

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 tijdeffecten 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 leucocytentelling.

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.

Zoals bekend zijn de mogelijkheden voor kwaliteitsbewaking van de hemocytometrische technieken achtergebleven bij die van bijvoorbeeld de klinische chemie. Daar waar volstaan kon worden met waterige oplossingen of gevriesdroogde en/of gestabiliseerde sera, ontstonden velerlei programma's voor interne, regionale, nationale en zelfs mondiale kwaliteitsvergelijking.

Experimenten in 1978 met gestabiliseerde bloedmonsters in de regio Noord- en Midden-Limburg voor het vergelijken van hemocytometrische uitslagen verkregen met handmethodes en apparaten van verschillende firma's waren niet bevredigend omdat bij vastgestelde grote onderlinge verschillen de mogelijkheid bleef bestaan dat deze verschillen werden veroorzaakt door het onnatuurlijke testmateriaal.

In 1979 werd gestart met een regionaal kwaliteitsbewakingsprogramma met onbewerkt humaan bloed en analyses binnen 1 dag na bloedafname. Hiermee werden maandelijks gegevens verkregen over de nauwkeurigheid van de analyses van het hemoglobinegehalte (Hb), de hematocrietwaarde (Ht), het aantal erythrocyten (RBC), het aantal leucocyten (WBC), het aantal trombocyten (PC) en het MCV (mean corpuscular volume) en over de systematische verschillen tussen de uitslagen van de laboratoria onderling (1).

In januari 1991 werd het programma uitgebreid met de automatische dif-parameters neutrofiële granulocyten, lymfocyten, monoccyten, eosinofiele granulocyten en basofiele granulocyten. Vanaf die maand worden de monsters in de deelnemende ziekenhuislaboratoria bepaald binnen vijf uur na de bloedafname.

MATERIAAL EN METHODEN

Bloedmonsters

Het verwerven en verzenden van de bloedmonsters en het verwerken van de resultaten gebeurt vanuit het organiserend laboratorium in het st. Maartens Gasthuis te Venlo. Op elke eerste dinsdag van de maand wordt na toestemming bij 10 volwassen bezoekers van de polikliniek 20 ml bloed afgenomen en onstolbaar gemaakt met 1,5 mg di-Kalium EDTA per ml bloed. Elk monster wordt gecodeerd en verdeeld over 13 polypropyleen buisjes van 5 ml. De 5 ziekenhuislaboratoria die met twee apparaten meedoen krijgen ca 1,5 ml bloed, de overige 8 laboratoria ontvangen 1,0 ml. De monsters komen niet in aanraking met glas en worden bewaard bij kamertemperatuur.

Tabel 1. Overzicht gebruikte hemocytometrie apparatuur

Abbott CD 3000	(1)
Bayer H*3	(1)
Bayer H*1	(2)
Coulter STKS	(1)
Coulter SplusIV	(1)
Coulter STKR	(1)
Coulter T 540	(2)
Coulter MaxM	(2)
Roche Cobas Argos	(3)
Sysmex SE 9000	(1)
Sysmex E 5000	(2)
Sysmex NE 1500	(1)

Tot januari 1991 werden de monsters per post verzonden en werden de analyses ca 26 uur na de bloedafname verricht. Vanaf 1 januari 1991 worden de monsters door een koeriersdienst in twee routes naar de deelnemende ziekenhuizen gebracht. De analyses worden met zeer diverse apparatuur verricht binnen 5 uur na de bloedafname (tabel 1). Men vult de uitslagen in op de bijgeleverde formulieren en stuurt de uitslagen per omgaande post of per fax naar het organiserend laboratorium. Na statistische bewerking ontvangen de deelnemende laboratoria de resultaten meestal op donderdag, dus twee dagen na de bloedafnames en analyses.

Rapportage

Elke deelnemer ontvangt per apparaat en voor iedere analyse maandelijks de volgende gegevens:

1. Per monster de eigen uitslag en de gemiddelde waarde van alle deelnemers, zowel in tabel als grafiek.
2. Van alle deelnemers de gemiddelde waarde van de tien monsters. Dit geeft informatie over de juistheid.
3. De standard error of estimate. Deze parameter, de restspreiding ten opzichte van de correlatielijn van de eigen uitslagen ten opzichte van de gemiddelde waarden, is een maat voor de precisie.

Elke deelnemer ontvangt aan het einde van elk kalenderjaar van elke soort analyse een staafdiagram van de maandelijks verschillen tussen de eigen gemiddelde waarde van de tien monsters en de gemiddelde waarde van alle deelnemers. Uit deze diagrammen kan men afleiden of de maandelijks juistheidsgegevens ook op langere termijn consistent zijn.

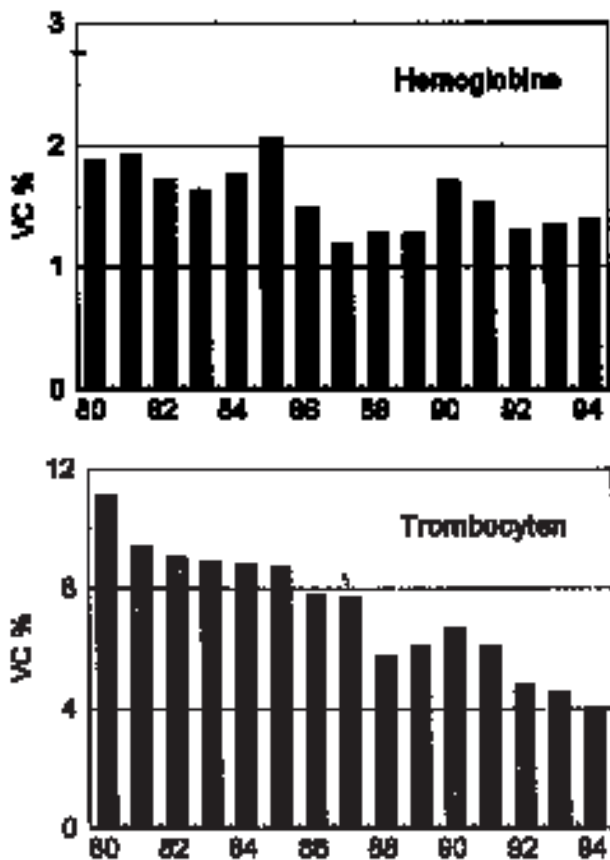
RESULTATEN

Respons

Berekend over de zestien jaar dat het kwaliteitsbewakingsprogramma functioneert werd in meer dan 95% uitslagen terug ontvangen. Om deze hoge respons te handhaven blijkt het wel noodzakelijk om deelnemers die nog geen resultaten ingestuurd hebben daarop telefonisch te attenderen. Slechts sporadisch waren er problemen bij de bezorging van de monsters of was de apparatuur defect. Een enkele keer was, mogelijk door koude agglutinatie, de spreiding tussen de uitslagen bij één monster veel groter dan bij de overige negen monsters. Deze uitslagen werden dan alsnog verwijderd. Slechts één van de bijna 200 rondzendingen mislukte volledig door lekkende buisjes.

Onderlinge verschillen

Al bij de eerste rondzending met verse humane monsters in 1979 waren bij de meeste bepalingen de onderlinge verschillen veel kleiner dan bij de eerdere experimenten met gestabiliseerd bloed. Overleg in regioverband en daaruit voortvloeiende acties resulteerde in verdere verbeteringen. Het verloop van de spreiding tussen de uitslagen van de deelnemers vanaf het begin van het kwaliteitsbewakingsprogramma staat voor twee bepalingen weergegeven in figuur 1. Bij de bepaling van de hemoglobine concentratie be-



Figuur 1. Gemiddelde spreiding tussen de deelnemende laboratoria bij de bepaling van de hemoglobineconcentratie en bij de telling van de trombocyten.

stonden in 1980 voor de gebruikte apparaten al goed gedefiniëerde ijkmethoden. De onderlinge spreiding is bij voortschrijdende automatisering niet veel veranderd. Bij de telling van de trombocyten is de onderlinge spreiding sterk verminderd, vooral omdat de kleinere laboratoria overstapten van de telkamer naar elektronische celtellers. Deze stap is mede bevorderd door de relatief slechte resultaten van de telkamer methodes in de enquête.

De gemiddelde spreiding tussen de uitslagen van de vijfparddifferentiatie staan vermeld in tabel 2. Opvallend zijn de kleine onderlinge verschillen bij de neutrofiële granulocyten, de lymfocyten en de eosinofiele granulocyten. De grote spreiding bij de basofiele granulocyten is te verklaren uit de lage percentages waarin deze cellen voorkomen en uit de in sommige laboratoria gebruikelijke afronding tot hele percentages. De grote spreiding bij de monocytten wordt veroorzaakt door verschillen tussen de verschillende

Tabel 2. Gemiddelde spreiding van de resultaten van de vijfparddifferentiatie tussen de deelnemers

Jaar	neutro	lymfo	mono	eo's	baso's
1991	2,8	3,0	14,8	6,5	25,9
1992	3,1	2,7	15,3	5,8	23,7
1993	2,9	2,5	14,8	7,8	29,7
1994	3,0	2,4	16,9	6,9	34,7

merken. De verschillen tussen de gebruikers van apparaten van dezelfde firma zijn veel kleiner.

DISCUSSIE

Bij de start van het Limburgse regionale programma voor kwaliteitsbewaking van de hemocytometrie in 1979 werd, ter vermindering van artefacten, gekozen voor testmateriaal dat zoveel mogelijk overeenkwam met dat van de dagelijkse praktijk. Het "Expert panel on cytometry" is eveneens van mening dat vergelijking van hemocytometrische uitslagen van apparaten van verschillende firma's en typen alleen mogelijk is met humane monsters die niet ouder zijn dan 24 uur (2). Als anticoagulans verdient di-kalium-EDTA de voorkeur. Wij toonden recent aan dat voor een zinvolle vergelijking van de uitslagen van de vijfparddifferentiatie de analyses binnen 6 uur na bloedafname moeten worden uitgevoerd (3).

De organisatie van het regionale programma, inclusief bloedafname, uitverdeling, invoer van de uitslagen en verwerking van de resultaten vraagt ongeveer 6 manuren per maand. Alleen de kosten van de koeriersdienst, ongeveer f 500,- per jaar per ziekenhuis worden in rekening gebracht. Het beschreven regionale programma voldoet voor de deelnemers nog steeds aan een grote behoefte waarvoor binnen Nederland (en daarbuiten) geen goed alternatief voorhanden is.

Literatuur

1. Van Gend JMWA. Fresh human blood as the source of a regional quality survey programme in haematology. *Ann Clin Biochem* 1982; 19: 438-441.
2. International Council for standardization in Haematology: Expert panel on cytometry. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 371-372.
3. Van Gend JMWA, Bas BM, Kuppens PSH, Leeuwen L van, Peeters JABM, Pelt J van. Houdbaarheid van bloedmonsters voor geautomatiseerde hemocytometrie en vijfparddifferentiatie. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1995; 20: 108.