

5 Diskussion

5.1 Blutproben

Das mittlere Alter der Blutproben zum Zeitpunkt der Untersuchung betrug 1,43 h. Die ICSH-Richtlinien empfehlen die Messung von frischen Blutproben, definiert als Blut, welches nicht länger als 4 h nach Entnahme verarbeitet wird (ICSH, 1994b). Darüber hinaus wurde in der vorliegenden Studie eine Einwirkungszeit von EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure) auf das Blut unter Durchmischung auf dem Rollenmixer von mindestens 30 min berücksichtigt. Der ermittelte Anteil untersuchter Blutbilder mit Werten außerhalb des physiologischen Bereiches betrug 51,4 %. Die Definition „blutgesund“ erfolgte über klinikeigene Erfahrungswerte (siehe Anhang Kap. 9.2), ermittelt über ein Referenzintervall (2,5 und 97,5 Perzentile) anhand von ca. 40 gesunden Tieren pro Tierart. Gemäß der Richtlinie des „International Council for Standardization in Hematology“ (ICSH) sollen für die Evaluierung von Blutzellzählgeräten die Blutproben von einer möglichst großen Anzahl verschiedenster Spender bzw. Patienten stammen. In der so ausgewählten Probenmenge spiegelt sich die ganze Bandbreite quantitativer und qualitativer Abnormitäten der Blutbestandteile wieder, die auch in der Praxis zu erwarten ist (ICSH, 1994b). Abweichungen der Plasmabeschaffenheit konnten bei 5,8 % aller Blutproben vermerkt werden. Mehr als die Hälfte davon waren Proben von Hunden, die ikterisch oder hämolytisch waren. Hämolyse, Hyperbilirubinämie und Lipämie können gemäß ICSH-Richtlinien die Messergebnisse beeinflussen. Betrachtet man die Ergebnisse der Messdifferenzen zwischen CELL-DYN 3500 und CA530-VET für plasmaveränderte Proben getrennt, so können keine größeren Messabweichungen als bei Proben mit unauffälligem Plasma festgestellt werden.

5.2 Qualitätskontrolle durch Leerwertmessung und Überprüfung der Blutverschleppung

Eine fehlerfreie Leerwertmessung vor jeder Messserie war Voraussetzung für die Aufnahme der darauf folgend gemessenen Patientenproben in die Studie. Grenzwerte für die Gerätehintergrundmessung sind vom Hersteller für den Parameter Hämoglobin (HGB) und die gezählten Zellen vorgegeben. Die maximal erlaubten Hintergrundwerte des CA530-VET lagen niedriger als die des CELL-DYN 3500 (siehe Kap. 9.1), wurden aber mit Ausnahme der in Kap. 4.7.1 beschriebenen Probleme bei den Parametern HGB und PLT nie überschritten. Hohe PLT-Leerwerte können durch bakterielle Verunreinigung der Reagenzien, vor allem der Verdünnungslösung verursacht sein. Laut Hersteller sind Diluentbehälter nicht länger als 3 Wochen nach Anbruch zu verwenden. Die limitierte Nutzung eines Diluentbehälters war nicht auf den Etiketten der Behälter vermerkt. Die ICSH-Richtlinien fordern klare Aussagen über Lagerungsbedingungen und Angabe der Haltbarkeitsdaten, sowohl ungeöffnet wie auch geöffnet.

Blutverschleppung innerhalb des Gerätes von einer Probe in die darauf folgende macht sich im Leerwert bemerkbar. Klinische Bedeutung hat die Verschleppung von Zellen, wenn nach einer Probe mit hoher Konzentration einer oder mehrerer Zellarten eine zytopenische Probe gemessen wird und daher mit einer Verfälschung, d.h. einem falsch erhöhten Messwert zu rechnen ist. In den modernen Analysegeräten sollte die Blutverschleppung kein Problem mehr darstellen. Sie sollte „gleich Null“ sein. Offizielle Vorgaben für den „Carry-Over“-Wert liegen auch für die Humanmedizin nicht vor. Optimalerweise sollte die Verschleppung für jeden Analyten getrennt und auch an verschiedenen pathologisch veränderten Zellpopulationen überprüft werden, da sie abhängig ist von der Zellart (RÜCKER et al., 1994). Dies wurde im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt. Stattdessen wurde stabilisiertes humanes Kontrollblut der Konzentrationen „High“ und „Low“ verwendet, welches alle Zellarten hoch bzw. niedrig konzentriert enthielt. Vergleicht man unsere Ergebnisse mit den vorgegebenen Grenzwerten des Referenzgerätes CELL-DYN 3500 von < 1 % für die Parameter WBC, RBC und HGB bzw. <3,5 % für PLT (Kap. 9.1 Tab. 9.4), so lagen die für den CA530-VET ermittelten K-Werte mit 0,28 % für RBC, 0,59 % für PLT, 0,32 % für WBC und 0,18 % für HGB deutlich unter den für den CELL-DYN 3500 geforderten Grenzwerten. Evaluierungsstudien stellten für den CELL-DYN 3500 sehr niedrige K-Werte fest. So gibt BLEUL (1998) in seiner Arbeit für Rinderblut K-Werte für die Erythrozytenmessung von 0,034 %, für Thrombozyten von 1,519 %, für Leukozyten von 0,098 % und für Hämoglobin von 0,062 % an. KIEFER (1995) konnte für Maus- und Rattenblut K-Werte von 0,027 % (Leukozyten) bis maximal 0,81 % (Thrombozyten) ermitteln. Im Rahmen der Evaluierung des Sysmex-F-800 (Toa Medical Electronics Europa GmbH, Hamburg) bestimmten PASTOR et al. (1997b) die Verschleppung für Hunde- und Katzenblut. Sie erhielten K-Werte für den Hund von 0,89 % für RBC, 0,77 % für Hämatokrit (HKT), 2,95 % für PLT, 1,96 % für Leukozyten (WBC) und 1,07 % für HGB. Entsprechend für die Katze Werte von 1,83 % für RBC, 1,97 % für HKT, 5,22 % für PLT, 1,14 % für WBC und 1,02 % für HGB. Interpretiert wurden diese Werte mit dem Hinweis, dass der Sysmex F-800 als halbautomatisches Impedanzzellzählgerät keine automatische Spülfunktion besitzt. Verglichen mit der Literatur ergaben die Untersuchung zur Blutverschleppung beim CA530-VET für alle Parameter deutlich geringere K-Werte als beim Sysmex-F-800 und insbesondere für den Parameter PLT auch einen niedrigeren K-Wert als beim CELL-DYN 3500, wobei zu beachten ist, dass die erwähnten Studien frisches Tierblut und nicht wie in dieser Studie Kontrollblut verwendeten.

BROUGHTON et al. (1974) sieht die Bedeutung der Verschleppung in ihrem Effekt auf die Präzision und bezeichnet K-Werte von 5 % und größer als inakzeptabel. Für Werte von ca. 2 %, wie sie in den meisten getesteten Systemen vorkommen, sieht er nur einen geringen Effekt auf die Präzision. Beurteilt man die Ergebnisse dementsprechend, so kann die Blutverschleppung des CA530-VET für alle Zellarten vernachlässigt werden. Allerdings erwähnen andere Autoren für die Verschleppung einen geforderten Grenzbereich von $\leq 0,25$ % (MORITZ, 2002). Bei Anwendung der 0,25 %-Grenze würde nur der Parameter HGB die Bedingung erfüllen, die Parameter RBC und WBC würden den Grenzwert knapp, der Parameter PLT ihn deutlich überschreiten.

Kontaminationsstudien und Linearitätsstudien wurden im Rahmen dieser klinischen Arbeit nicht durchgeführt. Zur Ermittlung der Probenkreuzkontamination und der Probenkontamination durch Lösungsmittel wird in der Regel mit radioaktiv markierten Analyten gearbeitet. Die Herstellung und Messung von Verdünnungen zur Linearitätskontrolle ist mit großen Fehlermöglichkeiten (z.B. Pipettierfehler) behaftet. Ebenso wurde auf Lagerungsstudien mit Tierblut verzichtet, da der CA530-VET für die tierärztliche Praxis als Instrument vor Ort konzipiert ist und im Unterschied zu den größeren Analysesystemen in Auftragslaboren kaum bei der Analyse gelagerter bzw. transportierter Blutproben Verwendung finden wird.

Mittlerweile ist Kalibrationsmaterial sowie Kontrollblut auch speziell für die veterinärmedizinischen Modelle erhältlich, wodurch eine weitere Möglichkeit der Qualitätskontrolle bei Installation bzw. für die tägliche Routine gegeben ist.

5.3 Präzision

Im Folgenden wird jeweils kurz auf die ermittelten und in Kap. 4 tabellarisch aufgeführten Messfehler des CA530-VET eingegangen. Aus den Messfehlern wurden die im Anhang Kap. 9.4 angegebenen Variationskoeffizienten (VK %) berechnet. Die Ergebnisse unserer Präzisionsberechnungen (VK %-Werte) werden der Methodik entsprechend mit den maximal zulässigen Werten für Unpräzision aus den „Richtlinien zur Qualitätssicherung quantitativer Bestimmungen laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen der Bundesärztekammer“ (2001) und den von KLEE (1990) angegebenen Leistungszielen verglichen.

Die Richtlinie der BÄK (2001) gibt in ihrer Anlage unter anderem Grenzwerte der maximal zulässigen Unpräzision in Prozent für 5 Parameter des kleinen Blutbildes an. Die Angaben sind ursprünglich für Kontrollprobenmesswerte aus 20 aufeinander folgenden Arbeitsschichten/-tagen konzipiert, aus denen nach Beendigung des Kontrollprobenmesszyklus der Variationskoeffizient berechnet wird. Der daraus resultierende VK-Wert muss kleiner oder gleich den in Tab. 5.1 angegebenen Werten sein. KLEE (1990) nennt ebenfalls für 5 Parameter einen Gesamtvariationskoeffizienten als Grenze sowie eine maximal erlaubte prozentuale Messdifferenz bei Doppelbestimmung einer Blutprobe (Tab. 5.1). Der Gesamtvariationskoeffizient nach KLEE (1990) setzt sich aus einem optimalen analytischen Variationskoeffizient (ermittelt aus Kurzzeitpräzisionsdaten von Geräteherstellern durch wiederholte Messungen von Proben aus einem Referenzpool) und aus der biologischen Variabilität innerhalb eines Individuums [ermittelt von STATLAND et al. (1978)] zusammen. Die nach KLEE (1990) maximal erlaubten Abweichungen zweier aufeinander folgender Messungen einer Patientenprobe wurden rechnerisch aus den Ergebnissen der Kurzzeitpräzision bestimmt.

Sowohl die Richtlinie der BÄK (2001) als auch die von KLEE (1990) aufgestellten Leistungsziele für Mehrkanalhämatologieanalysatoren stammen aus der humanen Labormedizin und wurden mangels äquivalenter tiermedizinischer Literatur unmodifiziert als Maßstab für die vorliegende Evaluierung übernommen.

Tab. 5.1: Maximal zulässige Unpräzision (BÄK 2001) sowie maximaler Gesamtvariationskoeffizient und maximal erlaubte Differenz bei Doppelbestimmung einer Blutprobe im mittleren Wertebereich (KLEE 1990) angegeben in Prozent

Parameter	Maximal zulässige Unpräzision (BÄK 2001)	Gesamtvariationskoeffizient (KLEE 1990)	Maximal erlaubte Differenz bei Doppelbestimmung (KLEE 1990)
WBC	6 %	14,0 %	±12,0 %
RBC	3 %	3,8 %	±3,7 %
HGB	2 %	3,1 %	±3,0 %
HKT	%	n.a.*	n.a.*
MCV	n.a.*	1,8 %	±3,3 %
PLT	7 %	8,7 %	±14,8 %

* n.a. = nicht angegeben

a) Präzision in der Serie (CA530-VET)

Betrachtet man zunächst die in dieser Studie ermittelten absoluten Messfehler der Präzision in der Serie, so sind diese klinisch gesehen zu vernachlässigen. Ein Messfehler von ca. $15 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT bei der Katze ist für diese zur Thrombozytenaggregation neigende Tierart zu erwarten. Auffällig ist allein der im Vergleich zu den anderen beiden Tierarten fast 3-mal höhere Messfehler des Parameters MCHC mit 1,48 g/dl bei der Katze. Die Ursache hierfür ist unklar.

Umgerechnet in relative Variationskoeffizienten (siehe Anhang Kap. 9.4 Tab. 9.7) und verglichen mit den Vorgaben der BÄK (2001) und den Gesamtvariationskoeffizienten nach KLEE (1990) wird deutlich, dass die Ergebnisse weit unter den vorgegebenen Grenzwerten liegen. Für den Parameter WBC der Katze hebt sich der Variationskoeffizient von 3,51 % deutlich von den unter 2 % liegenden Werten der beiden anderen Tierarten ab. Auch MORITZ (2002) gibt für die WBC-Präzision des Sysmex F-800 für die Katze (VK 7 %) im Vergleich zu den anderen Tierarten (VK 2,1 % – 3,3 %) eine höhere Streuung der Ergebnisse an und erklärt diese mit Interferenzen der Leukozytenzählung mit Thrombozytenagglutinaten. Erstaunlich ist, dass der VK-Wert der Präzision in Serie beim Parameter PLT der Katze mit 4,53 % niedriger war als für Hund (5,27 %) und Pferd (5,80 %). In der Präzision der Wiederholungsmessung (siehe Unterpunkt b) hatten dagegen die Tierarten Katze (8,66 %) und Pferd (9,94 %) fast doppelt so hohe VK-Werte wie der Hund (4,45 %) und auch doppelt so hohe Werte verglichen mit der Präzision in Serie. Auch die 25fach-Messung einer Blutprobe durch den ADVIA 120 ergab den höchsten VK-Wert für PLT erwartungsgemäß bei der Katze (8,4 %), gefolgt von Pferd (5,4 %) und Hund (2,9 %) (MORITZ, 2002).

Bei Evaluierung des Hämatologiesystems Vet-ABC/8P, einem ebenfalls nach dem Impedanzmessprinzip arbeitenden Gerät, lieferten die Präzisionsuntersuchungen in der 10fach-Messung von Hunde-, Katzen- und Pferdeblut (jeweils $n = 1$) insgesamt geringere VK-Werte als sie für den CA530-VET in dieser Arbeit ermittelt werden konnten. Zusammengefasst für Hund, Katze und Pferd, lagen die Werte des Vet-ABC/8P für WBC zwischen 0,4 und 2,9 %, für RBC zwischen 0,3 und 0,6 %, für PLT zwischen 1,9 und 5,4 %, für HGB zwischen 0,3 und 0,4% und für HKT zwischen 0,5 und 1,0 % (NEUERER und HIRSCHBERGER, 1999). LIEDL und HIRSCHBERGER (1997) geben für die automatische Zellzählung des Technicon H*1 bei der Katze für die Präzision in Serie (10fach-Messung von $n = 10$ Katzen) folgende Variationskoeffizienten an: für WBC 2,5 %, RBC 0,6 %, PLT 11,2 %, HGB 0,5 % und HKT 1,5 %. Verglichen dazu war die Präzision des CA530-VET in Serie für die Parameter PLT (VK 4,53 %) und HKT (VK 0,96 %) bei der Katze besser. SPRANGFORS et al. (1990) geben in der Geräteevaluierung des Technicon H*1 für 30 Messwiederholungen einer Pferdeblutprobe Variationskoeffizienten von 1,0 % für RBC, 1,2 % für HGB, 2,0 % für WBC, 1,1 % für MCV und 7,3 % für PLT an. Die für den CA530-VET bei dieser Tierart ermittelten VK-Werte waren mit Ausnahme des Parameters RBC (VK 1,2 %) geringer. Präzisionsstudien am Hämatologiesystem Sysmex F-800, durchgeführt von LAVIN et al. (1991) im Rahmen einer Geräteevaluierung, ergaben für die Tierart Hund bei 10fach-Messung von 5 Blutproben VK-Werte von 2,2 % für WBC, von 3,3 % für RBC, von 1,9 % für HKT und HGB sowie von 10,2 % für den Parameter PLT. Die Ergebnisse des CA530-VET unterschritten für alle Parameter die Werte des Sysmex F-800.

Es kann festgehalten werden, dass die Präzisionsergebnisse des CA530-VET in der Serie auch im Vergleich zur Literatur in einem guten Bereich lagen. Vor allem für den Parameter PLT waren die in dieser Studie ermittelten VK-Werte der Präzision in der Serie niedrig.

b) Präzision der Wiederholungsmessung (Doppelbestimmung) (CA530-VET)

Betrachtet man zunächst wiederum die Messfehler, so zeigt insgesamt gesehen die Präzision der Doppelbestimmung bei den Tierarten Hund und Katze überwiegend etwas schlechtere Ergebnisse als die Präzision der 10fach-Messung. Bei der Tierart Pferd ist die Präzision der Doppelbestimmung dagegen geringgradig besser bzw. vergleichbar. Der in der Präzision der Serie aufgefallene größere Messfehler beim Parameter MCHC der Katze im Vergleich zu Hund und Pferd ist in den Ergebnissen der Präzision der Wiederholungsmessung nicht wiederzufinden.

Relativ betrachtet ergab die Präzision der Doppelbestimmung für die Tierart Katze und Pferd beim Parameter Thrombozyten VK-Werte von 8,66 % bzw. 9,49 %. Folglich wurde bei diesen Tierarten der PLT-Grenzwert der BÄK (2001) von 7 % überschritten. Alle übrigen Parameter lagen innerhalb der Grenzen der BÄK (2001) sowie auch deutlich innerhalb der maximal erlaubten Differenz bei Doppelbestimmung nach KLEE (1990). Auffällig waren verglichen mit der Präzision in Serie außerdem höhere VK-Werte bei den Parametern HKT bei der Katze, MCV bei Katze und Pferd sowie WBC beim Hund.

NEUERER und HIRSCHBERGER (1999) geben für die Präzision der Doppelbestimmung von 32 Hunde-, 27 Katzen- und 24 Pferdeblutproben des Vet-ABC/8P VK-Werte für WBC von 0,8 bis 1,3 %, für RBC von 0,7 bis 0,8 %, für PLT von 2,5 bis 4,6 %, für HGB von 0,5 bis 0,7 % und für HKT von 0,7 bis 0,8 % an. Diese niedrigen VK-Werte konnten in der Doppelbestimmung mit dem CA530-VET nicht erreicht werden. Verglichen mit der Arbeit von PASTOR et al. (1997b) (Sysmex F-800, Dreifachmessung) erzielte der CA530-VET bei der Tierart Hund für die Parameter RBC (VK 1,6 % vs. 5,9 %) und PLT (VK 4,5 % vs. 5,9 %) in der Präzision der Wiederholungsmessung bessere Ergebnisse. Für die Parameter MCV, MCH und HGB des Hundes waren die VK-Werte der beiden Geräte vergleichbar. Für alle weiteren Parameter insbesondere HKT (2,0 % vs. 1,2 %) und WBC (3,7 % vs. 2,7 %) wies der CA530-VET eine höhere Streuung auf. Bei der Tierart Katze zeigte der CA530-VET bei den Parametern RBC (1,6 % vs. 2,7 %), HKT (2,2 % vs. 5,8 %), PLT (8,7 % vs. 55,5 %), MPV (3,9 % vs. 5,0 %) und HGB (1,3 % vs. 2,2 %) eine höhere Präzision. Die Präzision der Erythrozytenindizes war vergleichbar, beim Parameter WBC (4,5 % vs 3,1 %) war die Streuung der CA530-Messwerte größer. Im Vergleich mit dem ADVIA 120 (Dreifachmessung) lieferte der CA530-VET in der Doppelbestimmung ein schlechteres Präzisionsergebnis. Insbesondere bei Hund und Katze für die Parameter WBC (3,7/4,5 % vs. 2,1/2,4 %) und HKT (2,0/2,2 % vs. 1,2/1,3 %), beim Parameter MCV von Katze (1,45 vs. 0,5 %) und Pferd (1,8 vs. 0,3 %) sowie bei den PLT von Hund (4,5 vs. 2,6 %) und Pferd (9,5 vs. 3,5 %) wurden in dieser Studie höhere VK-Werte ermittelt (MORITZ, 2002).

Zu berücksichtigen ist, dass sowohl bei der Sysmex-F-800-Evaluierung als auch beim ADVIA 120 jeweils eine Dreifachmessung mit der Doppelbestimmung des CA530-VET verglichen wurde. Darüber hinaus stellen der ADVIA 120 und der CA530-VET Geräte aus verschiedenen Preis- und Leistungsklassen dar.

c) Präzision der Kontrollblutmessung (CA530-VET)

Die Messfehler des CA530-VET bei Kontrollblutmessung auf Zeit (Tab. 4.4) waren für die meisten Parameter mit den Ergebnissen der Präzision in Serie des Tierblutes vergleichbar. Allgemein sprachen die niedrigen Messfehler für eine gute Langzeitstabilität. Für die Parameter MCHC und WBC der Tierart Katze sowie den Parameter PLT und das Differentialblutbild aller 3 Tierarten ergab die Kontrollblutmessung geringere Messfehler als die 10fach-Messung von Tierblut. Kontrollblut bestehend aus stabilisierten humanen Erythrozyten, Säugerleukozyten und einer Thrombozytenkomponente in Konservierungsmedium scheint durch das Gerät gut messbar zu sein. Selbst der Zeitfaktor und die Tatsache, dass 3 verschiedene Kontrollblutchargen in die Messfehlerberechnung eingingen, hatte keinen negativen Einfluss auf die Ergebnisse. Besonders im Differentialblutbild wurde die Fähigkeit des Gerätes, präzise zu arbeiten, deutlich. Die hohen Messfehler im Differentialblutbild bei der Messung von Tierblut sind demnach dem Untersuchungsmaterial zuzuschreiben.

Die Variationskoeffizienten der Kontrollblutmessungen insgesamt (Langzeitstabilität Kap. 9.4 Tab. 9.10) lagen innerhalb der geforderten Grenzen der BÄK (2001) und weit unter dem

Wert des Gesamtvariationskoeffizienten nach KLEE (1990). Verglichen mit der Messung von Tierblut in Serie (Kurzzeitstabilität Tab. 9.7) waren die VK-Werte der Kontrollblutmessungen für die meisten Parameter vergleichbar oder bis ca. 1,5fach höher. Eine mit der Kurzzeitstabilität vergleichbare Langzeitstabilität ist wünschenswert. Nur der Parameter RDW zeigte eine deutlich schlechtere Präzision. Erfahrungsgemäß liegt der VK-Wert der Langzeitstabilität ca. 50 % höher als der VK-Wert der Kurzzeitstabilität. Eine bessere Präzision verglichen mit der 10fach-Messung von Tierblut ergab die Messung von Kontrollblut auf Zeit für die Differenzierung und dem Parameter PLT. Bei diesen Zellarten waren die stabilisierten Zellpräparationen des Kontrollblutes durch das Gerät deutlich präziser messbar als Tierblut. Im Differentialblutbild beispielsweise ergab die Kontrollblutmessung VK-Werte von 1,52 % für die Granulozytenpopulation und 3,14 % für die Lymphozytenpopulation, während die beste Präzision in Serie für Tierblut bereits VK-Werte von 3,71 % für Granulozyten und 10,02 % für Lymphozyten aufwies. Der Variationskoeffizient der bei Kontrollblutmessung stets ermittelten Midcellpopulation lag bei 7,34 %. Dieser höhere Wert ist durch das seltenere Vorkommen dieser Zellart im Blut erklärbar. Je seltener eine Zellart vorkommt, desto mehr führen bereits kleine Abweichungen zwischen den Wiederholungsmessungen zu hohen Streuungen. Fälschlicherweise wird der Variationskoeffizient oft über alle Messbereiche als konstant angenommen. Dies ist jedoch selten der Fall. Er ist nur konstant, wenn die ermittelte Standardabweichung proportional zum Mittelwert des gemessenen Analyten steigt oder fällt (KLEE, 1990). Anhand der VK-Werte der Kontrollblutpräzision des CA530-VET getrennt für niedrige, mittlere und hohe Konzentrationen (siehe Anhang Kap. 9.4 Tab. 9.9) wurde die Abhängigkeit des Variationskoeffizienten für gezählte Zellen von der Konzentration nochmals ersichtlich. Je höher die Zellkonzentration, desto besser die Präzision. Am deutlichsten war dies am Parameter PLT zu sehen, der mit 7,21 % im niedrigen Konzentrationsbereich als einziger knapp den von der BÄK (2001) erlaubten Wert von 7 % überschritt und im hohen Bereich einen VK-Wert von nur 2,44 % aufwies.

d) Präzision der maschinellen Differenzierung

Die aus der maschinellen Differenzierung des CA530-VET ermittelten absoluten Messfehler waren in der Serie und bei Doppelbestimmung für alle 3 Tierarten vergleichbar und lagen im prozentualen Differentialblutbild für Granulozyten und Lymphozyten zwischen 2,71 % und 3,93 %. Umgerechnet in VK-Werte waren die für die Granulozytenpopulation sowohl in Serie als auch bei Doppelbestimmung ermittelten Variationskoeffizienten zwischen 3,7 % und 5,2 % als akzeptabel einzustufen. Für die Lymphozytenpopulation waren VK-Werte zwischen 10 % und 20 % verglichen mit der Literatur (siehe Tab. 5.2) als zu hoch zu beurteilen. Die Tierart Katze wies für die Lymphozytenpopulation sowohl in der Serie mit 19,78 % als auch in der Doppelbestimmung mit 16,31 % die größten VK-Werte aller 3 Tierarten auf. Beim Hund konnte mit einem VK von 10 % für die maschinelle Lymphozytenpräzision eine mittlere Stabilität festgehalten werden. Die Midcellpopulation wurde durch das System selten erfasst. Die Präzisionsergebnisse der Midcellpopulation konnten nicht gleichwertig interpretiert werden, da in die Berechnung der VK-Werte nur wenige Fälle eingingen ($n \leq 15$). Für die

maschinelle Differenzierung existieren von Seiten der Richtlinie der BÄK (2001) und den von KLEE (1990) aufgestellten Leistungszielen keine Vorgaben. Die Streuungen der automatisierten Blutzellendifferenzierung sind jedoch generell höher zu erwarten als die der Blutzellzählung (MORITZ, 2002).

Betrachtet man vergleichend die VK-Werte der neutrophilen Granulozyten des Technicon*H1 (Tab. 5.2), war die für den CA530-VET ermittelte Präzision für die GRAN %-Population des Hundes vergleichbar, die der Katze und vor allem die des Pferdes jedoch schlechter. Zu beachten ist, dass die GRAN %-Population des CA530-VET die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten enthält. Die Präzision des CA530-VET für die Lymphozytenpopulation war vor allem bei den Tierarten Katze und Pferd mit mehr als doppelt so hohen VK-Werten schlechter als beim Technicon H*1. Die Präzision der Midcellpopulation, welche die Monozyten wie auch die basophilen Granulozyten umfasst, sollte wie bereits erwähnt nicht interpretiert werden, da der CA530-VET für diese Population zu selten Zahlenwerte angab (siehe auch Kap. 4.6.1).

Tab. 5.2: Präzision der relativen Leukozytendifferenzierung des Technicon H*1 ermittelt durch Wiederholungsmessung (3fach) von Blutproben der Tierarten Hund (ZIEGLER, 1997), Katze (SUCHFORT, 1998) und Pferd (SEEGERS, 1997), 10fach-Messung bei Katze (LIEDL und HIRSCHBERGER, 1997) und 30fach-Messung bei Pferd (SPRANGFORS et al., 1990) ausgedrückt als Variationskoeffizient VK in Prozent

Parameter	Hund (n = 220) (3fach)	Katze (n = 100) (3fach)	Pferd (n = 100) (3fach)	Katze (n = 10) (10fach)	Pferd (n = 1) (30fach)
Neutr. Granulozyten	3,3 %	2,4 %	2,4 %	2,3 %	3,1 %
Lymphozyten	10,4 %	6,9 %	5,3 %	9,6 %	3,7 %
Monozyten	25,9 %	18,7 %	23,3 %	18,1 %	16,6 %
Eos. Granulozyten	14,9 %	15,6 %	6,9 %	10,9 %	10,0 %
Baso. Granulozyten	129,4 %	79,8 %	39,1 %	n.a.*	15,0 %

* nicht angegeben

e) Präzision der manuellen Methoden

Leukozytendifferenzierung

Die absoluten Messfehler der in dieser Studie zweifach durchgeführten manuellen Differenzierung lagen für segmentkernige neutrophile Granulozyten und Lymphozyten zwischen 2,5 % und 3,2 %. Ausnahme war der Hund mit einem Messfehler von 4,7 % in der Bestimmung der neutrophilen Granulozyten. Für die anderen Leukozytenpopulationen waren die absoluten Messfehler entsprechend dem seltenen Vorkommen dieser Zellen im Blutaussstrich deutlich geringer. Aussagekräftiger war die Relativierung des Messfehlers in Form des Variationskoeffizienten (Kap 9.4, Tab. 9.11). Für alle Tierarten zusammengefasst betrug die VK-Werte der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten 3,9 % bis 5,9 %, die

der Lymphozytenpopulation 9,9 % bis 21,3 %. Dabei war die Präzision der Lymphozyten beim Pferd (9,9 %) am besten und beim Hund (21,3 %) am schlechtesten. Die VK-Werte der manuellen Monozyten- und eosinophilen Granulozytendifferenzierung lagen zwischen 52,7 % und 73,4 %. Die sehr selten vorkommenden basophilen Granulozyten, die stabkernigen neutrophilen Granulozyten sowie die Normoblasten wiesen VK-Werte weit über 100 % und damit eine schlechte Präzision auf.

Vergleicht man die VK-Werte der Präzision der manuellen Differenzierung (Kap. 9.4 Tab. 9.11 a) mit der Präzision der maschinellen Differenzierung des CA530-VET (Tab. 9.8), so ist zu erkennen, dass für die Tierart Hund die maschinelle Differenzierung präziser ist. Bei Katze und Pferd zeigten die beiden Methoden für die Granulozytenpopulation eine in etwa vergleichbare Präzision, dagegen wies die manuelle Lymphozytendifferenzierung vor allem bei Katze und aber auch beim Pferd eine bessere Reproduzierbarkeit auf.

In der Literatur wird häufig über eine erhöhte Variabilität bei manueller Zellzählung und Differenzierung berichtet. Nach RÜMKE (1979) ist die Reproduzierbarkeit der traditionellen manuellen 100-Zellen-Objektträgerdifferenzierung schlecht. Er beschreibt die Variabilität der Ergebnisse der Zelldifferenzierung in Blutausstrichen und gibt tabellarisch 95 %-Vertrauensgrenzen für einen ausgezählten Prozentsatz von Zellen mit einem besonderen Kennzeichen an. Anhand dieser Vertrauensgrenzen kann der tatsächliche Prozentsatz der Zellen im Blut statistisch „geschätzt“ werden. Werden zum Beispiel bei einer Differenzierung von 100 Leukozyten 40 Lymphozyten gefunden, so liegt der tatsächliche Prozentsatz an Lymphozyten des untersuchten Blutes nach RÜMKE (1960) mit einer Konfidenzwahrscheinlichkeit von 95 % zwischen 30 % und 51 %. Die Streubreite der 95 %-Vertrauensgrenzen verkleinert sich mit zunehmender Zahl an ausgezählten Zellen (RÜMKE, 1960). Auch in unseren Untersuchungen zeigte die am häufigsten vorkommende Zellpopulation (segmentkernige neutrophile Granulozyten) sowohl in der maschinellen als auch bei der manuellen Differenzierung die beste Präzision. Für die Monozytenzählung wird die manuelle Differenzierung im unteren Wertebereich als zu ungenau betrachtet und als Referenzmethode nicht empfohlen (siehe auch Kap. 5.4.1 b) (GOOSSENS et al., 1991b).

KOEPKE (1977) gibt die analytische Variabilität innerhalb eines Labors für die manuelle 100-Zelldifferenzierung von humanem Blut an, ohne jedoch zu erwähnen, auf welcher Datenbasis diese Werte ermittelt wurden (Tab. 5.3). LIEDL und HIRSCHBERGER (1997) beschreiben die Präzision in der Serie (10fach-Bestimmung) der manuellen 400-Zelldifferenzierung von 10 nach Wright- und Alpha-Naphthylazetat-Esterase gefärbten Ausstrichen von Katzenblut. Ein Vergleich der Literatur mit den eigenen Ergebnissen der zweifachen 100-Zellen-Differenzierung (Kap. 9.4 Tab. 9.11) zeigte für die Population der neutrophilen Granulozyten aller Tierarten, für die Lymphozytenpopulation bei Katze und Pferd sowie für die Population der eosinophilen Granulozyten aller 3 Tierarten eine Variation, die geringer oder vergleichbar war mit den von KOEPKE (1977) angegebenen Werten. Ausnahme war die Präzision der manuellen Lymphozytenzählung des Hundes, welche in unseren Untersuchungen mit einem VK-Wert von 21,3 % ein schlechteres Ergebnis lieferte. LIEDL und HIRSCHBERGER (1997) geben vor allem für die neutrophilen Granulozyten

geringere Mittelwerte für den Variationskoeffizienten an, als sie in vorliegender Studie ermittelt werden konnten. Des Weiteren streuten die erhaltenen Messwerte für die Monozytenpopulation stärker als bei KOEPKE (1977), die Variationskoeffizienten lagen aber noch innerhalb der von LIEDL und HIRSCHBERGER (1997) angegebenen Spannweite. Für die Population der basophilen Granulozyten sind in der Literatur selten Präzisionsangaben zu finden. Anhand der in dieser Studie ermittelten extrem hohen VK-Werte von 180 % bis 1311 % erscheint eine Präzisionsbestimmung dieser sehr selten auftretenden Zellart wenig sinnvoll.

Tab. 5.3: Analytische Variabilität der manuellen 100-Zellen-Differenzierung von Humanblut und Präzision in der Serie (10fach-Bestimmung) der manuellen 400-Zellen-Differenzierung von Katzenblut (n = 10), Färbung nach Wright angegeben als Variationskoeffizient VK in Prozent (%)

Parameter	Variationskoeffizienten für 100-Zelldiff. (Humanblut) nach KOEPKE (1977)	Variationskoeffizienten (Mittelwert und Spannweite) für 400-Zelldiff. (Katzenblut) nach LIEDL und HIRSCHBERGER (1997)
Neutrophile Granulozyten	8,7 %	2,2 % (1,2–3,7)
Lymphozyten	16,6 %	11,5 % (6,7–16,7)
Monozyten	45,8 %	35,3 % (16,2–86,9)
Eosinophile Granulozyten	75 %	78,2 % (26,9–160)
Basophile Granulozyten	150 %	keine Angaben

Thrombozytenzählung

Für die Tierarten Katze und Pferd wurde die Präzision der zweifach ausgeführten manuellen Thrombozytenzählung berechnet. Der absolute Messfehler der manuellen Thrombozytenzählung der Katze bzw. des Pferdes lag bei 18,25 bzw. 12,75 x 10³/mm³ Plättchen, die Variationskoeffizienten bei 6,71 % (Katze) bzw. 8,48 % (Pferd) und damit ca. 2 % bzw. 1 % unterhalb der für den CA530-VET errechneten VK-Werte.

Nach NIEPAGE (1989) ist auch bei sorgfältiger Ausführung der Kammerzählung mit einem Fehler von 5 % zu rechnen. Als mögliche Fehlerquellen nennt er Verdünnungsfehler, Mischfehler, ungleichmäßige Verteilung der Zellen z.B. durch Agglomeration, störende Partikel wie z.B. Membranreste und Schmutz sowie Fehler bei der Auszählung selbst wie z.B. Doppelzählungen und Auslassungen. Den Berechnungen von BRECHER et al. (1953) zufolge beläuft sich der Fehler bei einfacher Kammerzählung der Thrombozyten mittels Phasenkontrastmikroskop, je nachdem, ob es sich um venöses Blut oder um Kapillarblut handelt, auf 11 % bzw. 24 % und kann nur durch mehrfaches Auszählen reduziert werden. DÖRNER (1998a) nennt für die Zählkammermethode einen Variationskoeffizienten von größer 10 % und bezeichnet sie von vornherein als eine unpräzise Methode. NEUERER und HIRSCHBERGER (1999) ermittelten für die Präzision der manuellen Thrombozytenzählung (10fache Auszählung einer Probe) VK-Werte von 3,0 % für den Hund, 7,7 % für die Katze

und 6,1 % für das Pferd. Die in der vorliegenden Studie ermittelten Präzisionsergebnisse der manuellen Thrombozytenzählung lagen im Vergleich zur Literatur im besseren Wertebereich.

Da die manuelle Thrombozytenzählung trotzdem unzureichende Ergebnisse liefert, ist es sinnvoll, nach neuen Referenzmethoden zu suchen wie z.B. der durch Durchflusszytometrie ermittelten Erythrozyten/Thrombozyten-Ratio (HARRISON et al., 2001). Auf dem Prinzip der Durchflusszytometrie basierende automatische Analyser erfüllen außerdem die statistischen Kriterien der Qualitätskontrolle (BENTLEY, 1990). Die hohe Zellzählrate moderner Analysensysteme bedeutet, dass jede Analyse auf einer Zählung von 50 000 bis 10 000 Zellen beruht. Dies soll nach THOM (1990) den Variationskoeffizienten der Zählung auf 1 % reduzieren. Das Hämatologiesystem ADVIA 120 von Bayer mit der in Kap. 2.2 beschriebenen neuartigen 2-D-Thrombozytenmessmethode erreichte für die Präzision in Serie (n = 1, 25fach-Messung) Variationskoeffizienten von 2,9 % für den Hund, 8,4 % für die Katze und 5,4 % für das Pferd. Für die Präzision der Dreifachmessung wurden VK-Werte von 2,6 % für den Hund (n = 46), 7,5 % für die Katze (n = 61) und 3,5 % für das Pferd (n = 105) ermittelt (MORITZ, 2002).

Mikrohämatokritbestimmung

Die Präzision der Mikrohämatokritmethode durchgeführt anhand einer Fünffachbestimmung ergab absolute Messfehler von unter 0,5 Hämtokriteinheiten. Die Unterschiede sind somit kleiner als das kleinste Skalenintervall der Hämatokritablessetabelle. Die Variationskoeffizienten liegen zwischen 0,81 und 1,07 % und sind damit geringer als beim durch den CA530-VET maschinell ermittelten HKT sowohl in Serie (0,96 bis 1,74 %) als auch in der Wiederholungsmessung (1,19 bis 2,24 %).

In der Literatur gelten Werte zwischen 1 % und 2 % als akzeptabel (LUMSDEN, 2000). NEUERER und HIRSCHBERGER (1999) stellten bei 10facher Wiederholungsbestimmung des Mikrohämatokritwertes einer Blutprobe VK-Werte von 0,2 bis 0,4 % fest.

5.4 Richtigkeit

Kontrollblut

Die Überprüfung der Richtigkeit des CA530-VET erfolgte im Rahmen des Methodenvergleiches mit Tierblut (Kap. 5.4.1). Die Ergebnisse der Kontrollblutmessung wurden in erster Linie auf Wertekonstanz überprüft (Kap. 5.3 c). Durch Bildung der Differenzen zwischen den für den CELL-DYN 3500 angegebenen Sollwertmittelwerten und den Mittelwerten der Messungen des Kontrollblutes durch den CA530-VET konnte ungefähr die Lage des Testgerätes aufgezeigt werden. CA530-VET-spezifische Sollwerte für das verwendete Kontrollblut lagen uns nicht vor.

Die geringen Veränderungen der Messdifferenzen zwischen den verschiedenen Kontrollblutchargen verdeutlichen nochmals die gute Langzeitstabilität des Gerätes (Kap.

5.3 c). Mit Zunahme der Analytenkonzentration erhöhte sich die Messdifferenz bei den Parametern HKT, PLT, WBC, HGB und der absoluten Differenzierung. Insgesamt gesehen misst der CA530-VET im Mittel alle Parameter niedriger, als es die Sollwertangaben des Kontrollblutes für den CELL-DYN 3500 vorsehen. Ausgenommen sind die Parameter MCHC sowie im Differentialblutbild die relative Granulozyten- und Lymphozytenpopulation. Die Differenzen sind mit Ausnahme der Parameter HKT, MCV und MCHC gering. Die hohen Messdifferenzen bei den genannten Parametern ließen sich durch den Vergleich des CA530-VET mit dem CELL-DYN 3500 (Tab. 4.7 a bis c) bzw. durch den Vergleich von CA530-VET und Mikrohämatokritbestimmung (Tab. 4.8 a bis c) nicht bestätigen. Sie müssen daher als kontrollblutspezifisch betrachtet werden. Der Gerätehersteller untersagt die Kalibration des Parameters MCV mit Kontrollblut, welches nicht Sollwerte für Boule-Medical Analyser angibt (BOULE-MEDICAL, 1998). Die Ursachen für die hohe MCV-Differenz von $-6,97 \mu\text{m}^3$ und infolgedessen die hohe HKT-Differenz von $-4,14 \%$ liegen vermutlich darin, dass das Kontrollblut keine CA530-spezifischen Sollwerte besitzt. Große HKT-Fehler wirken sich wiederum auf den Parameter MCHC aus, der als alleiniger Parameter eine positive Differenz von $3,03 \text{ g/dl}$ zeigt. Für die Parameter PLT und MPV sowie für die Leukozytendifferenzierung sind die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Kontrollblutmessungen des CA530-VET insgesamt und den Sollwertangaben des Herstellers geringer als zwischen den für Tierblut ermittelten Werten und den Ergebnissen des Referenzgerätes. Dies ist erklärbar, da für Kontrollblut mit stabilisierten Zellen bzw. Zellbestandteilen Eigenschaften wie Aggregation und Instabilität im Rahmen der Haltbarkeit verglichen mit Frischblut gering sind und somit eine bessere Zählbarkeit durch Automaten gegeben ist.

5.4.1 Methodenvergleich

Der Methodenvergleich wurde unterteilt in den *Gerätevergleich* und den *Vergleich mit den manuellen Standardmethoden*. Manuelle Standardmethoden wurden für die HKT-Bestimmung aller 3 Tierarten sowie für die PLT-Zählung bei Katze und Pferd angewandt. Nach BLAND und ALTMAN (1986a) wurden die mittleren Differenzen mit Standardabweichungen zwischen den Messergebnissen der Referenzmethoden und dem CA530-VET als zu überprüfendes Gerät errechnet und für jede Tierart tabellarisch angegeben (Tab. 4.7 a bis c und Tab. 4.8 a bis c)

Um die Richtigkeit des CA530-VET objektiv zu bewerten, sollen wiederum als Maßstab zum einen die Richtlinie der BÄK (2001) sowie die von KLEE (1990) aufgestellten Leistungsziele für die interne Qualitätskontrolle von Mehrkanalhämatologieanalysern gelten. Die Anlage der Richtlinie der BÄK enthält Angaben zur maximal zulässigen Unrichtigkeit unter anderem für 5 Parameter des kleinen Blutbildes. Ursprünglich gedacht ist die Ermittlung der Richtigkeit mittels Kontrollproben gemessen an jeweils aufeinanderfolgenden Arbeitsschichten/-tagen. Die Differenz des arithmetischen Mittels von ca. 20 Kontrollprobenmessergebnissen und einem Zielwert in Prozent wird als systematische Messabweichung bezeichnet, welche die in Tab. 5.4 angegebenen Prozentwerte nicht überschreiten darf. Die Grenzwerte der BÄK (2001) für die maximal erlaubte Unrichtigkeit wurden erstellt anhand von klinischen

Erfordernissen und technisch Machbarem. KLEE (1990) gibt eine maximal erlaubte Gesamtabweichung an, die sich errechnet als lineare Summe (1) der Grenzen für die Abweichung durch fehlerhaftes Kalibrationsmaterial, (2) eine falsche Kalibration und (3) der Abweichung des Instruments von den kalibrierten Werten nach dem Kalibrationsvorgang. Für jeden dieser 3 Faktoren wurden die Grenzen für optimale Leistung gemäß Herstellerangaben mit dem Faktor 3 multipliziert und als maximal erlaubte Abweichung angegeben. Anhand Tab. 5.4 ist ersichtlich, dass die Grenzen von KLEE (1990) deutlich mehr Spielraum lassen, während die Grenzen der BÄK (2001) einen strengeren Maßstab darstellen. Zur Bewertung unserer Ergebnisse mit Hilfe der genannten Maßstäbe müssen die erhaltenen mittleren Messdifferenzen in prozentuale Messabweichungen des Testgerätes vom Ergebnis der jeweiligen Referenzmethode umgerechnet werden (Kap. 9.6).

Tab. 5.4: Mittelwert der ermittelten prozentualen Messabweichungen des CA530-VET- vom CELL-DYN-3500-Messergebnis, die maximal zulässige Unrichtigkeit angegeben von der Bundesärztekammer (BÄK) sowie die von KLEE (1990) geforderte maximal tolerierbare Gesamtabweichung im mittleren Messbereich

Parameter	Prozentuale Messabweichung des CA530-VET vom CELL-DYN 3500			maximal zulässige Unrichtigkeit (BÄK, 2001)	maximal erlaubte Gesamtabweichung (KLEE, 1990)
	HUND N = 210	KATZE N = 148	PFERD N = 125		
WBC	5,73	-12,56	4,98	6 % (120/µl)**	±14,6 %
RBC	5,28	4,33	3,33	4 %	±5,5 %
HGB	3,70	2,35	2,33	2 %	±4,5 %
HKT	4,78	4,02	4,06	3 %	n.a.*
MCV	-0,52	-0,35	0,33	n.a.*	±4,2 %
PLT	32,27	19,00	45,27	7 % (2800/µl)**	±22,0 %

* n.a. = nicht angegeben; ** die Zahl in Klammern gilt für den niederen Messbereich: für WBC<2.000/µl, für PLT<40.000/µl

a) Gerätevergleich

Für die Parameter *RBC*, *HGB* und für die *Erythrozytenindizes* waren die mittleren absoluten Messdifferenzen im Vergleich der beiden Geräte bei allen 3 Tierarten gering. Der CA530-VET zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem CELL-DYN 3500.

Für die Leukozyten (*WBC*) betragen die Messdifferenzen für Hund und Katze ca. +1 und -1 x 10³/mm³. Die Tierart Pferd zeigte mit nur ca. 0,5 x 10³/mm³ positiver Differenz die beste Übereinstimmung. Beim Vergleich des Impedanzanalysers VetScan HMT (Abaxis, Union City, USA) mit dem CELL-DYN 3700 unterschieden sich die Mediane der Leukozytenergebnisse der Katzen im Mittel um 7,25 x 10⁹/l Zellen, und die Korrelation der beiden Methoden bezüglich dieses Parameters war bei der Katze mit r = 0,81 deutlich schlechter als beim Hund (r = 0,98) (DEWHURST et al., 2003). Möglicherweise wurden

durch Impedanzzellzählgeräte Thrombozytenaggregate fälschlich als Leukozyten gezählt. Ein Fehler, der beim CELL-DYN 3500/3700 durch die Methode (Streulichtmessung) vermieden werden sollte.

Die mittleren *Thrombozytenmessdifferenzen* waren vor allem bei der Tierart Hund mit $116,6 \pm 81,7 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT sehr groß. Auch bei Katze und Pferd mit mittleren Thrombozytendifferenzen von $50,7 \pm 75,4 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT bzw. $88,2 \pm 46,8 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT wichen die beiden Geräte deutlich voneinander ab. Erstaunlich war, dass ausgerechnet die in der Thrombozytenzählung bekannterweise mit Problemen behaftete Tierart Katze die niedrigsten Messdifferenzen aufwies.

Für den Parameter *HKT* ergaben sich wiederum bei der Tierart Hund die größten Unterschiede zwischen den beiden Geräten. Während die Analyser für die RBC- und MCV-Werte bei allen 3 Tierarten gut übereinstimmten, zeigte der Parameter HKT beim Hund eine mittlere Messdifferenz von $1,96 \pm 1,35$ HKT-%. Diese Tendenz war auch im Vergleich des CA530-VET mit dem Mikrohämatokritwert (siehe unter 5.4.1 b) vorhanden. Die mittleren HKT-Differenzen für Katze und Pferd betragen 1,29 % bzw. 1,42 %. Beim Vergleich wiederum mit der Studie von DEWHURST et al. (2003) wurde deutlich, dass auch der VetScan HMT höhere HKT-Werte ermittelte als der CELL-DYN 3700. Die Mediane der beiden Geräte unterschieden sich beim Hund um 7,9 HKT-%, bei der Katze um 2,3 HKT-%.

Bei allen 3 Tierarten wiesen die mittleren Messdifferenzen der Parameter *RDW* und *MPV* hohe Werte auf. Um mit zwei verschiedenen Geräten vergleichbare RDW- und MPV-Ergebnisse zu erhalten, müssen die Instrumente bezüglich dieser beiden Parameter aufeinander abgestimmt werden. Dies erfolgt mit Hilfe von gesunden Blutproben. Für den Parameter RDW wird dazu im Set-Up Menü 1 des CA530-VET ein Kalibrationspunkt eingegeben. Der Bereich der Erythrozytenverteilungskurve, der rechter Hand dieses Kalibrationspunktes liegt, bestehend aus Koinzidenzen, kernhaltigen Erythrozyten und anderen Partikeln, die nichts mit der Erythrozytenverteilung zu tun haben, wird dadurch abgetrennt und nicht zum RDW-Wert hinzugerechnet. Während der Studie war dem Testgerät kein RDW-Kalibrationspunkt vorgegeben. Daher können die RDW-Ergebnisse der Studie nicht interpretiert werden. Des Weiteren bezeichnen es ZELMANOVIC und HETHERINGTON (1998) als schwierig, die Richtigkeit einer automatischen Methode bezüglich des MPV durch Vergleich mit einer anderen Methode zu beurteilen, da es keine akzeptierte Referenzmethode für diesen Parameter gibt. Beim Vergleich zweier verschiedener Blutzellzählgerätetypen können große MPV-Differenzen auftreten. Ursachen könnten Interferenzen zwischen der PLT- und der RBC-Population sein, wie sie vor allem in der Tiermedizin häufig vorkommen. Im Falle des CA530-VET ist es der variable Schwellenwert zwischen den beiden besagten Populationen, der den MPV-Wert zusätzlich stark beeinflusst. Dennoch ist es möglich, zwei Geräte bezüglich des MPV-Wertes mit Hilfe von gesunden Blutproben aufeinander abzustimmen. Treten aber neben gesunden auch pathologische Proben auf (z.B. mit mikrozytären Erythrozyten), können MPV-Unterschiede zwischen den beiden Analysen nicht vermieden werden. Dass es sich insbesondere um ein veterinärmedizinisches Problem handelt, wird deutlich, wenn man die geringen

mittleren MPV-Messdifferenzen bei Messung von humanem stabilisiertem Kontrollblut von $1,01 \pm 0,35 \mu\text{m}^3$ betrachtet und diese mit den Ergebnissen der Messungen von Tierblut vergleicht. Die mittleren MPV-Messdifferenzen waren vor allem bei der Katze ($10,5 \pm 5,6 \mu\text{m}^3$), einer Tierart mit großen Thrombozyten und eher kleinen Erythrozyten, aber auch bei Hund ($4,6 \pm 2,9 \mu\text{m}^3$) und Pferd ($6,4 \pm 2,6 \mu\text{m}^3$) deutlich höher. Im Rahmen der Studie war der MPV-Wert des CA530-VET nicht kalibriert, und es wurden sowohl gesunde als auch pathologische Proben analysiert. Folglich wurde auf eine Interpretation der CA530-VET-Messergebnisse dieses Parameters verzichtet.

Im Vergleich der beiden maschinellen Differentialblutbilder wurde die beste Übereinstimmung der beiden Geräte bei der Tierart Hund ($n = 191$) beobachtet, gefolgt von der Tierart Katze, für die jedoch weniger als die Hälfte an Differentialblutbildern ($n = 87$) in die Auswertung eingingen. Das Pferd ($n = 137$) wies die größten Unterschiede zwischen den beiden Geräten im Differentialblutbild auf. Die Richtigkeit der CA530-VET Differenzierung wurde durch Vergleich mit der manuellen Differenzierung beurteilt.

Bewertet man die Ergebnisse der vorliegenden Studie nach den Forderungen der *Richtlinie der BÄK (2001)* (siehe Tab. 5.4), so lagen von 15 Parametern, für welche Grenzen angegeben sind, 12 Parameter außerhalb des erlaubten Bereichs. Nur der Parameter WBC des Hundes und des Pferdes sowie der Parameter RBC des Pferdes erfüllten die strengen Bedingungen. Vor allem die Messabweichungen beim Parameter Thrombozyten aller Tierarten, aber auch die Werte für den Parameter Leukozyten der Katze überstiegen die nach der BÄK maximal zulässige Unrichtigkeit 2fach bis über das 6fache hinaus. Ein Grund für das schlechte Abschneiden unseres Testgerätes bei Anlegen dieses Maßstabes könnte sein, das sich die Angaben der Richtlinie der BÄK (2001) für maximale Unpräzision und Unrichtigkeit auf Kontrollmaterialien beziehen. Dass die Messung von Kontrollblut nicht uneingeschränkt mit der Messung von Frischblut vergleichbar ist, konnte in Kap. 4.4 c für das Differentialblutbild aufzeigen werden. Auch bei Verwendung biologischen Materials anstelle von Latexpartikeln bestehen Unterschiede. So sollen in stabilisiertem Kontrollblut negative Eigenschaften von Frischblut wie Aggregation und Verformung der Zellen, welche in hohem Maße die Messbarkeit beeinflussen, eliminiert sein. Es ist also zu bedenken, inwieweit die Angaben der BÄK auf die Messung von Frischblut übertragen werden können. Auf die Besonderheiten der Messung von Tierblut wurde in Kap. 2.3 eingegangen.

Wendet man den Maßstab nach *KLEE (1990)* für unsere Ergebnisse an, so war die Richtigkeit des CA530-VET für 13 von 15 Parametern ausreichend. Die Parameter PLT bei Hund und Pferd lagen nicht mehr innerhalb der Grenzen, sondern waren um das 1,5- bis 2fache höher. Die Studie erbrachte keinen Hinweis, weshalb die Grenzen für den Parameter Thrombozyten im Gerätevergleich bei den Tierarten Hund und Pferd mit Messabweichungen von 32 % und 45 % überschritten wurden und ausgerechnet die Tierart Katze mit 19 % die geringsten relativen Messabweichungen aufzeigte. Die Untersuchungen anderer Autoren mit verschiedenen Analysesystemen ergaben dagegen für die Tierart Katze im Gerätevergleich die schlechtesten Korrelationskoeffizienten. Während für den Parameter PLT beim Hund mit $r = 0,902$ (ZIEGLER, 1997), $r = 0,993$ (MORITZ, 2002) bzw. $r = 0,93$ (DEWHURST et al.,

2003) eine gute bzw. exzellente Korrelation angegeben wird und beim Pferd Ergebnisse zwischen $r = 0,690$ (SEEGERS, 1997) und $r = 0,973$ (MORITZ, 2002) als hinreichend bzw. exzellent beschrieben sind, wird die Korrelation für PLT bei der Katze als gut ($r = 0,871$; MORITZ, 2002) bzw. hinreichend ($r = 0,65$; DEWHURST et al., 2003), aber auch als schlecht ($r = 0,453$; SUCHFORT, 1998) bewertet.

b) Standardmethoden

Beim Vergleich des CA530-VET mit der *Mikrozentrifugationsmethode* ergaben sich für den Hund Messdifferenzen von $2,0 \pm 1,84$ HKT-%, bei der Katze lag der CA530-VET $1,10 \pm 1,61$ HKT-% unter dem Mikrohämatokrit, und beim Pferd betrug der Unterschied $0,74 \pm 1,16$ HKT-%. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen des Gerätevergleichs kann festgehalten werden, dass für den Hund im Mittel 2 % (HKT-%) zum CA530-VET Wert hinzugerechnet werden muss, um auf das HKT-Niveau des Referenzgerätes bzw. der Mikrozentrifugation zu kommen. Im Unterschied zum CA530-VET wurden von WEISER (1987) die HKT-Werte durch das Coulter-Counter-Modell S550 für den Hund im Mittel um 1,6 %, für die Katze um 2,5 % und für das Pferd um 1,3 % höher als die Mikrozentrifugation angegeben. Nach den Untersuchungen von PASTOR et al. (1997a,b) waren die Werte des Sysmex F-800 für Hund und Pferd durchweg 2 % bis 5 % und für die Katze sogar bis zu 8 % höher als der Mikrohämatokritwert. Erklärt wurden diese Unterschiede damit, dass sich die Erythrozyten bei hohem MCHC oder erhöhter innerer Viskosität der Zellen nicht vollständig verformen, wenn sie die Messöffnung von elektrischen Impedanzzellzählautomaten passieren, woraufhin der MCV und der daraus errechnete HKT-Wert überschätzt wurden (CRAWFORD et al., 1987). Auch SUCHFORT (1998) stellte für die Katze beim Analysesystem Technicon H*1 durchschnittlich 6 % höhere HKT-Werte als bei Zentrifugation fest. Die Ursachen wurden der Kalibrierung der Geräte zugeschrieben. Ein Vergleich eines automatisch gemessenen PCV mit dem Zentrifugenhämatokrit ist nur möglich, wenn vorher eine Eichung mit Frischblut der entsprechenden Tierart gegen das Mikrohämatokritverfahren erfolgt (MISCHKE et al. 1995). Bei allen genannten Autoren wurde stets eine gute Korrelation der HKT-Werte zwischen Gerät und manueller Methode angegeben.

Bezüglich der *Thrombozytendifferenzen* zwischen CA530-VET und Kammerzählung, durchgeführt für Katze und Pferd, lagen die Unterschiede für die Katze bei $95,0 \pm 93,1 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT und für das Pferd bei $55,8 \pm 46,6 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT. Auffällig waren die Streuungen, die für beide Tierarten so hoch wie die mittlere Differenz selbst waren. Nach ZELMANOVIC und HETHERINGTON (1998) sind die Thrombozytenwerte der maschinellen Zählung in Blutproben mit Thrombozytenaggregaten niedriger als die bei mikroskopischer Zählung. Grund ist, dass in den Automaten aggregierte Plättchen im Erythrozytenkanal mitgezählt werden und somit aus der Thrombozytenzählung ganz herausfallen, während in der mikroskopischen Zählung zumindest noch einige der Plättchen innerhalb der Aggregate mitgezählt werden können. In unseren Untersuchungen waren die Differenzen bei der Katze, einer Tierart, bei der am meisten mit Thrombozytenaggregaten zu rechnen ist, fast doppelt so hoch wie beim Pferd. NEUERER und HIRSCHBERGER (1999) dagegen geben für das Hämatologiegerät Vet ABC/8P, verglichen mit der manuellen Thrombozytenzählung, für die

Tierart Katze mit $r = 0,48$ eine deutlich bessere Korrelation an als für das Pferd ($r = 0,19$). Das beste Ergebnis wies der Vet ABC/8P für die Tierart Hund mit $r = 0,87$ auf. Medizinisch betrachtet, sind die in der vorliegenden Studie ermittelten Unterschiede als zu hoch zu beurteilen. Während eine Unrichtigkeit von 56 bzw. $95 \times 10^3/\text{mm}^3$ Plättchen in hohen Wertebereichen für die klinische Interpretation kaum eine Rolle spielt, kann sie in niedrigen Wertebereichen Folgen für die weitere Vorgehensweise bzw. Therapie haben.

Die Messdifferenzen der *manuellen Differenzierung* waren für die Tierart Katze am geringsten: $-0,44\%$ für Granulozyten bzw. $1,66\%$ für Lymphozyten, jedoch mit jeweils hohen Standardabweichungen ($\pm\text{SD} > 8\%$). Beim Hund betragen die Differenzen für Granulozyten $2,97\%$ bzw. für Lymphozyten $-2,24\%$ ebenfalls mit hohen Standardabweichungen ($\pm\text{SD}$ ca. $7,5\%$). Das Pferd wies Werte von $-4,44\%$ für Granulozyten und $5,98\%$ für Lymphozyten mit Standardabweichungen von jeweils ca. 7% auf. Obgleich der CA530-VET beim Pferd die geringsten Probleme mit der Erstellung eines Differentialblutbildes hatte (Kap. 4.6.1), ist nach dem Vergleich mit der manuellen Differenzierung die Richtigkeit bei dieser Tierart am schlechtesten. Die mittleren Messdifferenzen für die Midcellpopulationen befanden sich für die 3 Tierarten zwischen $-6,8$ und $-7,3\% \pm\text{SD}$.

In Kap. 9.6 Tab. 9.15 sind die prozentualen Messabweichungen für den Vergleich des CA530-VET mit den Standardmethoden angegeben. Der Grenzwert der BÄK (2001) für die maximal zulässige Unrichtigkeit des Parameters *HKT* beträgt 3% . Die prozentuale Abweichung des CA530-VET vom Mikrohämatokritwert bei der Tierart Hund überschritt mit fast 5% deutlich das erlaubte Maß an Unrichtigkeit. Auch die Katze überschritt mit $3,2\%$ Abweichung vom Zielwert knapp den Grenzwert der BÄK. Beim Pferd lag der CA530-HKT am engsten am Mikrohämatokritwert. Die prozentuale Messabweichung lag bei $2,2\%$ und war somit innerhalb der Grenzen der BÄK. Die Interpretation der Messabweichungen der Geräte vom Mikrozentrifugationswert sollte unter Berücksichtigung der Tatsache erfolgen, dass der Mikrohämatokrit nicht direkt mit dem Gerätehämatokrit vergleichbar ist. Der Wert der Standardmethode wird physikalisch durch Zentrifugation und anschließendes Ablesen anhand einer Schablone ermittelt, der Gerätewert dagegen errechnet sich aus Zellzahl und Zellgröße der Erythrozyten. In der zentrifugierten Mikrohämatokritsäule zwischen den Erythrozyten eingeschlossenes Plasma oder Leukozyten können den Referenzwert fälschlich erhöhen („Trapped“-Plasma, „Leukozyten-Trapping“). Insbesondere bei überfüllten Mikrohämatokritröhrchen wird der HKT-Wert durch eine nicht ausreichend dichte Packung der Blutzellen überschätzt (TVEDTEN und WEISS, 1999a). Demgegenüber unterschätzt nach BULL und HAY (2001) das Ergebnis der Mikrozentrifugation so gut wie immer das wahre „Packed Cell Volume“ (PCV) der Erythrozyten, auch wenn aufgrund genannter Fehler ein Überschätzen eher wahrscheinlich wäre. TVEDTEN und WEISS (1999a) sehen diese Problematik in Abhängigkeit von der Höhe des Hämatokritwertes. Ab einem HKT-Wert größer als 50% sind die Erythrozyten im Mikrohämatokritröhrchen weniger dicht gepackt, und das HKT-Ergebnis wird überschätzt. Das Röhrchen sollte daher bei stark konzentriertem Blut nochmals 5 min zentrifugiert werden. Bei HKT-Werten unter 25% sind die Erythrozyten enger gepackt, der HKT-Abfall wird verstärkt, und das Tier erscheint noch anämischer.

Die prozentualen Messabweichungen des vom CA530-VET ermittelten *Thrombozytenwertes* von der Kammerzählung betragen 35 % bzw. 33 %. Somit ist die Richtigkeit der PLT-Zählung sowohl nach den Vorgaben der BÄK von max. 7% als auch nach dem Maßstab von KLEE (1990), welcher 22 % als maximale Gesamtabweichung vorgibt, nicht ausreichend. Extreme Thrombozytopenien mit Werten zwischen $6 - 30 \times 10^3/\text{mm}^3$ Plättchen wurden durch den CA530-VET gut erkannt. Dennoch sollte im niedrigen PLT-Bereich eine manuellen Zählung der Thrombozyten in der Zählkammer durchgeführt werden, um vor allem bei fraglichen Ergebnissen (z.B. Markierung DE bei normaler PLT-Zahl) oder bei Unstimmigkeiten (klinisches Bild, bereits zuvor erfolgte Blutuntersuchungen) sicher zu gehen. Es kann argumentiert werden, dass es klinisch zunächst ausreicht, zu wissen, ob das Tier eine ausreichende Thrombozytenzahl hat. Anhand der praktischen Erfahrungen bezüglich des Parameters PLT im Notdienst der Klinik für kleine Haustiere kann diese Vorgehensweise bestätigt werden. Selbstverständlich ist in Zukunft eine stetige Verbesserung der Präzision und Richtigkeit der Thrombozytenbestimmung anzustreben.

Beim Vergleich der *manuellen Differenzierung* mit den Ergebnissen des relativen Differentialblutbildes des CA530-VET zeigte die Population der Granulozyten die besten Ergebnisse. Die prozentualen Messabweichungen vom Zielwert (Tab. 9.11 im Anhang) betragen für die Granulozyten der Katze -1,4 %, für die Granulozyten des Hundes 3,1 % und für die des Pferdes -7,5 %. Für die Lymphozytenpopulation wurden bei Katze und Pferd Messabweichungen von -19,1 % bzw. 19,6 % ermittelt. Bei den Hundelymphozyten waren mit fast -100 % die höchsten Abweichungen zu verbuchen. Die Midcellpopulation, für welche insgesamt nur weniger als 50 Werte in die Auswertung gehen konnten, wies bei allen 3 Tierarten extrem hohe prozentuale Messdifferenzen zwischen -433 und -642 % auf.

In den meisten Studien konnte unabhängig von der Methode (Streulichtmessung, Impedanzmessung oder Dichte-zentrifugation) für die Granulozytenpopulation eine gute bis exzellente Korrelation mit der manuellen Differenzierung ermittelt werden ($r = 0,82 - r = 0,97$). Für die Lymphozytenpopulation schien die Richtigkeit des Differenzierungsergebnisses von der Messmethode abhängig zu sein. Während der Technicon H*1 (Streulichtmessung) mit Koeffizienten von $r = 0,84$ bis $r = 0,92$ ebenfalls gut bis exzellent mit der manuellen Differenzierung korrelierte, schnitt der VetScan HMT (Impedanzanalyser) mit $r = 0,28/0,25$ für Hund/Katze schlecht ab. Für die vom QBC VetAutoread (Zentrifugationsanalyser) bestimmten mononukleären Zellen ist die Korrelation ebenfalls schlecht bis hinreichend ($r = 0,56$ bis $r = 0,68$). Die niedrigsten Variationskoeffizienten und damit eine schlechte Korrelation ergaben sich für die Monozyten und die eosinophilen Granulozyten ($r = <0,46$). Ausnahmen waren der Technicon H*1, der für die Eosinophilen von Hund und Pferd eine gute Korrelation zur manuellen Differenzierung aufwies ($r = 0,82/0,85$), und der VetScan HMT, der die Monozyten des Hundes hinreichend gut erkannte ($r = 0,79$). Bei allen Geräten zeigte die Tierart Katze im Differentialblutbild verglichen zu Hund und Pferd die kleinsten Korrelationskoeffizienten (SEEGERS, 1997; ZIEGLER, 1997; SUCHFORT, 1998; BIENZLE et al., 2000; DEWHURST et al., 2003). Auch der ADVIA 120 zeigte verglichen mit der manuellen Differenzierung eine schlechte Korrelation der Monozyten. Die vielgestaltige Morphologie dieser Zellart macht sie in

panoptischen Färbungen nicht immer eindeutig identifizierbar (MORITZ, 2002). Nach KOEPKE (1977) werden Monozyten im Blutausstrich nur zu 87 % korrekt identifiziert und häufig als Lymphozyten gezählt. Auch für GOOSSENS et al. (1991b) liegt die Ursache der schlechten Übereinstimmung in der Schwäche der Referenzmethode. Er sieht die Fluoreszenz- und Streulichtmessung nach Markierung mit monoklonalen Antikörpern als bessere Methode der Monozytenzählung an. Ferner ist die größere Unrichtigkeit der Lymphozyten- und Monozytenzählung gegenüber der Granulozytenzählung auch durch das weniger häufige Vorkommen dieser Zellen im Blutausstrich statistisch erklärbar. Prozentwertangaben einer Gesamtheit sind umso zuverlässiger, je größer die Stichprobe aus der Gesamtheit war, die zur Feststellung der Prozentzahl benutzt wurde (siehe auch Kap. 5.3 e) (NIEPAGE, 1989). HUGHES-JONES et al. (1974) verglich die absolute Leukozytendifferenzierung (2-part-Diff in neutrophile Granulozyten und Lymphozyten) mittels Volumenanalyse in Coulter-Zählautomaten mit der mikroskopischen Blutausstrichbeurteilung. Während die maschinelle absolute Zählung der Neutrophilen gut mit der Standardmethode übereinstimmte, zeigte die Lymphozytenpopulation höhere Fehlerraten, welche mit der geringeren Anzahl ausgezählter Zellen begründet wurden. Die maschinelle Differenzierung mittels Analyse der Häufigkeitsverteilung von Zellvolumina wurde somit nur für die Erfassung der absoluten neutrophilen Granulozytenzahl empfohlen (HUGHES-JONES et al., 1974). Der Zeit- und damit Kostenfaktor, die je nach Untersucher individuell unterschiedlichen Klassifikationskriterien und die aufgrund der geringen Zahl ausgezählter Zellen eventuell schwerer ins Gewicht fallenden Fehler durch Probenvariabilität oder biologische Variabilität schmälern den klinischen Nutzen der traditionellen manuellen Objektträgerdifferenzierung (KRAUSE, 1990). Versuche zur Vereinheitlichung bzw. Standardisierung der manuellen Beurteilung von Blutausstrichen, wie z.B. ein von WEISS (1984) für die Veterinärmedizin aufgestelltes Protokoll, sind zeitaufwändig und erfordern wiederum ein spezielles Training des Laborpersonals. Bereits Ausstrichanfertigung und Färbung sollten mit in den Standardisierungsprozess einbezogen werden (LEWIS, 1990; HOUWEN, 2002).

Auf der anderen Seite steht die Kontrollfunktion der manuellen Differenzierung gegenüber der Maschine. Es werden in der Literatur viele Indikationen für eine manuelle Nachdifferenzierung automatisch erstellter Differentiablutbilder angegeben, z.B. bei beflaggten Parametern, atypischen Histogrammen, unplausiblen Ergebnissen oder zur Gewinnung weiterer diagnostischer Information aus der Blutzellmorphologie. Außerdem sind Automaten derzeit nicht in der Lage, die Anwesenheit von Blutparasiten und Zelleinschlüssen (z.B. Howell-Jolly Körperchen) zu melden. Letztendlich ist es notwendig, dass jedes Labor eigene Kriterien zur Nachdifferenzierung aufstellt, da Markierungen und Histogramme je nach Gerät und zur Differenzierung verwendeter Technik variieren (KRAUSE, 1994).

Ziel ist es, wie in der Humanmedizin auch für die Tiermedizin automatische Blutzellzählgeräte als zuverlässiges Screeninginstrument einsetzen zu können. Bei von vornherein als pathologisch bekannten Blutproben ist eine manuelle Differenzierung indiziert. Die Ergebnisse des Differentialblutbildes des CA530-VET können nach unseren

Untersuchungen nur für die Granulozytenpopulation vor allem bei Katze und Hund sowie als grobes Maß für die Lymphozytenpopulation der Katze und des Pferdes angenommen werden. Für die Lymphozyten des Hundes und die Midcellpopulation aller Tierarten müssen sie verworfen werden. Eine verlässliche Bestimmung der Granulozytenpopulation kann jedoch bereits als eine nützliche Zusatzinformation betrachtet werden. HUGHES-JONES et al. (1974) erwähnt beispielsweise, dass durch Kliniker eines humanmedizinischen Krankenhauses in 85 % aller Fälle ein Differentialblutbild in erster Linie wegen der Neutrophilenzahl angefordert wurde.

c) Methodenvergleich für subnormale, normale und erhöhte Werte

Bei gesonderter Betrachtung des Methodenvergleichs der Parameter WBC, RBC, HKT und PLT für subnormale, normale und erhöhte Wertebereiche konnte insgesamt eine Zunahme der Messdifferenzen mit der Konzentration beobachtet werden. Ausnahmen waren die Leukozytenkonzentration bei der Tierart Katze und der Hämatokritwert im erhöhten Bereich bei Katze und Pferd. Es wurden höhere Messdifferenzen und Standardabweichungen bei WBC der Katze vor allem im subnormalen ($-2,66 \pm 5,93 \times 10^3/\text{mm}^3$), aber auch normalen ($-1,35 \pm 3,09 \times 10^3/\text{mm}^3$) Messbereich deutlich. Nach Umrechnung in prozentuale Messergebnisse und Beurteilung nach KLEE (1990) überschritten die WBC-Messabweichungen bei der Katze im subnormalen und normalen Wertebereich deutlich das erlaubte Maß. Folglich muss bei leukopenischen Proben der Tierart Katze mit dem Ergebnis sehr vorsichtig umgegangen werden. Erklärt werden kann dieses Problem mit möglichen Interferenzen von Thrombozytenaggregaten und der WBC-Zählung, was sich bei geringer WBC-Zahl stärker auswirkt als bei einer Leukozytose. Der Parameter RBC überschritt im hohen Messbereich bei allen Tierarten mit prozentualen Messabweichungen von 7,4 % bis 9,9 % die Vorgaben von KLEE (1990) (5,5 %). Im niedrigen und normalen RBC-Bereich war die Richtigkeit für RBC nach KLEE (1990) ausreichend. Die HKT-Messdifferenzen zwischen CA530-VET und Mikrozentrifugation waren für die Tierart Pferd über alle Bereiche und für die Katze unter Ausnahme des normalen Wertebereiches kleiner als 1 HKT-%. Nur der Hund zeigte über alle 3 Wertebereiche HKT-Differenzen zwischen $1,8 \pm 3,4$ und $3,1 \pm 2,4$ HKT-%. Er lag damit für alle Wertebereiche mit relativen Messabweichungen von 4,4 bis 6,6 % oberhalb der von der BÄK (2001) geforderten 3 %-Grenze für die maximal zulässige Unrichtigkeit dieses Parameters. Die Richtigkeit der Thrombozytenbestimmung durch den CA530-VET im Vergleich zur Kammerzählung war auch im unterteilten Methodenvergleich unzureichend und stieg bei Hund und Katze bis auf Messdifferenzen von ca. $270 \times 10^3/\text{mm}^3$ PLT im hohen Wertebereich an. Nur im subnormalen Wertebereich lagen die relativen Messabweichungen für den Hund (16,15 %) und vor allem für die Tierart Pferd (0,72 %) unterhalb der von KLEE (1990) geforderten 22 % Maximalabweichung. Hochgradig thrombozytopenischen Blutproben mit Plättchenzahlen von weniger als $20 \times 10^3/\text{mm}^3$, verifiziert durch manuelle Zählung, wurden durch das Gerät jedoch bei allen 3 Tierarten gut erkannt.

d) Richtigkeit des Referenzgerätes

Bei einem ergänzenden Vergleich des Referenzgerätes (Tab. 4.10 und 9.14) mit den manuellen Methoden lag der CELL-DYN 3500 für die untersuchten Parameter insgesamt den Standardmethoden näher als der CA530-VET. Die relative Messabweichung des Parameters Hämatokrit betrug beim Hund 0,1 %, bei der Katze -1,5 % und beim Pferd -1,8 % und lag damit für alle 3 Tierarten deutlich unterhalb der von der BÄK geforderten 3 % Maximalabweichung. Für die Thrombozytenzählung des CELL-DYN 3500 bei Katze und Pferd befanden sich die prozentualen Messabweichungen mit 9 % bzw. -20 % unter der von KLEE (1990) postulierten maximal erlaubten Gesamtabweichung von 22 %. Sie überschritten jedoch die Grenzen der BÄK. Im Differentialblutbild zeigte der CELL-DYN 3500 mit der manuellen Differenzierung als Referenz vor allem für die Tierart Hund deutlich bessere Ergebnisse für Granulozyten (0,7 % relative Messabweichung) und auch Lymphozyten (8,4 % relative Messabweichung). Die hohen Messdifferenzen dieser Tierart beim Parameter Lymphozyten im CA530-Vergleich mit der Handdifferenzierung waren demnach dem Testgerät zuzuschreiben. Für die Katze betrug die prozentualen Abweichungen des CELL-DYN 3500 von der Objektträgerdifferenzierung für die Granulozyten 2,1 % und für die Lymphozyten 13,4 %. Beim Pferd zeigte der CELL-DYN 3500 die beste Übereinstimmung mit der manuellen Differenzierung: Die Differenzen der Granulozyten- bzw. Lymphozytenzählung betrug nur 2,5 bzw. 11,1 %. Die Prozentangaben der Abweichung der Midcellpopulation waren auch beim CELL-DYN 3500 trotz genügender Wertepaare für alle 3 Tierarten sehr hoch (ca. -306 % bis -436 %).

5.5 Weitere Untersuchungen

Fähigkeit des CA530-VET zur Differenzierung

In der Studie zeigte das Testgerät bei Tierblut Probleme mit der Erstellung eines Differentialblutbildes. Der CA530-VET konnte für ca. 21 % aller Tierblutproben, darunter vor allem die Tierart Katze vertreten, in beiden Messungen keine Leukozytendifferenzierung angeben. Der Erfolg der Differenzierung war von der Leukozytenzahl abhängig. Die meisten Differentialblutbilder konnten im mittleren Wertebereich ermittelt werden, die wenigsten im niedrigen Wertebereich. Über 65 % der Proben vor allem von Hunden und Pferden wiesen auch in der Messwiederholung eine Differenzierung in nur zwei Leukozytenpopulationen – Granulozyten und Lymphozyten – auf. Dies ist bei alten Blutproben ein bekanntes Problem. Mit der Lagerung der Probe kollabiert die Granulozytenpopulation langsam und interferiert schließlich mit der Lymphozytenpopulation. Die Software stellt bei Prüfung einen zu großen Bereich fest, in dem sich die beiden Populationen überschneiden, und wechselt automatisch in den 2-part-Differenzierungsmodus. Keine unserer Blutproben war jedoch älter als 4h. Untersucht werden muss nun, ob das Lysereagens zu aggressiv oder die Lysezeit zu lange ist, so dass die Granulozyten zerstört wurden, oder ob es sich dabei um ein Softwareproblem handelt. Ein komplettes 3-geteiltes Differentialblutbild gelang nach den vorliegenden Untersuchungen in nur knapp 6 % aller Fälle, vertreten vor allem durch die Tierart Pferd. Bei

8 % der Tiere zeigte sich eine unterschiedliche Ausprägung des Differenzierungsgrades in der ersten und zweiten Messung. Häufig war bei derselben Probe von einer Messung zur anderen eine Differenzierung möglich und dann wieder nicht möglich. Geringe Zellzahlen machten das System noch anfälliger. Eine Abhängigkeit der Reproduzierbarkeit des Differentialblutbildes von der Statistik lässt sich vermuten.

Die Messung von humanem stabilisiertem Kontrollblut mit dem CA530-VET ergab stets ein 3-teiliges Differentialblutbild. Bei Messung von humanem Frischblut mit dem Humanmodell des CA530 liegt die Differenzierungsrate unter normalen Klinikbedingungen laut Hersteller bei ca. 85 – 95 %. Die restlichen 5 – 15 % der Proben werden als abnormal markiert, mit einer diagnostischen Sensitivität von 70 %.

Zusammenfassend und in Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus Kap. 5.3 und 5.4 kann das Differentialblutbild als eine Schwachstelle des CA530-VET betrachtet werden. Die Ursachen der Differenzierungsprobleme des CA530-VET sind anhand dieser Studie nicht ersichtlich. Softwareprobleme wie auch eine nicht optimal auf Tierleukozyten adaptierte Zusammensetzung bzw. Einwirkungsdauer des Lyseagens kommen in Frage. Eine verlängerte Lysezeit, wie sie in der Humanmedizin beispielsweise für die Blutanalyse von Neugeborenen oder beim Vorliegen von Sichelzellerkrankungen eingesetzt wird, ist im CELL-DYN 3500 in der Betriebsart „Extended Lyse“ anwählbar und verbessert in diesen Fällen deutlich die Richtigkeit der Leukozytenzählung und Differenzierung (DORNER et al., 1995; JOYNER und BROOKS, 1995). Neben Untersuchungen zur Optimierung der Lysezeiten und Reagenzien haben Versuche der Herstellerfirma des CA530-VET, die Interferenz von schwer lysierbaren Erythrozyten mit der Lymphozytenpopulation zu reduzieren, zu einem neuen Algorithmus geführt. Diese neue Softwareversion im Nachfolgemodell des getesteten Gerätes, dem CA620-VET, soll eine bessere Differenzierung ermöglichen. Eine Verlängerung der Lysezeit soll nur noch für die Tierart Rind notwendig sein. Es kann optional wie beim CA530-VET die Differenzierung bei Auftreten von großen Interferenzen zwischen den Zellpopulationen unterdrückt werden. Darüber hinaus bietet das CA620-Modell die Einstellung, dass stets ein Differenzierungsergebnis ausgegeben werden wird, welches im Falle von großen Interferenzen markiert erscheint. Das unter Kap. 4.6.4 beim CA530-VET beschriebene Problem des Vertauschens der Zahlenwerte für die Messergebnisse der Granulozyten- und Lymphozytenpopulation (Switch-Phänomen) soll mit der neuen Software im Nachfolgemodell CA620-VET ebenfalls behoben sein.

Warn- und Fehlermarkierungen

Moderne automatische Blutzellzählgeräte mit einer Leukozytendifferenzierung in 5 oder 6 Populationen können pathologische Zellen identifizieren. Partielle Differenzierungssysteme, welche nur 2 oder 3 Leukozytenpopulationen unterscheiden, können dies nicht (HUGHES-JONES et al., 1974). Der Hersteller des CA530-VET erhebt nicht den Anspruch, dass das Gerät abnorme, pathologische oder nicht pathologische Zellen/Zellkomponenten/Zellmerkmale im peripheren Blut erkennt. Anhand der CA530-

Markierungen ist also keine direkte Aussage über die Sensitivität des Gerätes gegenüber abnormen Blutproben möglich. Neben Gerätestatusanzeigen und Funktionsmeldungen ist der CA530-VET lediglich auf Warn- und Fehlermeldungen programmiert, die den Anwender auf mögliche Analysefehler aufmerksam machen und dadurch zu einer Wiederholung der Messung bzw. erhöhter Vorsicht bei der Ergebnisinterpretation führen. Der Hersteller des CA530-VET empfiehlt, abnormale Testergebnisse wie markierte Parameter oder Messergebnisse außerhalb des Messbereiches mit alternativen Untersuchungsmethoden wie einem Blutaussstrich, der Mikrozentrifugation oder der manuellen Zellzählung zu verifizieren (BOULE-MEDICAL, 2003).

Der beim CA530-VET am häufigsten mit Messproblemen behaftete Parameter (94 % aller Markierungen) war die Thrombozytenzahl. Der Parameter Leukozyten (WBC) wurde bei Problemen mit der Zellzählung weitaus seltener und nur mit SE (Statistical Error) markiert. Die Markierungen mit SE erfolgten unabhängig vom Messbereich. Interferenzen zwischen der Thrombozyten- und der Erythrozytenpopulation oder In-Vitro-Aggregation und damit auch mögliche Interferenzen der Thrombozyten- mit der Leukozytenpopulation führen beim CA530-VET zu Problemen mit der Platzierung des Schwellenwertes zwischen der PLT- und RBC-Population. Die vom Analyser angegebene Thrombozytenzahl wird in diesen Fällen mit einer Markierung (DE für Distribution Error oder FD für Floating Discriminator) versehen. Schwierigkeiten bei der Thrombozytenzählung, schlechte Reproduzierbarkeit und schlechte Korrelationsergebnisse sind für automatische Blutzellzählgeräte vor allem bei der Katze bekannt und häufig beschrieben (LIEDL und HIRSCHBERGER, 1997; MORITZ und HOFFMANN, 1997; NORMAN et al., 2001).

Die Reproduzierbarkeit der Parametermarkierungen des CA530-VET im Bereich der Zweifachmessung lag für alle Markierungstypen insgesamt bei 70 %, für DE alleine bei 82 %, für FD bei 67 % und für SE bei 55 %. Dies zeigt, dass in einigen Fällen eine Wiederholung der Messung zu einem auswertbaren Ergebnis führen kann.

Auffälligkeiten in der manuellen Thrombozytenzählung waren bei 42,3 % aller Katzen- und 20,7 % aller Pferdeproben gefunden worden. Bei der Katze wurden vor allem PLT-Aggregate, beim Pferd dagegen vorherrschend Mikrothrombozyten beobachtet. Unter diesen in der Kammerzählung auffälligen Blutproben hatte der CA530-VET wiederum mit 56,5 % der Katzenproben und 10,0 % der Pferdeproben Probleme bei der Bestimmung der Thrombozytenzahl und folglich eine Markierung gesetzt. Ein Rückschluss von der Gerätemarkierung des CA530-VET auf die Thrombozytenmorphologie ist somit nicht möglich.

Im Unterschied zum CA530-VET liefern die Markierungen des CELL-DYN 3500 zusätzliche Informationen über den erhaltenen WBC-Messwert (WBC-Deskriptoren) und sollen das Vorkommen atypischer Zellwolken im Differentialblutbild sowie atypischer Zellpopulationen bei WBC und RBC aufzeigen. Dies wurde im Rahmen unserer Studie nicht überprüft. Ein Vergleich der Parametermarkierungen beider Geräte ist weder sinnvoll noch möglich, da es sich wie beschrieben um unterschiedliche Arten von Markierungen handelt und sich die

markierten Parameter auch nicht überschneiden: Der CA530-VET markiert vor allem Thrombozyten, der CELL-DYN 3500 fast ausschließlich Leukozyten.

Messbereiche und Ergebnisse außerhalb des Messbereichs

Die durch den CA530-VET ermittelten kleinsten und größten Messwerte (Kap. 4.6.3 Tab. 4.12) bestätigten in Verbindung mit den vom CELL-DYN 3500 ermittelten Minima und Maxima (Kap. 9.7 Tab. 9.18) für WBC und RBC den vom Hersteller angegebenen Messbereich. Für die Parameter MCV und HGB reichte in beiden Geräten der größte gemessene Wert nicht bis an die vom Hersteller des CA530-VET angegebenen Grenzen heran, was vermutlich blutprobenbedingt war. Der Parameter PLT konnte vom CA530-VET nicht über einen Wert von knapp $800 \times 10^3/\text{mm}^3$ gemessen werden, obgleich 2 Proben mit durch den CELL-DYN 3500 ermittelten PLT-Werten von über $1000 \times 10^3/\text{mm}^3$ (1700 und $1120 \times 10^3/\text{mm}^3$) darunter waren. Laut Hersteller geht der Messbereich des CA530-VET für den Parameter PLT bis $1999 \times 10^3/\text{mm}^3$. Zu beachten ist jedoch, dass die Werte der Handauszählung dieser beiden Proben mit den Werten des CA530-VET von ca. 600 bzw. $243 \times 10^3/\text{mm}^3$ sehr gut übereinstimmten. Somit kann die Richtigkeit dieser hohen CELL-DYN-3500-PLT-Ergebnisse angezweifelt werden. Extrem thrombozytopenische Proben (manuelle Zählung $< 20.000 \times 10^3/\text{mm}^3$) wurden von beiden Geräten mit Übereinstimmung erkannt. Für die beiden anderen gezählten Zellarten WBC und RBC markierte der CA530-VET bei Überschreiten des Messbereichs (bis $99,99 \times 10^3/\text{mm}^3$ bzw. $12,99 \times 10^6/\text{mm}^3$) den Parameter mit ##### und gab kein Ergebnis aus. War kein RBC-Wert angegeben, wurden die Parameter HKT, MCH und MCHC ebenfalls unterdrückt. Der MCV-Wert wurde jedoch in Übereinstimmung mit dem CELL-DYN 3500 korrekt angegeben. Auffällig war weiterhin, dass bei extrem hohen Leukozytenzahlen die vom CA530-VET angegebenen HKT- und PLT-Werte im Vergleich zu den CELL-DYN-3500-Ergebnissen niedrig waren. Die Thrombozytenzahl des CA530-VET betrug fast nur die Hälfte des vom CELL-DYN 3500 ermittelten Wertes. Es kann vermutet werden, dass hohe Leukozytenzahlen nicht nur die Hämoglobinbestimmung stören, sondern auch auf die RBC- bzw. PLT-Zählung negativen Einfluss haben. Die bei extremen Leukozytosen häufiger beobachtete Anzeige einer niedrigen WBC-Zählzeit „WBC Counting Time Low“ kann (aufgrund des Prinzips der volumetrischen Probenmessung) nicht mit einem vorzeitigen Stopp des Zählvorgangs aufgrund einer Überschreitung des Messbereichs erklärt werden. Im Handbuch wird die Bedeutung dieser Anzeige mit „Vorliegen von Luft im System“ angegeben.

Bei einem direkten Vergleich der während der Studie ermittelten Messbereiche zwischen den beiden Geräten sind die Werte für die Parameter WBC, RBC, HGB und HKT nahezu deckungsgleich. Der MCV-Wert erreichte beim CA530-VET einen größeren Maximalwert, bei den Parametern MCH und MCHC zeigte der CELL-DYN 3500 einen breiteren Messbereich. Für die Parameter RDW und MPV waren die beiden Geräte nicht aufeinander abgestimmt. Eine Interpretation der ermittelten Minima und Maxima erscheint daher nicht sinnvoll. Im relativen Differentialblutbild zeigte sich für die ermittelten Messbereiche der Monozytenpopulation eine schlechte Übereinstimmung der Geräte. Der CA530-VET ermittelte maximal einen Monozytenanteil von 13,3 % und erkannte extreme Monozytosen

nicht. Erklärbar ist diese Tatsache dadurch, dass die Monozytenpopulation ohnehin selten angegeben wurde und stattdessen in der Lymphozytenpopulation des 2-part-Diff mitenthalten war. Ein Vergleich der Messbereiche für die Absolutwerte der Differenzierung zwischen den beiden Geräten unterstützt diese Theorie. Die Granulozyten sowie vor allem die Monozyten zeigten im CA530-VET deutlich schmalere Messbereiche, während der ermittelte Lymphozytenmessbereich des CA530-VET ein 4faches des CELL-DYN 3500 Messbereiches betrug.

5.6 Praktische Erfahrungen im Umgang mit dem CA530-VET

Die Praxistauglichkeit des CA530-VET kann zusammengefasst als gut betrachtet werden. Das Gerät arbeitet schnell und selbständig. Die Gerätebedienung ist einfach und wenig störanfällig. Die geschilderten während der Studie aufgetretenen Probleme, in der Hauptsache Verstopfungen, waren fast ausschließlich Anwenderfehler und darauf zurückzuführen, dass das Gerät außerhalb der Messungen für die Studie von vielen unterschiedlichen, zum Teil wenig geschulten Personen bedient wurde. Da die Aspirationsnadel den engsten Durchmesser im Leitungssystem des Gerätes aufweist, konnten Verstopfungen leicht lokalisiert werden bzw. Blutkoagel nie bis ins Geräteinnere gelangen. Im Vergleich können sich aspirierte Blutkoagel im Referenzgerät theoretisch überall im Schlauchsystem festsetzen, was eine Problemlösung erschwerte. Der erhöhte und nicht durch Spülung zu beseitigende Leerwert des Parameters PLT war durch hohe Außentemperaturen umweltbedingt verursacht. Der Leerwert ist das einzige Kriterium, über das bakterielle Verunreinigungen erfasst werden können. Konstant erhöhte Thrombozytenzahlen im Leerwert sprechen für eine bakterielle Verunreinigung der Diluentlösung. Keimwachstum im Gerät selbst manifestiert sich eher durch einen instabilen Plättchenhintergrund mit abwechselnd hohen und wieder niedrigen PLT-Leerwerten. Der Hersteller empfiehlt die Aufbewahrung der Reagenzien bei 18 – 30°C Raumtemperatur und den Verbrauch angebrochener Diluentbehälter innerhalb von 3 Wochen, um eine Kontamination zu vermeiden. In dieser Studie wurde außerhalb der Messphasen nur ca. alle 4 – 6 Wochen ein neues Lösungsmittelset benötigt. Dennoch traten während der Studie mit einer Ausnahme (siehe Kap. 4.7.1) keine Probleme mit Keimwachstum auf. Streng genommen müssten jedoch bei Anwendern mit geringem Probendurchsatz nicht verbrauchte Reagenzien, vor allem Diluentlösung, nach 3 Wochen verworfen werden. Daher ist eine Verbesserung der Haltbarkeit des Diluentreagenz bzw. eine längere offizielle Haltbarkeit seitens des Herstellers anzustreben. Zur Problematik der begrenzten Reagenzienhaltbarkeit siehe auch Kap. 5.2. Der Hämoglobinleerwert wird automatisch zwischen jeder Probe als Referenz für die folgende Messung ermittelt. Ursachen für hohe Hämoglobinleerwerte können zum Beispiel eine schlechte Photometerlampe oder eine zuvor frisch gereinigte Küvette sein. Ersteres war einmalig der Fall, und die defekte Photozelle musste ausgetauscht werden. Bei der zweiten innerhalb des Messjahres vorgekommenen Meldung eines hohen HGB-Leerwertes blieb die Ursache unbekannt, konnte aber durch die Funktion „Adjust Photometer“ erfolgreich behoben werden.

Ein deutlich höherer Verbrauch an Lyse-reagenz im Verhältnis zum Diluent wurde beobachtet und kann damit erklärt werden, dass die gemessene Anzahl an Blutproben pro Tag unter 50 lag und im Rahmen der Studie häufiger als eventuell notwendig Spülvorgänge und Leerwerte durchgeführt wurden, um die optimale Funktion des Gerätes zu gewährleisten bzw. zu kontrollieren. Spülzyklen, wie sie bei Nichtgebrauch des Gerätes alle 4 h automatisch stattfinden, verbrauchen weniger Diluent-reagenz als ein Messzyklus, d.h. die 2:1-Relation des Diluent-/Lyse-mittelverbrauchs verschiebt sich. Es wird im Verhältnis mehr Lyse-reagenz verbraucht. In Praxen ohne Wochenendbetrieb kann Lösungsmittel gespart werden, indem der Analyser über das Wochenende ausgeschaltet wird. Das Wegfallen der automatischen Spülzyklen erhöht dann jedoch wiederum vor allem im Sommer die Gefahr des Keimwachstums im Gerät. Des Weiteren führt die quadratische Form der Lösungsmittelbehälter dazu, dass auch nach der „Leermeldung“ durch das Gerät stets ein beträchtlicher Teil des Reagenz im Behälter übrig bleibt, welches von den Aspirationssonden nicht mehr erfasst werden kann. Wünschenswert wäre eine konisch zulaufende Form des Innenbehälters. Dies würde ebenfalls erheblich Reagenzienkosten einsparen, da die Lösungsmittelreste aufgrund von möglicher bakterieller Kontamination nicht in neu geöffnete Behälter geschüttet werden dürfen, sondern verworfen werden müssen. Die übersichtlich gegliederten Handbücher waren hilfreich und erlaubten die Problemlösung vor Ort durch einen geschulten Anwender. Darüber hinaus bot der Hersteller einen prompten, zuverlässigen und qualifizierten Service.

5.7 Schlussbetrachtung

Unterzieht man die Ergebnisse der Präzisions- und Richtigkeitsanalyse einer gemeinsamen abschließenden Beurteilung, so bleibt festzuhalten, dass die Präzision des CA530-VET insgesamt gesehen sehr gut ist und die Richtigkeit je nach angelegtem Maß unterschiedlich gut beurteilt werden muss.

Sowohl nach den Richtlinien der Bundesärztekammer (BÄK) als auch gemäß den von KLEE (1990) formulierten Leistungszielen war die *Präzision* in der Serie sehr gut. Dasselbe galt für die Präzision der Doppelbestimmung, mit Ausnahme des Parameters Thrombozyten (PLT), der bei Katze und Pferd die 7 % Grenze der BÄK für maximal zulässige Unpräzision überschritt. Die Präzision der Kontrollblutmessung war mit Ausnahme des Parameters PLT bei niedriger Thrombozytenkonzentration ebenfalls sehr gut. Für die Präzision der Differenzierung existieren von Seiten der BÄK (2001) und den von KLEE (1990) aufgestellten Leistungszielen keine Vorgaben. Der Vergleich mit der Literatur ergab für die Präzision der maschinellen Leukozytendifferenzierung von Tierblut unter Ausnahme der Granulozytenpopulation nur unzureichende Ergebnisse. Die wiederholten Kontrollblutmessungen wiesen im Differentialblutbild eine gute Präzision auf.

Die *Richtigkeit* anhand der Richtlinie der BÄK beurteilt, ergab im *Gerätevergleich* für die Parameter Leukozyten (WBC) von Hund und Pferd sowie Erythrozyten (RBC) beim Pferd ein ausreichendes gutes Ergebnis. Wurden die um ein mehr als ein Zweifaches, für Thrombozyten sogar Dreifaches weiter gesteckten Grenzen für die maximal erlaubte Messabweichung von KLEE (1990) als Maßstab verwendet, so konnte die Richtigkeit für nahezu alle angegebenen Parameter der Blutzellzählung, ausgenommen den Parameter PLT bei Hund und Pferd, als ausreichend gut bezeichnet werden. Für den Parameter Hämatokrit (HKT) sind von KLEE (1990) keine Grenzen vorgegeben. Die ermittelten Messabweichungen für RBC und MCV liegen jedoch innerhalb der von KLEE (1990) vorgegebenen maximal erlaubten Gesamtabweichung.

Im Vergleich des CA530-VET mit den *manuellen Standardmethoden* lag nach den Forderungen der BÄK (2001) nur der für das Pferd ermittelte HKT-Wert nahe genug am Mikrohämatokritwert. Besonders mit dem Ergebnis der Hämatokritbestimmung des Hundes muss vorsichtig umgegangen werden. Im Vergleich mit der manuellen Thrombozytenzählung bei Katze und Pferd schneidet das Gerät sowohl gemäß BÄK (2001) als auch nach KLEE (1990) nicht ausreichend richtig ab.

Eine getrennte Auswertung des Methodenvergleichs nach KLEE (1990) für subnormale, normale und erhöhte Wertebereiche der Parameter WBC, RBC, HKT und PLT ergab im Gerätevergleich für WBC der Tierart Katze zu hohe prozentuale Abweichungen im niedrigen und normalen Wertebereich. Für den Parameter RBC überschritten die prozentualen Messdifferenzen im hohen Wertebereich bei allen 3 Tierarten den Grenzwert. Die HKT-Ergebnisse wichen beim Hund über alle Wertebereiche mehr als erlaubt von den durch die Mikrozentrifugation ermittelten Werten ab. Der Vergleich der ermittelten Thrombozytenzahlen

mit den CELL-DYN-Ergebnissen bzw. den Werten der manuellen Zählung erbrachte nur eine unzureichende Richtigkeit. Ausnahmen waren die Tierarten Hund und Pferd im niedrigen Wertebereich sowie für alle 3 Tierarten Blutproben mit Thrombozytenzahlen unter $20 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Schwachstelle des Gerätes ist neben der Thrombozytenzählung die Leukozytendifferenzierung. Häufig war keine Differenzierung möglich oder nur eine Differenzierung in 2 Populationen. Die Richtigkeit des Differentialblutbildes, überprüft anhand einer manuellen Differenzierung, kann nur für die Granulozytenpopulation als ausreichend bezeichnet werden. Vor allem beim Hund zeigten sich hohe Abweichungen für die Lymphozytenpopulation. Die Richtigkeit der Midcellpopulation war ungenügend. Der Einsatz als Screening-Instrument, welches in der täglichen Routine abnormale Fälle zur manuellen Differenzierung herausfiltert, kann sich somit lediglich auf das Erkennen einer Neutrophilie beschränken.

Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass aufgrund vieler Unzulänglichkeiten (siehe Kap. 5.4.1 b) auch die Tauglichkeit der manuellen Differenzierung als Methode zur Überprüfung der Richtigkeit des maschinellen Differentialblutbildes in Frage gestellt werden kann. Ihre Bedeutung bei der Untersuchung qualitativer Zellmorphologie bleibt dabei unbestritten. Die Zukunft der Qualitätskontrolle für Differentialblutbilder wird dennoch der maschinellen Differenzierung gehören, genauer gesagt der Durchflusszytometrie und der Zellmarkierung mit monoklonalen Antikörpern.

Im Umgang erwies sich das Gerät als zuverlässig, benutzerfreundlich und robust. Probleme konnten in den meisten Fällen mit Hilfe der gut strukturierten und verständlichen Handbücher selbst gelöst werden. Bei Markierung eines Parameters, welche mit der Messbarkeit der Probe aus technischer Sicht und weniger mit dem Auftreten pathologischer Zellen/Zellkomponenten zusammenhängt, ist eine Wiederholung der Messung zu empfehlen. Die Ergebnisse beständig markierter Parameter müssen nicht zwingend falsch sein, sind jedoch mit Vorsicht zu interpretieren und gegebenenfalls mit alternativen Methoden zu verifizieren.

Unter der Berücksichtigung, dass die angewandten Maßstäbe zur Beurteilung der Präzision und Richtigkeit des CA530-VET ohne Modifizierung für die Tiermedizin aus dem humanmedizinischen Bereich übernommen wurden, kann das Gerät zusammenfassend zur Blutzellzählung in der veterinärmedizinischen Praxis als gut geeignet gewertet werden.