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

Ringversuch für Immunophänotypisierung-Durchflusszytometrie IS1/18

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

Wissenschaftliche Beratung:
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, Frau Dr. A. Kessler

Versuchsanleitung

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

Termine

Versandtag:	Montag, 19.02.2018 (Eilzustellung)
Messung:	**Sofort nach Ankunft!**
Versuchszeitraum:	**Dienstag bis Donnerstag, 20. bis 22. Februar 2018 Eine Messung nach diesen Tagen ist wenig sinnvoll.**
Einsendeschluss:	22.02.2018

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.

Falls die Proben nicht in einwandfreiem Zustand beim Teilnehmer eintreffen, bitten wir um sofortige telefonische Reklamation mit Angabe der Teilnehmernummer und des Ringversuchs.

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.

Hinweis: Einzelne Teile des Ringversuchs-Programms (z. B. Verpackung, Datenübertragung, Probenvorbereitung/ -herstellung) können zeitweise im Unterauftrag vergeben werden. Im Falle einer Unterauftragsvergabe erfolgt diese an einen kompetenten Unterauftragnehmer. Das RfB ist für dessen Arbeit verantwortlich.

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

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

Beispiel:

$CD4^{+}/CD3^{+}$	= 45 %
$CD45^{+}$	= 99 % (1 % $CD45^{neg}$, z. B. Ery, Debris)
$CD45^{\text{schwach}}$	= 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. Tragen Sie bitte auch entsprechende Chiffren für die qualitative Bestimmung von HLA-B27 ein.

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. Michael Schmidt
Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen
Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin
32545 Bad Oeynhausen, Georgstraße 11
Tel. 05731/973842

Schlüssel 1	**Methodenschlüssel für die Hämatologie Analyte 1-3**	**IS1/18**
Analyt	Methode	Chiffre
1 Leukozytenzahl	Impedanzmessung (Hämatologie-Automat) / Widerstandsmessmethode	1
	Optoelektronische Zählung (Hämatologie Automat) / Durchflusszytometrie	2
	Beadsvergleich am Durchflusszytometer	3
	Andere Methode / Photometrie	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

Reagenzien und Geräteschlüssel / Reagent and instrument key		Ringversuch / survey IS181
Hersteller / manufacturer		**Gerätetyp / device Chiffre**
Abbott	CD Emerald	**84**
	CD 3200 / CD Ruby	**81**
	CD 4000 / CD Sapphire	**82**
	Andere, others 80	**80**
Abbott i-STAT		**44**
AL		**20**
Beckman Coulter	DxH	**22**
	Aquios	**32**
	GEN.S, LH500, LH700-Serie	**26**
	VCS-Systeme (MAXM, STKS,HmX)	**25**
	AcT-Serie, MD-Serie, T-Serie	**24**
	Act-5-Diff	**23**
	Andere, other	**27**
Becton Dickinson		**10**
BioChem ImmunoSystems/Baker		**40**
DiaSpect Medical GmbH	DiaSpect Hemoglobin T / Fresenius CompoLab TS	**34**
Diatron	Abacus Junior (3 Diff)	**36**
	Abacus 5 (5 Diff)	**37**
Dilab		**30**
DURCHFLUSSZYTOMETER		**83**
Eschweiler		**43**
Fresenius Medical Care	Ionometer	**21**
HemoCue		**35**
Horiba ABX / Axon Lab	Micros 45 / 60 / ES 60	**16**
	Micros CRP	**17**
	Micros CRP 200	**11**
	Microsemi CRP	**12**
	Pentra 60 / 60C+ / 80 / XL80 / XLR	**13**
	Pentra 120 / 120 Retic	**14**
	Pentra DX 120 / DF 120	**15**
	Yumizen H500	**18**
Melet Schloesing Laboratoires	MS4s, MS4se	**5**
MIKROSKOP		**91**
Mikroskop / Färbung	Methylenblau	**93**
	Brillant-Kresyl-Blau	**94**
	anderes (bitte angeben, please notice)	**95**
MOELAB		**55**
Nova	Blutgasgeräte, blood gas instruments	**46**
Nova Biomedical	Hämatologische Geräte, hematological instruments	**65**
Orphee	Mythic 18, Mythic 22	**86**
Ortho Clinical Diagn.		**60**
Photometer		**90**
Radiometer	ABL 5xx / 6xx / 7xx / 8xx	**50**
	NPT7	**51**
	ABL 80 / ABL 90	**52**
	OSM 2 / 3	**53**
	Andere, other	**47**
Roche	Reflotron, Hämatologische Geräte, hematological instruments	**28**
	AVL Blutgasgerät, AVL blood gas instruments	**41**
	Cobas	**48**
Samsung	HC10	**29**
Siemens Healthcare Diagnostics	Advia 120 / 2120 / 2120i	**75**
	Adiva 560	**77**
	Advia 360	**76**
	vormals Nihon Kohden	**57**
	Andere, other	**78**
	Blutgasgeräte, blood gas instruments	**42**
Swelab/Kone Instruments		**85**
Sysmex	XS-Serie	**66**
	XN-Serie: XN-1000, XN-2000, XN-3000, XN-9000	**64**
	XN-L-Serie: XN-350, XN-450, XN-550	**63**
	pocH-100i	**68**
	K-1000 ,K-4500, KX-21,KX-21N, XP-300	**70**
	SE-9000, SE-9500	**72**
	SF-3000	**73**
	XE-Serie	**74**
	XT-Serie	**67**
	Andere, other	**79**
Werfen (ehem. IL)		**45**
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	Aquios	2
	EPICS XL/MCL	3
	EPICS Altra	4
	EPICS Elite	5
	EPICS Profile	6
	Cytomics FC 500	7
	Cytomics FC 500 MPL	8
	CelLab Quanta SC	9
	CelLab Quanta MPL	10
	MoFlo ADP	11
	MoFlo XDP	12
	CyAn ADP 7 Color	13
	CyAn ADP 9 Color	14
	Gallios / Navios	15
	Anderes Gerät	16
Becton Dickinson	FACScan	17
	FACSCalibur	18
	FACSCanto	19
	FACSAria	20
	LSR	21
	FACSArray	22
	FACSVantage/DIVA	23
	FACStar	24
	Anderes Gerät	25
Bio-Rad	BRYTE HS	26
Ortho	Trio	27
	Spectrum III	28
	Cytofluorograph	29
Partec	CyFlow	30
Anderer Hersteller	Anderes Gerät	31

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 Cymbus)		52
Medac		53
Ortho		54
Sigma		55
Andere Hersteller polykl. Antokörper		99