

4. Thom R. Calibration in Haematology. New Approaches to Laboratory Medicine. Editor Rosalki SB, Transactions of the 2nd Merz + Dade Exploratory Seminar, Dürdingen, June 11 - 12, 1981; GIT Verlag Ernst Giebler, Darmstadt 1981.
5. Klee GG. Performance goals for international quality control of multichannel haematology analysers. Firts International Conference on Advances in Clinical Haematology: Current practice and future directions for quality assessment in laboratory haematology. Durham, North Carolina, 18-19 september 1989. Clin lab Haemat 1990; 12, Suppl 1: 65-74.
6. Lombarts AJPF, Leijnse B. Outdated blood and redundant buffy-coats as sources for the preparation of multiparameter controls for Coulter-type (resistive-particle) hemocytometry. Clin Chim Acta 1984; 143: 7-15.
7. Bartels PC, Roijers AFM. Effect of Aging on Preserved Red Blood Cell Populations as Measured by Light Scattering. J Clin Chem Biochem 1988; 26: 29-33.
8. Levy WC, Bull BS, Koepke JA. The Incorporation of Red Blood Cell Index Mean Data into Quality Control Programs. Am J Clin Pathol 1986; 86: 193-199.
9. Bull BS, Richardson-Jones A, Gibson M, Fimlt NZ, Twedt D. A method for the Independent Assessment of the Accuracy of Hematology Whole-Blood Calibrators. Am J Clin Pathol 1992; 98: 623-629.
10. England JM. Recommended methods for the assignment of assay values to stabilized cell suspensions. Clin lab Haemat 1990; 12, Suppl 1: 13-21.
11. Helleman PW. Het gebruik van "Stabicells" voor de kwaliteitsbewaking bij de erythrocytometrie. Tijdschrift NVKC 1983; 8: 152-153.
12. England JM, Lewis SM, Rowan RM, Thom R. Surrogate materials for calibration and control: the use of latex particles as calibrants for red cell volume measurements. Clin lab Haemat 1990; 12, Suppl 1: 55-63.
13. Reardon DM, Mack C, Warner B, Hutchinson D. A whole blood control for blood count analysers, and source material for an external quality assessment scheme. Med Lab Sci 1991; 48: 19-26.
14. Warner B, Reardon D. External quality assessment of the full blood count, and problems associated with the use of fixed blood preparations. Br J Biomed Sci 1993; 50: 96-102.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 156-159

Tijd- en anticoagulantia-gebonden effecten in de hemocytometrie

W. GOOSSENS en A. van ORSHOVEN

Belangrijke onnauwkeurigheden bij de analyse worden veroorzaakt door inadequate bloed/anticoagulans-verhouding en door tijdgebonden fenomenen. Anticoagulans-effecten werden simultaan nagegaan met 5 automatische analysesystemen en 8 verschillende K₂- of K₃-EDTA containers voor gezonde en hematologisch abnormale personen. In optimale condities qua bloed/anticoagulans-verhouding en tijdsduur na de bloedname worden identieke resultaten verkregen met K₂- of K₃-EDTA. Bij EDTA-concentraties boven 5 g/l bloed treden aanzienlijke verschillen op in functie van EDTA-type en analyseapparatuur, in hoofdzaak voor MCV, MPV, trombocytentelling en automatische leucocytdifferentiatie. Tijdgebonden effecten werden simultaan nagegaan met 4 automatische analysesystemen op K₂-EDTA-bloed van gezonde en hematologisch abnormale personen over een tijdverloop van 48 uur, en als initiële tijdeffecten over 1 uur vanaf bloedname. Hoewel meerdere meetgegevens tot 48 uur ongewijzigd blijven, zijn trombocytentelling, MCV, MPV, en RDW in het algemeen niet langer dan 24 uur stabiel. Duidelijke wijzigingen in de automatische leucocytaire differentiatie gebeuren vanaf 16 uur na de bloedname. Uitgesproken initiële tijdeffecten treden op voor trombocytentelling en automatische leucocytaire differentiatie. Een betrouwbaar analysesresultaat kan pas verkregen worden na 30 minuten.

Laboratorium Hematologie, Universitaire Ziekenhuizen Katholieke Universiteit Leuven, België

Correspondentie: Dr. W. Goossens, Laboratorium Hematologie, Universitaire Ziekenhuizen K.U. Leuven, Herestraat 49, B-3000 Leuven, België.

Toepassing van de meest uitgebreide kwaliteitsbewakingsprogramma's voor de hemocytometrie kan niet beletten dat een aantal monster-gebonden foutenbronnen aan de interne kwaliteitscontrole ontsnappen. Deze foutenbronnen behoren doorgaans tot de zogenaamde pré- en/of post-analytische fase van het onderzoek. Een aantal van deze fouten zijn voor de hand liggend en vermijdbaar, zoals onjuiste identificatie of onvolledige homogenisatie van het bloedmonster. Ook houding van de patiënt bij, en tijdstip van de bloedname beïnvloeden de analysesresultaten. Hiernaast echter kunnen belangrijke onnauwkeurigheden bij de analyse geïntroduceerd worden door gebruik van niet-geschikt anticoagulans of een verkeerde bloed/anticoagulans-verhouding, evenals door tijdgebonden fenomenen, zowel bij te verse als bij te oude bloedmonsters.

Anticoagulans-effecten

Routinematig worden di- en tri-kalium (K₂ en K₃) zouten van ethyleendiaminetetraazijnzuur (EDTA) gebruikt als anticoagulans in de hemocytometrie. Als optimale concentratie wordt 1,5-2,2 g/l (3,7-5,4 mmol/l) aanvaard. Het niet-optimaal gebruik van beide EDTA-zouten kan verschillende tijd- en concentratie-afhankelijke effecten bij de basis-hematologische bepalingen veroorzaken (1-3). Het meest gekende fenomeen is verschrompeling van de erythrocyten, waardoor het MCV en bijgevolg de hematocrietwaarde gereduceerd worden. De mate van verschrompeling staat in verhouding tot de overmaat anticoagulans en is het meest uitgesproken bij het trikaliumzout (-15% bij 1,5 g K₃EDTA /l bloed; bepaling via microhematocrietcentrifuge); hierom wordt door

meerdere auteurs voorgesteld preferentiël het dikaliumzout als anticoagulans te gebruiken (4, 5).

Tijdgebonden effecten

Algemeen wordt aanvaard dat bloedcelltellingen en ervan afgeleide meetgegevens niet wijzigen gedurende 24 uur of langer, en dat automatische leucocytaire differentiaties (5-diff) 6 tot 10 uur na de bloedname stabiel blijven. Voor het meest recente instrumentarium, hetzij nieuwe apparatuur hetzij nieuwe software-ontwikkelingen op bestaande toestellen, wordt gesteld dat de stabiliteit van de analyseresultaten over een beduidend langere tijdspanne kan worden gegarandeerd, in het bijzonder voor de automatische leucocytaire differentiatie.

MATERIALEN EN METHODEN

Anticoagulans-effecten werden uitgebreid nagegaan door simultaan-analysen op de meeste recente automatische instrumenten (Abbott CD3000/3500, Coulter STKS, Technicon H1/H2, Toa Sysmex NE8000) bij verschillende bloed/anticoagulans-verhoudingen en gebruik makend van acht types K₂- of K₃-EDTA containers (gecommercialiseerd als Terumo Veneject en Becton Dickinson Vacutainer, of prototypes). Bloedmonsters van 6 gezonde donoren en 6 hematologisch abnormale patiënten werden onderzocht. Tijdafhankelijke veranderingen in de analyseresultaten bij 5 gezonde proefpersonen en 5 hematologisch abnormale patiënten werden onderzocht over een

tijdverloop van 48 uur, met speciale aandacht voor de kritische periode tussen 8 en 24 uur na de bloedname. Initiële tijdefecten werden onderzocht gedurende een tijdverloop van 1 uur vanaf de bloedname met 5-minuten-tijdintervallen bij bloedmonsters van 5 gezonde vrijwilligers. Alle bloedmonsters werden genomen op K₂EDTA (1,5 g/l bloed); bijkomende effecten veroorzaakt door het gebruik van ACD of heparine als anticoagulans werden eveneens onderzocht.

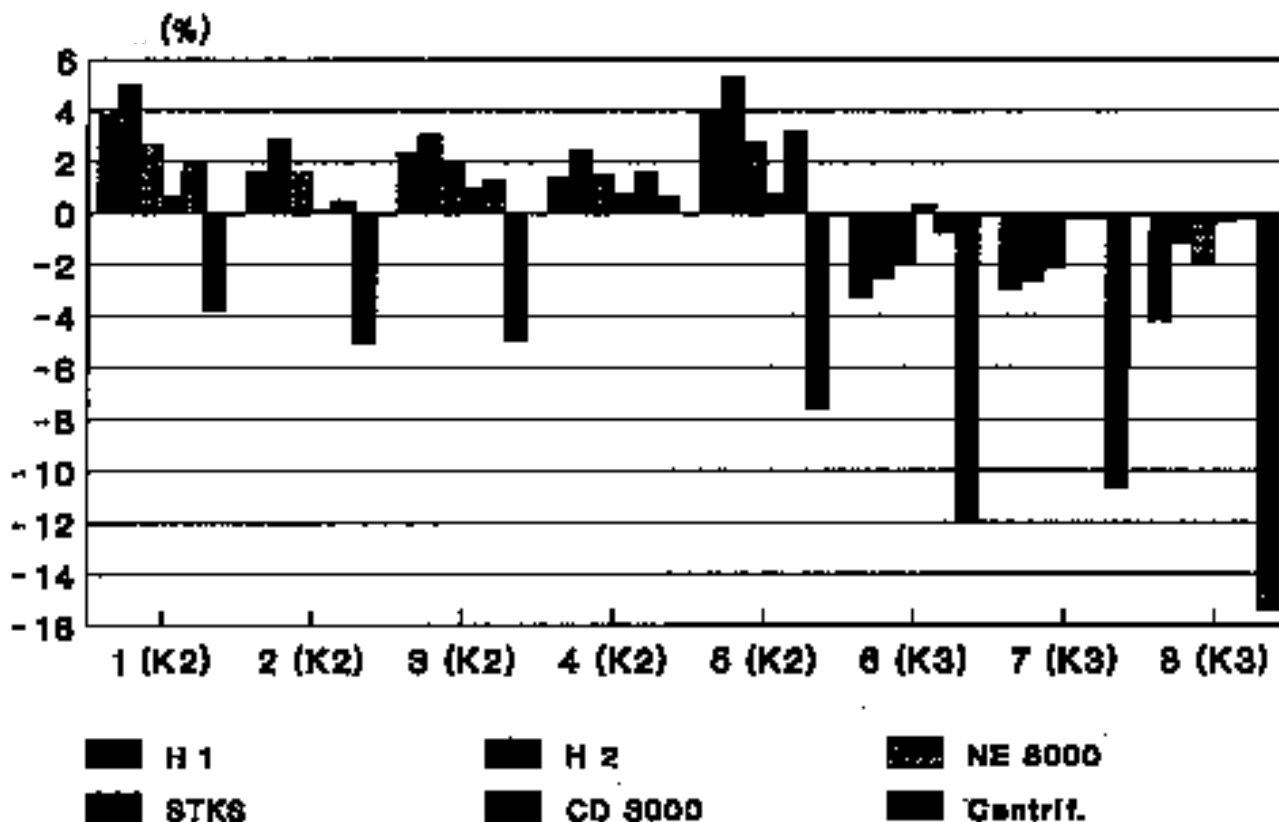
Alle analyses werden gelijktijdig uitgevoerd op Coulter Counter STKS (software 1H), Abbott Cell-Dyn 3500 (software 1.35), Technicon H2 (software 1.1.1 rev.C), and Roche Cobas Argos 5diff (software V2.00).

RESULTATEN EN DISCUSSIE

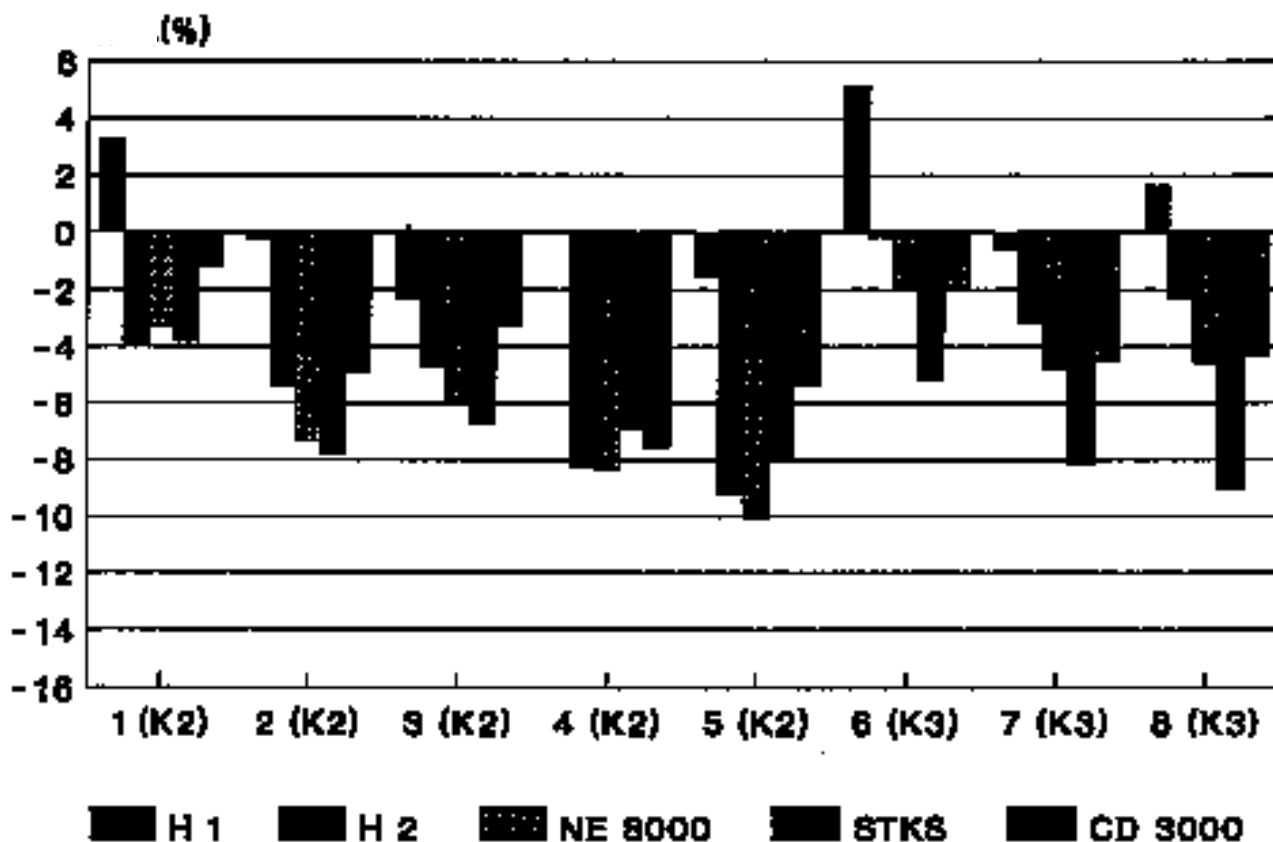
Anticoagulans-effecten

In optimale condities, wat gelijkstaat met EDTA-concentraties van 1,5 g/l en analyse binnen 4 uur na de bloedname, worden voor monsters ontstold met K₂- of K₃-EDTA identieke resultaten verkregen.

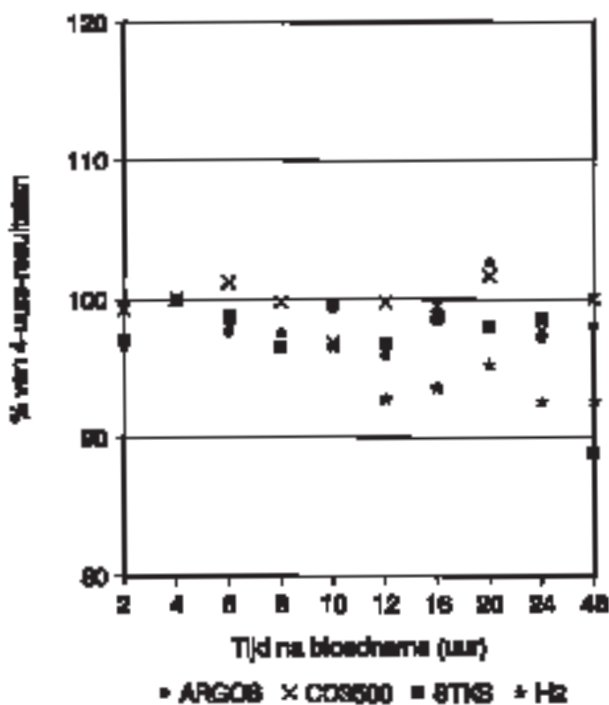
Bij anticoagulans-concentraties boven 5 g EDTA/l bloed, vergelijkbaar met partiël gevulde containers, treden uitgesproken verschillen op in functie van het type EDTA en de gebruikte analyseapparatuur. MCV (figuur 1), trombocytentelling (figuur 2) en MPV vertonen statistisch significante verschillen ten opzichte van meetresultaten bij optimaal ontstolde bloedmonsters; MCV-meting toont duidelijk verschillend gedrag op automatische toestellen naargelang de niet-



Figuur 1. MCV: Procentuele verschillen tussen meetwaarden voor monsters afgenomen op 1,5 g EDTA/l bloed en 7,5 g EDTA/l bloed. De resultaten zijn gemiddelden voor 5 gezonde personen. Alle monsternamen gebeuren op 8 verschillende types bloedafnametubes. Alle analyses werden uitgevoerd met 5 verschillende analysesystemen. MCV berekend uit gemeten hematocriet (microhematocrietcentrifuge) werd toegevoegd ter vergelijking.



Figuur 2. Trombocytentelling : Procentuele verschillen tussen meetwaarden voor monsters afgenomen op 1,5 g EDTA/l bloed en 7,5 g EDTA/l bloed. De resultaten zijn gemiddelden voor 5 gezonde personen. Alle monsternamen gebeurden op 8 verschillende types bloedafnametubes. Alle analyses werden uitgevoerd met 5 verschillende analysesystemen.

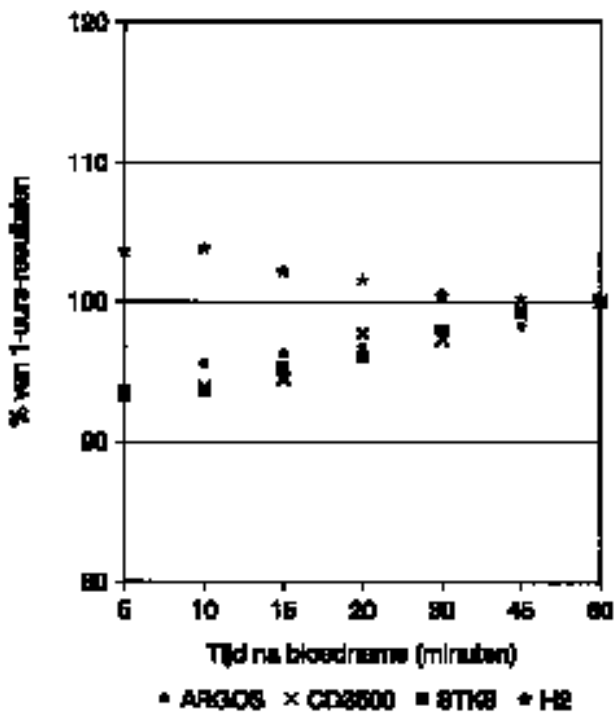


Figuur 3. Trombocytentelling : Tijdevolutie van de meetresultaten over 48 uur. Procentuele afwijkingen t.o.v. meetwaarden 4 uur na de bloedafname, voor monsters afgenomen op 1,5 g K₂-EDTA/l bloed. De resultaten zijn gemiddelden voor 5 gezonde personen. Alle analyses werden uitgevoerd op 4 verschillende analysesystemen.

optimale monsternamen gebeurden op K₂- of K₃-EDTA, terwijl vergelijkende analyses via microhematocriet-centrifugatie de verschillende mate van verschrompeling bevestigden; trombocytentelling is systematisch verlaagd bij gebruik van overmaat anticoagulans; MPV toont wisselende afwijkingen naargelang de gebruikte analysestoelstenen en niet in functie van het type anticoagulans. De leucocyten telling en de RDW zijn niet-significant gewijzigd. Erythrocyten telling, MCH en MCH blijven nagenoeg ongewijzigd. De resultaten voor automatische leucocyten differentiatie worden verschillend beïnvloed door zowel EDTA-type als gebruikte analyseapparatuur. Dit heeft hoofdzakelijk betrekking op de monocytentelling en in mindere mate op de lymfocytentelling. Gelijklopende resultaten worden gevonden voor bloedmonsters afkomstig van zowel gezonde personen als van hematologisch abnormale patiënten. Alle vernoemde anticoagulans-effecten staan uitsluitend in verband met type en concentratie van het anticoagulans, en staan los van hun presentatie (microkristallijn, verstoven, opgelost) in de afnamecontainer.

Tijdgebonden effecten

Meetgegevens in verband met erythrocyten blijven stabiel tot 48 uur op alle instrumenten, behalve het MCV en de hematocrietwaarde, die significant toenemen na 24 uur op de Technicon H2 en de Abbott CD3500, en de RDW, die na 20 uur toeneemt op alle instrumenten. Trombocytentelling (figuur 3) blijft stabiel tot minstens 48 uur op de Abbott CD3500,



Figuur 4. MPV: Tijdevolutie van de meetresultaten binnen 1 uur na bloedafname. Procentuele afwijkingen t.o.v. meetwaarden 1 uur na de bloedafname, voor monsters afgenomen op 1,5 g K₂-EDTA/l bloed. De resultaten zijn gemiddelden voor 5 gezonde personen. Alle analyses werden uitgevoerd op 4 verschillende analysesystemen.

maar neemt af na 24 uur op de andere toestellen. Het MPV blijft stabiel gedurende minstens 48 uur op de Coulter STKS, maar neemt toe na 16 uur op de Abbott, en neemt daarentegen significant af na 8 uur (Technicon H2) en 16 uur (Cobas Argos) op de andere toestellen.

Het leucocytenaantal blijft ongewijzigd na 24 tot 48 uur op alle toestellen. De automatische leucocytaire differentiatie blijft langer dan 20 uur stabiel bij de Technicon H2; op de andere instrumenten treden aanzienlijke veranderingen op na 16 uur. Morfologie-

flags in verband met pathologie-afhankelijke abnormaliteiten blijven onveranderd gedurende 24 uur op alle instrumenten; inadequate morfologieflags, te wijten aan veroudering van het bloedmonster verschijnen na 24 uur op de Abbott, en na 20 uur op de overige toestellen.

Initiële tijdeffekten worden bij alle instrumenten opgemerkt voor de automatische leucocytaire formule en voor alle trombocytenparameters behalve de telling zelf (figuur 4: MPV): een definitieve waarde wordt pas bereikt 30 tot 45 minuten na de bloedname, zonder dat dit gevolgen heeft voor de morfologieflagging.

Bewaren van bloed, ontsteld met K₂EDTA, bij 4 °C garandeert geen langere stabiliteit van de resultaten voor de automatische leucocytaire differentiatie, en interfereert met de analyse van de trombocytenparameters. Bloed ontsteld met heparine of ACD blijft principieel ongeschikt voor automatische bloedcelanalyses eveneens wegens interferentie met de trombocytenparameters en de automatische leucocytaire differentiatie, en kan alleen in noodgevallen gebruikt worden voor erythrocytenparameters en leucocyten-telling.

Literatuur

1. McShine RL, Das PC, Smit Siblinga CTL, Brozovic B. Differences between the effects of EDTA and citrate anticoagulants on platelet count and mean platelet volume. *Clin Lab Haemat* 1990; 12: 277-285.
2. Goossens W, Duppen V van, Verwilghen, RL. K₂- or K₃-EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology? *Clin Lab Haemat* 1991; 13: 291-295.
3. Goossens W, Duppen V van, Vissers R, Verwilghen RL. Effects of type and concentration of EDTA on the automated blood count. *Schweiz Med Wschr* 1991; 121 Suppl 43: 165.
4. Koepke JA, Assendelft OW van, Bull BS, Richardson-Jones A. Standardization of EDTA anticoagulation for blood counting procedures. *Labmedica* 1989; 5: 15-17.
5. NCCLS. Additives to blood collection devices. Proposed Standard H-35-P, NCCLS, Villanova, PA, 1989.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 159-161

Het Limburgse regionale programma voor kwaliteitsbewaking van hemocytometrie en drie- en vijfpopulatie differentiatie

J.M.W.A. van GEND en J. van PELT

In Zuid-Oost Nederland functioneert sinds 1979 een regionaal, maandelijks kwaliteitsbewakingsprogramma voor hemocytometrie met 13 deelnemende zie-

Klinisch chemisch en hematologisch laboratorium, st. Maartens Gasthuis, Venlo

Correspondentie: Drs. J.M.W.A. van Gend, KCHL, st. Maartens Gasthuis, Tegelseweg 210, 5912 BL Venlo.

kenhuizen (18 apparaten). Vanaf 1991 is het programma uitgebreid met de vijfpardifferentiatie bepalingen. Door gebruik te maken van een koeriersdienst kan analyse van vers, onbewerkt humaan bloed binnen 5 uur na afname en terugrapportage binnen 2 dagen na analyse plaats vinden. In de loop der jaren kon voor een aantal bepalingen, zoals trombocyten, een duidelijke verbetering geconstateerd worden.