Referenzinstitut für Bioanalytik
Friesdorfer Str. 153
D-53175 Bonn
Telefon +49 (0)228 926895-0
Telefax +49 (0)228 926895-29
internet: www.dgkl-rfb.de
E-Mail: info@dgkl-rfb.de

Ringversuch für Immunophänotypisierung-Durchflusszytometrie IS1/11

Ringversuchsleiter:
Prof. Dr. med. C. Knabbe, Prof. Dr. Dr. K. P. Kohse, Prof. Dr. M. Neumaier

Wissenschaftliche Beratung:
Dr. W. Prohaska, Dr. M. Schmidt, Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, Georgstraße 11, 32545 Bad Oeynhausen

Organisation und Durchführung:
Dr. W.-J. Geilenkeuser, Dr. R. Kruse

Versuchsanleitung

Zusammen mit diesem Schreiben erhalten Sie per Postexpress Probenmaterial und Ergebnisformulare unseres Ringversuchs für die Immunophänotypisierung.

Termine

Versandtag:	Montag, 28.02.2011 (Eilzustellung)
Messung:	**Sofort nach Ankunft!**
Versuchszeitraum:	**Dienstag bis Donnerstag, 01. bis 03. März 2011 Eine Messung nach diesen Tagen ist wenig sinnvoll.**
Einsendeschluss:	03.03.2011

Untersuchungsmaterial

Die Proben A und B bestehen aus je 2 ml stabilisiertem Vollblut. Das Probenmaterial ist für visuelle Differenzierung und Dichtegradientenzentrifugation wenig geeignet. Die Proben sind nur begrenzt haltbar. Bitte geben Sie zusätzlich die Messtage an.

Zur Beachtung:
Da eine Infektiösität der Blutprobe nicht auszuschließen ist, sollte sie mit entsprechender Sorgfalt behandelt werden.

Testdurchführung

Bitte nehmen Sie die Immunophänotypisierung wie gewohnt vor. Als Richtlinie wird das Protokoll des US-amerikanischen National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA), Dokument H42-A, empfohlen. Weitere Empfehlungen befinden sich in der Zeitschrift Cytometry (1997) 30: 213-263.
Eine Vollblutpräparation mit Lyse und Fixierung darf derzeit als Standard angesehen werden.

Bestimmungen

Lymphozytenparameter

Als Antikörper-Panel sind gemäß NCCLS die Kombinationen CD14/45 (Positivkontrolle), markierte Maus-Isotypen (Negativkontrolle), CD3/CD19 für T- und B-Lymphozyten, CD4/CD3 für T-Helfer/Inducer Zellen, CD8/CD3 für T-Suppressor/zytotoxische Zellen und CD16 + 56/CD3 für NK-Zellen vorgesehen.

Andere Antikörper-Kombinationen sollen im Ergebnisformular entsprechend eingetragen werden. Wir haben versucht, alle gebräuchlichen Kombinationen zu berücksichtigen. Bitte vergessen Sie nicht, dass immer firmenspezifische Negativ-Isotypen-Kontrollen verwendet werden sollen, wenn Antikörper mehrerer Firmen eingesetzt werden.

HLA-DR positive Monozyten

Zur Messung ist es erforderlich in der Streulicht-Darstellung die Monozyten zu "gaten". Eine Reinheitskontrolle des Gates kann wie üblich mit dem CD14/CD45-Reagenz erfolgen, jedoch stellen sich die Monozyten im oberen rechten Quadranten, also anders als die Lymphozyten, dar. Die eigentliche Messung erfolgt mit einem kombinierten Anti-HLA-DR/Anti-CD14-Reagenz. Die diagnostisch relevante Information ist die Angabe, wie viele Monozyten (CD14 positiv) gleichzeitig das Merkmal HLA-DR zeigen.

Berechnung und Korrektur der Lymphozytenparameter

Nach dem sog. Gating für Lymphozyten mit Streulicht-Parametern sollte eine Korrektur für Nicht-Lymphozyten (Monozyten, Basophile, Erythrozyten, Debris) im Lymphozyten-Gate vorgenommen werden nach folgender Formel

$$\text{Korrigierter Lymphozytenwert} = \frac{\text{Rohwert \% (z. B. } CD4^{+}/CD3^{+}}{\%CD45^{+} - \%CD45^{schwach}\ CD14^{+}/CD45^{+}} \times 100$$

Beispiel:	$CD4^+/CD3^+$	= 45 %
	$CD45^+$	= 99 % (1 % $CD45^{neg}$, z. B. Ery, Debris)
	$CD45^{schwach}$	= 1 % (z. B. Basophile, Debris)
	$CD14^+/CD45^+$	= 3 % (Monozyten)

$$\text{Korrigierter Wert} = \frac{45}{99 - 1 - 3} \times 100 = 47{,}4\ \%$$

Bitte vergewissern Sie sich, ob Ihre Software diese Korrektur bereits durchführt (z. B. Simulset TM von Becton Dickinson).

Dokumentation der Analysenergebnisse und zusätzlicher Angaben

Bitte beachten Sie beim Eintragen Ihrer Ergebnisse die Hinweise auf dem Messwertbogen.

Geben Sie auf jeden Fall die Lymphozytenzahl (absolut) an. Aus dieser Zahl und den in % angegebenen Subpopulationen berechnen wir für die Auswertung die Absolutzahl der Zellen.

Geben Sie die Ergebnisse für HLA-DRpos/CD14pos in % der Monozyten an.

Tragen Sie bitte auch die Chiffren für die von Ihnen benutzten Methoden, Geräte und Antikörper ein:

a) Entnehmen Sie für die Methode der Leukozytenzählung die Chiffre dem Schlüssel Hämatologie A: Leukozytenzählung, für die Lymphozytenzählung entnehmen Sie die Chiffre dem Methodenschlüssel B: Lymphozytenzählung.

b) Die Geräteschlüssel für die Leukozytenzählung und die Lymphozytenzählung sind identisch.

c) Die Chiffre für das Gerät zur Bestimmung der Subpopulationen entnehmen Sie bitte dem Geräteschlüssel Immunophänotypisierung, die Chiffre für den Antikörper dem Schlüssel Monoklonale Antikörper Immunophänotypisierung.

Kontrollieren Sie Ihre Eintragungen bitte, denn nachträgliche Änderungen können nicht berücksichtigt werden!

Fertigen Sie bitte für Ihre Unterlagen eine Fotokopie Ihres ausgefüllten Ergebnisformulars an.

Ergebnisse können uns per Post, per Fax oder bei registrierten Teilnehmern per Internet übermittelt werden.

Auswertung

Die Auswertung Ihrer Untersuchungsergebnisse wird ca. 4 Wochen nach Einsendeschluss versandt.

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an:

Dr. med. W. Prohaska
Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen
Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin
32545 Bad Oeynhausen, Georgstraße 11
Tel. 05731/971390, Fax 05731/972307

Schlüssel 1	**Methodenschlüssel für die Hämatologie Analyte 1-3**	**IS1/11**
Analyt	Methode	Chiffre
1 Leukozytenzahl	Impedanzmessung (Hämatologie-Automat)	1
	Optoelektronische Zählung (Hämatologie Automat)	2
	Beadsvergleich am Durchflusszytometer	3
	Andere Methode	4
2 Lymphozyten (relativ) **3 Lymphozytenzahl**	Hämatologische Analysensysteme (wie "1 Leukozytenzahl")	1
	Immunolog. Durchflusszytometer (CD 45 / CD 14-Reagenz)	2
	Visuell (Differentialausstrich)	3
	Beadsvergleich am Durchflusszytometer (Tru-Count-Röhrchen o. a.)	4
	Andere Methode	5

Schlüssel 2 Geräteschlüssel für die Hämatologie Analyte 1-3

SCHLUESSEL 2 Geraeteschluessel fuer die Haematologie Analyte 1-3		Ringversuch IS1/11
Hersteller /Vertreiber	**Geraet**	**Chiffre**
Abbott	außer CD 3200 & CD 4000 & CD Ruby & CD Sapphire	80
Abbott	CD 3200 / CD Ruby	81
Abbott	CD 4000 / CD Sapphire	82
AL		20
Beckman Coulter	GEN.S, LH500, LH700-Serie	26
Beckman Coulter	VCS-Systeme (MAXM, STKS,HmX)	25
Beckman Coulter	AcT-Serie, MD-Serie, T-Serie	24
Beckman Coulter	Act-5-Diff	23
Beckman Coulter	Andere, other	27
Becton Dickinson		10
BioChem ImmunoSystems/Baker		40
Diatron	Abacus Junior (3 Diff)	36
Diatron	Abacus 5 (5 Diff)	37
Dilab		30
DURCHFLUSSZYTOMETER		83
Eschweiler		43
HemoCue		35
Hewlett Packard		44
Horiba ABX / Axon Lab	Micros 45 / 60 / ES 60	16
Horiba ABX / Axon Lab	Micros CRP	17
Horiba ABX / Axon Lab	Micros CRP 200	11
Horiba ABX / Axon Lab	Pentra 60 / 60C+	12
Horiba ABX / Axon Lab	Pentra 80 / XL80	13
Horiba ABX / Axon Lab	Pentra 120 / 120 Retic	14
Horiba ABX / Axon Lab	Pentra DX 120 / DF 120	15
IL		45
MIKROSKOP		91
Mikroskop / Färbung	Methylenblau	93
Mikroskop / Färbung	Brillant-Kresyl-Blau	94
Mikroskop / Färbung	anderes (bitte angeben, please notice)	95
MOELAB		55
Nova	Blutgasgeräte, blood gas instruments	46
Nova Biomedical	Hämatologische Geräte, hematological instruments	65
Ortho Clinical Diagn.		60
Photometer		90
Radiometer		47
Roche	Reflotron, Hämatologische Geräte, hematological instruments	28
Roche	AVL Blutgasgerät, AVL blood gas instruments	41
Roche	Cobas	48
Siemens Medical Solutions	Advia 120	75
Siemens Medical Solutions	Advia 60	76
Siemens Medical Solutions	Advia 2120	49
Siemens Medical Solutions	Technikon H-Serie	77
Siemens Medical Solutions	vormals Nihon Kohden	57
Siemens Medical Solutions	Andere, other	78
Siemens Medical Solutions	Blutgasgeräte, blood gas instruments	42
Swelab/Kone Instruments		85
Sysmex	pocH-100i	68
Sysmex	PL-100,PL-110,CC-108,CC-110,CC-120,CC-130,CC-150,CC-170,CC-180,F-300, F-500,F-520,F-800,F-820	69
Sysmex	M-2000, K-800,K-1000 ,K-4500,KX-21, KCP-1	70
Sysmex	SE-9000, SE-9500	72
Sysmex	SF-3000	73
Sysmex	XE-2100, XE-5000	74
Sysmex	XT-1800i, XT-2000i, XS-1000i, XS-800i	67
Sysmex	Andere, other	79
ZENTRIFUGE		92
Anderer Hersteller, other producer	Anderes Gerät, other instrument	99

Schlüssel 3	**Geräte der Immunophänotypisierung Analyte 4-9 + 15**	
Hersteller		Chiffre
Accuri Cytometers	C6 Flow Cytometer	1
Beckman Coulter	EPICS XL/MCL	2
	EPICS Altra	3
	EPICS Elite	4
	EPICS Profile	5
	Cytomics FC 500	6
	Cytomics FC 500 MPL	7
	CelLab Quanta SC	8
	CelLab Quanta MPL	9
	MoFlo ADP	10
	MoFlo XDP	11
	CyAn ADP 7 Color	12
	CyAn ADP 9 Color	13
	Anderes Gerät	14
Becton Dickinson	FACScan	15
	FACSCalibur	16
	FACSCanto	17
	FACSAria	18
	LSR	19
	FACSArray	20
	FACSVantage/DIVA	21
	FACStar	22
	Anderes Gerät	23
Bio-Rad	BRYTE HS	24
Ortho	Trio	25
	Spectrum III	26
	Cytofluorograph	27
Partec	CyFlow	28
Anderer Hersteller	Anderes Gerät	29

Schlüssel 4	**Antikörper der Immunophänotypisierung Analyte 4-9 + 15**	
Hersteller		Chiffre
Beckman Coulter	Coulter	42
	Immunotech	43
Becton Dickinson		44
BD-Pharmingen		45
Biermann / DPC		46
Biotest		47
Biozol		48
Boehringer Ingelheim (Serva)		49
Dade (auch Behring)		50
Dako		51
Dianova (auch Cym-bus)		52
Medac		53
Ortho		54
Sigma		55
Andere Hersteller polykl. Antokörper		99