Klinische Evaluation des Hämatologiesystems Coulter® GEN•S

Clinical Evaluation of the Hematology System Coulter® GEN•S

R. Siekmeier^{1,2}, A. Bierlich¹, W. Jaroß¹

Zusammenfassung: In der vorliegenden Untersuchung wurde das Hämatologiesystem Coulter® GEN•S unter Einschuß von Proben pädiatrischer bzw. onkologischer Patienten evaluiert. Bei insgesamt n=603 Patienten, davon n=421 Erwachsenen und n=182 Kindern wurden die Differentialblutbilder mittels automatischem Hämatologiesystem und mikroskopischer Methode bestimmt. In n=34 Proben wurde der Einfluß einer Probenvorverdünnung auf die Ergebnisse der automatisierten Blutbildbestimmung untersucht. Weiterhin wurden in n=250 Proben die Retikulozyten mittels Coulter® GEN•S und am Durchflußzytometer Coulter® EPICS® XL-MCL nach Färbung mit Thiazolorange analysiert. Die mit beiden Methoden bei Erwachsenen und Kindern erhaltenen Differentialblutbilder zeigten eine gute Übereinstimmung (neutr. Granulozyten $r \geq 0,944$, Lymphozyten $r \geq 0,943$, Monozyten $r \geq 0,736$, eos. Granulozyten $r \geq 0,915$). Sensitivität, Spezifität und Effizienz bei Erwachsenen (bzw. Kindern) betrugen 88,5% (77,8%), 96,6% (92,5%) und 91,9% (91,1%). Die Anteile falsch positiver bzw. falsch negativer Ergebnisse betrugen entsprechend 2,5% (6,7%) bzw. 5,5% (2,2%). Eine manuelle Probenvorverdünnung zeigte keine relevante Beeinflussung der Ergebnisse ($r \geq 0,914$, alle Vergleiche). Die mit beiden Methoden erhaltenen Werte der Retikulozytenbestimmung zeigten ebenfalls eine gute Übereinstimmung ($r=0,880$). Die Ergebnisse bestätigen somit die hohe Leistungsfähigkeit des Coulter® GEN•S unter klinischen Routinebedingungen.

Schlüsselwörter: Blutzellzählung/Geräte; Blutzellzählung/Methoden; Leukozytendifferenzierung/Methoden; Retikulozytenzählung/Methoden; Automation.

Summary: In this study the performance of the hematological system Coulter® GEN•S was evaluated. We analyzed n=603 samples (n=421 samples from adults, n=182 samples from children) including oncological

samples. White blood cell differentials were determined by means of the hematological analyzer and microscopy. The effect of sample dilution on automatic blood cell analysis was determined in n=34 samples. Reticulocyte analysis was performed in n=250 samples by means of a Coulter® GEN•S and a Coulter® EPICS® XL-MCL flow cytometer. The results of white blood cell analysis showed very good correlations between both methods (neutrophils $r \geq 0,944$, lymphocytes $r \geq 0,943$, monocytes $r \geq 0,736$, eosinophils $r \geq 0,915$). The calculated values of sensitivity, specificity and efficiency in adults (children) were 88.5% (77.8%), 96.6% (92.5%) and 91.9% (91.1%). The rates of false positive and false negative results were 2.5% (6.7%) and 5.5% (2.2%), respectively. Manual sample dilution before analysis showed no effect on the results obtained ($r \geq 0,914$, all comparisons). The results of reticulocyte analysis also showed good correlations between both methods ($r=0,880$). The data suggests that the Coulter® GEN•S is a useful tool for hematological routine analysis.

Key words: Blood Cell Count/instrumentation; Blood Cell Count/methods; Leukocyte Count/methods; Reticulocyte Count/methods; Automation.

In der hämatologischen Routineanalytik entfällt ein wesentlicher Teil der angeforderten Laboruntersuchungen auf die Bestimmung des Differentialblutbildes und der Retikulozyten. Die Genauigkeit der manuellen Differentialblutbilder hängt dabei wesentlich von der Erfahrung des medizinisch-technischen Assistenten und der Anzahl der gezählten Zellen ab. In Verbindung mit dem gleichzeitig hohen personellen Aufwand hat dies dazu geführt, daß von verschiedenen Herstellern Methoden zur automatisierten Blutzellanalytik entwickelt wurden. Inzwischen erlauben zahlreiche, unter Anwendung verschiedener Meßprinzipien (Widerstandsmessungen mit Gleich- oder Wechselstrom, Absorptions- oder Streulichtmessungen, spezifische Lysen, zelltypspezifische zytochemische Reaktionen) arbeitende Geräte neben einer präzisen Analytik des kleinen Blutbildes eine ebenfalls zuverlässige „Fünffachdifferenzierung“ der Leukozyten (neutr. Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten, eos. Granulozyten, bas. Granulozyten) [1, 2]. Eine weitergehende, quanti-

¹ Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden

² Korrespondenzadresse: Dr. R. Siekmeier, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum Carl Gustav Carus der TU Dresden, Fetscher Straße 74, D-01307 Dresden. Fax: +49-351-4584332

Eingegangen: 16. Oktober 1998/Angenommen: 10. November 1998

tative Differenzierung im Blut normalerweise nicht vorkommender Zellspezies (z. B. Vorstufen der Myelopoese) ist mit den derzeit zur Verfügung stehenden Geräten zwar nicht möglich, jedoch sind diese in der Lage, abnorme Zellen zu erkennen und durch verschiedene Warnhinweise (Flags) auf die Notwendigkeit einer mikroskopischen Differenzierung hinzuweisen.

Von der Beckman Coulter GmbH wurde hierzu zunächst das nach dem VCS-Prinzip (V: Volume, C: Conductivity, S: Laser Light Scatter) arbeitende Hämatologiesystem Coulter® STKS entwickelt, dessen klinische Zuverlässigkeit in zahlreichen Untersuchungen nachgewiesen werden konnte [3-10]. Der neue Coulter® GEN•S stellt eine Fortentwicklung dieses Systems dar und weist gegenüber diesem eine weitere Optimierung von Hardware (z. B. vollautomatisierte Retikulozytenanalytik) und Software (z. B. neue Algorithmen zur Leukozytendifferenzierung) auf. Ziel der vorliegenden Untersuchung war die Evaluierung des Coulter® GEN•S unter den an einem Universitätsklinikum bestehenden Routinebedingungen.

Material und Methodik

Analysiert wurden die Differentialblutbilder von n=421 erwachsenen und n=182 pädiatrischen Patienten sowie die Retikulozytenparameter von n=250 weiteren Patienten (Erwachsene und Kinder). Als Referenzmethoden dienten das mikroskopische Differentialblutbild (Pappenheimfärbung; Auszählung von 200 Zellen unter Öl-Immersion) und die durchflußzytometrische Retikulozytenanalyse mittels dem Coulter®

EPICS® XL-MCL und RetiCount® Reagenz (Becton Dickinson).

Der Einfluß einer Probenvorverdünnung wurde bei n=34 Kapillarblutproben untersucht, die vor der Analyse durch Zugabe des gleichen bzw. des doppelten Volumens (Verdünnungen 1+1 bzw. 1+2) Isoton-Lösung verdünnt wurden.

Eine Untersuchung von Probenstabilität und Reproduzierbarkeit erfolgte durch wiederholte Messung von n=5 Proben über einen Zeitraum von 48 Stunden (direkt nach Abnahme, nach 2 Std., 5 Std., 24 Std., 48 Std.). Die Richtigkeit der Messungen wurde während der Evaluation zweimal täglich mit dem Kontrollblut Coulter® 5C® überprüft. Die statistische Auswertung der durchgeführten Methodenvergleiche erfolgte nach Passing und Bablok [11].

Ergebnisse

Zur Auswertung der Differentialblutbilder wurden nach Messung mit dem Coulter® GEN•S vier Patientengruppen gebildet: Proben erwachsener Patienten ohne bzw. mit morphologischen Warnhinweisen (n=344 bzw. n=77) sowie Proben pädiatrischer Patienten ohne bzw. mit morphologischen Warnhinweisen (n=151 bzw. n=31). In allen Gruppen zeigte sich eine sehr gute Korrelation der mittels Coulter® GEN•S und mikroskopischer Differenzierung erhaltenen Differentialblutbilder (Neutrophile $r \geq 0,944$, Lymphozyten $r \geq 0,943$, Monozyten $r \geq 0,736$, Eosinophile $r \geq 0,915$ (siehe Abb. 1-4). Die in den einzelnen Gruppen erhaltenen Mittelwerte waren dabei praktisch gleich (siehe Tab. 1 und 2).

Tabelle 1 Meßwerte der Leukozyten in n=421 Proben erwachsener Patienten, davon n=344 Proben ohne und n=77 Proben mit morphologischen Warnhinweisen.

		COULTER® GEN•S Proben ohne Flags Mittel±Stdabw. Range		manuelle Differenzierung Proben ohne Flags Mittel±Stdabw. Range	
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	12,7±5,5	2,9-36,9		
Neutrophile	[%]	60,3±10,6	14-86	60,5±10,8	15-84
Lymphozyten	[%]	27,7±9,7	8-77	28,5±10,0	9-72
Monozyten	[%]	8,2±2,5	3-19	8,0±2,8	3-21
Eosinophile	[%]	2,3±2,5	0-32	2,4±2,7	0-36
Basophile	[%]	0,2±0,4	0-3	0,7±0,6	0-3
		COULTER® GEN•S Proben mit Flags Mittel±Stdabw. Range		manuelle Differenzierung Proben mit Flags Mittel±Stdabw. Range	
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	7,0±2,1	2,1-15,9		
Neutrophile	[%]	79,5±12,4	6-96	79,1±13,2	4-96
Lymphozyten	[%]	11,9±11,5	1-93	13,1±11,1	1-86
Monozyten	[%]	6,1±3,1	0-14	6,1±3,2	1-15
Eosinophile	[%]	0,9±1,9	0-11	1,3±2,1	0-11
Basophile	[%]	0,1±0,2	0-1	0,3±0,5	0-2

Abbildung 1 Neutrophile Granulozyten bei Messung mittels COULTER® GEN•S versus mikroskopische Differenzierung.

Teilabbildung A:

Proben erwachsener Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=344, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,944$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=77, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 0,957 \cdot x + 4,043$, $r = 0,963$.

Teilabbildung B:

Proben pädiatrischer Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=151, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,971$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=31, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,992$.

Tabelle 2 Meßwerte der Leukozyten in n=182 Proben pädiatrischer Patienten, davon n=151 Proben ohne und n=31 Proben mit morphologischen Warnhinweisen.

		COULTER® GEN•S Proben ohne Flags Mittel±Stdabw. Range		manuelle Differenzierung Proben ohne Flags Mittel±Stdabw. Range	
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	6,6±2,7	0,2-16,0		
Neutrophile	[%]	49,8±15,6	7-86	50,2±15,8	6-87
Lymphozyten	[%]	36,4±13,6	6-68	37,2±14,4	7-75
Monozyten	[%]	8,4±3,9	0-25	8,7±4,2	0-27
Eosinophile	[%]	3,1±3,2	0-19	3,3±3,1	0-19
Basophile	[%]	0,1±0,3	0-2	0,6±0,6	0-2
		COULTER® GEN•S Proben mit Flags Mittel±Stdabw. Range		manuelle Differenzierung Proben mit Flags Mittel±Stdabw. Range	
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	13,8±6,5	1,3-31,7		
Neutrophile	[%]	61,9±24,0	11-93	62,2±24,1	9-92
Lymphozyten	[%]	26,0±18,3	4-68	26,6±18,7	5-72
Monozyten	[%]	8,5±6,2	0-35	8,6±6,8	0-39
Eosinophile	[%]	2,4±3,0	0-12	2,6±3,5	0-15
Basophile	[%]	0,1±0,3	0-1	0,2±0,4	0-1

Abbildung 2 Lymphozyten bei Messung mittels COULTER® GEN•S versus mikroskopische Differenzierung.

Teilabbildung A: Proben erwachsener Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=344, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x - 1,000$, $r = 0,943$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=77, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 0,889 \cdot x - 0,222$, $r = 0,966$.

Teilabbildung B: Proben pädiatrischer Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=151, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 0,944 \cdot x + 1,128$, $r = 0,959$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=31, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x - 1,000$, $r = 0,985$.

Abbildung 3 Monozyten bei Messung mittels COULTER® GEN•S versus mikroskopische Differenzierung.

Teilabbildung A: Proben erwachsener Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=344, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,736$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=77, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,830$.

Teilabbildung B: Proben pädiatrischer Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; n=151, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 0,800 \cdot x + 1,400$, $r = 0,835$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; n=31, Gleichung der Regressionsgeraden: $y = 1,000 \cdot x + 0,000$, $r = 0,946$.

Abbildung 4 Eosinophile Granulozyten bei Messung mittels COULTER® GEN•S versus mikroskopische Differenzierung.

Teilabbildung A: Proben erwachsener Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; $n=344$, Gleichung der Regressionsgeraden: $y=1,000 \cdot x+0,000$, $r=0,915$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; $n=77$, Gleichung der Regressionsgeraden: $y=0,750 \cdot x+0,000$, $r=0,944$.

Teilabbildung B: Proben pädiatrischer Patienten. Leere Kreise: Proben ohne morphologische Warnhinweise; $n=151$, Gleichung der Regressionsgeraden: $y=1,000 \cdot x+0,000$, $r=0,934$; gefüllte Kreise: Proben mit morphologischen Warnhinweisen; $n=31$, Gleichung der Regressionsgeraden: $y=0,800 \cdot x+0,000$, $r=0,918$.

Unter Berücksichtigung der bei Differenzierung mittels Coulter® GEN•S erhaltenen morphologischen Fehlerwarnungen und der mittels mikroskopischer Differenzierung erhaltenen Ergebnisse wurden die Leistungsdaten des Coulter® GEN•S berechnet. Die für erwachsene Patienten (bzw. Kinder) errechneten Werte von Sensitivität, Spezifität und Effizienz betrugen 88,5% (bzw. 77,8%), 96,6% (bzw. 92,5%) und 91,9%

(bzw. 91,1%). Bezogen auf sämtliche bei erwachsenen Patienten (bzw. Kindern) erhaltenen Ergebnisse ergab sich ein Anteil von 2,5% (bzw. 6,7%) falsch positiven Befunden sowie ein Anteil von 5,5% (bzw. 2,2%) falsch negativen Befunden. Nicht gewartete Ergebnisse mit jeweils 1 Metamyelozyten oder 1 Myelozyten auf 200 Zellen, ohne erhöhte Stabkernigenzahl im mikroskopischen Differentialblutbild, wurden bei dieser Be-

Tabelle 3 Meßwerte des COULTER® GEN•S in Proben ohne und mit Vorverdünnung ($n=34$).

		ohne manuelle Vorverdünnung Mittel±Stdabw.	Range	mit manueller Vorverdünnung Mittel±Stdabw.	Range	Gleichung der Regressionsgeraden	Korrelations- koeffizient r
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	6,69±4,39	0,10-18,80	6,37±4,29	0,07-16,93	$y=1,028 \cdot x+0,167$	$r=0,992$
Neutrophile	[%]	59,7±21,5	21-90	58,6±20,4	23-87	$y=1,065 \cdot x-3,266$	$r=0,989$
Lymphozyten	[%]	29,4±19,3	5-74	29,5±18,5	7-69	$y=1,048 \cdot x-2,095$	$r=0,986$
Monozyten	[%]	7,9±5,2	0-23	8,0±5,6	0-24	$y=1,000 \cdot x+0,000$	$r=0,914$
Eosinophile	[%]	2,3±2,6	0-8	2,2±2,8	0-10	$y=1,000 \cdot x+0,000$	$r=0,920$
Basophile	[%]	0,3±0,4	0-1	0,1±0,2	0-1	nicht berechnet	nicht berechnet
Thrombozyten	[10 ⁹ /l]	274,8±184,4	4-829	259,2±160,0	13-732	$y=1,140 \cdot x-18,233$	$r=0,992$
Erythrozyten	[10 ¹² /l]	4,08±0,72	2,56-5,72	3,94±0,70	2,52-5,42	$y=1,042 \cdot x+0,001$	$r=0,978$
Hämatokrit	[l/l]	0,35±0,07	0,22-0,60	0,34±0,07	0,21-0,58	$y=1,000 \cdot x+0,010$	$r=0,976$
Hämoglobin	[mmol/l]	7,40±1,53	4,90-13,0	7,19±1,50	4,70-12,2	$y=1,000 \cdot x+0,200$	$r=0,983$
MCV	[fl]	84,7±7,6	67-106	85,9±7,5	70-106	$y=1,000 \cdot x-1,000$	$r=0,977$
MCH	[fmol]	1,82±0,18	1,44-2,27	1,84±0,17	1,45-2,25	$y=1,065 \cdot x-0,134$	$r=0,976$
MCHC	[mmol/l]	21,4±0,6	20,3-22,3	21,4±0,5	20,6-22,6	nicht berechnet	nicht berechnet
Retikulozyten	[%]	1,29±1,39	0,0-6,1	1,09±1,22	0,0-5,1	$y=1,156 \cdot x+0,000$	$r=0,975$

Abbildung 5 Retikulozyten bei Messung mittels COULTER® GEN•S versus COULTER® EPICS® XL-MCL. Proben erwachsener und pädiatrischer Patienten, n=250, Gleichung der Regressionsgeraden: $y=1,000 \cdot x-5,000$, $r=0,880$

rechnung noch als unauffällig gewertet. Bei den als falsch negativ gewerteten Befunden handelte es sich nahezu ausschließlich um leichte Linksverschiebungen.

Die Retikulozytenbestimmung zeigte ebenfalls eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen von Coulter® GEN•S und Coulter® EPICS® XL-MCL ($r=0,880$). Die mittels Coulter® GEN•S erhaltenen Ergebnisse lagen dabei geringfügig unter denen des Coulter® EPICS® XL-MCL (siehe Abb. 5).

Eine bei n=34 durch kapilläre Abnahme gewonnenen Blutproben durchgeführte Vergleichsuntersuchung ohne manuelle Vorverdünnung bzw. mit manueller Vorverdünnung (Zugabe des gleichen bzw. des doppelten Volumens Isoton-Lösung), zeigte eine ebenfalls gute Übereinstimmung der Ergebnisse (jeweils $\geq 0,914$; siehe Tab. 3).

Die Reproduzierbarkeit der Messung und die Probenstabilität wurden in n=5 Proben untersucht, die jeweils bei Eingang im Labor, nach 2 Stunden, 5 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden gemessen wurden. Die für kleines Blutbild und Differentialblutbild erhaltenen Meßwerte zeigten während des gesamten Beobachtungszeitraums keine relevanten Veränderungen (siehe Tab. 4). Die aus diesen Werten erhaltenen Variationskoeffizienten lagen beim kleinen Blutbild unter 3,0%. Eine vergleichbare Reproduzierbarkeit wurde im Differentialblutbild für die neutrophilen Granulozyten erhalten, während die Variationskoeffizienten der übrigen Zellpopulationen aufgrund ihres geringen Anteils höher lagen.

Diskussion

Für die automatisierte Bestimmung des weißen Blutbilds wurden in den letzten Jahren von zahlreichen Herstellern Systeme entwickelt, die meist unter Kombination verschiedener Meßprinzipien (Widerstandsmessungen mit Gleich- oder Wechselstrom, Absorptions- oder Streulichtmessungen, spezifische Lysen, zelltypspezifische zytochemische Reaktionen) eine „Fünffachdifferenzierung“ der Leukozyten erlauben [1, 2]. Das von der Beckman Coulter GmbH entwickelte VCS-Prinzip erlaubt eine zuverlässige Trennung von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten aufgrund der für Zellvolumina (V), elektrischer Leitfähigkeit (C) und Laserlichtstreuung (S) erhaltenen Werte. Die klinische Anwendung dieses Meßprinzips wurde zunächst im Coulter® STKS realisiert, dessen Zuverlässigkeit in vorangegangenen Evaluationsstudien mehrfach gesichert werden konnte [3-10]. Das neue Hämatologiesystem Coulter® GEN•S stellt eine Fortentwicklung dieses Systems dar und weist gegenüber diesem eine weitere Optimierung von

Tabelle 4 Untersuchungen zur Probenstabilität über 48 Stunden, n=5 Proben (Mittel±Stdabw.)

		nach Abnahme	2 Stunden	5 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
Leukozyten	[10 ⁹ /l]	27.63±14.67	27.36±14.66	27.80±15.04	26.95±14.25	27.96±14.81
Erythrozyten	[10 ¹² /l]	3.85±0.31	3.83±0.32	3.83±0.29	3.80±0.31	3.96±0.17
Thrombozyten	[10 ⁹ /l]	245.3±148.0	252.0±155.7	252.7±150.3	233.7±143.4	255.0±161.0
Hämoglobin	[mmol/l]	7.47±0.177	7.43±0.21	7.43±0.21	7.43±0.21	7.47±0.17
Hämatokrit	[l/l]	0.35±0.03	0.35±0.03	0.35±0.03	0.35±0.02	0.35±0.03
MCV	[fl]	90.33±0.47	91.33±0.47	91.33±0.47	93.33±1.70	93.33±1.70
MCH	[fmol]	1.95±0.14	1.95±0.14	1.95±0.12	1.96±0.14	1.98±0.14
MCHC	[mmol/l]	21.7±1.57	21.6±1.63	21.6±1.63	21.13±1.40	21.5±1.70
Neutrophile	[%]	89.33±4.92	89.00±5.35	89.33±5.73	90.67±4.11	90.67±4.11
Lymphozyten	[%]	5.33±2.05	6.00±1.63	5.67±2.05	5.33±1.70	4.67±2.05
Monozyten	[%]	3.67±3.09	3.67±3.09	3.00±2.94	2.33±2.05	2.67±2.49
Eosinophile	[%]	1.33±1.89	1.33±1.89	1.33±1.89	1.67±1.15	1.67±1.25
Basophile	[%]	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

Hardware und Software auf. In der vorliegenden Studie wurde das neue System unter Einschluß von Proben onkologischer und pädiatrischer Patienten evaluiert.

Im Rahmen der Evaluation wurden sämtliche vom Coulter® GEN•S erstellten Differentialblutbilder mit den zugehörigen über mikroskopische Auszählung von 200 Zellen erstellten Differentialblutbildern verglichen. Die gegenüber der normalen Routineanalytik erhöhte Zahl mikroskopisch differenzierter Zellen ermöglicht prinzipiell eine höhere Zuverlässigkeit der erhaltenen Ergebnisse. Im Rahmen der Auswertung wurden die Proben erwachsener und pädiatrischer Patienten getrennt analysiert und die Korrelationen innerhalb beider Gruppen jeweils für Proben ohne bzw. mit morphologischen Warnhinweisen (Flags) getrennt berechnet. Sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern handelte es sich bei den mit Warnhinweisen markierten Proben im wesentlichen um Proben mit einem erhöhten Anteil neutrophiler Granulozyten. Trotz der dadurch hervorgerufenen teilweise sehr ausgeprägten Verschiebungen innerhalb der Leukozytenpopulationen entsprachen die in Proben mit Warnhinweisen erhaltenen Korrelationen den in Proben ohne Warnhinweisen erhaltenen. Demnach ist offensichtlich auch bei ausgeprägten Verschiebungen zwischen den normalerweise im peripheren Blut vorkommenden Leukozytenpopulationen von einer zuverlässigen Differenzierung auszugehen. Proben pädiatrischer Patienten werden dabei genauso zuverlässig differenziert wie Proben erwachsener Patienten. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen somit die in vorangegangenen Untersuchungen unter Verwendung des Coulter® STKS bei Erwachsenen bzw. Kindern erhaltenen Ergebnisse [7, 8, 9].

Eine wesentliche Aufgabe der in der Routine eingesetzten Hämatologiesysteme besteht in der Erkennung anormaler und morphologisch auffälliger Blutproben und der möglichst sicheren Differenzierung zwischen „negativen“ und „positiven“ Befunden. Die Aussage darüber erlauben die Rechengrößen Sensitivität und Spezifität sowie der jeweilige Anteil falsch negativer bzw. falsch positiver Resultate. Aus einem möglichst niedrigen Anteil falsch negativer Befunde ist demnach auf eine hohe Sicherheit zur Erkennung pathologischer Proben zu schließen [12]. In der vorliegenden Evaluation fanden sich bei Erwachsenen (bzw. Kindern) mit Sensitivitäten von 88,5% (bzw. 77,8%) und Spezifitäten von 96,6% (bzw. 92,5%) gute Werte. Die Anteile falsch positiver sowie falsch negativer Ergebnisse lagen mit 2,5% (bzw. 6,7%) sowie 5,5% (bzw. 2,2%) entsprechend niedrig. Die falsch negativen Befunde waren darüber hinaus vorwiegend durch leichte Linksverschiebungen bedingt. Aufgrund der vorliegenden Gerätekenntzahlen erscheint eine weitere Automatisierung der Differentialblutbilder möglich, die erfahrungsgemäß mit einer weiteren Verminderung der personal- und zeitintensiven mikroskopischen Zelldifferenzierung einhergeht, ohne diese jedoch ganz ersetzen zu können [12].

Zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Messung und der Probenstabilität wurden n=5 Proben über einen Zeitraum von insgesamt 48 Stunden gemessen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen vorangegangener Untersuchungen [7, 9] fanden sich dabei keine relevanten Veränderungen der Ergebnisse von kleinem Blutbild und Differentialblutbild. Die Variationskoeffizienten lagen beim kleinen Blutbild innerhalb der vom Hersteller angegebenen Größenordnung von $\leq 3,0\%$. Eine vergleichbare Reproduzierbarkeit konnte im Differentialblutbild für die neutrophilen Granulozyten erhalten werden, während die Variationskoeffizienten für die übrigen Zellpopulationen höher waren. Dies ist jedoch offensichtlich Folge des nur geringen Anteils dieser Populationen in den untersuchten Proben. Trotz der für Lymphozyten, Monozyten und eosinophile Granulozyten gefundenen höheren Variabilität der Meßwerte stehen die erhaltenen Ergebnisse jedoch prinzipiell in guter Übereinstimmung zu denen vorangegangener Evaluationsstudien des Coulter® STKS [7, 8, 9] und belegen die hohe Leistungsfähigkeit des Coulter® GEN•S in der Differenzierung älterer Blutproben.

Im Rahmen der Evaluation wurde zusätzlich der Einfluß einer manuellen Probenvorverdünnung auf die Ergebnisse der Blutbildbestimmung (kleines Blutbild einschließlich Erythrozytenindizes, Differentialblutbild und Retikulozytenzählung) untersucht. Eine derartige Probenvorbehandlung ist erforderlich, da bei der Analyse pädiatrischer Proben oftmals nur sehr kleine, für eine normale Messung nicht ausreichende Probenvolumina zur Verfügung stehen. Obwohl bei einer manuellen Probenvorverdünnung prinzipiell von einer etwas höheren Variabilität der Meßwerte auszugehen ist, zeigten die mit Verdünnungen im Verhältnis 1+1 bzw. 1+2 erhaltenen Werte keine relevanten Abweichungen gegenüber den aus unverdünntem Material gewonnenen Werten. Eine derartige „Mikromethode“ scheint demnach geeignet, die Zahl der im Labor anfallenden und infolge geringer Probenvolumina manuell zu differenzierenden Blutbilder ohne gleichzeitige Verminderung der diagnostischen Zuverlässigkeit wirksam zu reduzieren.

Die mit beiden Methoden erhaltenen Ergebnisse der Retikulozytenzählung zeigten ebenfalls eine gute Korrelation. Obwohl bei den benutzten Methoden die Retikulozyten mit unterschiedlichen Farbstoffen angefärbt werden (Coulter® GEN•S: Neues Methylenblau bzw. Coulter® EPICS® XL-MCL: Thiazolorange), führt dies nur zu einer geringen Abweichung der erhaltenen Werte voneinander. Bei einer der Identitätsgeraden entsprechenden Geradensteigung liegen die mit dem Coulter® GEN•S erhaltenen Retikulozytenwerte nur geringfügig (Ordinatenabschnitt: -5%) unter denen der benutzten Referenzmethode und bestätigen damit die Ergebnisse einer im gleichen Labor durchgeführten Studie zur Evaluation des Coulter® STKS [13].

Während der mehrwöchigen Evaluierungsphase zeigte das Hämatologiesystem Coulter® GEN•S eine hohe Bedienerfreundlichkeit. Technisch bedingte Aus-

fälle waren während des gesamten Untersuchungszeitraums nicht zu beobachten. Die bei der Bestimmung von Differentialblutbildern und Retikulozyten erhaltenen Ergebnisse bestätigten deren gute Übereinstimmung mit den jeweiligen Referenzmethoden. Sensitivität und Spezifität der vom Gerät angegebenen Warnhinweise für das Differentialblutbild zeigen bei Proben von Erwachsenen und Kindern vergleichbare, gute Ergebnisse. Eine bei Kapillarblutentnahmen öfter auftretende für eine normale Messung zu geringe Probenmenge kann manuell durch Zugabe von Isoton-Lösung verdünnt werden, ohne daß dies zu einer relevanten Veränderung der Meßergebnisse führt. Die Ergebnisse bestätigen somit die hohe Leistungsfähigkeit des Coulter® GEN•S unter klinischen Routinebedingungen.

Danksagung

Die Autoren danken den medizinisch-technischen Assistentinnen des Hämatologischen Labors, insbesondere Frau I. Döring und Frau S. Mehnert für die ausgezeichnete technische Assistenz bei der Messung der Proben und der mikroskopischen Differenzierung. Weiterer Dank gilt den Mitarbeitern der Beckman Coulter GmbH für die Unterstützung bei der Durchführung der statistischen Berechnungen.

Literatur

1. Seeger HT, Poppy U. Zellzähl- und Differenziergeräte. In: Boll I, Heller S, editors. *Praktische Blutzelldiagnostik. INSTAND-Schriftenreihe Band 7*. Berlin (DE): Springer-Verlag 1991; 115-61.
2. Theodorsen I, Holter R, Akselberg K, Lande K. Comparison of five automated haematology analyzers. *Sysmex J Intern* 1994;4:73-80.
3. Ennen J, Bäurle R, Schriewer H. Vergleich der Bestimmung von Leukozytenpopulationen am Coulter VCS mit der mikroskopischen Differenzierung. *Lab med* 1990;14:102-10.
4. Fiehn W, Zorn M. Durchflußzytometrische Differenzierung des weißen Blutbildes durch Coulter STKS und Technikon H2. *Klin Lab* 1992;38:483-5.
5. Katz N, Grundhöfer G. Möglichkeiten und Grenzen durchflußzytometrischer Differenzierung - Vergleich verschiedener Meßverfahren. *Klin Lab* 1993;39:329-34.
6. Lotz J, Hafner G, Wiesener M, Ehrenthal W, Prellwitz W. Bestimmung von Differentialblutbildern mittels VCS-Technologie am Coulter MAXM im Vergleich zur zytometrisch-zytochemischen und lichtmikroskopischen Differenzierung. *Lab med* 1992;16:295-9.
7. Robertson EP, Lai HW, Wei DCC. An evaluation of leucocyte analysis on the Coulter STKS. *Clin Lab Haemat* 1992; 4:53-68.
8. Lacombe C, Picard F, Levy JP. Evaluation of the Coulter MAXM in a children's hospital. *Nouv Rev Fr Hematol* 1994;36:343-8.
9. Sachse C, Baudach A, Tille D, Avenarius HJ, Heller S, Ruby C, Henkel E. Die mechanische Leukozytendifferenzierung am Cobas-Argos-Hämatologie-Analyzer im Vergleich mit dem Bayer Diagnostic H1 und dem Coulter STKS. *Lab med* 1995;19:9-21.
10. Warner BA, Reardon DM: A field evaluation of the Coulter STKS. *Am J Clin Pathol* 1991;95:207-17.
11. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry; *J Clin Chem Clin Biochem* 1983;21:709-20.
12. Pohland D, Redenbacher M. Evaluierung des Hämatologieautomaten Sysmex SF-3000 unter besonderer Berücksichtigung pädiatrischer und onkologischer Aspekte. *J Lab Med* 1998;22: 22-30.
13. Thulin H, Jaroß W, Wiesener M. Retikulozytenzählung im Blut mit dem Coulter STKS und dem Coulter EPICS Profile II. *Lab med* 1994;18:323-5.