

» Qualitätskontrolle der Hämolyserate von Erythrozytenkonzentraten: Ringversuch zur Bestimmung von freiem Hämoglobin

Schlüsselwörter: Freies Hämoglobin – Qualitätskontrolle – Ringversuch – Hämolysere – Erythrozytenkonzentrate

Key words: Free hemoglobin – Quality control – Proficiency test – Hemolysis – Red blood cell concentrates

Einleitung

Arzneimittelherstellende Betriebe für humane Blutprodukte sind verpflichtet, die von ihnen hergestellten Produkte einer kontinuierlichen Qualitätskontrolle zu unterziehen. Einen Parameter der Qualitätskontrolle von Erythrozytenkonzentraten stellt das freie Hämoglobin dar, welches der Berechnung der Hämolyserate dient. Die Hämolyserate am Ende der Laufzeit eines Erythrozytenkonzentrates darf 0,8% der Erythrozytenmasse nicht überschreiten [4]. Dieses entspricht, je nach Hämatokrit, einer freien Hämoglobinkonzentration von ca. 400 mg/dl.

Zur Ermittlung des freien Hämoglobins in Erythrozytenkonzentraten sind in den einzelnen Qualitätskontrolllabors unterschiedliche Analysemethoden im Einsatz. Eine, über den Sollwert hinausgehende Empfehlung zur Bestimmungsmethode existiert nicht. Externe Richtigkeitskontrollen, z. B. in Form von externen Ringversuchen, sind nicht vorgeschrieben.

Die Autoren führten zwei Ringversuche zur Bestimmung des freien Hämoglobins durch. In beiden Versuchen wurden den Teilnehmern drei Proben (a, b, c) mit definierten Konzentrationen freien Hämoglobins zur Analyse übersandt. Die Einsendung der Ergebnisse erfolgte in anonymisierter Form.

Methodik

Pilotversuch

Dieser Vorversuch galt der Orientierung über die im Einsatz befindlichen Testmethoden und der Ermittlung des Interesses der Einrichtungen für Transfusionsmedizin an einer externen Überprüfung ihrer Routinemethode.

K. Tapernon¹, R. Zander², D. Niehoff¹, W. Sibrowski¹

¹ Institut für Transfusionsmedizin und Transplantationsimmunologie, Universität Münster

² Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Universität Mainz

15 Institute für Transfusionsmedizin wurden angeschrieben und 9 Qualitätskontrolllabors sandten ihre Ergebnisse in anonymisierter Form ein (s.u.). Die Ergebnisse wurden auf dem VII. Interdisziplinären CPA – Symposium vorgestellt, verbunden mit der Bitte um Teilnahme am geplanten zweiten bundesweiten Ringversuch

Zweiter bundesweiter Ringversuch

130 mit der Herstellung von Erythrozytenkonzentraten befasste Institute wurden um Teilnahme gebeten. Angeschrieben wurden universitäre Einrichtungen, Kliniken mit transfusionsmedizinischer Abteilung, Blutspendedienste des DRK bzw. BRK, kommunale Blutspendedienste und private Einrichtungen. 74 Institute erklärten sich bereit teilzunehmen und 73 Einrichtungen sandten ihre Ergebnisse (z. T. Doppelbestimmungen mit unterschiedlichen Methoden) ein. 74 eingesandte Ergebnisse konnten in die Auswertung einfließen.

Neben den zu analysierenden Ringversuchsproben mit definierten Konzentrationen an freiem Hämoglobin, Probe a ($70 \pm 0,9$ mg/dl), Probe b ($189 \pm 1,0$ mg/dl) und Probe c ($329 \pm 2,4$ mg/dl) wurden die Teilnehmer in einem begleitenden Fragebogen um eine genaue Methodenbeschreibung und die Selbsteinschätzung, der von ihnen angewandten Bestimmungsmethode gebeten.

Herstellung der Kontrollproben für den Ringversuch und Bestimmung der Sollwerte mittels gravimetrischem Cyanhämitoglobinverfahren

Verdünnung eines Erythrozytenkonzentrates mit Aqua dest. auf die gewünschten drei Konzentrationen in 500 ml Glasmesskolben. Nach 20 min. Überführen in 50 ml Falconzentrifugenröhrchen. Anschließend zur Beseitigung von Zelltrümmern 10 min. Zentrifugation bei 4000 U/min. Entnahme des Überstandes in 10 bzw. 20 ml Einmalspritzen unter steriler Werkbank.

Sterilfiltration mit 0,2 µm Sterilfilter der Fa. Schleicher & Schleicher FP 03013 unter der sterilen Werkbank in autoklavierte Glasschraubflaschen. Abfüllen von je 2 ml Lösung der verschiedenen Konzentrationen mit steriler 2,0 ml Kunststoffpipette in autoklavierte Eppendorfgefäße (Safe lock 2,0 ml). Lagerung über mehrere Wochen bei 4 °C unter Kontrolle der Konzentration freien Hämoglobins.

Sollwertermittlung (HiCN): Zur gravimetrischen Bestimmung der Verdünnung erfolgt die Einwaage (Analysewaage Mettler

H51 AR) von Kontrollprobe und Reagenz (Testkombination Hb Roche MPR 3124729).

Lösung a: Verd.: 1 : 3 (4 ml Lösung + 8 ml Reagenz)

Lösung b: Verd.: 1 : 3 (4 ml Lösung + 8 ml Reagenz)

Lösung c: Verd.: 1 : 3,5 (4 ml Lösung + 10 ml Reagenz).

Die ermittelten Gewichte werden mit der Dichte von Wasser (0,9970 g/ml) für die Hämoglobininlösung bzw. das Reagenz (0,9982 g/ml) in Volumina umgerechnet und daraus die einzelnen Verdünnungen berechnet.

Zweiwellenlängenphotometrie (540 und 680 nm) am Spektralphotometer Zeiss PM6 in Durchflussküvette der Probe gegen den Leerwert. Kontrolle des Photometers mit Cyanhämglobin-Standardlösungen.

Berechnung: cfHb (mg/dl) = $(E_{540} - E_{680}) \times 146,5 \times \text{Verdünnung}$

Kontrolle der Konzentration freien Hämoglobins: Wöchentliche Kontrolle mittels einfachem Cyanhämglobin-Verfahren [2]. 1 : 5 Verdünnung der Probe (500 µl Probe + 2000 µl Reagenz). Photometrische Zweiwellenlängenmethode in Makro-Einmalküvetten bei 540 und 680 nm (Trübung) gegen Reagenzienleerwert.

Berechnung: cfHb (mg/dl) = $(E_{540} - E_{680}) \times 732,5$

Ableitung des Berechnungsfaktors

Hämoglobin hat ein Molekulargewicht (MG) von 64458 und ein Äquivalenzgewicht von 16114 bezogen auf Eisen. Der Extinktionskoeffizient des Hämoglobins (44,0) wird in der Regel, bezogen auf ein Viertelmolekül Hämoglobin (auf der Grundlage eines Methämoglobincyanidstandards), mit 11,0 l/mol/cm bei 540 nm angegeben [3].

Eine Extinktion von 1,0 entspricht somit laut Rick [14] einer Konzentration von 64,5/44,0 mg Hämoglobin pro ml. Bezogen auf ein Viertelmolekül Hämoglobin mit dem Extinktionskoeffizienten von 11,0 bedeutet dieses 16,11/ 11,0 mg Hämoglobin pro ml. Unter Berücksichtigung der Verdünnung von 1 : 251 bei der Hämoglobinbestimmung im Vollblut mit dem Cyanhämglobinverfahren ergibt sich hieraus:

$1,6114 \times 251/11,0 = 36,77$ (g/dl), woraus folgt:
cHb (g/dl) = $E_{540} \times 36,77$

Im hier eingesetzten Cyanhämglobinverfahren zur Bestimmung des freien Hämoglobins erfolgt lediglich eine 5-fache Verdünnung und somit gilt: $36,77 \text{ g/dl} \times 5/251 = 0,7325 \text{ g/dl}$, entsprechend 732,5 mg/dl.

Leichte Abweichungen des Berechnungsfaktors in der Literatur beruhen auf unterschiedlichen Annahmen für das Molekulargewicht von Hämoglobin. So gingen van Kampen und Zijlstra [17] 1961 noch von einem Molekulargewicht des Hämoglobins von 16,520 und einem sich daraus ergebenden Berechnungsfaktor von 37,7 für die Bestimmung im Vollblut aus. Entsprechend den oben ausgeführten Angaben zum Berechnungsfaktor erfolgte in der Testvorschrift für die Durchführung des einfachen Cyanhämglobinverfahrens eine Modifikation des

Berechnungsfaktors von 746 [6] vom ersten auf 732,5 zum zweiten Ringversuch.

Ergebnisse

Pilotversuch

Die Ergebnisse des Pilotversuches sind in Tab. 1 zusammengefasst. Die Mittelwerte und Standardabweichung der Teilnehmerergebnisse betragen für Probe a (Soll 176 mg/dl): 171 ± 48 mg/dl, Probe b (Soll 263 mg/dl): 254 ± 70 mg/dl und Probe c (Soll 354 mg/dl): 344 ± 103 mg/dl. Einzelne Teilnehmerergebnisse lagen 241 mg/dl unterhalb bzw. 136 mg/dl oberhalb des zu analysierenden Sollwertes. Die besten Resultate erzielten Labor 4, 5 und 6 mittels Einsatz einer 3-Wellenlängenmethode nach Harboe (siehe unten) bzw. einer modifizierten Methode nach Harboe. Das Cyanhämglobinverfahren wurde von keinem Teilnehmer eingesetzt. Diese Ergebnisse veranlassten die Autoren zur Durchführung des zweiten Ringversuches.

Tab. 1 Ergebnisse erster Pilotversuch (n = 9)

Konzentration freies Hämoglobin	Probe a (mg/dl)	Probe b (mg/dl)	Probe c (mg/dl)
Sollwert Kontrollproben	176	263	354
Standardabweichung Kontrollproben	± 3	± 4	± 4
Methoden der Teilnehmer (Labor 1-9)			
Pseudoperoxidasemethode (1)	54	93	113
3-Wellenlängenmethode nach Harboe (2)	170	252	315
Immunnephelometrie (3)	167	219	316
3-Wellenlängenmethode nach Harboe (4)	173	260	335
3-Wellenlängenmethode nach Harboe (5)	185	264	354
Modifizierte 3-Wellenlängenmethode nach Harboe (6)	176	259	359
Pseudoperoxidasemethode (7)	189	300	401
Mittelwert zweier Methoden (8)	202	297	416
Mittelwert zweier Methoden (9)	225	345	490
Mittelwert der Teilnehmerergebnisse	171	254	344
Standardabweichung Teilnehmer	± 48	± 70	± 103
Median	176	260	354

Zweiter bundesweiter Ringversuch

Teilnehmer und Methoden

Zu den 73 Teilnehmern (siehe Abb. 1) des zweiten bundesweiten Ringversuches zählten:

17 Universitätskliniken, 26 DRK-Institute, 2 BRK-Institute, 21 kommunale Blutspendedienste und 7 sonstige Institute. Unter die Kategorie der „sonstigen Institute“ fielen: 4 Krankenhauslabore, 2 private Spendebetriebe und 1 Blutspendedienst der Bundeswehr. Einzelergebnisse aus unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung des freien Hämoglobins wurden gewertet. Teilnehmer, die Mittelwertangaben aus unterschiedlichen Methoden einreichten, konnten nicht in die Auswertung ein-

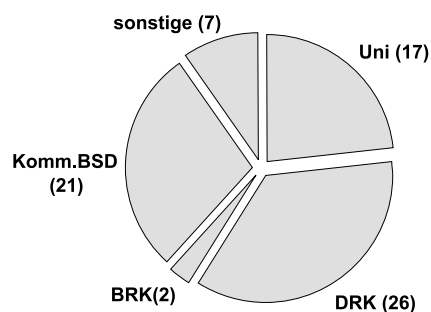


Abb. 1 Teilnehmer zweiter bundesweiter Ringversuch (n = 73). Uni = Universitätsklinik, DRK = Deutsches Rotes Kreuz, BRK = Bayerisches Rotes Kreuz, Komm. BSD = kommunaler Blutspendedienst, sonstige = sonstige Einrichtungen (siehe oben).

bezogen werden. Doppelbestimmungen mit unterschiedlichen Methoden wurden als Einzelergebnisse gewertet. Hieraus ergab sich die Summe n = 74 für die Teilnehmermethoden (Abb. 2).

62 Teilnehmer führten die Konzentrationsermittlungen der Ringversuchkontrollproben im eigenen Labor durch und 12 Institute ließen die Kontrollproben in einem externen Labor analysieren (1 Institut des DRK, 3 kommunale Blutspendedienste und 8 Universitätskliniken).

Abb. 2 zeigt die Methoden der Teilnehmer: 26 Institute setzten die 3-Wellen-Längenmethode nach Harboe [2, 10, 13, 16] ein, 21 Institute wählten das Cyanhämglobinverfahren [14, 17], 4 Einrichtungen wählten eine Bestimmung mittels Immunnephelometrie [7, 12, 18], 10 Analysen erfolgten mit Hilfe des Pseudoperoxidaseverfahrens [1, 5, 11, 15], 2 Teilnehmer wählten eine Methode nach Kahn [7, 8], 4 Teilnehmer die Methode nach Golf [9] an einem aca[®]-Analysator und 7 Einrichtungen wählten eine sonstige Methode. Zu den sonstigen Methoden zählten u. a.: Bestimmungen an Blutbildautomaten, modifizierte photometrische Methoden, weitere Eigenmodifikation und nicht zu spezifizierende Methoden.

Ergebnisse zweiter Ringversuch

Teilnehmerergebnisse (n = 74) für Probe a (Sollwert 70 mg/dl) nach Methoden

Die Beurteilung der Mittelwerte und Standardabweichungen sollte in allen Konzentrationsbereichen im Zusammenhang mit der Häufigkeit der zum Einsatz kommenden Bestimmungsmethode (Abb. 2) differenziert erfolgen.

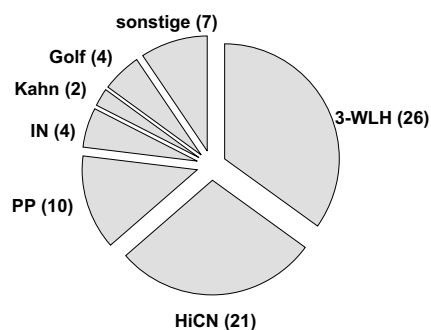


Abb. 2 Methoden der Teilnehmer am zweiten Ringversuch (n = 74) PP = Pseudoperoxidase-Methode, IN = Immunnephelometrie, 3 WLH = 3-Wellenlängenmethode nach Harboe, HiCN = Cyanhämglobinmethode Kahn = Methode nach Kahn, Golf = Methode nach Golf, sonstige = sonstige Methoden

Die in Abb. 3 dargestellten Mittelwertergebnisse für die Probe a (cfHb: 70 mg/dl) zeigten lediglich leicht um den Sollwert schwankende Ergebnisse für die häufig eingesetzten Analysemethoden (3-WLH, HiCN, PP).

Mit 80 mg/dl lag die immunnephelometrische Bestimmungsmethode 10 mg/dl oberhalb des Sollwertes. Diese Tendenz war auch in den Ergebnissen für Probe b und c anzutreffen.

Größere negative Abweichungen des Mittelwertes mit 56 mg/dl ergaben sich für die Teilnehmer unter Einsatz der Methode nach Golf. Ferner zeigten sich hier große Standardabweichungen, ebenso wie bei den Teilnehmern aus der Kategorie der „sonstigen Methoden“.

Der niedrigste eingesandte Wert für Probe a stammte von einem Teilnehmer aus der Methodengruppe 3-Wellenlängenmethode nach Harboe und betrug 12 mg/dl. Der höchste Analysewert eines Teilnehmers lag mit 137 mg/dl – ermittelt an einem CD-4000 der Fa. Abbott – 67 mg/dl oberhalb des Sollwertes.

Teilnehmerergebnisse (n = 74) für Probe b (Sollwert: 189 mg/dl) nach Methoden

Mit steigender Konzentration der Ringversuchkontrollproben (Probe b: cfHb: 189 mg/dl) vergrößern sich auch die Abweichungen der Teilnehmeranalysen vom Sollwert (Abb. 4).

Wiederum nah am Sollwert liegende Mittelwerte (188 und 186 mg/dl) und Standardabweichungen in den Teilnehmergruppen: 3-Wellenlängenmethode nach Harboe und Cyanhämglobinverfahren.

Die höchsten Abweichungen des Mittelwertes in den positiven Bereich ergaben sich für die Pseudoperoxidase-methode (202 mg/dl) und die Immunnephelometrie (233 mg/dl). Bei diesen beiden Methoden sind auch die höchsten Maximalwerte (266 und 265 mg/dl) anzutreffen, was einer positiven Abweichung von 77 mg/dl entspricht. Die niedrigsten Minimalwerte entstammten Teilnehmerergebnissen der Methode nach Golf (87 mg/dl) und einer „sonstigen Methode“ (81 mg/dl), laut Teilnehmer durchgeführt an einem Hitachi 717 – Gerät der Fa. Boehringer. Somit wurden von einzelnen Teilnehmern Analysewerte eingesandt, die mehr als 100 mg/dl unterhalb der Konzentration des freien Hämoglobins in der Kontrollprobe lagen.

Teilnehmerergebnisse (n = 74) für Probe c (Sollwert: 329 mg/dl) nach Methoden

Auch für die Probe c (cfHb: 329 mg/dl) zeigten sich die besten Ergebnisse hinsichtlich Mittelwert und Standardabweichung (Abb. 5) in den Teilnehmergruppen: 3-Wellenlängenmethode nach Harboe und Cyanhämglobinverfahren.

Erneut größte positive Abweichung des Mittelwertes für die immunnephelometrischen Bestimmungsverfahren (372 mg/dl) und das Pseudoperoxidaseverfahren (345 mg/dl). Höchster Maximalwert bei einem Teilnehmer mit Pseudoperoxidaseverfahren (494 mg/dl). Pseudoperoxidaseverfahren und die Methoden nach Kahn und Golf erzielten in der Ergebnisauswertung die höchsten Werte für die Standardabweichungen.

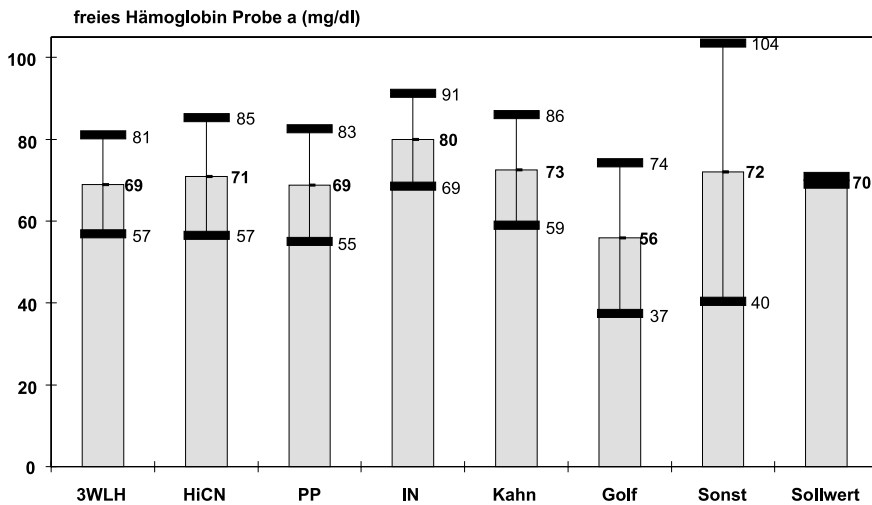


Abb. 3 Mittelwert und Standardabweichung der Teilnehmer für Probe a nach Methoden 3 WLH = 3-Wellenlängenmethode nach Harboe, HiCN = Cyanhämglobinmethode, PP = Pseudoperoxidase-Methode, IN = Immunnephelometrie, Kahn = Methode nach Kahn, Golf = Methode nach Golf, Sonst. = sonstige Methoden, Sollwert = Sollwert der Ringversuchsprobe a

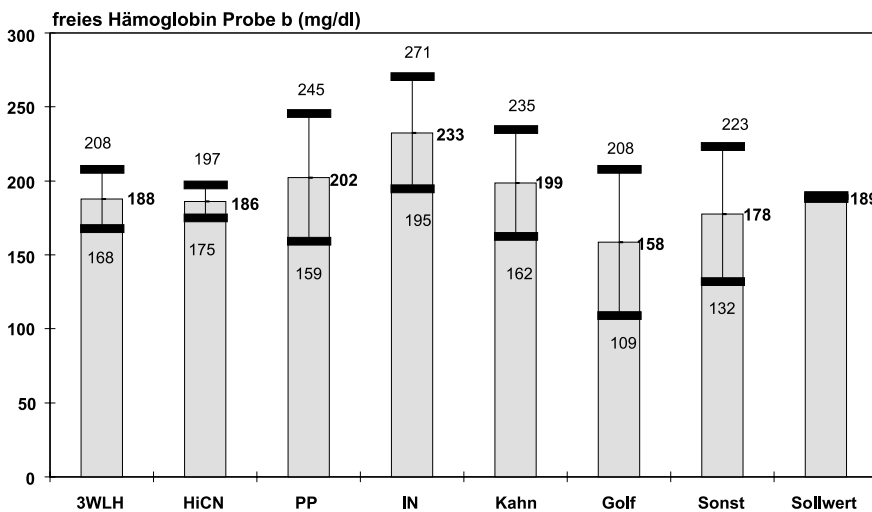


Abb. 4 Mittelwert und Standardabweichung der Teilnehmer für Probe b nach Methoden 3 WLH = 3-Wellenlängenmethode nach Harboe, HiCN = Cyanhämglobinmethode, PP = Pseudoperoxidase-Methode, IN = Immunnephelometrie, Kahn = Methode nach Kahn, Golf = Methode nach Golf, Sonst. = sonstige Methoden, Sollwert = Sollwert der Ringversuchskontrollprobe b

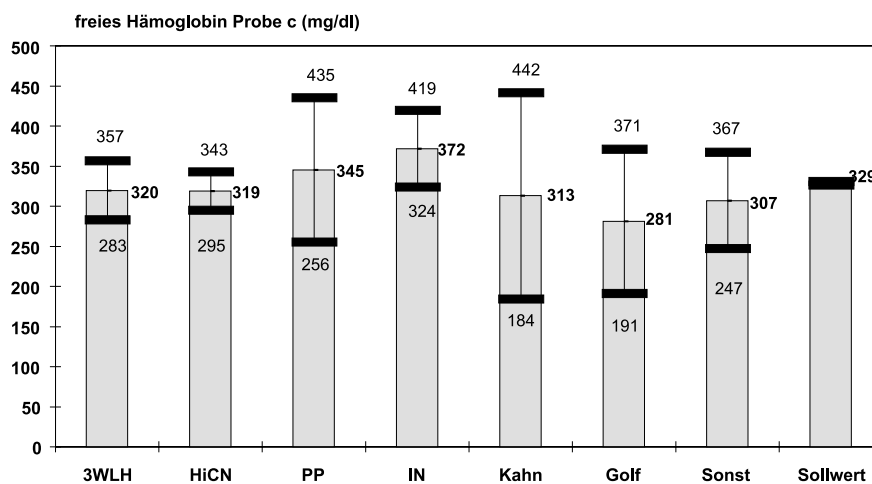


Abb. 5 Mittelwert und Standardabweichung der Teilnehmer für Probe c nach Methoden 3 WLH = 3-Wellenlängenmethode nach Harboe, HiCN = Cyanhämglobinmethode, PP = Pseudoperoxidase-Methode, IN = Immunnephelometrie, Kahn = Methode nach Kahn, Golf = Methode nach Golf, Sonst. = sonstige Methoden, Sollwert = Sollwert der Ringversuchskontrollprobe c

Niedrigster Minimalwert von einem Teilnehmer, der die Methode nach Golf einsetzte (151 mg/dl) und mit diesem Ergebnis 177 mg/dl unterhalb der zu ermittelnden Konzentration der Ringversuchskontrollprobe blieb.

Bewertung

Bei Überschreitung der üblichen diagnostischen Konzentrationsbereiche freien Hämoglobins, hin zu den für die Qualitätskontrolle von Erythrozytenkonzentraten relevanten Konzentrationen, zeigen sich die Grenzen der gewählten Untersuchungsmethoden.

Tab. 2 veranschaulicht, welche Methoden den zu ermittelnden Sollwert $\pm 5\%$ erreichten. Hier ist, ebenso wie bei den Angaben zum Mittelwert, die Größe der Teilnehmergruppe für die einzelne Methode zu berücksichtigen.

Die zur Analyse der freien Hämoglobinkonzentration verfügbaren Methoden sind ausgerichtet auf die Bestimmung von Patientenblutproben z.B. im Rahmen der Diagnostik einer hämolytischen Anämie. Diesem Kriterium sind auch die zur Verfügung stehenden Richtigkeitskontrollen zur Überprüfung der Testmethoden unterworfen.

Somit findet sich im niedrigen „diagnostischen“ Konzentrationsbereich der Probe a die größte Anzahl an Teilnehmern mit guten Ergebnissen (siehe Abb. 3 und Tab. 2). Wesentlich für die Genauigkeit aller Methoden erscheint die Beachtung und Überprüfung des Linearitätsbereiches und die ggf. konzentrationsabhängige Verdünnung der Proben (Daten nicht gezeigt), was in besonderem Maße für die immunnephelometrische Methode zu gelten scheint, die in allen drei Konzentrationsbereichen zu hohe Median- und Mittelwerte erzielte, und für die Pseudoperoxidasemethode, die sich, bei Einsatz des gängigen Analysesets der Fa. Sigma diagnostics®, unverdünnt lediglich bis zu 50 mg/dl linear verhält.

Ferner sollte beachtet werden, dass die eingesetzte Methode mit dem hier zum Einsatz kommenden speziellen Probenmaterial „Erythrozytenkonzentrat“ vereinbar ist, d. h. die Testanordnung muss z. B. mit Zitratblut durchführbar sein.

Dieser Teilaspekt könnte die z. T. ungünstigen Ergebnisse der Pseudoperoxidasemethode (Tab. 2, Abb. 3 – 5) und die zum Teil erheblichen Abweichungen einzelner Teilnehmeranalysen erklären.

Die 3-Wellenlängenmethode nach Harboe und das Cyanhämoglobinverfahren zeigten die besten Resultate aller eingesetzten Methoden in allen Konzentrationsbereichen. 47 der 73 Ringversuchsteilnehmer setzten eine dieser beiden Methoden zur Analyse ein.

Die guten Ergebnisse dieser beiden Analyseverfahren trafen für die Median- bzw. Mittelwerte und Standardabweichung in gleichem Maße zu. Auch das in Tab. 2 gewählte „Kriterium Sollwert $\pm 5\%$ “ wurde von diesen Methoden am besten erfüllt. Wäre das strenge Kriterium Sollwert ± 2 -fache Standardabweichung der Ringversuchskontrollprobe gewählt worden, wären die Ergebnisse noch deutlicher zugunsten dieser beiden Methoden ausgefallen.

Die in Tab. 2 vermeintlich besseren Ergebnisse der 3-Wellenlängenmethode nach Harboe werden durch die große Homogenität der Labors mit gutem Ergebnis mittels Cyanhämoglobinverfahren relativiert. 13 Labore, die das HiCN- Verfahren einsetzten, ermittelten korrekte Ergebnisse für alle drei Konzentrationen.

Bei der Bewertung der Methode nach Kahn, nach Golf und den „sonstigen Methoden“ fallen häufig stark vom Sollwert abweichende Einzelergebnisse auf. Auch wurde das Kriterium der Tab. 2 unzureichend erfüllt. Ferner wies die Methode nach Golf in allen drei Konzentrationsbereichen zu niedrige Mittelwerte auf.

Insbesondere für diese Teilnehmergruppen wären Kontrollproben zur Überprüfung der eingesetzten Methode unerlässlich:

Laut Fragebogen führen 44% der Teilnehmer „routinemäßig“ weder eine Richtigkeitskontrollprobe, noch eine Präzisionskontrollprobe in ihren Versuchsansätzen mit (Abb. 6).

Die 56% der Teilnehmer, die Kontrollen mitführten, setzten entweder selbst hergestellte Präzisionskontrollproben, kommerziell erworbene Richtigkeitskontrollproben oder Cyanhämoglobinstandardlösungen ein, die nur der Erstellung von Kalibrationskurven zur Überprüfung des eingesetzten Photometers dienen.

Die selbst hergestellten Präzisionskontrollen der Teilnehmer lagen zwar häufig in den für die Qualitätskontrolle von Erythrozytenkonzentraten erforderlichen Konzentrationsbereichen, allerdings ist der Ausschluss eines systematischen Fehlers auf diese Weise nicht möglich.

Methode der Teilnehmer	Anzahl	Probe a	Probe b	Probe c
3-Wellenlängenmethode nach Harboe	26	21 (81%)	22 (85%)	18 (69%)
Cyanhämoglobinverfahren	21	13 (62%)	13 (62%)	15 (71%)
Pseudoperoxidasemethode	10	2 (20%)	1 (10%)	1 (10%)
Immunephelometrie	4	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)
Methode nach Kahn	2	0	0	0
Methode nach Golf	4	2 (50%)	2 (50%)	2 (50%)
Sonstige Methoden	7	4 (57%)	1 (14%)	0
Summe	74	44	40	37

Tab. 2 Kriterium: Sollwert $\pm 5\%$ erreicht

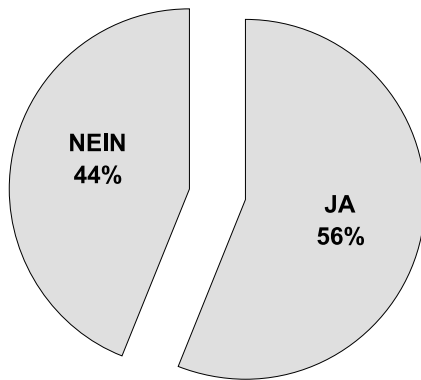


Abb. 6 Einsatz von Richtigkeits- und/oder Präzisionskontrollproben. Angaben der Teilnehmer in Prozent.

Die Konzentrationswerte an freiem Hämoglobin in kommerziell zu erwerbenden Richtigkeitskontrollproben liegen, soweit den Autoren bekannt, deutlich unterhalb der für die Haltbarkeitsüberprüfung von Erythrozytenkonzentraten erforderlichen Bereiche, da sie sich eher an den diagnostischen Werten von unter 100 mg/dl orientieren (siehe oben).

Schlussfolgerungen

Hersteller von Erythrozytenkonzentraten sind im Rahmen der Zulassung dieses Arzneimittels, ebenso wie bei der Routinequalitätskontrolle der laufenden Produktion, verpflichtet, die Konzentration freien Hämoglobins bzw. die Hämolyserate zu ermitteln.

Eine Empfehlung über die einzusetzende Analysemethode und eine Verpflichtung zur externen Richtigkeitskontrolle bestehen nicht.

Richtigkeitskontrollen, die den zu ermittelnden Konzentrationsbereichen freien Hämoglobins in Erythrozytenkonzentraten und Spezialzubereitungen entsprechen, sind nicht zu erwerben. Die von einigen Teilnehmern des bundesweiten Ringversuches selbst hergestellten Präzisionskontrollen erlauben keinen Ausschluss eines systematischen Fehlers. Insgesamt wurden lediglich von 56% der Teilnehmer (geeignete und ungeeignete) Kontrollen mitgeführt.

Von den Teilnehmern des bundesweiten und anonymen Ringversuches wurden unterschiedliche Analysemethoden eingesetzt, die sich durch erhebliche Qualitätsunterschiede auszeichneten. Insgesamt lieferten die Analysemethoden 3-Wellenlänge nach Harboe und Cyanhämglobinverfahren die besten Ergebnisse. Ein Vergleich der Qualität von Erythrozytenkonzentraten hinsichtlich der Konzentration freien Hämoglobins erscheint nur unter Berücksichtigung der eingesetzten Analysemethode zulässig.

Literatur

- ¹ Bauer K. Determination of free haemoglobin in serum by automated assay, using 4-Aminophenazon and the cobas bio system. *J Clin Chem Clin Biochem* 1981; 19: 971–976
- ² Bednar R, Bayer PM. Freies Hämoglobin im Plasma – Vergleich zweier spektralphotometrischer Methoden. *Lab Med* 1994; 18: 196–199
- ³ Bundschuh G, Schneeweiss B, Bräuner H. *Biotest Lexikon der Immunologie* (2. Aufl.). Akademie, Berlin 1992: 343
- ⁴ Council of Europe Publishing. *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components*. 5th edition 1999: 84
- ⁵ Crosby WH, Furth FW. A modification of the benzidine method for measurement of hemoglobin in plasma and urine. *Blood* 1956; 11: 380–383
- ⁶ Engelhardt A. *Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik* (2. Aufl.). Schattauer, Stuttgart 1974: 128
- ⁷ Engler R, Pointis J, Rondeau Y, Judon C, Waks M. Determination immunochimique de l'hémoglobine humaine dans les liquides biologiques. *Clin Chim Acta* 1979; 77: 159–165
- ⁸ Fairbanks VF, Ziesmer SC, O'Brien PC. Methods for measuring plasma hemoglobin in micromolar concentration compared. *Clin Chem* 1992; 38: 132–140
- ⁹ Golf SW, Schneider S, Friemann E, Temme H, Roka L. Correction of catalytic activities of aspartate aminotransferase, lactat dehydrogenase, acid phosphatase and potassium concentration in haemolytic plasma by determination of haemoglobin concentration with direct spectrophotometry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 585
- ¹⁰ Harboe M. A method for determination of hemoglobin in plasma by near ultraviolet spectrophotometry. *Scand Clin Lab Invest* 1959; 11: 60–70
- ¹¹ Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. *Clinical chemistry, principles and technics* (2nd ed.). Harper and Row, New York 1974: 1139–1140
- ¹² Lammers M, Gressner AM. Immunnephelometrische Quantifikation von freiem Hämoglobin. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 363–367
- ¹³ Noe DA, Weedn V, Bell WR. Direct spectrometry of serum hemoglobin: An Allen correction compared with three-wavelength polychromatic analysis. *Clin Chem* 1985; 30: 627–630
- ¹⁴ Rick W. *Klinische Chemie und Mikroskopie* (6. Aufl.). Springer, Berlin 1990: 67–68
- ¹⁵ Standefer JC, Vanderjagt D. Use of tetramethylbenzidine in plasma hemoglobin assay. *Clin Chem* 1977; 23: 749–751
- ¹⁶ Tietz NW. *Fundamentals of clinical chemistry* (3rd. ed.). WB Saunders, Philadelphia 1987: 804–805
- ¹⁷ Van Kampen EJ, Zijlstra WG. Standardization of hemoglobinometry, the hemiglobincyanid method. *Clin Chim Acta* 1961; 6: 538–544
- ¹⁸ Virella G, Munoz J. Rapid immunochemical determination of free hemoglobin in plasma and urine with a laser nephelometer. *Clin Chem* 1979; 25: 497–498

Dr. med. Karin Tapernon

Institut für Transfusionsmedizin
und Transplantationsimmunologie
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Domagkstraße 11
48149 Münster

E-mail: tapernon@uni-muenster.de