

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik,
Innere Medizin der Kleintiere und klinische Laboratoriumsdiagnostik,
und der Klinik für Wiederkäuer und Schweine
(Innere Medizin und Chirurgie),
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Hämatologiesystem ADVIA 120, Softwareadaptation und Evaluation bei den Tierarten Schaf und Ziege

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Marion Püsch

Gießen 2002

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik,
Innere Medizin der Kleintiere und klinische Laboratoriumsdiagnostik,
und der Klinik für Wiederkäuer und Schweine
(Innere Medizin und Chirurgie),
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: H Doz. Dr. A. Moritz, Prof. Dr. K. Doll

Hämatologiesystem ADVIA 120, Softwareadaptation und Evaluation bei den Tierarten Schaf und Ziege

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Marion Püsch
Tierärztin aus Ettinghausen

Gießen 2002

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: H Doz. Dr. A. Moritz, Prof. Dr. K. Doll

2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Schimke

Tag der mündlichen Prüfung: 15.05.2002

Thanks to

David Gahan, Martin Gore

Andrew Fletcher, Alan Wilder, Vince Clarke

Inhaltsverzeichnis:

	Abkürzungsverzeichnis	V
I.	Einleitung	1
II.	Schrifttum	3
2.1.	Rotes Blutbild	3
2.1.1.	Erythrozyten	4
2.1.1.1.	Manuelle Bestimmung der Erythrozytenzahl	10
2.1.2.	Hämatokritwert	11
2.1.2.1.	Manuelle Bestimmung des Hämatokritwertes	11
2.1.3.	Hämoglobin	13
2.1.3.1.	Manuelle Bestimmung des Hämoglobingehaltes	13
2.1.4.	Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC	14
2.1.4.1.	Bestimmung der Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC	14
2.1.5.	Erythrozytenindizes RDW und HDW	15
2.1.6.	Retikulozyten	16
2.1.6.1.	Manuelle Bestimmung der Retikulozytenzahl	18
2.1.7.	Thrombozyten	18
2.1.7.1.	Manuelle Bestimmung der Thrombozytenzahl	20
2.1.8.	Thrombozytenindizes MPV und PDW	22
2.2.	Weißes Blutbild	23
2.2.1.	Gesamtleukozytenzahl	23
2.2.1.1.	Manuelle Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl	24
2.2.2.	Differentialblutbild	26
2.2.2.1.	Manuelle Bestimmung des Differentialblutbildes	26
2.3.	Automatische Zählverfahren	29
2.3.1.	Depositionsverfahren	29
2.3.2.	Durchflußverfahren	32
2.3.2.1.	Impedanzmethode	33
2.3.2.2.	Fluoreszenzmessung	36
2.3.2.2.1.1.	Differentialblutbild u. Zellzählung	37
2.3.2.2.1.2.	Retikulozytenzählung	37
2.3.2.3.	Optoelektrische Meßprinzipien	38

III.	Eigene Untersuchungen	44
3.1.	Tiere	44
3.1.1.	Rasse, Alters- und Geschlechtsverteilung	44
3.2.	Methodik	46
3.2.1.	Blutentnahme	46
3.2.2.	Methodenvergleich	46
3.2.2.1.	Referenzgeräte und –methoden	47
3.2.2.2.	Technicon H*1	47
3.2.2.2.1.	Hämoglobin-Methode	48
3.2.2.2.2.	Erythrozyten und Thrombozyten-Methode	48
3.2.2.2.3.	Peroxidase-Methode	49
3.2.2.2.4.	Basophilen-Methode	49
3.2.2.3.	ADVIA 120	50
3.2.2.4.	Sysmex F 800	56
3.2.2.5.	Mikrohämatokrit- Zentrifuge	57
3.2.2.6.	Panoptische Färbung	57
3.2.2.7.	Peroxidase- Färbung	57
3.2.2.8	α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung	58
3.2.2.9	Retikulozytenfärbung	58
3.2.2.10	Zählkammerzählungen	58
3.2.2.10.1.	Erythrozyten	59
3.2.2.10.2.	Thrombozyten	59
3.2.3.	Präzision	59
3.2.4.	Linearität und Carryover	60
3.2.4.1.	Rotes Blutbild	60
3.2.4.2.	Weißes Blutbild	62
3.2.5.	Antikoagulanzenvergleich	62
3.2.6.	Verlaufsuntersuchungen	63

3.3.	Statistische Auswertung	63
3.3.1.	Präzision und Methodenvergleich	63
3.3.2.	Linearität und Carryover	64
3.3.3.	Antikoagulanzenvergleich	64
3.3.4.	Verlaufsuntersuchungen	65
3.3.5.	Signifikanzen	65
IV.	Ergebnisse	66
4.1.	Präzision	66
4.1.1.	Rotes Blutbild	67
4.1.1.1.	Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg	67
4.1.1.2.	Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie	72
4.1.1.3.	Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte über verschiedene Serien hinweg	74
4.1.2.	Weißes Blutbild	78
4.1.2.1.	Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg	78
4.1.2.2.	Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie	81
4.1.2.3.	Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte über verschiedene Serien hinweg	83
4.2.	Methodenvergleich	85
4.2.1.	Rotes Blutbild	85
4.2.1.1.	Einzelwertvergleich	85
4.2.1.1.1.	Software-Evaluation	85
4.2.1.1.2.	Vergleich mit Referenzmethoden	92
4.2.1.1.2.1.	Hämatokritwert	92
4.2.1.1.2.2.	Caprine Erythrozyten	95
4.2.1.1.2.3.	Caprine Thrombozyten	97
4.2.1.1.2.4.	Retikulozyten	101
4.2.1.2.	Mittelwertvergleich	102
4.2.2.	Weißes Blutbild	105
4.2.2.1.	Einzelwertvergleich	105
4.2.2.1.1.	Software-Evaluation	105
4.2.2.1.2.	Vergleich mit Referenzmethoden POX und ANAE	112
4.2.2.2.	Mittelwertvergleich	116

4.3.	Linearität und Carryover	119
4.3.1.	Linearität	119
4.3.1.1.	Linearität des roten Blutbildes	119
4.3.1.2.	Linearität des weißen Blutbildes	121
4.3.2.	Carryover	122
4.3.2.1.	Carryover der Parameter HGB, RBC, WBC und PLT	123
4.4.	Antikoagulanzenvergleich	124
4.5.	Verlaufsuntersuchungen	132
4.5.1.	Rotes Blutbild	132
4.5.2.	Weißes Blutbild	145
V.	Diskussion	154
5.1.	Präzision	154
5.1.1.	Präzision der Bestimmung des roten Blutbildes	154
5.1.2.	Präzision der Bestimmung des weißen Blutbildes	156
5.2.	Methodenvergleich	157
5.2.1.	Rotes Blutbild	157
5.2.2.	Weißes Blutbild	168
5.3.	Linearität und Carryover	169
5.4.	Antikoagulanzenvergleich	171
5.5.	Verlaufsuntersuchungen	174
VI.	Zusammenfassung	176
VII.	Summary	179
VIII.	Literaturverzeichnis	182
IX.	Danksagung	208

Abkürzungsverzeichnis:

ANAE	α - Naphtyl-Acetat-Esterase-Färbung
Basophile	Basophile Granulozyten
BDE	Bunte Deutsche Edelziege
Beetalz.	Beetalziege (Indische Rasse)
CD 3000	Cell-Dyn 3000
CV	Variationskoeffizient
Dt.	Deutsche
Eosinophile	Eosinophile Granulozyten
ESW	Endsoftware
EVB	Erythrozytenverteilungsbreite
F 800	Sysmex F 800
fmol	Femtomol
fl	Femtoliter
g	9,81 m/ s ² , Schwerebeschleunigung
H*1	Technicon H*1
HDW	Hämoglobinverteilungsbreite
HKG	Hauptkomponentengerade
HR	Fehlermeldung: HGB Basislinien- oder Probensignalübertragung zu gering
HVB	Hämoglobinverteilungsbreite
ICSH Richtlinien	Richtlinien des International Committee for Standardization in Haematology protocol
k. A.	keine Angaben
K₂-EDTA	Kalium ₂ -Ethylen-Diamin-Tetra-Essigsäure
L.	Linie
large PLT	Large Platelets
Ld	Lagerungsdauer
lg	Logarithmus, logarithmiert
Li-Heparin	Lithium-Heparin
Lt	Lagerungstemperatur
LUC	Large unstained cells

M-DIFF (100)	manuelle Differenzierung mit 100 ausgezählten Zellen
M-DIFF (400)	manuelle Differenzierung mit 400 ausgezählten Zellen
M-DIFF (4x200)	manuelle Differenzierung mit 200 ausgezählten Zellen von 4 Untersuchern
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin (fmol)
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (mmol/l)
MCV	Mean Corpuscular Volume (fl)
ML = Merinol.	Merinolandschaft
MPC	Mean Platelet Component (mittlerer interner Thrombozytenbestandteil)
MPM	Mean Platelet Mass (Mittlere Thrombozytenmasse)
MPV	Mean Platelet Volume
n	Anzahl der Fälle
Na-Citrat	Natrium-Citrat
NaCl-Lösung	Physiologische Kochsalzlösung
NE 8000	Sysmex NE 8000
Neutrophile	Neutrophile Granulozyten
New Zeals.	Neuseeländisches Schaf
n.s.	nicht signifikant
p	Signifikanzniveau
PAN	Panoptische Färbung nach Pappenheim
PC	Platelet Component (interner Thrombozytenbestandteil)
PCDW	Platelet Component Distribution With (Verteilungsbreite des PC)
PCT	Thrombokrit
PCV	Hämatokritwert
PDW	Thrombozytenverteilungsbreite

PH	Fehlermeldung: HGB Basislinienübertragung zu gering
PMDW	Platelet Mass Distribution With (Verteilungsbreite der Thrombozytenmasse)
POX	Peroxidase Färbung
PLT	Thrombozyten
r	Korrelationskoeffizient
RBC Fragments	Erythrozytenfragmente
RBC Ghosts	Isolierte Erythrozytenmembranen
RETI	Retikulozyten
RDW	Erythrozytenverteilungsbreite
RBC	Red Blood Cells
RNA	Ribonukleinsäure
Scott. Hill.	Scottish Hill sheep
SD	Standardabweichung
SF	Streufaktor
STKS	Coulter STKS
SW 1	Software 1 (Rohsoftware)
SW 2	Software 2 (adaptierte Zwischensoftware)
SW 3	Software 3 (adaptierte Zwischensoftware)
SW 4	Software 4 (Endsoftware)
SWV	Softwareversion
TB = Toggenb.	Toggenburger Ziege
VCS	Coulter VCS
W	näherungsweise Wiederholbarkeit in %
WH	Winkelhalbierende
WBC	White Blood Cells
$\bar{x}$	Arithmetischer Mittelwert
$\bar{x}_g$	Geometrischer Mittelwert
Zählkammerm.	Zählkammermethode
zw.	zwischen
Zwergz.	Zwergziege



I. Einleitung:

Im Kleintier-, Pferde- und auch im Rinderbereich gehört die automatische Blutanalyse heute zur täglichen Kliniks- und Praxisdiagnostik. Gründe dafür sind in erster Linie die ökonomische Bedeutung dieser Tierarten für den Tierarzt und daraus resultierend ihre vorrangige Behandlung bei der Entwicklung und Erprobung neuer Analysesysteme.

Die Blutuntersuchungen bei kleinen Wiederkäuern werden dagegen noch häufig manuell durchgeführt (POSPIŠIL et. al., 1987), da eine Adaptation von Blutuntersuchungsautomaten an die Besonderheiten dieser Tierarten in den meisten Fällen nicht erfolgt.

Die zunehmende Bedeutung dieser Tierarten in Landschaftspflege und Hobbyhaltung führte in den letzten Jahren wieder zu einem Anstieg der Bestände und der Bestandszahlen. Auch die wirtschaftliche Bedeutung von Schaf und Ziege im Mittelmeer- und asiatischen Raum ist nicht außer acht zu lassen. Somit stellt sich inzwischen auch für kleine Wiederkäuer die Frage nach einem effizienten und kostengünstigen Hämatologiesystem.

In der Literatur wird zwar der Einsatz automatischer Analysegeräte wie z. B. der Coulter Counter-Modelle B, CF, FN oder ZF beschrieben (WEAVER, 1974; GREEN et. al. 1976; BOSS et. al., 1979; PLAUTZ, 1990; BAUMGARTNER u. PERNTHANER, 1993), diese Geräte führen aber lediglich eine Blutzellzählung durch und machen eine manuelle Leukozytendifferenzierung und Mikrohämatokritbestimmung weiterhin erforderlich.

Des weiteren sei erwähnt, daß sich auch verschiedene andere automatische Blutanalyzesysteme im täglichen Praxis- oder Klinikseinsatz befinden. Diese verfügen aber i. d. R. über keine spezifischen Einstellungsmöglichkeiten für die Tierarten Schaf und Ziege, da sie bei der Entwicklung der Geräte nicht berücksichtigt wurden. Folglich werden Blutproben dieser Tierarten mit anderen Einstellung gemessen, was aufgrund der tierartlichen Besonderheiten bei kleinen Wiederkäuern aber zu vermeidbaren Fehlern führt.

Aus diesem Grund forderte bereits WEISER (1987a) eine spezielle Modifikation von Blutanalysegeräten für die Tierarten Schaf und Ziege.

Das neue Hämatologiesystem ADVIA 120 der Firma Bayer Diagnostics München, das ursprünglich für die Untersuchung von Humanblut entwickelt wurde, bietet mit seiner Multispezies-Software eine spezielle Einstellung für die Tierarten Schaf und Ziege.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Softwareadaptation und begleitende Evaluation des ADVIA 120. Als Grundlage für die Evaluation des ADVIA 120 dienten die vom ICSH (International Committee for Standardization in Haematology) veröffentlichten „Guidelines for evaluation of blood cell analysers and reticulocyte counting and cell marker applications“ (ICSH, 1994) und den vom National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) erstellten provisorischen Standard H 20-A zur Zählung und Differenzierung von Leukozyten (NCCLS, 1984). Diese Richtlinien stellen Mindestanforderungen und Qualitätsnormen für automatische Hämatologiesysteme da, um einerseits einen gleichbleibenden Standard zu gewährleisten und um andererseits eine Basis zu schaffen, auf deren Grundlage auch ein Gerätevergleich möglich ist.

Im Rahmen der Softwareadaptation und begleitenden Evaluation wurde, in Verbindung mit der Herstellerfirma, eine Rohsoftware (SW 1) an die speziellen Eigenschaften des Blutbildes kleiner Wiederkäuer angepaßt und zu einer Endsoftware (SW 4) weiterentwickelt, die neue Maßstäbe in der Blutanalyse kleiner Wiederkäuer setzt.

Die Messung der ersten 108 ovinen bzw. caprinen Proben erfolgte mit einer Rohsoftware, d.h. mit einer Grundeinstellung des Analysegerätes, die von einem Mitarbeiter der Fa. Bayer in Gießen aufgrund von je 10 Blutproben gesunder Tiere pro Tierart adaptiert wurde. Diese als Software 1 (SW 1) bezeichneten Messungen wurden mit den Analyseergebnissen der Referenzgeräte zur Auswertung an die Firma Bayer Diagnostics in den USA geschickt, wo anhand dieser Ergebnisse eine Softwareadaptation und begleitende Evaluation stattfand. Nach Installation der überarbeiteten Softwareversion (SW 2) wurden 41 ovine und 51 caprine Proben gemessen. Nach der jeweils erfolgten Softwareadaptation wurden dann mit einer adaptierten Zwischensoftware (SW 3) 31 ovine und 52 caprine Proben und mit der Endsoftware (SW 4) 32 ovine und 31 caprine Proben gemessen. Die Ergebnisse der Softwareadaptation und Evaluation sind in den Kapiteln 4.1. und 4.2. dargestellt. Bezüglich der allgemeinen Qualitätsnormen und Richtlinien sei hier speziell auf die Abschnitte 4.1. (Präzision) und 4.3. (Linearität und Carryover) verwiesen.

Zudem befaßt sich diese Arbeit mit einer 72 stündigen Verlaufsuntersuchung bei den Tierarten Schaf und Ziege und mit einem Vergleich bezüglich der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat beim Einsatz des automatischen Blutzellanalyzers ADVIA 120.

2. Schrifttum

Die vorliegende Arbeit schließt an eine Reihe von Studien an, die an der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik, Innere Medizin der Kleintiere und klinische Labordiagnostik, und an der Klinik für Wiederkäuer und Schweine (Innere Medizin und Chirurgie) der Justus-Liebig-Universität zur Überprüfung der Einsatzfähigkeit des Technicon H*1 durchgeführt wurden. Auf die Arbeiten von SEEGER (1997), ZIEGLER (1997), SUCHFORT (1998), GROMMELT (1999) und vor allem BEDDIES (1999) wird im nachfolgenden mehrfach verwiesen. Da sich letztere mit der Tierart Schaf beschäftigt, ist die Lektüre für den Bereich der kleinen Wiederkäuer ergänzend besonders zu empfehlen.

In dieser Literaturübersicht soll zunächst auf wesentliche Unterschiede capriner und oviner Parameter des roten und weißen Blutbildes im Vergleich zu anderen Tierarten hingewiesen werden. Anschließend werden manuelle Bestimmungsmethoden und verschiedene automatische Blutzellanalyseverfahren vorgestellt und Vor- und Nachteile der Methoden im Hinblick auf den Einsatz bei kleinen Wiederkäuern diskutiert.

2.1. Rotes Blutbild

In diesem Kapitel sollen zunächst die tierartlichen Besonderheiten kleiner Wiederkäuer bezüglich des roten Blutbildes aufgezeigt werden. Um eine korrekte Analyse der Blutzellen kleiner Wiederkäuer zu gewährleisten, muß vor allem den extremen caprinen Unterschieden bezüglich der Parameter RBC, MCV, MCH, PLT und Retikulozyten (FORTAGNE u. SCHÄFER, 1989) gegenüber anderen Tierarten und dem Menschen Rechnung getragen werden. Des weiteren sind auch altersbedingte Konzentrations- und Größenunterschiede zu berücksichtigen (BEDDIES, 1999)

Anschließend werden die Verfahren zur manuellen Ermittlung der Parameter RBC, PCV, HGB, MCV, MCH, MCHC, PLT und Retikulozyten vorgestellt und diskutiert.

2.1.1. Erythrozyten

Zur Verdeutlichung der tierartlichen Unterschiede zeigt Tabelle 1 die Parameter RBC, MCV und MCH im Vergleich verschiedener Tierarten.

Tabelle 1: RBC, MCV und MCH verschiedener Tierarten im Vergleich

Tierart	RBC (T/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	Autor
Affe	4,8-6,2	73,0-91,0	1,4-1,7	Coffin, 1947
Hund	5,5-8,5	60,0-77,0	1,2-1,5	Jain, 1986
Hund	6,4-8,0	64,0-72,0	1,2-1,4	Coffin, 1947
Schwein	5,0-8,0	50,0-68,0	1,1-1,3	Jain, 1986
Schwein	5,0-9,0	50,0-66,5	1,0-1,4	Coffin, 1947
Katze	5,0-10,0	39,0-55,0	0,8-1,1	Jain, 1986
Katze	6,2-10,0	51,0-63,0	0,8-1,1	Coffin, 1947
Rind	5,0-10,0	40,0-60,0	0,7-1,1	Jain, 1986
Rind	5,4-9,0	49,5-60,7	0,9-1,2	Coffin, 1947
Pferd	6,8-12,9	37,0-58,5	0,8-1,2	Jain, 1986
Arbeitspferd	6,5-9,4	43,0-52,0	0,8-1,2	Coffin, 1947
Schaf	9,0-15,0	28,0-40,0	0,5-0,7	Jain, 1986
Schaf	8,5-13,5	33,5-43,0	0,6-0,8	Coffin, 1947
Ziege	8,0-18,0	16,0-25,0	0,3-0,5	Jain, 1986
Ziege	12,5-22,0	18,0-23,0	0,3-0,5	Coffin, 1947

Tabelle 1 soll vor allem die hohen Erythrozytenzahlen kleiner Wiederkäuer im Gegensatz zu anderen Tierarten verdeutlichen. Während bei Hund, Katze, Schwein, Pferd, Rind und Affe das RBC zwischen 4,8 und 12,9 T/ l liegt, zeigt das Schaf Werte zwischen 8,5 und 15,0 und die Ziege zwischen 8,0 und 22,0 T/ l.

Auch SCARBOROUGH (1932) und WIRTH (1950) geben für die caprinen Erythrozytenzahlen Bereiche an zwischen 9 - 19 bzw. 10 und 20 T/l. Der Tierartenvergleich von SHARMA et. al. (1973) ergab die höchsten Erythrozytenzahlen für das Kamel, gefolgt

von Ziege und Schaf. Im Vergleich zum Menschen beschreibt LEWIS (1976 b) die Ziegenerythrozyten als doppelt so zahlreich.

Im Gegensatz zu anderen Tierarten zeichnen sich die Erythrozyten kleiner Wiederkäuer auch durch eine sehr geringe Größe aus (WELS, 1958). Caprine Erythrozyten bezeichnet JAIN (1986) sogar als die kleinsten, die bei domestizierten Haustieren gefunden werden.

In Übereinstimmung damit steht auch der Vergleich des Mittleren Erythrozytenvolumens (MCV) in Tabelle 1. Das höchste MCV wurde von COFFIN (1947) beim Affen mit 73,0 bis 91,0 fl ermittelt. COFFIN (1947) und JAIN (1986) ermittelten jeweils etwas geringere Volumina in absteigender Reihenfolge für die Tierarten Hund (60,0-77,0 fl), Schwein, Katze und Rind, bis hin zum Pferd (37,0-58,5 fl). Die Erythrozyten der kleinen Wiederkäuer hingegen zeigen bei beiden Autoren deutlich geringere Volumina. So liegen die ovinen Werte lediglich zwischen 28,0 und 43,0 fl und die caprinen nur zwischen 16,0 und 25,0 fl.

Der relativ geringe Hämoglobingehalt der Erythrozyten kleiner Hauswiederkäuer stellt ein weiteres wesentliches Unterscheidungsmerkmal zu anderen Tierarten dar. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, liegt das caprine MCH zwischen 0,3 und 0,5 fmol, das ovine zwischen 0,5 und 0,8 fmol und das der Vergleichstiere dagegen zwischen 0,7 und 1,7 fmol.

Zusammenfassend läßt sich also aus Tabelle 1 ein deutlicher Anstieg des RBC vom Affen zur Ziege feststellen, während MCV und MCH in gleicher Weise (Affe => Ziege) kleiner werden. Woraus sich schließen läßt, daß Tiere mit großen Erythrozytenzahlen über ein geringeres mittleres Erythrozytenvolumen und einen geringeren Hämoglobingehalt verfügen und umgekehrt.

Zudem berichten LEHRMANN (1959) sowie WILKINS und HODGES (1962) noch von einer erheblichen Schwankungsbreite bezüglich der Erythrozytenzahlen kleiner Wiederkäuer.

Ergänzend zur Gegenüberstellung der Parameter RBC, MCV und MCH verschiedener Tierarten (Tabelle 1), zeigen die beiden anschließenden Tabellen die von verschiedenen Autoren ermittelten caprinen und ovinen Werte für vorgenannte Parameter. Tabelle 2 stellt die von verschiedenen Autoren ermittelten ovinen Parameter RBC, MCV und MCH mit Angabe der Bestimmungsmethode und der Tierzahl, auf denen die Referenzwerte basieren, gegenüber.

Die Angabe der Rasse erfolgt, sofern sie vom Verfasser genannt wurde, am Ende der Tabelle mittels Fußnote. Tabelle 3 zeigt den entsprechenden Vergleich für die caprinen Werte.

Tabelle 2: Variationen der Parameter RBC, MCV und MCH des Schafes

RBC (T/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	Methode	Anzahl	Autor
9,8-12,3	29,4-35,6	0,7-0,8	Coulter Counter FN	202	Boss et. al., 1979
8,5-13,5	33,5-43,0	0,6-0,8	k. A.	k. A.	Coffin, 1947
7,5-7,9	44,3-48,3	0,8-0,9	manuell	20	Dutta et. al., 1996
4,8-12,2	---	---	manuell	20 ¹⁾	Edward et. al., 1954
7,7-14,5	---	---	k. A.	k. A.	Fraser, 1929/30
6,7-14,6	35,5-43,8	---	manuell	200 ²⁾	Grunsell, 1955
10,7-11,1	---	---	manuell	82 ³⁾	Hackett u. Gayler, 1957
9,7-13,3	27,4	---	manuell	171 ⁴⁾	Holman, 1944
9,0-15,0	28,0-40,0	0,5-0,7	k. A.	k. A.	Jain, 1986
6,5-10,3	35,0-55,4	0,7-1,0	k. A.	10 ⁵⁾	Jelinek u. Fraisz, 1986
8,0-16,9	---	---	manuell	k. A. ⁶⁾	Josland, 1933
6,5-11,3	34,0-46,0	0,8-0,9	k. A.	k. A.	Kraft u. Dürr, 1997
9,6-16,4	---	---	k. A.	k. A.	Norris u. Chamberlin, 1929
7,6-11,8	---	---	Coulter Counter CF	130 ⁸⁾	Pernthaner et. al., 1993
7,2-11,9	---	---	Coulter Counter ZF	388	Plautz, 1990
8,0-12,8	---	---	manuell	60	Reda u. Hathout, 1957
9,2-12,1	15,2-34,3	0,3-0,5	manuell	18	Sharma et. al., 1973
8-16	23-48	0,6-0,7	k. A.	k. A.	Sherman u. Robinson, 1983
8,3-15,5	23,6-48,6	---	manuell	55 ⁷⁾	Todd et. al., 1952
7,3-9,7	---	---	Coulter Counter B	40 ⁴⁾	Weaver, 1974

¹⁾ Hamshire, ²⁾ Scottish Hillsheep, ³⁾ Suffolk, ⁴⁾ Britische Schafe, ⁵⁾ Merinolandschaf,

⁶⁾ New Zealandsheep, ⁷⁾ Southdown sheep, ⁸⁾ Bergschafe.

Tabelle 3: Variationen der Parameter RBC, MCV und MCH der Ziege

RBC (T/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)	Methode	Anzahl	Autor
13,1-15,4	19,4-22,4	0,4	manuell	14 ¹⁾	Boss u. Wanner 1977
12,5-22,0	18,0-23,0	0,3-0,5	k. A.	k. A.	Coffin 1947
13,3	22,9	0,5	manuell	k. A. ²⁾	Das u. Sadhu 1955
10,0-16,2	12,3-43,8	0,4-0,7	manuell	150 ³⁾	Edjtehadi 1978
---	15,3-20,3	---	errechnet	6 ⁴⁾	Fairley et. al. 1988
---	16,4-22,4	---		6 ⁵⁾	
15,3-15,8	16,4-17,4	0,3	manuell	104 ⁶⁾	Gautam 1965
9,9-21,3	---	---	manuell	101 ⁷⁾	Henn 1953
6,9-19,8	15,5-34,5	---	manuell	ca.50	Holman 1963
8,0-18,0	19,5-37,0 16,0-25,0	0,3-0,5	k. A.	k. A.	Jain 1986
8,0-14,0	25-31	0,5-0,6	k. A.	k. A.	Kraft u. Dürr 1997
8,8-21,5	---	---	manuell	60	Lehrmann 1959
11,3-18,8	21,2-26,5	0,5	manuell	6	Lewis 1976 b
8,6-15,7	---	---	Coulter Counter ZF	60	Plautz 1990
8,24-24,7	12,1-30,3	0,3-0,8	manuell	165 ⁸⁾	Pošpisil et. al. 1987
12,0-12,7	---	---	manuell	42 ⁹⁾	Pyne et. al. 1982
6,2-25,8	---	---	manuell	70	Ranitovic 1926
13,0-13,6	---	---	manuell	60	Roy et. al. 1965
9,9-12,0	18,5-32,0	0,4-0,5	manuell	6 ¹⁰⁾	Sharma et. al. 1973
9,9-13,2	15,2-34,3	0,3-0,4		6 ¹¹⁾	
11,8-16,1	18,9-26,4	0,3-0,5		6 ¹²⁾	
8,0-18,0	19,5-37,0	---	k. A.	k. A.	Sherman u. Robinson 1983
4,4-21,6	---	---	Colloscop 401 Medata	18	Vrzgula et. al. 1985
8,5-20,5	13,2-27,7	0,4-0,8	manuell	66	Wilkins u. Hodges 1962

¹⁾ Saanenziege, ²⁾ Jamnapuri Z., ³⁾ Iran. Ziege, ⁴⁾ Toggenburger, ⁵⁾ Zwergz., ⁶⁾ Beetalz.

⁷⁾ WDE ⁸⁾ Cameron ⁹⁾ Black Bengal ¹⁰⁾ Adult ¹¹⁾ Jungtier ¹²⁾ Lamm

Die Tabellen 2 und 3 verdeutlichen die von verschiedenen Autoren ermittelten erheblichen Schwankungsbreiten für die ovinen und caprinen Parameter RBC, MCV und MCH. Die ovinen Erythrozytenzahlen bewegen sich beispielsweise zwischen 4,8 (EDWARD et. al., 1954) und 16,9 T/l (JOSLAND, 1933) und die caprinen zwischen 4,4 (VRZGULA et. al., 1985) und 25,8 T/l (RANITOVIC, 1926). Das mittlere Erythrozytenvolumen variiert beim Schaf zwischen 15,2 (SHARMA et. al., 1973) und 55,4 fl (JELINEK und FRAISZ, 1986). Das geringste caprine MCV zeigen die Untersuchungen von POŠPISIL et. al. (1987), das größte ermittelte EDJTEHADI (1978). Der mittlere Hämoglobingehalt der Einzelerthrozyten (MCH) bewegt sich beim Schaf zwischen 0,3 (SHARMA et. al., 1973) und 1,0 fmol (JELINEK und FRAISZ, 1986) und bei der Ziege zwischen 0,3 (POŠPISIL et. al., 1987) und 0,8 fmol (WILKINS und HODGES, 1962).

Neben den absoluten Zahlenwerten sind aber auch prinzipiell Angaben bezüglich der zu Grunde liegenden Tierzahl, Bestimmungsmethode, Geschlecht, eine bestehende Gravidität Jahreszeit, Haltungs- und Fütterungsbedingungen, Rasse und Alter der Tiere zu betrachten. Diese Informationen, die von einigen Autoren nicht oder nur unzureichend gegeben werden, helfen erst die Ergebnisse richtig einzuschätzen und zu relativieren.

Je geringer beispielsweise die Tierzahl ist, desto höher ist der statistische Fehler (WEBER, 1992). Mit der Art und Bewertung der manuellen Bestimmungsmethoden des roten Blutbildes befassen sich die anschließenden Kapitel. Für die automatische Blutzellanalyse sei auf Kapitel 2.3. verwiesen.

BOSS et. al. (1979) konnten für die Blutzellen keinen signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschied feststellen. BEDDIES (1999) wies ebenfalls keinen Einfluß der Gravidität auf das rote Blutbild nach. Nach einer Studie von BAUMGARTNER und PERNTHANER (1993) waren die jahreszeitlichen Schwankungen der Erythrozytenzahl nicht signifikant.

Ein Vergleich konventioneller und artifizierter Lämmeraufzucht mit 10 bzw. 15 Tieren im Alter von 1,5 und 6 Wochen zeigte signifikant höhere Erythrozytenkonzentrationen bei erster Aufzuchtform (BOSTEDT und MAYR, 1976). Für das MCV stellt BEDDIES (1999) zwar rasseabhängige Unterschiede fest, gibt aber zu bedenken, daß die Tiere auch ungleichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen unterlagen.

BAUMGARTNER und PERNTHANER (1993) ermittelten bei unter einem Jahr alten Österreichischen Karakulschafen deutlich höhere Erythrozytenzahlen als bei älteren Tieren, während BOSS et. al. (1979) bei bis zu 6 Monate alten Schafen höhere Zahlen erhielten als

bei über 18 Monate alten Tieren. Eine Studie von REDA und HATHOUT (1957) ergab bei neugeborenen Lämmern sowie bei solchen bis zum Alter von 2 Monaten die höchsten Erythrozytenkonzentrationen, und im Alter von 2-12 Monaten bis zu 2-5 Jahren fielen die Werte der Tiere deutlich ab. HOLMAN (1944) berichtet dagegen von geringeren ovinen Erythrozytenzahlen in den ersten beiden Lebensmonaten. Zudem wiesen die von ihm untersuchten Schafe unter einem Lebensmonat das höchste MCV auf, während über 3 Monate alte Tiere meist geringere Erythrozytenvolumina zeigen. Obwohl die verschiedenen Autoren zu scheinbar widersprüchlichen Ergebnissen kommen, stimmen sie doch mit den von BEDDIES (1999) aufgestellten Referenzwerten für verschiedene Altersgruppen des Schafes überein. Die nachfolgende Tabelle zeigt diese für die ovinen Parameter RBC, MCV und MCH im Altersvergleich von einem Tag bis zu 5 Jahren.

Tabelle 4: Referenzbereiche für die ovinen Parameter RBC, MCV und MCH verschiedener Altersgruppen nach BEDDIES (1999), $n_1 = 328$, $n_2 = 573$

Alter	RBC (T/l)	MCV (fl)	MCH (fmol)
1-7 Tage	6,6-12,6	29,7-42,3	0,61-0,82
1 Monat	7,7-13,5	26,8-38,6	0,57-0,77
3 Monate	10,0-15,7	19,2-31,1	0,48-0,68
1 Jahr	4,8-15,1	24,0-35,4	0,56-0,74
3 Jahre	4,5-14,1	24,6-36,0	0,57-0,75
5 Jahre	4,2-13,1	25,3-36,7	0,58-0,76

n_1 = Schafe $\leq$ 3 Monate; n_2 = Schafe $>$ 3 Monate

Die Erythrozytenzahlen nehmen von der ersten Lebenswoche bis zu einem Höchstwert bei 3 Monaten zu, danach erfolgt wieder eine Abnahme (BEDDIES, 1999). Der deutlichen Anstieg der ovinen Erythrozyten um den 3 Lebensmonat wird auch durch die Untersuchungen von BOSTEDT und MAYR (1976) bestätigt. Die höchsten Werte für MCV und MCH wurden in der 1. Lebenswoche ermittelt, bis zum 3. Monat ist ein erheblicher Abfall, anschließend ist wieder ein leichter Anstieg zu verzeichnen (BEDDIES, 1999). Diese altersbedingten Veränderungen bezüglich der Erythrozytenzahl und –größe sind ein wesentlicher Faktor, der

bei der Analyse von Schaf und Ziegenblut unbedingt berücksichtigt werden muß, um eine korrekte Analyse zu gewährleisten.

Nach Darstellung der ovinen und caprinen Besonderheiten des roten Blutbildes sollen nachfolgend die manuellen Methoden zur Bestimmung der Erythrozyten, des Hämoglobingehaltes und verschiedener Erythrozytenindizes vorgestellt und diskutiert werden.

2.1.1.1. Manuelle Bestimmung der Erythrozytenzahl

In diesem Kapitel wird zunächst die Methode der manuellen Erythrozytenbestimmung beschrieben, anschließend werden Nachteile und Grenzen der Methode aufgezeigt.

Die klassische Methode zur Bestimmung der Erythrozytenzahl ist die Ermittlung in der Zählkammer. Verwendung finden können hier Kammern nach Thoma, Türk, Bürker, Fuchs und Rosenthal oder auch diejenige nach Neubauer.

Das Blut wird zunächst mit Hayem'scher, Gower'scher oder 2 % NaCl-Lösung in einer speziellen Mischpipette verdünnt (PLONAIT, 1980). Der übliche Verdünnungsfaktor ist hierbei 1 : 200, aber auch Verdünnungen bis 1 : 1000 sind möglich (MÓCSY, 1960).

Das verdünnte Blut wird nach Verwerfen des ersten Tropfens in die Kammer eingebracht und das Deckglas bis zum Erscheinen der Newton'schen Ringe fixiert. Nach erfolgter Beschickung der Kammer läßt man die Blutkörperchen noch einige Minuten sedimentieren, um anschließend die Quadrate bei mittlerer Vergrößerung auszuzählen. Wird eine Kammer nach Neubauer verwendet, so sind fünf Gruppenquadrate mit je 16 Kleinstquadraten auszuzählen (KRAFT u. DÜRR, 1997). Die Berechnung der Erythrozytenzahl erfolgt nach der Formel:

$$\text{RBC} = 4000 \times \text{Verdünnung} \times \text{gezählte Zellen} / \text{ausgezählte Quadrate (MÓCSY, 1960)} .$$

Nachteile dieser Methode sind hoher Zeit- und Arbeitsaufwand sowie ihre Fehleranfälligkeit (PLONAIT, 1980; KRAFT u. DÜRR, 1997).

THORELL (1963) ermittelte bei einem Vergleich von Kammer- und automatischer Zählung einen deutlich höheren Zähl- und Gesamtfehler gegenüber der automatischen Methode.

COULTER (1956) nennt einen Gesamtfehler der visuellen Zählung im Bereich von 10 - 20 %. Dieser setzt sich aus Zufallsfehler ($> 4 \%$), menschlichem Zählfehler und Kammerfehler zusammen. Weitere Aspekte, die gegen die manuelle Methode sprechen, sieht COULTER (1956) in der mangelnden Wirtschaftlichkeit und Primitivität dieses Systems.

Nach Darstellung der manuellen Erythrozytenbestimmungsmethoden ist nachfolgend die Ermittlung des Hämatokritwertes Gegenstand der Betrachtung.

2.1.2. Hämatokritwert (PCV)

Dieses Kapitel beinhaltet eine Definition des PCV, eine Beschreibung verschiedener nicht automatischer Bestimmungsmethoden und eine Diskussion über deren Vor- und Nachteile.

Der Hämatokritwert gibt den prozentualen Anteil der Erythrozytenmasse am Gesamtblut wieder und ist von der Anzahl und dem Volumen der Erythrozyten und dem Plasmavolumen abhängig (KRAFT u. DÜRR, 1997).

2.1.2.1. Manuelle Bestimmung des Hämatokritwertes

Prinzipiell unterscheidet man zwei Methoden: eine chemische und eine physikalische. Erstere ermittelt den PCV durch eine Verdünnungsanalyse, die zweite bestimmt ihn mittels Zentrifugation.

Bei der chemischen Methode wird das Verteilungsvolumen durch eine exakt abgemessene Indikatormenge bestimmt. Nach Zusatz von Chrom-EDTA und kurzem Zentrifugieren wird die Impulszahl gemessen. Das Plasmavolumen ergibt sich schließlich aus der Division der Vollblutnutzrate durch die Plasmanutzrate. Der errechnete PCV schließt Leukozyten und Thrombozyten ein (BURCK, 1970).

Die physikalische Ermittlung des PCV ist auf zwei Wegen möglich: dem Makrohämatokrit- oder Wintrobe-Verfahren und dem Mikrohämatokrit-Verfahren.

Beim Wintrobe-Verfahren werden auch zur Blutsenkungsreaktion geeignete Röhrchen blasenfrei bis zur Markierung bei 100 mm aufgefüllt und z. B. bei 1400 g 15 Minuten lang zentrifugiert (PLONAIT, 1980).

Beim Mikrohämatokrit-Verfahren läßt man das Blut mittels Kapillarkraft in Kapillarröhrchen aufsteigen, verschließt das eine Ende mit Spezialkitt und zentrifugiert es für 10 Minuten bei 5000 g. Die Ablesung kann durch ein Auswertgerät oder manuell mit Hilfe einer Auswertschablone erfolgen (PLONAIT, 1980; KRAFT u. DÜRR, 1997).

Die chemische PCV- Bestimmung, die zwar die genaueste der genannten Methoden darstellt (mittlerer Fehler 1,5 %), ist trotz einfacher Handhabung für die Routinediagnostik zu aufwendig (BURCK, 1970).

Vorteil der physikalischen Methoden ist, daß die Färbung des überstehenden Plasmas Hinweise auf Hämolyse (rotbraun), Ikterus (gelblich) oder Lipämie (milchig trüb) geben kann (GOLDSTON et. al., 1980; PLONAIT, 1980).

Der Vorteil der Wintrobe-Methode ist, daß keine Spezialzentrifuge erforderlich ist. Nachteile sind aber, daß etwa 5 % des Plasmas in der Blutsäule verbleiben und der PCV dadurch um 2 % zu hoch liegt. Auch BURCK (1970) befindet die bei dieser Methode angewendete Zentrifugationskraft von 1000 – 3000 g für so unzureichend, daß eine Zentrifugationszeit von zwei Stunden angebracht sei. Zudem sei der Fehler bei Wiederkäuern höher als bei Hund und Pferd (PLONAIT, 1980).

Vorteile der Mikrohämatokrit-Methode gegenüber der Wintrobe-Methode sind eine schnellere Durchführung, größere Genauigkeit, eine Verminderung der benötigten Blutmenge und das Entfallen der Röhrchenspülung (KRAFT, 1971; GOLDSTON et. al., 1980). Ein Nachteil der Mikrohämatokrit-Methode gegenüber den anderen Methoden ist aber, daß Differenzen in der Füllungshöhe der Röhrchen von mehr als 1,5 mm das Ergebnis signifikant beeinflussen (NIEPAGE, 1974). Die Mikrohämatokrit-Methode liefert einen PCV, der im Mittel mit einem Fehler von 5,7 % behaftet ist. Die nicht vollständig zu eliminierende interzelluläre Flüssigkeit der Erythrozyten (eingefangenes Plasma) sollte durch Zentrifugation über 10 Minuten bei 5000 g und sofortiger Durchführung nach dem Füllen der Röhrchen so gering wie möglich gehalten werden. Um die abgelesenen Werte um die Menge des eingefangenen Plasmas zu reduzieren, wäre man berechtigt, 0,5 (bei Werten zwischen 20 und 30 %) bis 1 % (bei Werten zwischen 40 und 50 %) abzuziehen, um dem wahren PCV näher zu kommen. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren liefert die Mikrohämatokrit-Methode gut orientierende und ausreichend reproduzierbare Ergebnisse für die klinische Diagnostik (BURCK, 1970).

Das nun folgende Kapitel beschäftigt sich mit der Funktion und den Aufgaben des Hämoglobins, dem Verfahren zu seiner manuellen Bestimmung sowie deren Vor- und Nachteilen.

2.1.3. Hämoglobin (Hb, Hgb)

Die Bedeutung der Hämoglobinbestimmung ergibt sich aus der physiologischen Bedeutung des roten Blutfarbstoffes, denn die biologisch essentielle Sauerstofftransportfunktion des Blutes wird nur durch das intraerythrozytäre Hämoglobin gewährleistet. Beim Entweichen des Hb aus den Zellen infolge Hämolyse ist dies nicht mehr gegeben und führt zu erheblichen Beeinträchtigungen (KRAFT u. DÜRR, 1997).

2.1.3.1. Manuelle Bestimmung des Hämoglobingehaltes

Für die manuelle Bestimmung des Hämoglobingehaltes sind die Sahlische Hämometer- und die Cyanhämoglobin-Methode zu nennen.

Die erste Methode beruht darauf, daß eine kleine Blutmenge durch Vermischung mit Salzsäure in saures rötlichbraunes Hämatin überführt und anschließend so lange mit Wasser verdünnt wird, bis seine Farbe der eines Vergleichsstabes entspricht (MÓCSY, 1960).

Bei der Cyanhämoglobin-Methode wird HB durch Zusatz von Kaliumferricyanid in Methämoglobin umgewandelt. Die Messung des Cyanhämoglobins kann zum einen photometrisch bei einer Wellenlänge zwischen 520 und 560 nm erfolgen (KRAFT u. DÜRR, 1997). Zum anderen kann die Auswertung aber auch visuell durch den Vergleich mit einer Standardlösung durchgeführt werden (KRAFT, 1973; GOLDSTON et. al., 1980). Die visuelle Auswertung liefert zwar keine exakten quantitativen Angaben, anämische Werte sind aber klar zu erkennen (KRAFT, 1973).

Die Sahlische Hämometer-Methode wird heute i.d.R. wegen ihrer mangelnden Präzision und des hohen Arbeits- und Zeitaufwandes nicht mehr angewendet.

In der Humanmedizin dient die photometrische Cyanhämoglobin-Methode als Referenzmethode zur Hämoglobinbestimmung (ICSH 1996). GOLDSTON et. al. (1980)

bezeichnen diese Methode als die häufigste in veterinärmedizinischen Laboratorien verwendete und KRAFT (1973) sieht sie derzeit als die einzig zuverlässige Methode. Nachteile dieses Verfahrens sind aber, daß bei Lipämien und beim Vorhandensein von Heinz-Körperchen bei der Katze (evtl. auch beim Hund) eine Beeinflussung des Meßergebnisses stattfindet (SCHALM, 1980; WEISER, 1981; WILLARD, 1989).

Nach Darstellung der manuellen Erythrozyten-, Hämatokrit- und Hämoglobinbestimmung, soll anschließend noch auf die Erythrozytenindizes eingegangen werden.

2.1.4. Erythrozytenindizes MCV, MCH, MCHC

Diese Kapitel beinhaltet die Methoden zur Bestimmung der Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC und zeigt mögliche Fehlerquellen und Einflüsse auf, welche die Ergebnisse beeinträchtigen könnten.

Bei den Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC handelt es sich nicht um Meßwerte, sondern um errechnete Werte.

2.1.4.1. Bestimmung der Erythrozytenindizes MCV, MCH, MCHC

Das MCV gibt das durchschnittliche (mittlere) Volumen der Erythrozyten an und wird nach folgender Formel errechnet:

$$\text{MCV (fl)} = \frac{\text{Hämatokritwert (l/l)} \times 1000}{\text{Erythrozythenzahl (T/l)}}$$

Das MCH dient zur Unterscheidung hypo-, normo-, und hyperchromer Anämien. Es gibt den durchschnittlichen Hämoglobingehalt des Einzelerythrozyten an und wird nach folgender Formel ermittelt:

$$\text{MCH (fmol)} = \frac{\text{Hämoglobin (mmol/l)}}{\text{Erythrozytenzahl (T/l)}}$$

Das MCHC, ein Kriterium zur Diagnose hypochromer Anämien, gibt den mittleren Hämoglobingehalt der Erythrozyten an und wird wie nachfolgend berechnet.

$$\text{MCHC (mmol/l)} = \frac{\text{Hämoglobin (mmol/l)}}{\text{Hämatokritwert (l/l)}}$$

Da es sich bei den Erythrozytenindizes nur um errechnete Werte handelt, ist deren Größe als Proportion von den Meßwerten im Zähler und Nenner des Bruches abhängig. Da jeder ermittelte Wert dem Fehler der Meßmethode unterliegt mit der er ermittelt wurde, gehen hier jeweils zwei verschiedene Meßfehler in den Index ein. Aus der Abschätzung der Größenordnung möglicher Einflüsse für die Bestimmung von MCV und MCHC zeigt sich, daß mit einem großen Unsicherheitsfaktor oder einem groben Fehler zu rechnen ist (NIEPAGE, 1974). Angesichts der Diskrepanzen zwischen erwünschter und realisierbarer Meßgenauigkeit stellt sich NIEPAGE (1974) sogar die Frage, ob es überhaupt Zweck hat, errechnete MCV- und MCHC-Werte für die Beurteilung des Blutstatus heranzuziehen.

2.1.5. Erythrozytenindizes RDW und HDW

Die Indizes RDW (Erythrozytenverteilungsbreite) und HDW (Hämoglobinverteilungsbreite) stellen, in Prozent ausgedrückt, Variationskoeffizienten dar. Während die RDW ein Maß für die Heterogenität der Erythrozytengröße ist, beschreibt die HDW den Grad der Anisochromasie (BESSMAN et. al., 1983). Diese für die Anämiediagnostik wertvollen Parameter werden nicht manuell ermittelt, sondern sind eine Errungenschaft automatischer Analysegeräte.

Nachdem Erythrozyten sowie deren Indizes, Hämatokritwert und Hämoglobin besprochen wurden, beschäftigt sich das anschließende Kapitel mit den Retikulozyten, einer Vorstufe der Erstgenannten.

2.1.6. Retikulozyten

Dieses Kapitel behandelt zunächst historische Aspekte und Charakteristika der Retikulozyten als eine Einführung. Anschließend werden Retikulozytenzahlen verschiedener Tierarten, danach verschiedene manuelle Ermittlungsverfahren vorgestellt und diskutiert.

1865 entdeckte Erb die Retikulozyten als Subpopulation der Erythrozyten in hämolysierten Blutproben (MÜSCHENISCH, 1984).

Während Paul Ehrlich noch davon ausging, daß die Retikulozyten eine Degenerationsform der Erythrozyten seien, erkannte Smith (1891) bei Untersuchungen texasfiebererkrankter Rinder, daß es sich dabei um eine Regenerationsform handelt (MÜSCHENISCH, 1984).

Die als Retikulozyten bezeichnete Vorstufe der Erythrozyten entsteht durch Enukleation von Normoblasten und enthält die sogenannte Substantia granulo-filamentosa. Letztgenannte wurde erstmals 1892 von Paul Ehrlich als Bestandteil „gewisser Erythrozyten“ beschrieben und mit Hilfe von wässriger Methylenblaulösung auf Blutaussstrichen sichtbar gemacht. 1895 wurde von Pappenheim zur Identifikation der Retikulozyten die Vitalfärbung mit Brillantkresylblau entwickelt (SEYFARTH, 1927).

Den Nachweis der chemischen Struktur der Substantia granulo-filamentosa erbrachte THOMA (1950) mit Hilfe von Ribonukleaseeinwirkung auf Blutaussstriche. Seine histoenzymatischen Untersuchungen (Brachet-Test) zeigten, daß die basophile Granulation der Retikulozyten auf das Vorhandensein von Ribonukleotiden beruht.

Da die Ausprägung der Substantia granulo-filamentosa alter- und reifegradabhängig ist, unterscheidet HEIMEYER (1931) fünf Gruppen. Während Gruppe 0 nur im Knochenmark vorkommt, befindet sich bei Gruppe 1 die vitalfärbbare Substanz an Stelle des enukleierten Kerns. Bei Gruppe 2 füllt die Substantia granulo-filamentosa die gesamte Zelle aus. Gruppe 3 zeichnet sich durch eine unvollständige Netz- oder Fadenform aus, während bei Gruppe 4 lediglich noch vereinzelt Fäden oder Granula in der Zelle auftreten. Zu dieser letzten Gruppe gehören auch die im peripheren Blut auftretenden und leicht zu übersehenden Schafretikulozyten, da sie meist nur 2 - 5 Granula aufweisen (OVERÄS, 1969).

Die Ausreifung der Retikulozyten zu Erythrozyten erfolgt tierartlich unterschiedlich. Der Ausreifungsprozeß findet bei Nagern im peripheren Blut statt (humoraler Ausreifungstyp), bei Pferd und Wiederkäuern hingegen nahezu vollständig im Knochenmark (medullärer Ausreifungstyp). Hund und Schwein nehmen eine Zwischenstellung ein (FUCHS u. EDER,

1991). Folglich ist die Zahl der im peripheren Blut auftretenden Retikulozyten tierartlich sehr unterschiedlich.

SEYFARTH (1927) gab für das Kaninchen Retikulozytennormalwerte zwischen 3 und 8 %, für Meerschweinchen zwischen 0,5 und 5 % und für Ratten zwischen 2,5 und 5 % an. CRAMER und LEWIS (1972) ermittelten für die Katze Werte zwischen 1,4 und 10,8 %. Bei einer ausschließlichen Berücksichtigung von Zellen mit großen Retikula korrigierten sich die Werte auf 0 bis 0,4 %. JAIN (1986) gibt für den Hund Werte zwischen 0 und 1,5 %, für die Katze zwischen 0,2 und 1,6 % und für das Schwein zwischen 0 und 1 % an.

Bei Wiederkäuern treten nur sehr geringe Retikulozytenkonzentrationen auf (SEYFARTH, 1927; WIRTH, 1934; ULLREY et al., 1965; FUCHS u. EDER, 1991). CATLEY et. al. (1990) fanden bei erwachsenen Rentieren 0,02 % Retikulozyten. Auch die Ergebnisse von SCHNAPPAUF et. al. (1967) zielen in diese Richtung, denn aufgrund ihrer Untersuchungen kommen sie zu dem Schluß, daß sich unter „normalen Umständen“ keine Retikulozyten im peripheren bovinen Blut befinden.

FRASER (1929/1930), THIAGARAJAN und GOVINDA (1993 b) fanden bei ausgewachsenen Schafen keine Retikulozyten. Für KING und MIFSUD (1981) liegen die normalen Konzentrationen der unreifen Erythrozyten des Schafes bei 0,1 %. OVERÄS (1969) stellte in seinen Untersuchungen Variationsbreiten für Mutterschafe von 0 - 1,1 % fest, und ANOSA (1977) ermittelte Durchschnittswerte für erwachsene Schafe von $0,12 \pm 0,3$ %. DORR et. al. (1986) beschrieben physiologische Konzentrationen für die Ziege von 0 - 0,2 %. Auch IGBOKWE und MOHAMMED (1991) stellten bei ihrer Untersuchung gesunder erwachsener Ziegenböcke keine Retikulozyten fest.

Höhere physiologische Retikulozytenkonzentrationen treten lediglich bei juvenilen Wiederkäuern auf. KING und MIFSUD (1981) stellten einen signifikanten Anstieg in den ersten 5 Lebenstagen bei Lämmern fest, und auch SCHNAPPAUF (1967) ermittelte bei neonatalen Kälbern Werte über 14 %. Zu tendenziell gleichen Ergebnissen kamen auch THIAGARAJAN und GOVINDA (1993 b), die in den ersten 4 Lebenstagen bei ovinen Neonaten 14 - 18 % Retikulozyten nachweisen konnten. Auch die Untersuchungen an Lämmern von OVERÄS (1969) bestätigen diese Ergebnisse. Er ermittelte für Tiere im Alter von bis zu 1 Woche Werte zwischen 0 und 9 %, für Tiere bis zu 3 Wochen 0 - 2,2 % und für Lämmer bis zu einem Alter von 3 Monaten 0 - 0,4 %.

2.1.6.1. Manuelle Bestimmung der Retikulozytenzahl

Die konventionelle Methode zur Bestimmung der Retikulozyten besteht auch heute noch in der basophilen Anfärbung und anschließenden mikroskopischen Differenzierung von 500, 1000 oder 2000 Erythrozyten. Aufgrund der Einwirkung basophiler Farbstoffe, wie Akridinorange, Brillantkresylblau, Janusgrün, Neutralrot oder Toluidinblau, kommt es zur charakteristischen Retikulumbildung und Anfärbung der Substantia granulo-filamentosa. Am häufigsten findet Brillantkresylblau Verwendung, das laut SEYFARTH (1927) der reinste und indifferenteste Vitalfarbstoff ist und zudem keine Zellstrukturen schädigt. Des weiteren hat es gegenüber Methylenblau den Vorteil, daß auch gleichzeitig Heinz-Körperchen angefärbt werden (OVERÄS, 1969). Durch die Supravitalfärbung mit Hilfe von Brillantkresylblau werden die Erythrozyten hellgrün bis blaugrün angefärbt. Die Substantia granulo-filamentosa zeigt sich in Form von bläulichen Punkt- bzw. Netzstrukturen, abhängig vom Reifegrad der Zelle. Es sei hier auf die Abbildung 54 in Kapitel 5 verwiesen, welche die Retikulozyten eines Ziegenlammes zeigt.

Die Bestimmung der Retikulozytenkonzentration unter Verwendung gebrauchsfertiger farbbeschichteter Objektträger (Testsimplets®) der Firma Boehringer hat sich aufgrund der Untersuchungen von HÜBY (1982) nicht bewährt. Er kommt zu dem Schluß, daß der Einsatz der Testsimplets beim Rind der konventionellen Methode nach Heilmeyer deutlich unterlegen ist und lediglich zur Orientierung bei hohen Retikulozytenkonzentrationen von > 5 % dienlich sein könne.

Nach RBC, PCV, HGB, Erythrozytenindizes und Retikulozyten sollen die Thrombozyten im nächste Kapitel Gegenstand der Betrachtung sein.

2.1.7. Thrombozyten

Im nachfolgenden Teil der Arbeit wird auf die Besonderheiten capriner und oviner Thrombozyten, anschließend auf manuelle Ermittlungsverfahren sowie auf Einflüsse und Fehler der Methoden zur Ermittlung der Thrombozytenzahl unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse bei kleinen Wiederkäuern eingegangen.

Die in der Literatur von verschiedenen Autoren angegebenen ovinen und caprinen Thrombozytenzahlen schwanken ganz erheblich, was anhand der nachfolgenden Tabelle verdeutlicht werden soll.

Tabelle 5: Variationen der Thrombozytenzahl bei Schaf und Ziege nach Angaben in der Literatur

Ziege: PLT (G/l)	Schaf: PLT (G/l)	Anzahl	Methode	Autor
---	≤ 3 M: 269-2357 > 3 M: 104-952	901	Technicon H*1	Beddies, 1999
---	SL: 857-1.065 JL: 785-942 t. MS: 735-840 s. MS: 645-955	184	visuell	Bossow, 1959
≤ 4 M: 187-384 2 M- 5 J: 165-395	---	150	n. Ress u. Ecker	Edjtehadi, 1978
---	75-575	29	visuell	Holman, 1944
28-116	---	50	visuell	Holman u. Dew, 1965
300-600	250-750	k. A.	k. A.	Jain, 1986
350-650	280-650	k. A.	k. A.	Kraft u. Dürr, 1997
Ø 621	---	3	visuell	Lewis, 1976 a
---	Ø 501	6		
378-656	---	7	visuell	Lewis, 1976 b
300-930	270-600	k. A.	k. A.	Mócsy, 1960
187-954	---	70	visuell	Ranitovic, 1925
---	0-505; Ø 202	k. A.	k. A.	Sanderson u. Phillips, 1981
250-600	250-750	k. A.	k. A.	Shermann u. Robinson, 1983
189-785	---	66	visuell	Wilkins u. Hodges, 1962
187-944	170-978	k. A.	k. A.	Wirth, 1950

(**SL** = Sauglämmer, **JL** = Jährlinge, **t.MS** und **s.MS** = tragende bzw. säugende Mutterschafe, **M** = Monate, **J** = Jahre)

Zunächst fällt auf, daß im Gegensatz zum RBC die Thrombozytenwerte, sofern die Methode angegeben ist, meist manuell ermittelt wurden.

Die niedrigsten Zellzahlen bei Schaf und Ziege ermittelten HOLMANN (1944) bzw. HOLMANN und DEW (1965) mit 28 G l für die Ziege und 75 G/l für das Schaf. Die

höchsten Zellzahlen zeigen sich dagegen bei bis zu 3 Monate alten Schaflämmern mit 2.357 G/l (BEDDIES, 1999). Bei den angegebenen Werten handelt es sich bereits um nach BEDDIES (1999) korrigierte Werte. Siehe dazu auch Kapitel 2.3.2.3. Die höchsten caprinen Werte ermittelte RANITOVIC (1925) mit 954 G/l.

2.1.7.1. Manuelle Bestimmung der Thrombozytenzahl

Für die Ermittlung der Thrombozytenzahl gibt es eine Fülle von Methoden, die hauptsächlich aus der unterschiedlichen Zusammensetzung der verwendeten Verdünnungslösungen resultieren. Zunächst sind hier die indirekten Methoden zu nennen, bei denen die Thrombozytenzahlen im gefärbten Ausstrich ermittelt wurden. Als eine früher häufig angewendete indirekte Methode ist die Methode nach Fonio zu nennen. Bei dieser 1912 entwickelten Methode wird zunächst auf das eine Ende eines Objektträgers ein Tropfen 14 % iger Magnesiumsulfatlösung aufgebracht. Anschließend wird mit einem paraffinierten Glasstab, der vorher in die gleiche Magnesiumsulfatlösung getaucht wurde, aus einer Kanüle Blut entnommen. Das sich am Glasstab befindende Blutgemisch wird danach mit der Magnesiumsulfatlösung auf dem Objektträger vermischt und ausgestrichen. Nach einer Panoptischen Färbung nach Pappenheim und Trocknung werden alle Thrombozyten unter 5000 Erythrozyten in mehreren mäanderförmig angeordneten Gesichtsfeldern ausgezählt. Die Thrombozytenzahl wird dann nach der folgenden Formel berechnet:

$$\text{PLT/ cm}^2 = \frac{\text{Erythrozytenzahl/ cm}^2 \times \text{Thrombozyten zwischen 2000 Erythrozyten}}{\text{Erythrozyten im Ausstrich}}$$

Die Schwierigkeiten, die bei der manuellen Ermittlung der Thrombozyten entstehen, gründen sich zum Teil auf die Zellen selbst, da sie über eine großen Vulnerabilität, eine Neigung zur Agglutination und Adhäsion sowie eine variable Morphologie verfügen (GERLOFF, 1935). Neben der hohen Zeit- und Arbeitsintensität der indirekten Methoden, sind sie auch mit nicht unerheblichen Fehlerquellen behaftet. Die Fehlerbreite des Resultats wird beispielsweise durch die Fehler in der Bestimmung der Erythrozyten erhöht. SCHÖNHERR (1961) ist sogar der Meinung, daß die zugrunde liegende konstante Beziehung zwischen den Thrombozyten

und Erythrozyten nicht existiert. GERLOFF (1935) gibt für die Methode nach Fonio eine Fehlerbreite von durchschnittlich 24 % an. Ursache dafür sei die Zerstörung der Thrombozyten durch das Ausstreichen und die Magnesiumsulfatlösung. Zudem würden bei dieser Methode nur 200-300 G /l Thrombozyten ermittelt und kleinere gar nicht erst erfaßt (GERLOFF, 1935).

Bei der Durchführung der direkten Thrombozytenzählung wird das Blut mit einer gerinnungshemmenden, evtl. einen Farbzusatz enthaltenden Flüssigkeit verdünnt. Während in der Vergangenheit Malachitgrün-, Kokain- oder auch Novocainlösungen bevorzugt verwendet wurden (BOSSOW, 1959; FROST, 1968), befinden sich derzeit Jenacain-, Procain- und Ammoniumoxalatlösungen im Gebrauch (FIEDLER u. TAUBE, 1971), wobei letzterer meistens der Vorzug gegeben wird. Für die Beschickung der feuchten Zählkammer wird in der Regel eine Verdünnung von 1 : 20 verwendet. Nach Verbringen in die Zählkammer und Sedimentation der Plättchen erfolgt schließlich eine visuelle Auszählung bei 400-facher Vergrößerung mittels des Phasenkontrastmikroskops und eine Multiplikation entsprechend des Verdünnungsfaktors.

FROST (1968) kommt aufgrund seiner Studien zu dem Schluß, daß das Ergebnis aller manuellen Thrombozytenzählungen aufgrund der Anzahl der Fehlerquellen nur ein Näherungswert sein kann. BOSSOW (1959) sieht ebenfalls die exakte und objektive Festlegung der Thrombozytenzahl durch die Unvollkommenheit der verschiedenen Zählmethoden erheblich beeinträchtigt und führt zudem an, daß auch die Labilität der Thrombozyten und die physiologischen Schwankungen dazu beitragen.

HOLMANN und DEW (1965) stellen den hohen technischen Fehler der Zählkammermethode heraus. Diese Methode weist auch einen deutlich höheren statistischen Fehler auf, da im Vergleich zur automatischen Zählung erheblich weniger Zellen gezählt werden. In diesem Zusammenhang sind auch die Ergebnisse von GREENE et. al. (1985) zu betrachten. Die Autoren ermittelten bei der Phasenkontrasttechnik einen Fehler von 11 - 16 %, während er bei der elektronischen Zählung bei 4 % liegt. So berichten auch NOLTE und AMMELOUX (1984) von einer kleineren Fehlerbreite der elektronischen Plättchenzählung gegenüber der Kammermethode. Dies wird auch von GREENE et. al. (1985) für die Tierarten Pferd, Rind, Schaf, Hund, Schwein, Maus, Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen und den Menschen bestätigt, während sie bei der Tierart Ziege zu anders lautenden Ergebnissen kamen. Der

Variationskoeffizient der visuellen Thrombozytenzählung war im Vergleich zur automatischen Methode bei allen anderen genannten Tierarten größer, außer bei der Ziege (GREENE et. al., 1985). MAXIE (1977) nennt einen Variationskoeffizienten von unter 12 % für die manuelle Bestimmung boviner Thrombozyten und einen Korrelationskoeffizienten von 0,89 bei elektronischer Zählung.

Auf die Diskrepanzen der automatischen Zählung bei der Auswertung von Ziegenblut wird in Kapitel 2.3. eingegangen.

2.1.8. Thrombozytenindizes MPV, PDW und PCT

Analog zu den Erythrozytenindizes ermitteln automatische Analyser auch das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV), die Thrombozytenverteilungsbreite (PDW) und den Thrombokritwert (PCT) und liefern damit nützliche Zusatzinformationen für die Diagnostik.

Im anschließenden Teil der Arbeit ist das weiße Blutbild Gegenstand der Betrachtung.

2.2. Weißes Blutbild

In diesem Kapitel werden die tierartlichen Besonderheiten kleiner Hauswiederkäuer bezüglich des weißen Blutbildes aufgezeigt und anschließend die manuellen Methoden zur Bestimmung derselben vorgestellt und diskutiert.

2.2.1. Gesamtleukozytenzahl

Ähnlich wie beim roten Blutbild zeichnet sich die Ziege auch im weißen Blutbild durch sehr hohe Zellzahlen (BOSS u. WANNER, 1977) und eine große Schwankungsbreite bezüglich derselben aus. Zur Veranschaulichung dessen werden in Tabelle 6 von verschiedenen Autoren ermittelte caprine Gesamtleukozytenzahlen gezeigt. Tabelle 7 beinhaltet Vergleichswerte anderer Tierarten.

Tabelle 6: Angaben verschiedener Autoren zur caprinen Gesamtleukozytenzahl, welche manuell bzw. *automatisch mit dem Colloscop 401 Medata ermittelt wurden.

WBC (G/l)	Tierzahl	Autor
5,5 – 16,2	17	Benda u. Hospes 1990
13,1 – 15,4	12	Boss u. Wanner 1977
8,0 – 18,1	137	Henn 1953
3,8 – 16,1	60	Lehrmann 1959
9,0 - 16,5	6	Lewis 1976 b
5,4 - 24,5	165	Pospíšil et. al. 1987
9,9 - 10,4	42	Pyne et. al. 1982
6,3 - 23,5	70	Ranitovic 1926
10,9 - 15,3	60	Roy et. al. 1965
10,6 - 14,4	60	Sharma et. al. 1973
5,9 - 21,1	18*	Vrzgula et. al. 1985
3,3 - 14,0	66	Wilkins u. Hodges 1962

Tabelle 7: Übersicht der WBC- Bereiche anderer Tierarten

WBC (G/l) der Tierarten					
Autor	Hund	Katze	Pferd	Rind	Schwein
Kraft u. Dürr 1997	6,0 – 12,0 (15,0)	6,0 - 11,0 (18,0)	5,0 –10,0	5,0 –10,0	10,0 – 22,0
Jain 1986	6,0 – 17,0	5,5 – 19,5	6,0 – 12,0	4,0 – 12,0	11,0 –22,0

(Werte) = bei Erregung

Aus den Tabellen 6 und 7 geht hervor, daß die Leukozytenzahl der Tierarten Pferd, Rind, Hund und Katze zwischen 4,0 und 12,0 G/l liegt, bei letzteren aber aufgrund von Erregung ein Anstieg des WBC bis auf 19,5 G/l erfolgen kann. Die von verschiedenen Autoren ermittelten caprinen WBC-Werte von über 20,0 G/l wurden auch bei der Tierart Schwein beobachtet.

2.2.1.1. Manuelle Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl

Die manuelle Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl erfolgt mittels der Zählkammermethode. Hierbei wird das Blut sowie Türk'sche-Lösung in die Leukozytenmischpipette gegeben. Die Lösung trägt zur Lyse der Erythrozyten und zur Anfärbung der Leukozyten bei. Nach Vorbereitung der Zählkammer werden die Leukozyten mikroskopisch ausgezählt (PLONAIT, 1980).

Häufige Verwendung findet hierbei die Zählkammer nach Neubauer, aber auch solche nach Fuchs und Rosenthal oder Bürker befinden sich im Gebrauch. Nach Ermittlung der Zellzahl erfolgt die Berechnung der Gesamtleukozyten nach der Formel:

$$\text{WBC}/\mu\text{l} = \text{ausgezählte Leukozyten/Verdünnung} \times \text{Kammerhöhe} \times \text{Kammerfläche}$$

Bei einem Verdünnungsfaktor von 1 : 20, einer Zählkammerhöhe von 1/ 10 mm und einer Zählkammerfläche von 4 mm² entspricht dies einer Multiplikation der gezählten Leukozyten mit dem Faktor 50 (WILLARD et. al., 1989).

Die ermittelte Leukozytenzahl ist schließlich noch um die fälschlicherweise als Leukozyten identifizierten Normoblasten zu korrigieren, die bei der Zählung nicht unterschieden werden können (PLONAIT, 1980). WILLARD et. al., 1989 führen diese Korrektur erst durch, sofern die Normoblasten mehr als 5 % des Differentialblutbildes ausmachen.

Für die Berechnung wird das Verhältnis von Leukozyten und Normoblasten im Differentialblutbild bestimmt und die korrigierte Leukozytenzahl nach der folgenden Formel berechnet (WILLARD et. al., 1989):

$$\text{korrigierte WBC} = 100 \times \text{kernhaltige Zellen d. WBC} / \text{Normoblasten} + 100$$

Die Genauigkeit des Ergebnisses hängt hier von der Größe und Genauigkeit der Verdünnung (PLUM, 1936), der Zuverlässigkeit des Zählenden, der Anzahl der gezählten Zellen und der Verteilung der Zellen in der Zählkammer (WEBER, 1992) ab. Unzuverlässige Untersucher und hohe bzw. ungenaue Verdünnungen führen zu systemischen Fehlern. Die Anzahl der gezählten Zellen sowie die Verteilung der Zellen in Verdünnung und Zählkammer können die Ursache für zufällige Fehler sein (WEBER, 1992).

Trotz sorgfältiger Durchführung ist bei der manuellen Bestimmung der Gesamtleukozytenzahl (WBC) mit einem Fehler von $\pm 20\%$ zu rechnen (PLONAIT, 1980; WILLARD et. al., 1989). Den Zählstatistikfehler, der durch die Standardabweichung beschrieben wird, geben PLUM (1936) und BERKSON et. al. (1940) bei einer Poissonverteilung noch mit $m = \sqrt{M}$ an, während WEBER (1992) eine exakte Standardabweichung von $SD = \sqrt{n+2}$ nennt (m = Standardabweichung; M = Anzahl der gezählten Zellen; SD = Standardabweichung; n = Anzahl gezählter Zellen).

Der Variationskoeffizient (CV) liegt bei $\sqrt{\frac{n+2}{n^2}} \cdot 100\%$. Je mehr Zellen demzufolge gezählt werden, desto geringer ist der statistische Fehler (PLUM, 1936; WEBER, 1992).

2.2.2. Differentialblutbild

2.2.2.1. Manuelle Bestimmung des Differentialblutbildes

Die Erstellung des Differentialblutbildes erfolgt mit Hilfe der Anfertigung eines gefärbten Blutausstrichs und der anschließenden mikroskopischen Bestimmung der Zellen. Für die Anfertigung eines Blutausstrichs gibt es die häufiger verwendete Objektträgermethode und die Deckglasmethode (GYLLENSWÄRD, 1929; STIENE-MARTIN, 1980).

Bei der Deckglasmethode wird ein Blutropfen auf ein Deckglas aufgebracht, ein weiteres Deckglas darüber gelegt und die Deckgläser in entgegengesetzter Richtung auseinandergezogen (BOVERI, 1939).

Eine Platzierung des Blutropfen etwas vom Rand des Objektträgers entfernt erfolgt bei der Objektträgermethode. Ein zweites Glas wird vor dem Blutropfen etwa im 45°- Winkel aufgesetzt und in Richtung des Objektträgerrandes bewegt, bis der Tropfen erreicht ist und dieser in der gesamten Länge dem Glasrand anhaftet. Danach wird der aufgenommene Blutropfen zügig in Richtung der freien Objektträgerfläche ausgestrichen (GYLLENSWÄRD, 1929; KRAFT u. DÜRR, 1997).

Nach Lufttrocknung des Ausstrichs erfolgt die Färbung. Zuverlässige Ergebnisse liefert hier die häufig verwendete Pappenheim-Färbung, eine kombinierte May-Grünwald-Giemsa-Färbung (Hemacolor®), während zahlreiche Schnellfärbungen zu raschem Verderb neigen und sich nicht selten durch eine grobe und undeutliche Anfärbung von Zellbestandteilen auszeichnen. Ebenfalls angebotene farbbeschichtete Objektträger sind wegen ihrer schlechten Detailerkennbarkeit und der häufig abweichenden Färbung nicht zu empfehlen (PLONAIT, 1980).

Die gleichmäßigsten, aber aufwendigsten Färbungen, werden mit Färbeautomaten erzielt (KRAFT u. DÜRR, 1997).

Präzision und Aussagefähigkeit des Differentialblutbildes hängen sowohl von nicht zu beeinflussenden als auch von zu optimierenden Faktoren ab. So ist laut GYLLENSWÄRD (1929) die Zusammensetzung der einzelnen Blutstropfen unterschiedlich, während bei der Zellverteilung im Blutausrich (Deckglasmethode) Zonen zu erkennen sind, in denen bestimmte Zelltypen vermehrt anzutreffen sind. So befänden sich größere Zellen, wie beispielsweise Monozyten, häufig im Randbereich, während Lymphozyten eher im zentralen Bereich lokalisiert seien. Die zonenartige Anordnung der verschiedenen Zelltypen im Ausstrich (Objektträgermethode) wird ebenfalls von BOVERI (1939), STIENE-MARTIN (1980) und DUTCHER (1984) beschrieben. PLUM (1936) dagegen geht von einer zufälligen und GOLDNER und MANN (1938) von einer ungleichmäßigen Verteilung der Zellen im Blutausrich aus.

Um die Zellidentifikation nicht zu erschweren, sollte ein nicht zu großer Blutstropfen verwendet werden (GYLLENSWÄRD, 1929), damit der Blutausrich (Objektglasmethode) nicht zu dick wird (WILLARD et. al., 1989). Auch der Versuch der Identifikation zerstörter Zellen führt häufig zu Fehlern (WILLARD et. al., 1989), weshalb ein randfreier Ausstrich von GYLLENSWÄRD (1929) und STIENE-MARTIN (1980) propagiert wird. Bezüglich der Technik des Blutausrichs (Objektträgermethode) wird von den beiden letzten Autoren ein unverzügter, zügiger und nicht bis zum Ende des Objektträgers reichender, zungenförmig auslaufender Ausstrich postuliert, um eine Agglutination der Zellen zu verhindern und der Zellverteilung Rechnung zu tragen.

Die Nachteile der Deckglasmethode sehen GYLLENSWÄRD (1929) und STIENE-MARTIN (1980) vor allem in der leichten Zerbrechlichkeit des Ausstrichs und der schwierig zu handhabenden Technik. GYLLENSWÄRD (1929) erwähnt zudem die Neigung zur baldigen Entfärbung aufgrund des zur Fixation benutzten Klebstoffs. BENTLEY (1990) beschreibt auch hier eine nicht sehr ausgeprägte, geringgradige Abweichung von der Zufallsverteilung, die in einer zentralen Ansammlung von Monozyten und Granulozyten und einer peripheren von Lymphozyten besteht. Um Färbefehler zu vermeiden, ist zum einen auf die Wahl der richtigen Methode zu achten, zum anderen sollte ein regelmäßiges Auswechseln der Färbelösung sowie eine Reinigung der Färbekammer stattfinden (WEISER, 1981).

Weitere Nachteile der manuellen Erstellung des Differentialblutbildes sind seine Kosten- und Zeitintensivität, Belastung der Mitarbeiter und Interpretationsfehler des Untersuchers (HYUN et. al., 1991).

Eine häufige Fehlerquelle stellte die Differenzierung zwischen stab- und segmentkernigen neutrophilen Granulozyten sowie die Unterscheidung zwischen Monozyten und Lymphozyten da. Für gut trainierte Untersucher ermittelte er einen Identifikationsfehler von 1 %.

GOLDNER und MANN (1938) und BENTLEY (1990) bezeichnen den statistischen Fehler als den wichtigsten. Die Autoren PLUM (1936), DUTCHER (1984), BENTLEY (1990) und WEBER (1992) stimmen darin überein, daß der statistische Fehler um so höher ist, je weniger Zellen gezählt werden. Dies bestätigen auch die Untersuchungen von SEEGER (1997) und GROMMELT (1999), die ein M-DIFF (100) bzw. (200) mit einem M-DIFF (400) verglichen. BENTLEY (1990) führt zudem an, daß die Verringerung des statistischen Fehlers durch eine höhere Anzahl gezählter Zellen nicht linear ist und dem Gesetz des sich schnell verringernden Ertrages unterliegt. PLUM (1936) beschreibt den statistischen Fehler unter der Voraussetzung einer zufälligen Zellverteilung mit der Formel: $m = \sqrt{n \cdot p \cdot q}$ (n = Anzahl gezählter Zellen; p = nicht klassifizierte Zellen; q = alle klassifizierten Zellen).

2.3. Automatische Zählverfahren

In Kapitel 3 werden die verschiedenen automatischen Meßprinzipien und -geräte vorgestellt und bezüglich ihrer Anwendung allgemein und speziell bei der Analyse von Schaf- und Ziegenblut diskutiert. Da die caprinen Blutzellen, wie in Kapitel 2.1. und 2.2. beschrieben, bezüglich Größe und Anzahl erheblich von denen anderen Tieren differieren und auch häufig an die Grenzen der Möglichkeiten von automatischen Meßgeräten und Verfahren stoßen, wird hier speziell auf diese Problematik eingegangen.

Für die automatische Ermittlung der Parameter des roten und weißen Blutbildes stehen heute eine Vielzahl von Meßgeräten zur Verfügung. Generell unterscheidet man zwei Meßmethoden, zum einen das Depositions- und zum anderen das Durchflußverfahren, die im nachfolgenden näher erläutert werden sollen.

2.3.1. Depositionsverfahren

In diesem Kapitel soll zunächst auf das Meßprinzip des Depositionsverfahren eingegangen werden, anschließend werden Vor- und Nachteile aufgezeigt sowie die von verschiedenen Untersuchern ermittelten Korrelationen gezeigt.

Die Depositionssysteme dienen vor allem der teilautomatischen Erstellung des Differentialblutbildes, bieten aber zum Teil auch die Möglichkeit von relativen Plättchen- und Retikulozytenzählungen. Sie arbeiten nach dem Mustererkennungsverfahren (Pattern recognition) (EDER u. FRITSCHKE, 1986). Die Parameter des roten Blutbildes werden nicht erfaßt (BURNS et. al., 1986).

Bei diesem System handelt sich um die Weiterentwicklung der manuellen Zelldifferenzierung (LEWIS, 1981). Die Identifikation der Leukozyten erfolgt anhand fixierter, nach Romanowsky, Wright oder Pappenheim gefärbter Blutaussstriche, die mit Hilfe eines computergesteuerten Mikroskops mäanderförmig abgetastet werden. Jede Zelle wird beim Analysevorgang automatisch fokussiert. Aus den Daten des Formerkennungsanalysers werden Zellmerkmale, wie beispielsweise Kernform, Chromatinstruktur, Nukleolen, Kern-Plasma-Relation und Granulierung des Zytoplasmas abgeleitet, mit gespeicherten

Referenz-Zelldaten verglichen und den einzelnen Kategorien zugeordnet (EDER u. FRITSCHKE, 1986).

Geräte, die nach diesem Prinzip arbeiten, sind beispielsweise Corning LARC (Corning Medical), Hematrak 360, 450J, 590 J (Geometric Data), Cell Analyser HE 635 und Microx 70 (Omron) und Abbot ADC 500 (Abbot Laboratories).

Die Vorteile dieses Systems liegen darin, daß die Klassifikation der Zellen vom Untersucher Zelle für Zelle überprüft werden kann.

Nachteile sind geringe Arbeitsgeschwindigkeit, die Notwendigkeit einer konstanten Überwachung, eine geringe Kostenersparnis und eine fehlerbehaftete Methodik, die Färbeartefakte und defekte Zellen falsch klassifiziert (BENTLEY u. LEWIS, 1977). Dies bestätigen auch die Untersuchungen von 187 Hundebloodproben durch ZIEGLER (1997). Denn bei einer Differenzierung von 100 Leukozyten durch den Microx 70 betrug die Zahl der nicht erkannten und manuell nachzudifferenzierenden Zellen durchschnittlich 18,8 % und maximal sogar 50,7%

MEGLA (1975) spricht das Problem der morphologischen Qualität der Ausstriche an. Der ideale Ausstrich, der über die gesamte Fläche des Objektträgers reichen, aus einer einzigen von Artefakten freien Zellschicht und sauber von einander getrennten Blutzellen bestehen sollte, wird am besten von automatischen Blutfilmherstellungsgeräten erzielt.

Die May-Grünwald-Giemsa-Lösung sowie häufig verwendete Färbemittel wie Leishman, Wright und Giemsa können aufgrund mangelnder Stabilität für den LARC-Analyser nicht genutzt werden (MEGLA, 1975).

LEWIS (1981) gibt zudem an, daß einige Geräte nicht in der Lage seien, eine eindeutige Unterscheidung zwischen Monozyten und Lymphozyten bzw. zwischen eosinophilen und basophilen Granulozyten zu treffen. Als Alternative nennt er den halbautomatisch arbeitenden Honeywell ACS 1000, einen computergesteuerten Blutausrichscanner, in dem lediglich Ortung und Fokussierung der Leukozyten automatisiert sind, während die Zellidentifikation weiterhin dem Untersucher vorbehalten bleibt.

Weitere Schwierigkeiten bereiten diesen Systemen tierartliche Unterschiede. Eine exakte Differenzierung ist nur mit tierartspezifischen Programmen möglich, die aber nur für einige Tierarten wie Ratte, Maus, Kaninchen, Minipig und Hund zur Verfügung stehen (EDER u. FRITSCHKE, 1986).

Da aufgrund der geringen Arbeitsgeschwindigkeit dieses Systems in der Regel lediglich 100 Zellen beurteilt werden (EGAN et. al., 1974; KRAUSE, 1990), obwohl die Geräte die Möglichkeit hätten, mehr Zellen zu differenzieren, ist der statistische Fehler bei einer Klassifizierung von 100 Zellen ebenso hoch wie bei der manuellen Differenzierung. Weiterhin führt KRAUSE (1990) an, daß die Geräte in ihrer Leistung zwar der manuellen Differenzierung gleichzusetzen sind, sich aber nicht durchsetzen konnten und die Produktion derselben inzwischen eingestellt wurde.

Eine Präzisionsstudie von BENZEL et. al. (1974), in der 500 humane Blutbilder mit dem Hematrak ausgewertet wurden, lieferte gute Korrelationen. Zu tendenziell ähnlichen Ergebnissen mit dem Hematrak 590 anhand der Beurteilung von 150 humanen Blutaussstrichen kamen auch WIELDING und LEBOY (1985). Und auch die Erstellung von 869 humanen Differentialblutbildern mit dem LARC- Analyser durch MEGLA (1973) zeigte diese Tendenz.

Allerdings gibt es auch anderslautende Studien. In einem Präzisionsvergleich von BACUS und GOSE (1972), dem 20 Humanproben zu Grunde lagen, welche mit einem American Optical Mikroskop Serie 20, einer Shibaden HV 15 Kamera und einem angeschlossenen Computer ausgewertet wurden, lagen die Durchschnittsfehler des Gerätes zwischen 4,98 und 28,77 %, die von erfahrenen Untersuchern dagegen zwischen 0,63 und 7,97 %.

BENTLEY und LEWIS (1977) erwähnten eine Übereinstimmung des LARC-Analysers mit der Referenzmethode von nur 85,1 %, bei der Analyse pathologischer humaner Blutbilder durch den Hematrak eine falsch positive Rate von 5,5 % sowie eine falsch negative von 12 %.

Auch die Korrelationen zwischen Hematrak und manueller Differenzierung von 0,71 für Neutrophile, 0,69 für Lymphozyten sowie 0,43 für Eosinophile aufgrund der Auswertung humaner Blutbilder (URMSTON et. al., 1979) sind als nicht gerade sehr gut zu bezeichnen, ebensowenig wie Korrelationen von 0,66 und 0,79 zwischen Referenzmethode und LARC- bzw. Hematrak-Analyser für Neutrophile und Lymphozyten, die auf der Auswertung 154 humaner Blutausstriche basieren (ROSVOLL et. al., 1979).

Im veterinärmedizinischen Bereich setzte ZIEGLER (1997) den mit einer Human-Software ausgestatteten Microx 70 bei der Untersuchung von 187 Hundebloodproben ein und erzielte recht gute Ergebnisse. Die Korrelationen zwischen Microx 70 und manueller Differenzierung

nach Pappenheim, bei der 100 Zellen differenziert wurden (M-DIFF (100)), sind hoch signifikant und betrugen 0,867 für Normoblasten, 0,808 für Neutrophile, 0,786 für Eosinophile, 0,769 für segmentkernige neutrophile Granulozyten, 0,759 für Lymphozyten, 0,568 für stabkernige neutrophile Granulozyten und 0,159 für Monozyten. Die hoch signifikanten Korrelationen zwischen den Werten von Microx 70 und M-DIFF (100) nach Wright bewegten sich zwischen 0,904 für die Normoblasten, 0,792 für die Eosinophilen und 0,630 für die Monozyten bzw. 0,577 für die stabkernige neutrophile Granulozyten. Bessere Korrelationen wurden zwischen Microx 70 und dem M-DIFF (100) mit der α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung ermittelt. Die hoch signifikanten Korrelationen lagen für Monozyten und Eosinophile bei 0,819, für Monozyten bei 0,775 und für Lymphozyten bei 0,760.

Die Variationskoeffizienten des Microx 70 lagen nur für Neutrophile (9,1 %) und für segmentkernige neutrophile Granulozyten (9,8 %) unter 10 %. Für die anderen Leukozytenarten wurden Werte zwischen 25,8 % (Lymphozyten) und 78,6 % (Basophile), für die Blasten sogar 478,6 % ermittelt. Die Variationskoeffizienten der Leukozytenpopulationen lagen im Durchschnitt 17,55 % höher als beim Technicon H*1. Einzige Ausnahme bildeten hier die Basophilen, bei denen der H*1 einen 50,8 % höheren Variationskoeffizienten aufwies (ZIEGLER, 1997).

2.3.2. Durchflußverfahren

In diesem Kapitel wird zunächst das zu Grunde liegende Prinzip der Durchflußverfahren beschrieben. Bevor auf die einzelnen Verfahren (Impedanzmethode, Fluoreszenzmessung, optoelektrische Meßprinzipien) näher eingegangen wird, soll auf die Bedeutung von Meßöffnungsgröße, Schwellenwert und Schwellenwerteinstellung insbesondere bei der Analyse von Ziegenblut hingewiesen werden.

Nach EDER und FRITSCH (1986) arbeiten die meisten Geräte nach dem Durchflußverfahren, wobei das Blut eine winzige Meßöffnung passiert und anschließend nach unterschiedlichen Prinzipien ausgewertet wird. Zu nennen sind hier die Impedanzmethode, die Fluoreszenzmessung und optoelektrische Meßprinzipien.

Um Meßungenauigkeiten und –fehler zu vermeiden ist es wichtig, daß die Meßöffnung nur geringgradig größer ist als der Durchmesser zu zählender Zellen. Außerdem müssen Schwellenwerte im Softwareprogramm installiert sein bzw. manuell eingegeben werden können um zu verhindern ,daß Rauschimpulse, die zufällig entstehen, als Zellen gezählt werden (WEBER, 1992) und um die verschiedenen Blutzellen korrekt zu differenzieren. Unter einem Schwellenwert versteht man hier also die kleinste Größe, die ein Partikel aufweisen muß, um als eine bestimmte Zelle registriert zu werden.

Auch die Änderung des Schwellenwertes ist für die Analyse von Tierblut sehr wichtig, da die Blutanalysegeräte im Allgemeinen für die Humanmedizin entwickelt werden, die Blutzellen der Haustiere aber andere Charakteristika aufweisen. Zudem gibt es noch erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies beispielsweise in Anzahl und Größe der Erythrozyten (LAVIN et. al., 1991). Ist ein Meßgerät z.B. auf humane Parameter eingestellt, würden Schaf- und Pferdeerythrozyten, die ein deutlich geringeres Volumen als humane zeigen, nicht oder nur zu einem Bruchteil erfaßt (WEBER, 1992). Hierzu sei auch noch einmal auf Tabelle 1 verwiesen.

Da die Ziege aber, wie bereits vorher erläutert wurde, über noch kleinere Erythrozyten als Pferd und Schaf verfügt, und einige Counter nicht in der Lage sind solche mit einem kleineren MCV als 55 oder 60 fl zu messen (WEISER, 1983), fordern WEISER (1987a), MBASSA und POULSEN (1991) sowie TVEDEN (1993) speziell modifizierte Geräte für die Analyse von Ziegenblut.

2.3.2.1. Impedanzmethode

Nach der kurzen Schilderung des Meßprinzips, wird sich dieses Kapitel mit den Vor- und Nachteilen der Impedanzmethode auseinandersetzen. Abschließend werden die von verschiedenen Autoren bei Methodenvergleichen ermittelten Korrelationen dargestellt.

Bei der Impedanzmethode, auch als Coulter- bzw. konduktometrisches Prinzip bezeichnet, wird das mit einer Elektrolytlösung verdünnte Blut durch eine winzige Meßöffnung gesaugt; der sich beim Durchtritt eines Partikels ändernde elektrische Widerstand wird gemessen und in ein Signal umgesetzt. Das Signal ist abhängig von dem Volumen und der Durchflußzeit des

Partikels, (EDER u. FRITSCHKE, 1986). Die nach diesem Prinzip arbeitenden Geräte, wie beispielsweise Sysmex F 800 (Firma TOA Medical Electronics), Coulter Modell S und S Plus (Coulter Electronics) oder Celltrak 11 (Firma NOVA biomedical), liefern ein kleines Blutbild (PIERRE, 1985). Neuere Geräte wie Sysmex NE 8000, Coulter STKS und VCS sowie Cell-Dyn 3000, die MCV, Erythrozyten- und Thrombozytenzahlen mit Hilfe der Impedanz bestimmen und zusätzlich ein Differentialbild bieten, ermitteln dies durch optoelektrische Verfahren (ROSIER et. al., 1993)

Ein Nachteil der Impedanzmessung ist, im Gegensatz zu anderen Methoden, das häufigere Auftreten sogenannter Überlappungsfehler (Koinzidenzfehler). Sie ergeben sich bei gleichzeitiger Meßöffnungspassage zweier oder mehrerer Zellen, da die Partikel nur als eine Zelle gezählt werden. Diese vor allem bei hohen Zellzahlen auftretenden (ZIEGLER, 1997) und damit für kleine Wiederkäuer absolut relevanten Fehler führen zu starken Abweichungen, die durch die Wahl einer sehr kleinen Meßöffnung verringert werden können. Folge davon ist aber ein häufigeres Verstopfen derselben (BRITTIN u. BRECHER, 1976).

MOHANDAS et. al. (1986) erwähnen zudem, daß die Erythrozyten beim Passieren der Meßöffnung Kräften ausgesetzt sind, die deren Verformung bewirken und damit eine Beeinflussung des MCV und davon abhängiger Parameter bewirken können.

Ein weiterer Nachteil dieser Geräte ist die fehlende Schwellenwertanpassung bzw. die Festlegung der Schwellenwerte in Bereichen, die für caprine Erythrozyten und Thrombozyten nicht geeignet sind. Die Schwellenwerte der meisten Geräten sind für die Analyse des caprinen Blutes viel zu hoch gewählt, da bei dieser Tierart das Mittlere Erythrozytenvolumen (MCV häufig unter 20 fl liegt (WILKINS u. HODGES, 1962; HOLMAN, 1963; GAUTAM, 1965; SHARMA et. al., 1973; EDJTEHADI, 1978; POŠPISIL et. al., 1987; FAIRLEY et. al., 1988).

Die Coulter Counter Modelle S 550 und S Plus klassifizieren Partikel von 1 - 20 fl als Thrombozyten (BESSMAN, 1980), die untere Erythrozytenschwelle liegt bei 36 fl (WEISER, 1983 u. 1987 a; SCHOENTAG, 1988). BIENZLE et. al. (1994) arbeiteten mit einem für die Veterinärmedizin modifizierten Coulter S Plus-System mit einer unteren Erythrozytenschwelle bei 27 fl.

Auch der von WILLIAMS (1984) beschriebene Coulter Modell S mit einem Thrombozytenbereich zwischen 2-20 fl und einer unteren Erythrozytenschwelle bei 24 fl ist für die Analyse von Ziegenblut nicht geeignet.

Ein zusätzliches Problem ergibt sich durch die Überschneidung der Zellgrößen von Erythrozyten und Thrombozyten bei kleinen Wiederkäuern (FROST, 1968; SPÄTH u. WEBER, 1992; BEDDIES, 1999) und bei der Katze (WEISER, 1983; BIENZLE et. al., 1994; MISCHKE et. al., 1995; SUCHFORT, 1998), so daß eine exakte Trennung dieser Zellen nicht möglich ist. Dies führt vor allem bei den Thrombozyten zu erheblichen Meßverfälschungen, während die um den Faktor 1000 höheren Erythrozytenzahlen nur unwesentlich durch fehlerhaft gezählte Thrombozyten beeinflusst werden (BEDDIES, 1999).

SPÄTH und WEBER (1992) erzielten für die Erythrozytenwerte gute Korrelationen im Celltrak 11 / Zählkammermethoden-Vergleich für die Tierarten Rind, Pferd, Schwein, Hund, Katze, Kaninchen und Ratte. Größere Abweichungen ergaben die Vergleiche bei der Tierart Schaf. Bei der Ziege kam es jedoch zu keiner Übereinstimmung der Methoden für das RBC, obwohl das Gerät die Möglichkeit einer Schwellenwertanpassung bot.

BEDDIES (1999) erhielt beim Vergleich der Werte von Sysmex F 800 und Kammerzählung für die ovine Thrombozytenzahl einen nicht signifikanten Korrelationskoeffizienten von 0,371.

GREENE et. al. (1985) ermittelten bei Rind, Pferd, Schaf, Schwein, Hund, Maus, Ratte, Kaninchen, Meerschweinchen und Mensch im Vergleich Coulter ZBI mit der manuellen Methode für die Thrombozyten Korrelationen von 0,936 und darüber. Die schlechteste Korrelation ergab sich auch hier wieder für die Ziege mit $r = 0,838$.

Bei Katzenblutanalysen mit dem Sysmex F 800 war in 50 % der Fälle nur eine näherungsweise Trennung von Erythrozyten und Thrombozyten möglich (MISCHKE et. al., 1995).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch SUCHFORT (1998) bei der Untersuchung von 246 Katzenblutproben. Bei 51 % der Proben zeigten sich überlappende Volumenverteilungskurven von Erythrozyten und Thrombozyten und lediglich bei 49 % eine näherungsweise Trennung der beiden Blutzellarten.

In diesem Zusammenhang sind auch die deutlichen Unterschiede der Variationskoeffizienten von Sysmex F 800 (25,7 %) und Technicon H*1 (4,6 %) für die Thrombozytenzahl der Katze zu betrachten (SUCHFORT, 1998).

2.3.2.2. Fluoreszenzmessung

Nach der Darstellung des Meßprinzips werden in diesem Kapitel die Vor- und Nachteile der Fluoreszenzmessung genannt. Im Anschluß an die allgemeine Betrachtung werden Vor- und Nachteile sowie Korrelationskoeffizienten für Differentialblutbild und Zellzählung sowie Retikulozytenzählung genannt.

Diesem unter anderem zur Differenzierung der Leukozyten eingesetzten Verfahren liegt eine Anfärbung mit Fluoreszenzfarbstoffen und eine anschließende Erfassung mittels Photomultiplier zu Grunde. Gemessen werden die Fluoreszenzintensität oder die spektrale Charakteristik der Strahlung (BRAYLAN, 1983). Bei dieser Methode können bis zu drei Farbstoffe verwendet werden um verschiedene Zellkomponenten anzufärben (DANIEL, 1992).

So zeigt das unter anderem im „Cytofluograf“ der Firma Biophysics, New York, verwendete Acridinorange in Verbindung mit DNA eine grüne, mit RNA eine rote Fluoreszenz (MELAMED et. al., 1972; LEWIS, 1981).

Man unterscheidet Geräte, die nur nach diesem Prinzip arbeiten (z.B. das Partikel Analyser System PAS der Fa. Partec) und solche, bei denen zusätzlich das Streulichtprinzip eingesetzt wird, wie z.B. bei FACS Analyser 400, 420, 440 (Becton u. Dickinson), Epics 5 (Coulter), Cytograf, ICP 22A, Spectrum 3 (Ortho Molter), MPV Compact Flow (Leitz) und Fluvo-Metricell (Martinsried) (EDER und FRITSCHKE, 1986).

Das System bietet den Vorteil, daß neben Partikelzahlen auch Zellmerkmale erfaßt werden (EDER und FRITSCHKE, 1986). Zerstörte Zellen zeichnen sich beispielsweise durch eine mattere Färbung aus (HAGELTORN und SAAD, 1986).

Eine exakte mikroskopische wie zytofluorometrische Differenzierung von Monozyten und Lymphozyten ist laut JAIN (1991) nicht möglich. Als Ursache dafür vermutet er die

Variationen in der Größe boviner Lymphozyten, die zu Überlappungen zwischen großen Lymphozyten und Monozyten führen könnten. Er schlägt deshalb eine gemeinsame Klassifizierung als mononukleäre Zellen bei der Verwendung der Zytofluorometrie vor und empfiehlt, die Differenzierung durch monoklonale Antikörper vorzunehmen.

Auf die Methode der Klassifizierung von Lymphozyten mittels monoklonaler Antikörper greifen beispielsweise SMITH et. al. (1994) in ihrer Analyse oviner Leukozyten zurück.

2.3.2.2.1. Differentialblutbild und Zellzählung

HAGELTORN und SAAD (1986) ermittelten bei Untersuchungen mit dem Cytograf beim Menschen sechs, bei Rind hingegen nur fünf Leukozytenpopulationen. Die Gruppe der juvenilen Neutrophilen fehlte beim Rind. Außerdem zeigten die Autoren auf, daß die Lokalisation der Eosinophilen- und Neutrophilenwolke im Vergleich beider Leukogramme erheblich differierte.

Während eine vergleichende Untersuchung des bovinen Differentialblutbildes zwischen Durchflußzytofluorometrie und konventioneller Mikroskopie für die Neutrophilen gute Korrelationen lieferte (SAAD u. HAGELTORN, 1985), erhielten JAIN et. al. (1991) bei einer Untersuchung von 50 Holstein-Kühen nur mäßige Korrelationen für Lymphozyten, Monozyten, Neutrophile und Eosinophile. Die Korrelationskoeffizienten für Lymphozyten, neutrophile und eosinophile Granulozyten lagen zwischen 0,752 und 0,833. Hinsichtlich der Monozyten fand sich ein Korrelationskoeffizient von 0,147.

Zu ähnlichen Diskrepanzen bei humanen Monozyten und Lymphozyten kamen auch MELAMED et. al. (1972) in ihren Untersuchungen mit einem Cytofluorometer der Firma Bio/ Physics Systems Inc., New York. Diese Ergebnisse basierten auf die Auswertung von 50 Patientenproben.

Bezüglich der Gesamtleukozytenzahl ermittelten JAIN et. al. (1991) einen Korrelationskoeffizienten von 0,35 zwischen automatischer Zählung und Fluoreszenzmessgerät.

2.3.2.2.2. Retikulozytenzählung

KOJIMA et al. (1989) prüften die Ergebnisse des Gerätes Sysmex R-1000, welches Retikulozytenzahl und 3 Reifeklassen angibt. Bei diesem Gerät werden die Zellen mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Auramin vitalgefärbt und in Mantelstromanordnung durch einen Argonlaserstrahl geführt. Gemessen werden anschließend die Fluoreszenzintensität als Maß für den RNA-Gehalt und der Streulichtcharakter zur Beurteilung von Größe und Dichte der Zelle. Pro Minute werden 30.000 Zellen analysiert. Die Untersuchung von Humanblut ergab einen hohen Korrelationskoeffizienten mit der konventionellen Methode und eine hohe Reproduzierbarkeit. Allerdings zeigte das Gerät bei hohen Retikulozytenkonzentrationen über 10 % zu geringe Werte an.

Die Untersuchung an verschiedenen Tierarten durch FUCHS und EDER (1991) mit dem gleichen Gerätetyp, der jedoch 10 Reifeklassen unterschied, führte für Kaninchen, Ratte, weiße Maus, Vielzitzenmaus, Hund und Schwein zu guten Ergebnissen. Aufgrund der niedrigen Retikulozytenkonzentrationen bei Hauswiederkäuern und Katze bereitete deren Ermittlung Probleme.

SCHMITZ et. al. (1985) beschreiben ein nach diesem Verfahren arbeitendes Gerät, welches die Zellen mit Akridinorange anfärbt und durch Bestimmung von RNA-Gehalt und Zellvolumen die Retikulozyten differenziert. Da es 100.000 Zellen pro Minute mißt, liegen die Vorteile hier sowohl in der Zeitersparnis als auch in der Genauigkeitssteigerung. Der ermittelte Korrelationskoeffizient zur konventionellen Methode beträgt für humane Blutproben 0,97.

2.3.2.3. Optoelektrisches Meßprinzip

In diesem Kapitel werden nach Schilderung des Meßprinzips Vor- und Nachteile sowie von verschiedenen Autoren ermittelte Korrelationen dargestellt.

Beim optoelektrischen Meßprinzip fließt das verdünnte Blut durch eine Küvette, die seitlich von einer Lichtquelle beleuchtet wird. Häufig findet dabei ein Laserstrahl Verwendung, da

dieser ein intensives monochromatisches Licht erzeugt (BRAYLAN, 1983; EDER u. FRITSCHKE, 1986). Danach unterscheidet man zwei verschiedene Methoden: die Streulichtmessung und das absorbimetrische Verfahren.

Bei der Streulichtmessung wird das an den Partikeln vorbeigleitende Streulicht (scatter light) mittels Photomultiplier gemessen. Beim absorbimetrischen Verfahren hingegen wird die von den Zellen bewirkte Schwächung des Lichtstrahls gemessen und in Signale umgesetzt (EDER u. FRITSCHKE, 1986). Die Geräte, die nach diesem Prinzip arbeiten sind vielseitig. Wichtige Vertreter sind u.a. ELT 8, 800, 8/ ds, E 7 (Ortho Molter), Hemalog D, H 6000, H*1, H*2, H*3 (Technicon Instr.) und ADVIA 120 (Bayer Diagnostics).

Bei den Geräten von Technicon und Bayer Diagnostics werden das Streulicht- und Absorptionsprinzip mit einer zytochemischen Anfärbung der Zellen kombiniert. Auf eine detailliertere Beschreibung der Methode im Untersuchungsteil sei hier verwiesen. Bei den Analysern STKS und VCS (Coulter Electronics) und Cell-Dyn 3500 (Abbot) wird nur das weiße Blutbild nach diesem Prinzip ermittelt (ROSIER et. al., 1993).

Vorteile dieses Verfahrens sind die hohe Präzision und Richtigkeit (BOLLINGER et. al., 1987; WATSON und DAVIES, 1987; WENZ et. al., 1987; SCHOENTAG, 1988; NELSON et. al., 1989; SWAIN, 1991; ROSIER et. al., 1993), die die Geräte durch das Zählen von 10.000 und mehr Zellen pro Minute erreichen (LEWIS, 1981). THOMAS et. al. (1989) ermittelten eine höhere Präzision des Technicon H*1 als beim manuellen Differentialblutbild, bei dem 500 Zellen gezählt wurden (M-DIFF (500)).

Weitere Vorteile sind ein hohes Maß an Automation, eine hohe Analysegeschwindigkeit, hohe Probendurchlaufzeiten und eine relativ einfache Handhabung (BOLLINGER et. al. 1987; BENTLEY et. al., 1993). Daraus resultiert eine zeit- und kostengünstige Methode der Blutanalyse (NELSON et. al., 1989; DAVIES u. FISHER, 1991).

Ein wesentlicher Fortschritt aller optischen Zellzähl- und -differenzierungsgeräte ist die Entwicklung und der Einsatz der hydrodynamischen Fokussierung. Hierbei fließt der Probenstrom eingebettet in einem sogenannten „Hüll- oder Mantelstrom“ durch die Küvette. Der Hüllstrom unterscheidet sich in seinen optischen Eigenschaften nicht vom Reagenz und führt bei der Messung zu keiner Beeinflussung des Ergebnisses. Vorteil dieses Verfahrens ist, daß der Probenstrom bis zum Durchmesser einer Zelle verjüngt werden kann, ohne daß die Verstopfungsgefahr zunimmt. Da die Zellen zudem keinen hydrodynamischen Schwerkraften

unterliegen, können sie auch nicht verformt werden. Verschmutzungen durch Protein- und Fettablagerungen können nicht entstehen, da die Probe im Mantelstrom nicht an die Wandung der Küvette gelangt. Schließlich treten beim Einsatz von Lasern Dejustierungen und eine damit verbundene Verringerung der Streulichtintensität aufgrund von Änderungen an der Lichtquelle, an der Küvettenposition oder der Strömung des Probenstroms bzw. zu gleichen Konsequenzen führende Ablagerungen am Küvetteneingang in wesentlich geringerem Umfang auf als beim Einsatz von Halogenlampen (WEBER, 1992).

EDER und FRITSCH (1986) erwähnen zudem ein geringeres Auftreten von Koinzidenzfehlern.

Als einen weitere Pluspunkt bezeichnet FOSSAT et. al. (1987) die durch die spezielle Methodik des Technicon H*1 möglich gewordene Messung der Parameter RDW und HDW, die in Form von Histogrammen wertvolle Informationen für die Anämiediagnostik liefern.

LEWIS (1981) führt noch genauer aus, daß durch diese Geräte die Klassifizierung von Anämien sowie frühzeitiges Erkennen des Ansprechens auf eine Therapie und die Kontrolle von Chemotherapien möglich wird.

BURNS et. al. (1986) und WEJBORA (1992) bemängeln, daß die Analysegeräte nicht in der Lage sind, Stäbe, Blasten, atypische Lymphozyten und kernhaltige Erythrozyten exakt zu klassifizieren.

DE CRESCE (1986) dagegen hält die Beflaggungen (Fehlermeldungen) beim Auftreten solcher Zellen sowie die Form der Datenausgabe beim H*1 für ausreichend, so daß pathogene Blutbilder gut identifiziert und gegebenenfalls nachdifferenziert werden können.

Und auch NELSON et. al. (1989) loben die spezifische Beflaggung des H*1 gegenüber dem Coulter S Plus 4, der nur unspezifische Fehlermeldungen zeigt, was nicht auf deren Ursache schließen läßt.

Der wesentliche Vorteil des H*1 gegenüber anderen Geräten bei der Analyse von Tierblut besteht darin, daß er die Blutzelldimensionen und Zellzahlen einiger Tierarten durch eine Multispezies Software berücksichtigt (DAVIES u. FISHER, 1991; TVEDTEN, 1993).

Bezüglich des roten Blutbildes im Humanbereich berichten BOLLINGER et. al. (1987) und DEVREESE et. al. (1991) von guten Korrelationen. KERSHAW et. al. (1987) und MIERS et. al. (1991), die den H*1 mit dem Coulter S Plus 4 verglichen, schreiben aber von Diskrepanzen der Parameter MCHC ($r = 0,455 - 0,545$) und MPV ($r = 0,63 - 0,671$).

Für den Bereich des roten Blutbildes ermittelten TVEDTEN und WILKINS (1988) im Vergleich der Werte von Coulter S Plus Senior und H*1 für die Tierarten Hund und Pferd gute Korrelationen. Im Vergleich Coulter S Plus Senior mit dem Ortho ELT 8/ ds wurden für Rind und Katze gute Korrelationen ermittelt, während bei Hund und Pferd Diskrepanzen für das MCV auftraten. Die ovinen Parameter HGB (0,85), MCV (0,76) und HKT (0,59) zeigten mäßige bis schlechte Korrelationen. Die Indizes MCH, MCHC, PLT, MPV und PDW waren nicht Gegenstand der Untersuchung.

Sehr gute bis befriedigende Korrelationen im Vergleich H*1 und Sysmex F 800 für das rote Blutbild erzielten auch ZIEGLER (1997), SEEGER (1997), SUCHFORT (1998) und GROMMELT (1999) jeweils für die Tierarten Hund, Pferd, Katze bzw. Rind (siehe deren Dissertationen). BEDDIES ermittelte im H*1/ F 800 Vergleich für die Parameter RBC ($r = 0,793$), HGB ($r = 0,957$), PCV ($r = 0,762$) und MCV ($r = 0,881$) gute bis akzeptable Korrelationen. Entsprechend den Ergebnissen in der Humanmedizin ergaben sich für MCHC und MPV bei den Tierarten Hund, Katze Pferd und Schaf ebenfalls erheblich schlechtere Korrelationen (ZIEGLER, 1997; SUCHFORT, 1998; SEEGER, 1997; BEDDIES, 1999). Zudem korrelierten im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen auch die Plättchen im H*1/ F 800 Vergleich bei den Tierarten Rind (0,76), Pferd (0,609), Schaf (0,514) und Katze (0,453) schlechter (GROMMELT, 1999; SEEGER, 1997; BEDDIES, 1999; SUCHFORT, 1998).

BEDDIES (1999) berichtet zudem von zu hoch ermittelten Thrombozytenzahlen ($> 1000 \times 10^9/l$) bei Schafen bis zu einem Alter von 3 Monaten. Da das Gerät aber mit Hilfe einer Fehlermeldung anzeigt, daß hier keine eindeutige Trennung zwischen kleinen Erythrozyten und Thrombozyten erfolgt und in einem Untermenü den Anteil der kleinen Erythrozyten, die im Thrombozytenkanal gemessen wurden exakt ausweist, korrigierte BEDDIES die Thrombozytenzahl nach den folgenden Schritten:

- 1) Kleine Erythrozyten/ Thrombozytenzahl x 100 = a %
- 2) $100 - a = b \%$
- 3) Thrombozytenzahl x b % = korrigierte Thrombozytenzahl

(a = Anteil der kleinen Erythrozyten an allen gezählten Thrombozyten;

b = Anteil der Thrombozyten an allen gezählten Thrombozyten)

Eine Korrektur der Erythrozytenzahl unterbleibt, da die um den Faktor 1000 höhere Erythrozytenzahl durch fehlerhaft differenzierte Thrombozyten nur unwesentlich beeinflusst würde (BEDDIES, 1999).

Im humanmedizinischen Bereich wurden für diese Geräte bezüglich des weißen Blutbildes gute Korrelationen erreicht mit Ausnahme der Parameter Monozyten und Basophile.

So zeigte ein Gerätevergleich H*1, H 6000 und VCS bei 100 untersuchten Proben für Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile Korrelationen zwischen 0,99 und 0,95, während diese sich für die Monozyten und Basophilen zwischen 0,68 und 0,84 bzw. 0,21 und 0,75 bewegten (STØLSNES et. al., 1990). Zu tendenziell ähnlichen Ergebnissen kam auch WEJBORA (1992) aufgrund einer Untersuchung von 510 Humanproben und in einem Vergleich H*1, VCS, NE 8000 und M-DIFF (4x200). Die erzielten Korrelationen für Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile lagen hier sehr hoch zwischen 0,99 und 0,92, während sich für die Monozyten (0,53 - 0,72) und Basophilen (0,04 - 0,46) erheblich schlechtere Werte ergaben. Auch bei der von BUTARELLO et. al. (1992) durchgeführten Testreihe, bei der 202 Humanproben mit den Geräten H*1, NE 8000, STKS und CD 3000 untersucht wurden und der M-DIFF (4x200) die Referenzmethode darstellte, zielte die Übereinstimmung des Gerätevergleichs in diese Richtung. Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile korrelierten zwischen 0,973 (H*1) und 0,888 (CD 3000), Monozyten dagegen lagen zwischen 0,757 (STKS) und 0,49 (NE 8000) und die Basophilen nur zwischen 0,532 (H*1) und 0,078 (CD 3000). Eine entsprechende Tendenz zeigten auch die vergleichenden Untersuchungen von H*1 und M-DIFF (400) durch DEVREESE et. al. (1991), denen 2038 Humanproben zugrunde lagen.

MIERS et. al. (1991) dagegen ermittelten im Vergleich H*1 (A-DIFF) und M-DIFF (4x200) auch für Basophile (0,925) und Monozyten (0,797) relativ gute Korrelationen. Ihre Ergebnisse stützen sich auf die Analyse von 501 humanen Blutproben.

Auch im veterinärmedizinischen Bereich zeigen sich beim weißen Blutbild Diskrepanzen hinsichtlich der Parametern Monozyten und Basophile.

Während EGELI et. al. (1998) bei der Analyse von Proben neonataler Ferkel zwischen H*1 und M-DIFF (100) für die Parameter Neutrophile und Lymphozyten sehr gute bis befriedigende Ergebnisse erhielten, korrelierten die Monozyten nur mit 0,41. Die Vergleiche der Autoren TVEDTEN und WILKINS (1988) zwischen H*1 und M-DIFF (100) bei Hund und Pferd zeigen deutlich schlechtere Korrelationen hinsichtlich der Monozyten (0,04 und 0,18) als bezüglich der restlichen Parameter des Differentialblutbildes. Beim Vergleich Ortho 8/ws und M-DIFF (100) korrelierten die Monozyten mit 0,64 (TVEDTEN u. WILKINS, 1988). Beim Vergleich zwischen H*1 und M-DIFF (100), dem 700 canine Blutproben zugrunde lagen, zeigten auch wieder die Ergebnisse für Monozyten (0,24) und Basophile (0,00) die geringsten Korrelationen (TVEDTEN u. HAINES, 1994). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch TVEDTEN und KORCAL (1996) bei einem Vergleich des H*1 mit dem M-DIFF (100) bei den Tierarten Rind, Pferd und Katze. Zusätzlich wurde eine schlechte Korrelation der felines Eosinophilen (0,12), dafür aber eine recht gute der bovinen Basophilen festgestellt. Die gleichen Diskrepanzen im Vergleich H*1 und M-DIFF (100) bezüglich der felines Eosinophilen ($r_{PAN} = 0,243$; $r_{POX} = 0,206$; $r_{ANAE} = 0,234$) und Monozyten ($r_{PAN} = 0,190$; $r_{POX} = 0,109$; $r_{ANAE} = 0,668$) traten auch bei den Untersuchungen von SUCHFORT (1998) zu Tage. SEEGER (1997), ZIEGLER (1997) und GROMMELT (1999) ermittelten beim Vergleich H*1 und M-DIFF (100) bzw. (200) bei der Analyse von Pferde- ($r_{PAN} = 0,270$; $r_{POX} = 0,445$; $r_{ANAE} = 0,388$), Hunde- ($r_{PAN} = 0,465$; $r_{POX} = 0,354$; $r_{ANAE} = 0,414$), und Rinderblut ($r_{PAN} = 0,244$; $r_{POX} = 0,364$; $r_{ANAE} = 0,529$) ebenfalls keine besseren Korrelationen für die Monozyten.

Die ovinen Neutrophilen, Lymphozyten und Eosinophilen korrelierten im H*1/ PAN, POX bzw. ANAE Vergleich zwischen 0,869 und 0,949, während die Korrelationskoeffizienten für Monozyten ($r_{PAN} = 0,234$; $r_{POX} = 0,140$; $r_{ANAE} = 0,265$) und Basophile ($r_{PAN} = 0,441$; $r_{POX} = -0,01$; $r_{ANAE} = 0,326$) eine deutlich schlechtere Übereinstimmung mit den manuellen Methoden zeigten (BEDDIES, 1999).

III. Eigene Untersuchungen

In diesem Kapitel werden zunächst die Tiere, deren Blut untersucht wurde beschrieben. Anschließend werden die verschiedenen Methoden, mit deren Hilfe dies erfolgte, aufgezeigt.

3.1. Tiere

Grundlagen für die Untersuchung bildeten Blutproben von 257 Ziegen und 212 Schafen. Die Ziegen stammen überwiegend aus Privathaltungen, die Schafe zum größten Teil vom Versuchsgut Oberer Hardthof der Justus-Liebig-Universität (JLU) Gießen. Einzelne Tiere entstammten dem Patientengut der Klinik für Wiederkäuer u. Schweine (Innere Medizin u. Chirurgie) bzw. der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz und dem Institut für Veterinär-Physiologie der JLU.

3.1.1. Rasse, Alters- und Geschlechtsverteilung

Die nachfolgenden Tabellen 8 und 9 zeigen die Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung der Tiere, deren Blut die Basis für die Untersuchungen darstellte.

Tabelle 8: Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung der untersuchten Schafe

Rasse	n	Geschlecht		Alter			
		♀	♂	≤ 6 Mon.	> 6-12 M.	> 1-5 J.	> 5 Jahre
Merinolandschaf	126	126	-	53	61	4	8
Romanov	26	23	3	3	10	11	2
Schwarzkopfschaf	17	17	-	5	3	9	-
Rhönschaf	14	12	2	1	1	10	2
Heidschnucken	5	1	4	5	-	-	-
Texelschaf	1	-	1	-	-	1	-
ML- Kreuzung	16	13	3	8	-	8	-
sonstige Kreuzung	7	7	-	-	1	3	3
Gesamt:	212	199	13	75	76	46	15

Aus Tabelle 8 geht hervor, daß der überwiegende Anteil der Schafe weiblichen Geschlechtes war. Die am häufigsten vertretene Rasse war das Merinolandschaf, und die meisten Tiere waren zwischen 6 Monaten und einem Jahr alt.

Tabelle 9: Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung der untersuchten Ziegen

Rasse	n	Geschlecht		Alter			
		♀	♂	≤ 3 Mon.	> 3-12 M.	> 1-5 J.	> 5 Jahre
Bunte Dt. Edelziege	111	103	8	3	44	43	21
Weißer Dt. Edelziege	43	40	3	-	11	23	9
Burenziege	41	37	4	1	14	26	-
Toggenburger	27	25	2	3	2	22	-
Waliser Schwarzhalsz.	9	7	2	-	-	7	2
Zwergziege	2	2	-	-	-	2	-
BDE- Kreuzung	12	10	2	-	6	3	3
Buren- Kreuzung	7	7	-	-	1	5	1
BDE x Burenziege	5	5	-	-	1	4	-
Gesamt:	257	236	21	7	79	135	36

Die untersuchten caprinen Proben stammten zum überwiegenden Teil von weiblichen Tieren, die am häufigsten der Rasse der Bunten Deutschen Edelziege angehörten und zwischen einem und fünf Jahren alt waren (Tabelle 9).

3.2. Methodik

3.2.1. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte durch Punktion der Vena jugularis nach vorheriger manueller Stauung. Das frei ablaufende Blut wurde anschließend in mit K₂-EDTA beschichteten 5,0 ml Röhrchen aufgefangen und die Parameter innerhalb eines Zeitraumes von maximal 4 Stunden danach bestimmt.

3.2.2. Methodenvergleich

Tabelle 10 zeigt die Geräte bzw. Methoden, mit denen die Blutproben für die Geräteevaluation und Softwareadaptation untersucht wurden.

Tabelle 10: Verwendete Geräte und Methoden für die Geräteevaluation

Zellzählung:	Zelldifferenzierung:
1. ADVIA 120	1. ADVIA 120
2. Technicon H*1	2. Technicon H*1
3. Sysmex F 800	3. Panoptische Färbung nach Pappenheim
4. Mikrohämatokritzentrifuge	4. Peroxidase Färbung
5. Retikulozytenfärbung	5. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung
6. Zählkammer nach Neubauer	

Für die Geräteevaluation im Bereich der Zellzählung wurde der ADVIA 120 mit den Ergebnissen von Technicon H*1, Sysmex F 800, der Mikrohämatokritzentrifuge, der Retikulozytenfärbung und der Zählung in der Kammer nach Neubauer verglichen. Bei der Zelldifferenzierung dienten die Panoptische Färbung nach Pappenheim, Peroxidase Färbung und α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung und die Technicon H*1-Messung als Evaluationsgrundlage.

Die Softwareadaptation erfolgte in 4 Schritten. Zunächst wurden 108 ovine bzw. 109 caprine Proben mit einer Rohsoftware (SW 1) gemessen. Nach Auswertung der Ergebnisse von Präzision und Methodenvergleich wurde in Zusammenarbeit mit der Herstellerfirma eine überarbeitete Softwareversion (SW 2) erstellt ($n_{\text{ovin.}} = 41$; $n_{\text{caprin}} = 51$). Korrelationen und Ergebnisse dieses Entwicklungsschrittes sind in der vorliegenden Arbeit nicht angegeben, da die wesentlichen Parameter, die eine Korrektur erfuhren, in diesem Stadium nicht mit Zahlenwerten ausgedrückt wurden. Aufgrund der Auswertung von SW 2 wurde dann SW 3 ($n_{\text{ovin.}} = 31$; $n_{\text{caprin}} = 52$) entwickelt und auf deren Grundlage die Endsoftware (SW 4) erstellt. Für die SW 4 wurden 32 ovine und 31 caprine Patientenproben gemessen.

3.2.2.1. Referenzgeräte und –methoden

Als Referenzmethoden für die Blutzellzählung dienten bei beiden Tierarten der Sysmex F 800, die Mikrohämatokrit-Zentrifuge und die Retikulozytenfärbung. Bei der Ziege erfüllte zusätzlich die Zählung in der Kammer nach Neubauer und beim Schaf der Technicon H*1 diesen Zweck. Letztgenanntes Gerät wurde beim caprinen Blut zusätzlich als Vergleichsgerät eingesetzt.

Referenzmethoden für die Blutzelldifferenzierung stellten bei beiden Tierarten die verschiedenen Färbungen da.

3.2.2.2. Technicon H*1

Beim Technicon H*1 der Firma Bayer Diagnostics, München, handelt es sich um ein auf dem optoelektrischem Meßprinzip basierendem Durchflußzytometer.

Die Ermittlung der verschiedenen Blutparameter des kleinen und großen Blutbildes erfolgt in vier analytisch getrennten Schritten und in drei Kanälen. Während die Hämoglobinbestimmung im Photometer erfolgt, werden die Parameter, die mit Hilfe der Erythrozyten- und Thrombozytenmethode sowie der Basophilen-Methode ermittelt werden, im Laserkanal bestimmt. Für die Messungen nach der Peroxidase-Methode steht der Peroxidasekanal zur Verfügung.

3.2.2.2.1. Hämoglobin–Methode

Die Hämoglobinkonzentration wird beim H*1 photometrisch in einer Durchflußkolorimeterküvette mit einem 8 mm Lichtweg bei 546 nm ermittelt. Dabei handelt es sich um eine modifizierte und mit erheblich geringerem Zeitaufwand zu bewerkstelligende Version der vom ICSH (International Committee for Standardization in Haematology Protocol) entwickelten manuellen Zyanhämoglobinmethode (Kosanke u. Schneider, 1991).

Der Hersteller gibt einen Linearitätsbereich zwischen 1 und 28 g/dl Hämoglobin sowie eine Verschleppung von weniger als 0,2 % an. Außerdem könnten sehr hohe Leukozytenzahlen zu einer Beeinflussung der Methode und zu falschen Ergebnissen führen (Bayer Diagnostics, 1992).

3.2.2.2.2. Erythrozyten- und Thrombozyten-Methode

Die Erythrozyten- und Thrombozytenzählung, die K-EDTA als Antikoagulanzen benötigt, erfolgt nach entsprechender Verdünnung der Probe, bei der eine isovolumetrische Aufkuglung der Erythrozyten und Thrombozyten sowie eine Fixation der Zellen mit Glutaraldehyd stattfindet. Anschließend erfolgt eine Berechnung und Auswertung der ausgelösten Signale. Diese auf Kim und Ornstein beruhende Methode wird mittels eines optischen Zytometers durchgeführt.

Die Erythrozyten- und Thrombozytenanalyse erfolgt durch die Doppelwinkel-Laser-Streulichtmessung von Einzelzellen im Niedrigwinkelbereich von 2 - 3°. Die Darstellung im Erythrozytencluster ist deshalb zweidimensional, während die der Thrombozyten eindimensional ist.

Die Parameter MCH und MCHC werden errechnet, wobei letztgenannter Parameter mit einem zusätzlich gemessenen „CHCM“ verglichen wird. Bei einer Abweichung zwischen gemessenem und errechnetem MCHC von über 5 % erfolgt eine Fehlermeldung oder „Beflagung“ des Ergebnisses (KOSANKE 1999). EVB und HVB werden aus den Verteilungskurven der Zytogramme ermittelt.

Bei der Thrombozytenzählung gibt die Firma Bayer eine Verschleppung von ca. 0,1 % an. Die Erythrozytenzählung ist im Bereich von $0,1 - 7,0 \times 10^6$ Zellen/ μl linear. Die maximale Abweichung beträgt $0,1 \times 10^6$ Zellen/ μl (Bayer Diagnostics, 1992).

3.2.2.2.3. Peroxidase-Methode

Die dem H*1 zu Grunde liegende Peroxidase-Methode geht auf Saunders, Groner und Kusnetz zurück und wurde später von Ausley und Ornstein modifiziert (Bayer Diagnostics, 1992).

Nach Lyse der Erythrozyten und Anfärbung peroxidasehaltiger Leukozyten werden letztere photometrisch durch ihr Absorptions- und Streuverhalten klassifiziert. Anschließend erfolgt eine Trennung in die verschiedenen Leukozytenfraktionen und aufgrund der Multispezies-Software eine tierartspezifische Clusterung.

Beim Perox-Zytogramm wird auf der x- Achse die Lichtabsorption und auf der y- Achse das durch die Größe der Zellen bedingte Streulicht dargestellt, wobei jede Achse die Ergebnisse von 50 Zählkanälen zeigt.

3.2.2.2.4. Basophilen-Methode

Im Basophilenkanal schließlich werden der Probe eine Mischung aus Netzmittel und organischer Säure zugesetzt. Daraus resultiert eine Lyse von Erythrozyten und der nicht lyseresistenten Leukozyten-Membranen, das sogenannte „Stripping“. Membranen der basophilen Granulozyten werden nicht lysiert, da sie gegen diese Stoffe resistent sind. Bei der von Cremins und Orlik entwickelten Methode wird die Probe anschließend im Zweiwinkel-Laserstreulicht analysiert und in die Kategorien basophile Granulozyten, mononukleäre bzw. polymorphkernige Leukozyten eingeteilt (Kosanke u. Schneider, 1991). Das Ergebnis der Doppelwinkel-Laserlichtmessung wird in einem Koordinatensystem als charakteristische Punktwolke, dem sogenannten Nukleogramm oder Basoscattergramm, dargestellt. Des weiteren wird aufgrund des Verhältnisses der beiden Zellkernklassen ein Index der zellulären

Reifung gebildet und durch spezifische Signale Linksverschiebungen, Blasten, atypische Lymphozyten oder Normoblasten angezeigt (Kosanke u. Schneider, 1991).

Da der Technicon H*1 über keine spezifische Software-Einstellung für Wiederkäuer verfügt, wurden die Proben aufgrund von Voruntersuchungen und Erfahrungen von BEDDIES (1999) mit der Tierarteneinstellung „Ratte“ gemessen. Die Abbildungen 49 und 52 (Kapitel 5) zeigen jeweils einen Ausdruck des Technicon H* 1 für die Tierart Schaf bzw. Ziege.

3.2.2.3. ADVIA 120

Der nach gleichem Meßprinzip wie der H*1 arbeitende ADVIA 120 der Firma Bayer Diagnostics, München, weist einige Vorteile gegenüber dem Vorgängermodell auf.

Zunächst verfügt das neu entwickelte Gerät über eine Multispezies-Software mit spezieller Einstellung für die Tierarten Schaf und Ziege und berücksichtigt damit tierartliche Besonderheiten, die sehr wichtig für die Analyse insbesondere des roten Blutbildes sind.

Zusätzlich bietet der ADVIA 120 im Laserkanal einen weiteren Analyseschritt zur Bestimmung von Retikulozyten an. Diese Zellen werden durch die Anfärbung ihrer RNA mittels Oxazin 750, einem Methylenblauabkömmling, bestimmt (MORITZ et. al., 1999).

Die auf der Mie-Theorie beruhende Erythrozyten- und Thrombozytenanalyse ist jetzt das Ergebnis einer 2-Doppelwinkel-Streulichtmessung, die zu einer weiteren Verringerung von Indifferenzen führt. Im Gegensatz zum H*1 werden hier die Zellen zusätzlich zum Niedrigwinkelbereich ($2 - 3^\circ$) in einem Hochwinkelbereich ($5 - 15^\circ$) gemessen. Im Niedrigwinkel wird das Zellvolumen und im Hochwinkel der Brechungsindex gemessen (MACEY et. al., 1999). Dies ermöglicht eine exakte Abtrennung der Thrombozyten von Erythrozytenfragmenten, Zelltrümmern, Riesenthrombozyten, Mikrozyten, Fragmentozyten und eine sichere Thrombozytenbestimmung bis zu 2000 Zellen/ μl . Außerdem ermöglicht diese Methodik die Bestimmung zusätzlicher Parameter wie das Mean Platelet Component (MPC), was den mittleren internen Thrombozytenbestandteil beschreibt; es handelt sich dabei

um ein Maß für die Thrombozytengranula. Weitere neue Parameter sind die Verteilungsbreite des PC (Platelet Component Distribution Width „PCDW“), die mittlere Thrombozytenmasse (Mean Platelet Mass „MPM“), die Verteilungsbreite der Thrombozytenmasse (Platelet Mass Distribution Width „PMDW“), große Thrombozyten (Large Platelets „large PLT“) sowie Erythrozytenfragmente (RBC Fragments) und isolierte Erythrozytenmembranen (RBC Ghosts). Der Niedrigwinkel-Meßbereich für die Thrombozyten liegt zwischen 1 und 30 fl, für große Thrombozyten zwischen 30 und 60 fl. Der Meßbereich für die Erythrozyten ist nach unten nicht abgegrenzt (KOSANKE, 1999).

Eine verbesserte Auflösung und Beurteilbarkeit des Differentialblutbildes wird beim ADVIA 120 durch die Verdopplung der Zählkanäle von 50 auf 100 bei der Peroxidase-Methode erreicht. Zudem werden weitere Cluster für Normoblasten und Thrombozytenaggregate zur Verfügung gestellt. Das Cluster „Rauschen“ wird zu einem variablen Cluster, welches sich tierartlich und individuell der Probe anpaßt.

Das neue Gerät verfügt über eine erweiterte Linearität bezüglich der Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten und des Hämoglobins.

Durch höhere Sensitivität und Selektivität der Warnsignale, die Einführung weiterer Parameter und die zusätzliche Leukozytenbestimmung im Basokanal werden außerdem Kontrollmechanismen angeboten, die zur Qualitätssicherung beitragen.

Durch die Kombination von Analyseeinheit und angegliederter Computereinheit mit der Software WINDOWS[®] NT ist auch eine vereinfachte Handhabung gegenüber dem H*1 festzustellen. Die Möglichkeit, Proben mittels des Racksystems zu messen, ist ein weiterer Aspekt, der zur Zeit- und Kostenminimierung beiträgt.

Der farbige Bildschirm und die vielfältige Möglichkeit der Auswahl der Ausgabeparameter und -graphiken bieten weitere Vorteile gegenüber dem H*1. Beispiele für einen ADVIA 120 Ausdruck finden sich in Kapitel 5 (Abb. 50 und 53). Nachfolgend werden einige ausgewählte Beispiele für die Bildschirmanzeige am Gerät gezeigt.

Die Abbildung 1 zeigt die Perox-Scattergramme eines einjährigen Merinolandschafes (198) und der vierjährigen Burenziege „Christine“ (246).

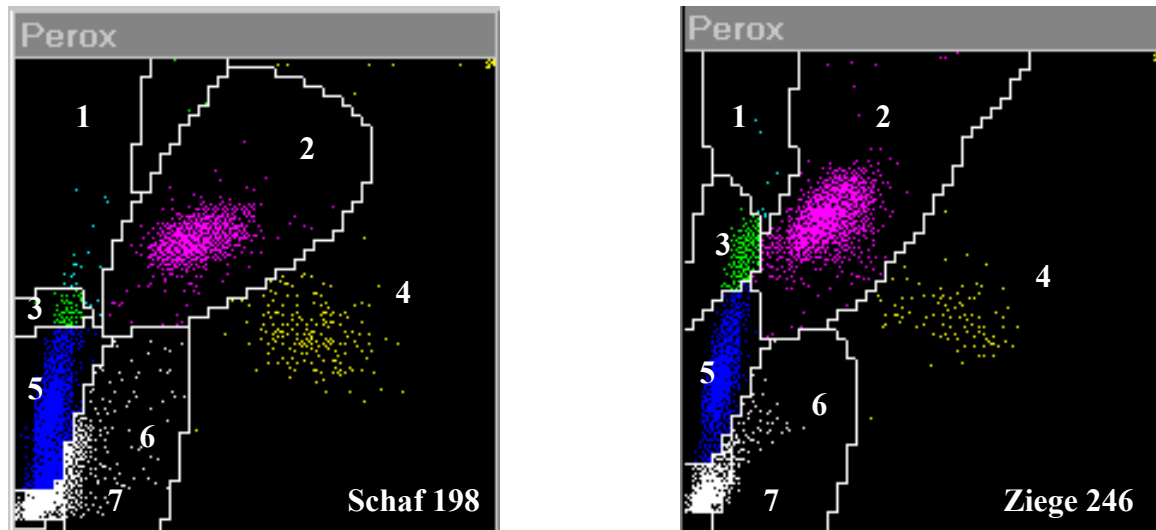


Abbildung 1: Perox-Scattergramme der Tierarten Schaf und Ziege

1 = Large Unstained Cells (große ungefärbt Zellen)

2 = Neutrophile Granulozyten

3 = Monozyten

4 = Eosinophile Granulozyten

5 = Lymphozyten

6 = Thrombozytenaggregate

7 = Zelltrümmer (Rauschen)

Wie an der Abbildung 1 zu erkennen ist, zeigen die Perox-Scattergramme von gesunden Hauswiederkäuern die vorher erläuterten, gut abgegrenzten Leukozytenfraktionen.

In der Abbildung 2 sind die Baso-Scattergramme eines einjährigen Merinolandschafes (182) und einer einjährigen Bunten Deutschen Edelziege (221) dargestellt.

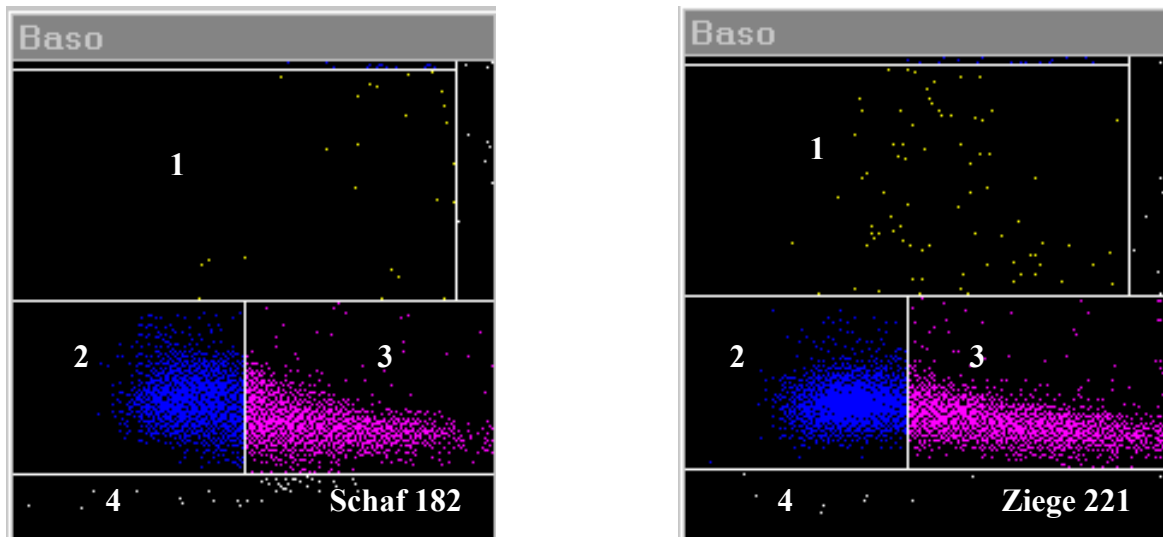


Abbildung 2: Baso-Scattergramme der Tierarten Schaf und Ziege

1 = Basophile Granulozyten

2 = Mononukleäre Leukozyten (Monozyten und Lymphozyten)

3 = Polymorphnukleäre Leukozyten (Neutrophile und eosinophile Granulozyten)

4 = Zelltrümmer (Rauschen)

Das Baso-Scattergramm gibt den Anteil von polymorph- und mononukleären Leukozyten an. Bei gesunden Tieren zeigt das Verteilungsmuster der genannten Zellen eine wurmartige Struktur. Ein Abweichen von dieser typischen Form kann Hinweise auf Linksverschiebungen und Leukämien geben.

Das Erythrogramm eines einjährigen Merinolandschafes (181) und einer einjährigen Bunten Deutschen Edelziege (220) wird in der Abbildung 3 vorgestellt. Diese Graphik, welche auch als Tic-Tac-Toe bezeichnet wird, weist auf ihrer Längsachse die Werte für das Volumen und auf der Querachse diejenigen für den Hämoglobingehalt der Erythrozyten auf.

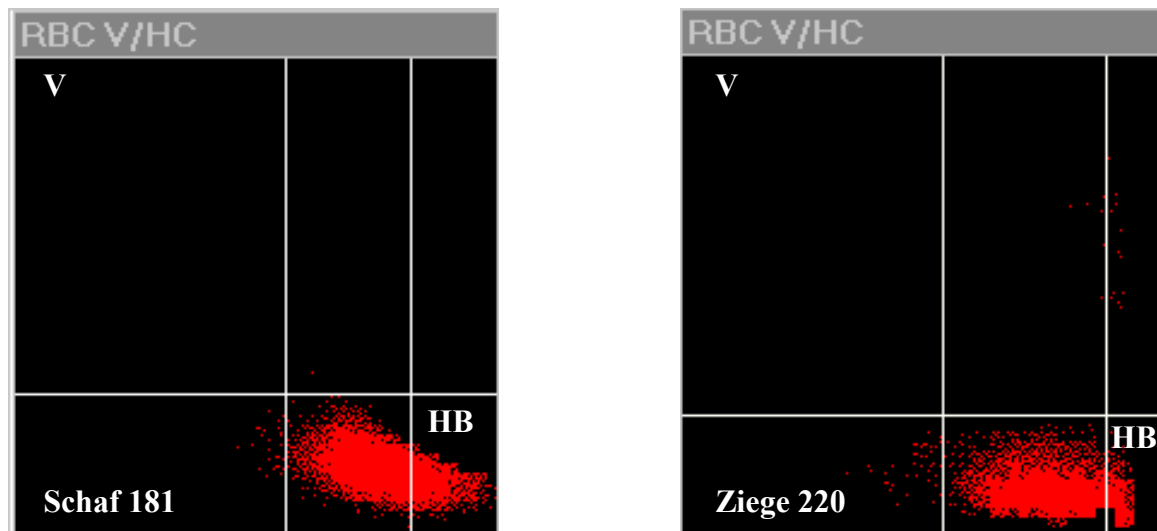


Abbildung 3: Tic-Tac-Toe der Tierarten Schaf und Ziege

V = Volumen

HB = Hämoglobingehalt

Das sogenannte Tic-Tac-Toe stellt die Erythrozyten in Abhängigkeit von Volumen und Hämoglobingehalt dar. Während das Erythrogramm anderer Tierarten neun Bereiche mit dem zentral gelegenen normozytär-normochromen Bereich zeigt, zeichnet es sich bei kleinen Hauswiederkäuern nur durch sechs Bezirke aus. Der normozytär-normochrome Bereich liegt aufgrund der geringen Erythrozytengröße bei diesen Tierarten im mittleren unteren Quadranten. Der mikrozytäre Bereich ist bei Schaf und Ziege nicht Bestandteil des Tic-Tac-Toe.

Abbildung 4 beinhaltet die PLT-Scattergramme eines einjährigen Merinolandschafes (187) und einer vierjährigen Bunten Deutschen Edelziege (213).

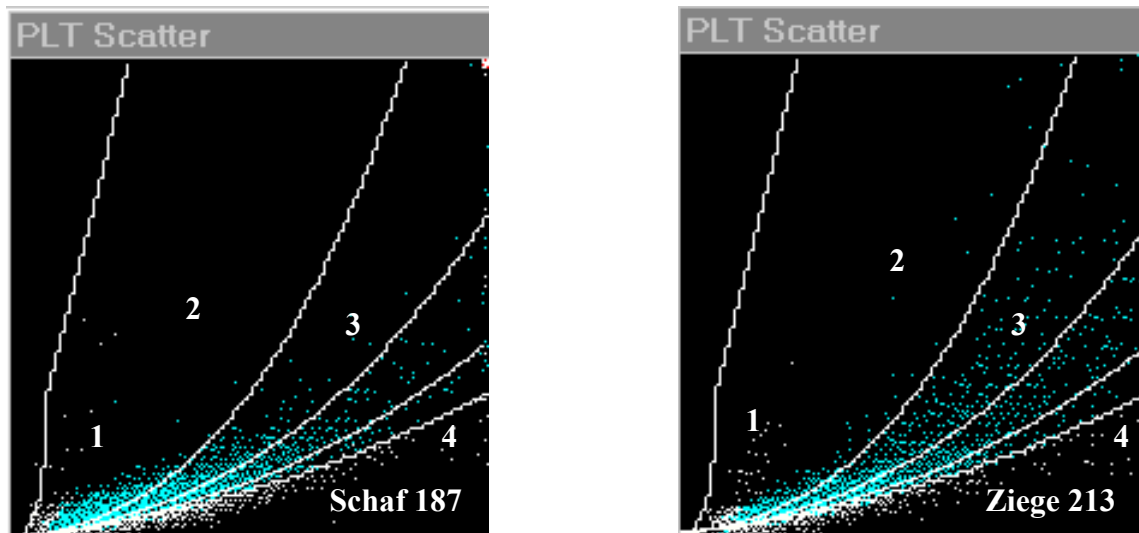


Abbildung 4: PLT-Scattergramm der Tierarten Schaf und Ziege

- 1 = Zelltrümmer (Rauschen)**
- 2 = leere Erythrozytenmembranen**
- 3 = Thrombozyten (1- 30 fl)**
- 4 = Erythrozytenfragmente**

Im PLT-Scattergramm werden Thrombozyten von leeren Erythrozytenmembranen, Erythrozytenfragmente und Zelltrümmer differenziert dargestellt. Im Gegensatz zu anderen Tierarten sind hier keine großen Thrombozyten von 30- 60 fl vertreten.

3.2.2.4. Sysmex F 800

Der Sysmex F 800, ein auf dem Widerstandsmeßprinzip beruhendes halbautomatisches Blutanalyzesystem der Firma TOA Medical Electronics, Hamburg, ermittelt für die Tierarten Schaf und Ziege die folgenden Parameter: WBC, RBC, HGB, PCV, MCV, MCHC, PLT und RDW. Zudem wird die Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozytenverteilung graphisch in sogenannten Histogrammen dargestellt.

Die Ermittlung der verschiedenen Blutparameter erfolgt in getrennten Meßvorgängen, denen jeweils eine andere Verdünnung des Blutes zu Grunde liegt und die mit Hilfe des Autodilutor AD 260 (Firma TOA Medical Electronics Hamburg) erreicht wird.

Bei der WBC-Messung wird die zu untersuchende Probe mittels Zusatz von CELLPACK und QUICKLYSER verdünnt und die Leukozytenzahl ermittelt. Dies geschieht durch die vollständige Lyse der Erythrozyten und der Leukozyten-Zellmembranen durch den kaliumcyanat- und natriumnitroprussidhaltigen QUICKLYSER und die anschließende Zählung der Leukozytenkerne. Die Signale der Kerne werden hierbei durch eine variable Schwelle zwischen 30 und 60 fl diskriminiert. Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration erfolgt photometrisch aus dem gleichen Verdünnungsansatz.

Die Ermittlung der Parameter des roten Blutbildes erfolgt durch die Verdünnung des Blutes mit Hilfe des NaCl, K-EDTA, Borsäure und Na-Tetraborat-haltigen CELLPACK. Bei der Erythrozyten- und Thrombozytenzählung findet ebenfalls eine Diskriminierung statt. Der untere Schwellenbereich der ersteren liegt zwischen 25 und 75 fl, der obere zwischen 200 und 250 fl. Die Diskriminanten der Plättchen befinden sich zwischen 2 und 6 fl bzw. 12 und 30 fl (TOA Medical Electronics, 1989).

Für unsere Versuchsreihe wurden die ovinen Proben mit der Einstellung „Rind“ gemessen. Bei der Ziege wurde zusätzlich vor der Messung die Schwellenwerteinstellung für die Erythrozytenzählung geändert. Gegebenenfalls mußte der Schwellenwert bei Schaf und Ziege auch nach der Messung korrigiert werden, sofern die Meßergebnisse von gegebenen Standards abwichen.

In Kapitel 5 sind Originalausdrucke des Sysmex F 800 dargestellt. Abbildung 48 (Seite 160) zeigt die ovinen, Abbildung 51 (Seite 163) die caprinen Werte.

3.2.2.5. Mikrohämatokrit-Zentrifuge

Die Hämatokritwert-Ermittlung basierte auf einer Doppelbestimmung mit Hilfe der Zentrifuge Haematokrit 24 der Firma Hettich, unter Verwendung von Kapillarröhrchen und einer Ableseschablone. Die Zentrifugation erfolgte über jeweils 10 Minuten bei 5000 g.

3.2.2.6. Panoptische Färbung nach Pappenheim (PAN)

Nach Anfertigung und ausreichender Lufttrocknung (ca. 15- 20 Minuten) der Blutausstriche wurden diese für 3 Minuten in unverdünnte May-Grünwald-Lösung (Firma Merck Darmstadt) eingestellt. Nach darauffolgender 5-minütiger Spülung mit Phosphatpuffer erfolgte die 15-minütige Gegenfärbung mit 1 : 20 verdünnter Giemsa-Lösung (Firma Merck Darmstadt) und ein abschließendes Spülen mit Phosphatpuffer. Nach erneuter Lufttrocknung wurden die Ausstriche mit Entellan[®] der Firma Merck (Darmstadt) eingedeckelt.

3.2.2.7. Peroxidase-Färbung (POX)

Für den Peroxidase-Nachweis wurden luftgetrocknete Blutausstriche und das Färbeset LEUCOGNOST[®] POX der Firma Merck (Darmstadt) verwendet. Nach 1-minütiger Fixation mit dem Fixiergemisch und anschließender kurzzeitiger Spülung mit Leitungswasser erfolgte das Einstellen für 10 Minuten in die nach Anweisung frisch bereitete Färbelösung. Die anschließend mit destilliertem Wasser abgespülten und luftgetrockneten Objektträger wurden dann 2 Minuten mit Mayers Hämalaulösung (Firma Merck Darmstadt) gegengefärbt, erneut abgespült und getrocknet. Die Eindeckelung wurde mit Aquatex[®] der Firma Merck (Darmstadt) durchgeführt.

3.2.2.8. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung (ANAE)

Um bessere Ergebnisse bei der Monozytendifferenzierung zu erzielen, wurden luftgetrocknete Blutaussstriche mit dem zytochemischen Reagenziensatz LEUCOGNOST[®] EST der Firma Merck (Darmstadt) gefärbt. Hier erfolgte nach Fixation und Abspülung mit Aqua dest. eine 2-stündige Färbung mittels frisch angesetzter Färbelösung und Inkubation im Dunkeln. Die abgespülten Ausstriche wurden mit Mayers Hämaunlösung 30 Minuten gegengefärbt und mit Aquatex[®] der Firma Merck (Darmstadt) eingedeckelt.

Bei der manuellen Leukozytendifferenzierung (PAN, POX, ANAE) wurden jeweils 200 Zellen ausgezählt.

3.2.2.9. Retikulozytenfärbung

Für den Retikulozytennachweis wurden je 100 μ l Blut mit der gleichen Menge einer 1 % igen Brillantkresylblaulösung der Firma Sarstedt (Nürnberg) vermischt und nach 30-minütiger Reaktionszeit und erneutem Mischen auf einem Objektträger ausgestrichen. Nach ausreichender Lufttrocknung wurden die gefärbten Ausstriche mit Entellan[®] eingedeckelt. Zur Ermittlung der Retikulozytenzahl wurden je Ausstrich 1000 Erythrozyten gezählt und differenziert.

3.2.2.10. Zählkammerzählungen

Aufgrund der erheblichen Diskrepanzen zwischen den einzelnen Analysegeräten bei der Ziege hinsichtlich der Erythrozyten- und Thrombozytenzahl wurde eine Kammerzählung erforderlich. Diese wurden in einer Zählkammer nach Neubauer alten Typs durchgeführt.

3.2.2.10.1. Erythrozyten

Aufgrund der hohen Erythrozytenkonzentrationen bei der Ziege erfolgte die Zählung mit einer Blutverdünnung von 1 : 500; sie wurde in 10 Fällen ausgeführt. Als Verdünnungsmedium diente Hayemsche Lösung

3.2.2.10.2. Thrombozyten

Nach einer Verdünnung des Blutes auf 1 : 100 mit dem ammoniumoxalathaltigen Reagenz Thrombozahl[®] der Firma Merck (Darmstadt) und einer Wartezeit von 5 Minuten wurde die Lösung in die Zählkammer pipettiert. Zwecks Sedimentation der Thrombozyten erfolgte danach die 15 minütige Einstellung in eine feuchte Kammer. Als feuchte Kammer diente eine Petrischale, die mit einem in destilliertem Wasser getränkten Zellstoffstück beschickt war. Die Zählung der Plättchen in fünf Gruppenquadraten wurde bei 400-facher Vergrößerung mit Hilfe eines Phasenkontrastmikroskopes ausgeführt. Anschließend erfolgte die Multiplikation mit dem Faktor 5000. Um die Thrombozyten identifizieren zu können, war ein ständiges Spiel mit der Mikrometerschraube notwendig. Membranschnitten unvollständig lysierter Erythrozyten erschwerten dies noch zusätzlich. Außerdem ist festzustellen, daß sich bei einem Teil der Ziegen die Thrombozytenzählung als überaus schwierig erwies und nur niedrige Zellzahlen ermittelt werden konnten.

3.2.3. Präzision

Die Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg wurde durch Dreifachmessung einer jeden Blutprobe bestimmt.

Für die Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie wurde pro Tierart eine Patientenprobe 25-mal nacheinander gemessen.

Um eine Aussage über die Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte H*1, Sysmex F 800 und der Hämatokritzentrifuge über verschiedene Serien hinweg machen zu können, wurden die Proben mit diesen Geräten jeweils doppelt bestimmt.

3.2.4. Linearität und Carryover

Um eine mögliche Verschleppung von Zellen durch den ADVIA 120 nachzuweisen, wurden für jede Tierart, getrennt für das rote und weiße Blutbild, Verdünnungsreihen hergestellt und in bestimmter Reihenfolge gemessen.

3.2.4.1. Rotes Blutbild

Für das rote Blutbild wurden dafür jeweils mindestens 60 ml Blut (in 10 ml Röhrchen) in einer Kühlzentrifuge für 25 Minuten bei 4 °C und 750 g zentrifugiert. Danach wurde der zellfreie Überstand abpipettiert und als 0 % Pool bereitgestellt. Die konzentrierten RBC wurden zusammengegeben und mit dem 0 % Pool so verdünnt, daß eine Konzentration von mindestens $12,0 \times 10^{12}$ Erythrozyten/l und ein Volumen von mindestens 3,1 ml erreicht wurde. Anschließend wurden Verdünnungen von 0, 10, 20, 40, 60, 80 und 100 % hergestellt

Da zwischen den einzelnen Messungen keine manuelle Spülung mit NaCl bzw. auch keine automatische Spülung durch das Gerät erfolgen durfte, mußten die Proben nacheinander ohne zeitliche Verzögerung gemessen werden und evtl. bevorstehende Reagenzienwechsel vorweg genommen werden.

Die Messung der Proben mit dem ADVIA 120 erfolgte in der in Tabelle (11) beschrieben Reihenfolge.

Tabelle 11: Meßreihenfolge für die Linearität- und Carryover-Messung bei Schaf und Ziege

Meßnummer:		Verdünnung:
1 - 2	Linearität	0 % Pool
3 - 4		10 % Pool
5 - 6		20 % Pool
7 - 8		40 % Pool
9 - 10		60 % Pool
11 - 12		80 % Pool
13 - 14		100 % Pool
15 - 16	Carryover	0 % Pool
17		100 % Pool
18 - 19		0 % Pool
20		100 % Pool
21 - 22		0 % Pool
23		100 % Pool
24 - 25		0 % Pool
26		100 % Pool
27 - 28		0 % Pool
29		100 % Pool
30 - 31		0 % Pool
32		100 % Pool
33 - 34		0 % Pool

3.2.4.2. Weißes Blutbild

Für die Versuchsreihe zur Bestimmung des weißen Blutbildes wurden pro Tierart mindestens 80 ml Blut in 10 ml Röhrchen benötigt. Um das zellreiche Plasma herzustellen, erfolgte eine Zentrifugation des Blutes wie nachfolgend beschrieben:

- für 15 Minuten bei 300 g
- für 10 Minuten bei 300 g
- für 5 Minuten bei 600 g
- für 5 Minuten bei 600 g

Zwischen den einzelnen Zentrifugationsschritten wurden die leuko- und thrombozytenreichen Überstände jeweils abpipettiert und zusammengegeben, während die konzentrierten RBC verworfen wurden.

Um das leuko- und thrombozytenreiche Plasma (100 % Pool) zu erhalten, wurde das Blut bei 2500 U/min. nacheinander über 15, 10 und 5 Minuten zentrifugiert und mit dem 0 % Pool verdünnt, so daß eine Konzentration von mindestens 100×10^9 Leukozyten/l und 2500-3000 $\times 10^9$ Thrombozyten bei einem Volumen von mindestens 3,1 ml erreicht wurde. Anschließend wurden die gleichen Verdünnungen wie beim roten Blutbild hergestellt und in entsprechender Reihenfolge gemessen (Tabelle 11).

3.2.5. Antikoagulanzenvergleich

Einflüsse auf das Meßergebnis durch die Verwendung verschiedener Antikoagulanzen sollten anhand der Untersuchung von jeweils 10 Proben pro Tierart gezeigt werden. Die mit den Antikoagulanzen K_2 -EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat versetzten Proben wurden jeweils zweimal mit den Geräten ADVIA 120 und H*1 gemessen.

3.2.6. Verlaufsuntersuchungen

Um die Auswirkungen der Blutalterung auf die Ergebnisse zu beschreiben, wurde mit 10 Proben pro Tierart eine Verlaufuntersuchung durchgeführt. Hierfür erfolgt eine doppelte Untersuchung der Proben jeweils mit H*1 und ADVIA 120 direkt sowie 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48 und 72 Stunden nach der Entnahme, bei Lagerung bei 4 °C im Kühlschrank bzw. bei 22 °C im Raum.

3.3. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammpakets BMDP/ Dynamic Release 7.0 in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik des Institutes für Veterinärphysiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, unter der Leitung von AOR Dr. Klaus Failing.

Die graphischen Darstellungen wurden mit Hilfe der Computerprogramme PlotIt 2.0 (Verlaufsuntersuchung) und PlotIt 3.2 (Methodenvergleich) realisiert.

Da einige statistische Verfahren eine Normalverteilung voraussetzen, mußten nicht negative Parameter mit rechtsschiefer Verteilung logarithmisch transformiert werden. Eine Logarithmierung erfolgte, sofern der Variationskoeffizient größer als 0,4 war und durch diese Umformung eine bessere Annäherung an die Normalverteilung erzielt wurde.

3.3.1. Präzision und Methodenvergleich

Zur Bestimmung der Meßpräzision setzten wir das Programm BMDP 2V und eine einfaktorielle Varianzanalyse ein.

Im Rahmen des Methodenvergleichs wurden Einzelwerte verschiedener Meßverfahren mittels Korrelationsanalyse unter Verwendung des Programmes BMDP 6D einander gegenübergestellt und statistische Signifikanz des Zusammenhangs, Korrelationskoeffizient und Hauptkomponentengleichung ermittelt. Zudem wurde ein Mittelwertvergleich unter Anwendung von Wilcoxon- bzw. t-Test für verbundene Stichproben (Programm BMDP 3D)

durchgeführt. Diese Verfahren dienen der Berechnung von Mittelwertdifferenzen und deren Prüfung auf statistische Abweichungen vom Wert Null.

3.3.2. Linearität und Carryover

Die statistische Auswertung der Linearitätsmessung erfolgte mit Hilfe der Korrelationsanalyse unter Verwendung des Programms BMDP 6D.

Die Berechnung des Prozentsatzes der Zellverschleppung für den ADVIA 120 bei ovinen und caprinen Blutparametern erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{Verschleppung \%} = \bar{x}_{P1-P2} / \bar{x}_{P100} \cdot 100\%.$$

($\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert; P1-P2 = Differenz zwischen 0% Pool₁ und 0% Pool₂; P100 = 100% Pool)

Diese Formel wurde bereits von WATSON u. DAVIS (1987) bei einer Versuchsreihe mit gleichem Meßprotokoll angewendet.

3.3.3. Antikoagulanzen

Den Einfluß von verschiedenen Antikoagulanzen auf die Meßparameter von ADVIA 120 und H*1 überprüften wir in zwei Schritten. Zunächst wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholungen im Faktor Antikoagulanz mit Hilfe des Programmes BMDP 2V durchgeführt. Daran schloß sich der paarweise Vergleich verschiedener Antikoagulanzen mit Hilfe des t-Tests für verbundene Stichproben an. Um bei letztgenannter Auswertung die Irrtumswahrscheinlichkeit erster Art (α -Fehler) zu kontrollieren, erfolgte eine vergleichsbezogene Anpassung (Adjustierung) des Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode. Daraus resultierend wurden die unter 3.3.5. verwendeten Signifikanzniveaus beim paarweisen Vergleich durch 3 dividiert.

3.3.4. Verlaufsuntersuchung

Der Einfluß von Lagerungstemperatur und –dauer auf die Meßwerte von ADVIA 120 und H*1 wurde mittels einer zweifaktoriellen Varianzanalyse und dem Programm BMDP 2V ermittelt.

3.3.5. Signifikanzen

Für die Benennung von Signifikanzen wurden folgende Bezeichnungen verwendet:

$p \leq 0,001:$	hoch signifikant
$p \leq 0,01:$	signifikant
$p \leq 0,05:$	schwach signifikant
$p \geq 0,05:$	nicht signifikant (n.s.)

IV. Ergebnisse

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen dargestellt und veranschaulicht werden. Das anschließende Kapitel befaßt sich mit der Präzision, danach sollen der Methodenvergleich, Linearität und Carryover, der Antikoagulanzenvergleich und die Verlaufsuntersuchung Gegenstand der Betrachtung sein.

4.1. Präzision

Die Meßpräzision des ADVIA 120 wurde durch die dreifache Messung jeder Blutprobe (Präzision über verschiedene Serien hinweg) und durch die 25fache Messung einer Einzelprobe pro Tierart (Präzision innerhalb der Serie) überprüft. Die Meßpräzision der Referenz- und Vergleichsgeräte H*1, Sysmex F 800 und der Zentrifuge ermittelten wir mit Hilfe von Doppelmessungen.

Die Ergebnisse wurden mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse untersucht. Voraussetzung für diese statistische Auswertung ist eine näherungsweise Normalverteilung der Daten. Angegeben werden der arithmetische Mittelwert ($\bar{x}$), die Standardabweichung (SD) als Maß für die Streuung und der Variationskoeffizient, der die Streuung relativ zum Mittelwert in Prozenten beschreibt. Rechtsschief verteilte Werte machten eine Logarithmierung erforderlich. Bei diesen Parametern wurde der geometrische Mittelwert ($\bar{x}_g$), der Streufaktor (SF) und zusätzlich das Maß für die näherungsweise Wiederholbarkeit (W) in % dargestellt. Im Anschluß erfolgt zunächst eine Betrachtung der Parameter des roten, danach der des weißen Blutbildes.

4.1.1. Rotes Blutbild

Dieses Kapitel hat zunächst die Meßpräzision des ADVIA 120 zum Thema. Zuerst wird die Präzision über verschieden Serien hinweg, danach innerhalb der Serie dargestellt. Im Anschluß daran wird die Meßpräzision der Referenz- und Vergleichsgeräte gezeigt.

4.1.1.1. Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg

In den Tabellen 12 - 15 ist die Präzision des ADVIA 120 für die Parameter des roten Blutbildes der Tierarten Schaf und Ziege über verschiedene Serien hinweg dargestellt. Da für die Entwicklung einer tierartangepaßten Endsoftware mehrere Schritte (Softwareversionen = SWV) notwendig waren, soll dies ebenfalls in den Tabellen gezeigt werden. Tabelle 12 zeigt die Präzision der ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW und HDW im Softwarevergleich. In Tabelle 13 befinden sich die entsprechenden Angaben für die Ziege.

Tabelle 12: Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW und HDW, unter Verwendung der Softwareversionen 1, 3 und 4 im Vergleich; $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
RBC	$12,6 \pm 0,1^1$	$0,9 \%^1$
	$11,7 \pm 0,1^2$	$0,8 \%^2$
	$12,0 \pm 0,1^3$	$0,8 \%^3$
HGB	$7,7 \pm 0,1^1$	$0,8 \%^1$
	$7,5 \pm 0,1^2$	$0,9 \%^2$
	$7,8 \pm 0,1^3$	$1,5 \%^3$
PCV	$0,4 \pm 0,0^1$	$1,0 \%^1$
	$0,3 \pm 0,0^2$	$0,8 \%^2$
	$0,3 \pm 0,0^3$	$0,8 \%^3$
MCV	$28,2 \pm 0,1^1$	$0,3 \%^1$
	$27,9 \pm 0,1^2$	$0,3 \%^2$
	$28,5 \pm 0,1^3$	$0,3 \%^3$
MCH	$0,6 \pm 0,0^1$	$1,0 \%^1$
	$0,6 \pm 0,0^2$	$1,1 \%^2$
	$0,7 \pm 0,0^3$	$1,4 \%^3$
MCHC	$21,8 \pm 0,2^1$	$0,9 \%^1$
	$22,9 \pm 0,2^2$	$1,0 \%^2$
	$22,9 \pm 0,3^3$	$1,3 \%^3$
RDW	$19,0 \pm 0,2^1$	$0,8 \%^1$
	$18,1 \pm 0,1^2$	$0,4 \%^2$
	$17,9 \pm 0,1^3$	$0,4 \%^3$
HDW	$1,5 \pm 0,0^1$	$0,6 \%^1$
	$1,7 \pm 0,0^2$	$0,7 \%^2$
	$1,6 \pm 0,0^3$	$0,7 \%^3$

¹ Softwareversion 1 (SWV 1), n = 108;

² Softwareversion 3 (SWV 3), n = 31;

³ Softwareversion 4 (SWV 4)(= Endsoftware), n = 32

Tabelle 13: Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW der Ziege; Softwareversion 1, 3 und 4 im Vergleich; $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
RBC	$12,1 \pm 0,1^1$	$1,0 \%^1$
	$17,2 \pm 0,2^2$	$0,9 \%^2$
	$16,3 \pm 0,2^3$	$1,4 \%^3$
HGB	$6,4 \pm 0,1^1$	$2,2 \%^1$
	$6,4 \pm 0,1^2$	$1,5 \%^2$
	$6,6 \pm 0,1^3$	$1,6 \%^3$
PCV	$0,2 \pm 0,0^1$	$0,9 \%^1$
	$0,3 \pm 0,0^2$	$1,0 \%^2$
	$0,3 \pm 0,0^3$	$1,5 \%^3$
MCV	$15,1 \pm 0,1^1$	$0,3 \%^1$
	$17,2 \pm 0,1^2$	$0,3 \%^2$
	$19,1 \pm 0,1^3$	$0,3 \%^3$
MCH	$0,6 \pm 0,0^1$	$2,4 \%^1$
	$0,4 \pm 0,0^2$	$1,8 \%^2$
	$0,4 \pm 0,0^3$	$1,9 \%^3$
MCHC	$37,5 \pm 0,9^1$	$2,4 \%^1$
	$22,0 \pm 0,4^2$	$1,7 \%^2$
	$21,5 \pm 0,4^3$	$1,8 \%^3$
RDW	$25,8 \pm 0,5^1$	$2,0 \%^1$
	$24,8 \pm 0,4^2$	$1,5 \%^2$
	$26,8 \pm 0,5^3$	$1,7 \%^3$
HDW	$1,9 \pm 0,0^1$	$0,7 \%^1$
	$1,9 \pm 0,0^2$	$0,6 \%^2$
	$1,8 \pm 0,0^3$	$0,6 \%^3$

¹ SWV 1, n = 109; ² SWV 3, n = 52; ³ SWV 4 (= Endsoftware), n = 31

Für die Parameter RBC bis HDW werden sowohl beim Schaf als auch bei der Ziege in der Endsoftware Variationskoeffizienten zwischen 0,3 und 1,9 % erreicht. Die geringste Variation zeigt der MCV (0,3 %) bei beiden Tierarten, die höchste zeigt der MCH (1,9 %) bei der Ziege und der HGB (1,5 %) beim Schaf. Die Software-Adaptation brachte vor allem eine Verbesserung der Variabilität für die Parameter HGB, MCH, MCHC und RDW der Ziege.

Die nachfolgende Tabelle 14 enthält die Angabe zur Präzision für PLT, MPV, PDW und Retikulozyten über verschiedenen Serien hinweg beim Schaf und Tabelle 15 die genannten Parameter bei der Ziege.

Tabelle 14: Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg für die Parameter PLT, MPV, PDW und Retikulozyten beim Schaf im Softwarevergleich (SW 1, 3 u. 4); $\bar{x} \pm SD$ = arithmetischer Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten*: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
Thrombozyten*	479,5 ¹	1,034 (3,4 %) ¹
	457,3 ²	1,034 (3,4 %) ²
	473,9 ³	1,041 (4,1 %) ³
MPV	5,1 $\pm$ 0,1 ¹	2,0 % ¹
	5,5 $\pm$ 0,1 ²	1,6 % ²
	5,5 $\pm$ 0,1 ³	1,6 % ³
PDW*	30,6 ¹	1,080 (8,0 %) ¹
	51,8 ²	1,050 (5,0 %) ²
	51,1 ³	1,072 (7,2 %) ³
Retikulozyten	--	--
	0,1 $\pm$ 0,4 ²	43,9 % ²
	0,0 $\pm$ 0,0 ³	93,0 % ³

¹ SWV 1, n = 108; ² SWV 3, n = 31; ³ SWV 4 (= Endsoftware), n = 32

Tabelle 15: Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg für die Parameter PLT, MPV, PDW und Retikulozyten der Ziege; Softwareversion 1, 3 und 4 im Vergleich; $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten^{*}: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor. W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
Thrombozyten [*]	371,6 ¹	1,058 (5,8 %) ¹
	244,3 ²	1,076 (7,6 %) ²
	373,9 ³	1,085 (8,5 %) ³
MPV	7,1 $\pm$ 0,6 ¹	8,2 % ¹
	8,5 $\pm$ 0,8 ²	9,3 % ²
	7,3 $\pm$ 0,3 ³	4,4 % ³
PDW [*]	39,2 ¹	1,198 (19,8 %) ¹
	87,2 ²	1,068 (6,8 %) ²
	76,7 ³	1,056 (5,6 %) ³
Retikulozyten	--	--
	0,3 $\pm$ 0,1 ²	30,9 % ²
	1,1 $\pm$ 0,2 ³	20,9 % ³

¹ SWV 1, n = 109; ² SWV 3, n = 52; ³ SWV 4 (= Endsoftware), n = 31

Die Werte für die Parameter PLT, MPV und PDW zeigen beim Schaf in der Endsoftware eine Varianz zwischen 1,6 % (MPV) und 7,2 % (PDW). Bei der Ziege bewegten sie sich zwischen 4,4 % (MPV) und 8,5 % (PLT). Das Maß für die Wiederholbarkeit der Retikulozyten-Werte liegt beim Schaf bei 93,0 %, bei der Ziege bei 20,9 %.

Aufgrund der Software-Entwicklung zeichnen sich im Bereich des roten Blutbildes die caprinen Parameter PDW und MPV durch die deutlichste Verringerung von Standardabweichung und Variationskoeffizient bzw. Streufaktor aus.

Nach Darstellung der Präzisionsergebnisse über verschiedene Serien hinweg hat der nächste Abschnitt die Präzision innerhalb der Serie zum Thema.

4.1.1.2. Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie

In diesem Kapitel wird die Meßpräzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, CHCM, RDW, HDW, PLT, MPV, PDW und Retikulozyten zunächst für die Tierart Schaf (Tabelle 16) anschließend für die Ziege (Tabelle 17) aufgrund der 25fachen Messung einer Einzelprobe in der Endsoftware gezeigt.

Tabelle 16: Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie für die Parameter des roten Blutbildes beim Schaf (n = 1) $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei 25facher Messung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
RBC	11,0 $\pm$ 0,1	0,6 %
HGB	7,1 $\pm$ 0,9	1,3 %
PCV	0,3 $\pm$ 0,0	1,2 %
MCV	27,3 $\pm$ 0,3	1,1 %
MCH	0,7 $\pm$ 0,0	1,2 %
MCHC	23,7 $\pm$ 0,3	1,4 %
CHCM	24,6 $\pm$ 0,3	1,3 %
RDW	18,2 $\pm$ 0,1	0,5 %
HDW	1,6 $\pm$ 0,0	1,7 %
PLT	555,7 $\pm$ 12,8	2,3 %
MPV	5,0 $\pm$ 0,1	1,7 %
PDW	51,4 $\pm$ 3,6	0,7 %
Retikulozyten	0,0 $\pm$ 0,0	233,9 %

Die 25fache Messung einer Einzelprobe liefert beim Schaf Variationskoeffizienten zwischen 0,5 % (RDW) und 2,3 % (PLT). Die Wiederholbarkeit der Retikulozyten-Werte zeigt mit 233,9 % die größte Varianz.

Tabelle 17: Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie für die Parameter des roten Blutbildes der Ziege (n = 1); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei 25facher Messung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
RBC	16,0 $\pm$ 0,1	0,9 %
HGB	7,5 $\pm$ 0,1	1,3 %
PCV	0,3 $\pm$ 0,0	1,1 %
MCV	20,3 $\pm$ 0,1	0,7 %
MCH	0,5 $\pm$ 0,0	1,6 %
MCHC	23,1 $\pm$ 0,4	1,5 %
CHCM	24,7 $\pm$ 0,3	1,1 %
RDW	26,5 $\pm$ 1,0	3,9 %
HDW	1,7 $\pm$ 0,0	0,6 %
PLT	431,5 $\pm$ 17,3	4,0 %
MPV	5,5 $\pm$ 0,1	2,2 %
PDW	55,4 $\pm$ 2,5	4,5 %
Retikulozyten	0,1 $\pm$ 0,0	0,0 %

Die Variationskoeffizienten für die 25fache Messung einer Einzelprobe der Ziege bewegen sich zwischen 0,7 (MCV) und 4,5 % (PDW). Die Varianz der Retikulozyten-Werte liegt hier bei 0,0 %. Im Anschluß wird die Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte besprochen.

4.1.1.3. Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte über verschiedene Serien hinweg

In diesem Kapitel wird die Meßpräzision der Referenz- und Vergleichsgeräte Technicon H*1, Sysmex F 800 und der Zentrifuge über verschiedene Serien hinweg für die Parameter des roten Blutbildes der Tierarten Schaf und Ziege gezeigt. Nachfolgend wird die Präzision des Technicon H*1 für die ovinen (Tabelle 18) und caprinen (Tabelle 19) Parameter des roten Blutbildes gezeigt.

Tabelle 18: Präzision des Technicon H*1 über verschiedene Serien hinweg für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, PLT, MPV und PDW des Schafes (n = 108); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten*: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
RBC	11,9 $\pm$ 0,1	0,6 %
HGB	7,6 $\pm$ 0,0	0,6 %
PCV	0,4 $\pm$ 0,0	0,6 %
MCV	29,3 $\pm$ 0,1	0,3 %
MCH	0,6 $\pm$ 0,0	0,7 %
MCHC	21,8 $\pm$ 0,2	0,7 %
RDW	19,3 $\pm$ 0,1	0,5 %
HDW	1,7 $\pm$ 0,0	0,7 %
PLT*	606,0	1,025 (2,5 %)
MPV	4,4 $\pm$ 0,1	1,3 %
PDW*	57,2	1,013 (1,3 %)

Wie aus Tabelle 18 hervorgeht, liegen der Variationskoeffizient bzw. die näherungsweise Wiederholbarkeit des roten ovinen Blutbildes für den Technicon H*1 zwischen 0,3 % (MCV) und 2,5 % (PLT).

Tabelle 19: Präzision des Technicon H*1 über verschiedene Serien hinweg für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, PLT, MPV und PDW der Ziege (n = 109); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten : $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
RBC	11,5 $\pm$ 0,3	2,9 %
HGB	6,3 $\pm$ 0,2	3,7 %
PCV	0,2 $\pm$ 0,0	2,9 %
MCV	16,7 $\pm$ 0,1	0,3 %
MCH	0,6 $\pm$ 0,0	4,3 %
MCHC	33,0 $\pm$ 1,5	4,4 %
RDW	22,1 $\pm$ 0,5	2,1 %
HDW	2,4 $\pm$ 0,0	0,9 %
PLT*	3581,8	1,061 (6,1 %)
MPV	3,9 $\pm$ 0,1	2,9 %
PDW*	64,1	1,024 (2,4 %)

Die Präzision des H*1 wird für das caprine rote Blutbild durch die sich zwischen 0,3 % (MCV) und 6,1 % (PLT) bewegenden Variationskoeffizienten bzw. näherungsweise Wiederholbarkeit beschrieben. Die anschließende Tabelle 20 zeigt die Präzision (über verschiedene Serien hinweg) des Sysmex F 800 für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCH, MCHC und PLT und die der Zentrifuge für den PCV. Danach erfolgt die Betrachtung der entsprechenden Parameter der Ziege (Tabelle 21).

Tabelle 20: Präzision des Sysmex F 800 und der Zentrifuge über verschiedene Serien hinweg für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC und PLT des Schafes (n = 108); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten^{*}: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
RBC	$11,7 \pm 0,1^1$	1,2 % ¹
HGB	$7,9 \pm 0,0^1$	0,5 % ¹
PCV	$0,4 \pm 0,0^1$ $0,4 \pm 0,0^2$	1,0 % ¹ 0,8 % ²
MCV	$35,4 \pm 0,3^1$	0,9 % ¹
MCH	$0,7 \pm 0,0^1$	1,2 % ¹
MCHC	$19,2 \pm 0,2^1$	1,1 % ¹
PLT [*]	$429,7^1$	1,080 (8,0 %) ¹

¹Gerät = Sysmex F 800,

²Gerät = Zentrifuge

Tabelle 21: Präzision des Sysmex F 800 und der Zentrifuge über verschiedene Serien hinweg für die Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC und PLT der Ziege (n = 109); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten^{*}: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor; W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
RBC	$13,5 \pm 0,2^1$	1,7 % ¹
HGB	$6,5 \pm 0,0^1$	0,5 % ¹
PCV	$0,3 \pm 0,0^1$ $0,3 \pm 0,0^2$	1,6 % ¹ 0,8 % ²
MCV	$20,4 \pm 0,1^1$	0,6 % ¹
MCH	$0,5 \pm 0,0^1$	2,1 % ¹
MCHC	$24,4 \pm 0,4^1$	1,7 % ¹
PLT [*]	$188,6^1$	1,233 (23,3 %) ¹

¹Gerät = Sysmex F 800,

²Gerät = Zentrifuge

Während die Präzision der Zentrifugenmessungen durch eine Abweichung von 0,8 % vom Mittelwert des ovinen bzw. caprinen Hämatokritwertes beschrieben werden kann, zeigt sich für den F 800 ein oviner Variationskoeffizient von 1,0 und ein capriner CV von 1,6 %.

Die kleinste Varianz der ovinen Parameter zeigt der Hämoglobingehalt mit 0,5 %, die größte die Thrombozytenzahl mit 8,0 %.

Die caprinen Äquivalente des F 800 liegen zwischen 0,5 % (HGB) und 23,3 % (PLT).

Im Gerätevergleich zeigen sich für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV; MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, und MPV von ADVIA 120, H*1, F 800 und Zentrifuge Variationskoeffizienten von $\leq 1,7$ %. Die ovine Thrombozytenkonzentration zeigt die größte Varianz beim F 800 (8 %) und weicht beim H*1 (2,5 %) am geringsten vom Mittelwert ab.

Auch für das ovine PDW zeigt der H*1 mit 1,3 % einen besseren Variationskoeffizienten als der ADVIA 120 mit 7,2 %.

Im Gerätevergleich ADVIA 120, F 800 und Zentrifuge bewegen sich die caprinen Variationskoeffizienten der Parameter RBC, HGB, PCV; MCV, MCH, MCHC und HDW bis maximal 2,1 %. Der H*1 zeigt für diese Parameter eine deutlich höhere Varianz bis 4,4 %. Bezüglich der Thrombozytenkonzentration zeigt sich eine ähnliche Tendenz wie beim Schaf. Die größte Varianz zeigt der F 800 mit 23,3 % und die geringste der H*1 mit 6,1 %. Auch die Variationskoeffizienten der Parameter MPV und PDW des H*1 sind besser als die des ADVIA 120.

4.1.2. Weißes Blutbild

Hier wird die Meßpräzision des ADVIA 120 zunächst auf der Basis der dreifachen Messung der Proben (Präzision über verschiedene Serien hinweg) und anschließend aufgrund der 25fachen Messung einer Einzelprobe je Tierart (Präzision innerhalb der Serie) dargestellt. Danach soll die Meßpräzision der Referenz und Vergleichsgeräte über verschiedene Serien hinweg gezeigt werden.

4.1.2.1. Präzision des ADVIA 120 über verschiedene Serien hinweg

Nachfolgend ist die Präzision des ADVIA 120 für das weiße Blutbild der Tierarten Schaf (Tabelle 22) und Ziege (Tabelle 23) über verschiedene Serien hinweg dargestellt. Da die Tabellen die Resultate der Präzisionsmessungen für die Softwareversionen 1,3 und beinhalten, zeigen sich auch die Ergebnisse der Software-Adaptation.

Tabelle 22: Präzision des ADVIA 120 für die Parameter des weißen Blutbildes des Schafes; Softwareversion 1, 3 und 4 im Vergleich; $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten*: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
WBC	$9,3 \pm 0,2^1$	$1,9 \%^1$
	$8,3 \pm 0,2^2$	$2,0 \%^2$
	$7,1 \pm 0,1^3$	$2,0 \%^3$
Neutrophile	$28,3 \pm 1,0^1$	$3,5 \%^1$
	$28,6 \pm 0,8^2$	$2,6 \%^2$
	$24,9 \pm 1,0^3$	$4,1 \%^3$
Lymphozyten	$61,7 \pm 1,9^1$	$3,0 \%^1$
	$62,8 \pm 1,7^2$	$2,7 \%^2$
	$66,8 \pm 1,7^3$	$2,6 \%^3$
Monozyten*	$4,4^1$	$1,048 (4,8 \%)^1$
	$2,7^2$	$1,626 (62,6 \%)^2$
	$2,3^3$	$1,602 (60,2 \%)^3$
Eosinophile*	$2,1^1$	$1,134 (13,4 \%)^1$
	$3,7^2$	$1,075 (7,5 \%)^2$
	$4,0^3$	$1,087 (8,7 \%)^3$
Basophile*	$0,7^1$	$1,186 (18,6 \%)^1$
	$0,5^2$	$1,205 (20,5 \%)^2$
	$0,5^3$	$1,218 (21,8 \%)^3$
LUC*	$1,0^1$	$1,722 (72,2 \%)^1$
	$0,4^2$	$1,990 (99,0 \%)^2$
	$0,4^3$	$1,977 (97,7 \%)^3$

¹ Softwareversion 1, n = 108; ² Softwareversion 3, n = 31; ³ Softwareversion 4, n = 32

Die Variationskoeffizienten des Schafes für die Parameter WBC, Lymphozyten und Neutrophile liegen in der Endsoftware zwischen 2,0 % und 4,1 %. Die weiteren Parameter des weißen Blutbildes zeigen eine deutlich höher Varianz zwischen 8,7 % (Eosinophile) und 60,2 % (Monozyten). Bei den Eosinophilen wurde die Streuung vom Mittelwert am deutlichsten durch die Anpassung des Gerätes minimiert.

Tabelle 23: Präzision des ADVIA 120 für die Parameter des weißen Blutbildes der Ziege; Softwareversion 1, 3 und 4 im Vergleich; $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Dreifachmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten*: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
WBC	$14,2 \pm 0,3^1$	1,7 % ¹
	$10,7 \pm 0,2^2$	1,6 % ²
	$10,5 \pm 0,3^3$	2,3 % ³
Neutrophile	$35,6 \pm 1,6^1$	4,4 % ¹
	$41,2 \pm 0,7^2$	1,6 % ²
	$42,5 \pm 1,3^3$	3,1 % ³
Lymphozyten	$51,4 \pm 2,0^1$	4,0 % ¹
	$53,8 \pm 0,8^2$	1,4 % ²
	$52,3 \pm 1,4^3$	2,7 % ³
Monozyten*	6,7 ¹	1,156 (15,6 %) ¹
	0,8 ²	1,379 (37,9 %) ²
	2,2 ³	1,229 (22,9 %) ³
Eosinophile*	1,9 ¹	1,131 (13,1 %) ¹
	2,4 ²	1,093 (9,3 %) ²
	1,4 ³	1,215 (21,5 %) ³
Basophile*	1,0 ¹	1,147 (14,7 %) ¹
	0,7 ²	1,153 (15,3 %) ²
	0,6 ³	1,173 (17,3 %) ³
LUC*	1,2 ¹	1,220 (22,0 %) ¹
	0,1 ²	1,449 (44,9 %) ²
	0,2 ³	1,371 (37,12 %) ³

¹ Softwareversion 1, n = 109; ² Softwareversion 3, n = 52; ³ Softwareversion 4, n = 31

Die Präzision für die Parameter WBC, Lymphozyten und Neutrophile liegen in der Endsoftware bei der Ziege zwischen 2,3 % und 3,1 %. Das Maß für die näherungsweise Wiederholbarkeit der Parameter Basophile, Eosinophile und Monozyten liegt dagegen nur zwischen 17,3 % und 22,9 %. Die Parameter Lymphozyten und Neutrophile zeigen die deutlichste Verringerung der Varianz aufgrund der Software-Adaptation.

4.1.2.2. Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie

Anschließend wird die Meßpräzision des ADVIA 120 für die Parameter des weißen Blutbildes der Tierarten Schaf (Tabelle 24) und Ziege (Tabelle 25) innerhalb der Serie (Endsoftware) gezeigt.

Tabelle 24: Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie für die Parameter des weißen Blutbildes des Schafes (n =1); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei 25 facher Messung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
WBC	$6,8 \pm 0,1$	2,1 %
Neutrophile	$23,6 \pm 1,0$	4,4 %
Lymphozyten	$70,1 \pm 1,5$	2,1 %
Monozyten	$1,5 \pm 0,5$	31,7 %
Eosinophile	$4,2 \pm 0,4$	10,3 %
Basophile	$0,3 \pm 0,1$	23,9 %
LUC	$0,3 \pm 0,1$	37,2 %

Die Variationskoeffizienten für die 25fache Messung einer Einzelprobe zeigen für die ovinen Parameter WBC, Neutrophile, Lymphozyten und Basophile ähnliche Bereiche wie bei der Präzision über verschiedene Serien hinweg. Die Varianz der Eosinophilen-Werte dagegen ist hier etwas größer, während die Monozyten deutlich besser abschneiden.

Tabelle 25: Präzision des ADVIA 120 innerhalb der Serie für die Parameter des weißen Blutbildes der Ziege (n = 1); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei 25facher Messung, CV = Variationskoeffizient.

Parameter	$\bar{x} \pm SD$	CV
WBC	$6,0 \pm 0,1$	1,9 %
Neutrophile	$50,4 \pm 2,5$	5,0 %
Lymphozyten	$43,4 \pm 2,7$	6,2 %
Monozyten	$1,0 \pm 0,3$	28,4 %
Eosinophile	$4,4 \pm 0,4$	8,5 %
Basophile	$0,8 \pm 0,1$	16,8 %
LUC	$0,2 \pm 0,1$	45,8 %

Für die caprinen Parameter WBC, Monozyten, und Basophile liegt die Präzision der 25fachen Messung einer Einzelprobe in ähnlichen Bereichen wie bei der Präzision über verschiedene Serien hinweg. Neutrophile und Lymphozyten zeigen eine deutlich schlechtere Präzision, während sich die der Eosinophilen um mehr als 100 % verbessert hat.

4.1.2.3. Präzision der Referenz- und Vergleichsgeräte über verschiedene Serien hinweg

Nachfolgend wird die Meßpräzision der Referenz- und Vergleichsgeräte Technicon H*1 und Sysmex F 800 für die Parameter des weißen Blutbildes der Tierarten Schaf (Tabelle 26) und Ziege (Tabelle 27) über verschiedene Serien hinweg gezeigt.

Tabelle 26: Präzision des Technicon H*1 und Sysmex F 800 über verschiedenen Serien hinweg für die Parameter des weißen Blutbildes des Schafes (n=108); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten * : $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
WBC	$7,9 \pm 0,3^1$	$3,5 \%^1$
	$8,4 \pm 0,1^2$	$1,7 \%^2$
Neutrophile	$29,9 \pm 0,9^1$	$2,9 \%^1$
Lymphozyten	$63,0 \pm 1,0^1$	$1,6 \%^1$
Monozyten *	$0,5^1$	$33,1 \%^1$
Eosinophile *	$1,9^1$	$20,7 \%^1$
Basophile *	$0,7^1$	$19,8 \%^1$
LUC *	$2,6^1$	$17,0 \%^1$

¹Gerät = Technicon H*1;

²Gerät = Sysmex F 800

Im Gerätevergleich ADVIA 120, H*1 und Sysmex F 800 für das ovine WBC zeigen die mittels Sysmex F 800 ermittelten Werte die geringste Varianz, gefolgt von ADVIA 120 und H*1. Beim Vergleich des ADVIA 120 mit dem H*1 bezüglich der Präzision des relativen ovinen Differentialblutbildes liegt der H*1 für die Parameter Neutrophile, Lymphozyten und Basophile vor dem ADVIA 120. Bei den Eosinophilen ist beim ADVIA 120 eine halb so hohe Variation wie beim H*1 festzustellen. Die Varianz der ovinen Monozyten schließlich ist bei der 25fachen Einzelmessung des ADVIA 120 am geringsten (31,7 %). Der H*1 liegt mit

33,1 % etwas darüber, die Präzision über verschiedene Serien hinweg bewegt sich jedoch bei 60,2 %.

Tabelle 27: Präzision des Technicon H*1 und Sysmex F 800 über verschiedenen Serien hinweg für die Parameter des weißen Blutbildes der Ziege (n=109); $\bar{x} \pm SD$ = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung innerhalb einer Probe bei Doppelmessung, CV = Variationskoeffizient. Bei logarithmierten Werten*: $\bar{x}_g$ = geometrischer Mittelwert, SF = Streufaktor, W = näherungsweise Wiederholbarkeit in %.

Parameter	$\bar{x} \pm SD / \bar{x}_g$	CV/ SF (W)
WBC	$12,3 \pm 0,4^1$	3,2 % ¹
	$14,2 \pm 0,6^2$	3,9 % ²
Neutrophile	$39,8 \pm 0,6^1$	1,5 % ¹
Lymphozyten	$51,3 \pm 0,7^1$	1,4 % ¹
Monozyten*	0,6 ¹	1,232 (23,2 %) ¹
Eosinophile*	1,4 ¹	1,139 (13,9 %) ¹
Basophile*	1,0 ¹	1,134 (13,4 %) ¹
LUC*	4,2 ¹	1,066 (6,6 %) ¹

¹Gerät = Technicon H*1; ²Gerät = Sysmex F 800

Im Gerätevergleich ADVIA 120, H*1 und Sysmex F800 bezüglich der Präzision der Werte des caprinen WBC zeigt der ADVIA 120 die besten Ergebnisse. Beim Vergleich ADVIA 120 und H*1 bezüglich des A-DIFF zeigt der H*1 auch eine geringere Varianz für die Parameter Neutrophile, Lymphozyten und Basophile der Ziege. Das Maß für die näherungsweise Wiederholbarkeit der caprinen Eosinophilen ist bei der 25fachen Einzelmessung des ADVIA 120 am geringsten (8,5 %). Die mittels des H*1 ermittelten caprinen Eosinophilen-Werte liegen mit 13,9 % etwas darüber, gefolgt von den Werten der Endsoftware des ADVIA 120, die bei 21,5 % liegen. Bei den Monozyten befindet sich der Wert des H*1 (23,2 %) ebenfalls zwischen dem der Endsoftware (22,9 %) und der 25fachen Einzelmessung (28,4 %) des ADVIA 120.

4.2. Methodenvergleich

In diesem Kapitel sollen die Ergebnisse der Überprüfung der Richtigkeit (accuracy) des ADVIA 120 gezeigt werden. Diese wurde mit Hilfe des Wilcoxon- bzw. des t-Tests für verbundene Stichproben sowie der Korrelations- und Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Angegeben wird jeweils das Signifikanzniveau (p), der Korrelationskoeffizient (r) und die Hauptkomponentengleichung ($y = mx+b$) bzw. -gerade (HKG). Graphisch werden die Ergebnisse der Korrelationsanalyse in Form einer Punktwolke dargestellt, wobei die Meßwerte zweier Methoden gegeneinander auf x- und y-Achse aufgetragen werden. Die Abbildung enthält noch zusätzlich die Hauptkomponentengerade, die die mittlere Beziehung der Meßwerte als eine lineare Funktion darstellt. Bei idealer Übereinstimmung zweier Methoden wäre der Korrelationskoeffizient $r = 1,00$ und die Hauptkomponentengleichung würde der Winkelhalbierenden (WH) im Koordinatensystem entsprechen, d.h. es wäre $y = x$.

4.2.1. Rotes Blutbild

Zuerst werden die Parameter des roten, anschließend die des weißen Blutbildes dargestellt.

4.2.1.1. Einzelwertvergleich

Zunächst sollen die Ergebnisse der Software-Evaluation des ADVIA 120 im Gerätevergleich mit dem Technicon H*1 und dem Sysmex F 800 gezeigt werden.

Anschließend erfolgt für den PCV ein Vergleich der Methoden mit dem Referenzgerät Mikrohämatokritzentrifuge. Für die caprinen Parameter RBC und PLT wird zusätzlich ein Vergleich mit dem Referenzgerät Zählkammer nach Neubauer durchgeführt.

4.2.1.1.1. Software-Evaluation

Die nachfolgenden Tabellen 28 - 29 zeigen die Ergebnisse der Software-Entwicklung anhand des Methodenvergleichs ADVIA 120 /H*1 bzw. Sysmex F 800 für das Schaf. Es werden jeweils die Ergebnisse unter Verwendung von Software 1, 3 und 4 des ADVIA 120 dargestellt.

Tabelle 28: Methodenvergleich ADVIA 120 / H*1 für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, PLT, MPV und PDW in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p < 0,001$ (MPV: $p < 0,05^1$, $p < 0,01^2$, $p = n.s.^3$; PDW: $p < 0,01^1$, $p = n.s.^{2+3}$), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
RBC	$r = 0,989^1$ $r = 0,982^2$ $r = 0,988^3$	$y = 0,93x + 0,12^1$ $y = 1,01x - 0,42^2$ $y = 1,00x - 0,46^3$
HGB	$r = 0,987^1$ $r = 0,900^2$ $r = 0,986^3$	$y = 1,00x - 0,18^1$ $y = 1,04x - 0,41^2$ $y = 0,93x + 0,28^3$
PCV	$r = 0,982^1$ $r = 0,971^2$ $r = 0,972^3$	$y = 0,96x + 0,005^1$ $y = 0,99x + 0,001^2$ $y = 1,04x - 0,01^3$
MCV	$r = 0,965^1$ $r = 0,995^2$ $r = 0,975^3$	$y = 1,06x - 0,56^1$ $y = 1,02x + 0,07^2$ $y = 1,09x - 1,37^3$
MCH	$r = 0,917^1$ $r = 0,959^2$ $r = 0,950^3$	$y = 0,99x + 0,03^1$ $y = 0,93x + 0,05^2$ $y = 0,89x + 0,08^3$
MCHC	$r = 0,872^1$ $r = 0,873^2$ $r = 0,761^3$	$y = 0,91x + 2,00^1$ $y = 0,93x + 1,41^2$ $y = 1,13x - 3,67^3$
RDW	$r = 0,955^1$ $r = 0,937^2$ $r = 0,914^3$	$y = 0,99x + 0,58^1$ $y = 1,02x + 0,06^2$ $y = 0,98x + 0,89^3$
HDW	$r = 0,866^1$ $r = 0,901^2$ $r = 0,733^3$	$y = 1,09x + 0,06^1$ $y = 0,81x + 0,30^2$ $y = 1,22x - 0,40^3$
PLT*	$r = 0,740^1$ $r = 0,955^2$ $r = 0,920^3$	$\lg(y) = 0,97 \cdot \lg(x) + 0,19^1$ $\lg(y) = 1,13 \cdot \lg(x) - 0,40^2$ $\lg(y) = 1,15 \cdot \lg(x) - 0,48^3$
MPV	$r = -0,217^1$ $r = 0,529^2$ $r = 0,006^3$	--- $y = 0,43x + 3,16^2$ $y = 0,01x + 4,98^3$
PDW*	$r = -0,284^1$ $r = -0,264^2$ $r = 0,226^3$	--- --- $\lg(y) = 0,07 \cdot \lg(x) + 1,60^3$

¹ Softwareversion 1, n = 108; ² Softwareversion 3, n = 31; ³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 32;

Tabelle 29: Methodenvergleich ADVIA 120 / Sysmex F 800 für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC und PLT in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p \leq 0,001$, *logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
RBC	$r = 0,954^1$ $r = 0,927^2$ $r = 0,893^3$	$y = 0,97x - 0,61^1$ $y = 1,17x - 2,76^2$ $y = 1,04x - 1,28^3$
HGB	$r = 0,962^1$ $r = 0,885^2$ $r = 0,958^3$	$y = 1,05x - 0,23^1$ $y = 1,39x - 2,72^2$ $y = 1,02x - 0,04^3$
PCV	$r = 0,921^1$ $r = 0,893^2$ $r = 0,844^3$	$y = 1,27x - 0,04^1$ $y = 1,75x - 0,18^2$ $y = 1,48x - 0,09^3$
MCV	$r = 0,938^1$ $r = 0,944^2$ $r = 0,903^3$	$y = 1,30x - 1,44^1$ $y = 1,43x - 4,04^2$ $y = 1,33x - 0,52^3$
MCH	$r = 0,901^1$ $r = 0,958^2$ $r = 0,811^3$	$y = 1,25x - 0,09^1$ $y = 1,20x - 0,07^2$ $y = 1,11x - 0,02^3$
MCHC	$r = 0,700^1$ $r = 0,696^2$ $r = 0,563^3$	$y = 1,31x - 9,38^1$ $y = 1,03x - 3,98^2$ $y = 1,55x - 16,58^3$
PLT*	$r = 0,459^1$ $r = 0,809^2$ $r = 0,848^3$	$\lg(y) = 3,59 \cdot \lg(x) - 7,00^1$ $\lg(y) = 2,02 \cdot \lg(x) - 2,96^2$ $\lg(y) = 2,23 \cdot \lg(x) - 3,46^3$

¹ Softwareversion 1, n = 108;

² Softwareversion 3, n = 31;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 32;

Auf die Darstellung der Korrelationen des RDW wurde wegen mangelnder Signifikanz verzichtet.

Im Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 zeigen sich für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV; MCV, MCH, RDW und PCT sehr gute Korrelationen zwischen 0,914 und 0,988. Während die Korrelationen für die Parameter MCHC (0,761) und HDW (0,733) etwas schlechter sind, führte die Auswertung der Parameter MPV und PDW des Schafes zu keinen signifikanten Resultaten.

Die deutlichste Verbesserung aufgrund der Software-Anpassung wurde bei den ovinen Thrombozyten erreicht.

Der Vergleich des ADVIA 120 (Endsoftware) mit dem Sysmex F 800 zeigt für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH und PLT Korrelationen zwischen 0,811 und 0,958. Das MCHC korreliert deutlich schlechter mit nur 0,563.

Durch die Softwareadaptation wurde auch hier die größte Steigerung der Korrelation bei den Thrombozyten des Schafes erzielt.

Die nachfolgenden Tabellen 30 - 31 zeigen die Ergebnisse der Software- Entwicklung anhand des Methodenvergleichs ADVIA 120 / Sysmex F 800 für die Ziege. Es wird jeweils Software 1, 3 und 4 des ADVIA 120 dargestellt.

Tabelle 30: Methodenvergleich ADVIA 120 / H*1 für die caprinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW, PLT, MPV und PDW in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p < 0,001$ (MCH u. MCHC: $p = \text{n.s.}^{2+3}$; PLT u. PDW: $p < 0,05^2$, $p = \text{n.s.}^3$), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
RBC	$r = 0,922^1$ $r = 0,470^2$ $r = 0,678^3$	$y = 1,10x - 1,95^1$ $y = 0,74x + 1,70^2$ $y = 0,72x + 1,37^3$
HGB	$r = 0,947^1$ $r = 0,991^2$ $r = 0,960^3$	$y = 1,03x - 0,39^1$ $y = 0,97x + 0,23^2$ $y = 0,97x - 0,03^3$
PCV	$r = 0,943^1$ $r = 0,652^2$ $r = 0,663^3$	$y = 1,09x - 0,01^1$ $y = 1,06x - 0,08^2$ $y = 0,96x - 0,06^3$
MCV	$r = 0,968^1$ $r = 0,979^2$ $r = 0,984^3$	$y = 0,78x + 4,96^1$ $y = 0,71x + 3,98^2$ $y = 0,86x + 1,52^3$
MCH	$r = 0,898^1$ $r = -0,200^2$ $r = 0,218^3$	$y = 0,82x + 0,12^1$ --- $y = 5,42x - 1,71^3$
MCHC	$r = 0,881^1$ $r = -0,126^2$ $r = 0,142^3$	$y = 0,86x + 2,45^1$ --- $y = 13,52x - 260,91^3$
RDW	$r = 0,729^1$ $r = 0,798^2$ $r = 0,972^3$	$y = 0,45x + 10,51^1$ $y = 0,70x + 4,76^2$ $y = 0,86x + 0,26^3$
HDW	$r = 0,825^1$ $r = 0,667^2$ $r = 0,760^3$	$y = 1,01x + 0,50^1$ $y = 2,67x - 2,87^2$ $y = 1,22x - 0,14^3$
PLT*	$r = 0,544^1$ $r = 0,278^2$ $r = 0,293^3$	$\lg(y) = 0,77 \cdot \lg(x) + 1,57^1$ $\lg(y) = 0,58 \cdot \lg(x) + 1,89^2$ $\lg(y) = 0,91 \cdot \lg(x) + 0,88^3$
MPV	$r = 0,113^1$ $r = -0,209^2$ $r = 0,272^3$	$y = 0,03x + 3,72^1$ --- $y = 0,06x + 4,03^3$
PDW*	$r = 0,346^1$ $r = 0,320^2$ $r = 0,067^3$	$\lg(y) = 0,05 \cdot \lg(x) + 1,73^1$ $\lg(y) = 0,33 \cdot \lg(x) + 1,15^2$ $\lg(y) = 0,02 \cdot \lg(x) + 1,75^3$

¹ Softwareversion 1, n = 109;

² Softwareversion 3, n = 52;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 31;

Tabelle 31: Methodenvergleich ADVIA 120 / Sysmex F 800 für die caprinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW und PLT in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p \leq 0,001$ (MCH: $p < 0,05^3$, MCHC: $p < 0,05^{2+3}$), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
RBC	$r = 0,379^1$ $r = 0,987^2$ $r = 0,895^3$	$y = 1,81x - 8,35^1$ $y = 0,84x - 0,82^2$ $y = 0,89x - 2,56^3$
HGB	$r = 0,980^1$ $r = 0,993^2$ $r = 0,986^3$	$y = 1,01x + 0,04^1$ $y = 0,99x + 0,19^2$ $y = 1,06x - 0,26^3$
PCV	$r = 0,516^1$ $r = 0,974^2$ $r = 0,860^3$	$y = 1,20x + 0,05^1$ $y = 1,03x - 0,02^2$ $y = 1,37x - 0,15^3$
MCV	$r = 0,981^1$ $r = 0,970^2$ $r = 0,977^3$	$y = 1,44x - 1,37^1$ $y = 1,24x - 0,43^2$ $y = 0,98x + 4,32^3$
MCH	$r = -0,347^1$ $r = 0,954^2$ $r = 0,398^3$	--- $y = 1,38x - 0,03^2$ $y = 3,63x - 0,89^3$
MCHC	$r = -0,157^1$ $r = 0,326^2$ $r = 0,401^3$	--- $y = 5,65x - 100,14^2$ $y = 5,65x - 94,91^3$
RDW	--- $r = 0,580^2$ $r = 0,875^3$	--- $y = 0,69x + 3,79^2$ $y = 1,15x - 8,83^3$
PLT*	$r = 0,800^1$ $r = 0,570^2$ $r = 0,878^3$	$\lg(y) = 1,45 \cdot \lg(x) - 1,45^1$ $\lg(y) = 0,74 \cdot \lg(x) + 0,03^2$ $\lg(y) = 1,86 \cdot \lg(x) - 2,75^3$

¹ Softwareversion 1, n = 109;

² Softwareversion 3, n = 52;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 31;

Der Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 zeigt sehr gute Korrelationen zwischen 0,960 und 0,984 für die caprinen Parameter HGB, MCV und RDW. Die Korrelationen für die caprinen RBC, PCV und HDW liegen im Gegensatz zum Schaf nur zwischen 0,663 und 0,760. Die Auswertung von MCH, MCHC, PLT, MPV und PDW führte zu keinen signifikanten Ergebnissen.

Die deutlichste Korrelationssteigerung durch die Softwareadaptation wurde beim RDW der Ziege erzielt.

Der Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / Sysmex F 800 liefert, mit Ausnahme des MCV, durchweg bessere Korrelationen für die caprinen Parameter des roten Blutbildes als der zuvor beschriebenen Vergleich mit dem H*1. Doch bewegen sich die Korrelationen für caprine RBC, PCV, MCH, MCHC, RDW und PLT nur zwischen 0,398 (MCH) und 0,895 (RBC). Caprines HGB (0,986) und MCV (0,977) korrelieren sehr gut.

Durch die Anpassung der Software wurden die deutlichsten Korrelationsverbesserungen bei RBC, PCV und RDW der Ziege erzielt.

4.2.1.1.2. Vergleich mit den Referenzmethoden

Da die Mikrohämatokritmethode nach wie vor die Referenzmethode bei der Evaluation von Blutanalysegeräten darstellt (ICSH 1994), wurden ADVIA 120, H*1 und Sysmex F 800 ergänzend mit dieser Methode verglichen.

4.2.1.1.2.1. Hämatokritwert

Die nachfolgende Tabelle 32 zeigt den Grad der Übereinstimmung bei der Hämatokritwert-Bestimmung in Schafblut von ADVIA 120, Technicon H*1 und Sysmex F 800 einerseits sowie der Zentrifuge andererseits.

Tabelle 32: Methodenvergleich des ADVIA 120 (SW 1, 3, 4), Technicon H*1 und Sysmex F 800 mit dem Referenzgerät Mikrohämatokritzentrifuge für den PCV des Schafes; ¹n = 108, ²n = 31, ³n = 32; p < 0,001.

Parameter	Vergleichsgerät	Korrelation	Hauptkomponentengleichung
PCV _{ovin}	ADVIA 120 (SW 1) ¹	r = 0,940	y = 0,89 x + 0,03
	ADVIA 120 (SW 3) ²	r = 0,901	y = 1,14 x - 0,03
	ADVIA 120 (SW 4) ³	r = 0,970	y = 0,93 x + 0,03
	Technicon H*1	r = 0,924	y = 0,93 x + 0,03
	Sysmex F 800	r = 0,891	y = 0,69 x + 0,06

Durch die Softwareanpassung läßt sich von SW 1 zu SW 3 eine Korrelationssteigerung und Annäherung an die Winkelhalbierende feststellen.

Im Vergleich mit der Zentrifuge ist die Korrelation des ADVIA 120 (SW 4) etwas besser als die des H*1, während die Hauptkomponentengleichungen der Geräte übereinstimmen. Dem gegenüber zeigt der Sysmex eine deutlich schlechtere Korrelation und ein größeres Abweichen von der Winkelhalbierenden im Vergleiche mit der Referenzmethode.

Die anschließende Tabelle 33 zeigt die Softwareanpassung am Beispiel des caprinen PCV beim Methodenvergleich ADVIA 120 mit dem Referenzgerät Zentrifuge.

Tabelle 33: Methodenvergleich des ADVIA 120 (SW 1, 3, 4), mit dem Referenzgerät Mikrohämatokritzentrifuge für den PCV der Ziege; ¹n = 109, ²n = 52, ³n = 31; p < 0,001.

Parameter	Software des ADVIA 120	Korrelation	Hauptkomponentengleichung
PCV _{caprin}	SW 1	r = 0,549	y = 1,38 x + 0,00
	SW 3	r = 0,981	y = 1,09 x - 0,02
	SW 4	r = 0,945	y = 1,23 x - 0,07

Die Softwareadaptation führte auch hier zu einer deutlichen Steigerung der Korrelation von der Roh- zur Endsoftware. In der Entwicklungsstufe (SW 3) wurde sogar noch eine geringgradig bessere Korrelation erzielt.

Die Ergebnisse der Methodenvergleiche ADVIA 120 (SW 4 = Endsoftware), Technicon H*1 und Sysmex F 800 mit der Zentrifuge für den Hämatokritwert der Ziege sind in den Abbildungen 5 - 7 dargestellt.

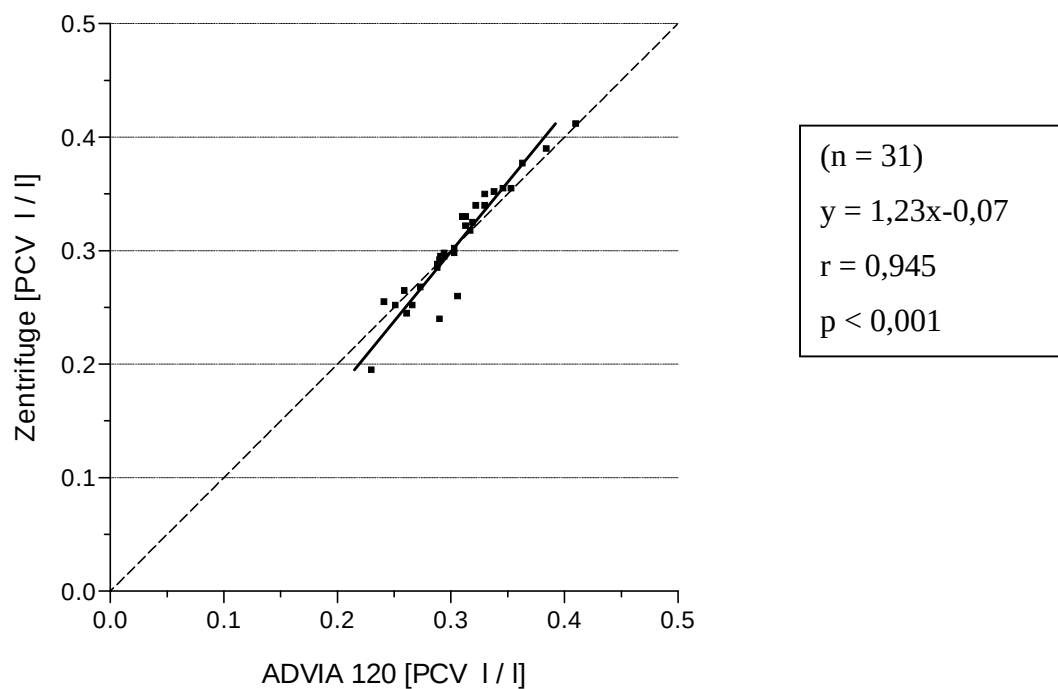


Abbildung 5: Korrelationsdiagramm d. Ergebnisse von Zentrifuge / ADVIA 120 (ESW) für den PCV der Ziege, fettgedruckte L. = HKG, gestrichelte L. = WH.

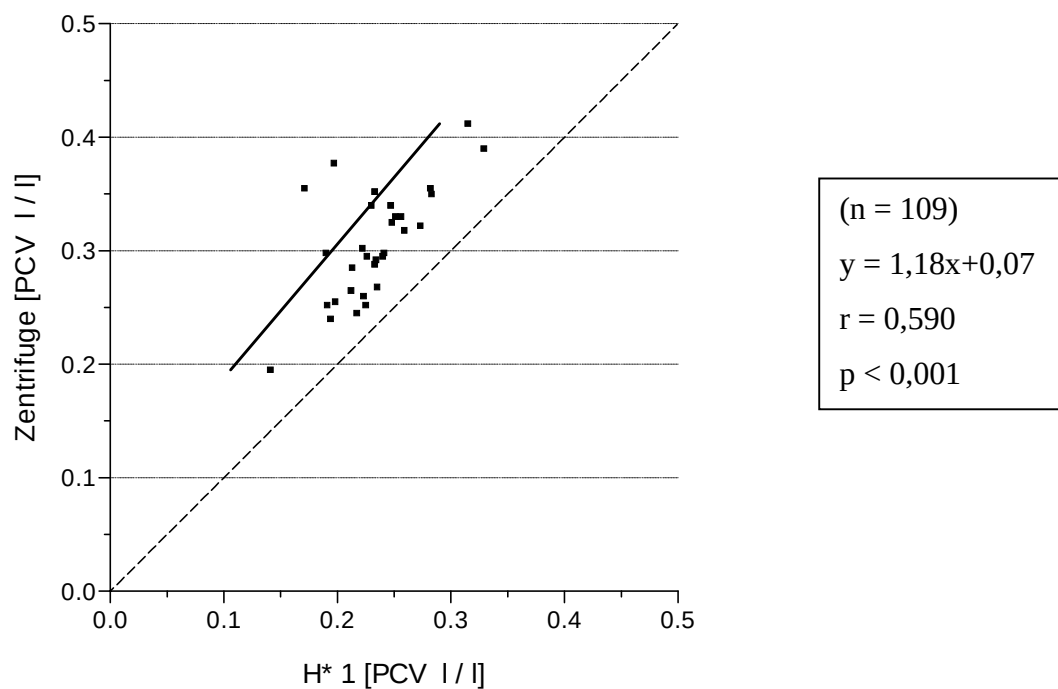


Abbildung 6: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zentrifuge / H*1 für den PCV der Ziege; fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

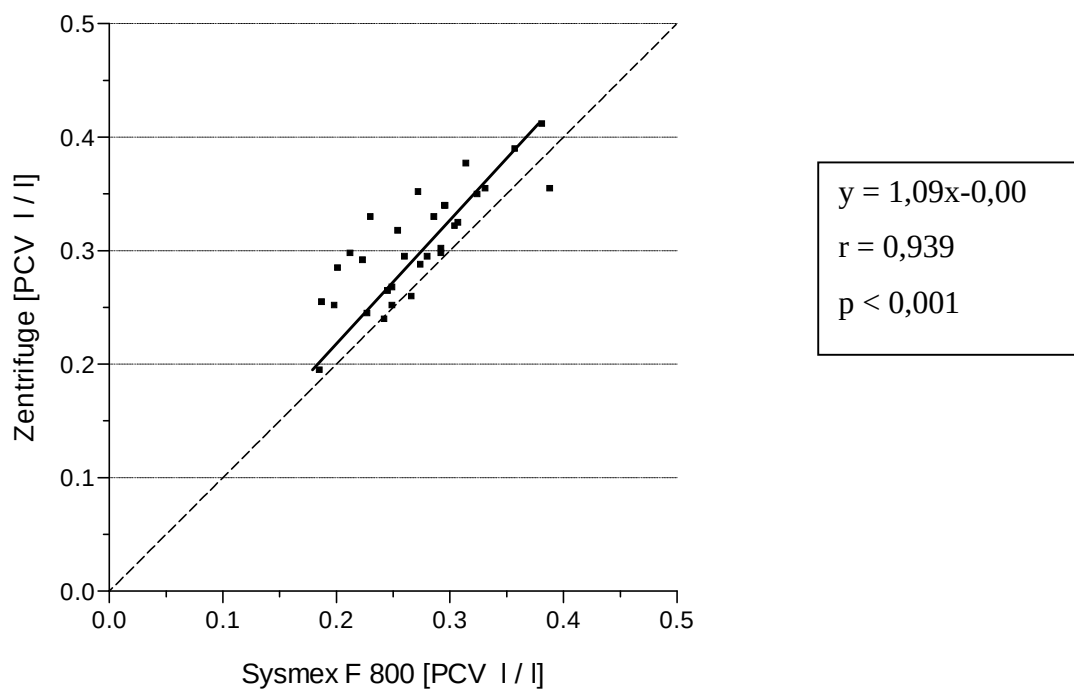


Abbildung 7: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zentrifuge / Sysmex F 800 für den Hämatokritwert der Ziege (n = 109); fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

Auch im Methodenvergleich mit der Referenzmethode für den caprinen Hämatokritwert zeigt der ADVIA 120 das mit Abstand beste Ergebnis. Die Korrelation des Sysmex F 800 mit der Referenzmethode ist etwas schlechter, während die Ergebnisse der H*1 nur mit 0,590 korrelieren. Die parallele Verschiebung der Hauptkomponentengerade des H*1 zur y- Achse zeigt an, daß das Gerät kontinuierlich zu niedrige Werte mißt.

4.2.1.1.2.2. Caprine Erythrozyten

Aufgrund der Diskrepanzen bezüglich der Erythrozytenwerte und der davon abhängigen Parameter bei der Ziege war ein zusätzlicher Vergleich der Geräte ADVIA 120, H*1 und Sysmex F 800 mit der Zählkammermethode (= Zählkammerm.) erforderlich. Die Korrelationen sind in den Abbildungen 8 - 10 dargestellt.

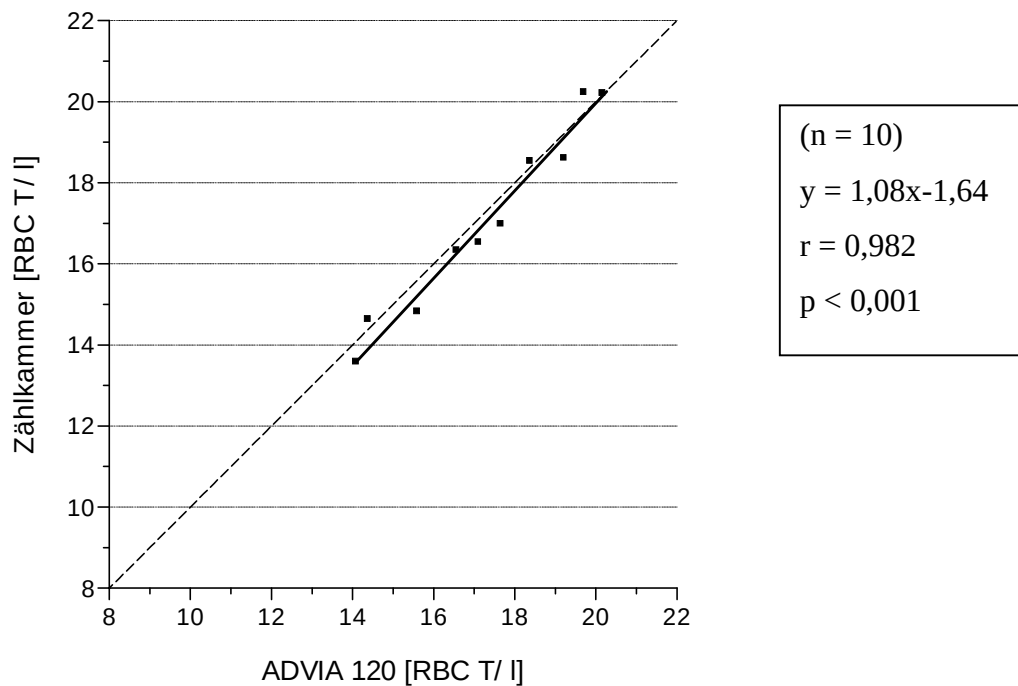


Abbildung 8: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zählkammerm. / ADVIA 120 für caprine Erythrozyten; fettgedruckte L. = HKG, gestrichelte L. = WH.

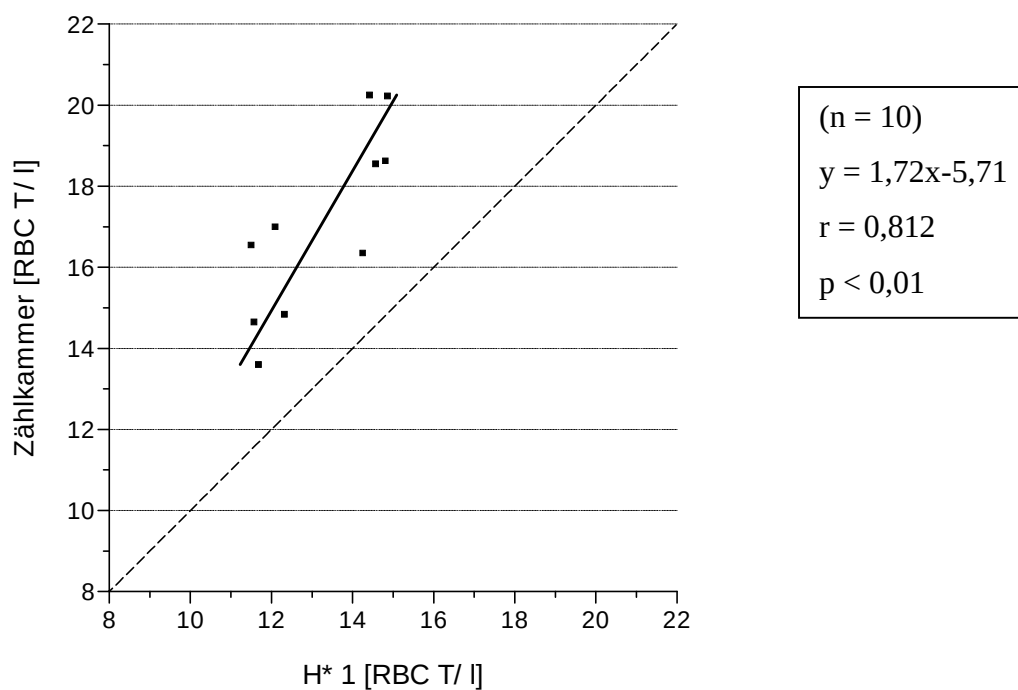


Abbildung 9: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zählkammerm. / H*1 für caprine Erythrozyten; fettgedruckte L. = HKG, gestrichelte L. = WH.

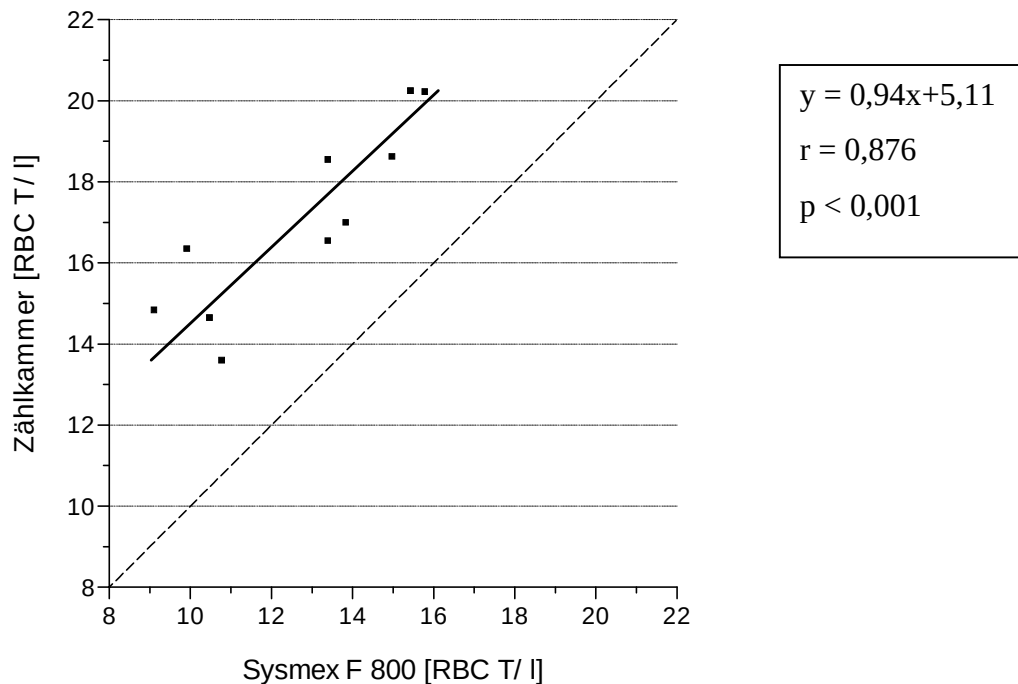


Abbildung 10: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zählkammerm. / Sysmex F 800 für caprine Erythrozyten (n = 10); fettgedruckte L. = HKG, gestrichelte L. = WH

Auch bei den Erythrozytenwerten zeigt der ADVIA 120 in der graphischen Darstellung mit einer Korrelation von ($r = 0,982$) eine gute Übereinstimmung mit der Zählkammermethode. Die deutlich schlechter korrelierenden Werte der Geräte H*1 ($r = 0,812$) und Sysmex F 800 ($r = 0,876$) zeigen zudem eine parallele Verschiebung ihrer Hauptkomponentengerade von der Winkelhalbierenden zur y-Achse. Diese Verschiebung zeigt an, daß beide Geräte kontinuierlich zu niedrige Werte messen.

4.2.1.1.2.3. Caprine Thrombozyten

Aufgrund der caprinen Thrombozytendiskrepanzen war auch hier ein zusätzlicher Vergleich mit der Zählkammer erforderlich. Die Ergebnisse des Vergleichs Zählkammerwerte mit denen des ADVIA 120, H*1 und F 800 von 10 zufällig ausgesuchten Tieren befindet sich in Abbildung 11 und in Tabelle 34.

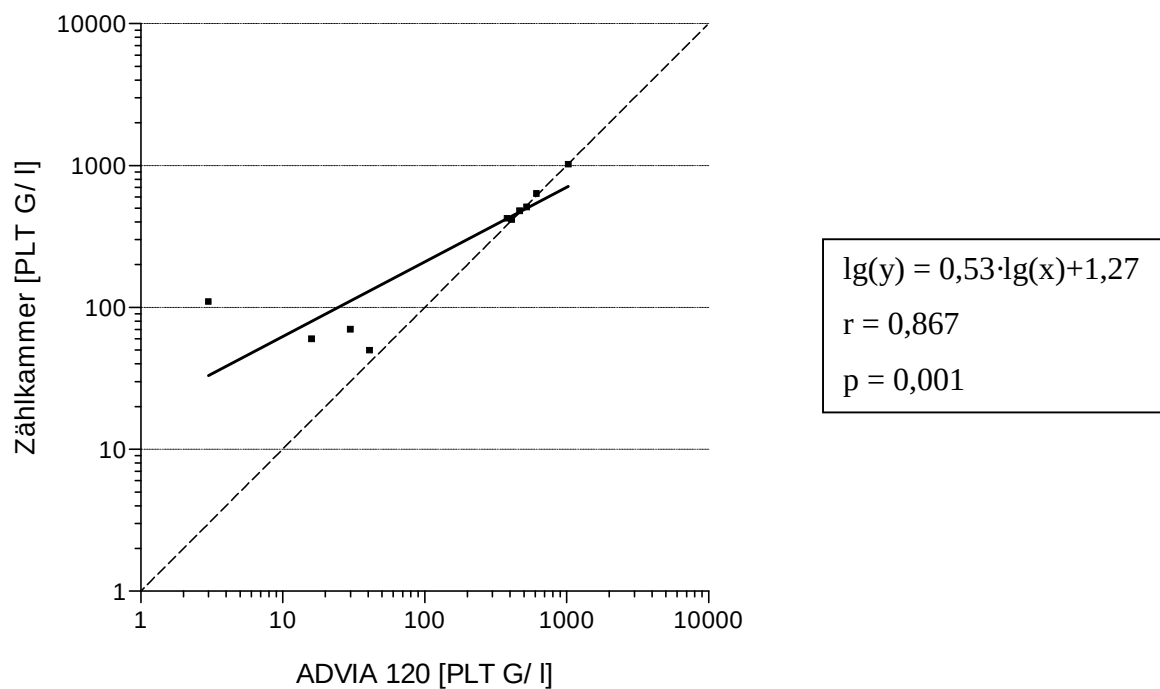


Abbildung 11: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zählkammermethode / ADVIA 120 für caprine Thrombozyten (n = 10); fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

Tabelle 34: Korrelationsangaben für das caprine PLT im Zählkammervergleich mit H*1 und F 800, n = 10.

Parameter	Signifikanz	Korrelation	Hauptkomponentengleichung
PLT _{H*1}	$p < 0,01$	$r = 0,828$	$\lg(y) = 0,73 \lg(x) + 0,25$
PLT _{F 800}	$p = 0,001$	$r = 0,872$	$\lg(y) = 1,21 \lg(x) - 0,28$

Die Zählkammervergleiche mit H*1, ADVIA 120 und F 800 führten zu ähnlichem Korrelationen zwischen 0,828 und 0,872. Aus Abbildung 11 geht hervor, daß die Punktwolke und damit auch die Hauptkomponentengerade nur im unteren Bereich, d.h. nahe bei 100 G / l, von der Winkelhalbierenden und damit dem „Soll“ abweichen.

Aufgrund der Schwierigkeiten, die bei der manuellen Thrombozytenzählung in diesen Proben auftraten und der Tatsache, daß der ADVIA 120 bei besagten Proben sowie bei den mit ihnen durchgeführten Wiederholungsmessungen mit Fehlermeldung: „large platelets“ oder „Plt clumps“ reagierte, blieben sie bei der zweiten Auswertung unberücksichtigt.

Die folgenden Abbildungen 12 und 13 zeigen die Ergebnisse der Zählkammervergleiche mit ADVIA 120 und F 800 und einer entsprechend reduzierten Fallzahl (n = 6).

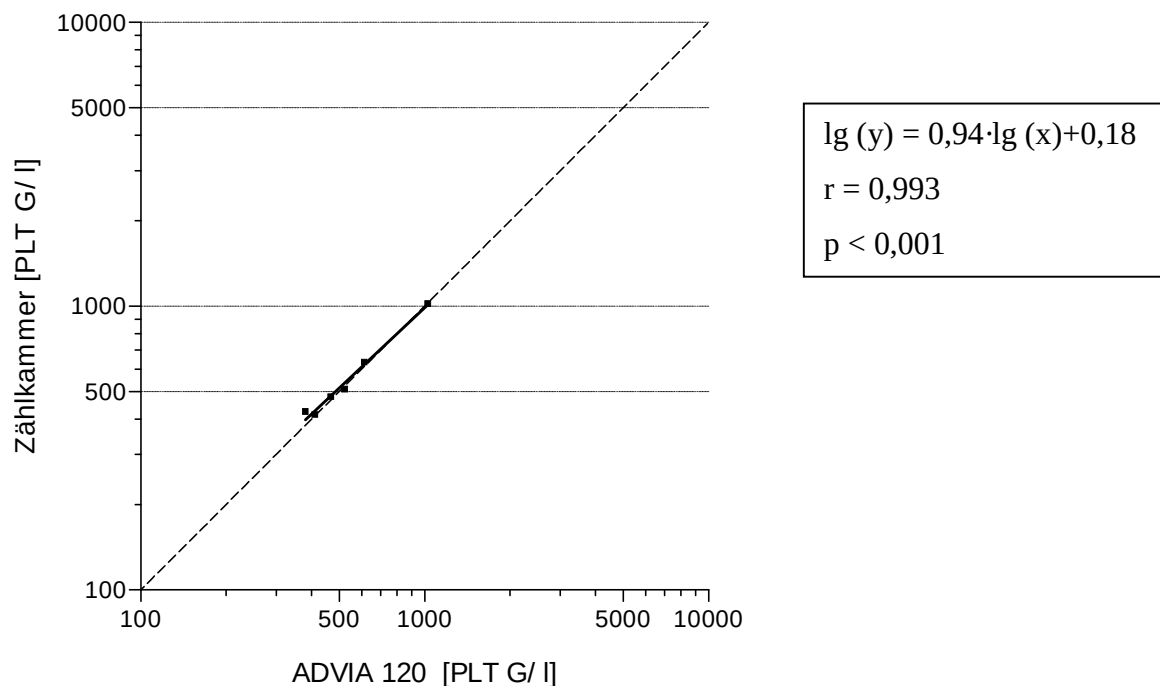


Abbildung 12: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse der Zählkammermethode / ADVIA 120 für caprines PLT mit korrigierter Fallzahl (n = 6); fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

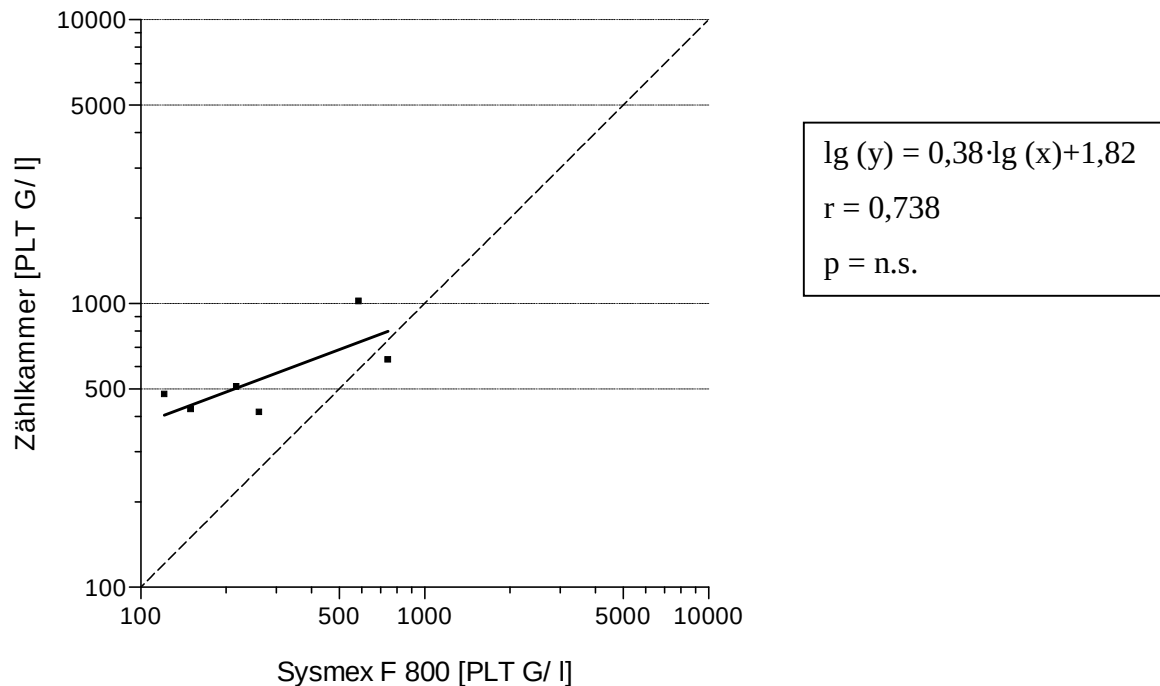


Abbildung 13: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von Zählkammermethode / Sysmex F 800 für caprine Thrombozyten mit korrigierter Fallzahl (n = 6); fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH

Nachdem die Tierzahl korrigiert wurde, zeigt sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen Zählkammer und ADVIA 120 bezüglich der caprinen Thrombozytenwerte.

Der Sysmex F 800 korrelierte bei dieser zweiten Auswertung deutlich schlechter und die Verschiebung der Hauptkomponentengeraden kann als eine permanent zu niedrig gemessene Thrombozytenzahl interpretiert werden. Diese Tendenz zeigte sich auch bei eigenen Beobachtungen der Thrombozytenbestimmung durch den Sysmex F 800. In einer Vielzahl der insgesamt 257 untersuchten Proben ermittelte das Gerät Werte von unter 100 G/l. Der Vergleich mit dem H*1 führte zu schlechten ($r = -0,467$) und nicht signifikanten Ergebnissen. In der Gesamtheit der untersuchten caprinen Proben konnten bei letztgenanntem Gerät häufig Werte von mehreren 1000 G/l gemessen werden.

4.2.1.1.2.4. Retikulozyten

Beim Methodenvergleich ADVIA 120 mit der Retikulozytenfärbung konnten beim Schaf keine signifikanten Ergebnisse erzielt werden.

Auch die Software- Entwicklungsstufen zeigten bei der Ziege keine signifikanten Ergebnisse. Die Korrelationen für den Vergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Färbung sind in der nachfolgenden Abbildung 14 zu sehen.

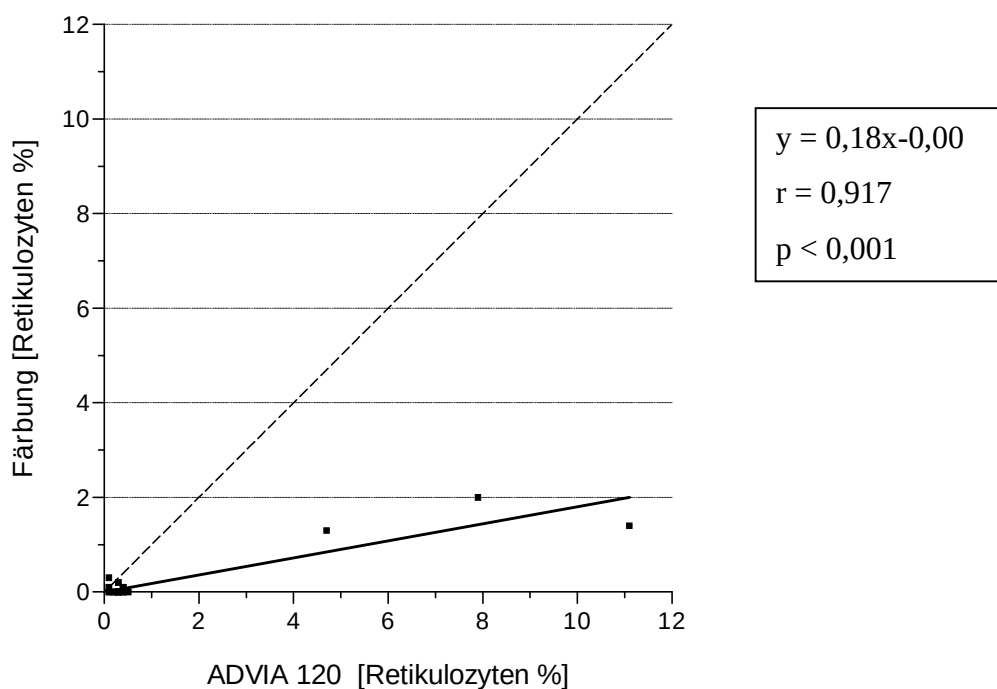


Abbildung 14: Korrelationsdiagramm der Ergebnisse von ADVIA 120 / Retikulozytenfärbung für die caprinen Retikulozyten (n = 29); fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

Im Vergleich mit der Färbung ermittelte der ADVIA 120 etwas höhere Retikulozytenwerte, bei einer Korrelation von 0,917.

4.2.1.2. Mittelwertvergleich

Die durch Wilcoxon- bzw. t-Test ermittelten Ergebnisse des Mittelwertvergleichs werden in den nachfolgenden Tabellen 35 und 36 beschrieben. Es werden jeweils Signifikanzniveau und Mittelwertdifferenz angegeben. Bei Parametern mit angenäherter Normalverteilung werden die absoluten, bei logarithmierten Proben die relativen Mittelwertunterschiede gezeigt.

Tabelle 35: Mittelwertunterschiede der Parameter des roten ovinen Blutbildes für die Geräte ADVIA 120 (Endsoftware), H*1, Sysmex F 800, Zentrifuge und Zählkammer, $p < 0,001$ (¹ $p < 0,01$, ² $p = \text{n.s.}$), * logarithmierter Wert.

Parameter	n	Methoden	Mittelwertunterschied absolut / relativ*
RBC (T/ l)	32	ADVIA 120/H*1	0,505
	32	ADVIA 120/ F 800	0,843
HGB (mmol/ l)	32	ADVIA 120/H*1	0,256
	32	ADVIA 120/ F 800	- 0,103
PCV (l/ l)	32	ADVIA 120/H*1	0,001
	32	ADVIA 120/ F 800	- 0,075
	32	ADVIA 120/ Zentrifuge	0,009
	108	H*1/ Zentrifuge	- 0,004
	108	F 800/ Zentrifuge	0,062
MCV (fl)	32	ADVIA 120/H*1	- 1,204
	32	ADVIA 120/ F 800	- 8,865
MCH (fmol)	32	ADVIA 120/H*1	- 0,006
	32	ADVIA 120/ F 800	- 0,058
MCHC (mmol/ l)	32	ADVIA 120/H*1	0,736
	32	ADVIA 120/ F 800	3,863
PLT* (G/ l)	32	ADVIA 120/H*1	1,180*
	32	ADVIA 120/ F 800	1,419*

Tabelle 36: Mittelwertunterschiede der Parameter des roten caprinen Blutbildes für die Geräte ADVIA 120 (Endsoftware), H*1, Sysmex F 800, Zentrifuge und Zählkammer, $p < 0,001$ (¹ $p < 0,01$, ² $p = \text{n.s.}$, ³ $p < 0,05$), * logarithmierter Wert.

Parameter	n	Methoden	Mittelwertunterschied absolut/ relativ*
RBC (T/ l)	31	ADVIA 120/H*1	3,073
	31	ADVIA 120/ F 800	4,250
	10	ADVIA 120/ Zählkammer ²	0,197
	10	H*1/ Zählkammer ¹	- 3,807
	10	F 800/ Zählkammer ¹	- 4,230
HGB (mmol/ l)	31	ADVIA 120/H*1	0,230
	31	ADVIA 120/ F 800	- 0,101
PCV (l/ l)	31	ADVIA 120/H*1	0,072
	31	ADVIA 120/ F 800	0,033
	31	ADVIA 120/ Zentrifuge ²	- 0,001
	109	H*1/ Zentrifuge	- 0,101
	109	F 800/ Zentrifuge	- 0,023
MCV (fl)	31	ADVIA 120/H*1	1,178
	31	ADVIA 120/ F 800	- 3,853
MCH (fmol)	31	ADVIA 120/H*1	- 0,081
	31	ADVIA 120/ F 800	- 0,171
MCHC (mmol/ l)	31	ADVIA 120/H*1	- 5,918
	31	ADVIA 120/ F 800	- 3,919
PLT* (G/ l)	31	ADVIA 120/H*1	0,230*
	31	ADVIA 120/ F 800	3,387*
	6	ADVIA 120/ Zählkammer ²	0,997*
	6	H*1/ Zählkammer ³	4,266*
	6	F 800/ Zählkammer ²	0,529*

Die ovinen Mittelwerte unterscheiden sich, mit Ausnahme der Parameter MCH und MPV im ADVIA 120 / H*1-Vergleich ($p < 0,01$) sowie dem PCV im H*1-Vergleich mit ADVIA 120 und Zentrifuge (n.s.), hoch signifikant.

Bei den Vergleichen des ADVIA 120 mit Zählkammer (RBC) und Zentrifuge (PCV) konnte für die Tierart Ziege statistisch kein Unterschied gezeigt werden. Die Zählkammer-Vergleiche mit H*1 (RBC und PLT) und F 800 (RBC) erwiesen sich bei dieser Tierart jedoch für die Mittelwerte als signifikant. Die Mittelwerte der caprinen Thrombozytenzahl des Zählkammer / ADVIA 120 bzw. Zählkammer / H*1-Vergleichs zeichnen sich durch eine schwache Signifikanz aus.

Bezüglich des RBC sind die größten Mittelwertunterschiede bei der Ziege im Vergleich mit dem F 800 festzustellen, dessen Ergebnisse um 4,25 bzw. 4,23 T/l geringer liegen als die Ergebnisse von ADVIA 120 bzw. Zählkammer. Die geringste Differenz zeigt der ADVIA 120 / Zählkammer-Vergleich bei der Ziege.

Bezüglich des PCV zeichnen sich im Vergleich mit der Referenzmethode der ADVIA 120 (Ziege) und der H*1 (Schaf) durch die geringsten Mittelwertdifferenzen aus.

Die Parameter MCV und MCH beider Tierarten und der ovine MCHC zeigen die geringsten Mittelwertdifferenzen im ADVIA 120 / H*1-Vergleich. Beim caprinen MCHC und dem HGB beider Tierarten hingegen sind die geringsten Unterschiede im ADVIA 120 / Sysmex F 800-Vergleich festzustellen.

Die ovine Thrombozytenzahl liegt beim ADVIA 120, im Vergleich mit dem H*1, um 18 % und mit dem F 800 um 42 % höher als die der Vergleichsgeräte.

Die vom ADVIA 120 gemessenen Mittelwerte des caprinen PLT betragen im Vergleich mit dem H*1 nur 23 % und mit dem Sysmex F 800 dagegen 339 % des Vergleichsgerätes. Bei diesem Parameter zeigen sich mit dem ADVIA 100 %, dem Sysmex 53 % und dem H*1 427 % des Zählkammerwertes. Die Mittelwertunterschiede sind nur im Vergleich mit dem H*1 schwach signifikant.

4.2.2. Weißes Blutbild

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Software-Evaluation des ADVIA 120 für das weiße Blutbild gezeigt.

4.2.2.1. Einzelwertvergleich

Zunächst werden die Resultate des Gerätevergleichs ADVIA 120 / H*1 dargestellt. Anschließend wird die Softwareentwicklung am Beispiel des Vergleichs mit der Panoptischen Färbung nach Pappenheim aufgezeigt. Schließlich werden die Vergleiche ADVIA 120 / Peroxidase- bzw. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung für die Endsoftware dargestellt.

4.2.2.1.1. Software-Evaluation

Die nachfolgende Tabelle 37 zeigt die Ergebnisse der Softwareadaptation anhand des Methodenvergleichs ADVIA 120 / H*1 für die ovinen Parameter des weißen Blutbildes. Die Angaben beziehen sich jeweils auf Software 1, 3 und 4 des ADVIA 120.

Tabelle 37: Methodenvergleich ADVIA 120 / Technicon H*1 für die ovinen Parameter WBC, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile und Basophile in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p < 0,001$ (Monozyten: $p = \text{n.s.}$); * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
WBC	$r = 0,977^1$ $r = 0,980^2$ $r = 0,968^3$	$y = 0,84x + 0,0004^1$ $y = 0,92x - 0,06^2$ $y = 0,87x + 0,01^3$
Neutrophile	$r = 0,980^1$ $r = 0,986^2$ $r = 0,989^3$	$y = 1,07x - 0,10^1$ $y = 1,05x + 0,03^2$ $y = 1,07x - 0,69^3$
Lymphozyten	$r = 0,966^1$ $r = 0,919^2$ $r = 0,962^3$	$y = 1,04x - 1,72^1$ $y = 0,98x - 0,11^2$ $y = 1,12x - 8,51^3$
Monozyten *	$r = 0,024^1$ $r = -0,331^2$ $r = 0,347^3$	$\lg(y) = 1,13 \cdot \lg(x) - 1,03^1$ --- $\lg(y) = 0,32 \cdot \lg(x) - 0,71^3$
Eosinophile *	$r = 0,881^1$ $r = 0,964^2$ $r = 0,971^3$	$\lg(y) = 1,16 \cdot \lg(x) - 0,11^1$ $\lg(y) = 1,10 \cdot \lg(x) - 0,06^2$ $\lg(y) = 1,06 \cdot \lg(x) - 0,06^3$
Basophile *	$r = 0,652^1$ $r = 0,722^2$ $r = 0,718^3$	$\lg(y) = 0,83 \cdot \lg(x) - 0,00^1$ $\lg(y) = 1,01 \cdot \lg(x) + 0,06^2$ $\lg(y) = 1,12 \cdot \lg(x) + 0,13^3$

¹ Softwareversion 1, $n = 108$;

² Softwareversion 3, $n = 31$;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), $n = 32$;

Der Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 zeigt für die Parameter WBC, Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile des Schafes sehr gute Korrelationen zwischen 0,962 und 0,989. Die Basophilen korrelieren nur mit 0,718. Die Auswertung der Monozyten führte zu keinen signifikanten Ergebnissen.

Die Softwareadaptation führte zu einer deutlichen Korrelationssteigerung bei den ovinen Eosinophilen, während die restlichen Parameter nur geringfügig schwanken.

Die nachfolgende Tabelle 38 zeigt die Ergebnisse der Softwareadaptation anhand des Methodenvergleichs ADVIA 120 / H*1 für die caprinen Parameter des weißen Blutbildes. Es wird jeweils Software 1, 3 und 4 des ADVIA 120 dargestellt.

Tabelle 38: Methodenvergleich ADVIA 120 / Technicon H*1 für die caprinen Parameter WBC, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile und Basophile in den Softwareversionen 1, 3 und 4, $p < 0,001$ (Monozyten: $p = \text{n.s.}$); * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
WBC	$r = 0,985^1$ $r = 0,990^2$ $r = 0,987^3$	$y = 0,86x + 0,13^1$ $y = 1,00x - 0,48^2$ $y = 0,93x - 0,17^3$
Neutrophile	$r = 0,942^1$ $r = 0,996^2$ $r = 0,951^3$	$y = 1,00x + 4,06^1$ $y = 0,99x - 0,06^2$ $y = 0,96x + 2,62^3$
Lymphozyten	$r = 0,952^1$ $r = 0,993^2$ $r = 0,927^3$	$y = 1,02x - 1,05^1$ $y = 1,02x - 3,73^2$ $y = 0,92x + 0,92^3$
Monozyten*	$r = -0,173^1$ $r = -0,150^2$ $r = 0,225^3$	--- --- $\lg(y) = 0,71 \cdot \lg(x) - 0,55^3$
Eosinophile*	$r = 0,914^1$ $r = 0,968^2$ $r = 0,908^3$	$\lg(y) = 1,16 \cdot \lg(x) - 0,18^1$ $\lg(y) = 1,10 \cdot \lg(x) - 0,10^2$ $\lg(y) = 1,01 \cdot \lg(x) - 0,12^3$
Basophile*	$r = 0,945^1$ $r = 0,737^2$ $r = 0,882^3$	$\lg(y) = 0,87 \cdot \lg(x) + 0,03^1$ $\lg(y) = 0,94 \cdot \lg(x) + 0,22^2$ $\lg(y) = 0,87 \cdot \lg(x) + 0,13^3$

¹ Softwareversion 1, n = 109;

² Softwareversion 3, n = 52;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 31;

Der Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 zeigt auch sehr gute Korrelationen für caprine WBC, Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile. Entsprechend den Ergebnissen beim Schaf korrelieren auch hier die Basophilen mit 0,882 etwas schlechter, und die Auswertung der Monozyten führte zu keinen signifikanten Resultaten.

Durch die Softwareanpassung konnten hier nur geringfügige Schwankungen der Korrelationen festgestellt werden.

Ein zusätzlich ausgewerteter Gerätevergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 für die absoluten Werte des Differentialblutbildes zeigte für caprine und ovine Neutrophile, Lymphozyten, Eosinophile und Basophile Korrelationen in ähnlichen Bereichen wie bei der Auswertung der Prozentangaben. Der entsprechende Methodenvergleich für die caprinen (Abbildung 15) und ovinen Monozyten (Tabelle 39) ist nachfolgend dargestellt.

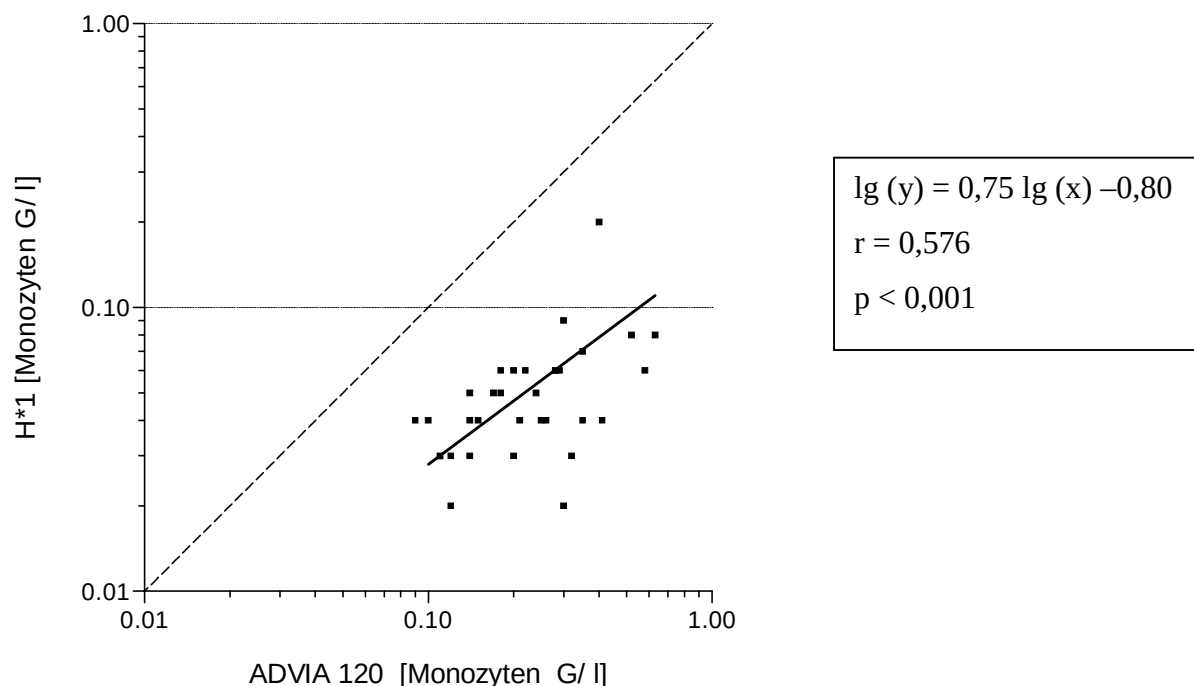


Abbildung 15: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / H*1 für die caprinen Monozyten (absolute Zahlen), n = 31, fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte Linie = WH.

Tabelle 39: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / Technicon H*1 für die ovinen Monozyten (absolute Zahlen), n = 32, p < 0,001, * logarithmierter Wert.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Monozyten*	$r = 0,561$	$\lg(y) = 0,97 \lg(x) - 1,06$

Aus Abbildung 15 und Tabelle 39 geht hervor, daß bei den Monozyten durch die Auswertung der absoluten Zahlen, anstatt der Prozentwerte, hoch signifikante Ergebnisse und deutlich bessere Korrelationen erzielt werden können.

Die anschließende Tabelle 40 zeigt die Ergebnisse des Methodenvergleichs ADVIA 120 / Sysmex F 800 für das WBC im Softwarevergleich bei Schaf und Ziege.

Tabelle 40: Methodenvergleich ADVIA 120 / Sysmex F 800 für das ovine und caprine WBC, in den Softwareversionen 1, 3 und 4, p < 0,001.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
WBC _{ovin}	$r = 0,939^1$	$y = 0,83x + 0,75^1$
	$r = 0,765^2$	$y = 1,17x - 0,90^2$
	$r = 0,750^3$	$y = 1,24x - 1,74^3$
WBC _{caprin}	$r = 0,881^1$	$y = 0,91x + 1,50^1$
	$r = 0,777^2$	$y = 1,44x - 1,49^2$
	$r = 0,855^3$	$y = 1,26x - 1,11^3$

¹ Softwareversion 1, n_{ovin} = 108, n_{caprin} = 109;

² Softwareversion 3, n_{ovin} = 31, n_{caprin} = 52;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n_{ovin} = 32, n_{caprin} = 31

Während bei den Korrelationen der Ziege nur geringe Veränderungen aufgrund der Software-Entwicklung auftraten, korreliert das ovine WBC in der Endsoftware deutlich geringer als in der ersten Einstellung.

Die nachfolgenden Tabellen 41- 42 zeigen die Ergebnisse der Softwareadaptation anhand des Methodenvergleichs ADVIA 120 / PAN für die Parameter des weißen Blutbildes. Es werden jeweils Software 1,3 und 4 des ADVIA 120 dargestellt.

Tabelle 41: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Panoptischen Färbung nach Pappenheim für die ovinen Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile und Basophile in verschiedenen Softwareversionen (1, 3, 4), $p < 0,001$ (Monozyten: $p < 0,05^1$, $p = \text{n.s.}^{2+3}$, Basophile: $p < 0,01^1$, $p = \text{n.s.}^{2+3}$), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Neutrophile	$r = 0,839^1$ $r = 0,899^2$ $r = 0,853^3$	$y = 1,33x - 2,26^1$ $y = 1,32x - 7,40^2$ $y = 1,33x - 6,37^3$
Lymphozyten	$r = 0,828^1$ $r = 0,885^2$ $r = 0,843^3$	$y = 1,22x - 17,01^1$ $y = 1,25x - 14,95^2$ $y = 1,39x - 25,86^3$
Monozyten *	$r = 0,206^1$ $r = 0,199^2$ $r = 0,258^3$	$\lg(y) = 5,81 \cdot \lg(x) - 3,26^1$ $\lg(y) = 3,43 \cdot \lg(x) - 1,12^2$ $\lg(y) = 1,78 \cdot \lg(x) - 0,32^3$
Eosinophile *	$r = 0,808^1$ $r = 0,596^2$ $r = 0,827^3$	$\lg(y) = 1,61 \cdot \lg(x) - 0,45^1$ $\lg(y) = 1,53 \cdot \lg(x) - 0,49^2$ $\lg(y) = 1,48 \cdot \lg(x) - 0,48^3$
Basophile *	$r = 0,290^1$ $r = 0,235^2$ $r = 0,269^3$	$\lg(y) = 0,80 \cdot \lg(x) - 0,39^1$ $\lg(y) = 0,66 \cdot \lg(x) - 0,32^2$ $\lg(y) = 3,23 \cdot \lg(x) + 0,61^3$

¹ Softwareversion 1, n = 108;

² Softwareversion 3, n = 31;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 32;

Die Korrelationen für ovine Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile liegen beim Vergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / Panoptische Färbung zwischen 0,853 und 0,827 und sind damit etwas schlechter als im Vergleich mit dem H*1. Die Auswertung von Monozyten und Basophilen führte zu keinen signifikanten Ergebnissen. Die Software-Evaluation zeigt hier nur geringgradige Unterschiede.

Tabelle 42: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Panoptischen Färbung nach Pappenheim für die caprinen Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile und Basophile in verschiedenen Softwareversionen (1, 3, 4) , $p < 0,001$ (Monozyten: $p = \text{n.s.}^{2+3}$, Basophile: $p < 0,01^1$, $p = \text{n.s.}^{2+3}$), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Neutrophile	$r = 0,889^1$ $r = 0,966^2$ $r = 0,827^3$	$y = 1,12x + 0,97^1$ $y = 1,04 - 4,08^2$ $y = 1,08x - 0,93^3$
Lymphozyten	$r = 0,915^1$ $r = 0,955^2$ $r = 0,856^3$	$y = 1,07x - 3,56^1$ $y = 1,08x - 2,94^2$ $y = 1,08x - 5,36^3$
Monozyten*	$r = 0,504^1$ $r = -0,042^2$ $r = 0,181^3$	$\lg(y) = 5,90 \cdot \lg(x) - 4,32^1$ --- $\lg(y) = 6,32 \cdot \lg(x) - 1,95^3$
Eosinophile*	$r = 0,807^1$ $r = 0,788^2$ $r = 0,715^3$	$\lg(y) = 1,07 \cdot \lg(x) - 0,15^1$ $\lg(y) = 1,48 \cdot \lg(x) - 0,34^2$ $\lg(y) = 1,23 \cdot \lg(x) - 0,14^3$
Basophile*	$r = 0,282^1$ $r = 0,125^2$ $r = 0,234^3$	$\lg(y) = 1,22 \cdot \lg(x) - 0,44^1$ $\lg(y) = 9,25 \cdot \lg(x) + 1,41^2$ $\lg(y) = 2,81 \cdot \lg(x) + 0,21^3$

¹ Softwareversion 1, n = 109;

² Softwareversion 3, n = 52;

³ Softwareversion 4 (= Endsoftware), n = 31;

Beim Vergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Panoptischen Färbung liegen die Korrelationen für caprinen Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile zwischen 0,856 und

0,715. Auch diese Parameter korrelieren etwas schlechter als mit dem H*1, liegen aber in ähnlichen Bereichen wie beim Schaf. In der Endsoftware führte auch der Vergleich von caprinen Monozyten und Basophilen zu keinen signifikanten Ergebnissen. Die Software-Evaluation bedingte auch hier nur geringgradige Schwankungen.

4.2.2.1.2. Vergleich mit den Referenzmethoden Peroxidase- und α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung

Da sich in der Software-Evaluation auch bei den anderen zytochemischen Färbungen (POX, ANAE) nur geringgradige Veränderungen zeigen, wird auf deren Darstellung verzichtet. Nachfolgend werden die Ergebnisse des Methodenvergleichs ADVIA 120 (Endsoftware) / Peroxidase bzw. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung für die Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten und Eosinophile der Tierart Schaf (Tabelle 43 und Abbildung 16 - 17) dargestellt.

Tabelle 43: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Peroxidase¹- und α -Naphthyl-Acetat-Esterase²- Färbung für die ovinen Parameter Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile, n = 32, p < 0,001 (Monozyten: p = n.s.), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Neutrophile	$r = 0,873^1$ $r = 0,828^2$	$y = 1,41x - 6,82^1$ $y = 1,53x - 10,36^2$
Lymphozyten	$r = 0,861^1$ $r = 0,807^2$	$y = 1,39x - 26,55^1$ $y = 1,46x - 30,79^2$
Monozyten*	$r = -0,141^1$ $r = 0,249^2$	--- $\lg(y) = 0,78 \cdot \lg(x) + 0,05^2$
Eosinophile*	$r = 0,714^1$ $r = 0,735^2$	$\lg(y) = 1,71 \cdot \lg(x) - 0,63^1$ $\lg(y) = 1,65 \cdot \lg(x) - 0,63^2$

¹ Peroxidasefärbung

² α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung,

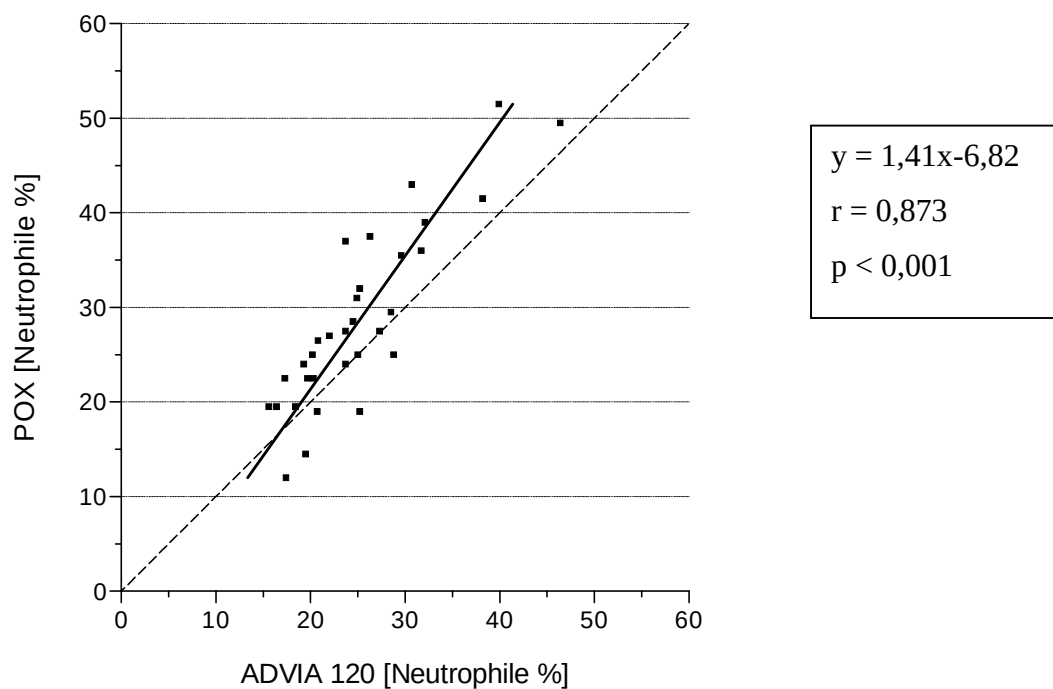


Abbildung 16: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / POX für die ovinen Neutrophilen, n = 32, fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte L. = WH.

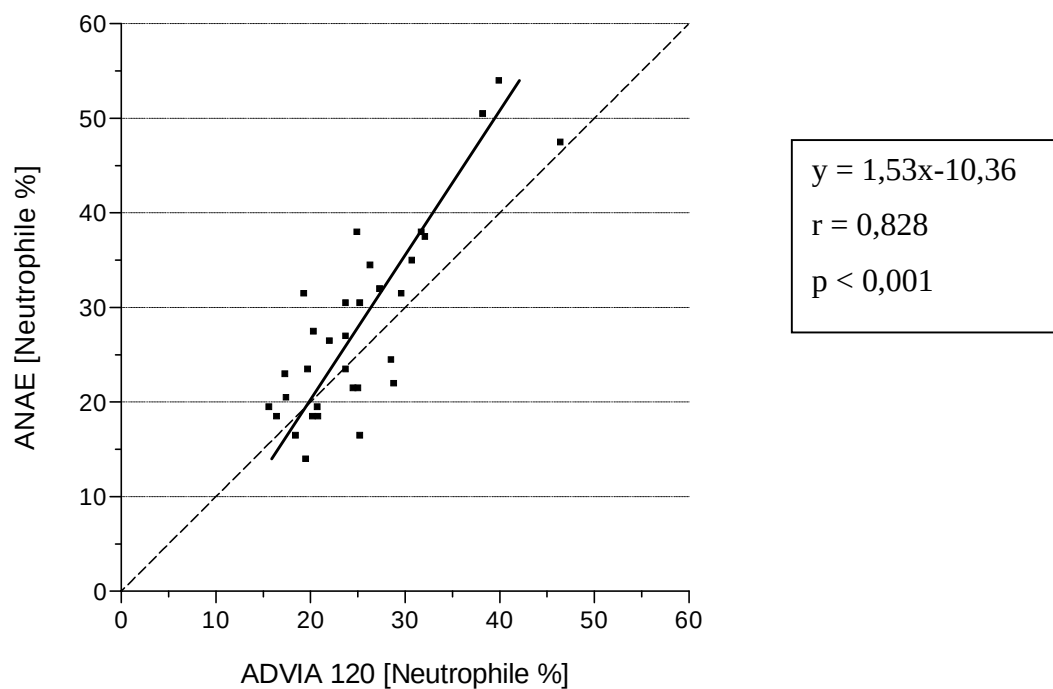


Abbildung 17: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / ANAE für die ovinen Neutrophilen, n = 32, fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte L. = WH.

Die Korrelationen für die ovinen Parameter der Blutzelldifferenzierung bewegen sich beim Vergleich ADVIA 120 / POX bzw. ANAE in ähnlichen Bereichen wie im Vergleich mit der Panoptischen Färbung.

Die nachfolgende Tabelle 44 zeigt die Ergebnisse des Methodenvergleichs ADVIA 120 (Endsoftware) / Peroxidase bzw. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung für die Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten und Eosinophile der Ziege.

Tabelle 44: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) mit der Peroxidase¹- und α -Naphthyl-Acetat-Esterase²-Färbung für die caprinen Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, n = 31, p < 0,001 (Monozyten: p = n.s.), * logarithmierte Werte.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Hauptkomponentengleichung
Neutrophile	$r = 0,801^1$ $r = 0,811^2$	$y = 1,12x - 2,05^1$ $y = 1,12x - 1,41^2$
Lymphozyten	$r = 0,833^1$ $r = 0,840^2$	$y = 1,14x - 7,99^1$ $y = 1,19x - 11,45^2$
Monozyten*	$r = 0,203^1$ $r = 0,258^2$	$\lg(y) = 7,28 \cdot \lg(x) - 2,34^1$ $\lg(y) = 5,26 \cdot \lg(x) - 1,55^2$
Eosinophile*	$r = 0,818^1$ $r = 0,711^2$	$\lg(y) = 1,13 \cdot \lg(x) - 0,33^1$ $\lg(y) = 1,12 \cdot \lg(x) - 0,28^2$

¹ Peroxidasefärbung

² α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung

Nachfolgend werden die Ergebnisse des Methodenvergleichs ADVIA 120 (Endsoftware) / Peroxidase bzw. α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung für die Eosinophilen der Ziege dargestellt. In den Abbildungen 18 - 19 zeichnen sich bezüglich der caprinen Eosinophilen ähnliche Tendenzen ab, wie bereits beim Schaf beschrieben.

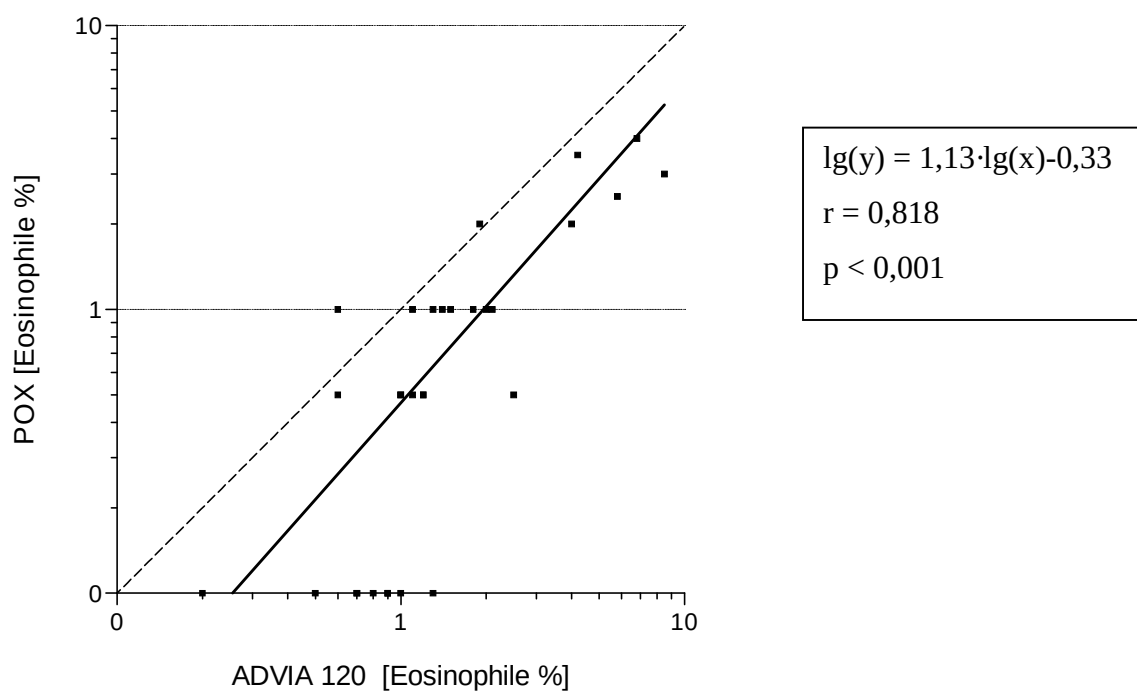


Abbildung 18: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / POX für die caprinen Eosinophilen, n = 32, fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte L. = WH.

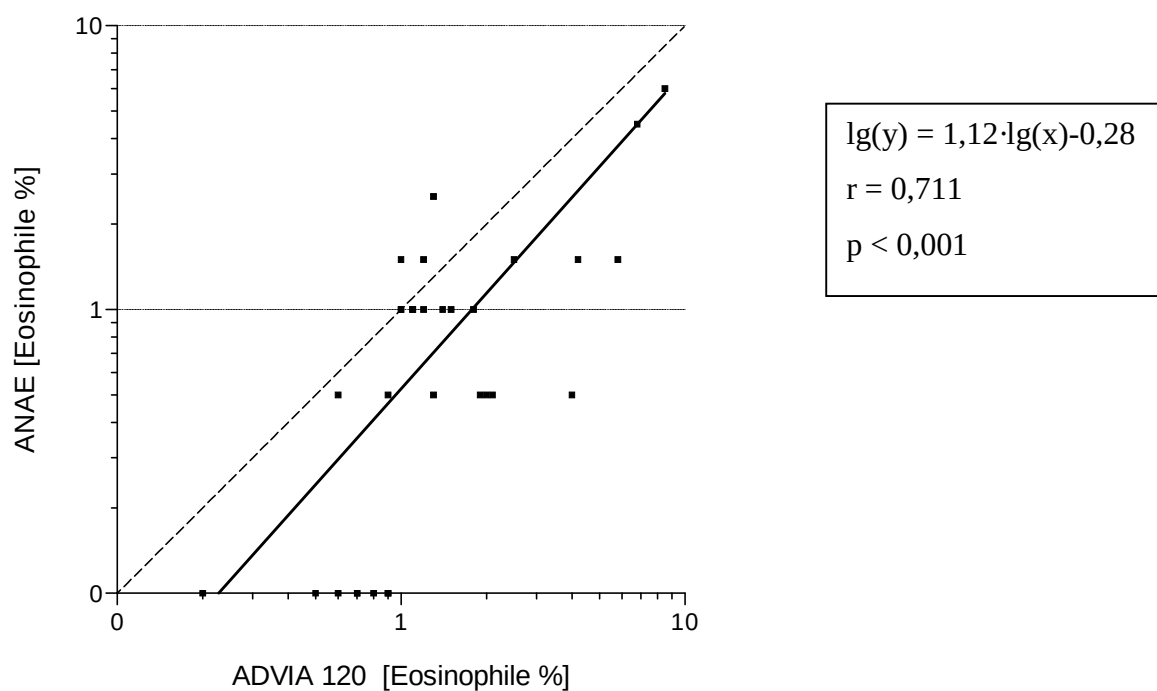


Abbildung 19: Methodenvergleich ADVIA 120 (Endsoftware) / ANAE für die caprinen Eosinophilen, n = 32, fettgedruckte Linie = HKG, gestrichelte L. = WH.

4.2.2.2. Mittelwertvergleich

Die nachfolgenden Tabellen 45 und 46 zeigen die Ergebnisse des Mittelwertvergleichs für die Parameter des weißen Blutbildes. Angegeben werden jeweils Signifikanz und absolute bzw. relative (bei logarithmierten Werten) Mittelwertdifferenz.

Tabelle 45: Mittelwertunterschiede der ovinen Parameter WBC, Lympho- u. Monozyten, Neutro-, Eosino- und Basophilen von ADVIA 120 (ESW), H*1, F 800, PAN, POX, ANAE, $p < 0,001$ (¹ $p < 0,01$, ² $p = n.s.$, ³ $p < 0,05$), * lg Wert.

Parameter	n	Methoden	Mittelwertunterschied absolut / relativ*
WBC (G/l)	32	ADVIA 120/ H*1	0,871
	32	ADVIA 120/ F 800 ²	0,077
Neutrophile (%)	32	ADVIA 120/ H*1	- 1,351
	32	ADVIA 120/ PAN ¹	- 2,229
	32	ADVIA 120/ POX	- 3,667
	32	ADVIA 120/ ANAE ¹	- 3,042
Lymphozyten (%)	32	ADVIA 120/H*1 ²	0,466
	32	ADVIA 120/ PAN ²	- 0,081
	32	ADVIA 120/ POX ²	0,700
	32	ADVIA 120/ ANAE ²	0,341
Monozyten* (%)	32	ADVIA 120/ H*1	9,436*
	32	ADVIA 120/ PAN ²	1,155*
	32	ADVIA 120/ POX ³	1,506*
	32	ADVIA 120/ ANAE ²	1,143*
Eosinophile* (%)	32	ADVIA 120/ H*1	1,088*
	32	ADVIA 120/ PAN	1,598*
	32	ADVIA 120/ POX	1,638*
	32	ADVIA 120/ ANAE	1,790*
Basophile* (%)	32	ADVIA 120/ H*1 ¹	0,872*
	32	ADVIA 120/ PAN ¹	1,459*

Tabelle 46: Mittelwertunterschiede der caprinen Parameter WBC, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophilen und Basophilen von ADVIA 120 (Endsoftware), H*1, Sysmex F 800, PAN, POX, ANAE, $p < 0,001$ (¹ $p < 0,01$, ² $p = \text{n.s.}$, ³ $p < 0,05$), * logarithmierter Wert.

Parameter	n	Methoden	Mittelwertunterschied absolut / relativ *
WBC (G/ l)	31	ADVIA 120/ H*1	0,966
	31	ADVIA 120/ F 800 ¹	- 1,457
Neutrophile (%)	31	ADVIA 120/ H*1	- 1,809
	31	ADVIA 120/ PAN ³	- 3,334
	31	ADVIA 120/ POX ³	- 3,593
	31	ADVIA 120/ ANAE ¹	- 4,351
Lymphozyten (%)	31	ADVIA 120/H*1	3,975
	31	ADVIA 120/ PAN ²	2,073
	31	ADVIA 120/ POX ²	1,267
	31	ADVIA 120/ ANAE ²	2,299
Monozyten* (%)	31	ADVIA 120/ H*1	3,989*
	31	ADVIA 120/ PAN ²	1,281*
	31	ADVIA 120/ POX ³	1,450*
	31	ADVIA 120/ ANAE ²	1,191*
Eosinophile* (%)	31	ADVIA 120/ H*1	1,371*
	31	ADVIA 120/ PAN ³	1,354*
	31	ADVIA 120/ POX	2,155*
	31	ADVIA 120/ ANAE	1,958*
Basophile* (%)	31	ADVIA 120/ H*1	0,689*
	31	ADVIA 120/ PAN ¹	1,472*

Die Lymphozyten beider Tierarten zeichnen sich im Vergleich mit den verschiedenen Färbungen durch nicht signifikante Mittelwertunterschiede aus. Zudem konnte für diesen Parameter beim Schaf auch kein signifikanter Mittelwertunterschied im Vergleich mit dem H*1 ermittelt werden.

Im Vergleich mit dem Sysmex F 800 zeigen sich für das ovine WBC keine, für das caprine WBC schwach signifikante Mittelwertunterschiede.

Nicht signifikante Mittelwertunterschiede weisen auch caprine und ovine Monozytenwerte im Vergleich mit PAN und ANAE auf.

Bezüglich der ovinen Gesamtleukozytenzahl zeigte der ADVIA 120 höhere Werte als die beiden Vergleichsgeräte. Der geringste Mittelwertunterschied wurde im Vergleich mit dem Sysmex F 800 erzielt.

Im Vergleich zum ADVIA 120 ermittelte der H*1 ein niedrigeres, der Sysmex F 800 ein höheres caprines WBC. Der kleinere Mittelwertunterschied zeigt sich bei dieser Tierart im ADVIA 120 / H*1-Vergleich.

Die Panoptische Färbung nach Pappenheim erweist sich für Neutrophile und Eosinophilen beider Tierarten sowie bei den ovinen Lymphozyten als die mit dem geringsten Mittelwertunterschied zum ADVIA 120 behaftete manuelle Methode und bietet somit die beste Übereinstimmung.

4.3. Linearität und Carryover

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Linearitäts- und Carryover-Messungen dargestellt.

4.3.1. Linearität

Der Linearitätstest ist aufgrund der geringen Standardabweichung zwischen den Wiederholungsmessungen innerhalb derselben Verdünnung nicht anwendbar (ICSH 1994). Deshalb werden hier nur Korrelationskoeffizienten, Signifikanzen und die Regressionsgerade angegeben.

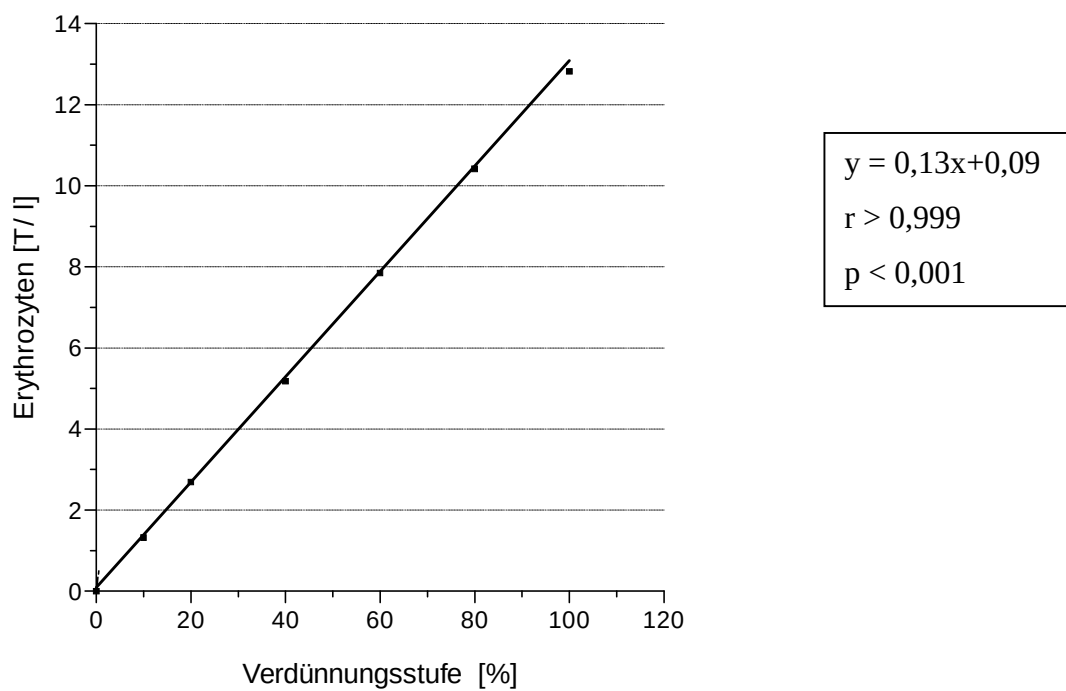
4.3.1.1. Linearität des roten Blutbildes

Die nachfolgende Tabelle 47 zeigt die Ergebnisse der Linearitätsmessung beim Schaf für die Parameter RBC und HGB.

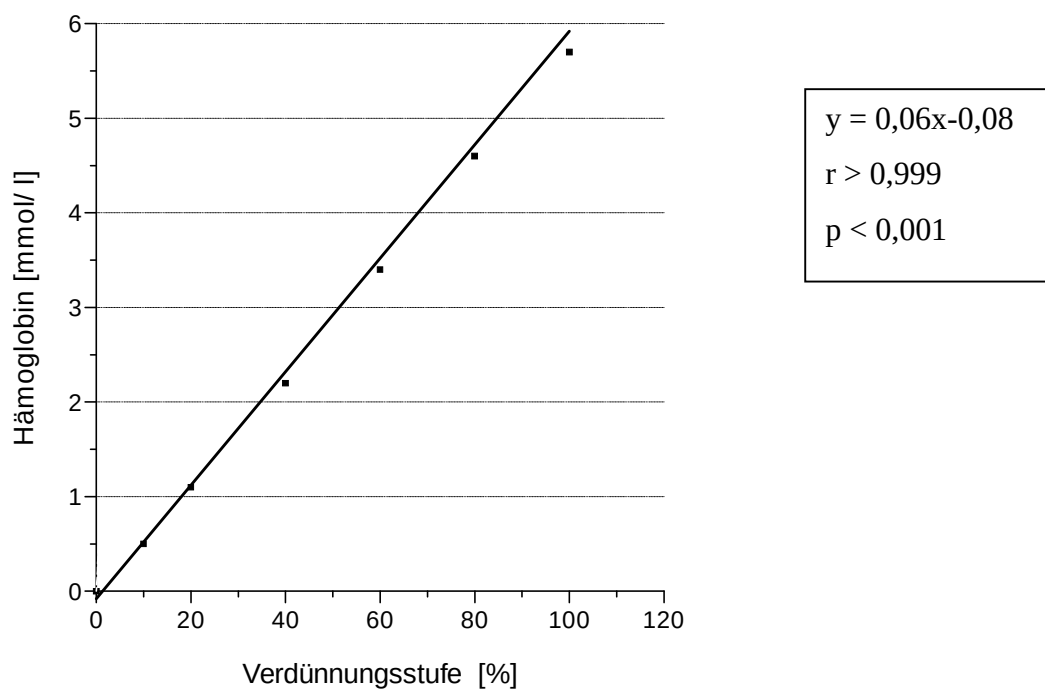
Tabelle 47: Ergebnisse der Linearitätsmessung für das ovine RBC und HGB, $p < 0,001$.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Regressionsgerade
RBC	$r < 0,999$	$y = 0,17 x + 0,26$
HGB	$r < 0,999$	$y = 0,11 x + 0,05$

Die Ergebnisse der Linearitätsmessung bei der Ziege für die entsprechenden Parameter sind graphisch dargestellt (Abbildung 20 - 21).



**Abbildung 20: Linearitätsdiagramm der caprinen Erythrozytenkonzentration (T/ l);
fettgedruckte Linie = Regressionsgerade.**



**Abbildung 21: Linearitätsdiagramm der caprinen Hämoglobinkonzentration (mmol/l);
fettgedruckte Linie = Regressionsgerade.**

Tabelle und Graphiken zeigen, daß die Linearität des ADVIA 120 für das RBC in einem Bereich zwischen 0 und 12,82 (Ziege) bzw. 17,5 T/l (Schaf) und das HGB in einem Bereich zwischen 0 und 5,7 (Ziege) und 11,45 mmol/l (Schaf) gewährleistet ist.

4.3.1.2. Linearität des weißen Blutbildes

Die anschließende Tabelle 48 beinhaltet die Ergebnisse der Linearitätsmessung für das ovine WBC und PLT.

Tabelle 48: Ergebnisse der Linearitätsmessung für das ovine WBC und PLT, $p < 0,001$.

Parameter	Korrelationskoeffizient	Regressionsgerade
WBC	$r < 0,999$	$y = 0,94 x - 0,55$
PLT	$r < 0,999$	$y = 31,75 x + 147,21$

Die Ergebnisse bei der Ziege für die entsprechenden Parameter sind in den nachfolgenden Abbildungen (22 - 23) dargestellt.

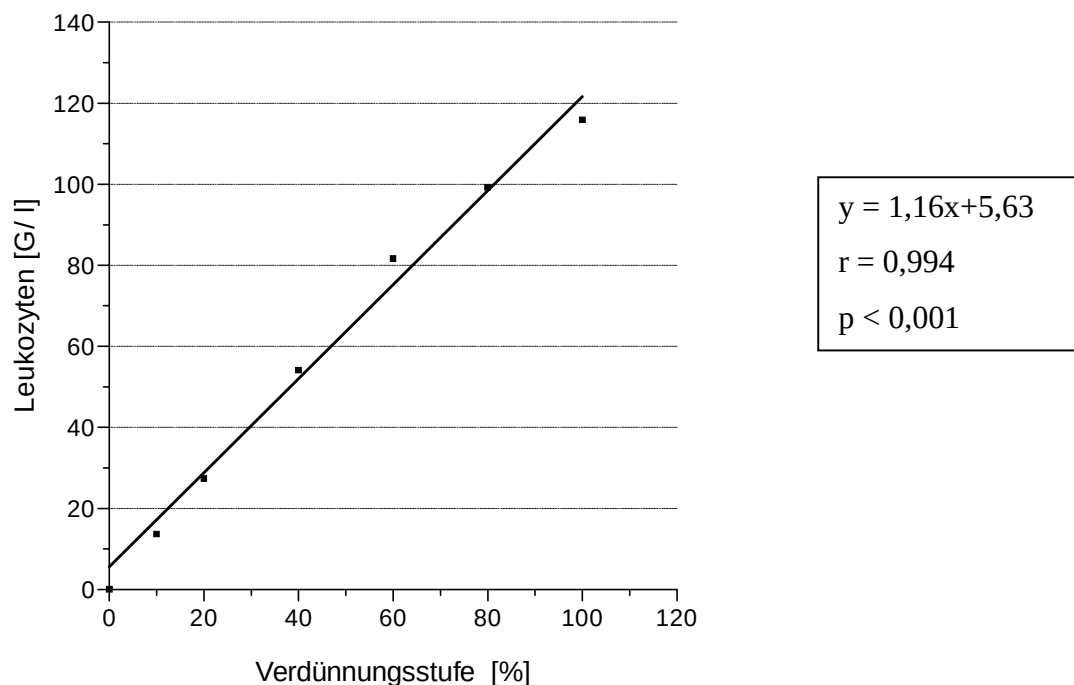


Abbildung 22: Linearitätsdiagramm der caprinen Leukozytenkonzentration (G/l); fettgedruckte Linie = Regressionsgerade.

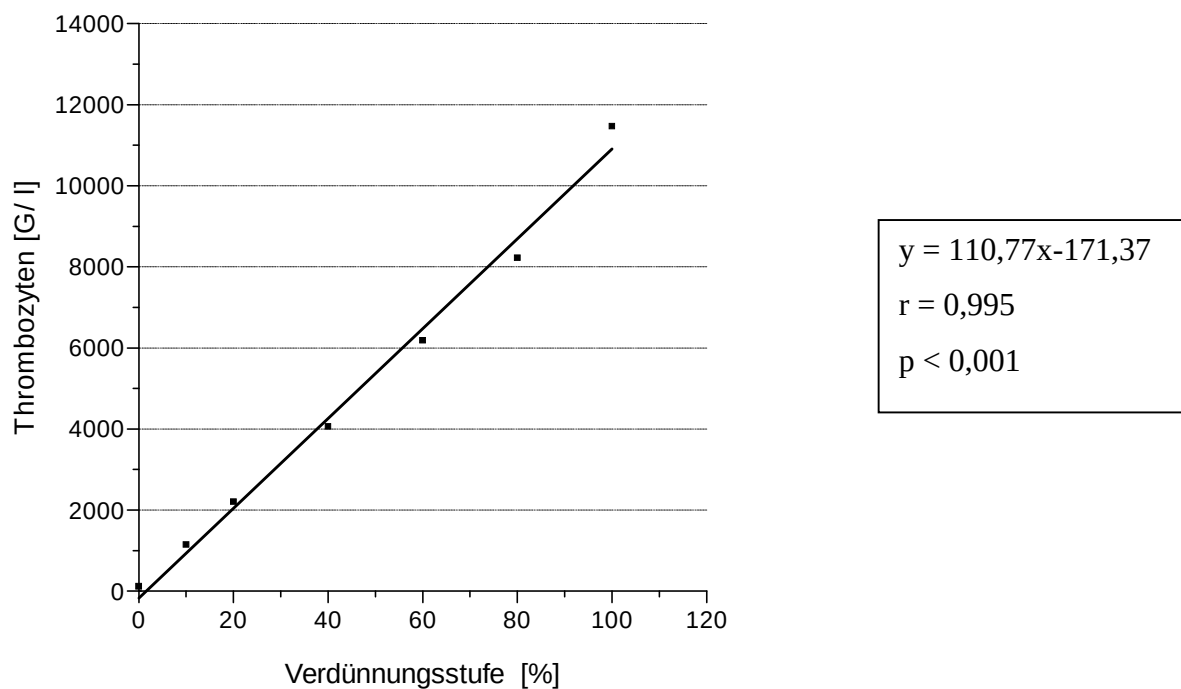


Abbildung 23: Linearitätsdiagramm der caprinen Thrombozytenkonzentration (G/ l); fettgedruckte Linie = Regressionsgerade.

Wie aus der Tabelle 47 und den Abbildungen (22 - 23) hervorgeht, ist die Linearität des ADVIA 120 auch beim WBC in einem Bereich von 0,02 und 115,89 (Ziege) bzw. 94,46 G/ l (Schaf) gewährleistet. Das PLT verhält sich in den Bereichen 119 –11473 (Ziege) bzw. 149 – 3304 G/ l (Schaf) linear.

4.3.2. Carryover

Die Berechnung des Prozentsatzes der Zellverschleppung erfolgt nach der Formel:

$$\text{Verschleppung \%} = \bar{x}_{P1-P2} / \bar{x}_{P100} \cdot 100\%$$

($\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert; P1-P2 = Differenz zwischen 0 % Pool₁ und 0 % Pool₂; P100 = 100 % Pool)

4.3.2.1. Carryover der Parameter HGB, RBC, WBC und PLT

Für das HGB ergab sich bei beiden Tierarten keine Verschleppung.

Das Carryover des RBC beträgt beim Schaf 0,11 % und bei der Ziege 0,25 %.

Das Carryover für das WBC beträgt beim Schaf 0,26 % und bei der Ziege 0,61%.

Die Verschleppung der Thrombozyten zeigt beim Schaf 0,27 % und bei der Ziege 0,16 %.

4.4. Antikoagulanzenvergleich

Um einen Antikoagulanzen bedingten Einfluß auf die Meßergebnisse der Blutzellzählung und -differenzierung festzustellen, wurden 14 caprine und 11 ovine Blutproben unter Verwendung der Gerinnungshemmer K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat untersucht. Die Meßwerte der Parameter RBC, HGB, PCV, PLT, RETI und WBC in den mit Na-Citrat antikoagulierten Proben wurden aufgrund ihrer Verdünnung von 1:10 mit dem Faktor 1,1 multipliziert. Nachfolgend sind die Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalyse dargestellt. Die Tabellen 49 und 50 zeigen die statistische Relevanz der Antikoagulanzenwirkung auf ovine und caprine Parameter des roten und weißen Blutbildes. Zeigen beide Geräte die gleichen Werte, so wird das Ergebnis ohne Angabe von hochgestellten Ziffern dargestellt. Bei unterschiedlichem Verhalten sind die Signifikanzen entsprechend gekennzeichnet.

Tabelle 49: Statistische Relevanz der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat auf ovine und caprine Parameter des roten Blutbildes; p = Signifikanz, * = logarithmierter Wert, ¹ = ADVIA 120, ² = Technicon H*1

Parameter	Signifikanz Schaf n = 11	Signifikanz Ziege, n = 14
RBC	p < 0,001	p < 0,001
HGB	p < 0,001	p < 0,001
PCV	p < 0,001	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²
MCV	p < 0,001	p < 0,001
MCH	n.s.	n.s. ¹ p < 0,001 ²
MCHC	p < 0,001	p < 0,001
CHCM	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹
RDW	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²
HDW	p < 0,001	n.s. ¹ p < 0,001 ²

Tabelle 50: Statistische Relevanz der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat auf ovine und caprine Parameter des roten und weißen Blutbildes; p = Signifikanz, * = logarithmierter Wert, ¹ = ADVIA 120, ² = Technicon H*1.

Parameter	Signifikanz Schaf n = 11	Signifikanz Ziege n = 14
PLT*	p < 0,001	p < 0,001
MPV	p < 0,05 ¹ n.s. ²	p < 0,001
PDW	p < 0,05 ¹ p < 0,01 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²
RETI	p < 0,05 ¹	p < 0,05 ¹
WBC	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001
Neutrophile (%)	p < 0,01 ¹ p < 0,05 ²	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²
Lymphozyten (%)	p < 0,05 ¹ n.s. ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²
Monozyten* (%)	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001
Eosinophile* (%)	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001
Basophile* (%)	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001 ¹ n.s. ²
LUC* (%)	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001

Aus den Tabellen 49 und 50 geht bezüglich des ovinen Antikoagulanzenvergleichs hervor, daß bei dem von beiden Geräten bestimmten MCH, dem vom H*1 gemessenen MPV, den Lymphozyten und Basophilen (%) sowie den vom ADVIA 120 ermittelten Monozyten und Eosinophilen (%) kein statistisch relevanter Unterschied festzustellen ist.

Beim caprinen Vergleich zeigten lediglich die vom ADVIA 120 gemessenen Parameter MCH, RDW, HDW und PDW sowie die vom H*1 bestimmten Basophilen (%) keine statistisch signifikanten Differenzen aufgrund der Verwendung verschiedener Antikoagulanzen.

Ergab der Vergleich von 3 Antikoagulanzen statistisch signifikante Ergebnisse, wurde zur genaueren Differenzierung dieser Unterschiede ein paarweiser Antikoagulanzenvergleich durchgeführt.

Die Tabellen 51 und 52 zeigen die Ergebnisse des paarweisen Antikoagulanzenvergleichs beim Schaf, basierend auf dem t-Test für verbundene Stichproben bei Anwendung eines vergleichsbezogenen Signifikanzniveaus nach der Bonferroni-Methode.

Tabelle 51: Vergleich der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat für die ovinen Parameter des roten Blutbildes ADVIA 120¹ und H*1²; p = Signifikanz, n= 11, * = logarithmierter Wert.

Parameter	EDTA / Heparin	EDTA / Citrat	Heparin / Citrat
RBC	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,001
HGB	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,001
PCV	n.s.	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001
MCV	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,001
MCHC	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,001
CHCM	p < 0,01 ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹
RDW	n.s. ¹ p < 0,05 ²	n.s. ¹ p < 0,01 ²	n.s. ¹ p < 0,01 ²
HDW	n.s. ¹ p < 0,01 ²	p ≤ 0,001	p < 0,001
PLT *	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01 ¹ p < 0,01 ²
MPV	n.s. ¹	n.s. ¹	n.s. ¹
PDW	n.s. ¹ p < 0,05 ²	n.s. ¹ p < 0,05 ²	n.s.
RETI	n.s. ¹	n.s. ¹	p < 0,05 ¹

Bonferroni-Adjustierung bedeutet bei 3 Vergleichen:

p ≤ 0,001 wird geprüft mit p ≤ 0,0003

p ≤ 0,01 wird geprüft mit p ≤ 0,003

p ≤ 0,05 wird geprüft mit p ≤ 0,017

Tabelle 52: Vergleich der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat für die ovinen Parameter des weißen Blutbildes ADVIA 120¹ und H*1²; p = Signifikanz, n= 11, * = logarithmierter Wert.

Parameter	EDTA / Heparin	EDTA / Citrat	Heparin / Citrat
WBC	n.s.	n.s. ¹ p < 0,01 ²	n.s. ¹ p < 0,01 ²
Neutrophile (%)	n.s.	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,05 ¹ n.s. ²
Lymphozyten (%)	n.s. ¹	p < 0,05 ¹	n.s. ¹
Monozyten* (%)	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²
Eosinophile* (%)	n.s. ²	p ≤ 0,01 ²	p < 0,01 ²
Basophile* (%)	p < 0,01 ¹	p < 0,05 ¹	p < 0,001 ¹
LUC* (%)	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s.

Bonferroni-Adjustierung:

p ≤ 0,001 wird geprüft mit p ≤ 0,0003

p ≤ 0,01 wird geprüft mit p ≤ 0,003

p ≤ 0,05 wird geprüft mit p ≤ 0,017

Die statistische Auswertung zeigt, daß sich bei beiden Geräte nur im EDTA / Heparin-Vergleich die ovinen Parameter PCV, WBC und Neutrophile (%) und im Heparin / Citrat-Vergleich lediglich PDW und LUC (%) durch keinen signifikanten Einfluß der Antikoagulanzen auszeichnen.

Beim ADVIA 120 zeigt sich auch kein Unterschied bei der Verwendung von K₂-EDTA bzw. Li-Heparin für die Parameter RDW; HDW, MPV, PDW, Retikulozyten und Lymphozyten. Die Verwendung von K₂-EDTA oder Na-Citrat als Antikoagulanzen ist bei der ADVIA 120-Messung auch für die Parameter RDW, MPV, PDW, Retikulozyten, WBC und LUC (%) ohne statistische Bedeutung. Im Gegensatz zum H*1 ist die Verwendung von Li-Heparin bzw. Na-Citrat beim ADVIA 120 auch für das RDW, MPV, WBC und Lymphozyten (%) ohne statistische Bedeutung.

Beim H*1 zeichnen sich zusätzlich lediglich die Eosinophilen im EDTA / Heparin-Vergleich und die Neutrophilen in den beiden Vergleichen mit dem Citrat durch statistisch nicht signifikante Ergebnisse aus.

Die anschließenden Tabelle 53 und 54 zeigen die Ergebnisse des paarweisen caprinen Antikoagulanzenvergleichs für die Parameter des roten und weißen Blutbildes.

Tabelle 53: Vergleich der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat für die caprinen Parameter des roten Blutbildes; ADVIA 120¹- und H*1²-Messung; p = Signifikanz, n= 14, * = logarithmierter Wert.

Parameter	EDTA / Heparin	EDTA / Citrat	Heparin / Citrat
RBC	n.s. ¹ p < 0,01 ²	p = 0,001 ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²
HGB	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,01 ¹ p = 0,001 ²	p ≤ 0,001
PCV	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²
MCV	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p ≤ 0,001	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²
MCH	p < 0,05 ²	p < 0,05 ²	p < 0,05 ²
MCHC	n.s. ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²
CHCM	n.s. ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹
RDW	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²
HDW	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²	p < 0,001 ²
PLT *	p < 0,001	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²
MPV	p < 0,01	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,05 ¹ n.s. ²
PDW	p = 0,001 ²	p < 0,001 ²	n.s. ²
RETI	n.s. ¹	n.s. ¹	n.s. ¹

Bonferroni-Adjustierung:

p ≤ 0,001 wird geprüft mit p ≤ 0,0003

p ≤ 0,01 wird geprüft mit p ≤ 0,003

p ≤ 0,05 wird geprüft mit p ≤ 0,017

Tabelle 54: Vergleich der Antikoagulanzen K₂-EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat für die caprinen Parameter des weißen Blutbildes, ADVIA 120¹- und H*1²-Messing; p = Signifikanz, n = 14, * = logarithmierter Wert.

Parameter	EDTA / Heparin	EDTA / Citrat	Heparin / Citrat
WBC	n.s. ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001	p < 0,01
Neutrophile (%)	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,01 ²	n.s.
Lymphozyten (%)	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,01 ¹ p < 0,05 ²	n.s.
Monozyten* (%)	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,01
Eosinophile* (%)	p < 0,01	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p = 0,001 ²
Basophile* (%)	p < 0,001 ¹	n.s. ¹	p < 0,01 ¹
LUC* (%)	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²

Bonferroni-Adjustierung:

p ≤ 0,001 wird geprüft mit p ≤ 0,0003

p ≤ 0,01 wird geprüft mit p ≤ 0,003

p ≤ 0,05 wird geprüft mit p ≤ 0,017

Für beide Geräte zeigt sich bei der Ziege lediglich im Heparin / Citrat-Vergleich bei den Neutrophilen und Lymphozyten kein signifikanter Unterschied.

Beim ADVIA 120 spielt die Verwendung der letztgenannten Antikoagulanzen auch bei PCV, PLT, Retikulozyten und Eosinophilen (%) keine Rolle. Ob man K₂-EDTA oder Na-Citrat den Vorzug gibt, ist bei ADVIA 120-Messungen für die caprinen Parameter Retikulozyten, Neutrophile und Basophile ohne statistische Relevanz. Die Wahl zwischen K₂-EDTA und Li-Heparin ist bei ADVIA 120-Messungen für die caprinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCHC, CHCM, Retikulozyten, WBC, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten (%) von nicht signifikanter Bedeutung.

Zusätzlich zu den Neutrophilen und Lymphozyten (%) zeichnen sich auch MPV und PDW im Heparin / Citrat-Vergleich des H*1 durch nicht signifikante Unterschiede aus.

Die anschließende Tabelle 55 soll einen Überblick über arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen bzw. geometrische Mittelwerte im Antikoagulantienvergleich einiger ausgewählter capriner und oviner Parameter geben. Besonders signifikante Unterschiede wurden durch Fettdruck hervorgehoben.

Tabelle 55: Einfluß verschiedener Antikoagulanzen auf die Meßergebnisse des ADVIA 120, arithmetischer Mittelwert ($\bar{x}$), Standardabweichung (SD), $n_{\text{caprin}} = 14$, $n_{\text{ovin}} = 11$, * bei logarithmierten Werten: geometrischer Mittelwert ($\bar{x}_g$), SF = Streufaktor.

Parameter	K₂-EDTA $\bar{x} \pm \text{SD} / \bar{x}_g; \text{SF}$	Li-Heparin $\bar{x} \pm \text{SD} / \bar{x}_g; \text{SF}$	Na-Citrat $\bar{x} \pm \text{SD} / \bar{x}_g; \text{SF}$
WBC _{caprin}	9,39 ± 2,32	8,93 ± 2,70	9,97 ± 2,38
WBC _{ovin}	7,08 ± 1,08	6,44 ± 0,94	7,27 ± 1,20
RBC _{caprin}	16,65 ± 2,91	16,83 ± 3,10	17,54 ± 3,13
RBC _{ovin}	11,90 ± 0,88	11,98 ± 0,92	12,83 ± 1,05
MCV _{caprin}	18,87 ± 2,15	18,88 ± 2,16	18,50 ± 2,16
MCV _{ovin}	28,42 ± 1,80	28,19 ± 1,74	27,57 ± 1,72
RDW _{caprin}	25,26 ± 1,66	25,06 ± 1,76	25,30 ± 1,67
RDW _{ovin}	18,25 ± 0,97	18,26 ± 1,01	18,34 ± 0,99
HGB _{caprin}	6,84 ± 0,83	6,93 ± 0,86	7,21 ± 0,95
HGB _{ovin}	7,68 ± 0,45	7,79 ± 0,50	8,30 ± 0,54
PLT [*] _{caprin}	335,12; 1,747	113,24; 1,717	179,93; 1,722
PLT [*] _{ovin}	440,25; 1,362	64,89; 2,532	143,78; 1,902
MPV _{caprin}	7,20 ± 1,84	5,45 ± 0,34	5,15 ± 0,37
MPV _{ovin}	5,88 ± 1,13	5,19 ± 0,42	5,37 ± 0,29

Aus Tabelle 55 geht hervor, daß die höchsten Meßwerte für WBC, RBC, RDW und HGB durch Verwendung von Na-Citrat erzielt wurden. Das größte PLT, MPV und ovine MCV wurde bei der Verwendung von K₂-EDTA gemessen. Die Verwendung von Li-Heparin führte zu den geringsten Thrombozytenzahlen. Dies ist auf die höhere Thrombozytenaggregationsneigung bei der Verwendung von Li-Heparin als Antikoagulanz zurückzuführen.

und wurde auch von BEDDIES (1999) bei der Untersuchung oviner Proben beschrieben. Auch die Untersuchungen von GOOSSENS et. al. (1991) zeigen bei der Verwendung von K₂- und K₃- EDTA befriedigende Ergebnisse für die Blutzellzählung. Da das Antikoagulan K-EDTA für die Aufkuglung der Erythrozyten und Thrombozyten bei der ADVIA 120-Messung benötigt wird (Kapitel 3.2.2.2.), ist daraus abzuleiten, daß die mit den anderen Gerinnungshemmern ermittelten Werte für das MPV falsch sind. Das Deutsche Institut für Normung e.V. (DIN) hält K₂- und K₃- EDTA in einer Konzentration von 1,2 bis 2,5 mg je ml Blut ebenfalls für bewährte Antikoagulanzen und empfiehlt deren Anwendung (DIN 58932-1; 12/1996).

4.5. Verlaufsuntersuchungen

In diesem Kapitel wird der Einfluß von Lagerungstemperatur und –dauer auf die Meßergebnisse des ADVIA 120 bzw. H*1 bei caprinen und ovinen Blutproben gezeigt.

4.5.1. Rotes Blutbild

Die nachfolgende Tabelle 56 zeigt die Signifikanz der Einflüsse auf ovine Meßparameter des roten Blutbildes für ADVIA 120¹ und H*1². Zeigen beide Geräte die gleichen Werte, so wird das Ergebnis ohne Angabe von hochgestellten Ziffern dargestellt.

Tabelle 56: Einfluß der Lagerungstemperatur (Lt) und –dauer (Ld) auf die Meßparameter des roten Blutbildes (ADVIA 120¹ und H*1²) beim Schaf; n = 11; p = Überschreitungswahrscheinlichkeit, * logarithmierter Wert.

Parameter	Einfluß der Lt	Einfluß der Ld	Wechselwirkung zw. Lt u. Ld
RBC	n.s.	p < 0,001	n.s.
PCV	n.s.	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	n.s.
HGB	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s.
MCH	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	n.s.
MCHC	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	n.s.
CHCM	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹
MCV	n.s.	p < 0,001	n.s.
RDW	p < 0,05 ¹ p < 0,01 ²	p < 0,001 ¹ n.s. ²	n.s.
HDW	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001 ¹ p < 0,05 ²
PLT *	p < 0,001 p < 0,01 ²	n.s.	p < 0,001
MPV	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001	p < 0,001
PDW	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001
PCT *	p < 0,01 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001 ¹ p < 0,01 ²
RETI	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹

Die anschließende Tabelle 57 gibt einen Überblick über die Signifikanz von Lagerungstemperatur und –dauer bei caprinen Parametern des roten Blutbildes für die Geräte ADVIA 120 und H*1. Sind diese nicht identisch, werden sie gekennzeichnet und einzeln aufgeführt.

Tabelle 57: Einfluß der Lagerungstemperatur (Lt) und –dauer (Ld) auf die Meßparameter des roten Blutbildes (ADVIA 120¹ und H*1²) bei der Ziege; n = 10; p = Überschreitungswahrscheinlichkeit, * logarithmierter Wert.

Parameter	Einfluß der Lt	Einfluß der Ld	Wechselwirkung zw. Lt u. Ld
RBC	p < 0,05 ¹ n.s. ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	n.s.
PCV	p < 0,05 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001 ¹ n.s. ²
HGB	n.s. ¹ p < 0,01 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,05 ²
MCH	n.s. ¹ p < 0,05 ²	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s.
MCHC	n.s. ¹ p < 0,05 ²	p < 0,001	p < 0,001 ¹ n.s. ²
CHCM	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹
MCV	p < 0,01 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001
RDW	n.s.	p < 0,001 ¹ p < 0,05 ²	n.s.
HDW	n.s.	p < 0,001	p < 0,001
PLT *	p < 0,001 ¹ p < 0,05 ²	p < 0,001	p < 0,001
MPV *	p < 0,05	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001
PDW	p < 0,05 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001 ¹ n.s. ²
PCT *	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001
RETI	p < 0,05 ¹	p < 0,001 ¹	n.s. ¹

Übereinstimmend mit BEDDIES (1999) zeichnen sich nur die ovinen Parameter PLT, MPV und PDW bei ADVIA 120 und H*1 durch eine hohe Signifikanz bezüglich der Wechselwirkung von Lagerungstemperatur und –zeit aus. Eine hohe Signifikanz bezüglich dieser Wechselwirkung zeigen auch die caprinen MCV, HDW, PLT, MPV und PCT bei beiden Geräten. Anschließend wird die Verlaufsuntersuchung für ovines und caprines RBC graphisch dargestellt. Angegeben werden jeweils die Abweichungen vom Ausgangswert in %.

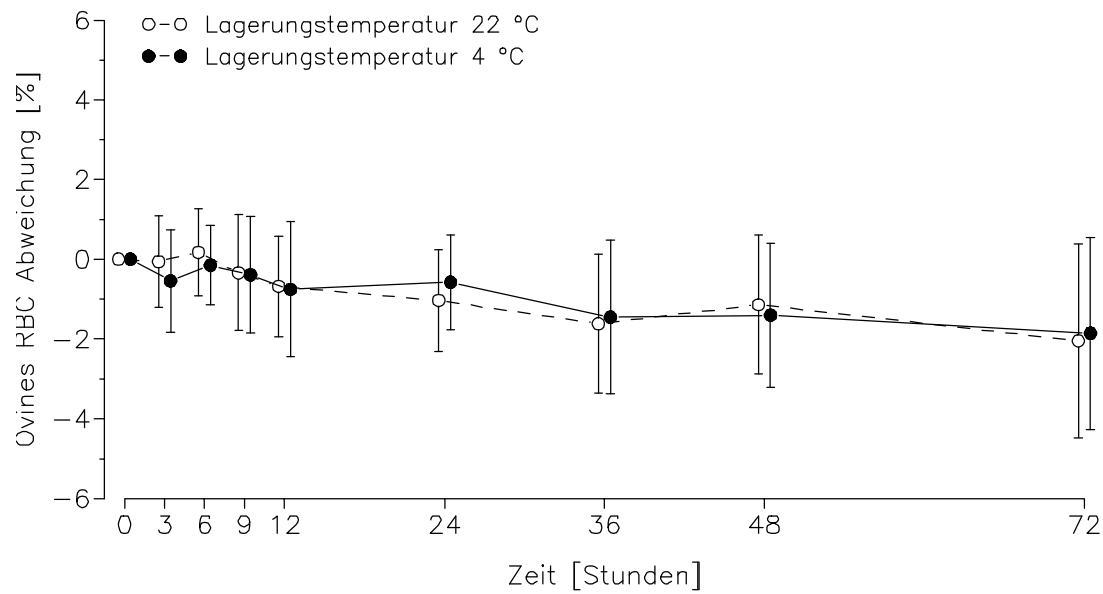


Abbildung 24: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines RBC (% Abweichung vom Ausgangswert)

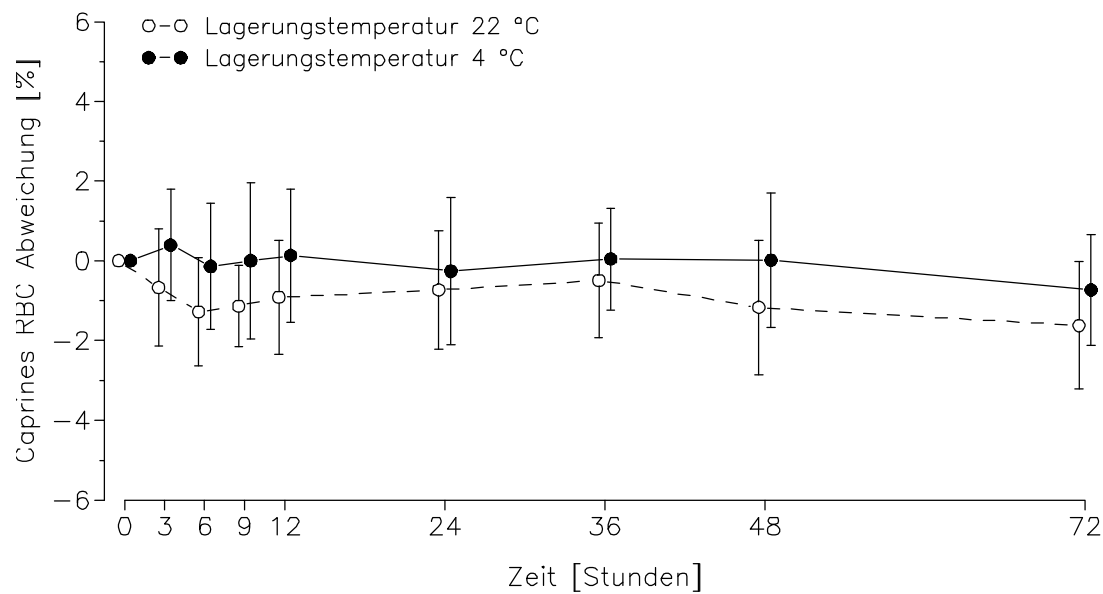


Abbildung 25: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines RBC (% Abweichung vom Ausgangswert)

Nach einer 72-stündigen Lagerung zeigt sich bezüglich des RBC beider Tierarten eine maximale Abweichung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von weniger als 5 % (Schaf) bzw. 3,5 % (Ziege). Während die Lagerungstemperatur beim Schaf ohne signifikante Bedeutung ist, weisen bei der Ziege die gekühlten Proben etwas geringere Veränderungen zum Ausgangswert auf.

Die nachfolgende Abbildung 26 zeigt die Ergebnisse des Lagerungsversuchs für den ovinen PCV.

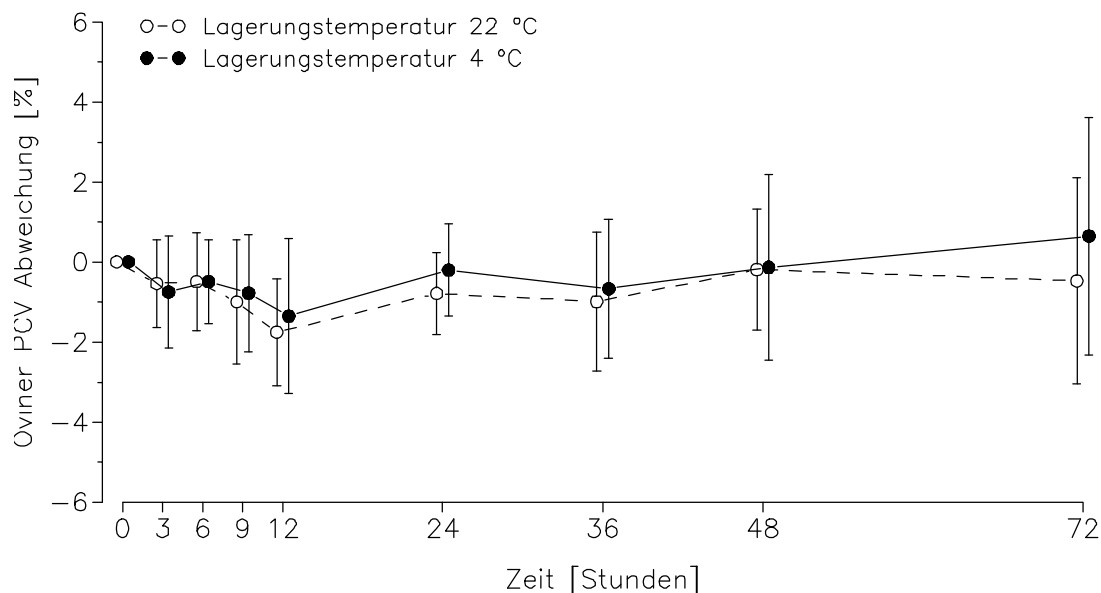


Abbildung 26: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines PCV (% Abweichung vom Ausgangswert)

Anschließend wird der Einfluß von Lagerungstemperatur und -zeit auf den caprinen PCV dargestellt (Abbildung 27).

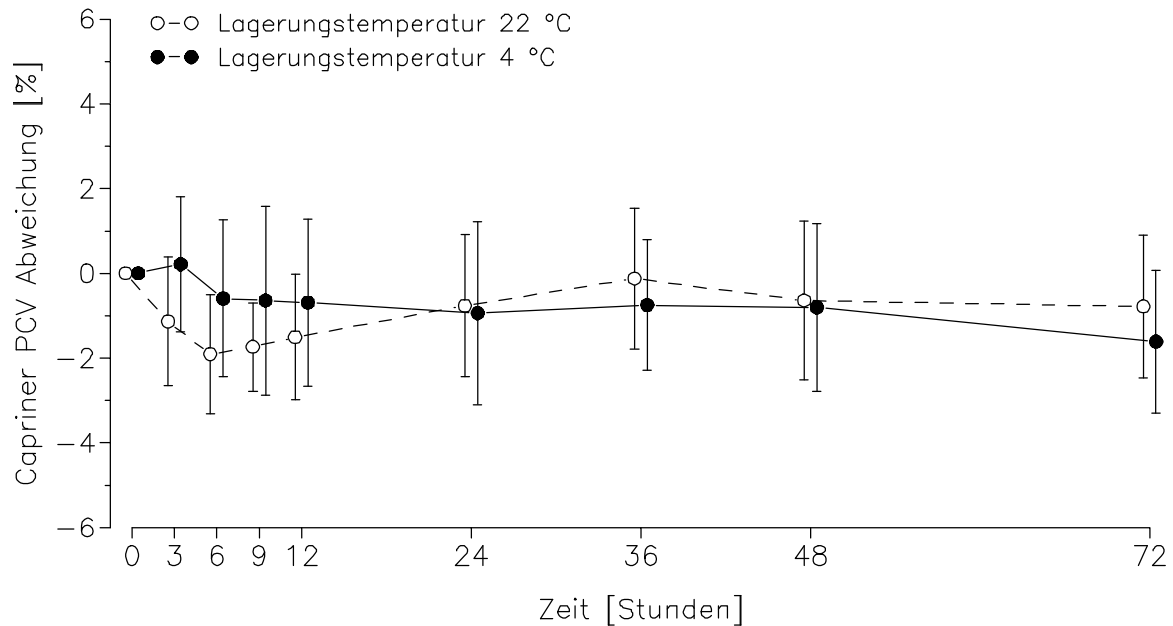


Abbildung 27: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines PCV (% Abweichung vom Ausgangswert)

Die maximale Abweichung vom Ausgangshämatokritwert (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) beider Tierarten beträgt nach 72 Stunden weniger als 4 %. Während die Lagerungstemperatur beim Schaf zu keinen signifikanten Unterschieden führt, liefern bei der Ziege bis 12 h nach Blutentnahme die gekühlten Proben bessere Ergebnisse und danach die Proben, die bei Zimmertemperatur gelagert wurden.

Anschließend wird der Einfluß von Lagerungstemperatur und –dauer auf ovines und caprines HGB gezeigt (Abbildungen 28 - 29).

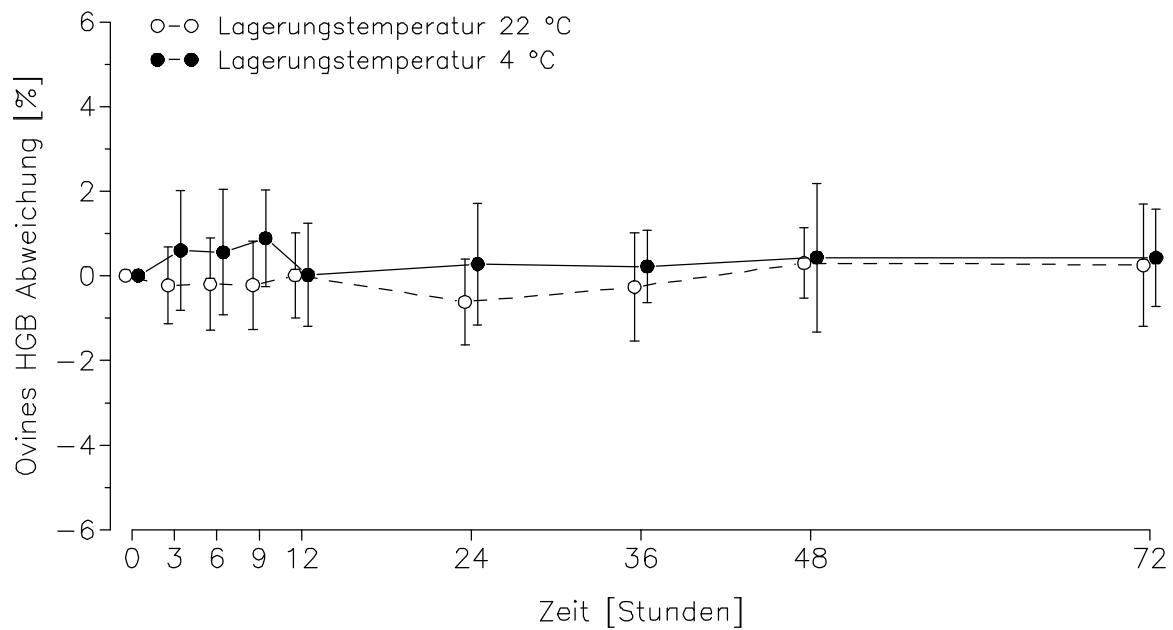


Abbildung 28: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines HGB (% Abweichung vom Ausgangswert)

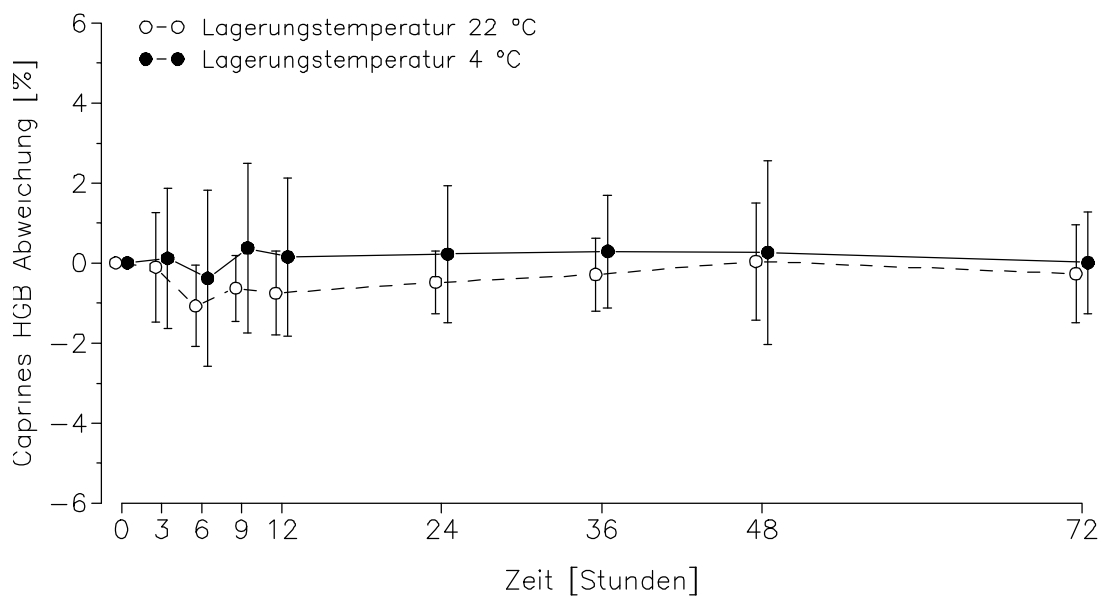


Abbildung 29: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines HGB (% Abweichung vom Ausgangswert)

Der Hämoglobingehalt des Blutes beider Tierarten erweist sich bei einer 3-tägigen Lagerung als sehr konstant. Die maximale Abweichung vom Ausgangswert beträgt bei caprinen und ovinen Proben weniger als 3 %. Die Lagerungstemperatur hat bei beiden Tierarten keinen signifikanten Einfluß auf das Ergebnis.

Die folgende Abbildung 30 stellt den Einfluß von Lagerungstemperatur und –dauer auf das ovine MCH dar.

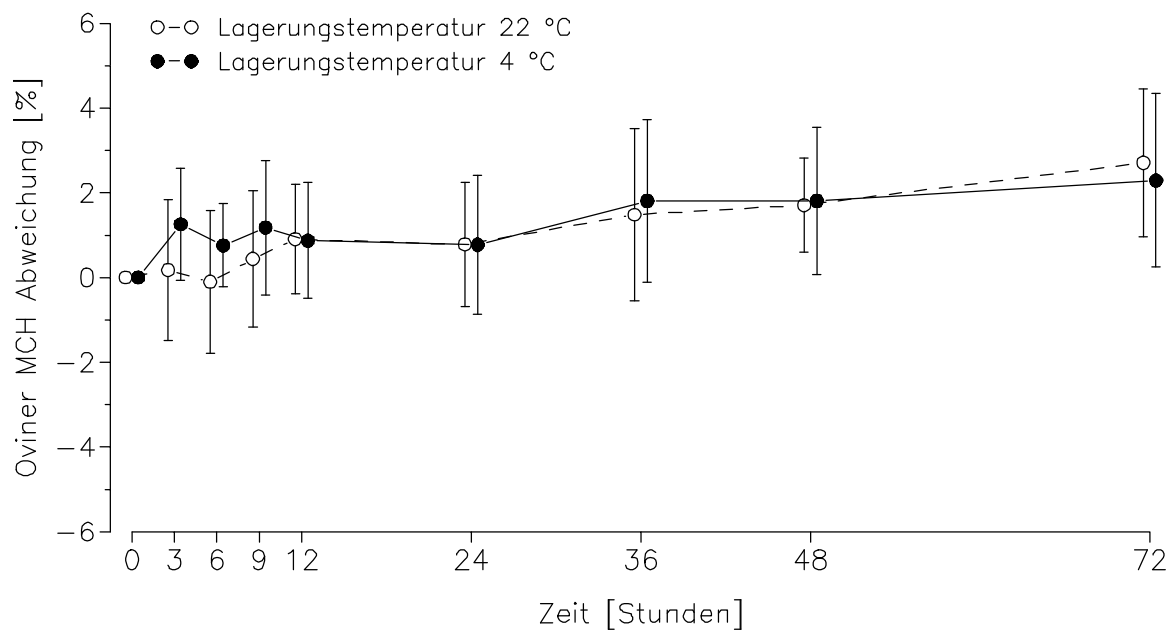


Abbildung 30: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines MCH (% Abweichung vom Ausgangswert)

Anschließend werden die Auswirkungen von Lagerungszeit und –dauer auf das caprine MCH gezeigt (Abbildung 31).

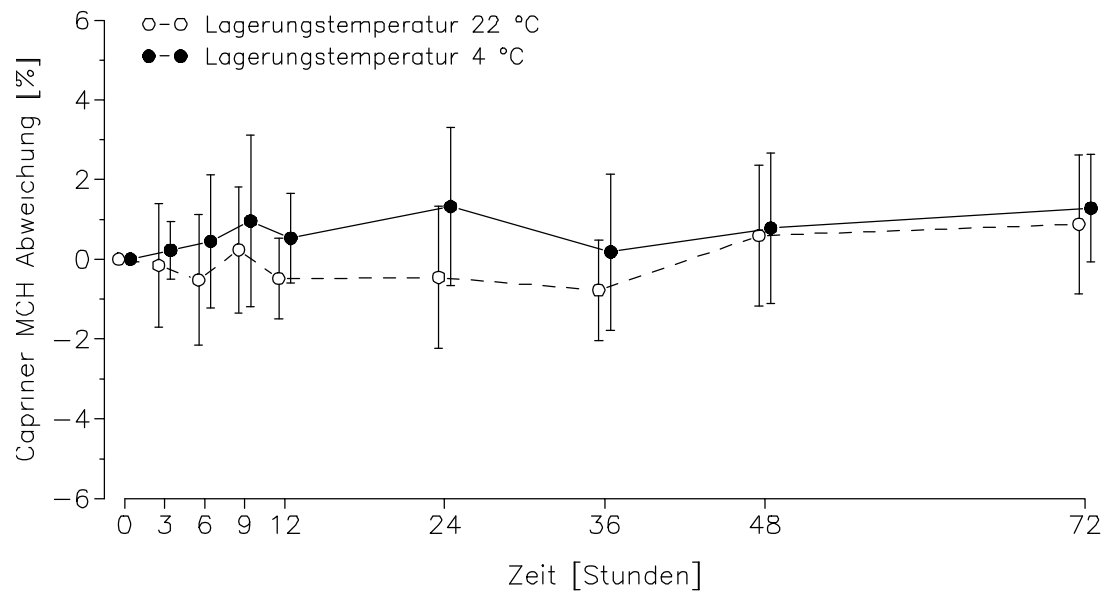


Abbildung 31: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines MCH (% Abweichung vom Ausgangswert)

Der MCH differiert nach 72-stündiger Lagerung bei der Ziege um weniger als 4 %, beim Schaf um weniger als 5 %. Auch bei diesem Parameter erweist sich die Lagerungstemperatur als nicht signifikant.

Das MCHC zeigt beim Lagerungsversuch beider Tierarten maximale Abweichungen von unter 4 % und einen nicht signifikanten Einfluß der Lagerungstemperatur.

Anschließend wird der Verlauf des Parameters MCV gezeigt (Abbildung 32 - 33).

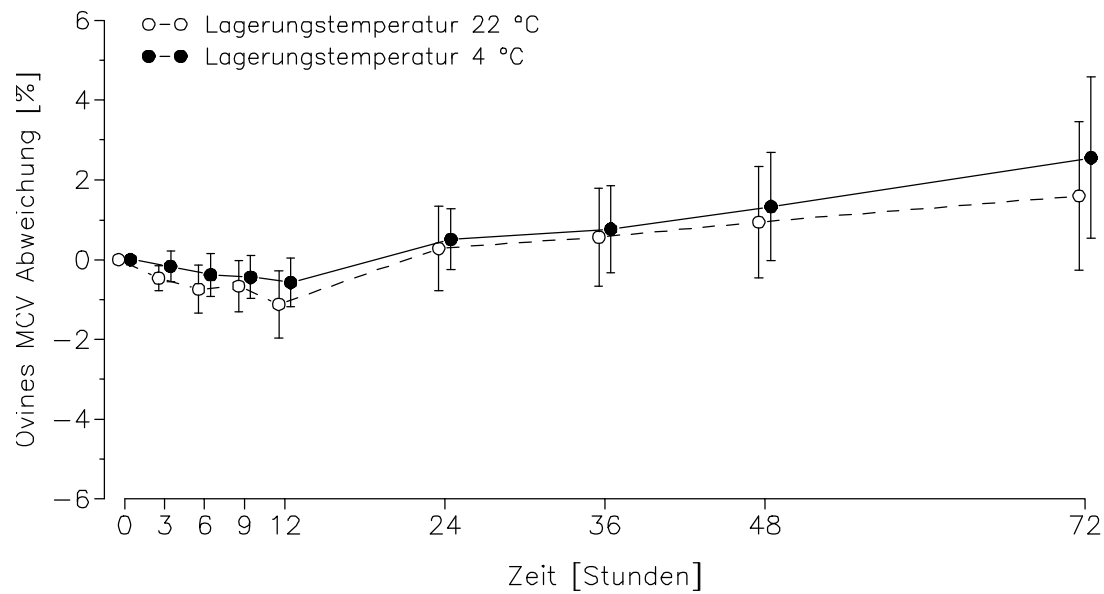


Abbildung 32: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines MCV (% Abweichung vom Ausgangswert)

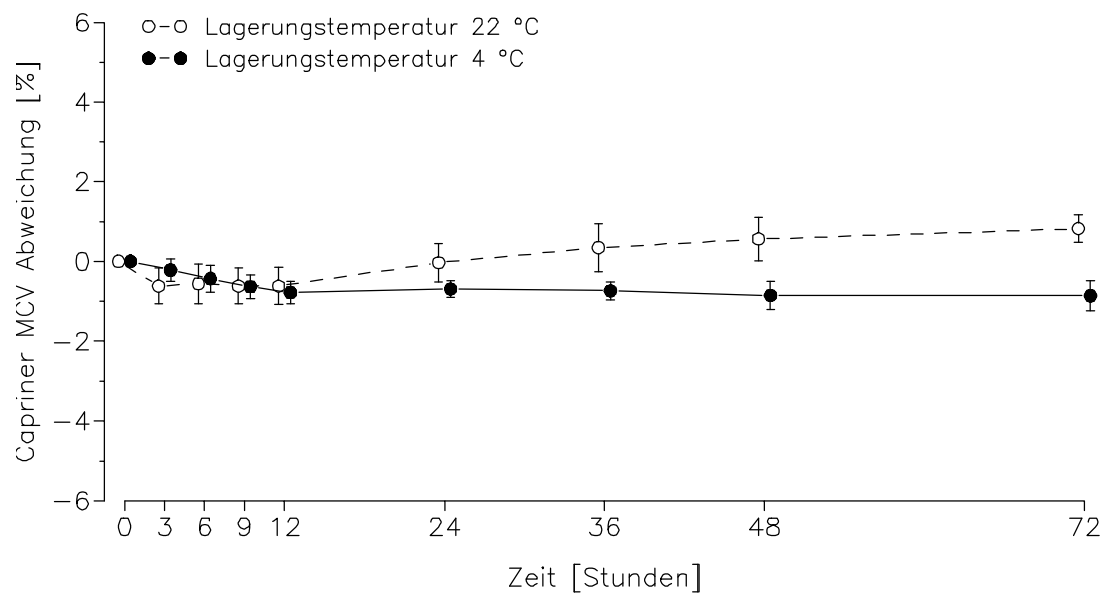


Abbildung 33: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines MCV (% Abweichung vom Ausgangswert)

Während beim caprinen MCV maximale Abweichungen unter 1,5 % zu verzeichnen waren, lagen die ovinen Differenzen nur unter 5 %. Die unterschiedlich Lagerungstemperatur war zwar für das caprine MCV signifikant, für das ovine jedoch nicht. Die Standardabweichungen der gekühlten caprinen Proben erwiesen sich als deutlich geringer als die ungekühlten.

Die folgende Abbildung zeigt den Einfluß von Lagerungstemperatur und -zeit auf das ovine RDW (Abbildung 34).

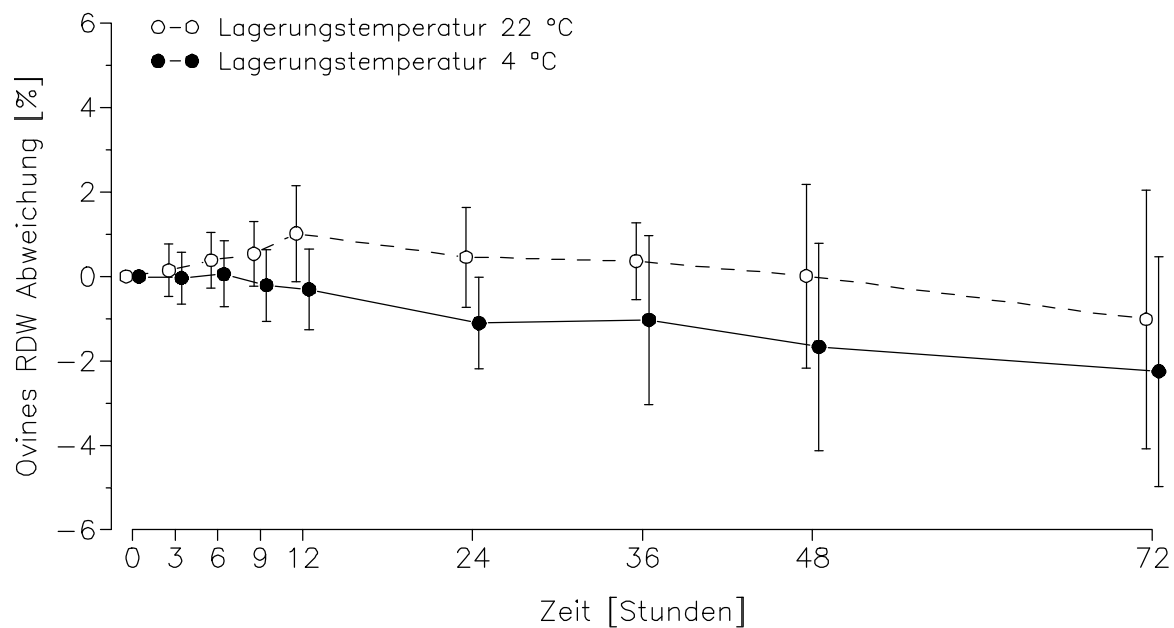


Abbildung 34: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines RDW (% Abweichung vom Ausgangswert)

Die Verlaufuntersuchung zeigt beim ovinen RDW Abweichungen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) bis maximal 5 % vom Ausgangswert. Die Lagerungstemperatur hat einen schwach signifikanten Einfluß auf das ovine RDW. Im Gegensatz dazu zeigt das caprine RDW (nicht dargestellt) nur eine geringgradige und nicht signifikante Abweichung aufgrund der Lagerungstemperatur. Die maximale Differenz zum Ausgangswert beträgt beim caprinen RDW weniger als 4 %. Bei nachfolgenden Graphiken ist die aus Darstellungsgründen veränderte Skalierung der y-Achse zu beachten. Die anschließenden

Abbildungen (35 - 36) zeigen die Ergebnisse des 72-stündigen Lagerungsversuchs für die Thrombozyten.

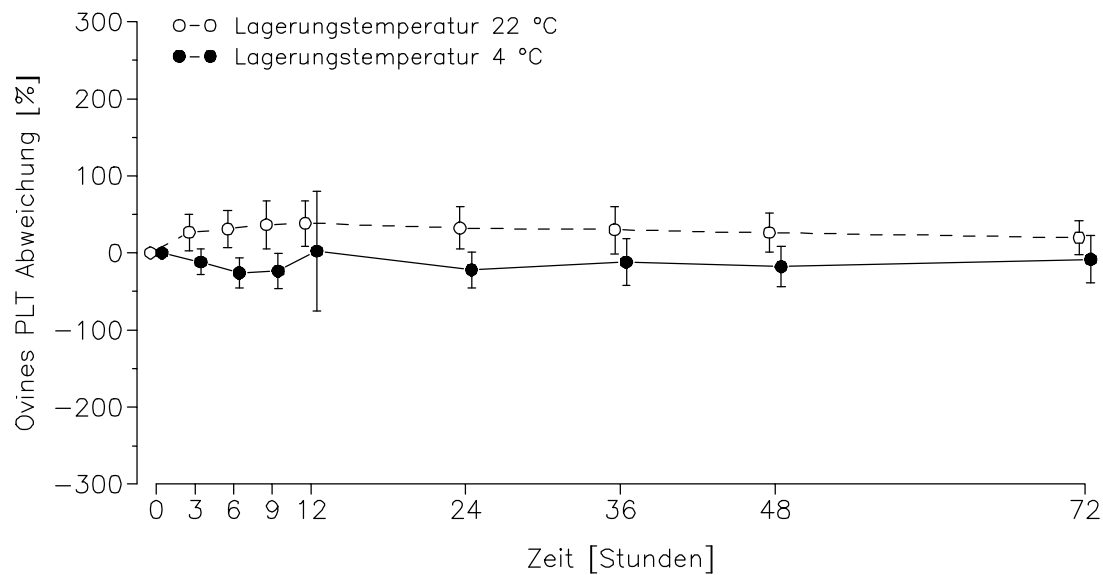


Abbildung 35: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines PLT (% Abweichung vom Ausgangswert)

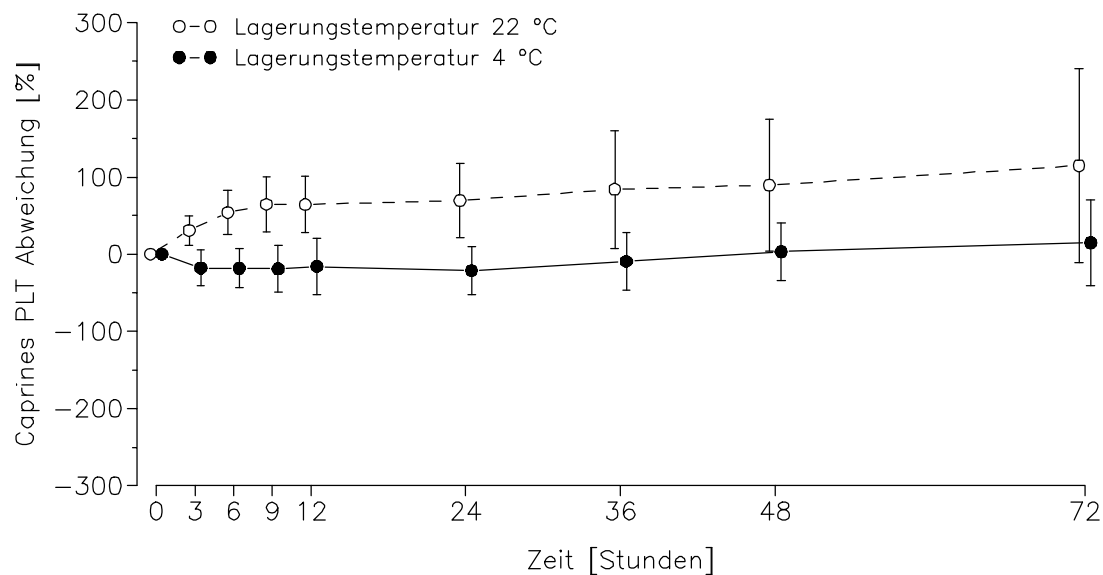


Abbildung 36: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines PLT (% Abweichung vom Ausgangswert)

Bei caprinen und ovinen Thrombozyten zeigt sich eine deutliche Beeinflussung des Meßergebnisses durch die Lagerungstemperatur. Eine Kühlung der Proben führt zu einer Verringerung, während eine Lagerung bei Zimmertemperatur zu einem Anstieg des Meßergebnisses führt. Zudem zeigen die gekühlten Proben bei der Ziege deutlich geringere prozentuale Abweichungen zum Ausgangswert. Nach nur 3-stündiger Kühlung der Proben zeigen sich allerdings bereits Abweichungen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von mehr als 25 %.

Im Anschluß werden die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchung für ovines und caprines MPV dargestellt (Abbildungen 37 - 38).

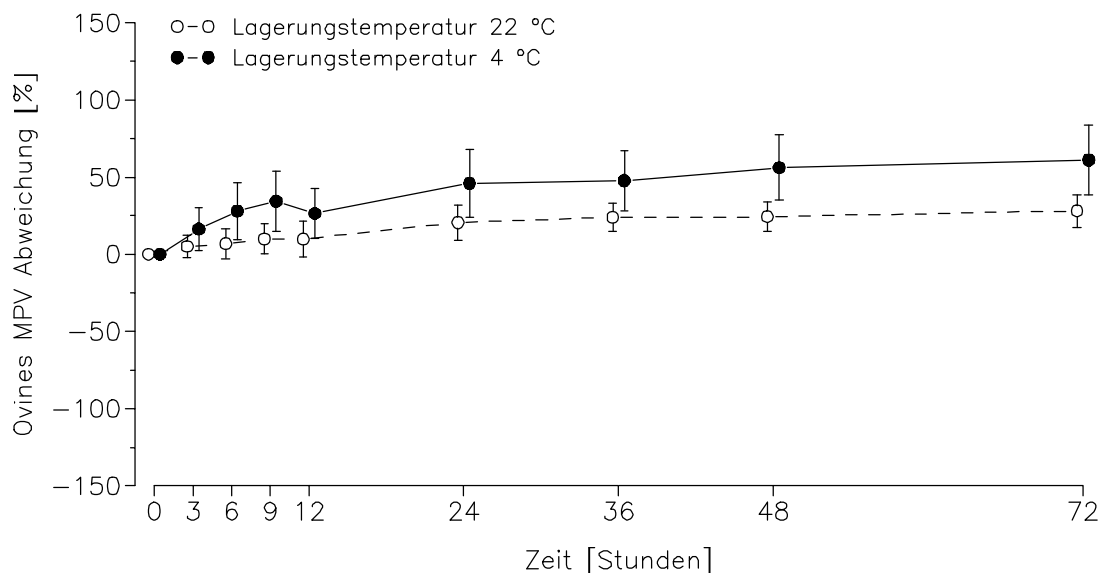


Abbildung 37: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines MPV (% Abweichung vom Ausgangswert)

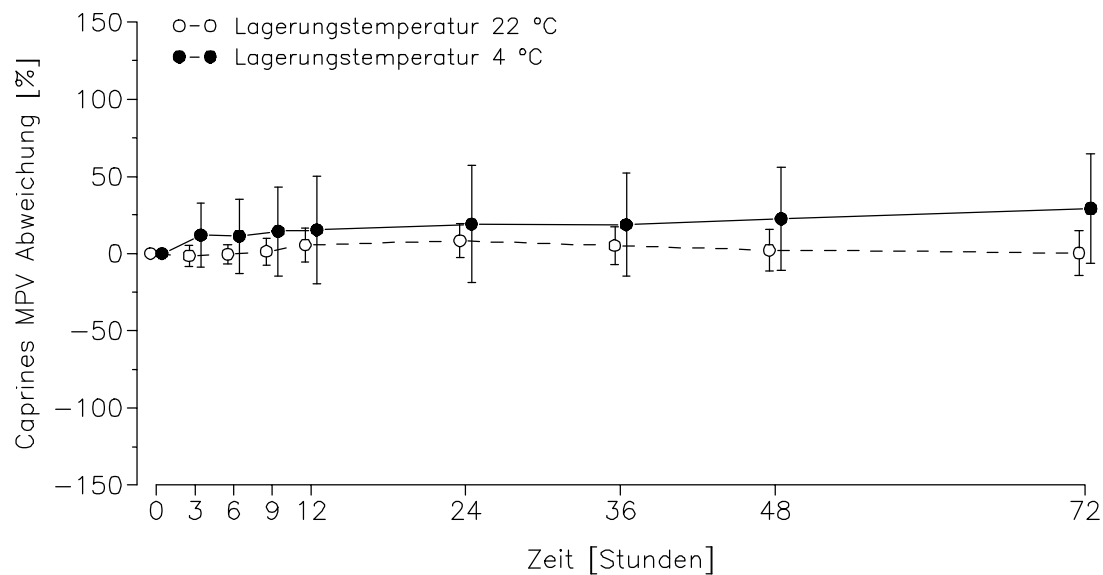


Abbildung 38: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines MPV (% Abweichung vom Ausgangswert)

Das ovine MPV zeichnet sich bei den Lagerungstemperaturen von 22 °C und 4 °C durch einen etwas stärkeren Anstieg der Meßwerte aus. Eine Lagerung bei Zimmertemperatur führt bei beiden Tierarten zu einer geringeren Beeinflussung des Meßergebnisses. Die ungekühlten Proben zeigen bei beiden Tierarten eine deutlich geringere Standardabweichung bezüglich des MPV.

4.5.2. Weißes Blutbild

Tabelle 58 zeigt die Signifikanzen verschiedener oviner Parameter des weißen Blutbildes bezüglich unterschiedlicher Lagerungstemperatur und –dauer.

Tabelle 58: Einfluß der Lagerungstemperatur und –dauer auf die Meßparameter des weißen Blutbildes (ADVIA 120¹ und H*1²) des Schafes; n = 11; p = Überschreitungswahrscheinlichkeit, * logarithmierter Wert.

Parameter	Einfluß der Lagerungstemperatur	Einfluß der Lagerungsdauer	Wechselwirkung zwischen Lagerungstemperatur u. -dauer
WBC	n.s. ¹ p < 0,05 ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,01 ¹ n.s. ²
NEUT *	p < 0,01 ¹ n.s. ²	n.s.	p < 0,05 ¹ n.s. ²
LYMPH	n.s. ¹ p < 0,01 ²	n.s. ¹ p < 0,05 ²	n.s.
MONO *	p < 0,01 ¹ p < 0,05 ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,05
EOS *	n.s.	n.s. ¹ p < 0,001 ²	n.s.
BASO *	n.s.	p < 0,001	p < 0,001
LUC *	p < 0,001	n.s. ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001 ¹ p < 0,05 ²

Aus der vorangestellten Tabelle 58 ist abzuleiten, daß sich lediglich die Basophilen und das mittels ADVIA 120 bestimmte LUC bezüglich der Wechselwirkung von Lagerungstemperatur und –zeit durch hoch signifikante Ergebnisse auszeichnen.

Tabelle 59 zeigt die Signifikanz des Einflusses von Lagerungszeit und –dauer auf die Parameter des weißen caprinen Blutbildes.

Tabelle 59: Einfluß der Lagerungstemperatur und –dauer auf die Meßparameter des weißen Blutbildes (ADVIA 120¹ und H*1²) der Ziege; n = 10; p = Überschreitungswahrscheinlichkeit, * logarithmierter Wert.

Parameter	Einfluß der Lagerungstemperatur	Einfluß der Lagerungsdauer	Wechselwirkung zwischen Lagerungstemperatur u. -dauer
WBC*	p < 0,05 ¹ p < 0,01 ²	p < 0,01 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001 ¹ n.s. ²
NEUT	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001
LYMPH	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
MONO *	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
EOS *	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001	p < 0,001 ¹ n.s. ²
BASO *	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001 ¹ n.s. ²	p < 0,001
LUC *	p < 0,01	p < 0,05 ¹ p < 0,001 ²	n.s. ¹ p < 0,001 ²

Bei ADVIA 120 und H*1 sind bezüglich der Wechselwirkung von Lagerungstemperatur und –zeit hoch signifikante Ergebnisse für die caprinen Parameter Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten und Basophile festzustellen. Des weiteren sind auch die vom ADVIA 120 bestimmten Ergebnisse der entsprechenden Beziehung für das WBC und die Eosinophilen hoch signifikant.

Die nachfolgenden Abbildungen 39 und 40 stellen den Einfluß von Lagerungstemperatur und –dauer auf das ovine und caprine WBC dar.

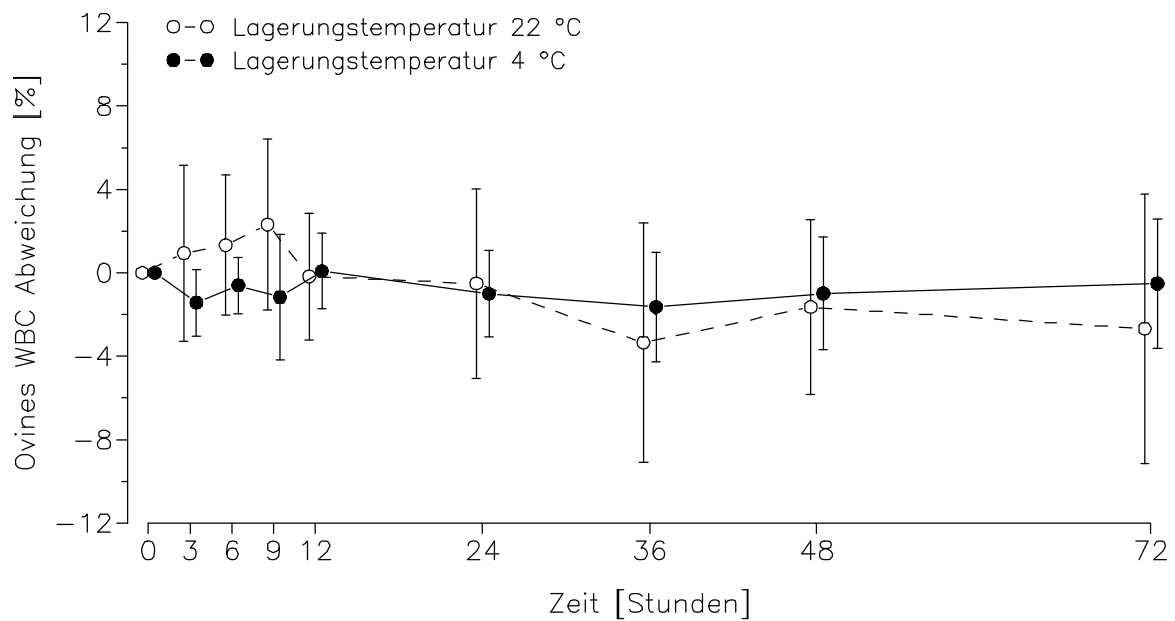


Abbildung 39: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für ovines WBC (% Abweichung vom Ausgangswert)

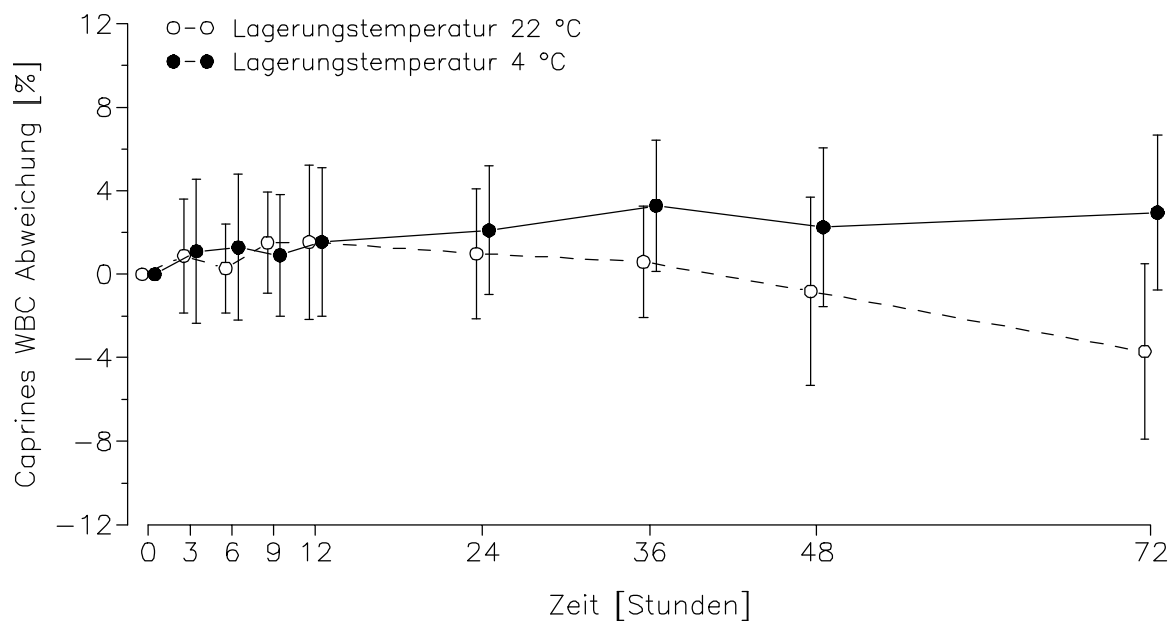


Abbildung 40: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für caprines WBC (% Abweichung vom Ausgangswert)

Aus den Abbildungen 39 und 40 kann abgeleitet werden, daß caprines und ovines WBC nach einer Lagerung von 72 Stunden Abweichungen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von unter 10 % (Schaf) bzw. unter 8 % (Ziege) zeigen. Die gekühlten Proben zeichnen sich bei 3-tägiger Lagerung sogar nur durch maximale Abweichungen von 4,27 % (Schaf) bzw. 6,67 % (Ziege) aus.

Die nachfolgenden Abbildungen 41 und 42 geben Auskunft über den Einfluß von Lagerungstemperatur und -zeit auf die Meßergebnisse oviner und capriner neutrophiler Granulozyten.

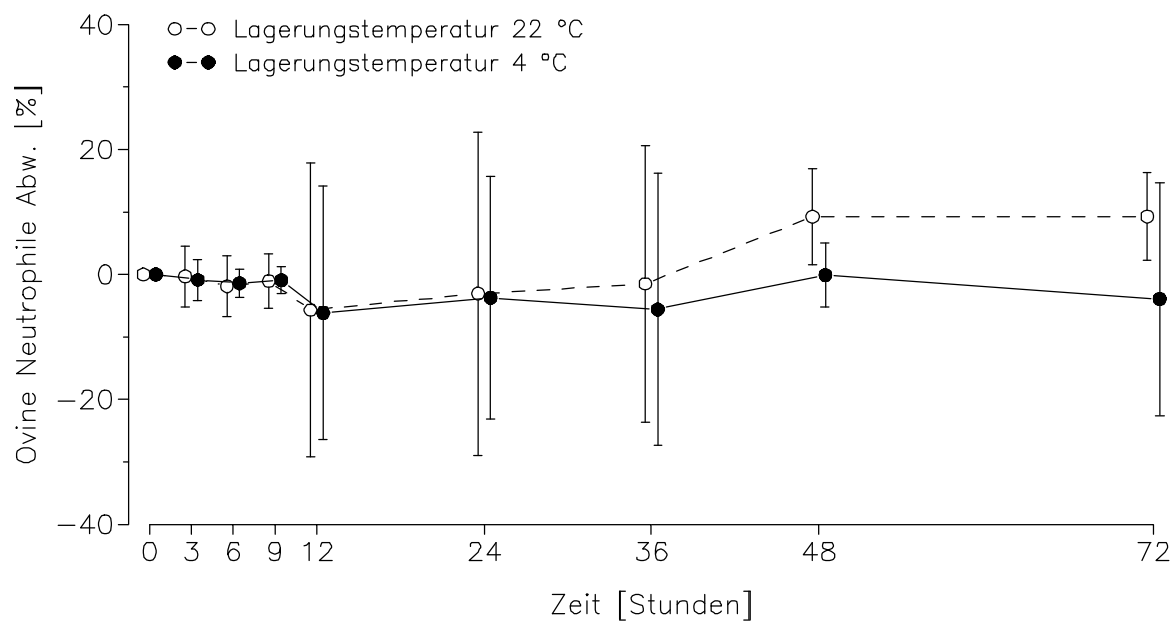


Abbildung 41: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die ovinen neutrophilen Granulozyten (% Abweichung vom Ausgangswert)

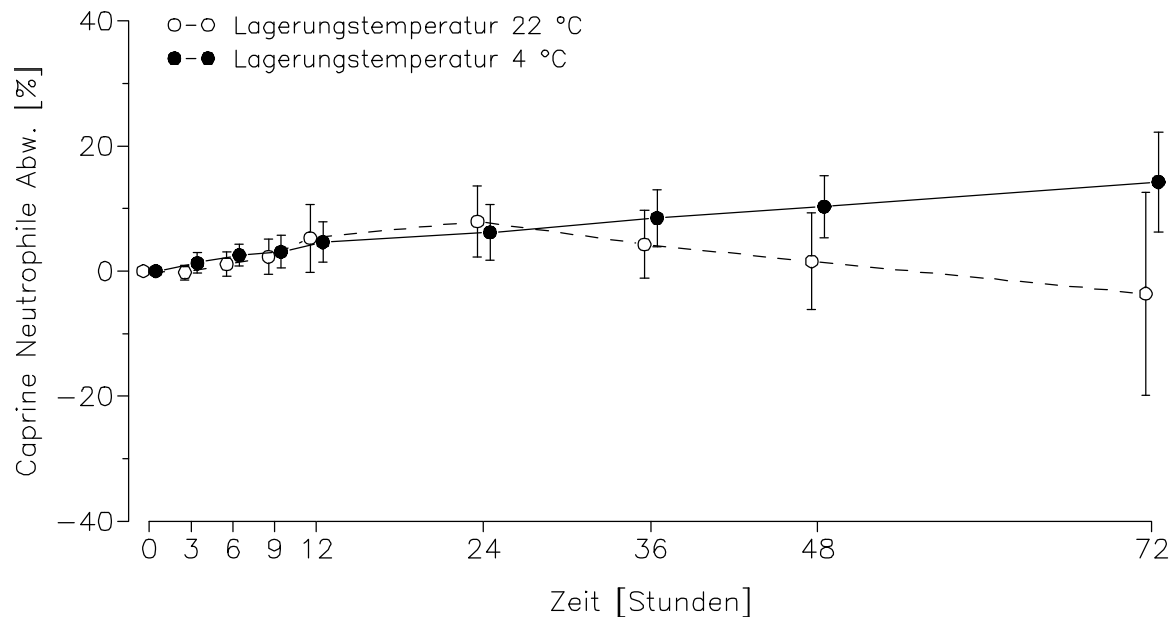


Abbildung 42: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die caprinen neutrophilen Granulozyten (% Abweichung vom Ausgangswert)

Die Werte für die neutrophilen Granulozyten erweisen sich bei Schaf und Ziege bis zu einer Lagerungszeit von ca. 9 Stunden als sehr konstant. Die größte bis zu diesem Zeitpunkt ermittelte Abweichung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) beträgt 5,67 %. Während sich die gekühlten caprinen Proben durch einen kontinuierlichen Anstieg ihrer Werte auszeichnen, fallen die Meßwerte der ungekühlten Proben dieser Tierart ab einem Zeitpunkt von 24 Stunden ab, und die Streuung nimmt zu.

Die maximale Differenz (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) beträgt nach 3-tägiger Lagerung bei ovinen Proben weniger als 30 % und bei caprinen weniger als 25 %.

Die nachfolgenden Darstellungen geben einen Überblick über den Einfluß von Zeit und Temperatur auf ovine und caprine Lymphozyten (Abbildung 43 und 44).

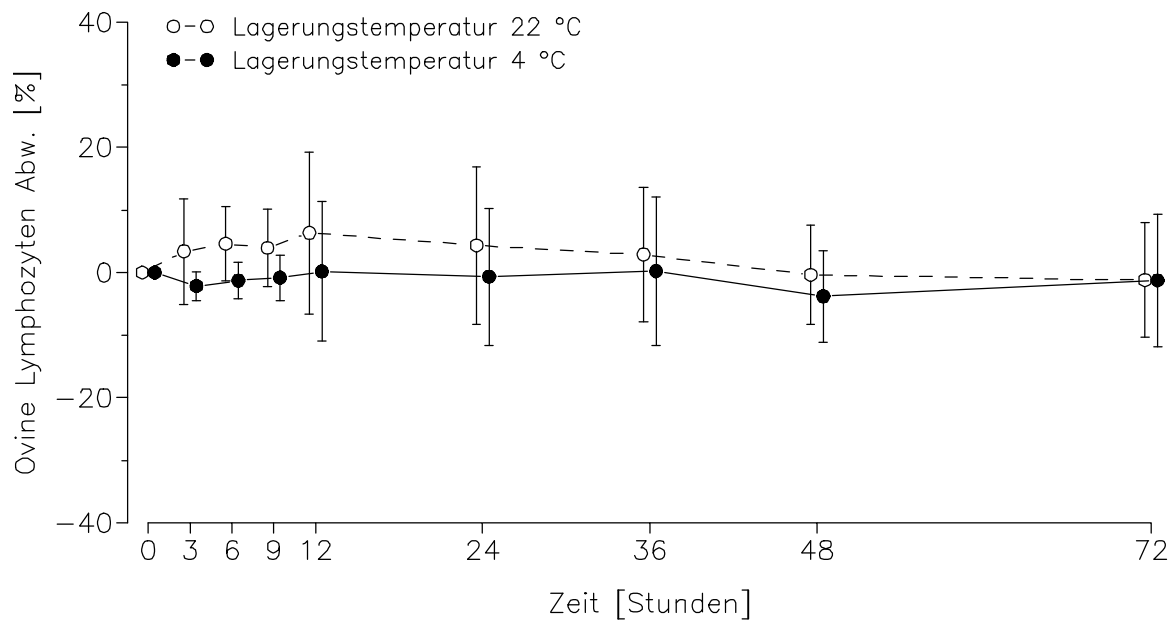


Abbildung 43: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die ovinen Lymphozyten (% Abweichungen vom Ausgangswert)

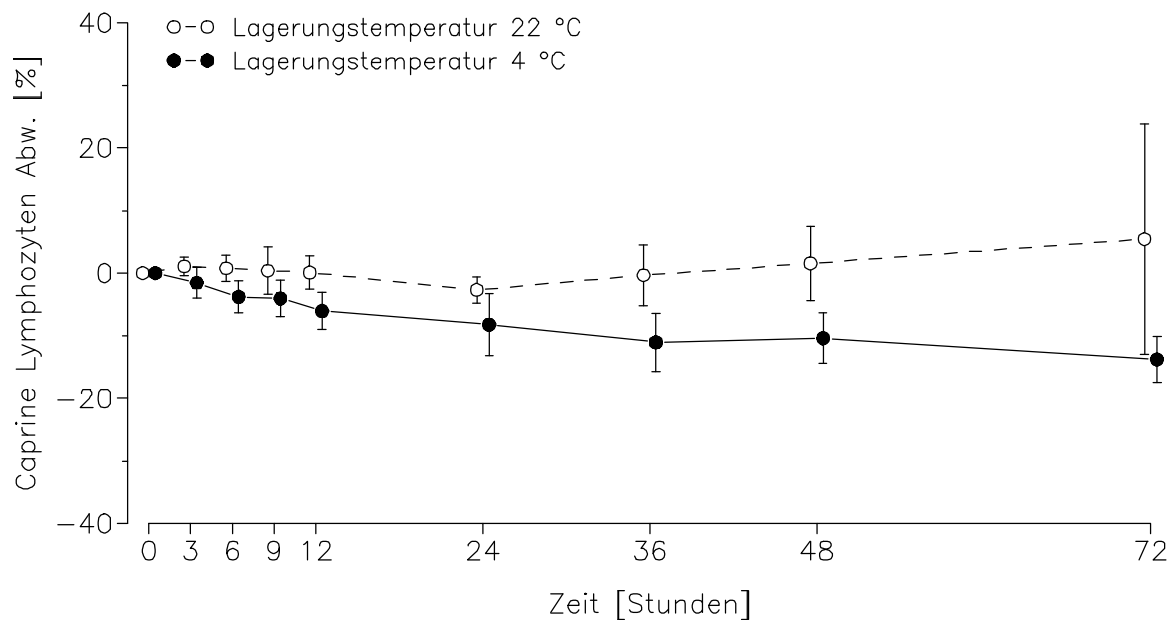


Abbildung 44: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die caprinen Lymphozyten (% Abweichungen vom Ausgangswert)

Die Meßergebnisse für die ovinen Lymphozyten differieren nach einer Lagerung von 3 Tagen um maximal 19,3 %, die der caprinen Zellen um maximal 23,9 %. Während die gekühlten ovinen Proben bis 36 Stunden bessere Werte liefern, zeigen die caprinen ungekühlten Proben bis zu 48 Stunden nach der Blutentnahme die geringeren Abweichungen. Eine maximale Abweichung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von unter 7 % ist bei gekühlten ovinen und caprinen Proben bis zu einem Zeitraum von 9 Stunden nachzuweisen.

Anschließend soll auf die Ergebnisse des Lagerungsversuchs für die Monozyten eingegangen werden. Abbildung 45 zeigt die Ergebnisse der Ziege.

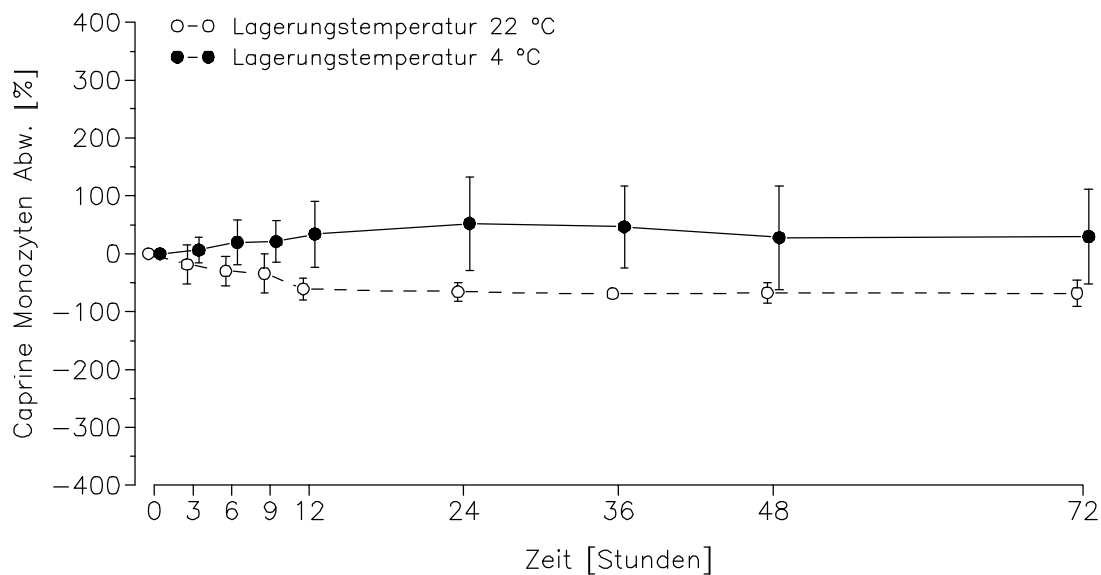


Abbildung 45: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die caprinen Monozyten (% Abweichungen vom Ausgangswert)

Die Abweichungen im monozytären Bereich sind bei beiden Tierarten ganz erheblich. So treten bei caprinen Monozyten bereits nach 3 Stunden Abweichungen von 51,9 % (ungekühlt) bzw. 28,65 % (gekühlt) auf. Beim Schaf (nicht dargestellt) differieren die Meßergebnisse der Monozyten ungekühlter Proben um über 80 % bzw., die der gekühlten um über 160 %.

Die Abbildungen 46 und 47 zeigen die Ergebnisse des Lagerungsversuchs für ovine und caprine Eosinophile.

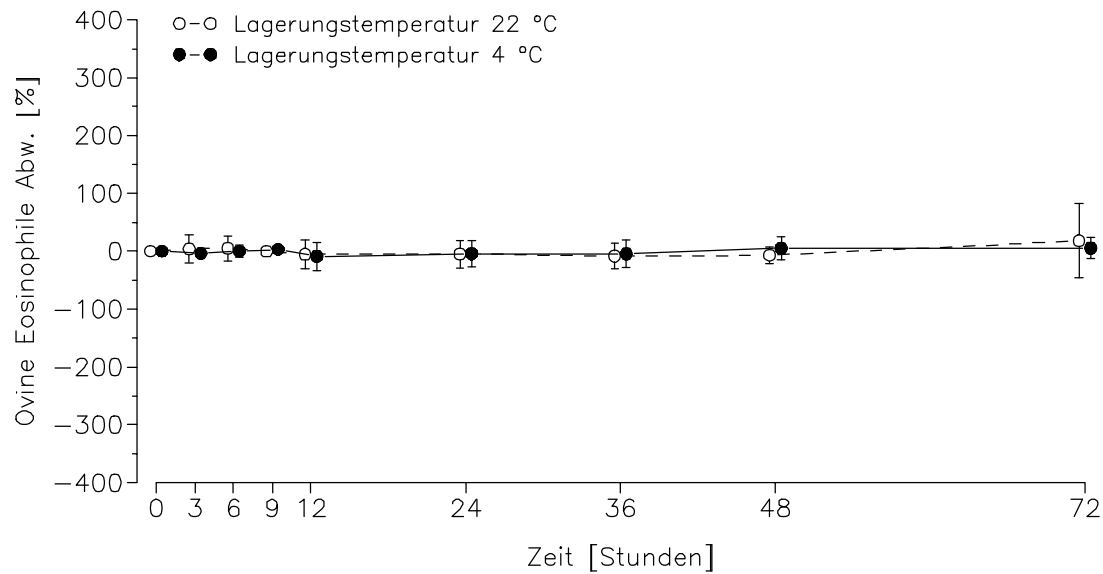


Abbildung 46: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die ovinen eosinophilen Granulozyten (% Abweichungen vom Ausgangswert)

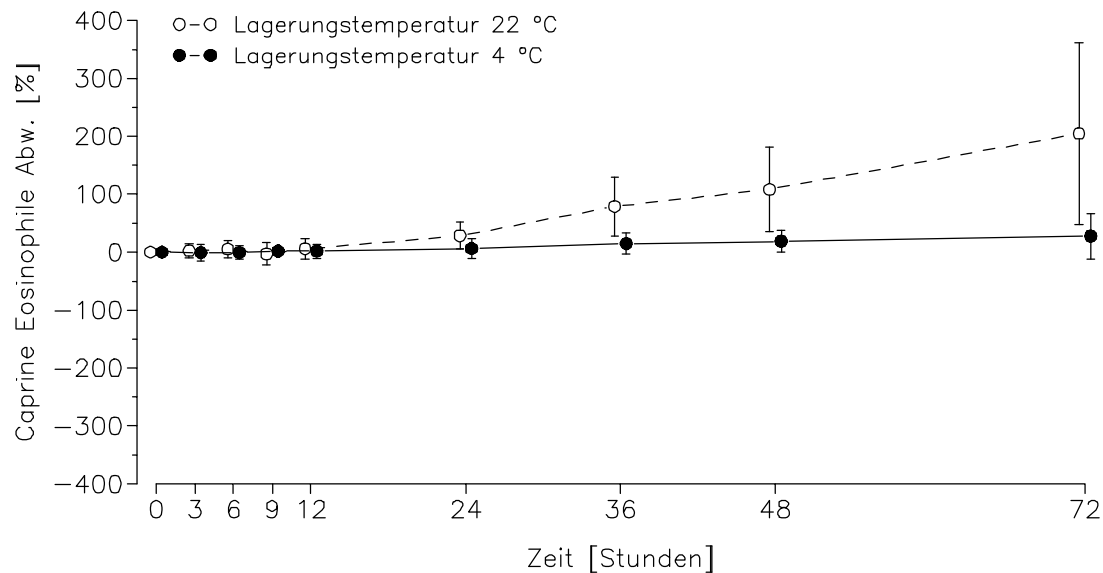


Abbildung 47: Verlaufuntersuchung über 72 h (ADVIA 120) bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen für die caprinen eosinophilen Granulozyten (% Abweichungen vom Ausgangswert)

Während die Lagerungstemperatur für die ovinen Eosinophilen von nicht signifikanter Bedeutung ist, unterscheiden sich die verschieden gelagerten caprinen Proben hoch signifikant. Die gekühlten Proben zeigen bei letztgenannter Tierart deutlich bessere Ergebnisse als die bei Zimmertemperatur gelagerten.

Nach einer Kühlschränklagerung von 9 Stunden zeigt sich bei beiden Tierarten eine maximale Abweichung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von höchstens 12 %. Danach tritt bei entsprechender Lagerung oviner Proben eine Differenz von maximal 33,6 % auf. Eine Abweichung von unter 33,5 % zeigen die caprinen Proben nur bei Kühlschränklagerung von maximal 36 Stunden.

Nach kühler Lagerung von 12 Stunden beträgt die caprine Differenz maximal 14,0 %, nach 24 Stunden maximal 23,5 %.

Nach Darstellung der Ergebnisse beschäftigt sich das anschließende Kapitel mit der Interpretation und Wertung der vorgenannten.

V. Diskussion

In diesem Kapitel sollen zunächst die Untersuchungsergebnisse der Präzisionsmessungen betrachtet werden. Im Anschluß daran sind der Methodenvergleich, Linearität und Carryover, der Antikoagulanzenvergleich und schließlich die Verlaufsuntersuchung Gegenstand der Diskussion.

5.1. Präzision

Basierend auf den Wiederholungsmessungen soll zunächst eine Aussage über die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse gemacht werden. Betrachtet wird zunächst das rote, anschließend das weiße Blutbild.

Als Maßstab für moderne Hämatologiesysteme nennen DÖRNER et. al. (1993) einen Variationskoeffizienten von $\leq 3\%$. D'ONOFRIO et. al. (1997) sprechen sogar von einem Qualitätsstandard von $< 2\%$ für die Parameter RBC und HGB.

5.1.1. Präzision der Bestimmung des roten Blutbildes

Beim ADVIA 120 liegen die Variationen der Parameter des roten Blutbildes für beide Tierarten weitgehend unter 2% . Ausnahmen bilden das caprine RDW innerhalb der Serie, sowie die Thrombozytenparameter und Retikulozyten.

Für die Thrombozytenparameter ist festzustellen, daß die Variationskoeffizienten (CV) bzw. das Maß für die näherungsweise Wiederholbarkeit (W) innerhalb der Serie deutlich kleiner sind als über verschiedene Serien hinweg. Die für den ADVIA 120 ermittelte näherungsweise Wiederholbarkeit der Thrombozytenwerte von 2,3 (innerhalb der Serie) bzw. 4,1 % (über verschiedenen Serien hinweg) beim Schaf und 4 (innerhalb der Serie) bzw. 8,5 % (über verschiedene Serien hinweg) bei der Ziege ist nicht außergewöhnlich. Von einem höheren CV zwischen 3,4 und 4,6 % der bovinen, caninen, equinen und felines Thrombozyten berichten auch SEEGER (1997), ZIEGLER (1997), SUCHFORT (1998) und GROMMELT (1999) bei Untersuchungen mit dem H*1. SPÄTH und WEBER (1992) erhielten bei der Untersuchung

verschiedener Tierarten mit dem Celltrak 11 eine Variation von 10 %. Für ovine Thrombozyten wurden bei automatischen Zählungen CV von 9,5 % mit dem Coulter Counter Model B (STEEL, 1974) und 4,2 % mit dem H*1 (BEDDIES, 1999) ermittelt.

Zudem zeigen sich auch beim Vergleichsgerät Sysmex F 800 für Schaf (8,0 %) und Ziege (23,3 %) deutlich höhere näherungsweise Wiederholbarkeiten. Tendenziell ähnliche Ergebnisse mit diesem Gerät wurden auch für bovine (7,19 %), canine (6,0 %) und feline Thrombozyten (25,7 %) ermittelt (ZIEGLER, 1997; SUCHFORT, 1998; GROMMELT, 1999).

Die im Vergleich zum ADVIA 120 besseren näherungsweisen Wiederholbarkeiten des H*1 sind damit zu erklären, daß das letztgenannte Gerät bei der Ziege und bei juvenilen Schafen (insbesondere ≤ 3 Monate) nicht in der Lage ist, eine korrekte Differenzierung zwischen Erythrozyten und Thrombozyten durchzuführen und kleine Erythrozyten als Thrombozyten bzw. große Thrombozyten als Erythrozyten gezählt werden. Während dies aufgrund der deutlich höheren Erythrozytenzahlen bei diesen Zellen nur zu geringgradigen Verfälschungen führt, kommt es zu einer deutlich höheren Thrombozytenzahl und einer Verschiebung ihres Bereiches nach oben, was wiederum zu einer Verbesserung des CV bzw. der näherungsweisen Wiederholbarkeit führt. In diesem Zusammenhang sind deshalb auch die Ergebnisse des Methodenvergleichs zu betrachten (Kapitel 4.2 u. 5.2).

Die bezüglich der Thrombozytenparameter allgemein schlechteren caprinen W bzw. CV sind mit dem tierartlichen Extrem zu begründen. Die hohen CV der Retikulozyten bei kleinen Wiederkäuern resultieren aus der geringen Präsenz dieser Zellen im peripheren Blut.

Zusammenfassend ist in weiten Bereichen des roten Blutbildes von einer guten bis sehr guten Präzision des ADVIA 120 bei den Tierarten Schaf und Ziege zu sprechen. Bezüglich der Thrombozytenzählung ist im Vergleich zu anderen Geräten und unter Berücksichtigung der caprinen Besonderheiten von vertretbaren Ergebnissen auszugehen.

5.1.2. Präzision der Bestimmung des weißen Blutbildes

Die CV für das caprine und ovine WBC von 1,9 bis 2,3 % sind als sehr gut zu bezeichnen. Im Vergleich zu den mit dem H*1 ermittelten Variationskoeffizienten (2,1 - 2,6 %) für die Tierarten Hund, Katze und Pferd sind sie als gleichwertig bzw. besser zu bezeichnen (SEEGERS, 1997; ZIEGLER, 1997; SUCHFORT, 1998). Für Rind und Schaf wurde mit dem H*1 nur eine Präzision von 4,5 bzw. 4,58 % ermittelt (BEDDIES, 1999; GROMMELT, 1999). Die Präzision des ADVIA 120 für die neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten über verschiedene Serien hinweg liegt bei beiden Tierarten zwischen 2,6 und 4 %. Diese Ergebnisse sind als recht gut zu bezeichnen. Ermittelten BEDDIES (1999) und GROMMELT (1999) doch mit dem H*1 für entsprechende bovine und ovine Parameter nur eine Präzision zwischen 3,5 und 4,8 %. DAVIES und FISHER (1991) erhielten mit dem H*1 über verschiedene Serien hinweg für den Hund nur Werte von 4,31 und 9,88 %, mit der Referenzmethode (M- DIFF (100)) sogar nur 8,5 und 15,2 %. Die letztgenannten Werte liegen auch über der innerhalb der Serie ermittelten caprinen näherungsweisen Wiederholbarkeit von 5 und 6,2 %.

Die näherungsweise Wiederholbarkeit des ADVIA 120 für Basophile unterschreitet mit ihren 16,8 bis 23,9 % die Ergebnisse der caninen, equinen und felines Untersuchungen mit dem H*1 (SEEGERS, 1997; ZIEGLER, 1997; SUCHFORT, 1998). Die mit dem H*1 erzielten Ergebnisse für die Tierarten Rind und Schaf sind mit 13,0 und 13,2 % (BEDDIES, 1999; GROMMELT, 1999) etwas besser.

Während die Bestimmung der Eosinophilen des Schafes und der Ziege innerhalb der Serie mit Werten zwischen 8,5 und 10,3 % gut abschneidet, ist die näherungsweisen Wiederholbarkeit bei den caprinen Eosinophilen außerhalb der Serie mit 21,5 % als deutlich schlechter zu bezeichnen. Das letztgenannte Ergebnis erscheint aber im Vergleich zu dem von BUTTARELLO et. al. (1992) für humane Eosinophile erzielten CV von 39,31 % (Analyser/ M- DIFF (800)) als durchaus akzeptabel.

Die näherungsweise Wiederholbarkeit der Monozytenbestimmung bei Ziege und Schaf mit Werten zwischen 22,9 und 31,7 % innerhalb der Serie liegt im gleichen Bereich wie der von BEDDIES (1999) mit dem H*1 ermittelte ovine CV (30,4 %). Die Präzision der ovinen Monozytenwerte über verschiedene Serien hinweg (60,2 %) ist als schlecht zu bezeichnen. Der von BUTTARELLO et. al. (1992) für die Monozyten ermittelte CV von 25,9 % zeigt auf,

daß bei dieser Zellart auch im Humanbereich mit einer geringeren Präzision zu rechnen ist. GOOSSENS et. al. (1991 b) erhielt mit dem Sysmex E 5000 (TOA Medical Electronics Hamburg) auch im Humanbereich nur einen CV von 68,1 %. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß gerade die manuelle Differenzierung zwischen Monozyten und Lymphozyten insbesondere bei Wiederkäuern sehr schwierig (STÖBER u. HEUBNER, 1967; NOLTE, 1980) und als Herausforderung zu betrachten ist.

Das Resümee für das weiße Blutbild ist für beide Tierarten eine akzeptable bis sehr gute Präzision des ADVIA 120 innerhalb und über verschiedene Serien hinweg. Ausnahmen davon stellen lediglich die ovinen Monozyten über verschiedene Serien hinweg dar.

Im Anschluß daran werden die Ergebnisse der Softwareadaptation und des Methodenvergleiches diskutiert.

5.2. Methodenvergleich

Gegenstand der Betrachtung sollen in diesem Teil der Arbeit die Ergebnisse des Geräte- und Methodenvergleichs, die zur Einschätzung der Richtigkeit des ADVIA 120 dienen, sowie die begleitende Softwareadaptation sein. Zunächst werden die Auswertungen des roten, anschließend die des weißen Blutbildes interpretiert.

5.2.1. Rotes Blutbild

Der Gerätevergleich ADVIA 120/ H*1 ergab für die ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, RDW und PLT sehr gute Korrelationen. Auch der Vergleich des ADVIA 120 mit der Mikrohämatokritzentrifuge für den PCV und der Vergleich mit dem Sysmex F 800 bezüglich des HGB zeigen sehr gute Ergebnisse.

Bezüglich des MCHC ist die Übereinstimmung der Tendenz anderer Tierarten und Geräte entsprechend (Kapitel 2.3), etwas geringer. Die berechnete Korrelation mit dem Sysmex F 800 (0,563) ist deutlich besser als die von BEDDIES (1999) im H*1/ Sysmex F 800-Vergleich ermittelte (0,189). Die geringere Korrelation des MCHC im ADVIA 120 bzw. H*1/ Sysmex F 800 ist in der Art ihrer Ermittlung durch letztgenanntes Gerät begründet. Der

Sysmex F 800 berechnet den MCHC aus HGB- und PCV-Wert. Da der mit diesem Gerät ermittelte PCV aber die geringste Übereinstimmung mit der Referenzmethode aufweist, ist demzufolge auch der MCHC mit diesem Fehler behaftet. Somit ist die geringere Korrelation dieses Parameters auf einen Mangel der Referenzmethode zurückzuführen.

Für die Parameter RBC, PCV, MCV, MCH und PLT wurden im Vergleich mit dem Sysmex F 800 akzeptable Korrelationen (0,811 - 0,903) und bessere Ergebnisse als von BEDDIES (1999) beim H*1/ Sysmex F 800-Vergleich erzielt, was die anschließende Tabelle 60 detailliert zeigt.

Tabelle 60: Gegenüberstellung der Korrelationen des Methodenvergleichs ADVIA 120/ F 800 mit dem H*1 / F 800 Vergleich von BEDDIES (1999), *korrigiertes PLT.

Parameter	ADVIA 120 / F 800	H*1 / F 800 (BEDDIES, 1999)
RBC	r = 0,893	r = 0,702
PCV	r = 0,844	r = 0,762
MCV	r = 0,903	r = 0,881
MCH	r = 0,811	r = 0,574
PLT	r = 0,848	r = 0,514 r* = 0,718

Die caprinen Parameter des roten Blutbildes schließlich, die eine besondere Herausforderung an Analysesysteme darstellen, zeigen die deutlichsten Veränderungen durch die Softwareanpassung (Kapitel 4.2.1.1). Die Parameter RDW, HGB und MCV zeigen im Vergleich mit dem H*1, die beiden letztgenannten auch mit dem Sysmex F 800 sehr gute Korrelationen.

Vom ADVIA 120 wird auch in der Endsoftware eine sehr gute Übereinstimmung des PCV mit der Referenzmethode (Zentrifuge) erzielt ($r = 0,945$), während Sysmex F 800 (0,939) und H*1 (0,590) schlechter korrelieren (Abbildung 5- 7) und größere Mittelwertunterschiede zur Referenz aufweisen (Tabelle 36). Dieses Ergebnis ist auf die Softwareadaptation zurückzuführen und anhand der Tabelle 33 nachzuvollziehen. Hier zeigt sich, daß der ADVIA 120 in SW 1 nur eine Korrelation von 0,549 (ähnlich der Korrelation des H*1) aufweist und durch die Anpassung der Software eine deutliche Korrelationssteigerung erfährt. Damit läßt sich auch erklären, warum im Laufe der Softwareadaptation die Korrelationen im ADVIA 120 / H*1 Vergleich (Tabelle 30) schlechter und im ADVIA 120/ F 800 Vergleich (Tabelle 31) besser werden. Die Anpassung der Software hat auch die deutliche Verbesserung der Korrelation bezüglich des MCHC im ADVIA 120/ Sysmex F 800 Vergleich zur Folge.

Das RBC zeigt in Bezug auf das Referenzgerät Zählkammer und die Softwareadaptation eine ähnliche Tendenz. Der ADVIA 120 verfügt nach der Anpassung des Gerätes über die beste Übereinstimmung mit den Zählkammerergebnissen (Kapitel 4: Abbildungen 8 – 10, Tabelle 36). Und auch hier zeigt der Sysmex F 800 wieder bessere Ergebnisse im Vergleich zur Referenzmethode als der H*1. Demzufolge zeigt sich durch die Softwareanpassung im Vergleich mit dem Sysmex F 800 eine Steigerung, im Vergleich mit dem H*1 eine Verringerung des Korrelationskoeffizienten. Durch die Anpassung der Software verbessern sich auch die Korrelationen des MCH im ADVIA 120/ F 800 Vergleich, während sich die Korrelationen im ADVIA 120 / H*1 Vergleich verschlechtern.

Bei den caprinen Thrombozyten zeigt sich bereits in SW 1 eine gute Übereinstimmung des ADVIA 120 mit dem Sysmex F 800, die bis zur Endsoftware noch gesteigert wird, während sich die mäßige Korrelation zum H*1 durch die Softwareanpassung noch verschlechtert.

Mit den Zählkammerergebnissen korreliert der ADVIA 120 sehr gut ($r = 0,993$). Auftretende Thrombozytenagglomerate wurden bei den manuell kontrollierten Proben zuverlässig mit der Fehlermeldung „PLT clumps“ geflaggt. Da beim Auftreten von Thrombozytenaggregaten weder manuell noch automatisch eine zuverlässige Zählung gewährleistet ist (SUCHFORT, 1999), stellt dies einen Vorteil gegenüber etablierten Methoden dar. Das Auftreten der Fehlermeldung „large platelets“ ist möglicherweise mit dem Auftreten von aktivierten Thrombozyten zu erklären. Diese Ergebnisse des Einzelwertvergleichs werden im Mittelwertvergleich bestätigt, denn der ADVIA 120 ermittelt für das caprine PLT 99,7 % des Zählkammerwertes, während der Sysmex F 800 mit 52,9 % viel zu niedrige und der

Technicon H*1 viel zu hohe Werte anzeigt. Letztgenanntes Vergleichsgerät, das die Differenzierung von Erythrozyten und Thrombozyten bei der Ziege und bei Schafen ≤ 3 Monaten nicht korrekt bewerkstelligt, reagierte aber bei allen (257) caprinen und betroffenen ovinen Proben mit der Fehlermeldung „small erythrocytes“ und kann mit der Formel nach BEDDIES (1999) (siehe Kapitel 2.3.2.3. S. 41) korrigiert werden. Zur Demonstration der beschriebenen Ergebnisse werden in den folgenden Abbildungen 48 - 50 jeweils ein Sysmex F 800-, ein H*1- und ein ADVIA 120-Ausdruck der Werte eines 3 Monate alten Schafes (70) gegenübergestellt.

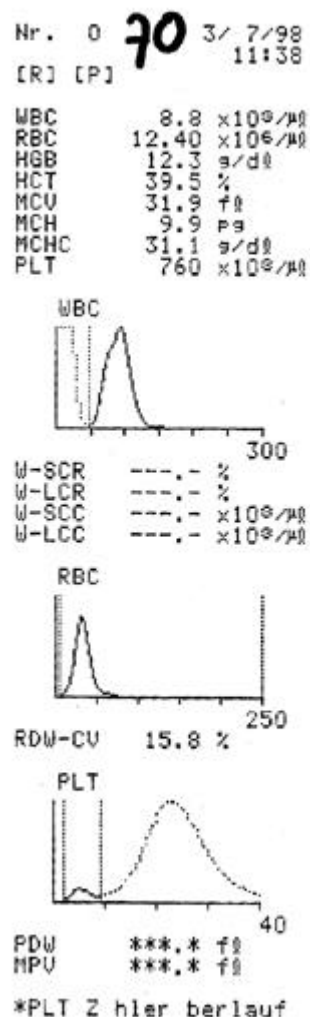
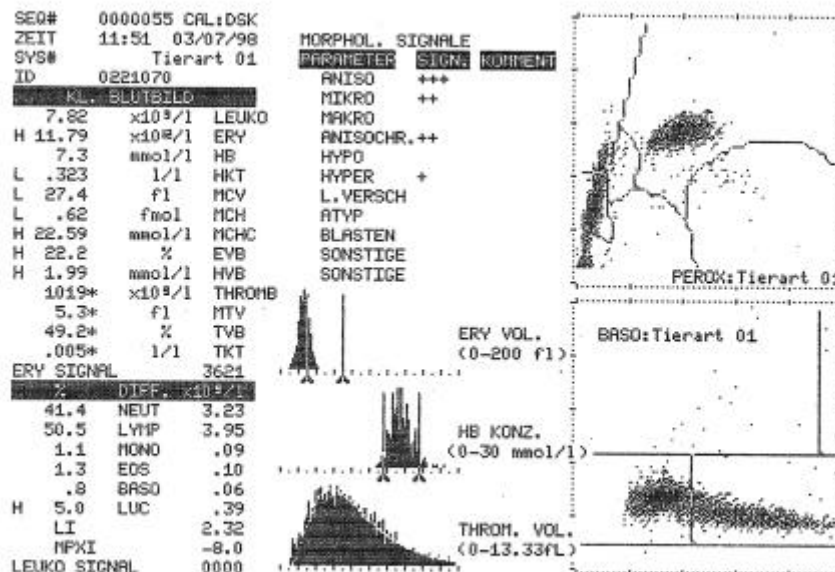


Abbildung 48: Sysmex F 800 Ausdruck der Werte des 3 Monate alten Schafes 70



Signal (*) Analyse

SEQ# 0000055 KAL:DSK
ZEIT 11:51 03/07/98
SYS# Tierart 01
ID 0221070 Nur für Labor

Test	Sign.	Wert	Fehler Codes
LEUP		7.82	
LEUB		8.70	
ERY	H	11.79	
HB		7.3	
MCV	L	27.4	
MCHC	H	22.59	
CHCM		21.21	
EVB	H	22.2	
HYB	H	1.99	
THRO		1019	SR
MTV		5.3	SR
TVB		49.2	SR
NEUT		41.4	
LYMP		50.5	
MONO		1.1	
EOS		1.3	
BASO		.8	
LUC	H	5.0	
LI		2.32	
MPXI		-8.0	

Abbildung 49: Technicon H*1 Ausdruck der Werte des 3 Monate alten Schafes 70

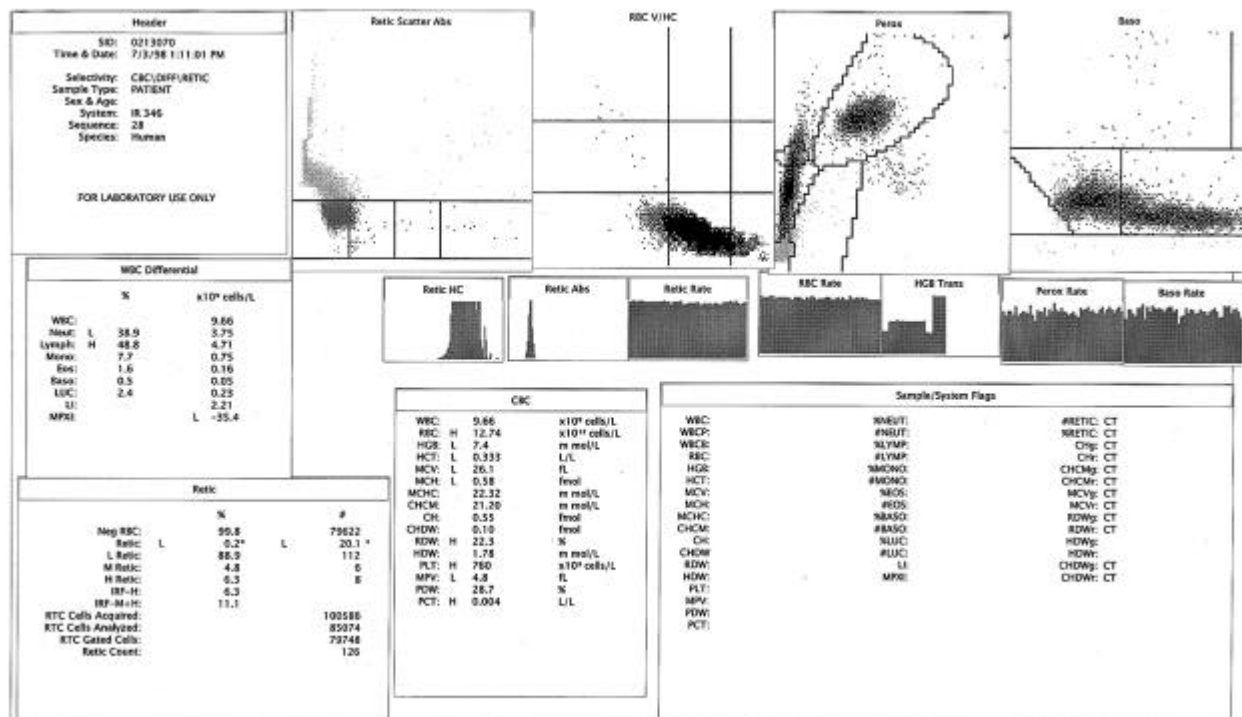


Abbildung 50: ADVIA 120 Ausdruck der Werte des 3 Monate alten Schafes 70

Die Abbildungen 48 – 50 zeigen beim Schaf 70 eine Thrombozytenzahl von 760 G/ l (ADVIA 120 und Sysmex F 800), während der H*1 mit 1019 G/ l einen deutlich höheren Wert liefert. Das vom Sysmex F 800 ermittelte Histogramm (Abb. 48) zeigt eine gute Abgrenzung der Thrombozytenfraktion. Aus Abbildung 49 geht hervor, daß die Thrombozytenzahl des H*1 mit der Fehlermeldung „small erythrocytes“ gekennzeichnet wurde. Anschließend sollen die Ausdrücke der Geräte Sysmex F 800, Technicon H*1 und ADVIA 120 der Ziege 216 vergleichend gegenübergestellt werden (Abb. 51 - 53).

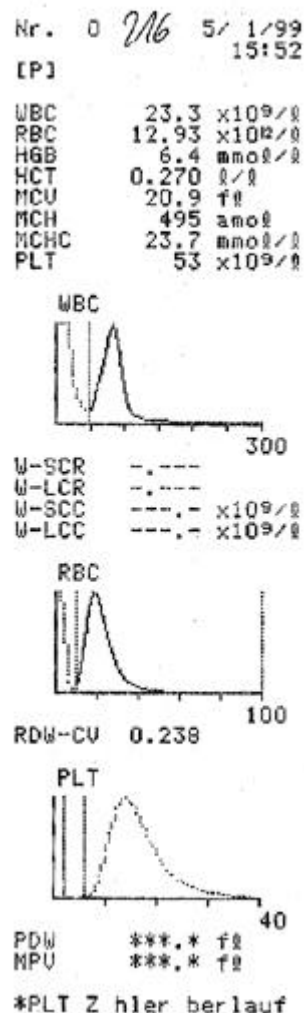
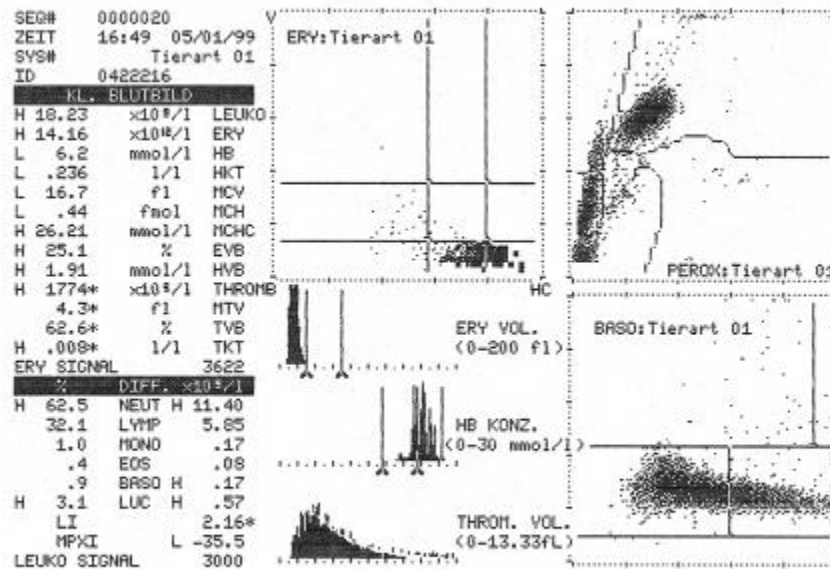


Abbildung 51: Sysmex F 800 Ausdruck der Werte der Ziege 216



Signal (*) Analyse

SEQ# 0000020
ZEIT 16:49 05/01/99
SYS# Tierart 01
ID 0422216

Nur für Labor

Test	Sign.	Wert	Fehler Codes
LEUP	H	18.23	
LEUB		18.89	
ERY	H	14.16	
HB	L	6.2	
MCV	L	16.7	
MCHC	H	26.21	
CHCM		25.48	
EVB	H	25.1	
HVB	H	1.91	
THRO	H	1774	SR
MTV		4.3	SR
TVB		62.6	SR
NEUT	H	62.5	
LYMP		32.1	
MONO		1.0	
EOS		.4	
BASO		.9	
LUC	H	3.1	
LI		2.16	NV
MPXI	L	-35.5	

Abbildung 52: Technicon H*1 Ausdruck der Werte der Ziege 216



Beim Vergleich der caprinen Werte zeigt der H*1 wiederum die höchsten Thrombozytenzahlen (1774 G/ l) und die Fehlermeldung „small erythrocytes“, die bei jeder caprinen Probe angezeigt wurde. Der Sysmex ermittelte ein deutlich geringeres PLT von 53 G/ l als der ADVIA 120 (310 G/ l) und das Histogramm des F 800 läßt keine Thrombozytenfraktion erkennen.

Aus einer weiteren Auswertung, auf deren detaillierte Darstellung verzichtet wurde, geht hervor, daß das Auftreten der Fehlermeldungen PH (HGB Basislinienübertragung zu gering) und HR (HGB Basislinien- oder Probensignalübertragung zu gering) bei den Parametern HGB, MCH und MCHC und eine Beeinflussung des Meßergebnisses, sofern kein Defekt des Gerätes vorliegt oder ein Reagenzienwechsel nötig ist, durch eine Wiederholungsmessung vermieden werden kann.

Bezüglich der Retikulozyten wurden beim Schaf keine signifikanten Ergebnisse erzielt, während die Ziege eine hoch signifikante Korrelation von 0,917 zeigte. Dies ist damit zu erklären, daß kleine Hauswiederkäuer physiologischerweise nur über sehr geringe Retikulozytenkonzentrationen im peripheren Blut verfügen und mit Hilfe der Färbung häufig Nullwerte ermittelt werden. Die guten Ergebnisse für die Tierart Ziege sind auf die Zusammensetzung der Tiergruppe zurückzuführen, denn sie beinhaltet Jungtiere mit sehr hohen Retikulozytenzahlen. Für kontinuierlich höher ermittelte Retikulozytenzahlen des ADVIA 120 gegenüber der manuellen Zählung können die höhere Anzahl ausgewerteter Zellen, aber auch eine bessere Identifikation derselben durch das Gerät, verantwortlich sein. Denn in Übereinstimmung mit OVERÄS (1969) wurden bei der mikroskopischen Retikulozytenzählung beider Tierarten nur die schwierig zu identifizierenden Retikulozyten der Gruppe 4 beobachtet. Dazu ist nachstehende Abbildung (54) der Retikulozyten eines Jungtieres zu betrachten. Man erkennt auf dieser lichtmikroskopischen Aufnahme im mittleren oberen Bereich 2 Retikulozyten und in der linken unteren Ecke einen Retikulozyten mit jeweils einem Bereich mit granulo-filamentösen Strukturen.

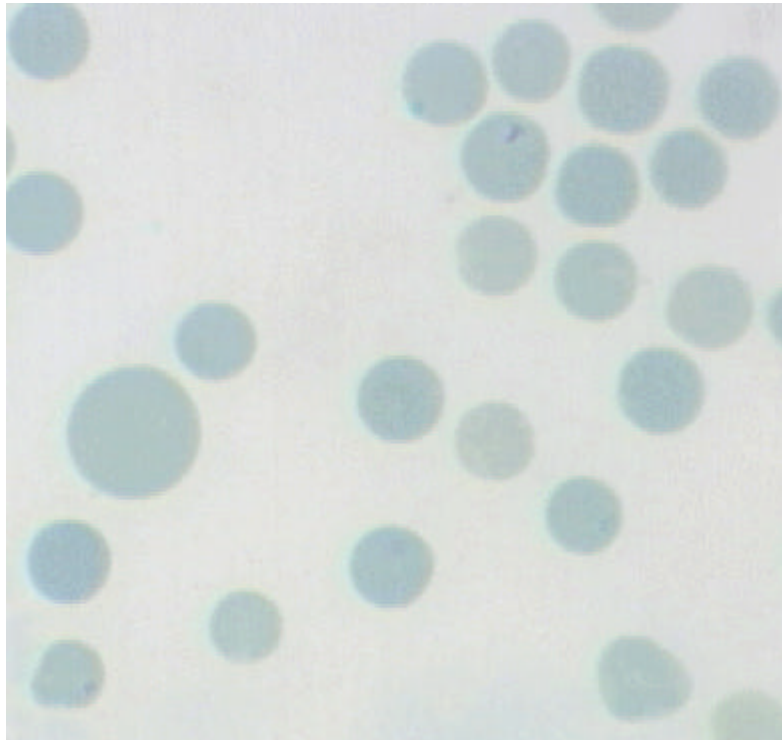


Abbildung 54: Lichtmikroskopischer Aufnahme der Retikulozyten des 2 wöchigen Ziegenlammes 225 (Retikulozytenfärbung)

Zusammenfassend ist zu sagen, daß der ADVIA 120 bezüglich der ovinen Parameter RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW und PLT eine sehr gute bis akzeptable Übereinstimmung mit den Referenzgeräten H*1, Sysmex F 800 und Mikrohämatokritzentrifuge zeigt.

Bezüglich der caprinen Parameter RBC, PCV und PLT ergaben sich für den ADVIA 120 nach der Softwareanpassung sehr gute Korrelationen mit den Referenzgeräten Mikrohämatokritzentrifuge und Zählkammer. In diesem Bereich ist der Sysmex F 800 dem ADVIA 120 deutlich unterlegen, während der H*1 mit der verwendeten Einstellung für die Ermittlung dieser caprinen Parameter nur wenig bis nicht geeignet erscheint. Die Korrelationen für die Parameter HGB, MCV, RDW und HDW mit den Werten der Vergleichsgeräte lagen im sehr guten bis akzeptablen Bereich.

Bezüglich der Retikulozyten ist festzustellen, daß eine gute Registrierung durch den ADVIA 120 gewährleistet ist, sofern sie bei kleinen Hauswiederkäuern auftreten.

Nach Diskussion der Ergebnisse des Methodenvergleichs für das rote Blutbild befaßt sich der nachfolgende Abschnitt mit der Auswertung des weißen Blutbildes.

5.2.2. Weißes Blutbild

Der Methodenvergleich ADVIA 120 / H*1 liefert für das WBC beider Tierarten hervorragende Korrelationen von 0,987 (Ziege) und 0,968 (Schaf). Der Gerätevergleich ADVIA 120 / Sysmex F 800 führt aufgrund des anderen Meßprinzips zu schlechteren Korrelationen von 0,855 (Ziege) und 0,750 (Schaf). Letztere ist erheblich schlechter als die von BEDDIES (1999) im H*1 / Sysmex F 800-Vergleich ermittelte Korrelation (0,916). Möglicherweise ist dies auf eine höhere Tierzahl von Beddies und eine andere Zusammensetzung der Tiergruppe zurückzuführen.

Auch für die Parameter Neutrophile, Lymphozyten und Eosinophile zeigen sich im Gerätevergleich ADVIA 120 / H*1 für beide Tierarten sehr gute Korrelationen. Sogar die Ergebnisse für die basophilen Granulozyten korrelieren, im Hinblick auf die bei anderen Autoren beschriebenen Diskrepanzen (Kapitel 2.3.), sowohl bei der Ziege als auch beim Schaf noch recht gut.

Der Vergleich der Ergebnisse des ADVIA 120 mit denen der verschiedenen Färbemethoden zeigt, daß durch den Einsatz von Spezialfärbungen wie Peroxidase- und α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung bei kleinen Hauswiederkäuern keine wesentlich bessere Ergebnisse erzielt werden können, als mit der Panoptischen Färbung nach Pappenheim.

Die Korrelationen des ADVIA 120 mit der PAN liegen für die Lymphozyten, Neutrophilen und eosinophilen Granulozyten für beide Tierarten in akzeptablen Bereichen zwischen 0,856 (caprine Lymphozyten) und 0,715 (caprine Eosinophile). Die geringeren Korrelationen sind mit dem unterlegenen Prinzip der manuellen Blutzelldifferenzierung zu begründen. Die automatische Blutzellzählung ist der manuellen schon aufgrund der Anzahl gezählter Zellen deutlich überlegen (RÜMKE, 1979), und ein Korrelationskoeffizient von 0,99 kann somit nicht Ziel dieses Methodenvergleichs sein. Denn dies würde bedeuten, daß das automatische

Analysegerät mit all seinen technischen Möglichkeiten letztlich zu den gleichen Ergebnissen käme wie die manuelle Zählung mit all ihren Fehlerquellen (siehe dazu auch Kapitel 2).

Die schlechteren und nicht signifikanten Ergebnisse bezüglich der basophilen Granulozyten und Monozyten entsprechen die den in Kapitel 2.3. dargestellten Tendenzen verschiedener Gerätetypen und Meßverfahren für diese Parameter. Zudem sei erwähnt, daß auch BEDDIES (1999) im Methodenvergleich H*1/ POX nicht signifikante Ergebnisse und Korrelationen zwischen 0,140 und – 0,01 ermittelte.

Dies dürfte in erster Linie auf die geringe Präsenz der beiden Leukozytenarten im peripheren Blut zurückzuführen sein (BENZEL et. al. 1974, ROSIER et. al. 1993). Zudem kann es bei den Monozyten aufgrund ihrer Zellgrößen und –struktur zu einer Verwechslung mit großen Lymphozyten kommen (DRAYSON et. al. 1992). Dieses Phänomen ist, wie bereits erwähnt, bei Wiederkäuern besonders ausgeprägt. So konnte auch GROMMELT (1999) in einer Gegenüberstellung des EPICS Elite Analyzer/ H*1 und dem H*1/ M- DIFF (200) und (400) keine höheren Korrelationskoeffizienten erzielen. Die von GOOSSENS et. al. (1991 b), JAIN et. al. (1991) und SMITH et. al. (1994) postulierte Klassifizierung der Leukozyten mittels monoklonaler Antikörper mag zwar zu besseren Ergebnissen führen, ist aber wegen mangelnder Zeit- und Kosteneffizienz in der Routinediagnostik keine Alternative. Zusammenfassend ist festzustellen, daß der ADVIA 120 im Geräte- bzw. Methodenvergleich für WBC, Lymphozyten, neutrophile und eosinophile Granulozyten sehr gute bis akzeptable Ergebnisse liefert. Die schlechtere Übereinstimmung der Werte für basophile Granulozyten und Monozyten mit dem M-DIFF ist auf zellspezifische Eigenschaften dieser Zellen zurückzuführen und bewegt sich im Rahmen der Ergebnisse anderer Studien.

Im nächsten Abschnitt sollen die Auswertungen von Linearität und Carryover Gegenstand der Betrachtung sein.

5.3. Linearität und Carryover

Die Linearität ist für die Parameter RBC, HGB, WBC und PLT bei beiden Tierarten gewährleistet. Die Ergebnisse sind alle hoch signifikant, und die Korrelationen liegen zwischen 0,994 und größer als 0,999.

Die nachfolgende Tabelle 61 zeigt die Ergebnisse der eigenen Carryover-Messungen (ADVIA 120) im Vergleich mit denen von BOLLINGER et. al. (1987) (Technicon H*1).

Tabelle 61: Vergleich der Zellverschleppung in den eigenen Untersuchungen mit Literaturangaben für die Parameter RBC, HGB, WBC und PLT.

Parameter	Tierart	Anreicherung 100 % Pool	Carryover (%)	Untersucher
RBC (T/ l)	human	5,87	0,20	Bollinger et. al. 1987
	ovin	17,5	0,11	eigene Untersuchungen
	caprin	12,6	0,25	
HGB (mmol/ l)	human	17,3	0,32	Bollinger et. al. 1987
	ovin	11,4	0,00	eigene Untersuchungen
	caprin	5,2	0,00	
WBC (G/ l)	human	96,1	0,51	Bollinger et. al. 1987
	ovin	96,0	0,26	eigene Untersuchungen
	caprin	115	0,61	
PLT (G/ l)	human	794	0,30	Bollinger et. al. 1987
	ovin	2578	0,27	eigene Untersuchungen
	caprin	8829	0,16	

Für das HGB sind die eigenen Ergebnisse deutlich besser als die von Bollinger et. al. (1987) mit der Referenzmethode erzielten. Auch das Carryover für die ovinen und caprinen Parameter RBC und PLT liegt in einem vergleichbaren Bereich oder ist besser als das humane Pandon. Hierbei sei zusätzlich auf die deutlich höheren Anreicherung im 100 % Pool capriner und oviner Proben verwiesen. In den eigenen Untersuchungen zeigen die ovinen Leukozyten eine 50 % geringere Verschleppung als humane (BOLLINGER et. al., 1987). Das Carryover des caprinen WBC liegt, bei einer höheren Anreicherung, mit 0,61 % etwas schlechter als das humane.

Zusammenfassend ist für die Tierarten Schaf und Ziege von einer gewährleisteten Linearität und einem akzeptablen Carryover zu sprechen. Anschließend sollen die Ergebnisse des Antikoagulanzenvergleichs erläutert werden.

5.4. Antikoagulanzenvergleich

Analog zu den Beobachtungen mit dem H*1 für das ovine und equine PLT (SEEGERS 1997, BEDDIES 1999), zeigen auch die mit dem ADVIA 120 gemessenen und mit Heparin antikoagulierten caprinen und ovinen Proben die geringsten Thrombozytenwerte. Die Werte der mit Citrat antikoagulierten eigenen Proben lagen etwas darüber, aber immer noch deutlich unter den K₂-EDTA-Werten.

Ursache dafür dürfte eine von FALCONER und CHAPMAN (1977) bei allen untersuchten Tierarten und Antikoagulanzen festgestellte Thrombozytenagglutination sein. Diese manifestierte sich bei ovinen Thrombozyten, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei anderen Tierarten, bereits in der Anfangsprobe und wird vom ADVIA 120 mit der Fehlermeldung „PLT CLUMPS“ angezeigt.

LIPPI et. al. (1990) sprechen von einer fortschreitenden Thrombozytenagglutination bei Na-Citrat und in geringem Maße sogar bei EDTA-Proben. Die geringste Agglutination erhielten sie mit einer CPT (Na-Citrat, Pyridolphosphat, Tris)–Mixtur.

Aufgrund der erheblichen Pseudothrombozytopenie und Pseudoleukozytose bei heparinisierten Proben halten THOMPSON et. al. (1983) und GALIFI et. al. (1993) K₂-EDTA für das bessere Antikoagulanzen zur Bestimmung der Thrombozytenzahl.

Die Pseudoleukozytosen, die durch fälschlicherweise als Leukozyten gezählte Thrombozytenagglutinate entstehen, führen bei H*1 (I BUD; 1990; SEEGERS, 1997) und ADVIA 120 zu diffusen und schlecht abgrenzbaren Peroxscattergrammen. Dieses Phänomen ist sowohl bei heparinisierten Proben als auch bei mit Citrat antikoagulierten caprinen und ovinen Proben festzustellen.

In diesem Zusammenhang sind die nachfolgenden Abbildungen zu betrachten, die Peroxscattergramme der Werte des Schafes 212 (Abb. 55) und derjenigen der Ziege 235 (Abb. 56) bei der Verwendung der verschiedenen Antikoagulanzen zeigen.

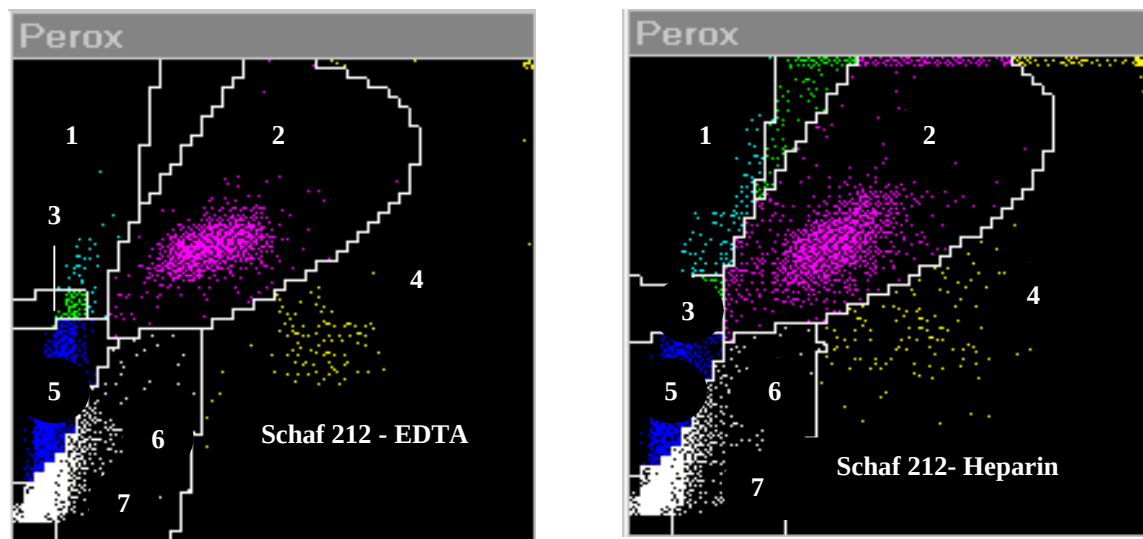


Abbildung 55: Peroxscattergramme ADVIA 120 des Schafes 212 bei Verwendung der Antikoagulanzen K₂-EDTA und Li-Heparin.

	EDTA:	Heparin:
WBC: (G/l)	7,17	6,93
1. LUC:	0,03 (0,5 %)	0,10 (1,4 %)
2. Neutrophile:	1,76 (24,5 %)	1,78 (25,7 %)
3. Monozyten:	0,27 (3,8 %)	0,40 (5,7 %)
4. Eosinophile:	0,14 (2,0 %)	0,26 (3,8 %)
5. Lymphozyten:	4,93 (68,8%)	4,35 (62,8 %)
6. Thrombozytenaggregate		
7. Zelltrümmer		

Der Vergleich der Ergebnisse im Hinblick auf die verwendeten Antikoagulanzen K₂-EDTA und Li-Heparin zeigt eine Veränderung der Leukozytenzahl und eine Verschiebung der Leukozytenfraktionen. Die Veränderungen des ovinen WBC sind geringer als die des caprinen und der Vergleich von 3 Antikoagulanzen bezüglich dieses Parameters ist nur schwach, die paarweisen Vergleiche derselben sogar nicht signifikant.

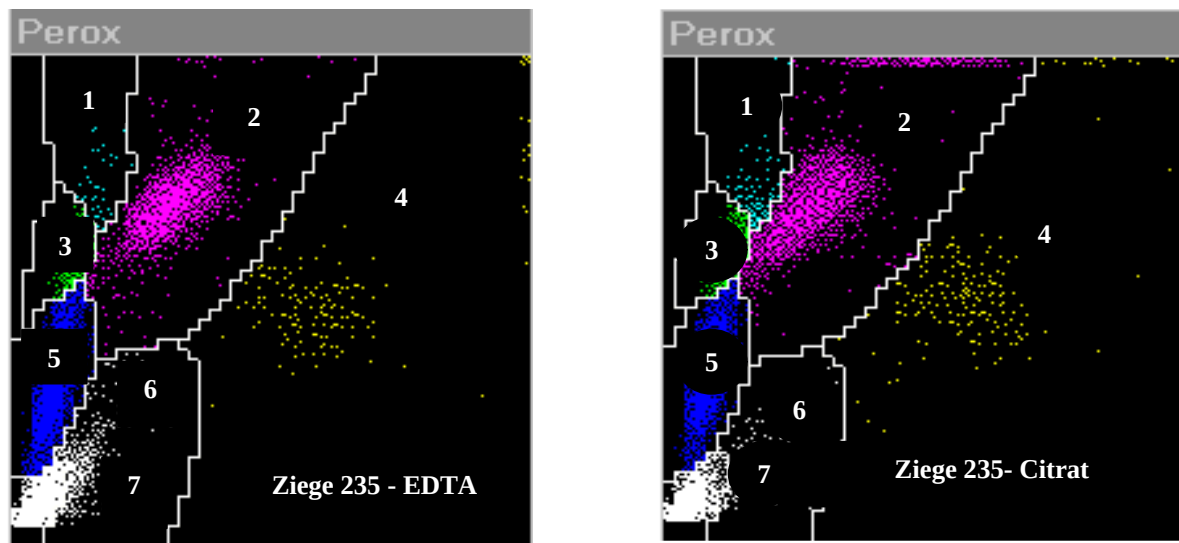


Abbildung 56: Peroxscattergramme ADVIA 120 der Ziege 235 bei Verwendung verschiedener Antikoagulanzen (K_2 -EDTA und Na-Citrat).

	EDTA:	Citrat:
WBC: (G/l)	12,25	12,83*
1. LUC:	0,05 (0,4 %)	0,09* (1,2 %)
2. Neutrophile:	3,51 (28,7 %)	3,12* (24,3 %)
3. Monozyten:	0,35 (2,8 %)	0,51* (4,0 %)
4. Eosinophile:	0,19 (1,5 %)	0,29* (2,2 %)
5. Lymphozyten:	8,09 (66,1 %)	8,68* (67,6 %)
6. Thrombozytenaggregate		
7. Zelltrümmer		

(Die mit einem * gekennzeichneten Werte sind nicht die Originalmeßwerte, sondern die mit dem Korrekturfaktor von 1,1 korrigierten Werte.)

Die Abbildung 56 verdeutlicht eine scheinbar höhere Leukozytenzahl (Pseudoleukozytose) und eine deutlich schlechtere Abgrenzung der einzelnen Leukozytenfraktionen bei der mit Citrat antikoagulierten Probe. Diese Tendenz betrifft sämtliche Cluster. Im Gegensatz zum Schaf sind die Unterschiede im Vergleich dreier Antikoagulanzen und im EDTA- / Citrat-Vergleich hier hoch signifikant, während die anderen paarweisen Vergleiche signifikant sind.

Die hohen MPV-Werte der mit K₂-EDTA versetzten Proben sind auf eine Antikoagulan- z bedingte Form- und Größenveränderung der Thrombozyten zurückzuführen (HANDAGAMA et. al. 1986, GROMMELT 1999). Von entsprechenden Veränderungen bei humanen, caninen und felines Thrombozyten wurde ebenfalls berichtet (HANDAGAMA et. al. 1986, THOMPSON et.al. 1983, SEEGER 1997).

Abschließend ist zu sagen, daß K₂-EDTA für die Blutzellzählung und –differenzierung das geeignetste Antikoagulan- z darstellt. THOMPSON et. al. (1983) teilen diese Auffassung, da bei ihren Untersuchungen auch die schlechte Eignung von Heparin und Na-Citrat für die Leukozyten- und bei letztgenanntem zusätzlich die Erythrozytenzählung zu Tage trat. Und auch das Deutsche Institut für Normung e.V. (DIN) erachtet K₂- und K₃-EDTA in einer Konzentration von 1,2 bis 2,5 mg je ml Blut für die geeignetsten Antikoagulan- zien (DIN 58932-1; 12/1996).

Nach Darstellung des Antikoagulan- zienvergleichs diskutiert das nächste Kapitel die Ergebnisse der Verlaufsuntersuchungen.

5.5. Verlaufsuntersuchungen

In Anbetracht der zunehmenden Bedeutung von Zentrallaboratorien und der Versendung von Blutproben ist es wichtig festzustellen, wie lange eine Stabilität der Proben gewährleistet ist und diese akzeptable Ergebnisse liefern.

Bei den ovinen Parametern RBC, PCV, HGB, MCH, MCHC, MCV und RDW wurde nach 72 Stunden eine maximale Veränderung (Mittelwert + Standardabweichung) von weniger als 5 % ermittelt. Entsprechende caprine Parameter differieren weniger als 4 %. Diese Ergebnisse stimmen auch mit den Beobachtungen von BEDDIES (1999) überein, der für ovines RBC, PCV und HGB Abweichungen von unter 4 % erhielt.

Die Thrombozyten erwiesen sich in Übereinstimmung mit BEDDIES (1999) bei beiden Tierarten als recht instabil und zeigten selbst bei gekühlter Lagerung schon nach 3 Stunden eine Abweichung von fast 30 % (Schaf) bzw. über 40 % (Ziege).

Das MPV ungekühlter Proben zeigte nach 3 Tagen bei der Ziege eine Differenz von weniger als 20 % und beim Schaf von weniger als 40 %, während die Werte gekühlter Proben bei beiden Tierarten bereits nach 3 Stunden mehr als 30 % vom Ausgangswert differierten. Der

Anstieg des MPV bei gekühlter Lagerung wurde auch von HANDAGAMA et. al. (1986) bei Hundeblutproben beobachtet und ist auf die Beeinflussung durch das Antikoagulanzt EDTA zurückzuführen. Das Antikoagulanzt EDTA bewirkt eine Formänderung der Thrombozyten von einer diskoidalen Scheibe zu einer Kugel mit Pseudopodien und einer damit verbundenen deutlichen Vergrößerung des Volumens (HANDAGAMA et. al., 1986). Dies resultiert aus dem EDTA bedingten Kalziumentzug aus der Zelle, der zu einer Membrandestabilisierung führt und die Thrombozyten anschwellen lässt (BRUMMITT u. BARKER, 2000).

Nach 3 Tagen konnten bei gekühlter Lagerung sowohl für das ovine als auch für das caprine WBC maximale Abweichungen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von unter 7 % erzielt werden. Die von BEDDIES (1999) mit dem H*1 ermittelten Werte lagen etwas höher.

Nach 72 stündiger Aufbewahrung im Kühlschrank differierten die ovinen Eosinophilen um 23,3 %. Die caprinen hingegen zeigten bei entsprechender Lagerung nach bereits 48 Stunden eine maximale Abweichung von 37,4 % und nach 3 Tagen von 66,3 %.

Die Neutrophilen sollten spätestens nach 48 Stunden gemessen werden. Geringere Abweichungen zum Ausgangswert erhält man für die caprinen Zellen mit einer Lagerung bei 22 °C ($\leq$ 9,3 %), wobei für eine Messung nach 12 und 24 Stunden die gekühlten Proben bessere Werte liefern. Nach 72 Stunden zeigt sich eine maximale Abweichung von 19,9 % vom Ausgangswert. Für die ovinen Proben empfiehlt sich, wie auch die Untersuchungen von BEDDIES (1999) bestätigen, die gekühlte Lagerung. Nach 48 Stunden beträgt die größte Abweichung 5,9 %. Bei dieser Tierart sind die Meßergebnisse im Zeitraum zwischen 12 und 36 Stunden aufgrund sehr hoher Standardabweichungen jedoch nicht zu akzeptieren. Nach 72 Stunden treten bei ungekühlter Lagerung Differenzen von 16,3 % zum Ausgangswert und bei gekühlter von 22,6 % auf.

Bei der Tierart Ziege zeichnen sich die Lymphozyten der ungekühlten Proben bis zu einem Zeitpunkt von 48 Stunden durch deutlich geringere maximale Abweichungen (7,5 %) als die gekühlten Proben aus. Nach 72 Stunden liefern die gekühlten aber mit 17,5 % gegenüber 23,9 % bessere Ergebnisse. Die ovinen Lymphozyten, deren Lagerungstemperatur zu geringeren Unterschieden führt, differieren nach 48 Stunden um 8,3 % (ungekühlt) bzw. 11,1 % (gekühlt) und nach 72 Stunden um 10,4 % (ungekühlt) bzw. 11,9 % (gekühlt). Bei den Monozyten waren aufgrund ihres geringen Anteils bereits nach 3 Stunden keine akzeptablen Ergebnisse mehr zu erzielen.

VI. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Softwareadaptation und -evaluation des ADVIA 120 (Fa. Bayer Diagnostics München) für die Tierarten Schaf und Ziege. Das Blut stammte von Schafen des Versuchsgutes Oberer Hardthof der Justus-Liebig-Universität Gießen und von Ziegen aus überwiegend privaten Haltungen. Um die gestellte Aufgabe zu realisieren, wurden nachfolgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Präzisionsbestimmung des ADVIA 120 mittels 3-facher Wiederholungsmessung in 4 verschiedenen Softwareversionen innerhalb und über verschiedene Serien hinweg und Vergleich mit der Präzisionsbestimmung der Referenz- und Vergleichsgeräte Technicon H*1, Sysmex F 800 und Mikrohämatokritzentrifuge bei insgesamt 212 Schafen und 243 Ziegen. Die Präzisionsbestimmung der Referenz- und Vergleichsgeräte erfolgte mittels zweifacher Wiederholungsmessung innerhalb der Serie und über verschiedene Serien hinweg.
2. Richtigkeitsprüfung des ADVIA 120 durch den Vergleich mit den bereits etablierten Referenz- und Vergleichsgeräten Technicon H*1, Sysmex F 800, Mikrohämatokritzentrifuge, Zählkammer nach Neubauer (Ziege), manueller Retikulozyten- und Leukozyten-differenzierung. Letztere erfolgte mit Hilfe der Panoptischen Färbung nach Pappenheim sowie der Peroxidase- und α -Naphthyl-Acetat-Esterase-Färbung. Die Richtigkeitsprüfung wurde, außer bei dem Vergleich mit den Zählkammerergebnissen ($n = 10$), anhand von 212 ovinen und 243 caprinen Proben durchgeführt.
3. Die Überprüfung von Linearität und Carryover erfolgte für die Parameter RBC, HGB, WBC und PLT anhand von Verdünnungsreihen hoch angereicherter Proben.
4. Die Überprüfung eines antikoagulanzenbedingten Einflusses auf die Meßergebnisse des ADVIA 120 und Technicon H*1 erfolgte anhand der Auswertung von 14 caprinen und 11 ovinen Proben, die mit K_2 -EDTA, Li-Heparin und Na-Citrat versetzt wurden.
5. Um mögliche Einflüsse von Lagerungstemperatur und -dauer auf die Parameter der Blutzellzählung und -differenzierung des ADVIA 120 und Technicon H*1 nachweisen zu können, wurden 11 ovine und 10 caprine Blutproben jeweils bei 22 °C und 4 °C gelagert und über einen Zeitraum von 72 Stunden in 9 Intervallen gemessen.

Diese Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

Zu 1. Für die Parameter WBC, RBC, HGB, PCV, MCV, MCH, MCHC und HDW des ADVIA 120 wurde innerhalb und über verschiedene Serien hinweg eine sehr gute Präzision mit einem $CV \leq 2,3 \%$ ermittelt. Die höheren Werte für die näherungsweise Wiederholbarkeit von $7,2 \%$ (Schaf) bzw. $8,5 \%$ (Ziege) bezüglich der Thrombozytenparameter sind parameter- und tierartspezifisch und entsprechen den Literaturangaben. Die Präzision der Retikulozytenbestimmung ist aufgrund der geringen Präsenz dieser Zellen im peripheren Blut niedrig. Der Variationskoeffizient (CV) bzw. die näherungsweise Wiederholbarkeit (W) der Parameter des Differentialblutbildes waren, mit Ausnahme der Monozyten, gleichwertig oder besser als die in der Literatur angegebenen Ergebnisse.

Zu 2. Für Schaf und Ziege wurden sowohl im Bereich des roten als auch des weißen Blutbildes mit den Referenzgeräten und -methoden gute bis akzeptable Korrelationen und Mittelwertunterschiede erzielt. Eine gute Registrierung von caprinen Retikulozyten ist ebenfalls gewährleistet. Die schlechteren Ergebnisse der Monozytenbestimmung decken sich mit den Angaben in der Literatur.

Der Technicon H*1 erwies sich mit der verwendeten Software-Einstellung „Ratte“ als nicht geeignet zur korrekten Bestimmung der caprinen Parameter RBC, PCV und PLT sowie des RBC und PLT bei Schafen ≤ 3 Monaten.

Zu 3. Bei beiden Tierarten ist die Linearität der Meßwerte des ADVIA 120 für die untersuchten Parameter gewährleistet. Das Carryover bewegte sich für das Rote Blutbild zwischen $0,00 \%$ (HGB) und $0,11 \%$ (RBC_{ovin}) bzw. $0,22 \%$ (RBC_{caprin}). Die Zellverschleppung beträgt für das WBC $0,26 \%$ (Schaf) bzw. $0,61 \%$ (Ziege) und für das PLT $0,27 \%$ (Schaf) bzw. $0,16 \%$ (Ziege).

Zu 4. K_2 -EDTA stellt das am besten geeignetste Antikoagulant für die Analyse von Schaf- und Ziegenblut dar. Es zeigt eine deutlich geringere Förderung der Agglutination als beispielsweise Li-Heparin und Na-Citrat und liefert daher beim PLT, WBC und Differentialblutbild die exakteren Ergebnisse. Für die korrekte Messung des MPV ist es sogar erforderlich, um die isovolumetrischen Aufkuglung zu gewährleisten. Diese Ergebnisse

finden sich von mehreren Autoren bestätigt, und auch das Deutsche Institut für Normung e.V. (DIN) empfiehlt EDTA entsprechend.

Zu 5. Für die Parameter RBC, PCV, HGB, MCH, MCHC, MCV und RDW bei Ziege und Schaf führte eine dreitägige Lagerung, unabhängig von der Temperatur, zu einer akzeptablen maximalen Abweichung (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von unter 5 % des Ausgangswertes.

Für die Parameter WBC, Eosinophile und ovine Neutrophile empfiehlt sich eine kühle Lagerung. Die WBC können bei einer maximalen Differenz von 6,7 % bis zu 3 Tage aufbewahrt werden. Die ovinen Eosinophilen können bis zu 72 Stunden ($\bar{x} + SD \leq 23,3 \%$), die caprinen bis zu 48 Stunden ($\bar{x} + SD \leq 37,4 \%$) gelagert werden. Die Neutrophilen des Schafes sollten spätestens nach 48 Stunden gemessen werden. Die maximale Abweichung beträgt nach 48 Stunden 5,9 %. Aufgrund des Auftretens von sehr großen Standardabweichungen nach 12 bis 36 Stunden, sollte eine Messung in diesem Zeitraum unterbleiben.

Geringere Abweichungen erhält man bei caprinen Neutrophilen mit einer Lagerung bei 22 °C. Die caprinen Neutrophilen sind mit akzeptablen Ergebnissen bis 48 Stunden meßbar ($\bar{x} + SD \leq 9,3 \%$), wobei für eine Messung nach 12 und 24 Stunden die gekühlten Proben bessere Werte liefern.

Die caprinen Lymphozyten zeigen sich bei gekühlter Aufbewahrung bis 48 Stunden als sehr stabil ($\bar{x} + SD \leq 7,5 \%$), ovine bei ungekühlter (10,4 %) und gekühlter (11,9 %) sogar bis zu 3 Tagen.

Die Thrombozytenwerte zeigen selbst bei gekühlter Lagerung bereits nach 3 Stunden Differenzen von 28,5 % (Schaf) bzw. 41,4 % (Ziege) vom Ausgangswert und liefern damit keine brauchbaren Ergebnisse.

Auch die Ergebnisse der ovinen Monozytenmessung, die nach 3 Stunden ungekühlter Lagerung schon Abweichungen von über 80 % zeigen, sind inakzeptabel. Die Monozyten der Ziege weisen bei der Messung nach 3 Stunden eine Differenz von 28,7 % zum Ausgangswert auf, nach 6 Stunden wird auch bei dieser Tierart die 50 % Marke überschritten.

VII. Summary

The aim of this thesis was the software adaptation and evaluation of the ADVIA 120 (Fa. Bayer Diagnostics, Munich) for the animal species sheep and goat. The blood was taken from sheep, living at the “Oberer Hardthof“ of the Justus-Liebig-Universität Gießen and goats, which in majority belonged to privat households. The following examinations were done to accomplish these task.

1. The determination of the precision of the ADVIA 120 was done by three measurements with four different software versions within and between batches. It was compared with the precision of the reference analyzer Technicon H*1, Sysmex F 800 and microhaematocrit-centrifugation. The precision of the reference analyzer was determined by two times measurements of 212 ovine and 243 caprine samples within and between batches.
2. The accuracy of the ADVIA 120 was checked by the comparison with established analyzers and methodes like the Technicon H*1, Sysmex F 800, microhaematocrit-centrifugation, counting chamber after Neubauer (goat), manual reticulocyte and leucocyte differentiating. The leucocyte differential count was performed with the panoptical staining according to Pappenheim, as well as the peroxidase- and α -naphtyl-acetat-esterase staining. The determination of the accuracy was performed by checking 212 ovine and 243 caprine samples. The comparison with the counting chamber was the only exception, which was based on the evaluation of 10 samples.
3. The checking of linearity and carryover for the parameters RBC, HGB, WBC and PLT was done by a line of dilutions from highly-concentrated samples.
4. The influence of the anticoagulants on the results of ADVIA 120 and H*1 was checked by the measuring 14 caprine and 11 ovine samples using K₂-EDTA, Li-heparin and Na-citrat as an anticoagulant.
5. To show possible influences of temperature and time to the parameters of ADVIA 120 and H*1 11 ovine and 10 caprine samples were stored at 22 °C and 4 °C and measured nine times within 72 hours.

The described examinations lead to the following results.

ad 1. The ADVIA 120 showed a very good within and between batches precision with a $CV \leq 2,3 \%$ for the parameters WBC, RBC, PCV, MCV, MCH, MCHC and HDW. The higher results for platelet parameters up to 7,2 (sheep) and 8,5 % (goat) depend on the parameters and animal species and are confirmed in literature. The precision of the reticulocytes is low, because of their minimal presence in the periphery blood. Except for the monocytes, the coefficients of variation or the approximate repeatability from the parameters of the differential count were equivalent to or better than the results in the literature.

ad 2. Good to acceptable correlations and mean value differences were achieved with the reference analysers and methods for ovine and caprine red and white blood parameters. Also, a good registration of caprine reticulocytes is guaranteed. The worse results of the monocytes are confirmed in literature.

The analyzer Technicon H*1 with the software adjustment "rat" was not suitable for the correct measurement of the caprine parameters RBC, PCV, PLT, and also RBC and PLT of sheep, aged $\leq$ three month.

ad 3. The linearity of the examined ovine and caprine parameters of the ADVIA 120 is given. The carryover for the red blood lies between 0,00 % (HB) and 0,11 % (RBC_{ovine}) respectively 0,22 % (RBC_{caprine}). The carryover for the WBC is 0,26 % (sheep) and 0,61 % (goat) and for the PLT it is 0,27 % (sheep) respectively 0,16 % (goat).

ad 4. K₂-EDTA is the best suitable anticoagulant for the analysis of ovine and caprine blood. It shows less agglutination than Li-heparin and Na-citrat and because of this gives exacter results for PLT, WBC and the differential count. It is necessary to use K₂-EDTA as an anticoagulant, because otherwise the isovolumetrically spheration of the cells and a correct measurement of the MPV are not possible. These results are confirmed by several authors and the Deutsche Institut für Normung e.V. (DIN) recommends EDTA as well.

ad 5. Independent of the temperature the ovine and caprine parameters RBC, PCV, HGB, MCH, MCHC, MCV and RDW show an acceptable maximum difference (mean value $\pm$ standard deviation) of under 5 % after three days.

For the parameters WBC, eosinophils, and ovine neutrophils a cool storage is recommended. The eosinophils of the sheep can be stored up to 72 hours ($\bar{x} + SD \leq 23,3$ %) and the eosinophils of the goat within 48 hours ($\bar{x} + SD \leq 37,4$ %). The neutrophils of the sheep should be analysed not later than 48 hours. The maximal difference after 48 hours is 5,9 %. A measurement between 12 and 36 hours should be avoided, because of a very high standard deviation during this time.

With a storage at 22 °C one gets smaller discrepancies by the monocytes. The neutrophils of the goat can be analysed up to 48 hours with acceptable results ($\bar{x} + SD \leq 9,3$ %). After 12 and 24 hours the cool stored samples give better results.

The lymphocytes of the goat are very stable up to 48 hours, if they are stored cool ($\bar{x} + SD \leq 7,5$ %). The lymphocytes of the sheep are stable up to three days by cool storage (11,9 %) or by storage at 22 °C (10,4 %).

After a cool storage of 3 hours the platelets show discrepancies of 28,5 % (sheep) respectively 41,4 % (goat) and so they are not to be accepted.

The results of the ovine monocytes measurement are not to be accepted, as well, because they have discrepancies of over 80 % after a 3 hours storage at 22 °C. The monocytes of the goat show after 3 hours a discrepancy of 28,7 % and after 6 hours of more than 50 %.

VIII. Literaturverzeichnis:

Anosa, V. O. (1977)

Haematological observation on helminthiasis caused by haemonchus contortus in Nigerian dwarf sheep

Trop. Anim. Hlth Prod. 9, 11-17

Bacus, J.W., Gose, E.E. (1972)

Leukocyte pattern recognition

IEEE Transactions on systems, man and cybernetics, 2, 513-526

Baumgartner, W., Pernthaner, A. (1993)

Influence of age, season, and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep

Small Rum. Res. 13, 147-151

Bayer Diagnostics (1992)

Bedienungsanleitung Technicon H*1 System

Fa. Bayer Diagnostics, München

Beddies, Gerald, (1999)

Erstellung hämatologischer Referenzwerte mit dem für die Tierart Schaf etablierten

Hämatologiesystem Technicon H*1.

Vet. Med. Diss. Gießen

Benda, V., Hospes, J. (1990)

Phagocytic activity of leukocytes in sheep and goats

Acta Vet. Brno 60, 149-152

Bentley, S.A., Lewis, S.M. (1977)

Automated differential leukocyte counting: the present state of the art

Br. J. Haemat. 35, 481-485

Bentley, S.A. (1990)

Quality control and the differential leukocyte count

Clin. Lab. Haemat. 12, Suppl. 1, 101-109

Benzel, J.E., Egan, J.J., Hart, D.J., Christopher, E.A. (1974)

Evaluation of an automated differential leukocyte counting system II. Normal cell identification

Am. J. Clin. Pathol. 62, 530-536

Berkson, J., Magath, T.B., Hurn, M. (1940)

The error of estimate of the blood cell count as made with the Hemocytometer

Am. J. Physiol. 128, 309-323

Bessman, J. D. (1980)

Evaluation of automated whole-blood platelet counts and particle sizing

Am. J. Clin. Pathol. 74, 157-162

Bessman, J.D., Gilmer, P.R., Gardner, F. H. (1983)

Improved classification of anemias by MCV and RDW

Am. J. Clin. Pathol. Nr. 80, 322-326

Bienzle, D., Jacobs, R.M., Lumsden, J.H., Grift, E., Tarasov, L. (1994)

Comparison of two automated multichannel haematology analyzers in domestic animals

Comp. Haematol. Int. 4, 162-166

Bollinger, P.B., Drewinko, B., Brailas, C.D., Smeeton, N.A., Trujillo, J.M. (1987)

The Technicon H*1 – an automated hematology analyzer for today and tomorrow

Am. J. Clin. Pathol. 87, 74-78

Boss, P.H., Wanner, M. (1977)

Das Blutbild der Saanenziege

Schweiz. Arch. Tierheilk. 119, 111-119

Boss, P.H., Gerber, H., Tschudi, P. (1979)

Hämatologische und klinisch-chemische Untersuchungen bei Schweizer Schafrassen
Schweiz. Arch. Tierheilk. 121, 57-71

Bossow, G. (1959)

Zählung der Thrombozyten beim Schafe mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops
Vet. Med. Diss. Hannover

Bostedt, H., Mayr, B. (1976)

Über die Entwicklung des roten Hämogrammes bei Lämmern in den ersten Lebenswochen
unter natürlichen und artifiziellen Aufzuchtbedingungen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 89, 336-340

Boveri, R.M. (1939)

The errors in the differential blood count
Guy's Hospital Report 89, 112-119

Braylan, R.C. (1983)

Flow cytometry
Arch. Patholog. Lab. Med. Nr.107, 1-6

Brittin, G.M., Brecher, G. (1976)

Instrumentation and automation in clinical haematology
Progr. Hemat. 299-340

Brummitt, D.R., Barker, H.F. (2000)

The determination of a reference range for new platelet parameters produced by the Bayer
ADVIA 120 full blood analyser
Clin. Lab. Haemat. 22: 103-107

Burck, H.C. (1970)

Fehler und Fortschritt der Hämatokritmethode

Dtsch. Med. Wschr. 95, (25), 1362-1364

Burns, E.R., Cevinskaja, L., Kowatch, N., Wenz, B. (1986)

Leukocyte differential analyzers: pattern recognition vs flow cytometry

Lab. Med. Vol. 17, Nr. 5, 31-34

Buttarelo, M., Gadotti, M., Lorenz, C., Toffalori, C., Ceschini, N., Valentini, A., Rizzotti, P.
(1992)

Evaluation of four automated hematology analyzers

Am. J. Clin. Pathol., 97, 345-352

Catley, A., Kock, R.A., Hart, M.G., Hawkey, C.M. (1990)

Haematology of clinical normal and sick captive reindeer (*Rangifer tarandus*)

The Vet. Rec. 126, 239-241

Coffin, D.L. (1947)

Manual of Veterinary Clinical Pathology

Comstock Publishing Co. Inc., Ithaca N.Y.

Coulter, W. H. (1956)

High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer

Proc. Natl. Electron. Conf. 12, 1034-1042

Cramer, D.V., Lewis, R.M. (1972)

Reticulocyte response in the cat

J. Am. Med. Assoc. 160, 61-67

Daniel, V. (1992)

Klinisch relevante Anwendungen der Durchflußzytometrie

GIT Labor Medizin 1-2, 27-34

Das, N.K., Sadhu, D.P. (1955)

Haematological studies in Indian goats

Proc. 42nd Ind. Sci. Congr. Asso. III, 347

Davies, D.T., Fisher, G.V. (1991)

The validation and application of the Technicon H*1 for the complete automated evaluation of laboratory animal haematology

Comp. Haemat. Int.1, 91-105

De Cresce, R. (1986)

The Technicon H*1. Fully automated complete blood count and differential analyser

Lab. Med. Vol. 17, Nr. 1, 17-21

Deutsches Institut für Normung e.V. (12/1996)

Bestimmung der Blutkörperchenkonzentration im Blut

(DIN 58932-1),

Devreese, K., De Logi E., Francart, C., Heyndrickx, B., Leuroux-Roels, J.P: und G. (1991)

Evaluation of the automated haematology analyser Sysmex NE 8000

Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Vol. 29, 339-345

D' Onofrio G., Zini, G., Vergine, C., Da Rina, G., Chirillo, R. (1997)

New Parameters for diagnosis and management of anemia

1st Intern. Bayer Diagnostics Central Laboratory Symposium 20-22.04.97, Rom

Dorr, L., Pearce, P.C., Shine, T., Hawkey, C.M. (1986)

Changes in red cell volume distribution frequency after acute blood loss in goats (*Capra hircus*)

Res. Veterin. Sci. 40, 322-327

Drayson, R.A., Hamilton, M.B. (1992)

A comparison of differential white cell counting on the coulter VCS and the Technicon H*1 using simple multiple regression analysis

Clin. Lab. Haemat. 14, 293-305

Dutcher, T.F. (1984)

Leucocyte differentials

Clin. Lab. Med. Vol. 4,Nr. 1, 71-87

Dutta, A., Sarmah, S., Rajkhowa, N. K. (1996)

Haematological and biochemical studies in sheep of Assam

Indian Vet. J. 73, 402-405

Eder, H. Fritsche, H. (1986)

Automatisation in der hämatologischen Diagnostik

Tierärztl. Praxis 14, 417-429

Edjtehadi, M. (1978)

Age-associated changes in the blood picture of goat

Zbl. Vet. Med. A 25, 198-206

Edward, A., Hudson, A., Osborne, J.C. (1954)

A note on certain blood values of adult sheep

Vet. Med. 49, 423-424

Egan, J.J., Benzel, J.E., Hart, D.J., Christopher, E.A. (1974)

Evaluation of an automated differential leukocyte counting system III. Detection of abnormal cells

Am. J. Clin. Pathol. 62, 537-544

Egeli, A.K., Framstad, T., Morberg, H., Tverdal, A. (1998)

Evaluation of piglet blood utilizing the Technicon H*1

Vet. Clin. Pathol. 27, 123-128

Fairley, N.M., Price, G.S., Meuten, D.J. (1988)

Evaluation of red blood cell fragility in Pygmy goats

Am. J. Vet. Res. Vol. 49, Nr. 9, 1598-1600

Falconer, G.J., Chapman, P.N. (1977)

An evaluation of five commonly used anticoagulants, in relation to the accuracy of haematological tests for bovine, ovine, equine and canine blood

New Zeal. Vet. J. 25, 86-89

Fiedler, H., Taube, C. (1971)

Thrombocytenzählung und Thrombelastographie bei einigen Versuchstieren

Z. Versuchstierk. Bd. 13, 32-37

Fortagne, M., Schäfer, M. (1989)

Hämatologische Parameter der Probstheider Kleinziege in Abhängigkeit von Gravidität und Laktation

Arch. exper. Vet. med. 43, 223-230

Fossat, C., David, M., Harle, J.R., Sainty, D., Horschowski, N., Verdot, J.J., Mongin, M. (1987)

New parameters in erythrocyte counting

Arch. Pathol. Lab. Med. 111, 1150-1154

Fraser, A.C. (1929/1930)

A study of the blood of cattle and sheep in health and disease

University of Cambridge, Institute of Pathology, Report of the Director, 114-204

Frost, E. (1968)

Zur Methodik der Thrombocytenzählung beim Hund

Vet. Med. Diss. Berlin

Fuchs, A., Eder, H. (1991)

Zahl und Reifegradverteilung der Retikulozyten von sechs Tierarten

J. Vet. Med. A. 38, 749-754

Galifi, M., Schinella, M., Nicoli, M., Lippi, G. (1993)

International reports and effects of anticoagulants in a cast of neutrophil agglutination in vitro

Haematologica 78, 364-370

Gautam, O.P. (1965)

Haematological norms in goats

Indian J. Vet. Sci. 35, 173-177

Gerloff, F. (1935)

Vergleichende Betrachtung über die Thrombozytenzählmethode von Fonio und Jürgens

Dtsch. Med. Wschr. 1557

Goldner, F.M., Mann, W.N. (1938)

The statistical error of the differential white count

Guy's Hospital Reports 88, 54-65

Goldston, R.T. Wilkes, R.D., Seybold, I.M. (1980)

The basic clinical pathology laboratory 3: Evaluation of the erythrocytes: hematocrit and hemoglobin determinations

Vet. Med./ Small Anim. Clin. 75, 407-410

Goossens, W., Duppen van V., Verwilghen R.L. (1991a)

K₂- or K₃-EDTA: the anticoagulant of choices in routine haematology?

Clin. Lab. Haematolog. 13, 281-295

Goossens, W., Hove van L., Verwilghen, R.C. (1991b)

Monocyte counting: Discrepancies on results obtained with different automated instruments
J. Clin. Pathol. 44, 224-227

Green, H.H., Atkinson, S.M., Carlos, B., Sobal, B. (1976)

Investigation studies of selected hematological parameters on fresh and mailed blood of six species of domestic animals

Can. Vet. J. 17, Nr. 8, 213-215

Greene, C. G., Prestwood, A. K., Clark, J. D., Adams, D.D. (1985)

Microtechnique for quantitative platelet isolation from blood enabling electronics counting and sizing of animal and human platelets

Am. J. Vet. Res. 46, Nr. 12, 2648-2653

Grommelt, P. (1999)

Automatische Blutzellzählung und Differenzierung mit dem Hämatologiesystem Technicon H*1 beim Rind

Vet. med. Diss. Gießen

Grunsell, C.S. (1955)

Seasonal variations in the blood and bone marrow of scottish hill sheep

J. Comp. Pathol. 65, 93-107

Gyllenswärd, C. (1929)

Some sources of error at differential count of white corpuscles in blood-stained smears

Acta pädia. 8, Suppl. 2, 1-81

Hackett, P.L., Gayler, D.W. (1957)

Blood constituents on Suffolk ewes and lamp

Am. J. Vet. Res. 18, 338-341

Hageltorn, M., Saad, M.A. (1986)

Flow cytometric characterization of bovine blood and milk leukocytes

Am. J. Vet. Res. 47, Nr.9, 2012-2016

Handagama, P., Feldman, B. Kono, B., Farver, T. (1986)

Mean platelet volume artifacts: the effect of anticoagulants and temperature on canine platelets

Vet. Clin. Pathol. 15, 13-17

Heilmeyer, L. (1931)

Blutfarbstoffwechselstudien

Dtsch. Arch. Klin. Med. 171, 123-132

Henn, H. (1953)

Erythrozyten und Leukozyten der Ziege

Vet. Med. Diss. Gießen

Holman, H. H. (1944)

Studies in the haematology of sheep: The blood –picture of healthy sheep

J. Comp. Pathol. 54, 26-40

Holman, H. H. (1963)

The blood picture of the goat. I. The 2-year-old female goat

Res. Veterin. Sci. 4, 121-130

Holman, H. H., Dew, S. M. (1965)

The blood picture of the goat. IV. Changes in coagulation times, platelet counts and leucocyte numbers, associated with age

Res. Veterin. Sci. 6, 510-521

Hüby, H. (1982)

Die Untersuchung des Differentialblutbildes und der Retikulozytenzahl beim Rind mit gebrauchsfertigen, farbbeschichteten Objektträgern (Testsimplets^(R))

Vet. Med. Diss. Gießen

Hyun, B.H., Gulati, G.L., Ashton, J.K. (1991)

Differential leucocyte count: manual or automated, what should it be?

Yonsei Med. J. Vol. 32, Nr. 4, 283-29

I Bud, M. (1990)

Heparin blood is unsuitable for H*1

Europ. J. Haematol. 45 Suppl. 53, 63

ICSH (1994)

Guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting and cell marker applications

Clin. lab. Haemat. 16, 157-174

ICSH (1996)

Recommandations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995) and specifications for international haemoglobinocyanide standard (4 th edition)

J. Clin. Pathol. 49, 271-274

Igbokwe, I.O., Mohammed, A. (1991)

The reticulocyte response to the anaemia in goats caused by experimental trypanosoma brucei infection

Vet. Res. Commun. 15, 373-377

Jain, N.C. (1986)

Schalm's Veterinary Hematology, 4th Ed.

Lea u. Febinger, Philadelphia

Jain, N.C., Paape, M.J., Miller, R.H. (1991)

Use of flow cytometry for determination of differential leucocyte counts in bovine blood

Am. J. Vet. Res. 52, Nr. 4, 630-636

Jelinek, P., Fraisz, Z. (1986)

Dynamik hämatologischer Grundwerte bei Mutterschafen im Laufe des Jahres

Vet. Med. 31, 359-370

Josland, S.W. (1933)

A study of the blood of healthy sheep and cattle in New Zealand

New Zeal. J. Sci. Technol. 14, 298-308

Kershaw, G.W., Robin, H., Kronenberg, H. (1987)

Evaluation of the Technicon H*1 hematology analyser

Pathology 19, 305-309

King, M.E., Mifsud, C.V.J. (1981)

Postnatal changes in erythrocyte 2,3 –diphosphoglycerate in sheep and cattle

Res. Veterin. Sci. 31, 37-39

Kojima, K., Niri, M., Setoguchi, K., Tsuda, I., Tatsumi, N. (1989)

An automated optoelectronic reticulocyte counter

Am. J. Clin. Pathol.

Kosanke, W., Schneider, W. (1991)

Blutbild Atlas

Bayer Diagnostics, München

Kosanke, W. (1999)

Laserstreulicht und Peroxidase-Färbung als Grundlage zur Erstellung der Blutbildes und der Retikulozytenanalytik

45. Jahrestagung der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG vom 07.-10.10.1999 in Gießen, Vortragszusammenfassung

Kraft, W. (1971)

Hämatokritbestimmung mit der Mikromethode bei Pferd, Schwein, Hund und Katze

Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 325-327

Kraft, W. (1973)

Praxisnahe Laboruntersuchungen (2). Der Blutstatus

Tierärztl. Praxis 1, 233-236

Kraft, W., Dürr, U. (1997)

Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin

F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft, Stuttgart und New York

Krause, J.R. (1990)

Automated differentials in the hematology laboratory

Am. J. Clin. Pathol. Nr. 4, Suppl. 1, 11-16

Lavin, S., Mora, F.J., Monreal, L., Vinas, L. (1991)

Evaluation of a haematological analyser for its use in canine clinical pathology

J. Vet. Med. A 38, 702-709

Lehrmann, H.G. (1959)

Blutstatus, Serumchloridbestimmung und Mikroelektrophorese bei der Ziege

Vet. Med. Diss. Hannover

Lewis, J. H. (1976 a)

Comparative hematology: mammalian platelets

Intern. Symposium of Blood Platelets, Istanbul, 24-27.8.1974, 18-23

Lewis, J. H. (1976 b)

Comparative Hematology: Studies on goats

Am. J. Vet. Res. 37, 601-607

Lewis, S. M. (1981)

Automated differential leucocyte counting: present status and future trends

Blut 43, 1-6

Lippi, U., Schinella, M., Nicoli, M., Modena, N., Lippi, G. (1990)

EDTA-induced platelet aggregation can be avoided by a new anticoagulant also suitable for automated complete blood count

Haematologica, 75, 38-41

Macey, M. G., Carty, E., Webb, L., Chapman, E.S., Zelmanovic, D., Okrongly, D.,

Rampton, D.S., Newland, A.C. (1999)

Use of mean platelet component to measure platelet activation on the ADVIA 120

Haematology System

Comm. Clin. Cytometry 38: 250-255

Maxie, M. G. (1977)

Evaluation of techniques for counting bovine platelets

Can. J. Comp. Med. 41:409-415

Mbassa, G.K., Poulsen, J.S.D. (1991)

Comparison between a modified haemocytometric technique and electronic counters in goat blood cell counting

J. Vet. Med. A 38, 350-356

Megla, G.K. (1973)

The LARC automatic white blood cell analyzer

Acta Cytologica 17, 3-14

Megla, G.K. (1975)

Ein System zur Automatisierung des Differential-Blutbildes

Biomedizinische Technik 20, 108-113

Melamed, M.R., Adams, L. R., Zimring, A., Murnick, J.G., Mayer, K. (1972)

Preliminary evaluation of acridine orange as a vital stain for automated differential leukocyte counts

Am. J. Clin. Pathol. Vol. 57,95-102

Miers, M.K., Exton, M.G., Hurlbut, T.A., Cousar, J.B. (1991)

White blood cell differentials as performed by the Technicon H*1: Evaluation and implementation in a tertiary care hospital

Lab. Med. 22, 99-106

Mischke, R., Deniz, A., Weiss, J. (1995)

Untersuchung zur automatischen Zellzählung aus Katzenblut

Dtsch. tierärztl. Wschr. 102, 435-440

Mócsy, J. (1960)

Lehrbuch der klinischen Diagnostik der inneren Krankheiten der Haustiere

Gustav Fischer Verlag, Jena

Mohandas, N., Kim, Y.R., Tycko, D.H., Orlik, J., Wyatt, J., Groner, W. (1986)

Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering

Blood 68, 506-513

Moritz, A., Gellert, A., Fickenscher, Y., Holsteg, M., Meyer, K., Püsch, M. (1999)

Automatische Retikulozytenzählung.

45. Jahrestagung der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG vom 07.-10.10.1999 in Gießen, Vortragszusammenfassung

Müschenich, M. (1984)

Untersuchung der Retikulozyten und des roten Blutbildes des Schafes bei experimenteller chronischer Anämie unterschiedlichen Grades

Vet. Med. Diss. Gießen

NCCLS (1984)

Leucocyte differential counting, tentative standard H 20-T

NCCLS, Villanova, PA., 257-312

Nelson, L., Charache, S., Wingfield, S., Keyser, E. (1989)

Laboratory evaluation of differential white blood cell count information from the Coulter S-Plus IV and Technicon H*1 in patient populations requiring rapid "turnaround" time

Am. J. Clin. Pathol. 91, 563-569

Niepage, H. (1974)

Über die Brauchbarkeit des mittleren Volumens (MCV), des mittleren Hämoglobingehaltes (MCH) und der mittleren Hämoglobinkonzentration (MCHC) der roten Blutkörperchen zur Kennzeichnung von Erythrozytenpopulationen beim Hund

Zbl. Vet. Med, A 21,173-187

Nolte, I. (1980)

Direkte und kombinierte licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von isolierten Leukozyten des Schafes

Vet. Med. Diss. Gießen

Nolte, I., Ammelounx, U. (1984)

Untersuchungen zur Verwendbarkeit verschiedener Verdünnungsflüssigkeiten für die direkte, visuelle Thrombozytenzählung beim Hund im Vergleich mit einem automatischen Zählgerät
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 97, 5-7

Norris, J.H., Chamberlin, W.E. (1929)

A chemical and histological investigation in Victoria of the blood of cattle and sheep
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 6, 285-300

Overäs, J. (1969)

Studies on Eperythrozoon ovis-infection in sheep
Acta Vet. Scan. Suppl. 28, 67-79

Pernthaner, A., Baumgartner, W., Jahn, J., Plautz, W., Angel, T. (1993)

Untersuchungen über hämatologische Parameter, Konzentrationen von Mineralstoffen und Stoffwechselprodukten sowie Aktivitäten von Enzymen bei Schafen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 106, 73-79

Pierre, R.V. (1985)

The routine differential leukocyte count vs automated differential count
Blood cells 11, 11-23

Plautz, W. (1990)

Verlaufsuntersuchungen über Blutparameter bei Schafen und Ziegen in Niederösterreich
Vet. Med. Diss. Wien

Plonait, H. (1980)

Labordiagnostik für die tierärztliche Praxis
P. Parey Verlag, Berlin und Hamburg

Plum, P. (1936)

Accuracy of haematological counting methods

Acta Med. Scan. XC, 342-364

Pospišil, J., Kaše, F., Váhala, J. (1987)

Basic haematological values in the Cameroon goat

Comp. Biochem. Physiol. 88 A, 451-454

Pyne, A.K., Duttagupta, R., Maitra, D.N. (1982)

Physiological studies on blood of goats

Indian Vet. J. 59, 597-599

Ranitovič, M. (1926)

Das normale Blutbild der Ziege

Wien. Tierärztl. Mschr, 44-45

Reda, H., Hathout, A. F. (1957)

The haematological examination of the blood of normal sheep

Br. Vet. J. 251-254

Rosier, H., Vaupel, H.A., Körber, W., Savic, J., Keller, R. (1993)

Erfahrungen mit dem Cell-Dyn 3000, ein Gerät zur mechanisierten Erstellung des roten und weißen Blutbilds

Lab. med. 17, 47-57

Rosvoll, R.V., Mengason, A.P., Smith, L., Pantel H.J., Maynard, J., Connor, F. (1979)

Vitual and automated differential leukocyte counts

Am. J. Clin. Pathol. 6, 695-703

Roy, A., Sahni, K.L., Datta, I. C. (1965)

Studies on certain aspects of sheep and goat husbandry

Indian J. vet. Sci. Anim. Husb. 35,24-32

Rümke, C.L. (1979)

The statistically expected variability in differential leucocyte counting

In Koepke, J.A. (Ed.) Differential Leucocyte Counting, College of American Pathologists:
Skokie, IL, 40-45

Saad, A.M., Hageltorn, M. (1985)

Flow cytometric characterization of bovine blood neutrophil phagocytosis of fluorescent
bacteria and zymosan particles

Acta vet. scand., 26, 289-307

Sanderson, J.H., Phillips, C.E. (1981)

An atlas of laboratory animal haematology (sheep)

Clarendon Press Oxford, 352-355

Scarborough, R. A. (1932)

The blood of normal laboratory animals: cattle, sheep and goats

Yale Journal of Biology and Medicine, 4, 69-82

Schalm, O.W. (1980)

Clinical significance of the morphologic classification of erythrocyte populations

Canine Practice Vol. 7, Nr.1, 59-63

Schmitz, F.J., Werner, R., Kaltwasser, J.P. (1985)

Automated counting of reticulocytes by means of flow cytometry

Blut 51, 204

Schnappauf, H., Stein, H.B., Sipe, C.R., Cronkite, E.P. (1967)

Erythropoietic response in calves following blood loss

Am. J. Vet. Res. 28, 275-278

Schönherr, W. (1961)

Die Bestimmung der Thrombozytenzahlen pro ccm Blut beim Schaf mit Hilfe der Danilinschen Zählmethode und des Phasenkontrastverfahrens

Vet. Med. Diss. Leipzig

Schoentag, R. A. (1988)

Hematology analyzers

Clin. Lab. Med. 8, 653-673

Seegers, M. (1997)

Einsatzfähigkeit des Technicon H*1 in der hämatologischen Diagnostik beim Pferd

Vet. Med. Diss. Gießen

Seyfarth, C. (1927)

Experimentelle und klinische Untersuchung über die vitalfärbbaren Erythrozyten

Folia Haemat. 34, 7-38

Sharma, D.P., Malik, P.D., Sapra, K.L. (1973)

Age-wise and species-wise haematological studies in farm animals

Indian J. Anim. Sci. 43, Nr. 4, 289-295

Sherman, D.M., Robinson, R. A. (1983)

Clinical examination of sheep and goats

Large Animal Practice 5, 409-426

Smith, H.E., Jacobs, R.M., Smith, C. (1994)

Flow cytometric analysis of ovine peripheral blood lymphocytes

Can. J. Vet. Res. 58, 152-155

Späth, H., Weber, C. (1992)

Prüfung eines für die Humanmedizin entwickelten Hämatologie-Analysesystems auf Anwendbarkeit in der Veterinärmedizin

Prakt. Tierarzt 11, 1037-1040

Steel, E. G. (1974)

Evaluation of electronic blood platelet counting in sheep and cattle

Am. J. Vet. Res. 35, 1465-1467

Stiene-Martin, E.A. (1980)

Causes for poor leukocyte distribution in manual spreader-slide blood films

Am. J. Med. Techn. 46, 624-632

Stöber, M., Heubner, D. (1967)

Beitrag zur Untersuchung der Lymphozyten im Blutaussstrich vom Rind

Zbl. Vet. Med. A 14, 554-569

Stølsnes, B., Skare E.V., Taverner, P., Ommundsen, T., Sandberg, S. (1990)

A comparison of the differential white blood cell count using the Technicon H*1, the Technicon H 6000 and the Coulter VCS

Eur. J. Haematol. 45 Suppl. 53, 38-40

Suchfort, C. (1998)

Die automatisierte Blutzellzählung und –differenzierung mit dem Technicon H*1 bei der Katze unter Berücksichtigung der Thrombozyten und der Erythrozytenmorphologie bei Anämien

Vet. Med. Diss. Gießen

Swaim, W.R. (1991)

Laboratory and clinical evaluation of white blood cell differential counts

Am. J. Clin. Pathol. 95, 381-388

Thiagarajan, R., Govinda Rao, R. (1993b)

Interrelationship of 2,3-Diphosphoglycerate, Glutathione and Haemoglobin types in Madras red sheep

Indian Vet. J. 70, 653-656

Thoma, K. (1950)

Über der Nachweis von Ribonucleinsäuren in Erythrocyten

Klin. Wschr. 28, 215-216

Thomas, L., Müller, T., Rodrian, J. (1989)

Vergleich der Bestimmung von Leukocytenpopulationen am Technicon H*1 mit der mikroskopischen Differenzierung

Lab. med. 13, 213-219

Thorell, C.B. (1963)

Automatic counting of red and white cells in animal blood

Nord. Vet. Med. 15, 12-17

TOA Medical Electronics, (1989)

Bedienungsanleitung Sysmex F 800

Todd, A.C., Wyant, Z.N., Stone, W.M., Elan, G.W. (1952)

On the blood picture of healthy Southdown and Hampshire ewes

Am. J. Vet. Res. 13, 74-76

Thompson, C.G., Diaz, D.D., Quinn, P.G., Lapins, M., Kurtz, S.R., Valeri, C.R. (1983)

The role of anticoagulation in the measurement of platelet volumes

Am. J. Clin. Pathol. 9, 327-332

Tvedten, H.W., Wilkins, R.J. (1988)

Automated blood cell counting systems: a comparison of the Coulter S-Plus IV, Ortho ELT-8/DS, Ortho ELT-8/WS, Technicon H*1 and Sysmex E-5000

Vet. Clin. Pathol. 17, 47-54

Tvedten, H. (1993)

Advanced hematology analyzers interpretation of results

Vet. Clin. Pathol. 22, 72-80

Tvedten, H., Haines, C. (1994)

Canine automated differential leukocyte count: study using a hematology analyzer system

Vet. Clin. Pathol. 23, 90-96

Tvedten, H., Korcal, D. (1996)

Automated differential leukocyte count in horses, cattle, and cats using the Technicon H-1E Hematology System

Vet. Clin. Pathol. 25, 14-22

Ullrey, D.E., Miller, E.R., Long, C.H., Vincent, B. H. (1965)

Sheep haematology from birth to maturity: 1. Erythrocyte population, size and hemoglobin concentration

J. Anim. Sci. 24, 135-140

Urmston, A., Hyde, K., Gowenlock, A.H., Maciver, J. E. (1980)

Evaluation of the Hematrak differential leucocyte counter

Clin. lab. Haemat. 2, 199-214

Vrzgula, L., Seidel, H., Gardáš, J. (1985)

Yearly dynamics of haematological and biochemical indices in the blood serum of goats

Folia Vet. 29, 53-69

Watson, J.S., Davis, R.A. (1987)

Evaluation of the Technicon H*1 hematology system

Lab. Med. 18, 316-322

Weaver, A. D. (1974)

Haematological and plasma biochemical parameters in adult male sheep

Zbl. Vet. Med. A 21, 1-7

Weber, R. (1992)

Meßprinzipien in der Hämatologie

mta Extra 16, 4-24

Weiser, M. G. (1981)

Hematologic techniques

Vet. Clin. North. Am. Small Animal Practice 11, 189-208

Weiser, M. G. (1983)

Comparison of two automated multi-channel blood cell counting systems for analysis of blood of common domestic animals

Vet. Clin. Pathol. 12, 25-32

Weiser, M. G. (1987)

Modification and evaluation of a multichannel blood cell counting system for blood analysis in veterinary hematology

J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 411-415

Wejbora, P. M. (1992)

Mechanisierung des Differentialblutbildes

GIT Labor Medizin Nr. 9, 319-324

Wels, A. (1958)

Durchmesserbestimmungen an Haustiererythrozyten im Plasma und im Ausstrich

Blut 4, 250-253

Wenz, B., Ramirez, M.A., Edwards, R., Burns, E. R. (1987)

The H*1 hematology analyzer

Arch. Pathol. Lab. Med. 111, 521-524

Wilding, P., Leboy, E. L. (1985)

Use of pattern recognition technology for determination of the human differential leukocyte count- Blood cells 11, 187-201

Wilkins, J.H., Hodges, R. R. D. H. (1962)

Observation on normal goat blood

J. Roy. Arm. Vet. Corps. 33, 7-10

Willard, M.D., Tvedten, H., Turnwald, G.H. (1989)

Small animal clinical diagnosis by laboratory methodes

W.B. Saunder Company, Philadelphia

Williams, L. J. (1984)

Cell histograms: New trends in data interpretation and cell classification

J. Med. Technol. 1:3, 189-197

Wirth, D. (1934)

Studien zur artspezifischen Reaktion der hämatopoetischen Organsysteme

Folia Haemat. 51, 242-250

Wirth, D. (1950)

Grundlagen der klinischen Hämatologie der Haustiere

Urban u. Schwarzenberg Wien, 2. Aufl.

Ziegler, A. (1997)

Die automatische Blutzelldifferenzierung mit den Hämatologiesystemen Microx 70 und Technicon H*1 beim Hund.

Vet. Med. Diss. Gießen

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Professor Dr. K. Doll danke ich für die Überlassung des Themas und Unterstützung bei der Durchführung der Dissertation.

Mein Dank gilt besonders Herrn P.D. Dr. A. Moritz für die gute fachliche Betreuung und Unterstützung bei Planung und Durchführung der Arbeit. Insbesondere auch bei der Hilfestellung von Problemen und Unterstützung bei der Abfassung der Dissertation.

Meinen herzlichen Dank auch an Herrn Dr. Failing und Herrn Heiter sowie das Team der Arbeitsgruppe Biomathematik für die Unterstützung und Betreuung der statistischen Belange dieser Arbeit und die Hilfe bei der Einführung in PlotIt 2.0. Denn ohne deren tatkräftige Hilfe wäre diese Dissertation nicht zu realisieren gewesen.

Weiterhin möchte ich mich bei den Laborteams der Klinik für Wiederkäuer u. Schweine (Innere Medizin u. Chirurgie) und der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik der Kleintiere, Innere Medizin und klinische Labordiagnostik, insbesondere aber bei Frau Neeb-Sonntag und Frau Klein sowie Frau Bartkowiec und Frau Dapper bedanken, die bei der Durchführung von Laborangelegenheiten stets mit wertvollen Tips zur Seite standen.

Vielen Dank auch an Herrn Lange vom Ziegenzüchterverband für die Vermittlung der Adressen von Ziegenzüchtern und -haltern und besonders an alle Ziegenbesitzer, die ihre Tiere für diese Arbeit zur Verfügung gestellt haben.

Danken möchte ich auch meinen Mitdoktoranden: Angelika Gellert, Natalie Bauer, Mark Holsteg, Karin Meyer und Yvonne Fickenschner, den Mitarbeitern der Fa. Bayer Diagnostics und allen Studenten, die mir bei der Blutentnahme der Tiere behilflich waren.

Mein Dank gilt ebenfalls den Teams des Oberen Hardthofes, der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz, der Physiologie und nicht zuletzt der Klinik für Wiederkäuer u. Schweine (Innere Medizin u. Chirurgie), die mir die Schafe sowie ihre Arbeitskraft zur Verfügung gestellt haben.

Schließlich möchte ich noch meiner Familie für die geleistete Hilfe und die nicht unerhebliche finanzielle Unterstützung bedanken.