)	229	3,61	1,6
PLT-O (10 ⁹ /l)	223	5,69	2,6
MPV (fl)	10,9	0,20	1,9
PDW (fl)	12,7	0,27	2,1
PLCR (%)	31,6	1,04	3,3
PCT (%)	0,25	0,01	3,0
#RET (10 ⁹ /l)	25,1	1,84	7,4
%RET (%)	0,58	0,04	7,5
LFR (%)	92,2	1,88	2,0
MFR (%)	5,4	1,74	32,4
HFR (%)	0,4	0,38	92,0
Ret-He (pg)	33,1	0,58	1,8
WBC (10 ⁹ /l)	6,05	0,11	1,9
#NEUT (10 ⁹ /l)	3,76	0,06	1,6
#LYM (10 ⁹ /l)	1,62	0,07	4,1
#MONO (10 ⁹ /l)	0,49	0,05	9,3
#EOS (10 ⁹ /l)	0,14	0,02	11,2
#BASO (10 ⁹ /l)	0,03	0,01	27,2
%NEUT (%)	62,2	0,76	1,2
%LYM (%)	26,9	0,78	2,9
%MONO (%)	8,1	0,73	9,0
%EOS (%)	2,3	0,26	11,5
%BASO (%)	0,6	0,16	29,3

Tabelle B13: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem ADVIA 120 (Differenzialblutbild)

Parameter	Para Tech® Multiparameter Hämatologie-Kontrollen #030					
	Low (n = 36)		Normal (n = 36)		High (n = 36)	
	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)
RBC-O (10 ¹² /l)	2,34 (0,04)	1,7	4,36 (0,10)	2,3	5,28 (0,12)	2,3
HGB (g/dl)	5,9 (0,05)	0,8	12,1 (0,12)	1,0	16,8 (0,13)	0,8
HCT (l/l)	0,17(0,003)	2,0	0,35 (0,11)	3,1	0,46 (0,13)	2,7
MCV (fl)	71,7 (0,95)	1,3	79,3 (1,30)	1,6	87,5 (1,18)	1,3
MCH (pg)	25,4 (0,48)	1,9	27,7 (0,71)	2,6	31,8 (0,72)	2,3
MCHC (g/dl)	35,5 (0,79)	2,2	35,0 (1,16)	3,3	36,4 (1,00)	2,7
CHCM (g/dl)	33,2 (0,44)	1,3	33,1 (0,47)	1,4	33,0 (0,41)	1,2
RDW (%)	15,2 (0,23)	1,5	13,3 (0,16)	1,2	13,6 (0,25)	1,8
PLT-O (10 ⁹ /l)	86 (4,67)	5,5	228 (6,40)	2,8	474 (14,2)	3,0
MPV (fl)	9,0 (0,30)	3,3	8,8 (0,26)	2,9	8,8 (0,16)	1,8
WBC-B (10 ⁹ /l)	3,34 (0,18)	5,5	7,84 (0,36)	4,6	19,3 (0,90)	4,7
WBC-P (10 ⁹ /l)	3,40 (0,14)	4,0	6,87 (0,22)	2,8	20,1 (0,56)	2,8
%NEUT (%)	58,5 (1,62)	2,8	63,2 (1,06)	1,7	67,5 (1,26)	1,9
%LYM (%)	25,0 (0,86)	3,4	21,2 (0,90)	4,3	18,1 (0,84)	4,7
%MONO (%)	9,7 (1,10)	11,3	9,5 (0,78)	8,1	8,8 (0,89)	10,1
%EOS (%)	2,0 (0,33)	16,7	1,9 (0,19)	10,1	1,8 (0,15)	8,2
%BASO (%)	0,4 (0,13)	34,2	0,4 (0,11)	27,4	0,3 (0,07)	23,8
%LUC (%)	4,4 (0,59)	13,5	3,7 (0,31)	8,3	3,6 (0,27)	7,5

n = Anzahl; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; # Kontrollblutcharge

Tabelle B14: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem ADVIA 120 (Retikulozyten)

Parameter	TESTpoint™ Retikulozyten-Kontrollen			
	#91012 Low (n = 56)		#92022 High (n = 57)	
	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)
R-RBC (10 ¹² /l)	4,09 (0,07)	1,6	4,08 (0,67)	1,6
%RET (%)	1,29 (0,14)	11,2	4,14 (0,23)	5,4
CHr (pg)	27,4 (0,81)	3,0	25,3 (0,58)	2,3

n = Anzahl; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; # Kontrollblutcharge

Tabelle B15: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem CD-Sapphire

Parameter	CELL-DYN® 29 Plus Kontrollen mit Retikulozyten #60169					
	Low (n = 24)		Normal (n = 25)		High (n = 24)	
	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)
RBC (10 ¹² /l)	2,92 (0,06)	2,0	4,23 (0,08)	1,8	5,24 (0,08)	1,5
RBC-O (10 ¹² /l)	2,83 (0,05)	1,6	4,06 (0,06)	1,5	4,96 (0,05)	0,9
HGB (g/dl)	8,2 (0,05)	0,6	12,2 (0,08)	0,7	16,8 (0,11)	0,7
HCT (l/l)	0,23 (0,01)	2,6	0,34 (0,01)	2,3	0,47 (0,01)	2,1
MCV (fl)	78,1 (1,00)	1,3	79,5 (0,90)	1,1	88,8 (0,87)	1,0
MCH (pg)	28,1 (0,66)	2,3	28,7 (0,60)	2,1	32,1 (0,54)	1,7
MCHC (g/dl)	36,0 (1,00)	2,8	36,2 (0,88)	2,4	36,1 (0,78)	2,2
RDW (%)	14,4 (0,13)	0,9	14,2 (0,12)	0,9	13,2 (0,10)	0,8
PLT (10 ⁹ /l)	76 (3,18)	4,2	227 (7,29)	3,2	480 (9,44)	2,0
PLT-O (10 ⁹ /l)	65 (7,12)	11,0	187 (14,7)	7,9	406 (9,83)	2,4
MPV (fl)	9,3 (0,31)	3,4	8,1 (0,16)	1,9	7,7 (0,10)	1,2
PDW (fl)	15,1 (0,96)	6,4	15,4 (0,42)	2,7	15,9 (0,40)	2,5
PCT (%)	0,06 (0,01)	11,9	0,15 (0,01)	8,7	0,31 (0,01)	2,7
#RET (10 ⁹ /l)	236 (6,58)	2,8	152 (4,02)	2,7	82,5 (3,74)	4,5
%RET (%)	8,06 (0,20)	2,4	3,59 (0,08)	2,3	1,57 (0,06)	4,0
IRF (%)	52,0 (1,83)	3,5	46,0 (1,70)	3,7	38,2 (1,71)	4,5
WBC (10 ⁹ /l)	3,08 (0,09)	2,8	7,78 (0,14)	1,8	16,0 (0,23)	1,4
#NEUT (10 ⁹ /l)	1,73 (0,07)	3,9	4,54 (0,07)	1,6	10,2 (0,19)	1,8
#LYM (10 ⁹ /l)	1,06 (0,07)	7,0	2,33 (0,07)	3,0	3,34 (0,14)	4,3
#MONO (10 ⁹ /l)	0,21 (0,05)	22,5	0,72 (0,09)	12,8	1,90 (0,15)	7,7
#EOS (10 ⁹ /l)	0,05 (0,01)	17,8	0,16 (0,01)	8,2	0,40 (0,03)	6,7
#BASO (10 ⁹ /l)	0,03 (0,02)	94,6	0,04 (0,02)	61,3	0,08 (0,03)	41,6
%NEUT (%)	56,2 (1,39)	2,5	58,3 (1,05)	1,8	64,2 (0,83)	1,3
%LYM (%)	34,4 (2,08)	6,0	30,0 (0,86)	2,9	20,9 (0,85)	4,1
%MONO (%)	6,9 (1,59)	22,9	9,2 (1,05)	11,4	11,9 (0,90)	7,5
%EOS (%)	1,7 (0,30)	17,8	2,0 (0,29)	7,7	2,5 (0,16)	6,3
%BASO (%)	0,8 (0,80)	94,0	0,5 (0,29)	60,8	0,5 (0,21)	41,0

n = Anzahl; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; # Kontrollblutcharge

Tabelle B16: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem XT-2000i

Parameter	e-CHECK® Kontrollblut #602808					
	Level 1 (n = 19)		Level 2 (n = 21)		Level 3 (n = 19)	
	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)
RBC (10 ¹² /l)	2,36 (0,02)	0,7	4,37 (0,03)	0,7	5,25 (0,03)	0,6
RBC-O (10 ¹² /l)	2,48 (0,03)	1,3	4,52 (0,05)	1,2	5,43 (0,05)	0,9
HGB (g/dl)	6,0 (0,07)	1,1	12,7 (0,07)	0,6	16,9 (0,09)	0,5
HCT (l/l)	0,18 (0,00)	1,1	0,37 (0,00)	0,8	0,49 (0,00)	0,7
MCV (fl)	75,7 (0,46)	0,6	83,8 (0,46)	0,6	93,3 (0,65)	0,7
MCH (pg)	25,5 (0,32)	1,3	29,2 (0,28)	0,9	32,2 (0,22)	0,7
MCHC (g/dl)	33,7 (0,53)	1,6	34,8 (0,34)	1,0	34,5 (0,25)	0,7
RDW (%)	16,3 (0,13)	0,8	14,3 (0,08)	0,6	13,9 (0,09)	0,6
RDWSD (fl)	43,9 (0,38)	0,9	42,2 (0,30)	0,7	45,2 (0,45)	1,0
PLT (10 ⁹ /l)	58 (2,25)	3,9	212 (4,74)	2,2	478 (6,85)	1,4
PLT-O (10 ⁹ /l)	64 (6,08)	9,5	226 (11,7)	5,1	552 (10,3)	1,9
MPV (fl)	8,9 (0,15)	1,7	9,5 (0,09)	1,0	9,7 (0,08)	0,8
PDW (fl)	8,3 (0,35)	7,4	8,3 (0,15)	1,8	9,0 (0,14)	1,5
PLCR (%)	12,9 (0,96)	4,3	15,4 (0,52)	3,4	16,8 (0,54)	3,2
PCT (%)	0,05 (0,00)	6,2	0,20 (0,01)	2,7	0,46 (0,01)	1,1
#RET (10 ⁹ /l)	143 (6,26)	4,4	126 (6,57)	5,2	58,8 (3,81)	6,5
%RET (%)	6,04 (0,24)	4,0	2,88 (0,15)	5,1	1,12 (0,07)	6,2
LFR (%)	58,0 (2,03)	3,5	60,3 (2,20)	3,6	68,5 (2,36)	3,4
MFR (%)	32,3 (1,53)	4,7	30,1 (1,56)	5,2	23,8 (2,34)	9,8
HFR (%)	9,6 (0,74)	7,7	9,6 (1,17)	12,2	7,7 (1,38)	18,0
WBC (10 ⁹ /l)	2,43 (0,06)	2,4	6,60 (0,16)	2,4	16,7 (0,24)	1,4
#NEUT (10 ⁹ /l)	1,04 (0,05)	5,1	3,09 (0,09)	3,0	8,81 (0,20)	2,3
#LYM (10 ⁹ /l)	0,91 (0,04)	4,3	2,00 (0,07)	3,6	3,92 (0,12)	3,0
#MONO (10 ⁹ /l)	0,26 (0,03)	11,8	0,85 (0,06)	7,3	2,16 (0,12)	5,7
#EOS (10 ⁹ /l)	0,22 (0,02)	8,7	0,66 (0,05)	8,1	1,86 (0,11)	5,7
#BASO (10 ⁹ /l)	1,50 (0,05)	3,6	4,48 (0,10)	2,3	13,2 (0,25)	1,9
%NEUT (%)	42,7 (1,75)	4,1	46,7 (0,98)	2,1	52,6 (0,84)	1,6
%LYM (%)	37,3 (1,56)	4,2	30,3 (0,91)	3,0	23,4 (0,65)	2,8
%MONO (%)	10,8 (1,28)	11,8	12,9 (0,85)	6,6	12,9 (0,68)	5,3
%EOS (%)	9,1 (0,71)	7,8	10,1 (0,75)	7,4	11,1 (0,67)	6,0
%BASO (%)	61,8 (1,29)	2,1	67,9 (0,69)	1,0	79,1 (0,49)	0,6

n = Anzahl; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; # Kontrollblutcharge

Tabelle B17: Präzision von Serie zu Serie für das Analysensystem XE-2100

Parameter	e-CHECK® Kontrollblut #602808					
	Level 1 (n = 29)		Level 2 (n = 26)		Level 3 (n = 29)	
	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)	M (SD)	VK (%)
RBC (10 ¹² /l)	2,39 (0,02)	0,7	4,35 (0,04)	1,0	5,23 (0,03)	0,5
RBC-O (10 ¹² /l)	2,25 (0,03)	1,1	4,23 (0,05)	1,2	5,13 (0,07)	1,3
HGB (g/dl)	6,0 (0,06)	0,9	12,5 (0,13)	1,0	16,5 (0,09)	0,5
HCT (l/l)	0,18 (0,00)	0,9	0,37 (0,00)	1,1	0,48 (0,00)	0,7
MCV (fl)	75,5 (0,46)	0,6	84,1 (0,39)	0,5	92,1 (0,54)	0,6
MCH (pg)	25,2 (0,27)	1,1	28,8 (0,21)	0,7	32,1 (0,24)	0,7
MCHC (g/dl)	33,5 (0,40)	1,2	34,3 (0,23)	0,7	34,9 (0,20)	0,6
RDW (%)	15,9 (0,15)	0,9	14,0 (0,08)	0,6	13,7 (0,08)	0,6
RDWSD (fl)	43,6 (0,39)	0,9	42,4 (0,21)	0,5	45,7 (0,59)	1,3
PLT (10 ⁹ /l)	57 (1,84)	3,2	210 (3,81)	1,8	483 (5,50)	1,1
PLT-O (10 ⁹ /l)	63 (2,22)	3,5	221 (5,96)	2,7	510 (12,6)	2,5
MPV (fl)	9,1 (0,13)	1,4	9,6 (0,08)	0,8	9,8 (0,05)	0,5
PDW (fl)	8,5 (0,30)	3,5	9,1 (0,18)	2,0	9,8 (0,14)	1,4
PLCR (%)	14,0 (1,13)	8,1	17,5 (0,86)	4,9	20,5 (0,47)	2,3
PCT (%)	0,05 (0,00)	6,1	0,20 (0,00)	2,3	0,47 (0,01)	1,3
#RET (10 ⁹ /l)	159 (6,01)	3,8	143 (4,91)	3,4	68,5 (3,48)	5,1
%RET (%)	6,63 (0,26)	3,9	3,29 (0,10)	3,1	1,31 (0,07)	5,1
LFR (%)	66,8 (2,13)	3,2	69,1 (1,41)	2,0	72,8 (2,89)	4,0
MFR (%)	26,4 (1,80)	6,8	24,7 (1,36)	5,5	21,7 (2,36)	10,9
HFR (%)	6,8 (0,74)	11,0	6,2 (0,71)	11,4	5,5 (1,18)	21,5
Ret-He (pg)	21,4 (0,21)	1,0	22,2 (0,35)	1,6	23,8 (0,39)	1,6
WBC (10 ⁹ /l)	2,39 (0,06)	2,6	6,51 (0,13)	1,9	17,1 (0,17)	1,0
#NEUT (10 ⁹ /l)	1,02 (0,04)	4,2	3,07 (0,08)	2,7	8,88 (0,14)	1,6
#LYM (10 ⁹ /l)	0,92 (0,03)	3,4	2,13 (0,07)	3,1	4,39 (0,15)	3,4
#MONO (10 ⁹ /l)	0,22 (0,02)	9,9	0,67 (0,06)	9,4	1,91 (0,16)	8,2
#EOS (10 ⁹ /l)	0,22 (0,01)	6,4	0,64 (0,04)	6,2	1,91 (0,13)	7,0
#BASO (10 ⁹ /l)	1,47 (0,05)	3,2	4,51 (0,09)	2,1	13,2 (0,16)	1,2
%NEUT (%)	42,7 (1,23)	2,9	47,1 (0,84)	1,8	51,9 (0,72)	1,4
%LYM (%)	38,7 (1,03)	2,7	32,7 (0,94)	2,9	25,7 (0,82)	3,2
%MONO (%)	9,4 (0,95)	10,1	10,3 (0,90)	8,7	11,2 (0,92)	8,3
%EOS (%)	9,2 (0,58)	6,3	9,9 (0,63)	6,3	11,2 (0,75)	6,7
%BASO (%)	61,8 (1,60)	2,6	62,9 (1,01)	1,5	77,0 (0,46)	0,6

n = Anzahl; M = Mittelwert; SD = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient; # Kontrollblutcharge

Danksagung

Ich möchte mich bei allen Menschen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, recht herzlich bedanken

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. H. Baum, dem Ärztlichen Direktor des Zentrums für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie, Blutdepot und Krankenhaushygiene, Regionale Kliniken Holding RKH GmbH, Klinikum Ludwigsburg. Ihm danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, für seine erstklassige Betreuung, die schnellen Korrekturen, seine große Geduld und Unterstützung. Zudem ermöglichte er es mir, dass ich beim Gemeinsamen Kongress der ÖGKCLM/DGKL 2007 in Wien Ergebnisse meiner Arbeit auf einem Poster vorstellen durfte.

Bei Herrn Prof. emer. Dr. D. Neumeier - bis 12/2011 Ärztlicher Direktor des Instituts für Klinische Chemie und Pathobiochemie am Klinikum rechts der Isar - möchte ich mich herzlich bedanken. In seinem Institut wurden die Messungen durchgeführt. Während meines ersten PJ-Tertials habe ich mich dort sehr wohl gefühlt und konnte sehr viel lernen.

Den MTAs der Hämatologie im Institut für Klinische Chemie, allen voran Frau Scherzer und Frau Wittmann, möchte ich danke sagen für die ausführliche Einarbeitung in die Bedienung der Hämatologiegeräte, für das Messen der Blutproben und für ein jederzeit offenes Ohr bei Fragen und Problemen. Auch Frau Schafnitzl, leitende MTA des Hämatologielabors der 3. medizinischen Klinik, möchte ich danken.

Für das Bereitstellen der Blutproben von Erstspendern möchte ich mich bei Herrn Dr. Becker vom Amtlichen Blutspendedienst München in der Dachauerstrasse bedanken.

Ein ganz besonders herzlicher Dank gilt meinen Eltern Herbert und Rosemarie Blaha, meinem Mann Erwin, meinem Bruder Christoph und seiner Freundin Silvia. Sie haben mich während des Studiums und der Promotion in jeder Hinsicht immer voll unterstützt. Durch ihr Verständnis, ihre Motivation, ihren Glauben an mich und die liebevolle Betreuung meiner Kinder Amelie und Leopold wurde das Gelingen der vorliegenden Arbeit erst möglich.

Lebenslauf

■ Persönliche Daten

Name: Heike Julia Blaha-Kaplans, geb. Blaha
Geburtsdatum und -ort: 02.05.1980, Kaufbeuren
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: verheiratet, 3 Kinder (1 Monat, 2 Jahre und 3 Jahre)

■ Schulbildung

09/1986 – 07/1990 Grundschule Bidingen
09/1990 – 07/1997 Gymnasium Marktoberdorf
09/1997 – 06/1999 Marien-Gymnasium Kaufbeuren
Abschluss Allgemeine Hochschulreife

■ Hochschulbildung

10/1999 – 07/2000 Studium der Psychologie
Universität Eichstätt
10/2000 – 10/2002 Studium der Humanmedizin, vorklinischer Abschnitt
Ludwig-Maximilians-Universität München
09/2002 Ärztliche Vorprüfung
10/2002 – 4/2007 Studium der Humanmedizin, klinischer Abschnitt
Technische Universität München
08/2003 1. Staatsexamen
03/2006 2. Staatsexamen
04/2006 – 03/2007 Praktisches Jahr im Klinikum rechts der Isar München (Klinische
Chemie und Innere Medizin) und im Klinikum München
Bogenhausen (Chirurgie)
04/2007 3. Staatsexamen
Ärztliche Prüfung mit der Gesamtnote 1,16
05/2007 Approbation

■ Ärztliche Tätigkeit

05/2008 – 04/2012 Assistenzärztin der Inneren Medizin in den Kliniken Ostallgäu-
Kaufbeuren, Klinik Marktoberdorf
Kind 1: Mutterschutz: 26.3.09 - 2.7.09; Elternzeit: 25.4.09 - 5.12.10
Kind 2: Mutterschutz: 6.12.10 - 19.3.11; Elternzeit 22.1.11 - 30.4.12
seit 05/2012 Familienzeit, keine ärztliche Tätigkeit