

## Qualitätskontrolle und Qualitätssicherung in der Immunphänotypisierung

Richard Schabath, Richard Ratei und Wolf-Dieter Ludwig

Robert-Rössle-Klinik im HELIOS Klinikum, Klinik für Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie, Berlin-Buch

Die Immunphänotypisierung ist im Rahmen der hämatologischen Diagnostik neben der Zytologie und Histologie heute die am häufigsten angewandte Methode. Sie kann jedoch durch zahlreiche Faktoren, die häufig unterschätzt werden und so potentiell zu falschen Messungen und auch zu Fehlinterpretationen führen können, beeinflusst werden.

Schon die unterschiedliche Gewinnung und Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials in der präanalytischen Phase beeinflusst die Messergebnisse. Weitere potentielle Störquellen während des Analyseprozesses liegen in der Qualität der optischen Bank (Laser und Detektoren des Durchflusszytometers), im Alter der verwendeten Antikörperkonjugate oder in der angewandten Auswertungs- („Gating“)-Strategie. Schließlich hängt die Ergebnisinterpretation und endgültige Diagnosestellung von der jeweiligen Erfahrung des Arztes ab, der den Befund erstellt. Um diese Störfaktoren möglichst

zu minimieren, ist die Einführung und Anwendung einheitlicher Standard Operating Procedures (SOP) unabdingbar. Innerhalb unseres Projektes wurden hierzu entsprechende SOPs erstellt, die für die wesentlichen Arbeitsschritte – beginnend bei der Probengewinnung über die Messung bis hin zur Auswertung und Befundinterpretation – ein standardisiertes Vorgehen vorschlagen.

Weitere Schritte hin zu einer Vereinheitlichung der durchflusszytometrischen Diagnostik erfolgen derzeit auf europäischer Ebene im Rahmen der „Arbeitsgruppe Diagnostik“ (WP10) des European LeukemiaNet (ELN). Zur Qualitätssicherung der immunologischen Diagnostik bieten sich Ringversuche an, die wir seit 2001 im jährlichen Turnus mit Unterstützung von INSTAND e.V. (Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien) durchführen. Sie verfolgen in erster Linie das Ziel, die o.g. Feh-

lerquellen zu vermeiden bzw. ursächlich zu korrigieren.

Die Teilnehmer erhalten zu einem Fall Probenmaterial (peripheres Blut oder Knochenmark eines Patienten) und zu einem weiteren Fall die bereits gemessenen durchflusszytometrischen Daten zur weiteren Analyse auf CD. Zu beiden Proben werden Ausstrichpräparate beigefügt. Der logistisch aufwendige Einsatz von „echten“ Blut- und Knochenmarkproben ermöglicht uns, mit dem Ringversuch authentisch alle Schritte der Immunphänotypisierung (präanalytisch, analytisch und postanalytisch) zu evaluieren.

Gefragt wird nach: (1) der Diagnose in beiden Fällen; (2) dem Anteil an malignen Zellen in der jeweiligen Probe sowie einer quantitativen Einschätzung des Anteils von Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und Debris; (3) dem verwendeten Antikörperpanel.



Abbildung 1: Die 135 Ringversuchsteilnehmer der letzten 8 Jahre aus Deutschland und 6 weiteren europäischen Ländern

Insgesamt nahmen in den letzten 8 Jahren 135 Zentren deutschland- und europaweit (Italien, Österreich, Schweiz, Tschechien, Türkei, Ungarn) an den Ringversuchen teil (Abbildung 1). Es konnten im Schnitt über 90% der Labore erfolgreich zertifiziert werden.

Von den nicht zertifizierten Teilnehmern wurden Diagnosen gestellt, die möglicherweise zu falschen therapeutischen Entscheidungen geführt hätten. So wurden beispielsweise im Ringversuch 2008 bei einer gesunden Normalperson von einzelnen Teilnehmern die Fehldiagnosen „akute myeloische Leukämie“, „reife T-/NK-Zellneoplasie“ und „polyklonale T-LGL-Zellproliferation“ angegeben.

Die Ergebnisse der Ringversuche (Abbildung 2 und 3) verdeutlichen, dass im Bereich der Durchflusszytometrie Bestrebungen zur Standardisierung und Qualitätssicherung dringend notwendig sind. Die reine Evaluation der diagnostischen Kompetenz der Labore sollte jedoch von weiteren Maßnahmen zur Standardisierung und Fort-/Weiterbildung begleitet werden. Basierend auf unseren Erfahrungen aus 8 Ringversuchen seit 2001 werden wir die Ringversuche der nächsten Jahre konzipieren und weiter entwickeln.

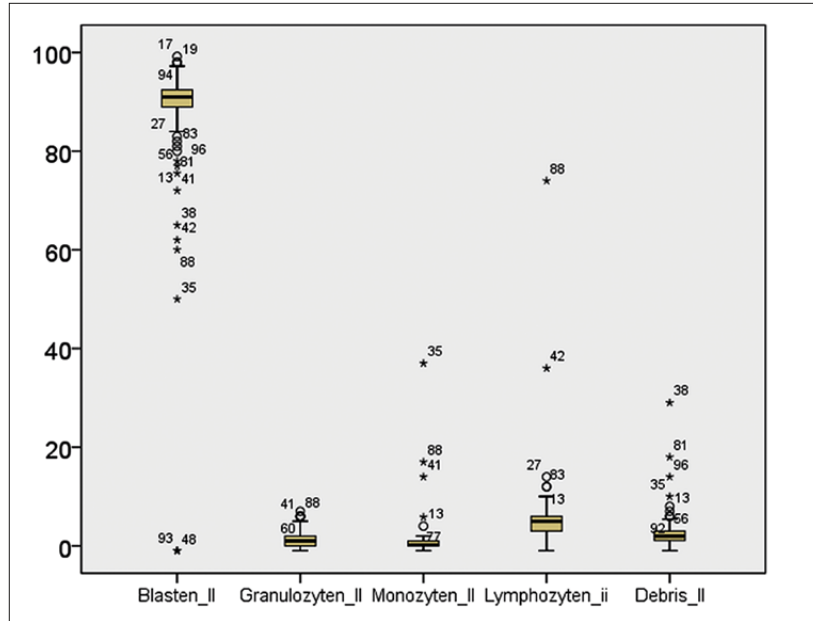


Abbildung 2: Gute quantitative Erfassung von Zellpopulationen durch die teilnehmenden Zentren; als Beispiel Probe II des Ringversuch 2008, eine common ALL (Die einzelnen Teilnehmer liegen in der quantitativen Erfassung einzelner Zellpopulationen in den Proben eng zusammen, von einigen Teilnehmern werden jedoch die malignen Zellen (Blasten II) als Lymphozyten fehlinterpretiert (z. B. Teilnehmer 42,88))

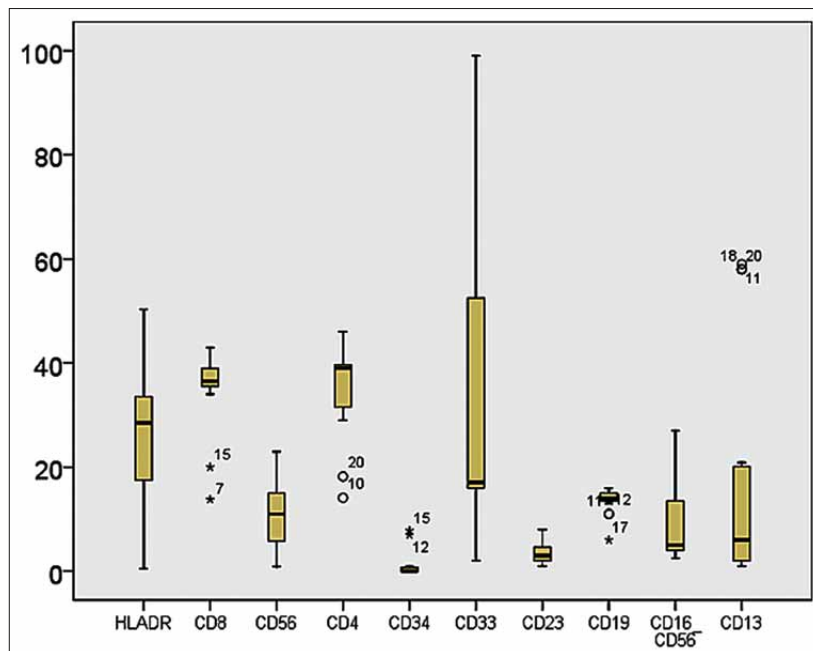


Abbildung 3: Unterschiede in der quantitativen Expression verschiedener Antigene, Beispiel Ringversuch 2008, Normalperson