Erprobung des Analysensystems Boehringer Mannheim Hitachi 717 bei 25°C

Evaluation of the analysis system Boehringer Mannheim Hitachi 717 at 25°C

F. Kaltwasser, B. Böhm, Marienhospital Stuttgart
R. Kattermann, P. Haux, Klinikum der Stadt Mannheim
F. H. Kreutz, A. Conrad, Städt. Kliniken Kassel
K. Oette, W. Hönig, Med. Einrichtungen der Universität Köln
R. Koberstein, B. Sowodniok, Boehringer Mannheim GmbH

Zusammenfassung:

Das selektive Analysensystem Boehringer Mannheim/Hitachi 717 wurde an vier Prüfstellen bei der Arbeitstemperatur 25°C evaluiert. Acht für die verschiedenen Analysenabläufe charakteristische Methoden wurden unter weitgehender Beachtung des ECCLS-Protokolls untersucht. Während der viermonatigen Prüfphase wurden über 40000 Analysendaten erhoben, deren statistische Auswertung folgende Ergebnisse brachte:

1. Die Präzision in der Serie, gemessen in Kontrollseren, wurde für die untersuchten Methoden durch je 36 Variationskoeffizienten charakterisiert, deren Mediane zwischen $VK = 0,6\%$ und $VK = 1,5\%$ liegen. Für die Präzision von Tag zu Tag finden sich die entsprechenden Mediane zwischen $VK = 1,0\%$ und $VK = 2,3\%$.
2. Durch die großen linearen Meßbereiche aller Methoden fallen Wiederholungsanalysen nur sehr selten an.
3. Drifteffekte traten während des achtstündigen Prüfteils bei keiner der untersuchten Methoden auf.
4. Bei den Verschleppungsuntersuchungen waren keine Beeinflussungen von Probe zu Probe erkennbar. Modellversuche zur Reagenzverschleppung wurden an sensiblen Methodenpaaren wie GPT/LDH, Amylase/Phosphat und Cholesterin/Harnsäure durchgeführt. Bei keinem dieser Paare wurde eine relevante Übertragung von Reagenz beobachtet.
5. Die Auswertung zur Wiederfindung in Kontrollseren erbrachte für alle untersuchten Methoden Werte zwischen 96% und 107% der deklarierten Sollwerte.
6. Die Methodenvergleiche in Humanseren zeigen eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Hitachi 717 und der jeweiligen Routineanalytik. Die Regressionsanalysen ergaben in 29 von 32 Methodenvergleichen Steigungen zwischen 0,95 und 1,05. Die berechneten Achsenabschnitte waren generell vernachlässigbar.

Während der gesamten Prüfzeit kam es zu keiner Störung oder Fehlfunktion der untersuchten Geräte. Die Teilnehmer beurteilten die analytische Zuverlässigkeit und die Handhabung des Analysensystems Boehringer Mannheim/Hitachi 717 als sehr gut.

Schlüsselwörter:

Selektives Analysensystem — Geräteevaluierung — Multicenter-Studie.

Summary:

Boehringer Mannheim/Hitachi 717, a selective multitest clinical chemical analyzer was evaluated in four laboratories at 25°C. Eight methods, representing the different application settings were examined, according to the ECCLS-guidelines. During the four months trial about 40000 data were collected. The statistical analysis yielded the following results:

1. For the within-run imprecision the median coefficients of variation (CV) varied between 0.6 and 1.5%. For the between-day imprecision median CV-values between 1.0 and 2.3% were obtained.
2. For all methods a high linear measuring range was confirmed. Therefore re-run analyses were only exceptionally necessary.
3. No drift effects were observed during an 8-hours trial.
4. Carry-over experiments did not show any transfer from sample to sample. In addition measurements concerning the reagent carry-over with sensitive pairs of methods like GPT/LDH, Amylase/Phosphate and Cholesterol/Uric Acid were performed. No relevant reagent carry-over was observed within these experiments.
5. Recovery measurements in control sera yielded results between 96 und 107% of the assigned values for all methods.

6. The statistical analysis of the method comparisons showed a very close correspondence of the Hitachi 717 results and those of established laboratory methods. In 29 out of 32 comparisons, slopes between 0.95 and 1.05 were obtained. The calculated intercepts were generally negligible.

During the whole evaluation trial no failure or malfunction of the investigated Hitachi 717 instruments was observed. The participants of the trial concluded that the analytical reliability as well as the handling of the Boehringer Mannheim/Hitachi 717 analysis system can be rated as excellent.

Keywords:

Evaluation of instrumentation — random access analyzer — multicentre study

Einleitung

Boehringer Mannheim/Hitachi 717¹ ist ein probenorientiert selektives, diskretes Analysensystem für die Bestimmung klinisch-chemischer und immunologischer Parameter. Zusätzlich ist die Messung von Elektrolyten mittels ionenselektiver Elektroden möglich. Mit einer Kapazität von 600 Tests pro Stunde für klinisch-chemische Parameter ist das System eher für größere Laboratorien ausgelegt und kann dort sowohl in der Routine als auch für Eil- und Notfallanalysen eingesetzt werden.

Zur Beurteilung der Handhabung und der analytischen Eigenschaften wurde Hitachi 717 im Rahmen einer Multicenter-Studie in vier Laboratorien bei 25°C erprobt. Diese Studie ergänzt eine internationale Evaluierung (1), die bei 30°C und bei 37°C unter Einbeziehung der Elektrolyte durchgeführt wurde. An allen vier Prüfstellen wurden acht Enzym- und Substrat-Parameter untersucht, die für die verschiedenen Meßverfahren und Applikationen am Hitachi 717 charakteristisch sind. Das Versuchsprogramm folgte im wesentlichen den ECCLS-Empfehlungen (2). Davon abweichend wurden Einarbeitungsphase und Vorversuch zusammengefaßt sowie die Daten für die Präzision von Tag zu Tag aus dem Vorversuch und dem Hauptteil kombiniert. Untersuchungen zur Reagenzienverschleppung wurden exemplarisch nur an einer Prüfstelle durchgeführt.

Als Vergleichsgeräte dienten in drei Laboratorien Hitachi-Systeme, an der vierten Prüfstelle standen Geräte anderer Hersteller zur Verfügung. Im folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchungen dargestellt und diskutiert.

Systembeschreibung

Das selektive Analysengerät Hitachi 717 kann aus einer Probe bis zu 35 verschiedene Bestimmungen durchführen. Der Durchsatz des Gerätes beträgt 600 Tests pro Stunde bei der Messung chemischer Parameter. Diese Zahl erhöht sich bei der Verwendung von Twin-Tests² und bei der zusätzlichen Bestimmung von Elektrolyten. Die Elektrolyte Natrium, Kalium und Chlorid werden in einem Modul mit ionenselektiven Elektroden gemessen (ISE-Einheit).

Eine Reihe verschiedener Meß-, Kalibrations- und Kontrollverfahren lassen sich mit Hitachi 717 durchführen:

- Endpunktmessung mit oder ohne Probenleerwert
- Kinetik mit Serum- oder Substratstart
- Fixed-time-Kinetik (Zweipunktkinetik)
- Kombination kinetischer und Endpunktmethoden bei Twin-Tests
- Prozone-Überprüfung (Antigen-Überschußkontrolle) bei homogenen Immunoassays
- Markierung hämolytischer, ikterischer und lipämischer Proben mit Hilfe eines Serum-Index
- Lineare Kalibration, vier nicht-lineare Kalibrationsfunktionen.

Der Einsatz von Primärgefäßen ist in speziellen Probenetiketten möglich. Dabei werden die Proben über barcode-Lesung (vier verschiedene Codes möglich) identifiziert. Damit ist die Gefahr der Probenverwechslung beim Verteilen in Sekundärgefäße ausgeschlossen.

Die Proben- (3–20 µl) und Reagenzvolumente (50–500 µl) werden mit je einem Pipettor mit Levelsensor dosiert.

Als Reaktionsgefäße dienen 120 ringförmig in einem Reaktionsrotor angeordnete Polyacryl-Küvetten mit einem Lichtweg von 6 mm. Der Reaktionsrotor ist in ein temperierbares Wasserbad (25, 30 bzw. 37 ± 0,1°C) eingelassen, das vom Anwender problemlos auf die Arbeitstemperaturen eingestellt werden kann. Die Küvetten durchqueren im 12 sec-Takt den Lichtstrahl des Photometers mit 12 feststehenden Wellenlängen zwischen 340 und 800 nm. Die Messung erfolgt wahlweise mono- oder bichromatisch. Die Empfindlichkeit des Photometers beträgt $E = 5 \times 10^{-4}$, die Linearität reicht bei 340 nm bis $E = 2.5$. Nachdem die Küvetten eine Spüleinheit durchlaufen haben, stehen sie für neue Bestimmungen wieder zur Verfügung.

Die Analysenfunktion wird über einen Mikroprozessor gesteuert. Der Dialog mit dem System wird über ein alphanumerisches Tastenfeld und Funktionstasten geführt. Für die Datenausgabe stehen ein Bildschirm und ein separater Drucker zur Verfügung (80 Spalten, 150 Zeichen/sec).

Auf der Datendiskette (5¼ Inches) können Patienten- und Ergebnisdaten für bis zu 1000 Routineanalysen plus 100 Eilproben und Kontrollen gespeichert werden. Wei-

¹ Im folgenden kurz „Hitachi 717“ genannt.

² Bei einem Twin-Test werden zwei Methoden, z. B. CHOL und TG, innerhalb eines Arbeitsganges in einer Küvette bestimmt.

Tab. 1: In der Erprobung eingesetzte Methoden

Parameter	Methode	Literatur
Aspartat-Amino-transferase (GOT) EC 2.6.1.1	opt. Standard-Methode	8, 9
L-Glutamyl-transferase (GGT) EC 2.3.2.2	Substrat = L-Glutamyl-3-carboxy-4-nitro-anilid	10, 11
Cholesterin (CHOL)	CHOD-PAP	12
Kreatinin (CREA)	Jaffé kinetisch, ohne Ent-eiweißung	13
Alkalische Phosphatase (AP) EC 3.1.3.1	opt. Standard-Methode	8, 9
Harnsäure (UA)	UA – Azino UA – PAP (Uricase Peroxidase)	14 15
Kreatinkinase (CK-NAC) EC 2.7.3.2	opt. Standard-Methode	8, 9, 16, 17
Harnstoff (Urea)	Urease/Glutamatdehydrogenase	18
Alpha-Amylase ¹ EC 3.2.1.1	Substrat = P-Nitro-phenyl Alpha-D-maltoheptaosid	19
Phosphor ¹	UV-Test, Molybdat	20
Lactat-Dehydrogenase ¹ (LDH) EC 1.1.2.7	opt. Standard-Methode	8, 9
Alanin-Amino-transferase ¹ (GPT) EC 2.6.1.2	opt. Standard-Methods	8, 9

¹ Nur für Modelluntersuchungen zur Reagenzverschleppung.

terhin werden Qualitätskontrolldaten statistisch ausgewertet und abgespeichert.

Bei speziellen Markierungen eines Resultats wird die Messung wiederholt (z. B. mit reduziertem Probevolumen bei Überschreitung der Linearitätsgrenze). Der Ausdruck der Daten ist patientenorientiert.

Ein im System enthaltenes Interface (RS 232 G) gestattet eine bidirektionale Datenkommunikation mit einem externen Datenverarbeitungssystem. Die Daten können sowohl im real-time- als auch im batch-Verfahren übertragen werden.

Material und Methoden

Für die Erprobung wurden acht Methoden, je vier Enzym- und Substratbestimmungen ausgewählt, die charakteristisch für die verschiedenen Meßabläufe sind. Die Auswahl sollte verschiedenen Applikationseffekten der Geräteeinstellungen gerecht werden wie: Wellenlänge, Meßzeitfenster, Reaktionsverlauf, Reaktionsart, Probe- und Reagenzvolumen.

Die Tab.1 gibt einen Überblick der eingesetzten Methoden. Die wichtigsten Applikationsparameter sind in Tab.2 zusammengestellt. Die Vergleichsmessungen wurden im Labor A für UREA und CREA am RA 1000³, für die übrigen Parameter am Progress⁴ durchgeführt. In den anderen Prüfstellen kamen für die Vergleichsanalytik Hitachi-Systeme zum Einsatz (Labor B: Hitachi 705; Labor C und D jeweils Hitachi 704).

Es wurden ausschließlich Reagenzien eines Herstellers⁵ eingesetzt, für Hitachi-Geräte die System-Reagenzien, für die anderen Geräte entsprechende Monotest® A-Reagenzien bzw. Automatenpackungen. Bei den System-Reagenzien für Hitachi 717 besteht die Möglichkeit, konzentrierte Reagenzien (HiCo®-Packungen) einzusetzen, mit dem Vorteil erhöhter Bestimmungszahlen pro Packung.

Die Kalibration erfolgte bei Hitachi-Geräten mit der Kalibrator-Charge (Cal), zur Kalibration der anderen Geräte wurde eine Charge eines Universalkontrollserums (ST) eingesetzt. Die Enzyme sowie Cholesterin und Harnsäure wurden an Hitachi-Geräten über Festfaktoren bestimmt. Diese wurden während der Familiarisierung als Mittelwert von neun Kalibrationsläufen an drei verschiedenen Tagen

³ Fa. Technicon.

⁴ Fa. Kone.

⁵ Boehringer Mannheim GmbH.

Tab.2: Applikationen der eingesetzten Methoden für Hitachi 717

Methode	Haupt-/Neben-Wellenlänge		Meßpunkte	Meßart/Zeitfenster (min)	Reaktionsverlauf	Proben-volumen µl	Reagenz-volumen		H ₂ O µl
	(nm)	(nm)					R1 µl	R2 µl	
GOT	340	405	30–50	Kinetik/6–10	abnehm.	20	250	50	–
GGT ¹	405	660	30–50	Kinetik/6–10	zunehm.	7	65	52	195
AP ¹	405	660	30–50	Kinetik/6–10	zunehm.	4	65	52	195
CK-NAC	340	405	35–50	Kinetik/7–10	zunehm.	7	250	50	–
CHOL ¹	505	700	50	Endpunkt/10	zunehm.	3	120	–	180
CREA ¹	505	570	30–37	Kinetik/6–7,4	zunehm.	15	65	52	195
UA ¹	505	700	50	Endpunkt/10	zunehm.	7	65	52	195
UREA	340	405	30–35	Kinetik/6–7	abnehm.	3	300	84	–

¹ HiCo® konzentrierte Reagenzien.

Tab.3: In der Erprobung eingesetzte Kontrollseren/Kalibratoren

Kontrollserum/ Kalibrator	Chargen- Nr.	Kodierung	Einsatz ¹
Cfas ²	157821	Ca1	0, 4
Cfas ²	157820	CS3	1, 2, 3, 5
Precinorm® U	157472	CS1	1, 2, 3, 4, 5
Precipath® U	157547	CS2	1, 2, 3, 4, 5
Precinorm® U	154857	QK	3, 8
Precipath® U	150801	RV	7
Precipath® U	154305	ST	9

¹ Eingesetzt im Programmteil: 0 = Kalibration Hitachi-Systeme; 1 = Vorversuch; 2 = Präzision der Serie; 3 = Präzision von Tag zu Tag; 4 = Drift; 5 = Wiederfindung in Kontrollseren; 6 = Probenverschleppung; 7 = Ringstudie; 8 = Methodenvergleich; 9 = Kalibration Fremdsysteme.

² Calibrator for automated systems.

ermittelt. Kreatinin (Jaffé) sowie Harnstoff wurden täglich kalibriert. Einen Überblick der eingesetzten Kalibratoren und Kontrollseren sowie der zugehörigen Sollwerte zeigen die Tab.3 und 4.

Präzision

Für die Präzision in der Serie wurden drei Kontrollseren mit verschiedenen Konzentrationen des Analyten sowie ein Humanserumpool herangezogen. An drei aufeinanderfolgenden Tagen wurden jeweils 21 fortlaufende Bestimmungen mit Hitachi 717 durchgeführt.

Für die Präzision von Tag zu Tag wurden die gleichen Kontrollseren in Doppelbestimmung mit Hitachi 717 und dem Vergleichsgerät vermessen. Die Daten der Präzision von Tag zu Tag aus dem Vorversuch (11 Tage) und dem Hauptteil (10 Tage) wurden zu einem Datensatz vereinigt, da beide Prüfteile unmittelbar aufeinander folgten und unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wurden. Für die Auswertung wurde jeweils nur der zweite Wert der Doppelbestimmung herangezogen.

Meßbereich und Linearität

Die Linearität wurde in Humansenen überprüft. Aus je einem Pool mit tiefer bzw. hoher Konzentration des jeweiligen Analyten wurde eine Verdünnungsreihe mit neun Zwischenstufen hergestellt. Die resultierenden Proben wurden in Dreifachbestimmungen gemessen, der Medianwert für jede Probe ging in die Auswertung ein.

Aus den fünf niedrigsten Stufen der Verdünnungsreihe wurden die Regressionsgeraden (nach Bablok/Passing) und hieraus die Sollkonzentrationen für alle Stufen bestimmt. Als Kriterium für Linearität gilt, daß Abweichungen zu den Sollkonzentrationen kleiner als $\pm 5\%$ sind.

Tab.4: Sollwerte der eingesetzten Kontrollseren/Kalibratoren

Parameter	Konzentrationen							Einheit
	Ca1	CS1	CS2	CS3	QK	RV	ST	
GOT	41,4	30,8	66,3	41,4	31,3	68,5	66	U/l
GGT	56,0	37,3	119,0	55,0	38,0	109,0	100	U/l
AP	245	219	320	252	220	375	334	U/l
CK-NAC	133	106	181	131	119	185	186	U/l
CHOL	152	122	119	150	107	107	132	mg/dl
CREA	1,75	2,18	4,09	1,75	2,26	3,90	4,19	mg/dl
UA	5,32	4,58	8,21	5,30	4,80	7,04	11,0	mg/dl
UREA	107	55,8	146	107	55,4	82,0	145	mg/dl

Drift

In diesem Prüfteil wurden zwei Kontrollseren sowie das Kalibrationsserum über einen Zeitraum von 8 Std. in halbstündigen Intervallen bestimmt. Der Ausgangswert für jeden Analyten wird zum Zeitpunkt 0 als Median einer Dreifachbestimmung ermittelt und als 100%-Wert festgelegt. Aus der grafischen Darstellung der prozentualen Wiederfindungen sind Drifteffekte sofort erkennbar. Dieser Prüfteil wurde mit allen acht Methoden an allen vier Prüfstellen durchgeführt.

Verschleppung

Entsprechend einem Modell von Broughton (3) wurde der durch *Verschleppung der Serumprobe* verursachte Fehler untersucht. Für jeden Analyten erfolgte die Messung von fünf gleichen Proben mit hoher Konzentration (H1 bis H5). Daran schlossen sich fünf gleiche Proben mit niedriger Konzentration an (L1 bis L5). Der Versuch wurde 10mal wiederholt. Der Meßwert der Probe L1 kann durch die Verschleppung von H5 beeinflusst werden.

Für die Bewertung wurde der Verschleppungseffekt (L1 minus L5) mit der Präzision der niedrigen Probe verglichen. Derartige Untersuchungen fanden an allen Prüfstellen statt.

Fehler durch *Reagenzienverschleppung* können verursacht werden durch:

- das Pipettiersystem
- den Rührer
- und die Küvetten.

Zur Beurteilung der verschiedenen Beiträge sind unterschiedliche experimentelle Ansätze notwendig.

Um den Anteil von Nadel und Rührer an der Verschleppung von Reagenz 1 (R1) nach Reagenz 2 (R2) zu überprüfen, wird zunächst der unverfälschte Meßwert von R2 als Median von 21 Einzelbestimmungen ermittelt. Danach wird der Einfluß von R1 auf R2 durch 21 alternierende Bestimmungen von R1 und R2 erfaßt.

Serie 1: $21 \times R2 \rightarrow M21$, Median von R2

Serie 2: $21 \times R1/R2 \rightarrow M22$, Median von R2.

Für die Beurteilung der Verschleppung wird die Differenz $M22 - M21$ mit der Präzision von R2 in Serie 1 verglichen. Mit diesem Modell wurden an einer Prüfstelle folgende „sensible“ Methodenpaare untersucht:

R1		R2
GPT	→	LDH
Amylase	→	Phosphor
Cholesterin	→	Harnsäure

VK in %

Abb. 1: Präzision in der Serie bei Hitachi 717, gemessen mit Kontrollseren. Die Säulen repräsentieren den Median der Variationskoeffizienten für die Kontrollen CS 1, CS 2 und CS 3

Hierbei sind als kritische Komponenten für Verschleppung LDH als Hilfsenzym im GPT-Test, Phosphat als Puffer im Amylase-Test und schließlich beim Cholesterin-Test die Cholesterinoxidase anzusehen. Letztere kann bei Verschleppung zu „erhöhten“ Harnsäurewerten führen (über zusätzliche H_2O_2 -Bildung durch endogenes Cholesterin).

Zur Überprüfung der Reagenzverschleppung über die Küvetten wird folgendermaßen verfahren: Zunächst wird der Küvettenkranz mit Reagenz 2 (R2) belegt, um den unbeflußten Bezugswert zu ermitteln. Dieser ist M21, der Median aus den Meßwerten. In einer zweiten Serie wird der Küvettenkranz mit Reagenz 1 (R1) beschickt, in der dritten schließlich wird wiederum Reagenz 2 eingesetzt.

VK in %

Abb. 2: Präzision von Tag zu Tag bei Hitachi 717 und den Vergleichsgeräten. Aufgetragen sind die Mediane (—) und die Bereiche der für die Kontrollen CS 1, CS 2 und CS 3 ermittelten Variationskoeffizienten

Tab. 5: Präzision in der Serie bei Hitachi 717 ($n = 21$, Humanserumpools). Exemplarisch aufgeführt sind die Ergebnisse des 3. Tages

Analyt (Einheit)	Labor	Analytgehalt (Mittelwert)	VK in %
GOT (U/l)	A	12,4	1,8
	B	41,42	0,3
	C	21,75	1,5
	D	17,09	1,4
GGT (U/l)	A	46,82	1,1
	B	41,81	1,0
	C	144,90	1,8
	D	12,37	3,7
CHOL (mg/dl)	A	245,29	0,8
	B	256,76	1,3
	C	222,52	0,7
	D	214,00	1,1
CREA (mg/dl)	A	0,87	2,3
	B	1,38	1,6
	C	3,40	1,0
	D	0,97	1,7
AP (U/l)	A	248,48	0,6
	B	190,65	1,0
	C	378,24	0,8
	D	96,38	1,1
UA (mg/dl)	A	4,58	0,5
	B	6,02	0,8
	C	6,49	0,5
	D	5,32	0,9
CK-NAC (U/l)	A	66,81	0,6
	B	82,76	0,5
	C	69,76	1,3
	D	52,71	1,4
UREA (mg/dl)	A	27,64	1,7
	B	63,79	3,2
	C	212,51	0,9
	D	85,83	1,2

Die Meßwerte dieser Serie, gekennzeichnet durch den Median M22, enthalten eventuelle Verschleppungsanteile von R1 nach R2 in den Küvetten. Beurteilungskriterien für Verschleppungseffekte sind die Differenz M22 – M21 unter Bezug auf die Präzision in der Serie der Methode 2.

Richtigkeit

Zur Beurteilung der Richtigkeit der Meßverfahren wurden die Mediane der Wiederfindung in Kontrollseren herangezogen, die bei Untersuchungen der Präzision von Tag zu Tag eingesetzt worden waren. Die Konzentrationen aller untersuchten Parameter wurden jeweils mit Hitachi 717 und den Vergleichssystemen bestimmt. Als Bezugsbasis dienten die jeweiligen Sollwerte.

Weiterhin wurde eine Ringstudie durchgeführt, d.h. eine Probe mit den Teilnehmern unbekannten Analytkonzentrationen bzw. -aktivitäten wurde an elf Tagen vermessen. Die Ergebnisse des fünften Tages wurden zur Auswertung herangezogen.

Im Methodenvergleich wurden für jede der acht Methoden an zehn Tagen zehn frische Humanseren aus der Routine sowohl mit Hitachi 717 als auch am Vergleichsgerät analysiert. Die Humanproben sollten so ausgewählt werden, daß der gesamte Meßbereich möglichst repräsentativ besetzt ist.

Datenauswertung

Die Meßergebnisse wurden nach den folgenden statistischen Verfahren ausgewertet: für die Präzisionsmessung wurden Mittelwert, Median, Standardabweichung und Variationskoeffizient, für den Methodenvergleich Regressionsgeraden nach der Methode der standardisierten Hauptkomponente (4) sowie nach Bablok/Passing (5) berechnet.

Der Datentransfer von den Geräten Hitachi 717 und 704 zur Auswertungsstelle erfolgte mit Hilfe von Disketten. Über entsprechende Programme wurden die Daten in einen HP 3000-Rechner⁶ eingelesen und dort ausgewertet. Auf diese Weise wurden Übertragungsfehler ausgeschlossen. Die Meßdaten der anderen Geräte wurden wie bisher auf Datenbögen dokumentiert und in den Rechner eingegeben.

Ergebnisse und Diskussion

Präzision

Die Präzision in der Serie ist in Abb. 1 für drei Kontrollseren in verdichteter Form dargestellt. Die Analytkonzentrationen und Einheiten sind aus Tab. 4 zu entnehmen. Die Mediane der Variationskoeffizienten liegen sämtlich unter 2%, in der Mehrzahl nahe bei 1%. Aus Tab. 5 wird deutlich, daß für die Humanserumpools vergleichbare Präzisionen in der Serie resultierten.

Ähnliche Ergebnisse wurden für die Präzision von Tag zu Tag erzielt. In Abb. 2 sind die Mediane und Bereiche der VK-Werte für Hitachi 717 und die Vergleichsanalytik dargestellt. Die Mediane liegen für Hitachi 717 sämtlich unter 2,8%, in der Mehrzahl zwischen 1,5 und 2,5% und sind mit den Werten früherer Erprobenungen für Hitachi 704 und Hitachi 737 vergleichbar (6, 7). Bei einem Blick auf die obere Hälfte der Abb. 2 wird deutlich, daß die Mediane für die Vergleichssysteme etwa gleich liegen wie für Hitachi 717. Die Höhe der Säulen zeigt jedoch, daß im Einzelfall deutlich schlechtere Präzisionen erzielt wurden.

Drift

Die Auswertung und grafische Darstellung ergab für keinen der acht Parameter eine nennenswerte Gerätedrift (Abweichungen $< \pm 5\%$).

Meßbereich und Linearität

Der Linearitätsbereich einer Methode wird grundsätzlich durch mehrere Systemkomponenten bestimmt, durch

- die Linearität und den Meßbereich des Photometers
- die Qualität und die Stabilität der Reagenzien
- die systemspezifische Arbeitsvorschrift, z.B. hinsichtlich der Optimierung der Meßzeitfenster und des Probe-/Reagenzverhältnisses.

Diese Einflüsse werden durch die Ergebnisse der Linearitätsprüfung in Tab. 6 charakterisiert. Ein Vergleich der gemessenen Daten mit den Angaben in den Arbeitsanleitungen zeigt, daß hier für alle Methoden noch beträchtliche Linearitätsreserven gegeben sind. Die in Klammern gesetzten Werte in Tab. 6, die einen geringeren Linearitäts-

⁶ Hewlett-Packard.

Abb. 3: Wiederfindung in Kontrollseren bei Hitachi 717 und den Vergleichsgeräten. Dargestellt ist für jedes Labor der Median der Wiederfindung bezogen auf die deklarierten Sollwerte. Geschlossene Symbole: Ergebnisse für Hitachi 717; offene Symbole: Ergebnisse der Vergleichsanalytik

bereich anzeigen, wurden überprüft. Es zeigte sich, daß sie durch fehlerhaftes Ansetzen der Verdünnungsreihe, bedingt durch eine ungeeignete Pipette, verursacht worden waren.

Insgesamt leitet sich aus den Linearitätsprüfungen ab, daß für Hitachi 717 Wiederholungsanalysen nur sehr selten notwendig werden. In solchen Fällen kann eine Probe, deren Konzentration die vorgegebene Linearitäts-

grenze überschreitet, automatisch mit reduziertem Probenvolumen wiederholt werden.

Verschleppung

Hier sind zwei Aspekte zu unterscheiden: Fehler durch Probenverschleppung und Fehler durch Reagenzver-

Tab. 6: Linearität der mit Hitachi 717 geprüften Methoden. Kriterium: Meßwerte in der Verdünnungsreihe liegen im Bereich $100 \pm 5\%$ des berechneten Konzentrationswertes. Die in der letzten Spalte mit „+“ gekennzeichneten Ergebnisse erfüllen dieses Kriterium bis mindestens zur höchsten Prüfkonzentration, eingeklammerte Werte sind implausibel (siehe Text)

Parameter	Angabe Arbeitsanleitung	Prüfstelle	höchste Konzentration	Linearitätsgrenze nach Definition
GOT	400 U/l	A	534	+
		B	810	+
		C	980	+
		D	357	+
GGT	1200 U/l	A	430	(380)
		B	1304	+
		C	1035	+
		D	970	+
AP	2000 U/l	A	1181	+
		B	1646	+
		C	3140	+
		D	1344	+
CK-NAC	1500 U/l	A	980	+
		B	1408	+
		C	1820	+
		D	553	(250)
CHOL	650 U/l	A	357	+
		B	563	+
		C	730	+
		D	538	(491)
CREA	18 mg/dl	A	8,65	+
		B	16,00	+
		C	18,30	+
		D	11,62	+
UA	20 mg/dl	A	12,1	+
		B	17,7	+
		C	30,9	+
		D	10,0	(10,0)
UREA	300 mg/dl	A	177	+
		B	256	+
		C	680	535
		D	240	+

Tab. 7: Prüfung auf Meßwertbeeinflussung durch Probenübertragung. Dargestellt sind der Median der Differenzen ($n = 10$) aus jeweils der ersten und fünften Messung der „tiefen“ Probe sowie die Standardabweichung, berechnet aus den dritten, vierten und fünften Messungen der zehn Serien

Methode	Einheit	Labor	hohe	tiefe	gemessene Proben- übertragung (Median)	Standard- abweichung
			Konzentration			
AP	U/l	A	430	80	0,0	1,3
		B	1635	64	0,0	0,6
CK-NAC	U/l	B	1370	23	0,0	0,4
		D	1492	28	0,0	0,6
GOT	U/l	B	802	7	0,0	0,1
GGT	U/l	B	1330	8	0,3	0,4
		C	1060	6	0,0	0,3
CHOL	mg/dl	B	561	97	1,0	1,1
		D	482	50	0,0	1,6
CREA	mg/dl	A	4,2	0,8	0,01	0,02
		B	17,5	0,7	0,00	0,02
		C	19,0	0,7	0,01	0,02
UA	mg/dl	B	17,5	2,0	0,00	0,02

Tab. 8: Prüfung auf Meßwertbeeinflussung durch Reagenzübertragung. Exemplarisch wurden drei Methodenpaare ausgewählt, für die aufgrund der chemischen Testzusammensetzung Meßwertbeeinflussungen denkbar sind

Methodenpaare		Einheit	Standardabweichung der 2. Methode	gemessene Reagenzübertragung	
1.	2.			durch Nadel/Rührer	durch Küvette
GPT	→ LDH	U/l	2,1	3,0	0,0
AMYL	→ PHOSPH	mg/dl	0,02	0,02	0,01
CHOL	→ UA	mg/dl	0,04	0,05	0,04

schleppung. Die Tab. 7 zeigt die Ergebnisse aus Modellversuchen zur Probenverschleppung. In allen Fällen wurden für die „hohen“ Werte hochpathologische Analytkonzentrationen eingesetzt. Der Vergleich der Verschleppungsanteile (L1 minus L5) mit den in der letzten Spalte aufgetragenen Präzisionen der ungestörten Methoden läßt klar erkennen, daß bei keiner der untersuchten Methoden eine relevante Probenverschleppung auftritt.

Für die Untersuchung der Reagenzverschleppung muß für jedes Analysensystem ein entsprechendes Modell neu überlegt werden, zumal sich hier Einflüsse durch die Auslegung des Gerätes und der Reagenzien gegenseitig bedingen. Die Erfassung und Bewertung aller kombinatorischen Möglichkeiten sprengt den Rahmen üblicher Geräteevaluierungen. Exemplarisch sind daher nur besonders kritische Methodenpaare ausgesucht worden.

Die Ergebnisse sind in Tab. 8 dargestellt. Bis auf die Übertragung durch die Dosiernadel beim ersten Methodenpaar (GPT, LDH) ist die Reagenzverschleppung bedeutungslos. Beim Methodenpaar GPT/LDH wird die Übertragung des Hilfsenzym Lactat-Dehydrogenase der GPT-Bestimmung auf den nachfolgenden LDH-Test beobachtet. Der Anteil von 3 U/l liegt geringfügig höher als die Standardabweichung der LDH-Bestimmung in der Serie, muß

Abb. 4: Prozentuale Wiederfindung einer unbekannten Probe bei Hitachi 717. Dargestellt ist jeweils eine Einzelmessung der unbekannten Probe

jedoch vor dem Hintergrund der klinischen Entscheidungsgrenze beurteilt werden, die für LDH bei 240 U/l liegt. Unter diesem Aspekt ist ein Verschleppungsanteil durch die Dosiernadel von 1,3% als klinisch nicht relevant zu bewerten.

Insgesamt folgt aus diesen Verschleppungsexperimenten, daß Hitachi 717 eine hohe analytische Sicherheit für den Routinebetrieb bereitstellt.

Richtigkeit

Tab. 9: Übersicht über alle Methodenvergleiche zwischen Hitachi 717 und den Vergleichsgeräten. Eingesetzt wurden jeweils 100 Patientenserum. Regressionsdaten nach Passing/Bablok (5) (b = Steigung; a = Achsenabschnitt)

Methode	Labor	b	a	Median rel. Diff.
GPT (U/l)	A	0,99	-1,7	-11,3
	B	1,00	-1,4	- 8,8
	C	1,01	-0,6	0,0
	D	1,00	-0,6	- 3,3
GGT (U/l)	A	0,97	-2,1	-10,4
	B	0,97	0,1	- 3,0
	C	1,05	-0,6	3,4
	D	0,97	-0,4	- 3,9
CHOL (mg/dl)	A	1,02	-1,1	1,6
	B	1,05	4,5	7,7
	C	1,05	-2,0	3,6
	D	0,99	-1,3	-1,5
CREA (mg/dl)	A	0,85	0,07	-10,4
	B	0,99	0,03	0,0
	C	1,00	-0,01	- 0,3
	D	0,99	-0,01	- 2,0
AP (U/l)	A	1,00	-4,0	- 2,6
	B	1,01	-1,2	0,6
	C	1,05	-2,3	4,3
	D	0,96	0,9	- 3,2
UA (mg/dl)	A	0,96	-0,05	- 4,6
	B	1,00	0,05	1,3
	C	1,06	-0,02	5,2
	D	0,94	0,60	5,6
CK-NAC (U/l)	A	1,04	0,2	4,6
	B	1,04	2,6	9,4
	C	1,00	-1,0	- 0,9
	D	1,00	0,0	0,0
UREA (mg/dl)	A	0,92	0,89	- 6,1
	B	1,00	-0,95	- 2,1
	C	1,00	-0,30	0,1
	D	0,99	-0,37	- 2,2

Zur Beurteilung der Richtigkeit wurde die Wiederfindung der Sollwerte der als Qualitätskontrolle eingesetzten Kontrollseren herangezogen. In Abb. 3 sind daher die Mediane der prozentualen Wiederfindungen bezogen auf den deklarierten Sollwert der Kontrollseren CS 1, CS 2 und CS 3 dargestellt, sowohl für Hitachi 717 als auch für die Vergleichsgeräte.

Insgesamt wurden Sollwerte mit Hitachi 717 in einem Bereich von 96% bis 107% wiedergefunden, während bei den Vergleichsgeräten überwiegend größere Schwankungsbreiten beobachtet wurden (Abb. 3). Bis auf AP liegen die Wiederfindungswerte der einzelnen Methoden mit Hitachi 717 für alle Teilnehmer eng beieinander. Die für die AP beobachtete relativ große Bandbreite könnte durch das Rekonstitutionsverhalten dieses Parameters beim Lösen von Kalibrator bzw. Kontrollseren verursacht worden sein. Diese Einflüsse zeigen sich auch in der Faktorenermittlung und im Methodenvergleich.

Zur weiteren Beurteilung der Richtigkeit wurde eine Probe, deren Sollwerte den Teilnehmern unbekannt war, nach Art eines Ringversuche durchgemessen. Die auf die Sollwerte der Analyten bezogene Wiederfindung ist in Abb. 4 dargestellt. Der Befund ist vergleichbar mit der Wiederfindung in Kontrollseren (Abb. 3). Obwohl die AP wegen der Kalibrationseffekte (vgl. oben) eine größere Bandbreite als die übrigen Parameter aufweist, erfüllen die Ergebnisse insgesamt die Zielwertbereiche der BÄK.

Aus der Gegenüberstellung von Hitachi 717 mit den Vergleichsgeräten resultierten insgesamt 32 Methodenvergleiche mit je 100 Humansen. Eine Übersicht gibt die Tab. 9.

Insgesamt liegen bei 29 der 32 Methodenvergleiche die Steigungen der Regressionsgeraden zwischen 0,95 und 1,05, bei 16 Methodenvergleichen sogar zwischen 0,99 und 1,01. Bei allen Methoden wurden vernachlässigbare Achsenabschnitte erhalten.

Betrachtet man die Mediane der relativen Differenzen, so fällt auf, daß für Labor A bei GPT und GGT und für Labor B bei GPT und CK-NAC hohe Werte auftreten, die anscheinend im Widerspruch zu den jeweiligen Regressionsgleichungen stehen. Bei der Sichtung der Primärdaten zeigt sich, daß diese Abweichungen durch die Zusammensetzung der Probenkollektive zu erklären sind, die einen überproportionalen Anteil an niedrig-normalen Konzentrationen enthielten.

Dagegen stehen die Abweichungen des Medians der relativen Differenzen bei Kreatinin und Harnstoff im Labor A im Einklang mit entsprechenden systematischen Differenzen, wie sie aus den Regressionsgleichungen deutlich werden (Tab.9). Hier handelt es sich in beiden Fällen um kinetische Substratbestimmungen, die bei unterschiedlicher Analysenföhrung leicht Kalibrationsprobleme mit sich bringen.

Zusammenfassend halten die Evaluatoren fest, daß die untersuchten exemplarischen acht Parameter keine Probleme mit Hitachi 717 gezeigt haben. Die Anwender hoben besonders die Stabilität der Kalibration und der Regenzen hervor und attestierten darüber hinaus dem neuen Analysensystem eine gute Handhabung und hohe Bedienungsfreundlichkeit.

Das ECCLS-Protokoll empfiehlt, während der Evaluierungsphase ein Logbuch zu föhren, in dem alle Fehlfunktionen und Ausfälle des Systems festgehalten werden. Durch die einwandfreie Funktion des Systems waren keinerlei Eintragungen erforderlich. Die Zuverlässigkeit gilt somit gleichermaßen für die analytischen Ergebnisse wie auch für die Betriebssicherheit des Hitachi 717 Analysensystems.

Danksagung

Für die tatkräftige Hilfe bei der Entwicklung des Prüfprogramms und der statistischen Auswertung danken wir den Herren W. Bablok und R. Barembruch.

Unser besonderer Dank gilt Frau Gutsche für die sorgfältige Erstellung der Grafiken.

Schrifttum:

1. STOCKMANN, W. et al.: The Analytical Performance of the Boehringer Mannheim/Hitachi 717 Analysis System — A Multicentre Evaluation (in Vorbereitung).
2. HAECKEL, R., BUSCH, E. W., GENTILI, J. L., JENNINGS, R. D., CHRISTIANSEN, T. F.: ECCLS document 4, No. 1 (1983).
3. BROUGHTON, P. M. G., GOWENLOCK, A. H., McCORMACK, J. J., NEILL, D. W.: Ann. Clin. Biochem. 11, 207—218 (1984).
4. HAECKEL, R.: Das medizinische Laboratorium 34, 8—14 (1981).
5. PASSING, H., BABLOK, B.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22, 431—445 (1984).
6. HILGENFELDT, J., KINNE, E., KREUTZ, F.-H., CONRAD, A., KOBERSTEIN, R., STOCKMANN, W.: Lab.med. 12, 165—173 (1988).
7. KELLER, F., METZ, F., THIERY, J., SEIDEL, D., KNOKE, K.-J., KOBERSTEIN, R.: Lab.med. 10, 201—208 (1986).
8. Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 8, 658 (1970).
9. Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 18, 182—192 (1972).
10. PERSIJN, J. P., VAN DER SLIK, W.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 14, 421—427 (1976).
11. SZASZ, G., PERSIJN, J. P.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 12, 228 (1974).
12. SIEDEL, J., HÄGELE, E. O., ZIEGENHORN, J., WAHLEFELD, A. W.: Clin. Chem. 29, 1076—1080 (1983).
13. BARTELS, H.: Clin. Chem. Acta 37, 193—197 (1972).
14. KLOSE, S. et al.: Boehringer Mannheim, persönliche Mitteilung.
15. TOWN, M. H., GEHMS, S., HAMMER, B., ZIEGENHORN, J.: J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 23, 591 (1985).
16. SZASZ, G., GRUBER, W., BERNT, E.: Clin. Chem. 22, 650—656 (1976).
17. GRUBER, W.: Clin. Chem. 24, 177—178 (1978).
18. NEUMANN, U., ZIEGENHORN, J.: XVI. Nordiska kongressen for klinisk kemi och klinisk fysiologi Oulu, Finland (1977).
19. RAUSCHER, E., NEUMANN, U., SCHAICH, E., v. BÜLOW, S., WAHLEFELD, A. W.: Clin. Chem. 31, 14—19 (1985).
20. ZILVERSMIT, D. B., DAVIS, K.: J. Lab. Clin. Med. 35, 155 (1950).

Anschrift für die Verfasser:

PD Dr. R. Koberstein
Dr. B. Sowodniok
Boehringer Mannheim GmbH
Sandhofer Straße 116
6800 Mannheim 31

COBAS FARA II

Der Experte in der Routine

Absorptionsphotometrie

Turbidimetrie

I.S.E.

Fluorimetrie

Fluoreszenz-Polarisation

Nephelometrie

Klinische Chemie
DM und
Toxikologie
Immunchemie
Elektrolyte
Gerinnung

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

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

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

Annahmebedingungen für Originalarbeiten

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

Annahmebedingungen für Übersichtsreferate

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

Annahmebedingungen für Kurzreferate

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

Gestaltung der Manuskripte

Schrift: Maschinenschrift, fortlaufend numerierte Blätter (DIN A4).

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

2. Seite: Zusammenfassung, Schlüsselwörter.

Letzte Seite: Schriftumsverzeichnis und Autorenanschriften.

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

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

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

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

Schreibweise: maßgebend ist der Duden.

Begutachtung

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

Korrekturen

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

Einsendung: Original und 2 Kopien an:

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