

Neu formatierte und überarbeitete ASVCP Qualitätskontrollrichtlinien

Prinzipien der Qualitätssicherung und Qualitätsstandards für die veterinärmedizinische Labordiagnostik

Inhaltsverzeichnis

- 1. Wichtige präanalytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik**
 - 1.1. Allgemeines, einschließlich Hämatologie, Endokrinologie, Blutchemie und Serologie
 - 1.2. Manuelle Untersuchung der Hämatologie von Nicht-Säugetieren
 - 1.3. Urinuntersuchung
 - 1.4. Zytologie/Mikrobiologie
 - 1.5. Blutgerinnungstests
 - 1.6. Kreuztest
 - 1.7. Radioimmunoassay (RIA) – kein Eintrag

- 2. Wichtige analytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik**
 - 2.1. Allgemeines
 - 2.1.1. Überwachung
 - 2.1.2. Überprüfung von Testverfahren
 - 2.1.3. Geräteausstattung
 - 2.1.4. Fachwissen
 - 2.1.5. Qualitätskontrolle
 - 2.1.6. Leitfaden für Testverfahren
 - 2.1.7. Vergleich von Testergebnissen
 - 2.1.8. *Identifizierung von ausgelagerten Tests [missing in the English original]*
 - 2.2. Klinische Blutchemie
 - 2.3. Hämatologie
 - 2.4. Manuelle Untersuchung der Hämatologie von Nicht-Säugetieren
 - 2.5. Harnuntersuchung
 - 2.6. Zytologie
 - 2.7. Blutgerinnung
 - 2.8. Kreuztest
 - 2.9. Radioimmunoassay (RIA)

- 3. Wichtige postanalytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik**

1. Wichtige präanalytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik

1.1. Allgemeines, einschließlich Hämatologie, Endokrinologie, Blutchemie und Serologie

1.1.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Informationen bezüglich Probenanforderungen, korrekte Probenentnahme, Verarbeitung, sowie Liefer- oder Versandverfahren sollten dem Kunden in elektronischer Form, als gedruckte Informationen (z.B. Laborservicebroschüre, Spezialinformationsblätter, Zeitschriften- oder Zeitungsartikel) oder in Form von persönlicher Telefonberatung zur Verfügung stehen. Proben müssen entsprechend anerkannter Standards entnommen werden. Die Bedienungsanleitungen von Geräteherstellern enthalten detaillierte Beschreibungen geeigneter Proben, einschließlich Probenbehälter und Bedingungen der Probenverarbeitung. Die Bedingungen für die Einsendung von Proben sollten Kunden von jedem Labor zur Verfügung gestellt werden. Die Proben müssen sorgfältig behandelt und zügig zum Labor transportiert werden, wobei die jeweiligen Bedingungen für die jeweilige Probe sowie deren Stabilität berücksichtigt werden müssen. Die Art der Probe (z.B. Blut, Serum, Plasma, Harn) muss ganz klar auf dem Probenetikett angegeben werden. Abweichungen von vorgegebenen Anweisungen können den jeweiligen Test nachteilig beeinflussen. Hersteller sollten für Details kontaktiert werden.

a. Hämatologie:

- i. In der Klinik angefertigte Blutausstriche sollten nicht gekühlt werden und müssen während des Transports zum Labor vor Kondensation und Eis geschützt werden.
- ii. Makroskopisch sichtbare Gerinnsel in antikoagulierten Proben für die Hämatologie können zu unterschiedlich fehlerhaften Ergebnissen führen. In diesem Falle sollte die Klinik schriftlich oder telefonisch durch das Labor informiert werden. Da der Grad der Ungenauigkeit nicht vorhergesagt werden kann, werden Proben mit Gerinnseln als ungeeignet für die Analyse eingeschätzt und es wird empfohlen, derartige Proben nicht zu analysieren. Falls fragwürdige oder qualitativ minderwertige Proben analysiert werden, sollten derartige Abweichungen schriftlich im Labor dokumentiert werden. Zusätzlich sollten jegliche Bemerkungen über ungenaue Ergebnisse für den Kliniker leicht sichtbar auf dem Bericht zu sehen sein und klar beschreiben, dass diese Ergebnisse möglicherweise ungenau und irreführend sein können.

1.1.2. **Probenidentifikation.** Proben sollten aufgrund der ihnen zugehörigen Informationen vom Labor identifiziert werden können. Diese Informationen beinhalten Angaben zu dem Tierbesitzer, Tierart, Signalement, Name der Klinik oder des Tierarztes,

Anschrift, Telefon- oder Faxnummern, Email-Adresse, Ort der Probenentnahme etc. Die Beschriftungen sollten auf dem Probenantrag und -behälter angebracht werden und unmissverständlich einem Tier zugeordnet werden können.

- 1.1.3. **Testidentifizierung.** Die beantragten Tests sollten deutlich auf dem Antragsformular markiert oder aufgeführt werden.
- 1.1.4. **Probenannahme.** Probeninformation, -identifikation und beantragter Test sollten korrekt in das Laborinformationssystem (LIS) eingegeben werden. In das LIS eingegebene Informationen können dazu verwendet werden, die Probe zu lokalisieren bzw deren korrekte Lagerung zu überprüfen, z.B. Immunologie- im Gegensatz zur Hämatologie-Abteilung, oder im gefrorenen oder gekühlten Zustand. Die Probenaufteilung in die entsprechenden Abteilungen innerhalb des Labors oder zwischen verschiedenen Abteilungen sollte koordiniert ablaufen. Jede Art von Qualitätsproblem mit der Probe, ein- aber nicht ausschließlich Hämolyse, Lipämie, Gelierung der Probe oder analytische Probleme sollten notiert und an den Kunden sowie das Laborpersonal weitergegeben werden. Wenn die herabgesetzte Probenqualität das Ergebnis des Tests deutlich beeinträchtigen würde, sollte der Test mit dieser fragwürdigen Probe nicht durchgeführt werden und/oder die Ergebnisse sollten dem Einsender nicht berichtet werden. Die Ursachen für Probleme mit den dokumentierten oder nicht berichteten Proben sollten dem Kunden kommuniziert werden und möglichst eine neue Probe entnommen werden.
- 1.1.5. **Kundenkommunikation und Informationsvermittlung.** Kommunikation zwischen dem Laborpersonal und internen sowie externen Kunden in Bezug auf präanalytische Faktoren, die die Laboranalyse beeinflussen, sollte zeitnah und höflich erfolgen (z.B. unvollständiges Antragsformular, ungeeignete Probe oder Probenverarbeitung, schlechte Probenqualität). Kunden sollten über den Zeitpunkt der vorläufigen sowie endgültigen Berichterstattung informiert werden. Im gleichen Sinne sollte die Rückmeldung vom Kunden zum Labor ermutigt werden. Jede Art von verbalen oder schriftlichen Beschwerden/ Rückmeldungen/ Vorschlägen sollte schriftlich festgehalten und an die zuständige Person des Labormanagements weitergeleitet werden. Laborbesprechungen usw. müssen dokumentiert werden. Um korrigierende Maßnahmen nach Beschwerden etc in einem sinnvollen zeitlichen sowie koordinierten Rahmen durchzuführen, ist die Etablierung geeigneter Standardarbeitsanweisungen sinnvoll.

- 1.1.6. **Personalsicherheit.** Die Arbeitsbedingungen sollten angenehm und geeignet sein für Computereinträge, Datenübertragung, Probenverarbeitung, Probenentsorgung und alle anderen Aufgaben. Sich wiederholende Arbeitsabläufe sollten mit besonderer Betrachtung berücksichtigt werden. Persönliche Schutzausrüstung sollte angemessen sein für die Verarbeitung von Proben sowie die Bedienung von Geräten in allen Bereichen des klinischen Labors. Sicherheitsmaßnahmen für die Entsorgung von Proben, Abfall und anderes Zubehör sollten für unterschiedliche Materialien angegeben werden. Das Personal sollte in Sicherheit und biologischer Gefährdung bezüglich gefährlicher Chemikalien oder infektiöser Pathogene, die in biologischen Materialien vorhanden sein können unterwiesen werden. Informationsmaterial über Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheitstraining sollten für das Personal leicht zugänglich aufbewahrt werden. Das Training sollte Grundprinzipien zur Vermeidung von bakterieller Kontaminationen und Informationen über zoonotische Erkrankungen beinhalten. Jede Art von Training sollte dokumentiert werden.
- 1.1.7. **Laborumgebung.** Die Laborumgebung sollte den Standardanforderungen an eine sichere, schnelle, ergiebige und effektive Arbeitsdurchführung entsprechen. Der Arbeitsplatz sollte gut beleuchtet und organisiert sein, um Effektivität und Sicherheit zu unterstützen. Die Ausrüstung und Geräte sollten auf den Arbeitsablauf ausgerichtet sein. Die Arbeitsanleitungen sollten auf dem neusten Stand und bei Bedarf leicht zugänglich sein. Die Laboreinrichtungen und der Laborbetrieb sollten den staatlichen Richtlinien entsprechen.
- 1.1.8. **Ansprüche an das Personal.** Das Laborpersonal sollte den Trainingsanforderungen für die Spezialgebiete des Labors entsprechen. Training, Fortbildung und wiederholte Zertifizierung für spezialisierte Aufgaben sollten regelmäßig angeordnet und dokumentiert werden. Das Labor sollte eine angemessene Zahl an Arbeitskräften einstellen, um das Arbeitsaufkommen bewältigen zu können.
- 1.1.9. **Laborinformations System (LIS).** Laborinformationssysteme bezwecken die Verbesserung von Arbeitsabläufen und der Effizienz des Labors. Bevor ein LIS eingerichtet wird, sollte es eingehend geprüft werden und seine Fähigkeit zur genauen Berichtsführung verifiziert werden. Ineffiziente und unhandliche LIS sollten je nach Bedarf des Labors auf den neusten Stand gebracht oder verbessert werden. LIS sollten allen staatlichen Richtlinien für medizinische **Laborbefunde** entsprechen. Probleme beim Zugriff auf Proben oder Archivierung sollten sofort korrigiert werden.

1.1.10. **Außer-Haus-Tests.** Kunden sollten über diejenigen Tests, die von anderen Labors durchgeführt werden, unterrichtet werden.

1.2. **Manuelle Untersuchung der Hämatologie von Nicht-Säugetieren**

1.2.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Akzeptable Transportzeiten für Blutproben von Vögeln sind kürzer als für Blutproben von Säugetieren oder Reptilien. Kontrollierte Studien haben gezeigt, dass gekühlte Blutproben von Vögeln unabhängig vom Antikoagulans innerhalb von zwölf Stunden abgebaut werden (Harr et al 2005). Akzeptable Transportzeiten für Blutausstriche von Vögeln und Reptilien sind ähnlich wie von Säugetieren. Leukozyten/Thrombozytenaggregate, welche in der Zählkammer auffallen, sollten dokumentiert werden, um verfälschte absolute Leukozytenzahlen sowie Prozentsätze im Differentialblutbild zu vermeiden. Blutproben von Haifischarten sollten innerhalb von 5 Stunden verarbeitet werden (Arnold 2005). EDTA (7,5% oder 1-2 mg/ml Blut) eignet sich für die meisten Tierarten, jedoch nicht für alle. Blutproben von Rochen, einigen Knochenfischen und einigen Vogelarten reagieren in kommerziell produzierten EDTA Behältern untypisch. Blutproben von Knorpelfischen (Haie und Rochen) sollten aufgrund der hohen Plasma-Osmolalität (≈ 1000 mmol/kg) mit einem pulverisierten Antikoagulans vermischt werden. Flüssige Antikoagulantien können der Osmolalität entsprechend angepasst werden.

1.2.2. **Ansprüche an das Personal.** Das Laborpersonal sollte bezüglich Probenbehandlung und -vorbereitung für exotische Tierarten speziell trainiert werden. Das Training sollte Grundprinzipien der Vermeidung von bakterieller Kontamination und Unterweisung über zoonotische Krankheiten einschliesslich Chlamydophila, West Nile Virus, Salmonellen, Vogelgrippe und Giardien beinhalten. Dokumentation des Trainings, Fortbildungen und periodische Leistungsbeurteilung sollte nach Ermessen des Laborleiters durchgeführt und überwacht werden.

1.3. **Harnuntersuchung**

1.3.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Die Identifikation der Methode der Harnentnahme ist wichtig für die qualitative und quantitative Interpretation von möglichen Verunreinigungen einschließlic Blut und Bakterien. Der Einsender sollte die Methode der Harnprobenentnahme deutlich angeben, zum Beispiel Spontanharn (früher oder später Mittelstrahl), Katheterisierung, Zystozentese, oder vom Boden des Käfigs stammender Harn. Klare Harnprobenbehälter können verwendet werden, um die visuelle Untersuchung des Harns zu erleichtern, falls der Harn innerhalb von 30 Minuten untersucht wird.

Allerdings sollte bei Verzögerung der Urinuntersuchung die Urinprobe vor UV-Licht geschützt werden, um den Abbau von Harninhaltsstoffen (z.B. Bilirubin) zu vermeiden. Die Deckel sollten sicher schließen, um die Verdunstung und/oder Verflüchtigung von Harninhaltsstoffen zu vermeiden (z.B. Ketone).

- 1.3.2. **Lagerung von Harnproben.** Harn sollte idealerweise innerhalb von 30 Minuten untersucht werden. Falls eine sofortige Untersuchung nicht möglich ist, sollte die Harnprobe bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt werden, um Veränderungen der physikalischen und chemischen Zusammensetzung zu minimieren und bakterielles Wachstum zu verhindern. Strikte Empfehlungen für die Dauer der Kühlung von Harn können nicht vorgegeben werden, da diese von entsprechenden Harninhaltsstoffen abhängen (Rabinovitch 2009). Eine maximale Lagerung von 24 Stunden wird allgemein empfohlen (Osborne schlägt vorsichtigerweise 6 bis 8 Stunden vor), jedoch kann Harn in Abhängigkeit von seiner anfänglichen Zusammensetzung für kürzere oder längere Zeit stabil sein. Besonders instabile chemische Komponenten sind Bilirubin und Glukose, sowie pH-Wert in Gegenwart von Bakterien (Rabinovitch 2009; Osborne 1999). Die Stabilität von geformten Bestandteilen ist vom pH des Urins und seiner Konzentration abhängig. Harnkristalle können sich während der Lagerung bei Raum- oder Kühlschranktemperatur *in vitro* bilden (Albasan 2003; Sturgess 2001). Wenn Kristallurie klinisch vermutet wird, sollte eine frisch entnommene Harnprobe direkt untersucht werden. Gekühlte Harnproben sollten vor der Untersuchung auf Raumtemperatur aufgewärmt werden. Da die Ergebnisse der Urinuntersuchung von Lagerdauer und -temperatur beeinflusst werden können, sollte der Zeitpunkt der Probenentnahme, die Ankunftszeit im Labor und die Lagermethode notiert werden. Alternative Konservierungsmethoden sind für die Stabilisierung harnchemischer Parameter, zur Verhinderung von bakteriellem Wachstum und zur Konservierung von geformten Bestandteilen verfügbar. Die Anweisungen der Hersteller bezüglich des beabsichtigten Gebrauchs eines bestimmten Konservierungsmittels und dessen Lagerdauer sollten befolgt werden.
- 1.3.3. **Harnkultur.** Quantitative mikrobiologische Kulturtechniken werden bei signifikanter Bakteriurie empfohlen. Durch Zytozentese gewonnene Harnproben werden bevorzugt, jedoch sind angemessen entnommene Katheterproben und Spontanharnproben akzeptabel, wenn quantitative Kulturmethoden angewendet werden. Harn sollte vor der eigentlichen Untersuchung zuerst für die Bakteriologie eingereicht werden, um die Verunreinigung der Probe zu vermeiden. Alternativ kann ein steriler Anteil der Probe für eine mögliche bakteriologische Untersuchung beiseite gelegt werden. 6 Stunden bis 24 Stunden lang gekühlte Harnproben sind für

die Bakteriologie akzeptabel. Die Kühlung von Urinproben über 24 Stunden kann zu falsch negativen Kulturergebnissen führen (Padilla 1981). Wenn bakteriostatische Transportmedien verwendet werden, müssen die Harnproben nicht gekühlt werden.

1.4. Zytologie/Mikrobiologie

- 1.4.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Informationen bezüglich zytologischer und mikrobiologischer Einsendungen sollte jedem Kunden in Form von einer Laborservicebroschüre, Informationsblättern, Zeitschriftenartikeln, gedruckten Materialien oder mündlichen Anweisungen zur Verfügung gestellt werden. Je nach Relevanz sollten Anweisungen zu Themen wie Methoden der Probenentnahme, geeignete Behälter (mit oder ohne Antikoagulant), Erstellung eines Ausstriches und Probenfixierung enthalten sein. Die geeignete Entnahme von zytologischen/mikrobiologischen Proben erhöht die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Interpretation.
- 1.4.2. Unfixierte Zytologieproben und luftgetrocknete, ungefärbte Zytologieausstriche sollten vor der Einwirkung von Formalin und Formalindämpfen geschützt werden, die den anschließenden Färbeprozess beeinflussen. Dazu werden dicht verschlossene Behältnisse oder eine separate Einsendung, getrennt von Formalinfixierten Biopsieproben empfohlen.
- 1.4.3. Identifikation des Ortes der Probenentnahme, die verwendete Methode und Entnahmezeit haben große Bedeutung für die optimale Probenbearbeitung sowie für deren Interpretation. Der veterinärmedizinische Zytologe oder Zytopathologe sollte eine fundierte Kenntnis über die Auswirkungen von verschiedenen Entnahmemethoden, verzögerte Herstellung sowie unangemessene Bearbeitung von zytologischen Proben, besonders Körperflüssigkeiten, speziell in Bezug auf zytologische Besonderheiten und deren Interpretation haben. Ein oder mehrere Ausstriche sollten von Körperflüssigkeiten direkt hergestellt werden, bevor Methoden zur Konzentration oder Fixierung angewendet werden. Der Ausstrich/die Ausstriche können gefärbt oder ungefärbt belassen werden und sollten zusammen mit dem Punktat eingesandt werden. Dies ermöglicht eine Schätzung der Zellzahl sowie des Anteiles der verschiedenen Zelltypen. Dies kann wertvolle Informationen liefern und somit die zytologische Interpretation beeinflussen. Zudem stellt dies eine zusätzliche Qualitätskontrolle dar, indem der Zytologe/Zytopathologe bestätigen kann, dass die Zellzählungen in vernünftiger Weise mit den Zellzahlschätzungen vom Ausstrich übereinstimmen.

1.5. Blutgerinnungstests

- 1.5.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Befolgung der Bestimmungen für Probenentnahme und -lagerung für die Blutgerinnung ist zwingend notwendig für genaue Testergebnisse. Gesamtblut sollte in Tri-Natrium-Citrat-Röhrchen im Verhältnis 9:1 entnommen und gut vermischt werden. Das Blutröhrchen wird dazu bis zur Füllmarke aufgefüllt. Proben, die nicht dieser Verdünnung entsprechen, sollten vom Labor nicht angenommen werden (Adcock 1998). Bei sehr anämischen und polyzythämischen Patienten muss das Citratvolumen dementsprechend angepasst werden (Stockham/Scott 2008, Seite 277). Für Tests, die Plasma erfordern, wird das Citratblut zentrifugiert und bei 2-8 °C gelagert. Das Plasma sollte von Blutzellen getrennt werden und in ein Plastikröhrchen pipettiert werden (kein Glasbehälter) (Fiebig 2005; Kratz 2006). Die Probenstabilität beträgt 4 Stunden bei Raumtemperatur und 24 Stunden bei Kühlschranktemperatur (2 - 8°C). Wenn die Testanalyse nicht innerhalb dieser Zeiträume durchgeführt werden kann, sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden (Adcock 1998). Frisches zitriertes Vollblut für Thrombozytenfunktionstests oder andere Blutgerinnungstests sollte idealerweise weniger als 1 Stunde gelagert werden (Giger, persönliche Mitteilung). Wenn Proben in ein Labor versandt und nicht direkt dort abgegeben werden, dann sollte das Plasma in ein Plastikröhrchen übertragen und eingefroren werden, sowie anschließend auf Eis verpackt und versandt werden, um in gefrorenem Zustand innerhalb von 24 Stunden im Labor anzukommen.
- 1.5.2. **Siehe Laborinformationsblatt 1 1.5.1.A** Zusätzliche Details sind dort aufgeführt, da über 90% der Fehler bei Blutgerinnungstestergebnissen von präanalytischen Faktoren bei Transport und Bearbeitung verursacht werden (Lippi 2006; Valenstein 2009; Bonini 2002; Dale 2002).

1.6. Kreuzprobe

- 1.6.1. **Probenentnahme, -handhabung und Transport zum Labor.** Serum oder Plasma kann für den Kreuztest verwendet werden; jedoch können die Tierart und bestimmte Methoden die Wahl zwischen diesen beiden beeinflussen. Für den Nachweis von Komplement als Ursache einer Hämolysereaktion, kann frisches Serum bei Hunden und Katzen herangezogen werden, doch wird davon üblicherweise kein Gebrauch gemacht. Proben für die große Kreuzprobe umfassen Serum (Blutröhrchen ohne Zusatz) oder Plasma (EDTA oder Citrat) vom Empfänger, sowie antikoaguliertes Gesamtblut (EDTA, ACD oder Citrat) oder konzentrierte Erythrozyten von dem Spender/den Spendern. Proben für den kleinen Kreuztest

inkludieren antikoaguliertes Gesamtblut vom Empfänger und Serum oder Plasma von dem Spender bzw. den Spendern. Patienten- und Spenderproben sollten möglichst nicht älter als 24 Stunden sein. Spenderproben können so alt sein wie das Transfusionsblut für den Kreuztest. Proben, die nicht sofort verwendet werden, sollten bei 4°C gelagert werden. Für einige Methoden wird Gesamtblut verwendet, wobei andere Methoden eine, in PBS-gewaschene Erythrozytensuspension verwenden. Allgemeine Empfehlungen für die Probenentnahme, handhabung und Transport von Hämatologieproben sollten berücksichtigt werden.

1.6.2. **Probenidentifikation.** Proben vom Patienten und von dem Spender/den Spendern sollten deutlich beschriftet sein mit Patientennamen bzw. Spendernamen, sowie Datum und Zeitpunkt der Probenentnahme, damit Patienten- und Spenderproben korrekt identifiziert werden können. Spezielle Antragsformulare sollten verwendet werden, um Patienten und Spender exakt zuordnen zu können.

1.7. **Radioimmunassay (RIA)** – diese Sektion ist vorläufig absichtlich ohne Eintrag. Siehe Hegstad-Davies 2006 für entsprechende Literatur.

2. Wichtige analytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik

2.1. Allgemeines

2.1.1. Überwachung

- a. **Internes Monitoring.** Ein internes Monitoring aller Instrumente inklusive elektronischer Sicherheit, Kalibrierung, Wartung und Leistungsfähigkeit der Geräte wird empfohlen. Ebenso wird ein Protokoll über die Leistungsmerkmale jedes Gerätes empfohlen, einschließlich aller aufgetretenen Probleme, sowie deren Untersuchung und Behebung. Der Gebrauch von Qualitätskontrollmaterialien zur Überwachung der internen Leistungsfähigkeit ist im Detail im Abschnitt 2.1.5. Qualitätskontrolle beschrieben. Angesammelte Ergebnisse der Qualitätskontrolle sollten regelmäßig systematisch unter Benutzung von Levy-Jennings-Diagrammen überprüft werden. Dementsprechend sollten geeignete Maßnahmen getroffen werden, wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle die gesetzten Qualitätsgrenzen übersteigen oder unerwünschte Trends zeigen (Westgard 2006).

- b. **Externes Monitoring (Proficiency Testing).** Die externe Überwachung sollte die Teilnahme an externen Leistungsfähigkeitsprogrammen beinhalten, die speziell auf veterinärmedizinische Labors ausgerichtet sind. Eine ausführliche Beschreibung der Monitoring-Prozesse kann in Bellamy und Olexson nachgelesen werden (Bellamy 2000)
 - i. Alle teilnehmenden Labors sollten die gleichen Proben analysieren.
 - ii. Die Ergebnisse sollten regelmäßig tabellarisch erfaßt werden (monatlich, vierteljährlich oder jährlich) und an die Teilnehmer mit statistischen Zusammenfassungen, welche die Genauigkeit des individuellen Labors im Vergleich zum Gruppendurchschnitt darstellen, zurückgesandt werden.
 - iii. Durchschnittswerte sollten in Abhängigkeit von der Methode berechnet und analysiert werden (gleiche Methoden im Vergleich).
 - iv. Das Ergebnis des externen Monitorings sollte von jedem Labor sorgfältig ausgewertet werden. Eine massive Abweichung vom Gruppendurchschnitt sollte eine sofortige Untersuchung nach sich ziehen.

- 2.1.2. **Methodenvalidierung.** Vor der Inbetriebnahme eines neuen Testverfahrens oder eines neuen Gerätes sollte eine Validierung der Methode bzw. des Gerätes durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass das Verfahren den Standards des Labors und den Herstelleransprüchen entspricht. Die Validierung der Methode oder des Gerätes sollte Linearität, Präzision, Genauigkeit, Messbereich, untere

Nachweisgrenze/biologische Nachweisgrenze/funktionelle Sensitivität der Methode umfassen und die Einflüsse von interferierenden Substanzen untersuchen. Referenzintervalle und Verfahren zur Qualitätskontrolle für die neue Methode sollten bestimmt werden, bevor Patientenproben analysiert werden. Falls nur eingeschränkte Daten für die Bestimmung von Referenzintervallen zur Verfügung stehen, sollte dies in einem Merkblatt zum Test angeführt werden und die Grundlage für die Interpretation erklärt werden (Linnet 2006).

Analytische Qualitätsanforderungen, wie z.B. der gesamtzulässige Fehler (Total allowable error, TEa) oder klinische Entscheidungsgrenzen sollten für jeden einzelnen Test ermittelt werden, bevor Studien zur Überprüfung des Testverfahrens oder des Gerätes begonnen werden (Westgard 1974). Diese Anforderungen dienen als Maßstab für die Leistungsfähigkeit des Tests. Der TEa eines neuen Testverfahrens oder eines Gerätes, der mit Hilfe von Validierungsstudien ermittelt wird, muss sich innerhalb dieser Spezifikationen bewegen, oder das neue Verfahren sollte zurückgewiesen werden (Westgard 2006).

Die Verfahren zur Validierung einer Methode bzw. des Gerätes sind im Folgenden in der Reihenfolge aufgeführt, in der sie durchgeführt werden. Zahlreiche kommerzielle Softwareprogramme sind erhältlich, die die statistische Analyse von Validierungsstudien erleichtern. Zusätzliche Informationen und Grafikprogramme für die Validierung von Testverfahren können unter folgendem Link gefunden werden: www.westgard.com

- a. **Linearitätsstudie:** Bestimmung des Messbereiches einer Methode.
 - i. Fünf Verdünnungsstufen werden empfohlen und können dementsprechend vorbereitet werden. Lösungen mit einer Matrix, die der eigentlichen Probe nahekommt sind Verdünnungen mit Wasser oder Salzlösungen vorzuziehen (Westgard 2008a).
 - Stufe 1: Konzentration nahe der Nachweisgrenze des Tests
 - Stufe 2: 3 Teile niedrige Konzentration plus 1 Teil hohe Konzentration
 - Stufe 3: 2 Teile niedrige Konzentration plus 2 Teile hohe Konzentration
 - Stufe 4: 1 Teil niedrige Konzentration plus 3 Teile hohe Konzentration
 - Stufe 5: Konzentration, welche die die erwartungsgemäße obere Linearitätsgrenze des Tests übersteigt
 - ii. Drei bis vier wiederholte Messungen von jeder Probe werden empfohlen (Westgard 2008a).

- iii. Der Durchschnittswert für jede Probe wird auf der Y-Achse und der erwartete Wert auf der x-Achse aufgetragen (Westgard 2008a).
 - iv. Das Diagramm wird auf Ausreißer, Linearität und Lage der Mittelwertlinie überprüft (Westgard 2008a).
 - v. Wenn der Test nicht in die, vom Hersteller empfohlenen Grenzen fällt, sollte das Testverfahren zurückgewiesen werden. Der Bereich kann alternativ dazu auch so verändert werden, dass er innerhalb des linearen Bereiches fällt.
- b. **Kurzzeit-Replikationsstudie** (Wiederholbarkeit): Abschätzung des Zufallsfehlers oder Ungenauigkeitsfehlers eines Testverfahrens über einen kurzen Zeitraum. Proben, die in einer einzigen 8-stündigen Arbeitsschicht oder innerhalb eines einzigen analytischen Arbeitsgangs analysiert werden (Westgard 2008c).
- i. Standardlösungen, kommerziell erhältliche Kontrollproben oder gepoolte frische Patientenproben können verwendet werden.
 - ii. Die Konzentration des Parameters sollte im Bereich klinischen Entscheidungsgrenzen liegen. Es wird ein Minimum von 2 Konzentrationen (normal und hoch) empfohlen, wenn eine Erhöhung des Parameters medizinisch bedeutsam ist. Mindestens 3 Konzentrationen (niedrig, normal und hoch) werden empfohlen, wenn eine Verminderung oder Erhöhung des Parameters medizinisch bedeutsam sind.
 - iii. Während des Zeitraums der erfasst werden soll werden mindestens 20 Wiederholungstests empfohlen.
 - iv. Eine Normalverteilung wird ermittelt, indem die Daten in ein Histogramm oder eine Punktwolke (= dot plot scattergram, ist hat meant here?) eingetragen werden. Falls keine Normalverteilung vorliegt, sollten die Daten auf Ausreißer untersucht werden. Die Ursache für die Ausreißer sollte ermittelt und wenn möglich korrigiert werden. Falls eine Normalverteilung nach Ausschluss von möglichen Ausreißern nicht erzielbar ist, dann sollten die Daten für zusätzliche statistische Analysen gegebenenfalls transformiert werden.
 - v. Die Datenanalyse umfasst die Kalkulation von Mittelwert, SD (Standardabweichung) und CV (Coefficient of Variation/Variationskoeffizient).
 - vi. Vergleichen sie SD und CV, als Maß des Zufallsfehlers mit dem Laborstandard (TEa oder klinische Entscheidungsgrenze). Wenn SD oder CV den Standard übersteigen, sollte der Test nicht akzeptiert werden. Für diese anfängliche Begutachtung wird ein Bias von Null angenommen.

Zusätzliche Analysen, die den Bias beinhalten (ermittelt durch die Vergleichsmethodenstudie), sollten durchgeführt werden, sobald diese Information verfügbar ist.

- c. **Langzeit-Replikationsstudie (Reproduzierbarkeit):** Schätzung des Zufallsfehler (random error = RE) oder der Ungenauigkeit des Testverfahrens über einen längeren Zeitintervall, der den realen Arbeitsbedingungen gleichkommt. Ein Minimum von 20 Proben wird während verschiedenen Arbeitsschichten (und – durchlaufen) über mindestens 20 Tage lang analysiert. Probenauswahl und Datenanalyse sind die Gleichen wie für die Kurzzeit-Replikationsstudie.
- d. **Methodenvergleich:** Schätzung des Bias oder des systematischen Fehlers des (neuen) Testverfahrens im Vergleich zur Vergleichsmethode, falls eine solche existiert.
 - i. Wählen Sie die Vergleichs (Referenz-) methode unter Berücksichtigung von bekannter Genauigkeit und Qualität aus. Die Vergleichsmethode kann eine maßgebliche Methode sein, eine Referenzmethode, oder eine andere Feldmethode nach Definition von Tietz (Tietz 1979).
 - ii. Ein Minimum von 40 Patientenproben, die mit beiden Methoden geprüft werden, wird empfohlen (Jensen 2006; Westgard 2008d).
 - iii. Die Probenkonzentrationen sollten den Bereich möglicher Testergebnisse widerspiegeln, der in der klinischen Anwendung des Verfahrens zu erwarten ist, und sollten den gesamten Konzentrationsbereich mit einer angemessenen Probenanzahl an den Grenzen dieses Bereiches umfassen (Jensen 2006).
 - iv. Doppelbestimmungen mit jedem Testverfahren sind wünschenswert, jedoch sind Einzelmessungen akzeptabel (Jensen 2006). Ergebnisse sollten zum Zeitpunkt der Untersuchung überprüft werden. Wenn ein signifikanter Unterschied zwischen den mit beiden Methoden erzieltenWerte festgestellt wird, sollte die Analyse sofort wiederholt werden, um festzustellen, ob der Unterschied erneut auftritt oder ob ein Fehler in der Probenanalyse vorlag.
 - v. Proben sollten innerhalb von 2 Stunden (oder rascher, abhängig von der Stabilität des Parameters) mit der neuen Methode und der Vergleichsmethoden analysiert werden. Die Probenhandhabung sollte genau festgelegt sein, um präanalytische Fehler als Ursache von Abweichungen zwischen den Methoden zu vermeiden. Wenn Proben von

verschiedenen Labors analysiert werden (>2 Stunden Intervall zwischen den Tests), muss die Probenstabilität berücksichtigt werden.

- vi. Die Studie sollte über 5 bis 20 Tage durchgeführt werden, mit Bevorzugung der längeren Zeitperiode, z.B. 2 bis 5 Proben pro Tag über 20 Tage
- vii. Datenanalyse:
 1. Ein Vergleichsdiagramm für die visuelle Prüfung des neuen Testverfahrens (y-Achse) mit der Vergleichsmethode (x-Achse) wird empfohlen. Ausreißer sollten wiederholt analysiert werden, solange die Probe frisch ist. Eine „Regressionsgerade“ kann basierend auf der visuellen Beurteilung der Daten gezogen werden (Jensen 2006).
 2. Die Berechnung eines Korrelationskoeffizienten (r) wird verwendet, um zu bestimmen, welche statistische Gleichung verwendet werden sollte, um den systematischen Fehler (Bias) abzuschätzen, dieser darf jedoch nicht als Maß für die Übereinstimmung der Methoden verwendet werden. Für Parameter die sich über einen weiten analytischen Bereich erstrecken wird typischerweise die Regressionsanalyse zur Bestimmung des systematischen Fehlers (Bias) verwendet (Jensen 2006; Westgard 2008d). Für Parameter, die nur in einem engen Konzentrationsbereich schwanken (Elektrolyte), werden t-Tests verwendet, um den systematischen Fehler (Bias) zu bestimmen (Westgard 2008d).
 - Falls $r \geq 0,99$ für Daten mit einem weiten Konzentrationsbereich oder $> 0,975$ für Daten mit engem Bereich, können Standard-Regressionsanalysenstatistiken benutzt werden, um den systematischen Fehler (Bias) im klinisch wichtigen Bereich abschätzen zu können (Jensen 2006; Westgard 2006d; Stockl 1998). Der Systemfehler (Bias) auf einer bestimmten Entscheidungsebene (X_c) kann durch die Berechnung des zugehörigen y-Wertes (Y_c) auf der Regressionsgeraden bestimmt werden.

$$Y_c = a(\text{Steigung})X_c + b(\text{y-Achsenabschnitt})$$

$$SE (\text{Systemfehler; Bias}) = Y_c - X_c$$

- Falls $r < 0.99$ (oder < 0.975), können die Daten entweder durch die Sammlung von zusätzlichen Datenpunkten oder durch die Reduzierung der Varianz mit Durchführung von Wiederholungsmessungen verbessert werden. Weiterhin können gepaarte t-Tests benutzt werden, um den systematischen Fehler (Bias) als Ursache des Unterschiedes zwischen den durchschnittlichen Ergebnissen der beiden Methoden abzuschätzen (Jensen 2006; Westgard 2008d). Jedoch ist der gepaarte T-Test bei Anwesenheit eines proportionalen Fehlers nicht anwendbar (Westgard 2008d). Ersatzweise kann die Regressionsanalyse nach Passing-Bablok oder Deming verwendet werden. Zur zusätzlichen Beurteilung der Durchschnittswerte in klinisch bedeutsamen Bereichen kann die Aufteilung der Ergebnisse in 2 Gruppen (unter, innerhalb oder über dem Referenzintervall) verwendet werden (Jensen 2006).

viii. Die Erstellung eines Differenz-Diagramms (Bland-Altman) wird gleichfalls empfohlen. Der Unterschied zwischen dem Test und der Vergleichsmethode wird grafisch auf der y-Achse und der Durchschnittswert beider Methoden auf der x-Achse dargestellt. Die Differenzlinie identifiziert SE (Bias; systematische Fehler). Für Tests ohne Bias sind die Ergebnisse um die Nulllinie verteilt, etwa $\frac{1}{2}$ über und $\frac{1}{2}$ unterhalb dieser Linie (Bland 1986; Jensen 2006; Hyloft 1997).

ix. Kriterien für eine akzeptable Leistung hängen vom TEa ab, der von jedem Labor bestimmt werden sollte. Der berechnete Gesamtfehler (TE calc) beinhaltet SE (Bias; systematischer Fehler), der durch jedes Vergleichsexperiment bestimmt wird, sowie die Bestimmung von RE (S) durch die die Langzeit-Replikationsstudie. $TE\ calc = Bias\ (gemessen) + 3S\ (gemessen)$. Die Leistung wird als akzeptabel befunden, wenn $TE\ calc < TEa$. Eine Methodenbeurteilungs-Entscheidungstabelle, die TEa, SE und RE berücksichtigt, kann ebenso verwendet werden, um die Akzeptierbarkeit der Methode zu bestimmen (Westgard 2008b).

e. **Interferenzanalyse:** Abschätzung des systematischen Fehlers, der durch Störsubstanzen in den analysierten Proben verursacht wird. Diese Fehler sind typischerweise konstant, wobei sich die Fehlergrösse proportional zur

Konzentration der Störsubstanz verhält (Westgard 2008f). Häufige Interferenzen sind Hämolyse, Lipämie und Bilirubin (Bellany 2000). Zusätzliche Vergleiche können zwischen heparinisiertem Plasma im Vergleich zu Serum, sowie Serumproben in Trenngelröhrchen im Vergleich zu Röhrchen ohne Beschichtung oder anderen möglichen Störfaktoren gemacht werden. Je nach Test oder Gerät können unterschiedliche Einflüsse von Interesse sein.

- i. Standardlösungen, Patientenproben oder gepoolte Patientenproben können verwendet werden. Die beiden letzteren sind zu bevorzugen, weil sie eher verfügbar sind und eine komplexe Matrix haben (Westgard 2008f). Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen des Parameters, die zumindest den klinisch interessanten Bereich überspannen, sollten gewählt werden (Westgard 2006).
- ii. Definierte Mengen an Hämoglobin (von lysierten Erythrozyten), Lipiden (kommerziell erhältliche Lösungen) und Bilirubin (kommerzielle Standardlösungen) werden den Proben hinzugefügt, um erhöhte Konzentrationen der Interferenzsubstanz zu erreichen (Westgard 2008f).
- iii. Das Volumen der zugefügten Störsubstanz sollte so niedrig wie möglich gehalten werden, um Veränderungen der Probenmatrix zu vermeiden (Westgard 2008f). Eine Doppelbestimmung aller Proben wird empfohlen. Kleine Unterschiede im gemessenen Parameter, die von der Störsubstanz verursacht werden, können vom methodeneigenen Zufallsfehler überdeckt werden. Doppelbestimmungen sind hilfreich, um dieses Problem zu vermeiden (Westgard 2008f).
- iv. Messungen sollten mit der neuen Methode sowie der Vergleichsmethode durchgeführt werden, falls eine solche existiert. Wenn beide Methoden einen ähnlichen, durch die Störsubstanzen verursachten systemischen Fehler zeigen, dann kann der systematische Fehler alleine eventuell nicht ausreichend sein, um den neuen Test zurückzuweisen (Westgard 2008f).
- v. Kalkulation des Bias auf Basis der Störsubstanz:
 1. Bestimmen Sie nach den Doppelmessungen den Durchschnittswert der Störsubstanz enthaltenden Probe und der Kontrollprobe.
 2. Berechnen Sie die Differenz (Bias) zwischen der, die Störsubstanz enthaltenden Probe und seiner Kontrolle. Wiederholen Sie dies für alle Probenpaare.
 3. Berechnen Sie die Durchschnittsdifferenz (Bias) für alle Proben, die eine vorgegebene Konzentration der Störsubstanz enthalten.
- vi. Zum Vergleich von Ergebnissen der Störsubstanz enthaltenden Probe und der unverfälschten Kontrollprobe wird ein gepaarter t-Test empfohlen.

Regressions-Statistiken sind nicht anwendbar. Eine t-Test-Statistik von 2 wird als der Standard-Grenzwert verwendet. Die t-Test-Statistik schätzt die Anzahl der Standardabweichungen, die die verfälschte Probe von der unverfälschten unterschiedlich ist (Westgard 2008f).

- vii. Das Kriterium für eine akzeptable Leistungsfähigkeit ist $SE \text{ (gemessen)} < TEa$. Falls $SE \text{ (gemessen)} > TEa$, sollte das Labor entscheiden, ob Proben die wahrscheinlich die Störsubstanzen enthalten, ohne weiteres entdeckt werden können und ob Proben zurückgewiesen werden sollten, falls mögliche Störsubstanzen vorhanden sind oder ob ihre Auswirkungen aufgrund von zusätzlichen Studien quantifiziert oder semiquantifiziert werden könnten.

- f. **Wiederfindungsanalyse:** Schätzung des proportionalen systematischen Fehlers (SE). Der proportionale systematische Fehler tritt auf, wenn eine Substanz in der Probenmatrix mit dem Parameter reagiert und mit dem analytischen Reagenz konkurriert. Die Grösse des SE steigt mit zunehmender Konzentration des Parameters. Der proportionale SE wird bestimmt, indem der Prozentsatz der Wiederfindung eines Standardanalyten der zu der Patientenprobe hinzugefügt wurde, berechnet wird (Westgard 2008f).
 - i. Standardlösungen einer hohen Konzentration werden oft verwendet, da sie in geringen Mengen beigefügt werden können, um einerseits die Probenverdünnung so gering wie möglich zu halten, und um andererseits eine erkennbare und signifikante Veränderung der Parameterkonzentration zu erreichen. Die Verdünnung der ursprünglichen Probe sollte 10% nicht übersteigen.
 - ii. Die Konzentration des beigefügten Parameters sollte die nächste medizinische Entscheidungsebene für diesen Parameter erreichen. Ähnlich wie bei der Interferenzanalyse werden kleine Beimengungen von der inherenten Ungenauigkeit der Methode stärker beeinflusst als größere Beimengungen.
 - iii. Wiederholungsmessungen der verfälschten sowie der Kontrollprobe werden empfohlen. Wiederfindungsproben sollten mit der Test- und der Vergleichsmethode analysiert werden. Die Anzahl der zu testenden Patientenproben hängt von der Anzahl und der Art der Reaktionen ab, die zu erwarteten sind, um einen systematischen Fehler zu produzieren.
 - iv. Wenn eine Wiederfindungsstudie als Teil eines neuen Testverfahrens durchgeführt wird, sollte idealerweise die neue sowie eine Vergleichsmethode verwendet werden, falls letztere vorhanden ist.

- v. Berechnung der Daten (folgender Link zeigt ein Beispiel der Berechnungen, die in einer Korrekturstudie angewendet werden: <http://www.westgard.com/lesson27.htm#4> (zugegriffen am 10. November 2009) oder Nachzulesen in Westgard 2008f)
1. Berechnen Sie die zugefügte Menge des Analyten:
Zugefügte Konzentration des Standards x (ml zugefügte Standardmenge/ml zugefügte Standardmenge + ml Probe)
 2. Berechnen Sie den Durchschnittswert der Wiederholungsmessungen für alle Proben.
 3. Berechnen Sie den Unterschied zwischen der verfälschten und der Kontrollprobe.
 4. Berechnen Sie die Korrektur, indem Sie die Differenz mit der zugefügten Menge addieren.
 5. Berechnen Sie den Durchschnittswert der Korrekturen von allen getesteten Probenpaaren.
 6. Berechnen Sie den proportionalen Systemfehler SE als 100% - Korrektur %.
- vi. Das Kriterium für eine akzeptable Leistung ist $SE \text{ (gemessen)} < TEa$. Geringe Mengen des proportionalen Systemfehlers können akzeptabel sein; die Methode sollte allerdings abgelehnt werden, wenn große proportionale systematische Fehler den erlaubten Gesamtfehler übersteigen.

- g. **Rerenzintervall für die neue Methode/das neue Gerät:** Erstellung eines neuen Referenzintervalls oder Validierung eines bestehenden Referenzintervalls ist für den klinischen Entscheidungsprozess notwendig.

Siehe Neue ASVCP Richtlinien für die Erstellung von Referenzintervallen und Entscheidungs-Schwellenwerte sowie Instandhaltung.

- h. **Bestimmung der Nachweisgrenze:** Abschätzung der niedrigsten Konzentration eines messbaren Parameters. Die Verifizierung der Nachweisgrenze wird für alle Tests empfohlen, bei denen ein niedriger Wert von klinischer Bedeutung sein kann, z.B. forensische Tests, therapeutische Medikamentenlevel, TSH, Immunanalyse und Tumormarker (Westgard 2008g).
- i. Es werden eine Leerprobe ohne den Parameter von Interesse und eine „gespikte“ Probe mit einer geringen Menge des Analyten verwendet. Unter Umständen sind mehrere gespikte Proben erforderlich, die den Analyten in einer vom Hersteller angegebenen Konzentration enthalten.

ii. 20 Wiederholungsmessungen sollten für jede Probe durchgeführt werden.
iii. Die Messungen der Leerprobe können am gleichen Tag, als „Kurzzeit-“ oder „Langzeitstudie“ durchgeführt werden. Jedenfalls sollte die gespikete Probe über einen längeren Zeitraum analysiert werden, um so Variationen von Tag zu Tag oder zwischen den Durchläufen mit einzubeziehen. Eine Minimum von 5 Tagen wird normalerweise verwendet (Westgard 2008 g).

iv. Quantitative Schätzungen können folgendermaßen berichtet werden:

1. Die untere Bestimmungsgrenze/Quantifikationsgrenze ist gleich dem Durchschnittswert des Leerwertes + 2-3 x SD (Standardabweichung = standard deviation SD) des Leerwertes.
2. Die biologische Bestimmungsgrenze ist der Durchschnittswert des Leerwertes + 2-3 SD der gespikten Probe.
3. Die funktionale Sensitivität ist der Durchschnittswert der gespikten Probe mit einem CV (Coefficient of variation) von 20%. Dies ist der niedrigste Schwellenwert, bei dem eine quantitative Information zuverlässig ist. Mehrere gespikte Proben müssen getestet werden, um eine gespikte Probe mit einem 20%igen CV zu bestimmen.

i. Auswahl von Qualitätskontroll-Richtlinien für die statistische Überwachung der Durchführung von Testverfahren (QC-Validierung)

i. Die Validierung der Qualitätskontrolle (QC) kann manuell unter Benutzung von normalisierten OpSpecs-Grafiken, dem EZRUNS Kalkulator (www.westgard.com) oder anderen Qualitätssicherungsprogrammen durchgeführt werden (Friedrichs 2005).

ii. Die QC-Validierung macht von den TEa-Spezifikationen (oder der dem klinischen Entscheidungsintervall) für den Test Gebrauch, zusammen mit CV (RE) und Bias (SE) welche aus den Replikations- und Methodenvergleichsexperimenten stammen, um Kontrollregeln zu bestimmen, die für die statistische QK angewandt werden können (Westgard 2006).

iii. Für die meisten automatisierten Methoden ist eine Fehlererkennungswahrscheinlichkeit von 90% und eine Wahrscheinlichkeit für eine falsche Zurückweisung von 5% ausreichend. Für extrem stabile Tests mit wenig bekannten Problemen kann eine Fehlererkennungswahrscheinlichkeit von 50% akzeptabel sein (QP15 Häufig gestellte Fragen über Qualitätsplanung. Abrufbar unter: www.westgard.com. zugegriffen am 10. November 2009).

iv. Unterschiedliche QC-Regeln werden möglicherweise für unterschiedliche Schwellwerte eines einzelnen Parameters erforderlich sein (mehrstufige QC). Zum Beispiel können strikere Mehrfachregel QCs erforderlich

sein, um einen Fehler bei niedrigeren Schwellwerten des Analyten im Vergleich zum höheren Schwellwert festzustellen.

v. Die Übernahme einer neuen Methode oder Kalibrierung/Instandhaltung einer Methode kann andere (striktere) QC-Regeln erfordern als solche die bei der routinemäßigen Verwendung der Methode verwendet werden. Dies wird als mehrstufige QC bezeichnet.

2.1.3. Analyseinstrumente

- a. **Leistungsfähigkeit eines Instrumentes:** Die verwendeten Geräteausstattungen und Methoden müssen imstande sein, Testergebnisse innerhalb der vom Labor festgesetzten Leistungsmerkmale zu liefern (Linnet 2006). Diese schließen mit ein:
- i. Analytischer Bereich einschließlich Nachweisgrenze und Linearität
 - ii. Präzision
 - iii. Richtigkeit
 - iv. Analytische Spezifität: Messung der Zielsubstanz. Dies sollte eine Schätzung ermöglichen und jegliche Störsubstanzen definieren. Da Interferenzen nicht immer vermieden werden können, sollte erwogen werden, Interferogramme zu entwickeln, um die Auswirkungen von hinzugefügten Lipiden, Bilirubin und Hämoglobin auf die Testergebnisse zu untersuchen. Interferenzen sind spezies-spezifisch, daher werden Interferogramme idealerweise für jedem zu testenden Parameter und jeder zu testenden Tierart entwickelt.
 - v. Analytische Sensitivität
 - vi. Zusätzliche Punkte, welche zu berücksichtigen sind
 - 1. Geräte mit anpassbaren Einstellungen für verschiedene Substanzen und/oder Tierarten sollten sorgfältig auf ihre Compliance kontrolliert werden.
 - 2. Vom Labor und Hersteller definierte Leistungsmerkmale sollten verglichen und Anpassungen durchgeführt werden, wenn diese als notwendig erachtet werden.
 - 3. Es soll sichergestellt werden, dass tierartige Unterschiede berücksichtigt werden; üblicherweise assistieren Techniker des Geräteherstellers bei diesem Aspekt der Geräteeinstellung.
- b. **Funktionsüberprüfungen:**
- i. Geeignete Funktionsprüfungen von kritischen Betriebseigenschaften sollten an allen Geräten durchgeführt werden (z.B. Streulicht, Nullabgleich, elektronische Werte, optische Ausrichtung, Überprüfungen des Hintergrunds, usw.)

ii. Vor der Testdurchführung sollte das Personal täglich oder pro Arbeitsschicht eine QC durchführen und/oder jedes Gerät kalibrieren. Die Geräte sollten nach den Anleitungen des Herstellers bedient werden.

c. Kalibrierung:

i. Die Geräte sollten mindestens alle 6 Monate kalibriert werden. Häufigere Kalibrierungen können in folgenden Fällen erfolgen (Westgard 2008a):

1. Den Empfehlungen des Herstellers entsprechend
2. Im Anschluss an eine umfangreichere Wartung
3. Wenn sich die QC-Werte außerhalb der Grenzen bewegen oder eine Fehlersuche den entsprechenden Bedarf aufzeigt
4. Wenn die Arbeitslast, Leistungsfähigkeit oder Reagenzien-Stabilität häufigere Kalibrierung erfordert.

ii. Nach der Kalibrierung sollten Kontrollläufe entsprechend der Standardarbeitsanweisung durchgeführt werden.

2.1.4. **Fachwissen.** Das Laborpersonal sollte über profundes Fachwissen bezüglich der Instrumente und seiner Bedienung verfügen, einschließlich, jedoch nicht begrenzt auf folgende Themen:

- a. Linearitätsunterschiede in Tier- verglichen zu humanmedizinischen Proben
- b. Auswirkungen von Hämolyse, Lipämie, Ikterus, Karotinoiden (besonders bei Großtieren), und verschiedenen Antikoagulantien für jeden einzelnen Test
- c. zu befundende Bereiche
- d. Spezies- oder rassespezifische zu befundende Bereiche und Referenzintervalle
- e. Zu erwartende physiologische Bereiche. Kriterien für Wiederholungsuntersuchungen können erstellt werden, die die wiederholte Analyse einer Probe einleiten. Die Kriterien, um einen Test zu wiederholen schließen jegliche Fehlermeldungen oder Flaggen des Gerätes mit ein, sowie solche Ergebnisse, die deutlich außerhalb der physiologischen Bereiche liegen. Für den letzteren Fall sollte die Verwendung von sogenannten „Panik-Werten“ in Betracht gezogen werden, die bereits im biochemischen Analyser vorprogrammiert sind. Die Wiederholung eines abnormalen Testergebnisses sollte dem Kunden als Teil des Ergebnisberichtes mitgeteilt werden.
- f. Häufige Probleme, auf die bei tiermedizinischen Proben gestoßen wird und geeignete Schritte, die bei verschiedenen Fehlermeldungen und -codes eingeleitet werden müssen.
- g. Regelmäßige Gerätewartung (täglich, wöchentlich, monatlich oder je nach Bedarf)

- h. Ersatz von ungeeigneter oder fehlerhafter Ausrüstung
- i. Problemlösungsverfahren (Fehlersuche)
- j. Geeignete Verwendung von Kommentaren und tierartsspezifischer Kriterien.
Kommentare und tierartsspezifische Kriterien können zum interpretativen Vorteil des Kunden definiert werden. Direkte Kommunikation mit den Kunden sollte auf qualifizierte Personen innerhalb des Unternehmens beschränkt sein, die eine Interpretation der Ergebnisse im Zusammenhang mit dem Vorbericht und vorangegangener Therapie liefern können.

2.1.5. **Qualitätskontrolle.** Kalibratoren und Kontrollmaterialien sollten in geeigneter Weise zusammengestellt werden, und ihre Verwendung sowie Häufigkeit sollten als Teil des Qualitätsplanes dokumentiert werden, um die Richtigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten (Westgard 1998). Die Dokumentation und Einleitung angemessener Schritte sollten den Regeln und Strategien folgen, welche für die Analyse von QC-Parametern erstellt wurden. Diese können mit einschließen, dass Ergebnisse bestätigt werden und dass geeignete Tabellen, Grafiken und Dateneingabe verwendet werden, je nach Festlegung des Labors für jede Abteilung und/oder Gerätetyp. Eine Kommunikationsstruktur sollte implementiert werden, um die Laborleitung über QC-Probleme zu informieren. Probleme, die weitere Aufmerksamkeit erfordern, sollten an die zuständige Stelle innerhalb des Labors weitergeleitet werden. Ebenso sollten durchgeführte Maßnahmen werden, um deren Effektivität zu überprüfen.

a. Auswahl von QK-Richtlinien für die statistische Überwachung der Leistungsmerkmale von Testmethoden (QK-Validierung)

- i. Die QC-Validierung kann manuell unter Verwendung von standardisierten OpSpecs-Grafiken, dem EZRUNS Rechner (www.westgard.com) oder anderweitigen Qualitätssicherungsprogrammen durchgeführt werden.
- ii. Die QK-Validierung verwendet die TEa-Spezifikation (oder das klinische Entscheidungsintervall) für den jeweiligen Test mit CV (RE) und Bias (SE), basierend auf den Wiederholbarkeits- und Methodenvergleichsstudien, um mögliche Kontroll-Richtlinien zu definieren, die für die statistische QK angewandt werden können.
- iii. Für die meisten automatisierten Methoden ist eine Wahrscheinlichkeit für eine 90% Fehlerfeststellung und eine Wahrscheinlichkeit für eine falsche Rückweisung von <5% ausreichend. Für sehr stabile Tests mit wenig zu erwartenden Problemen kann eine Wahrscheinlichkeit der Fehlererkennung von bis zu 50% akzeptabel sein.

iv. Unterschiedliche QC-Richtlinien können für verschiedene Stufen eines einzelnen Parameters erforderlich sein (mehrstufige QC). Zum Beispiel kann eventuell unter Umständen eine striktere Multiregel- QC notwendig sein, um Fehler bei niedrigeren Analytkonzentrationen zu ermitteln, verglichen mit solchen bei höheren Analytkonzentrationen.

v. Unterschiedliche QC-Richtlinien können während der Anpassung einer neuen Methode oder nach Kalibrierung und Wartung wünschenswert sein, verglichen zu solchen Richtlinien während der routinemäßigen Benutzung einer etablierten Methode (mehrstufige QC). Die zuvor genannten QC-Richtlinien sind typischerweise strikter als die zuletzt erwähnten.

- b. **Reagenzien und Materialien** für die Testverfahren sollten mit dem Lieferdatum, dem Öffnungs- und Lagerungsdatum gekennzeichnet werden, je nach den Empfehlungen des Herstellers. Verfallsdaten sollten eingehalten werden. Verfallene Reagenzien sollten in geeigneter Weise entsorgt werden. Analytkonzentrationen in Kontrollmaterialien repräsentieren häufig niedrige und hohe Werte in Bezug auf menschliche Abweichungen unter Berücksichtigung von normalen Konzentrationen beim Menschen. Wenn pathologische Konzentrationen von Tierarten von diesen Bereichen bedeutend abweichen, kann es erforderlich sein, zusätzliche Kontrollmaterialien mit Bereichen ähnlich veterinärmedizinischer pathologischer Konzentrationen oder Aktivitäten mit einzuschließen.
- c. **Die Auswahl der Kontroll-Anzahl** wird zum Teil von den Leistungsmerkmalen der Geräteausstattung abhängen und ist Teil des Ablaufs der QK-Validierung. Traditionellerweise werden im Allgemeinen 2 bis 3 Kontrollmaterialien verwendet, jedoch können zusätzliche QC-Datenpunkte erforderlich sein, um eine hohe Wahrscheinlichkeit der Fehlererkennung und eine niedrige Wahrscheinlichkeit der falschen Zurückweisung bei einigen Tests sicherzustellen.
- d. **Ein Durchlauf von maximal 24 Stunden** wird empfohlen, sofern der Gerätehersteller nicht häufigere Kontrolldurchläufe empfiehlt.
- e. **Überprüfung der Reagenzien-Stabilität** über eine „Durchlauf-Länge“ sollte während der Methoden-Validierung durchgeführt werden, indem Kontrollmaterialien während der gesamten Laufdauer mehrere Male getestet werden und indem die resultierenden Durchschnittswerte und SD mit den Ergebnissen von „Replikations“-Präzisionsexperimente verglichen werden.
- f. **Erstellung der QK-Häufigkeit auf Basis von folgenden Überlegungen:**
 - i. Testhäufigkeit und Durchsatz (Anzahl der Tests, die während jedem Durchlauf oder täglich durchgeführt werden)

- ii. Die Intensität, mit der Methoden- und Qualitätsanforderungen für den Test von präzisen technischen Leistungsmerkmalen abhängt
- iii. Parameter- und Reagenzien-Stabilität
- iv. Häufigkeit von QC-Fehlern
- v. Ausbildung und Erfahrung des Personals
- vi. Kosten der QK (erhöhte Häufigkeit trägt zu den Kosten pro Test bei)

g. QC-Parameter

- i. Für einen akzeptablen Leistungsbereich von QC-Materialien sollten Labors entweder eigene Kriterien aufstellen oder die Kriterien des Herstellers verifizieren. Durchschnittswert, SD und CV sollten mit einem Minimum von 20 Messungen berechnet werden. Es wird empfohlen, Kontrollsubstanzen derselben Charge zu verwenden.
 - ii. Kontrollen sollten in derselben Weise wie Patientenproben getestet werden.
 - iii. Nach dem Wechsel der Charge eines Reagenz sollte mindestens 1 Level an Kontrollmaterial überprüft werden.
 - iv. Es sollte ein Mechanismus vorhanden sein, um zu überprüfen, ob das Personal die Richtlinien und Vorgehensweisen korrekterweise befolgt.
 - v. Die Anwendung des mehrstufigen Westgard-Verfahrens oder anderweitige Regeln basierend auf QC-Validierungen wird empfohlen.
 - vi. Kumulierte QC-Ergebnisse sollten systematisch und in regelmäßigen Abständen überprüft werden, zum Beispiel durch die Verwendung von Levy-Jennings Diagrammen. Es sollten angemessene Handlungen unternommen werden, wenn die QC-Ergebnisse die Grenzen übersteigen oder ungewünschte Verläufe demonstrieren.
 - vii. Richtlinien und Vorgehensweisen sollten in einem Verfahrenshandbuch zusammengefasst sein. Jährliche (oder häufigere) Überprüfungen von Richtlinien und Vorgehensweisen sollten von den Angestellten dokumentiert werden.
 - viii. QC-Protokolle sollten häufig überprüft werden, um sicherzustellen, dass angemessene Maßnahmen ergriffen werden, wenn die QK-Ergebnisse nicht den Anforderungen der Akzeptierbarkeit entsprechen. Korrigierende Handlungen sollten dem Laborpersonal vorgegeben werden.
 - ix. Kontrollsubstanzen (bevorzugterweise derselben Chargennummer) sollten kommerziell beschafft werden. Falls Kalibratoren als Kontrollen verwendet werden, sind unterschiedliche Chargen für jede Aufgabe zu verwenden. Falls gepaarte Patientenproben verwendet werden, erstellen Sie den

Durchschnittswert aller Proben (Minimum n = 10 zur Erstellung eines Durchschnittswertes).

x. Überwachen Sie die Ergebnisse von klinischen Proben auf verschiedene Fehlerquellen hin unter Verwendung von Parametern wie Anionen-Differenz, Vergleich von Testergebnissen mit vorherigen Einsendungen desselben Patienten (delta-Checks), und Untersuchung von stark abweichenden Ergebnissen (Grenzwertprüfungen).

xi. Die Anweisungen des Herstellers für Routine-Wartungen (täglich, wöchentlich, monatlich) und Kalibrierungen sollten befolgt werden, es sei denn die Labors haben diese für ihren eigenen Bedarf angepasst und in entsprechenden Anweisungen dokumentiert. Ein Protokoll zur Geräte-Wartung, Kalibrierung oder Reparatur sollte im Labor oder der Messtechnik-Abteilung vorrätig gehalten werden.

2.1.6. **Verfahrens-Leitfaden.** Siehe Westgard und Klee für eine Übersicht zum empfohlenen Inhalt eines Verfahrens-Leitfadens (Westgard 2006). Protokolle können entweder als Kopien in Handbüchern und/oder gespeichert im Computer vorliegen. Alle derzeitig verwendeten Verfahren sollten in dem Verfahrens-Leitfaden aufgeführt sein und jedem Angestellten, der diesen Test durchführt, leicht zugänglich sein. Änderungen sollten von einer/mehreren kenntlich gemachten Person/en durchgeführt werden. Die Gliederung eines Leitfadens hängt von der Größe, dem Bedarf und den Anforderungen der Einrichtung ab. Bestimmte beglaubigende Organisationen haben möglicherweise spezifische Anforderungen und bestimmte Standardabläufe (SOPs) werden von diesen empfohlen. Die meisten Laborverfahren sollten mit den hier aufgeführten Kategorien angemessen abgedeckt sein. Mit dem Abschluss des Trainings von neuem Laborpersonal sollte eine Prüfliste geführt werden, um die Kompetenz der Testdurchführung und das Fachwissen von, den Tests zugehörigen Aspekten, zu dokumentieren. Wenn es zur Überarbeitung des Verfahrens-Protokolls kommt, sollte eine Besprechung mit dem betroffenen Personal stattfinden, um sicherzustellen, dass alle Beteiligten mit den überarbeiteten Verfahrensweisen vertraut sind.

a. Index

b. Allgemeine Information

i. Allgemeine Strategien und Testverfahren

ii. Qualitätssicherungsinformation

iii. Länge der Probenlagerung und -entsorgung

iv. Lagerung und Entsorgung von Originaldaten

v. Routinemässige Aussendungen

1. Information über die Testeinrichtung
 2. Anforderungen an die Proben
 3. Richtlinien für Aussendungen
 4. Umlaufzeit
- c. Standardabläufe (SOPs) für jedes Verfahren. Die Menge an Informationen in einer SOP variiert möglicherweise, doch die folgenden Themen werden empfohlen (Westgard 2006).
- i. Titel (einschließlich des Datums oder der Nummer der Ausgabe)
 - ii. Zweck und Anwendung des Testverfahrens
 - iii. Prinzipien des Tests
 - iv. Handhabung der Proben
 1. Vorbereitung des Patienten (z.B. spezies-spezifische Information)
 2. Probenentnahme, -handhabung und -verarbeitung (z.B. Minimum an Volumen)
 3. Kriterien für die Zurückweisung von Proben
 - v. Betriebliche Vorsichtsmaßnahmen und Anwendungsgrenzen
 1. Gefahren
 2. Interferenzen mit der verwendeten Methode
 - Hämolyse, Ikterus, Lipämie
 - Antikoagulantien
 - Medikamente etc
 3. Berichtswerte Reichweite
 4. Sensitivität und Spezifität falls zutreffend
 - vi. Reagenzien
 1. Lagerungsort und -bedingungen
 2. Vorbereitung
 3. Offene Lagerbeständigkeit
 4. Hersteller (z.B. Inhaltsstoffe)
 - vii. Ausrüstung und Zubehör
 1. Für die Testdurchführung notwendige Ausrüstung oder Werkzeuge
 2. Ort des Zubehörs
 3. Vorzunehmende Maßnahmen bei Systemausfall (siehe Abschnitt zu Aussendungen ggf. sollten zusätzliche Informationen zur Verfügung gestellt werden)
 - viii. Vorgehensweisen der Kalibrierung und Qualitätskontrolle
 1. Materialien
 2. Häufigkeit

3. Interpretation (wann muss nachgeprüft, wiederholt oder Fehlersuche durchgeführt werden etc)
- ix. Vorgehensweisen (Schritt-für-Schritt Anleitungen)
- x. Referenzintervalle für jede entsprechende Tierart
- xi. Interpretation und Berichterstattung: kritische Werte (empfohlene Handlungen)
 1. Kommunikationskette
 - hauseigenes Laborpersonal
 - Informationen zu technischen Vertretern
 2. Vorgehensweise zur Fehlersuche
 - QC-Überprüfung
 - Wiederholungslauf
 - Verdünnungen (geeignete Verdünnungslösung)
- xii. Literaturnachweise
- xiii. Dokumentation
 1. Name, Datum und Unterschrift des Erstellers (Datum der Inkraftsetzung falls es sich vom Erstellungsdatum unterscheidet)
 2. Name, Datum und Unterschrift des Überprüfers (falls zutreffend)
 3. Trainingsprotokoll
- xiv. Zusätze
 1. Protokolle und Arbeitsblätter
 - Überwachungs- und Fehlersuche-Protokoll
 - Ergebnisprotokoll
 2. Packungsbeilagen (Ein Großteil der oben aufgeführten Informationen kann möglicherweise direkt aus der Packungsbeilage entnommen werden. In dem Falle kann die SOP auf die betreffenden Abschnitte der Beilage hinweisen).
 3. „Spickzettel“
 - Schneller Hinweis-Ratgeber
 - Titel und Version des Testverfahrens

2.1.7. Vergleich von Testergebnissen.

Falls der gleiche Test im Labor mit mehreren Methoden, an mehr als einer Stelle, oder von einem Vertragslabor durchgeführt wird, sollten Vergleichsdurchläufe mindestens jährlich vorgenommen werden, um Zusammenhänge zwischen Methoden und Teststellen zu definieren. Die derzeitigen Richtlinien zum Methodenvergleich werden gegenwärtig überarbeitet. Wir verweisen auf die ASVCP Webseite.

Die folgenden Schritte sollten mit einbezogen werden:

- a. Ein Minimum an 20 Proben innerhalb des analytischen Bereichs sollten verglichen werden.
 - i. Die Daten sollten in einem x-y-Diagramm eingetragen werden.
 - ii. Die Steigung und der Schnittpunkt sind mit der Methode der kleinsten Quadrate zu berechnen
 - iii. Die Verwendung eines labordiagnostischen Statistik-Software-Programms, wie zum Beispiel EP-Evaluator, lässt den Methodenvergleich durch Benutzung von festgelegten analytischen Reichweiten und CLIA-akzeptabler Ziele für Leistungsmerkmale zu.
- b. Die Laborleitung oder qualifiziertes Personal sollte akzeptable Leistungsgrenzen definieren.
- c. Falls individuell durchgeführte Testergebnisse vom gleichen Patienten oder Materialien nicht miteinander übereinstimmen (z.B. Blutharnstoff/ Kreatinin, Elektrolyt-Gleichgewicht), sollte die Ursache ermittelt, der Sachverhalt dokumentiert und korrigierende Handlungen durchgeführt werden.
- d. Enzym-Verifizierungen sollten mindestens alle 6 Monate (halbjährlich) zwischen Analysegeräten durchgeführt werden, sowie nach jeder umfangreicheren technischen Wartung oder anderen Problemen. Die Enzym-Verifizierung wird durch die Durchführung einer Linearitätsstudie und Vergleich der Testergebnisse zwischen Analysegeräten durch lineare Regression vervollständigt.

2.2. Klinische Chemie

2.2.1. Überwachung

a. Interne Überwachung sollte folgende Punkte beinhalten.

- i. Wasserqualität (je nach Angaben bei Geräte und Assay)
- ii. Stabilität von Elektrizität (je nach Gerät)
- iii. Temperaturen von Wasserbad, Kühl- und Gefrierschrank (Empfehlung: täglich). Größere Geräte können mit einem Alarmsystem verbunden werden, um die Benutzer zu alarmieren, wenn sich die Temperaturen außerhalb eines definierten Bereiches bewegen.
- iv. Regelmäßige Kalibrierung von analytischen Waagen und Pipetten (Empfehlung: jährlich).
- v. Auf dem neuesten Stand gehaltene SOPs mit deutlich sichtbarem Datum der ursprünglichen Inkraftsetzung und Versionsnummer der Überarbeitung sollten zur Verfügung stehen. Ein System sollte vorhanden sein, das sicherstellt, dass ausschließlich aktualisierte Kopien verwendet werden und dass veraltete

Versionen archiviert werden und nicht versehentlich in Gebrauch oder in Umlauf gesetzt werden können.

vi. Angemessene Lagerung, Bearbeitung und Pflege des Lagerbestands.

vii. Instandhaltung eines Protokolls, das verfahrenstechnische Veränderungen, Probleme mit Testdurchführung oder Geräten, sowie Maßnahmen zur Problemlösung enthält. Alle Einträge sollten vom Laborpersonal deutlich mit Datum und Unterschrift versehen werden. Diese Tätigkeit kann von einer mit Messungen befassten Abteilung- durchgeführt und elektronisch instandgehalten werden, um leichten Zugang während einer behördlichen oder Qualitätssicherungs-Inspektion zu gewährleisten.

b. Externe Überwachung – siehe Allgemeine Empfehlungen

i. Methodvalidierung – siehe Allgemeine Empfehlungen

ii. Geräte – siehe Allgemeine Empfehlungen

iii. Fachwissen – siehe Allgemeine Empfehlungen

iv. Qualitätskontrolle – siehe Allgemeine Empfehlungen

v. Verfahrens-Leitfaden – siehe Allgemeine Empfehlungen

vi. Testvergleich – siehe Allgemeine Empfehlungen

vii. Bestimmung von Außer-Haus-Tests – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3. Hämatologie

2.3.1. **Überwachung** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3.2. **Methodvalidierung** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Nicht alle im Abschnitt 2.1.2. aufgeführten Experimente zur Methodvalidierung sind für die Evaluierung von automatisierten Blutanalysegeräten uneingeschränkt anwendbar. Die Experimente zur Methodvalidierung sollten je nach Bedarf ausgewählt und angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Testmethoden/Analysegeräte zufriedenstellend funktionieren, so dass sie den Anforderungen des Labors und den Bestimmungen des Herstellers entsprechen.

2.3.3. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3.4. **Fachwissen** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3.5. **Qualitätskontrolle für die Hämatologie** – siehe ebenso Allgemeine Empfehlungen

a. Automatisierte Assays, berechnete Indizes und Mikroskopie

i. Erythrozytenzahl (RBC)

ii. Hämoglobinkonzentration

iii. Hämatokrit

iv. Erythrozytenmorphologie einschliesslich RDW, HDW, MCV, MCH/*CH, und MCHC/*CHCM (*direkte Laser-Messung mit Advia Hämatologie-Analysegerät)

v. Absolute Leukozytenzahl (WBC)

vi. Leukozytendifferenzialzählungen (mikroskopisch und automatisch)

- vii. Erythrozyten- und Leukozytenmorphologie (mikroskopisch)
- viii. Thrombozytenzahl
- ix. Thrombozytenindizes (einschließlich MPV und PCT)
- x. Retikulozytenzahl (mikroskopisch und automatisch)
- xi. Blutausstriche sollten vorbereitet, gefärbt und dem Labordiagnostiker/
klinischen Pathologen auf Wunsch zur Verfügung stehen

b. Empfehlungen

i. Automatische Differenzialblutbilder sollten durch manuelle (mikroskopische) Evaluierung eines Blutausstriches überprüft werden. Es sollten Kriterien für solche Situationen aufgestellt werden, die eine mikroskopische Untersuchung des Blutausstriches erfordern (z.B. absolute Leukozytenzahl $>20,000/\mu\text{l}$)

ii. Manuelle Zellzählungen: Zellzählungen, die manuell mit einer Zählkammer durchgeführt werden, sollten zweifach ausgezählt werden. Falls die Zählungen mehr als $>10\%$ voneinander abweichen, sollten die Zählkammern neu beschickt und erneut im Duplikat ausgezählt werden. Falls eine Kontrolle für manuelle Leukozyten-, Erythrozyten- oder Thrombozytenzählungen verwendet wird, sollte jedes Mal, wenn diese Methode verwendet wird oder einmal pro Arbeitsschicht entweder eine Stufe an Testmaterial oder verfahrenstechnischer Kontrolle (im folgenden definiert) analysiert werden.

Eine verfahrenstechnische Kontrolle wird als eine der folgenden definiert:

a. Duplizierte Verdünnungen einer Testkontrolle oder einer zuvor getesteten Patientenprobe. Die Ergebnisse können mit zuvor definierten akzeptablen Grenzen für Duplikats-Unterschiede verglichen werden. (Dies ist die einzige akzeptable verfahrenstechnische Kontrolle für manuelle Erythrozytenzählungen).

b. Leukozyten- und Thrombozytenzählungen können mit einem geschätzten Wert eines Blutausstriches verglichen werden.

iii. Neu-Methylenblau-gefärbte [in Deutschsprachigen Ländern wird eher Brilliantkresylviolett eingesetzt] Ausstriche können für eine mikroskopische Retikulozytenzählung verwendet werden. Falls die Zählungen im Duplikat durchgeführt werden (2 Ausstriche), sollten die Ergebnisse nicht mehr als 10% voneinander abweichen.

iv. Automatische Retikulozytenzählungen sollten mit dem auf dem Ausstrich beobachteten Anteil an polychromatophilen Erythrozyten übereinstimmen.

v. Der zentrifugierte Hämatokrit (PCV) sollte ungefähr dem Hämatokrit nahekommen, der mit Hilfe des automatischen Blutanalysegerätes unter Verwendung von MCV und Erythrozytenanzahl berechnet wurde. Das Labor sollte die zwischen Tierarten varriierende maximal akzeptable Differenz festlegen.

vi. Die Mean cell hemoglobin concentration (MCHC) überschreitet unter Umständen das obere Referenzintervall, wenn Hämolyse (pathologisch oder in vitro), Lipämie oder Heinzkörperchen in der Probe vorhanden sind. Falls keiner dieser Zustände vorliegt, zeigt ein hoher MCHC wahrscheinlich einen Gerätefehler an.

2.3.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.3.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.4. **Manuelle Untersuchung der Hämatologie von Nicht-Säugetieren**

2.4.1. **Überwachung.** Die interne Überwachung sollte folgendes beinhalten: Überwachung der Reagenz-Zubereitung für die Zellzählungs-Verdünnungslösung (Gütegrad des Wassers für Reagentien, Nachprüfung der Qualität der neuen Charge im Vergleich zur vorherigen)

2.4.2. **Methodenvalidierung** – siehe ebenso Allgemeine Empfehlungen. Die Untersuchenden sollten fachkundig sein in Exoten-Hämatologie, jedoch sind anderweitige Standard-Methodenvalidierungstests durchzuführen. Nicht unbedingt alle im Abschnitt 2.1.2. aufgeführten Methodenvalidierungsexperimente sind für die Überprüfung der Methoden für die manuelle Exoten-Hämatologie anwendbar. Methodenvalidierungstests sollten ausgewählt oder je nach Notwendigkeit angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Methoden zufriedenstellend funktionieren und so den Anforderungen des Labors und den Vorschriften des Herstellers entsprechen.

2.4.3. **Geräte** – siehe ebenso Allgemeine Empfehlungen. Die für das Hämatologie-Verfahren verwendete Ausrüstung (z.B. Zählkammern, kalibrierte Deckgläser für die Zählkammern, Handzähler, kalibrierte Pipetten, Differenzierbänke) sollte in gutem Zustand sein. Routinemäßige Überwachung und regelmäßige Wartung jedes Gegenstandes der Ausrüstung (z.B. jährliche Kalibrierung von Pipetten und Ausgleichsgewichten) sollten durchgeführt und dokumentiert werden. Protokolle

von Wartungen, sowie Fehlfunktionen und Reparaturen sollten angefertigt werden. Abbott Diagnostics, Inc. (Abbott Park, Illinois, USA) hat automatisierte Zellzählungen von einigen Nicht-Säugetierarten mit automatisierten Blutanalysegeräten, wie Cell-Dyn 3500 oder höher, validiert und unterstützt diese. Die Validierung wurde in den Sea World Labors durchgeführt.

- 2.4.4. **Fachwissen.** Das Laborpersonal sollte in der Zellidentifikation für die getesteten Tierarten geschult sein. Es ist wichtig, dass ein umfassendes Fachwissen der tierartigen Abweichungen bei Verwendung von Durchflusszytometrie vorhanden ist, wenn die Überprüfung durch manuelle Methoden erforderlich ist.
- 2.4.5. **Qualitätskontrolle.** Manuelle Leukozytenzählungen unter Verwendung von Zählkammern sind ungenau und haben Variationskoeffizienten, die sich zwischen 20 und 40% bewegen (Schalm, Harr et al. 2005); daher können die Umsetzung von Qualitätskontrolle und statistischer Analyse in einer Signifikanz oder nicht-Signifikanz resultieren, die für den täglichen Betrieb nicht relevant ist. Methodvalidierungsstudien, die für Hai-Arten von J. Arnold (2005) durchgeführt wurden, zeigten einen Variationskoeffizienten vergleichbar zur manuellen Hämatologie für humanmedizinische Leukozytenzählungen, wie sie in der B-D-Packungsbeilage für Unopette 365855 bei Verarbeitung der Probe innerhalb von 5 Stunden der Entnahme beschrieben wird.
 - a. **Reagenzien und Materialien.** Dokumentierte Protokolle für Zellzählungen umfassen die direkte Zählung unter Benutzung von Methyl-Violett (Natt & Herrick 1952) zur Bestimmung von absoluten Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozytenzahlen, die direkte Zählung ohne Färbung (Hawkey 1988) sowie eine indirekte Methode mit Phloxine B Färbung (Campbell 1988) ausschließlich für die absolute Leukozytenzahl. Mit der letzteren Methode werden ausschließlich Zellen mit eosinophilen Granula gefärbt und die absolute Leukozytenzahl wird auf Basis der Prozentzahlen von Heterophilen und Eosinophilen des Differenzialblutbildes berechnet.

Die berichteten Methodvalidierungsstudien zum Vergleich von direkten und indirekten Techniken sind widersprüchlich (Dein 1994; Arnold 1995) und bedürfen weiterer Überprüfung, vorzugsweise basierend auf den Richtlinien zur Methodvalidierung von Westgard, mit einer eher repräsentativen Anzahl an Tierarten. Der Unterschied in den Ergebnissen beruht möglicherweise auf der Ungenauigkeit jeder Methode. Das Verdünnungsmittel, das von Natt und Herrick beschrieben wurde, kann im Labor hergestellt werden und eignet sich für alle Nicht-Säuger-Wirbeltiere; allerdings sind zusätzliche Salze erforderlich, wenn dieses Verdünnungsmittel für einige Meeresschildkröten- und

Knorpelfisch-Arten (Haie, Rochen) verwendet wird, um die Osmolalität der Stammlösung entsprechend anzupassen (Arnold 2005). Die Technik von Hawkey verwendet die Becton-Dickinson Leukozyten-Unopette. Die Methode von Campbell mit Verwendung von Phloxine B Verdünnung ist als Eosinophil Unopette 5877 nicht mehr erhältlich, jedoch können vergleichbare Verdünnungslösungen vom Anwender hergestellt werden.

b. Derzeit sind kommerziell hergestellte Kontrollmaterialien für Blutzellzählungen von Nicht-Säugetieren nicht erhältlich. Verfahrenstechnische Kontrollen beinhalten folgende Punkte:

- i. Duplizierte Verdünnungen einer Patientenprobe, die innerhalb der akzeptablen Zeitgrenze für Probenstabilität durchgeführt wird.
- ii. Leukozytenschätzung von einem Blutausstrich. Jede Institution sollte ein Protokoll zur Erzielung einer verlässlichen Methode für die Evaluierung der Genauigkeit von Zellkammer-Zählungen führen.

Gesamtleukozytenzahlschätzungen könnten aufgrund einer morphologischen Ähnlichkeit Lymphozyten und Thrombozyten schwierig erscheinen, wenn diese bei niedrigerer Vergrößerung betrachtet werden, die typischerweise für Leukozytenschätzungen von Säugetier-Blutzellen verwendet werden.

- c. **Die Befähigung des technischen Personals** sollten jährlich oder häufiger dokumentiert werden, je nach den Vorgaben durch die Institution. Die Prüfung sollte Vergleichszählungen von der gleichen Blutprobe für Gesamtzellzählungen und für Leukozyten-Differenzialblutbilder beinhalten. Die Probenauswahl sollte repräsentativ für die Patientenpopulation sein (Vögel, Reptilien, Knochen- oder Knorpelfische usw.). Die Zellkammerzählungen sollten bis zu 15% übereinstimmen und die Ergebnisse der Differenzialprozentzahlen für jede Zellart sollten innerhalb von 95% des Konfidenzintervalles liegen.

Direkte Zellzählungsmethode – Thrombozyten/Lymphozyten-Fehler. Es mag sich für neu trainierte Laborassistenten oder auch für erfahrene Assistenten bei der Zählung von bestimmten Tierarten als schwierig erweisen, zwischen Thrombozyten und Lymphozyten in der Zellkammer zu unterscheiden. Eine gute Qualitätskontrollprüfung ist die Zählung aller Nicht-Erythrozyten in den neun großen Quadraten der Zählkammer und die Berechnung der absoluten Zellzahl (dies ist nicht der absolute Wert und muss vom Differenzialblutbild korrigiert werden). Erstellen Sie das Differenzialblutbild zweimal, inklusive der Thrombozyten beim ersten Mal und exklusive der Thrombozyten beim zweiten Mal. Die Zahlen der letzteren Zählung werden als die eigentlichen

Differenzialzahlen berichtet. Verwenden Sie die Prozentzahl der Thrombozyten der ersten Zählung, berechnen Sie den absoluten Wert und subtrahieren Sie diese Zahl von der Gesamtzahl, um die Gesamtleukozytenzahl zu bestimmen.

Beispiel: Handzähler von der Zählkammer mit einer 1:100 Verdünnung = 750 Nicht-Erythrozyten Zellen; $750 \times 1,1 \times 100 = 82.500/\mu\text{l}$ für die gesamte Nicht-Erythrozyten Zählung. Das erste Differenzialblutbild = Monozyten (1%), Lymphozyten (9%), Heterophile (8%) und Thrombozyten (82%), damit ist der absolute Wert der Thrombozyten = $0,82 \times 82.500 = 67.650$. Die absolute Leukozytenzahl = $82.500 - 67.650 = 14.850/\mu\text{l}$.

2.4.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.4.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.4.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.5. Harnuntersuchung

2.5.1. **Überwachung** - siehe Allgemeine Empfehlungen

2.5.2. **Methodenvalidierung** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Nicht alle der im Abschnitt 2.1.2. aufgeführten Methodenvalidierungstests treffen unbedingt auf die Bewertung der Urinuntersuchung zu. Methodenvalidierungstests sollten entsprechend ausgewählt und je nach Notwendigkeit angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Methoden/Analysegeräte zufriedenstellend funktionieren, um den Anforderungen des Labors und Bestimmungen des Herstellers zu entsprechen. Anwendbare Methodenvalidierungsverfahren können beinhalten, sind jedoch nicht begrenzt auf Vergleichsmethoden, Tests auf Störsubstanzen (besonders inwiefern die Urinfarbe die Fähigkeit zur visuellen oder automatisierten Urinteststreifenablesung beeinflusst), sowie möglicherweise Feststellungsgrenzen.

2.5.3. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Die Geräte, die in der Urinuntersuchung angewandt werden sind begrenzt, doch schließt automatisierte Urinteststreifenlesegeräte mit ein. Automatisierte Urinteststreifenlesegeräte sollten je nach den Bestimmungen des Herstellers gewartet und bedient werden. Geeignete Funktionsüberprüfungen sollten je nach Bedarf durchgeführt werden, um eine angemessene Leistungsfähigkeit des Gerätes zu gewährleisten.

2.5.4. Fachwissen

- a. Das Verständnis der Auswirkungen von Probenveränderungen auf Testparameter, z.B. von Hämoglobinurie auf die Proteinbestimmung.
- b. Wissen über spezies-spezifische Kristallurien und zu erwartende Befunde.
- c. Wissen über häufige Probleme, die mit tiermedizinischen Urinproben auftreten und möglicherweise zu fehlerhaften Ergebnissen führen können, z.B.

Auswirkungen von Konservierungsstoffen auf Testergebnisse, Urinproben die fälschlicherweise mit Einstellungen für Serumproben analysiert werden.

- d. Wissen über die im Labor verwendete Urinteststreifen-Methodik sowie häufige Interferenzen für diese Methode.
- e. Geeignete Verwendungen von Kriterien für Wiederholungstests: Festlegung durch das Labor und basierend auf klinischer Bedeutsamkeit der Testwerte, z.B. Kristallidentifikation, Bestätigung von Protein durch semi- oder analytische Quantifizierung, Bestätigung von Glukose. Tablettenmethoden können erforderlich sein, falls intensiv verfärbter Urin die Ablesung von Urinteststreifen beeinträchtigt. Auf dem Arbeitsblatt und dem Bericht sollten wiederholte Tests dokumentiert werden oder korrigierte Berichte beigefügt werden (falls erforderlich).

2.5.5. Qualitätskontrolle

a. Assays

i. Physikalische Tests (Aussehen [Farbe, Klarheit], spezifisches Gewicht [Schätzung durch Refraktometrie])

ii. Chemische Tests

1. Urinteststreifen-Untersuchung
2. Bestätigungstests (Glucose [Tablette], Bilirubin [Tablette], Ketone [Puder oder Tablette], Sulfosalizylsäure-Präzipitations-Test für Protein)

b. Qualitätskontrolle für Urinteststreifen und für spezifisches Gewicht von Urin.

Urinuntersuchungs-Kontrollmaterialien zum Testen der Genauigkeit von Urinteststreifen sind für menschlichen Urin erhältlich. Die Häufigkeit zur Testung der Qualitätskontrolle ist abhängig von der Anzahl der vom Labor durchgeführten Analysen und kann zwischen täglicher QK-Testung bis hin zur Testung der QK von jedem neu geöffneten Behälter mit Urinteststreifen variieren. Die Genauigkeit von Refraktometern sollte in regelmäßigen Intervallen unter Verwendung von destilliertem Wasser überprüft werden (SG 1.000) (George 2001).

c. Mikroskopische Urinsedimentuntersuchung: Standardisierung des Verfahrens

i. Die mikroskopische Sedimentuntersuchung von veterinärmedizinischen Urinproben bedarf einer gründlichen Ausbildung. Lehrbücher, Tabellen und Poster von geformten Bestandteilen im Urin von verschiedenen Tierarten sollten dem Untersuchenden zugänglich sein. Die Details zur Durchführung der Untersuchung und der zu berichtenden Ergebnisse können in der Standardarbeitsanweisung des Labors umrissen oder ausführlich beschrieben werden.

ii. Ein Standardvolumen an Urin wird für die Vorbereitung des Urinsedimentes verwendet (z.B. 5 oder 10 ml, abhängig von der Tierart und dem angeforderten Test). Konische Zentrifugationsröhrchen sollten bei einer niedrigen Umdrehungszahl zentrifugiert werden, z.B. 400 – 500 G für 5 Minuten. Eine hohe relative Zentrifugalkraft und zu lange Zentrifugationsdauer zerstören Zylinder und Zellbestandteile. Relative Zentrifugalkraft = $1.118 \times 10^{-5} \times \text{Radius des Armes (cm)} \times \text{Umdrehungen/min}$.

iii. Der Überstand wird durch Abgießen oder Pipettieren entfernt, damit ein konstantes Volumen an Überstand bei den Zellbestandteilen verbleibt (vorzugsweise ein Volumen von 0.5 ml). Die Zellbestandteile werden durch vorsichtiges Mischen wieder in der verbleibenden Flüssigkeit verteilt.

iv. Eine Färbung kann zu dem Sediment hinzugefügt werden, um die Identifizierung von Sedimentbestandteilen zu erleichtern. Eine einheitliche Anzahl an Tropfen sollte durch vorsichtiges Vermischen hinzugefügt werden. Eine zusätzliche Verdünnung von Zellbestandteilen durch das Volumen des Färbemittels sollte in die Endergebnisse mit einberechnet werden. Ersatzweise kann ein konstantes Volumen an Sediment durch Ersatz des Überstandvolumens durch Färbemittel aufrechterhalten werden.

v. Eine Pipette wird zur Übertragung von einem oder zwei Tropfen an Sediment auf den Objektträger verwendet, abhängig von der Deckglasgröße. Es ist wichtig, dass das verwendete Sedimentvolumen, die Anzahl an Sediment-Tropfen und die Deckglasgröße innerhalb des Labors konstant gehalten werden.

vi. Alternative Methoden für die standardisierte Untersuchung von Urinsediment sind verfügbar (z.B. volumetrische Zählgitter, automatisierte Methoden), jedoch werden diese nicht oft in der Veterinärmedizin verwendet. Die Einführung einer neuen Methodik sollte durch vorhergehende Methodvalidierungsstudien überprüft werden.

d. Die mikroskopische Urinsedimentuntersuchung: Auszählung der Bestandteile

i. Die Sedimentbestandteile werden bei niedriger Vergrößerung (x100 oder low-power field; LPF) und nachfolgender trockener, höherer Vergrößerung (x400 oder high-power field; HPF) und selten in der Ölimmersions-Vergrößerung (x1000) untersucht. Verschiedene Formate zur Angabe von Grad und Mengen an geformten Bestandteilen werden verwendet. Absolute Zahlen haben viele Vorteile. Die niedrigen und höheren Mengen jedes Bestandteiles werden angegeben, die als Durchschnitt von 10 Feldern beobachtet werden. Ersatzweise kann auch ein 0 bis 3+ oder 0 bis 4+ Stufensystem verwendet werden, wenn klar formulierte Kriterien für die Untersuchenden festgelegt sind. Diese Information sollte den Klinikern oder Kunden zur Verfügung stehen. Das Standardverfahren

für die Urinsedimentuntersuchung sollte klar die Untersuchungsmethode und Angabe von Sedimentbestandteilen beschreiben.

ii. Die niedrige Vergrößerung (LPF) wird für die Auszählung von Zylindern benutzt. Zylinder werden nach Art und Anzahl pro LPF berichtet. Die niedrige Vergrößerung kann ebenso für die allgemeine Begutachtung der Verteilung von Kristallen, Epithelzellen und Hintergrundbestandteilen (Schleim, Spermien, Lipidtröpfchen, Hefen usw.) verwendet werden.

iii. Stärkere Vergrößerungen (HPF) werden für die Erfassung von Erythrozyten, Leukozyten und eventuellen Kristallen, Epithelzellen und Bakterien angewendet.

iv. Die Ölimmersionsvergrößerung kann für die Einschätzung von Konzentration und Morphologie von Bakterien und anderen zellulären Bestandteilen benutzt werden.

v. Die Beobachtung von Mikroorganismen (z.B. bakterielle Bazillen oder Kokken, Hefeorganismen) in ungefärbten oder gefärbten Feuchtpräparaten sollte mit einer schnell durchzuführenden Färbung oder Gram-Färbung unter Verwendung eines luftgetrockneten Objektträger-Ausstriches bestätigt werden. Dieser Objektträger kann direkt vom ursprünglichen Urin oder von konzentriertem Urinsediment angefertigt werden.

2.5.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.5.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.5.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.6. Zytologie

2.6.1. **Überwachung.** Ausrüstung und Reagenzien für die Vorbereitung und Analyse von zytologischen Präparaten sollten im Einklang mit den Maßstäben guter Laborpraktiken gewartet und gepflegt werden, so wie es in den Abschnitten für die klinische Chemie und Hämatologie detailliert beschrieben ist.

2.6.2. **Methodenvalidierung** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Nicht alle Methodenvalidierungsexperimente im Abschnitt 2.1.2. sind notwendigerweise auf die Evaluierung von zytologischen Methoden anwendbar.

Methodenvalidierungsexperimente sollten je nach Notwendigkeit ausgewählt und angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Testverfahren/Analysegeräte zufriedenstellend funktionieren und den Anforderungen des Labors sowie den Bestimmungen des Herstellers entsprechen.

2.6.3. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen.

2.6.4. Fachwissen

- a. Das technische Laborpersonal sollte darin geschult sein, Proben makroskopisch zu untersuchen (z.B. Flüssigkeitsfarbe, Klarheit), sowie alle relevanten Tests (Routine- und Spezialtests, z.B. Muzin-Präzipitationstest) durchzuführen.
- b. Das Laborpersonal sollte über häufige Probleme, verbunden mit der Probenvorbereitung, Bescheid wissen und sollte mit Methoden zur Fehlerbehebung vertraut sein, um Probleme lösen zu können.
- c. Die Person, die veterinärmedizinische Proben interpretiert, vorzugsweise der Labordiagnostiker, sollte eine entsprechende Ausbildung in Zytopathologie nachweisen können und über zytologische Befunde aller Tierarten sowie aller zytologischer Probenarten Bescheid wissen, die im Labor zu erwarten sind.
- d. Es sollten geeignete Wege für eine zweite Meinung vorhanden sein, sowie Möglichkeiten zur zusätzlichen Überprüfung mit einem Zytopathologen, falls erforderlich oder erwünscht.
- e. Es sollte danach gestrebt werden, die diagnostische Genauigkeit von zytologischen Interpretationen zusichern zu können. Dies kann folgende Punkte beinhalten, ist aber nicht nur begrenzt auf diese:
 - i. Übereinstimmung von Befunden der histologischen und zusätzlichen zytologischen Proben.
 - ii. Nachfolge-Information bezüglich des Zustandes des Patienten und/oder Ansprechen der Therapie
 - iii. Peer-Review-Gutachten von ausgewählten Proben durch einen weiteren Zytologen/Zytopathologen, um festzustellen, ob Besonderheiten übersehen, über- oder unterinterpretiert wurden.
 - iv. Übereinstimmung mit anderen diagnostischen Modalitäten, z.B. Röntgen, Ultraschall, mikrobiologische Kultur usw.
 1. Der Zytopathologe sollte fachkundig bezüglich zusätzlicher Testverfahren sein.
 2. Der Zytopathologe sollte technische Aspekte von Probenhandhabung und -bearbeitung mit dem Laborpersonal besprechen und bei Bedarf Beratung anbieten.
 3. Der Zytopathologe sollte in der Lage sein, mit dem Kunden wichtige präanalytische, analytische und postanalytische Einflussfaktoren mitzuteilen. Diese können beinhalten:
 - Information über die Eignung einer Probe
 - Vorgeschlagene Änderungen der Technik
 - Möglichkeiten für zusätzliche Tests
 - Diagnosen oder Differenzialdiagnosen

- Prognose oder Überwachung
- Behandlungsempfehlungen auf Basis von Erfahrung oder Fachwissen. Falls der Zytologe/Zytopathologe nicht in Therapiemöglichkeiten erfahren ist, sollte er/sie dem Kunden empfehlen, sich mit einem Spezialisten zu beraten.

- 2.6.5. **Qualitätskontrolle** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Zytopathologen sind maßgebend für die Qualitätskontrolle, da sie die meisten oder alle zytologischen Proben und Präparate des Labors bearbeiten und von der Verlässlichkeit der Produkte für ihre Interpretationen und Empfehlungen abhängig sind. Daher ist ein gutes Arbeitsverhältnis zwischen dem Laborpersonal und den Zytopathologen entscheidend. Die Qualitätskontrolle sollte als Teil der Zytologiepräparateerstellung und Analyse für die verwendeten Arten der Proben, Färbungen und Testverfahren geeignet sein. Diese können mit jedem Labor, Art der zytologischen Verarbeitung und Vorlieben des Zytopathologen variieren. Die Gesamtzellzählungen der kernhaltigen Zellen von automatischen Analysegeräten oder der manuellen Methode (Zählkammer) sollte mit der Zelldichte auf dem Ausstrich übereinstimmen, falls direkte Ausstriche vorbereitet werden. Die Ausrüstung zur Bestimmung von absoluten Zellzahlen der kernhaltigen Zellen sollte ebenso überwacht werden wie für die Hämatologie (siehe Abschnitt Hämatologie).
- 2.6.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen
- 2.6.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen
- 2.6.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.7. Blutgerinnung

- 2.7.1. **Überwachung** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.7.2. **Methodenvalidierung** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Nicht alle der Methodenvalidierungsexperimente im Abschnitt 2.1.2. sind notwendigerweise auf die Evaluierung von Blutgerinnungsanalysegeräte anwendbar. Methodenvalidierungsexperimente sollten je nach Notwendigkeit ausgewählt und angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Testverfahren/Analysegeräte zufriedenstellend funktionieren und den Anforderungen des Labors sowie den Bestimmungen des Herstellers entsprechen.
- 2.7.3. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.7.4. **Fachwissen** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.7.5. **Qualitätskontrolle für die Blutgerinnung** – siehe ebenso Allgemeine Empfehlungen
- a. **Assays**
- i. Thrombozytenzählung und –schätzung

- ii. Thrombozytenmorphologie
- iii. Thrombozytenfunktionstests (Adhäsion, Aggregationen, Sekretion, PFA100, BMBT – buccal mucosal bleeding time [Wangenschleimhaut-Blutungszeit], DNA-Tests)
- iv. Thrombozyten-Antikörper-Tests
- v. aktivierte partielle Thromboplastin Zeit (aPPT)
- vi. Prothrombin Zeit (PT)
- vii. Thrombin Zeit (TT) oder Thrombin-Gerinnungszeit (TCT)
- viii. Fibrinogen-Konzentration
- ix. Gerinnungsfaktoren-Tests (funktionell, DNA)
- x. Von Willebrand-Faktor-Tests (quantitativer ELISA, qualitative CBA, Multimerenanalyse, BMBT, relevante Thrombozytenfunktionstests, DNA-Mutations-spezifisch)
- xi. Fibrin(ogen)spaltprodukte (FDP) and D-Dimer-Konzentrationen
- xii. Antithrombin-Test
- xiii. Protein C- und S- Assays
- xiv. Thromboelastographie
- xv. Thrombinbildungstest
- xvi. Fibrinolyse-Tests

b. Empfehlungen

- i. Individuelle Labors sollten entsprechende Stundenzahlen und/oder Arbeitsschichten für die Durchführung von Blutgerinnungstests festlegen. Thrombelastographie-Studien sollten vor der Analyse vorbereitet werden.
- ii. Handgeräte sollten entsprechend der Empfehlungen des Herstellers regelmäßig kalibriert werden. Falls eine elektronische Qualitätskontrolle verfügbar ist, sollte sie nach den Bestimmungen des Herstellers durchgeführt werden. Eine externe Qualitätskontrolle ist empfehlenswert bei Änderung der Chargennummer des Reagenz, Laufrades usw., einer Veränderung oder Schaden am Gerät, oder bei anderen klinischen Bedenken. Für Tischgeräte sollte mindestens 1 Stufe an Kontrollmaterial in jeder Arbeitsschicht überprüft werden, falls ein Blutgerinnungsprofil angefordert ist. Dies kann vor oder während der Testung von Patientenproben durchgeführt werden.
- iii. Patienten- und Kontrollproben sollten im Duplikat getestet werden.
- iv. Die Daten werden in % von gepaarten Proben ausgedrückt; Intervalle stehen meist zur Verfügung und % der Abweichung der Kontrolle wird verwendet.

2.7.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.7.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.7.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.8. Kreuzprobe

- 2.8.1. **Überwachung** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.8.2. **Methodenvalidierung** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Nicht alle Methodenvalidierungsexperimente im Abschnitt 2.1.2. sind notwendigerweise auf die Evaluierung von Kreuztestmethoden anwendbar. Methodenvalidierungsexperimente sollten je nach Notwendigkeit ausgewählt und angepasst werden, um sicherzustellen, dass neue Testverfahren/Analysegeräte zufriedenstellend funktionieren und den Anforderungen des Labors sowie den Bestimmungen des Herstellers entsprechen.
- 2.8.3. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.8.4. **Fachwissen** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
- 2.8.5. **Qualitätskontrolle** – siehe Allgemeine Empfehlungen.
 - a. Assays
 - i. Ein großer Kreuztest besteht in der Reaktion von Patientenserum/-plasma mit einer Suspension von Spender-Erythrozyten in phys. Kochsalzlösung.
 - ii. Ein kleiner Kreuztest, der durchführbar ist, wenn Vollblut des Spenders vorliegt, besteht aus der Reaktion einer Suspension von Patienten-Erythrozyten in phys. Kochsalzlösung mit Spenderserum oder -plasma.
 - b. Empfehlungen
 - i. Falls Serum für den Kreuztest verwendet wird, sollte dieses nach Gerinnung sobald wie möglich von den Erythrozyten getrennt werden. Die Proben sollten auf Hämolyse untersucht und entsprechend eingestuft werden, mit 1+ Hämolyse als mild und 4+ Hämolyse als hochgradig. Serum- (oder Plasma-) Proben mit 3+ oder 4+ Hämolyse sollten nicht angenommen werden, wobei strengere Rückweiskriterien im Sinne von 1+ Hämolyse verwendet werden können. Hämolytierte Sera oder Plasma können eine inkompatible hämolytische Reaktion kaschieren (Lippi 2006; Giger, persönliche Kommunikation).
 - ii. Führen Sie Patienten- und Spender-Autokontrollen durch, um sicherzustellen, dass Reagenzien, wie z.B. Verdünnungsmittel, und Ausrüstung entsprechend funktionieren. Autokontrollen sollten als Parallelen mit und identisch zu den großen und kleinen Kreuztestproben gehandhabt werden.
 - 1. Patienten-Autokontrollen bestehen aus aufgetrenntem Patientenserum/-plasma und einer Kochsalzsuspension mit gewaschenen Erythrozyten des Patienten.
 - 2. Wenn Vollblut des Spenders vorliegt, dann besteht die Spender-Autokontrolle aus abgetrenntem Spenderserum/-plasma und einer Kochsalzsuspension von gewaschenen Erythrozyten des Spenders.

iii. Vermeiden Sie übermäßiges Schütteln und Klopfen, da dadurch möglicherweise falsch negative Ergebnisse durch Zerreißen von zerbrechlichen Aggregaten erzeugt werden können.

iv. Starke Rouleaux-Bildung kann eine echte Agglutination vortäuschen. Eine Verdünnung mit phys. Kochsalzlösung kann verwendet werden, um eine Rouleaux-Bildung aufzulösen.

v. Falsch positive Ergebnisse können sekundär durch unzureichendes Waschen entstehen.

vi. Da sehr kleine Fibringerinnsel im Plasma möglicherweise Pseudo-Agglutination verursachen können, ist es möglich, dass falsch positive Ergebnisse bei der Durchführung von Kreuztestreaktionen entstehen können.

vii. Falsch negative Ergebnisse können sekundär entstehen, wenn Erythrozytensuspensionen zu sehr verdünnt oder zu konzentriert sind.

2.8.6. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen. Verfahren für Kreuztests können zwischen Labors und Tierarten variieren. Spezielle Protokoll-Empfehlungen gehen über diese Richtlinien hinaus. Die Erstellung von Kreuztestverfahren oder deren Aneignung in einem vertrauten Labor werden empfohlen.

2.8.7. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.8.8. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.9. Radioimmuno-Assay (RIA)

2.9.1. **Gesetzliche Regelungen für RIA.** Gesetzliche Regelungen und Lizenzbestimmungen können zwischen Stadt, Bundesland, und Land variieren. Im Allgemeinen sind minimale Anforderungen der sicheren Handhabung von Radioisotopen vorgeschrieben. Die Bestimmungen beinhalten Personal-Sicherheitstraining, die Überwachung von radioaktiven Isotopen, angemessene Entsorgung von Radioisotopen und periodische Inspektion. Eine Lizenzierung wird für die Anschaffung von radioaktiven Isotopen angefordert. Ein Labor, das an der Durchführung von RIAs interessiert ist, sollte vor der Einführung dieser Testverfahren ermitteln, ob es diesen Standards entspricht und demzufolge eine Zulassung erwerben kann.

2.9.2. **Überwachung** – siehe Allgemeine Empfehlungen.

2.9.3. **Methodenvalidierung.** Jeder RIA sollte für die Tierart, für die er verwendet wird, validiert werden. Die Validierung sollte eine der im Folgenden aufgeführten Methoden beinhalten.

a. Publikationen in Peer-Review-begutachteten veterinärmedizinischen Fachzeitschriften von speziellem Interesse (falls verfügbar) sollten nachgelesen werden. Es ist keine gute Vorgehensweise, sich alleine auf die

Testung durch den Hersteller zu verlassen. Der Test sollte unabhängig davon validiert werden.

- b. Falls der Test nicht durch unabhängige Validierung überprüft werden kann, dann ist die folgende minimale Überprüfung notwendig:
 - i. **Kurzzeit-Replikationsstudie** (Wiederholbarkeit):– ein Minimum an 10 Datenpunkten. 20 Datenpunkte können die Genauigkeit der Schätzung erhöhen.
 - ii. **Langzeit-Replikationsstudie** (Genauigkeit) – ein Minimum an 10 Datenpunkten. 20 Datenpunkte können die Genauigkeit der Schätzung erhöhen.
 - iii. **Korrekturverfahren** – Verwenden Sie eine gereinigte natürliche Substanz für jede Tierart, wenn auch immer möglich. Die Korrektur sollte unter Verwendung von hohen und niedrigen Konzentrationen durchgeführt werden.
 - iv. **Überprüfung auf Störsubstanzen**, einschließlich Hämolyse, Lipämie, Bilirubinämie, Medikamenten-Wechselwirkungen usw.
 - v. **Parallelität** – Verdünnungen und Details der Linearität.
 - vi. **Referenzintervalle** sollten für jeden Test aufgestellt und aufrecht erhalten werden. Wir verweisen auf die ASVCP Richtlinien für Referenzintervalle und Entscheidungs-Schwellenwerte.
 - vii. **Standardkurven** sind für jeden Test notwendig. Einige Gammazähler können Kurven abspeichern. Falls dies in die Routinetestung mit eingebaut ist, sollte eine Validierung des Testverfahrens vorhanden sein.

2.9.4. **Geräte** – siehe Allgemeine Empfehlungen.

2.9.5. **Fachwissen** – siehe Allgemeine Empfehlungen.

2.9.6. **Qualitätskontrolle**

- a. Ein Minimum an 3 Kontrollmaterialien sollte mit jedem Testdurchlauf mitgetestet werden. Diese beinhalten kommerzielle Kontrollen für hohe, normale und niedrige Werte oder betriebsintern erstellte Proben.
- b. Die Interpretation von RIA-Ergebnissen hängt häufig von der Methodik und von laboreigenen Referenzwerten ab, was die Verwendung von einigen Arten an externen Kontrollsystemen erschwert. Es wird empfohlen, bei der Verwendung von externen Kontrollmaterialien zusätzlich laboreigene Materialien zu analysieren und die Interpretation zu vergleichen.
- c. Externe Kontrollen sollten mindestens vierteljährlich durchgeführt und in Diagrammen festgehalten werden.
- d. Über alle Kontrollmaterialien sollte Buch geführt werden, und Diagramme sowie Werte sollten dem Testpersonal leicht zugänglich sein. Levy-Jennings-Diagramme sind akzeptabel.
- e. Ein Aktionsplan mit Details zur Akzeptanz oder Rückweisung von Patientenprobenergebnissen auf Basis von Kontrollwerten sollte vorhanden sein.

- f. Falls das Testverfahren je nach Ausführungen des Herstellers oder veröffentlichten Publikationen verändert wird (z.B. nur 1 Röhrchen pro Patient), sollte eine entsprechende Dokumentation vorhanden sein, die demonstriert, dass Testpräzision und Genauigkeit noch akzeptabel sind und innerhalb der Vorgaben liegen.

2.9.7. **Verfahrens-Leitfaden** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.9.8. **Testvergleich** – siehe Allgemeine Empfehlungen

2.9.9. **Durchführung von Ausser-Haus-Tests** – siehe Allgemeine Empfehlungen

3. Wichtige postanalytische Faktoren für die veterinärmedizinische Labordiagnostik

- 3.1. **Datenüberprüfung.** Das Labor sollte ein Verfahren für eine geeignete, doppelte Laborassistenten-Überprüfung, sowie Prüfung durch Laborleiter und/oder Labordiagnostiker erstellen, das Proben und/oder Ergebnisse beinhaltet. Die Überprüfung kann spezifisch für problematische Tests, Proben-Parameter und/oder klinische Bedeutung von Testergebnissen ausgerichtet sein.
- 3.2. **Dateneingabe und Befundung.** Befunde sollten genau sein, unabhängig ob sie manuell oder elektronisch in der Datenbank erstellt wurden. Die Daten sollten in einem Standardformat eingegeben werden, das vom Labor vorgegeben wird. Falls eine klinisch bedeutsame Ungenauigkeit vorliegt, sollten die Ergebnisse deutlich den Fehler definieren oder die Ergebnisse sollten nicht berichtet werden.
- 3.3. **Befundstellung.** Die Laborbefunde sollten in einem gut leserlichen und einfach verständlichen Format verfasst werden, das je nach Notwendigkeit geeignete Hinweise oder Erklärungen enthält. Die Berichte sollten im Verhältnis zu präanalytischen und analytischen Komponenten zudem zügig erstellt werden. Das Labor sollte eine Kopie aller Befunde sowie jegliche begleitende Arbeitsblätter zurückbehalten. Jeder Assistent oder Labordiagnostiker, der mit dem Ablauf oder der Interpretation an jeglicher Stufe des Verfahrens involviert ist, sollte den Bericht mit Initialen und Datum versehen.
 - 3.3.1. Durchführung von Ausser-Haus-Tests (Aussendungen): Die Kunden sollten über solche Tests informiert werden, die von anderen Labors durchgeführt werden.
 - 3.3.2. Jede Art von möglicherweise ungenauen Ergebnissen sollten übersichtliche und klare Bemerkungen im Bericht an den Kliniker beinhalten, die deutlich darauf hinweisen, dass die Werte ungenau und irreführend sein können und sollten begründende Details aufführen.
- 3.4. **Befundübermittlung.** Die Befundübermittlung sollte zügig erfolgen, an den korrekten Kunden und in einer Art und Weise, die vom Kunden und vom Labor vereinbart wurde.
- 3.5. **Probenlagerung.** Die Proben sollten unter geeigneten Bedingungen für einen zuvor festgelegten Zeitraum gelagert werden. Dieser Zeitraum wird aufgrund von Probenstabilität, Laborrichtlinien und/oder Zertifikations-/Zulassungs-Bestimmungen

festgelegt. Gefärbte Mikroskopie-Ausstriche können beliebig lange gelagert werden, wohingegen Proben wie Urin, Blut oder Körperhöhlenergüsse eine begrenzte Lagerzeit mit sich bringen. Im Allgemeinen sollten Blutproben von Vögeln nicht länger als 12 Stunden gelagert werden (einschließlich Transportzeit), wobei Blutproben von Reptilien länger als 24 Stunden gelagert werden können. Vollblutproben können bei -20°C für DNA-Analysen und bei -70°C für RNA-Analysen gelagert werden. Proben in frostfreien Gefriertruhen können möglicherweise durch wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen abgebaut werden.

- 3.6. **Probenentsorgung.** Laboratorien sollten biologisch gefährliche und nicht gefährliche Materialien und Proben geeignet und sicher entsorgen. Dies sollte die zeitgerechte Entleerung aller Behältnisse und Abfallkontainer mit einschließen.
- 3.7. **Personalsicherheit** – siehe präanalytische Empfehlungen
- 3.8. **Laborumgebung.** Nach Ausführung eines Testverfahrens sollte der Laborplatz gesäubert und in Vorbereitung für folgende Untersuchungen dementsprechend organisiert werden. Die Ausrüstung sollte gut instandgehalten werden, damit sie zu jeder Zeit einsatzbereit ist. Siehe präanalytischer Abschnitt für zusätzliche Empfehlungen.
- 3.9. **Anforderungen an das Laborpersonal** – siehe präanalytischer Abschnitt
- 3.10. **Verschiedenes.** Sobald die Analysen im Labor ausgeführt wurden, sollte der Bestand an Reagenzien und Verbrauchsmaterialien überprüft werden, und verbrauchte Artikel sollten wieder bestellt werden. Ein gut gepflegtes Inventursystem und eine Liste mit anerkannten Lieferanten stellen sicher, dass qualitativ hochwertige Materialien zu jeder Zeit zur Verfügung stehen.

Literaturverzeichnis

Links

www.aacc.org	American Association for Clinical Chemistry; ebenso zu finden unter DACC (Division of Animal Clinical Chemistry)
www.aavld.org	American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians
www.acvim.org	American College of Veterinary Internal Medicine
www.acvp.org	American College of Veterinary Pathologists
www.asvcp.org	American College of Veterinary Clinical Pathology
www.avma.org	American Veterinary Medical Association
www.bloodgas.org	
www.clsi.org	Clinical and Laboratory Standards Institute; formerly known as NCCLS
www.esvcp.org	European College/Society of Veterinary Clinical Pathology
www.isacp.org	International Society for Animal Clinical Pathology
www.labtestsonline.org	
www.scireg.com	Science & Regulatory Consultants
www.sqa.org	Society of Quality Assurance
www.toxpath.org	Society of Toxicologic Pathology
www.westgard.com	Westgard QC

Regulierende Behörden

www.fda.gov	US Food and Drug Administration
www.cdc.gov/clia	Clinical Laboratory Improvement Amendments
http://wwwn.cdc.gov/clia/regs/toc.aspx	Current CLIA Regulations (2004)
http://wwwn.cdc.gov/clia/pdf/42cfr493_2004.pdf	Part 493 Laboratory Requirements
http://www.gpoaccess.gov/cfr/index.html	Alternative site for Part 493 (CFR)

Publikationen

1. Good Laboratory Practice Regulations for Nonclinical Laboratory Studies Guidelines. Title 21 Code of Federal Register, subchapter A, part 58. Federal Drug Administration(FDA), US Dept. of Health and Human Services (USHHS)
<http://www.nal.usda.gov/awic/legislat/21cfr97.htm>
2. Environmental Protection Agency, Good Laboratory Practice Standards: 40 CFR part 792(Toxic Substance Control Act)
<http://law.justia.com/us/cfr/title40/40-31.0.1.1.3.html>
3. Environmental Protection Agency, Expert in Laboratory Management; Quality Assurance/Control: 40 CFR part 160 (Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act)
<http://www.intota.com/expert-consultant.asp?bioID=605165&perID=717458>
4. Guidance for Industry, E6 Good Clinical Practice: Consolidated Guidance. USHHSFDA. Covering recent topics such as Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drugs, General Principles of Software Validation, Bioanalytical Method Validation,

and Part 11, Electronic Records; Electronic Signatures --Scope and Application.

<http://www.fda.gov/cder/guidance/959fnl.pdf>

5. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. US Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, NIH Publication No. 8623, Revised 1996.

http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=5140

6. Office of Laboratory Animal Welfare website

<http://grants.nih.gov/grants/olaw/references/phspol.htm>

Zitierte Publikationen

1. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. 1998. The effect of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9:463–470.
2. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. 1998. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence of citrate concentration. *Am J Clin Pathol* 9:595–599.
3. Albasan H, Lulich JP, Osborne CA, et al. Effects of storage time and temperature on pH, specific gravity, and crystal formation in urine samples from dogs and cats. *J Amer Vet Med Assoc* 2003;222:176-179.
4. Allen TA, Jones RL, Purvance J. Microbiologic evaluation of canine urine: direct microscopic examination and preservation of specimen quality for culture.
5. Arnold, J. Hematology of the Sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *J Vet Clin Pathol*; 2005; 34:115-123.
6. Arnold, J. White blood cell count discrepancies in Atlantic loggerhead sea turtles: Natt-Herrick vs. Eosinophil Unopette®. *Proc Assoc Zoo Vet Tech Conf.* 1994:15-26.
7. Arnold, J., Gargan, C, Belovarac, J. Method Validation Study for Total White Blood Cell Counts: Natt-Herrick versus Eosinophil Unopette® Methods. *Proc Assoc Zoo Vet Tech Conf.* 2007: 49.
8. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; i:307-310.
9. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. 2002. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem* 48:691–698.
10. Boral L, JB Henry. The Crossmatch. In: *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Bernard and Henry, 18th ed. 1991.
11. Carter JM, Klausner JS, Osborne CA, Bates FY. Comparison of collection techniques for quantitative urine culture in dogs. *J Amer Vet Med Assoc* 1978;173(3):296-8.
12. Dale JC, Novis DA. 2002. Outpatient phlebotomy success and reasons for specimen rejection. *Arch Pathol Lab Med* 126:416–419.
13. Dein, FJ, Avian Leukocyte Counting Using the Hemacytometer, *J Zoo Wild Anim Med*; 1994; 25:3.
14. Fiebig EW, Etzell JE, Ng VL. 2005 Clinically relevant differences in prothrombin time and INR values related to blood sample collection in plastic vs glass tubes. *Am J Clin Pathol* 124:902–909.
15. Friedrichs KR, Young KM. Using an independent quality control software program, EZ

- Runs, to monitor quality control procedures for a bench-top coagulation analyzer. *Veterinary Clinical Pathology* 2005; 34(3):218-223
16. George JW. Refractometers in veterinary laboratory medicine: an historical and technical review. *Vet Clin Pathol* 2001;30:201-210.
17. Glick, M., Ryder, K., & Glick, S. *Interferographs: User's Guide to Interferences in Clinical Chemistry Instruments*. 1991. Indianapolis, IN: Science Enterprises, Inc.
18. Goulden BE. Assessment of the usefulness of the examination of a gram smear of fresh uncentrifuged urine in the determination of significant bacteriuria in dogs. *N Z Vet J* 1968;16(1-2):1-2.
19. Harr KE, Raskin R, Heard DJ. 2005. Temporal Hematologic and Biochemical Effects of Three Commonly Used Anticoagulants on Macaw (*Ara sp.*) and Burmese Python (*Python molurus bivittatus*) Blood. *Vet Clin Pathol*. 34(4):383-388.
20. Hegstad-Davies, RL. 2006. A review of sample handling considerations for reproductive and thyroid hormone measurement in serum or plasma. *Theriogenology*. 66(3):592-598.
21. Hyloft-Peterson P, Stöckl D, Blaabjerg O, Petersen B, Birkemose E, Thenpont L, Flensted Lassen J, Kjeldsen J. Graphical interpretation of analytical data from comparison of a field method with a reference method by use of difference plots (opinion). *Clinical Chemistry*. 1997; 43:2039-2046.
22. Jensen AL, Kjeldgaard-Hansen M. Method comparison in the clinical laboratory. *Veterinary Clinical Pathology* 2006; 35(3):276-286.
23. Kratz A, Stanganelli N, Van Cott EM. 2006. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: a comprehensive study. *Arch Pathol Lab Med* 130:39-44.
24. Lippi, G, Franchini, Montagnana, M, et al., 2006. Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample? *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 17:1-7.
25. Natt MP, Herrick, CA. New blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poult Sci*. 1952; 31:735-738.
26. Osborne CA, Stevens JB. *Urinalysis: A clinical guide to compassionate patient care*. Shawnee Mission, KS: Bayer Corporation; 1999:17-24, 51-62, and 125-131.
27. Padilla J, Osborne CA, Ward GE. Effects of storage time and temperature on quantitative culture of canine urine. *J Amer Vet Med Assoc* 1981;178(10):1077-81.
28. Rabinovitch A, Arzoumanian L, Curcio KM, Dougherty B, Halim A. *Urinalysis – approved guideline*, 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute document GP16A3, 2009.
29. Raskin RE, Murray KA, Levy JK. Comparison of home monitoring methods for feline urine pH measurement. *Vet Clin Path* 2002;31:51-55.
30. Stöckl D, Dewitte K, Thienpont M. Validity of linear regression in method comparison studies: limited by the statistical model of the quality of the analytical data? *Clinical Chemistry*. 1998; 44(11):2340-2346
31. Sturgess, CP, Hesford A, Owen H and Privett R. An investigation into the effects of storage on the diagnosis of crystalluria in cats. *J Fel Med Surg* 2001;3:81-85.
32. Swenson CL, Boisvert AM, Kruger JM, Gibbons-Burgener SN. Evaluation of modified Wright-staining of urine sediment as a method for accurate detection of bacteriuria in dogs. *J Amer Vet Med Assoc* 2004;224(8):1282-9.

33. Tietz NW. A model for a comprehensive measurement system in clinical chemistry. *Clinical Chemistry*. 1979; 25(6):833-839.
34. Valenstein PN, Sirota RL. 2004. Identification errors in pathology and laboratory medicine. *Clin Lab Med* 24:979–996.
35. Westgard JO, Cary RN, Sold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. *Clinical Chemistry*. 1974; 20(7):825-833.

Bücher/Buchkapitel

- 1) Belford, C. and Lumsden, J.H. Cytopathology. In: *Manual of Small Animal Clinical Pathology*. Davidson, M, Else, R.E. and Lumsden, J. (eds). British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, 2998.
- 2) Bellamy JEC, Olexson DW. *Quality Assurance Handbook for Veterinary Laboratories*. Ames, IA. Iowa State University Press, 2000:101 pages total.
- 3) Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 4th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 2005.
- 4) Campbell, TW. Avian Hematology. In: *Avian Hematology and Cytology*. Ames, IA: Iowa State University Press; 1988:6-13.
- 5) Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH and DeNicola D. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*, 3rd ed. St. Louis, MO: Mosby, Inc.; 2007.
- 6) Day M, Mackin A, Littlewood J, eds. *Manual of Canine and Feline Hämatology and Transfusion Medicine*. Qüdgeley, Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association; 2000.
- 7) Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, ed. *Schalm's Veterinary Hematology* 5th ed. Malden, MA; Blackwell; 2000.
- 8) Freeman, K.P. *Veterinary Cytology: Dog, Cat, Horse and Cow*. Manson Publishing/TheVeterinary Press, London; 2008.
- 9) Fudge AM, ed. *Laboratory Medicine: Avian and exotic pets*. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 2000.
- 10) Harvey JW. *Atlas of Veterinary Hematology: Blood and bone marrow of domestic animals*. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 2001.
- 11) Hawkey, C. M, *Clinical Laboratory Medicine: The valü of clinical hematology in exotic birds*, *Exotic Animals*, Jacobson, Kollias, Churchill Livingstone; 1988.
- 12) Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2008.
- 13) Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW. *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology* 4th ed. Malden, MA; Wiley-Blackwell; 2003.
- 14) Linnet K, Boyd JC. Selection and analytical evaluation of methods—with statistical techniqüs. In Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds.) *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Inc.; 2006:353-407
- 15) Löb WF, Quimby FW, eds. *The Clinical Chemistry of Laboratory Animals* 2nd ed. Philadelphia, PA: Taylor & Francis; 1999.
- 16) Meyer DJ, Harvey JW. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation & diagnosis*.

- 2nd. ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 1998.
- 17) Osborne CA, Stevens JB. Urinalysis: A Clinical Guide to Compassionate Patient Care. Shawnee Mission, KS: Bayer Corporation, Agricultural Division, Animal Health; 1999.
- 18) Raskin RE, Meyer DJ. Atlas of Canine and Feline Cytology. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 2001.
- 19) Reagan WJ, DeNicola DB, Irizarry Rovira A. Veterinary Hematology: Atlas of common domestic species, 2Reagan WJ, DeNicola DB, Irizarry Rovira A. Veterinary Hematology: Atlas of common domestic species, 2nd ed. Malden, MA: Blackwell Publishing; 2008.
- 20) Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 2nd ed. Walden, MA: Wiley-Blackwell; 2008.
- 21) Thrall, MA et al. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
- 22) Westgard JO. Basic QC Practices Training in Statistical Quality Control for Healthcare Laboratories. 2nd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2002.
- 23) Westgard, JO. Method validation: the experimental plan. In: Westgard. JO, ed. Basic Method Validation, Madison, WI: Westgard QC; 1999:48-55.
- 24) Westgard JO, Klee GC. Quality management. In Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds.) Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Inc.; 2006:485-529.
- 25) (a)Westgard JO, Quam E. Method validation: the linearity or reportable range experiment. In Westgard JO (ed.) Basic Method Validation, 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:102-112.
- (b)Westgard JO. Method validation: the decision on method performance. In Westgard JO (ed.). Basic Method Validation. 3rd edition. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:188-196.
- (c)Westgard JO. Method validation: the replication experiment. In Westgard JO (ed.) Basic Method Validation. 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:114-122.
- (d)Westgard JO. Method validation: the comparison of methods experiment. In Westgard JO (ed.). Basic Method Validation. 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:124-136.
- (e)Westgard JO. Method validation: statistical sense, sensitivity, and significance. In Westgard JO (ed.). Basic Method Validation. 3rd ed. Madison WI: Westgard QC, Inc.; 2008:138-152.
- (f)Westgard JO. Method validation: the interference and recovery experiments. In Basic Method Validation. 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:154-166.
- (g)Westgard JO. Method validation: the detection limit experiment. In Westgard JO (ed.) Basic Method Validation. 3rd ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 2008:168-176.
- 26) Westgard JO. What are control materials and what characteristics are important? In Westgard JO (ed.) Basic QC Practices. 1st ed. Madison, WI: Westgard QC, Inc.; 1998:33-46.
- 27) Wied, G. L., Bibbo, M. and Keebler, C.M. Diagnostic Quality Assurance in Cytopathology. In: Comprehensive Cytopathology, 2nd ed. Bibbo, M. (ed). W.B. Saunders Co, London, 1997.

Fachzeitschriften – Allgemeine Referenzen, die häufig für die Qualitätssicherung relevante Information enthalten.

- 1) Clinical Chemistry, official publication of the American Association of Clinical Chemistry
- 2) Journal of Feline Medicine Surgery
- 3) Journal of the American Veterinary Medical Association
- 4) Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians
- 5) New Zealand Veterinary Journal
- 6) Toxicologic Pathology, official publication of the Society of Toxicologic Pathology
- 7) Veterinary Clinical Pathology, official publication of the American Society for Veterinary Clinical Pathology and the European Society for Veterinary Clinical Pathology
- 8) Veterinary Pathology, official publication of the American College of Veterinary Pathologists

Mitwirkende der ursprünglichen Richtlinien, sowie ehemalige und gegenwärtige Mitglieder der Qualitätssicherungs- und Standards-Kommission

Dr. Jim Bellamy
Pat Benson
Karen Curd
Dr. Jean Dodds
Dr. Ellen Evans
Dr. Susan Friend
Sü Gallagher
Karen Getzy
Julie Grünwaldt
Dr. James Klaassen
Dr. Sally Lester
Dr. Peter Lording
Dr. John Lumsden
Mike Mahoney
Dr. Larry McGill
Dr. Joanne Messick
Pam Miller
Dr. Scott Moroff
Dr. Fran Moore
Loretta Moore
Dr. Karen Russel
Dr. Carolyn Sink
Dr. Linda Vap
Dr. Gail Walter

Dr. Ellen Ziemer

Gegenwärtige und ehemalige Mitglieder, die zu den Überarbeitungen und Zusätzen der aktuellen Richtlinien beigetragen haben (2008)

Jill Arnold
Kirstin Barnhart
Julia Blanco
Rebecca Davies
Deborah Davis
Bente Flatland
Kathy Freeman
Kristen Friedrichs
Rebekah Gunn-Christie
Kendal Harr
Helen Kocmarek
David Korcal
Jim Matthews
Joanne Messick
Renee Pearson
Shannon Pedersen
Connie Peterson
Kristiina Ruotsala
Lynne Shanahan
Balazs Szladovits
Linda Vap
Connie Peterson
Kristiina Ruotsala
Lynne Shanahan
Balazs Szladovits
Linda Vap

Acknowledgement:

ASVCP thanks Nicole Stacy (Aquatic Animal Health, University of Florida, Gainesville, FL, USA), Ernst Leidinger (Invitro Laboratory, Vienna, Austria), and Stefanie Klenner (Justus-Liebig University, Giessen, Germany) for their translation.