

**Aus der Tropenmedizinischen Abteilung der Missionsärztlichen Klinik
(Akademisches Lehrkrankenhaus der Julius- Maximilians- Universität Würzburg)**

Chefarzt: Priv.-Doz. Dr. med. A. Stich

**Eine Untersuchung zur Auswahl geeigneter Verfahren für die Bestimmung der
Hämoglobinkonzentration im menschlichen Blut unter Berücksichtigung
klinischer, sozialer und ökonomischer Aspekte in Ländern mit begrenzten
Ressourcen.**

**Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der
Julius- Maximilians- Universität Würzburg**

**vorgelegt von
Kati Christin Werner
aus Eisenach**

Würzburg, August 2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. A. Stich

Korreferent: Prof. Dr. med. U. Walter

Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.01.2009

Die Promovendin ist Ärztin

WIDMUNG

Meinen Eltern in großer Dankbarkeit gewidmet.

1 Inhaltsverzeichnis

1	INHALTSVERZEICHNIS	I
2	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III
3	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
4	TABELLENVERZEICHNIS.....	VII
5	EINFÜHRUNG.....	1
5.1	HINTERGRUND	1
5.2	FORSCHUNGSFRAGE.....	6
6	MATERIAL UND METHODEN	8
6.1	METHODIK.....	8
6.2	TESTVERFAHREN	8
6.2.1	<i>Hämoglobincyanid Methode</i>	<i>8</i>
6.2.2	<i>Alkalin Haematin Detergenz- 575</i>	<i>10</i>
6.2.3	<i>Haemoglobin Colour Scale</i>	<i>13</i>
6.2.4	<i>Spinductor</i>	<i>15</i>
6.3	LABOR MANAGEMENT.....	17
6.4	MATERIAL UND REAGENZIEN	19
7	DURCHFÜHRUNG	22
7.1	ORGANISATION.....	22
7.2	LAND UND LEUTE	23
7.2.1	<i>Geographie und Klima</i>	<i>23</i>
7.2.2	<i>Politik und Gesundheitswesen.....</i>	<i>24</i>
7.2.3	<i>Bildung</i>	<i>25</i>
7.2.4	<i>Wirtschaft.....</i>	<i>26</i>
7.2.5	<i>Lebensbedingungen.....</i>	<i>26</i>
7.2.6	<i>Ndanda</i>	<i>27</i>
7.2.7	<i>Patientenmanagement.....</i>	<i>29</i>
7.2.8	<i>Mnero</i>	<i>29</i>
7.3	ERWARTETE ERGEBNISSE UND PROBLEME	31
7.4	ALTERSVERTEILUNG.....	32
8	AUSWERTUNG	33
8.1	EINLEITUNG.....	33
8.2	STATISTISCHE AUSWERTUNG DER HAUPTSTUDIE	35
8.2.1	<i>Mittelwert, Standardabweichung</i>	<i>35</i>
8.2.2	<i>Korrelationskoeffizient und lineare Regression</i>	<i>38</i>
8.2.3	<i>Limits of agreement</i>	<i>43</i>
8.2.4	<i>Signifikanz.....</i>	<i>46</i>
8.2.5	<i>Spezifität, Sensitivität, positiver und negativer Vorhersagewert.....</i>	<i>47</i>
8.2.6	<i>Validität.....</i>	<i>51</i>
8.2.7	<i>Separate Betrachtung der Haemoglobin Colour Scale</i>	<i>52</i>

1 Inhaltsverzeichnis

8.2.8	<i>Fragebogenauswertung</i>	66
9	DISKUSSION	67
9.1	ALKALINE- HAEMATIN- DETERGENT 575	68
9.2	HAEMOGLOBIN-COLOUR-SCALE.....	76
9.3	SPINDOCTOR	82
10	ZUSAMMENFASSUNG	86
11	LITERATUR	90
12	ANHANG	93
12.1	ÜBERSICHT	93
12.2	KALIBRATIONS-KURVEN	94
12.3	STATISTISCHE KENNGRÖßEN	96

2 Abkürzungsverzeichnis

AHD ₅₇₅	–	Alkalisches Haematin Detergenz 575
AU ₅₇₅	–	Absorptionseinheit bei einer Wellenlänge von 575 nm
Diff.	–	Differenz
DNS	–	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	–	Ethylendiaminetetraacetat
Fe II ⁺	–	Eisen- II - Ion
Fe III ⁺	–	Eisen- III - Ion
G ₆ PD	–	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
Hb	–	Hämoglobin
HbC	–	Hämoglobin C
HbS	–	Hämoglobin S
HCS	–	Haemoglobin Colour Scale
HiCN	–	Hämoglobincyanid
HIV	–	Humanes Immundefizienz Virus
Hk	–	Hämatokrit
ICSH	–	International Committee for Standardisation in Hematology
K ₃ FE(CN) ₆	–	Kaliumhexacyanidoferrat
KCN	–	Kaliumcyanid
KH ₂ PO ₄	–	Kaliumdihydrogenphosphat
MCH	–	“Maternal and Child Health”- Clinic
min.	–	mindestens
NaCl	–	Natriumchlorid
NaOH	–	Natriumhydroxid
No.	–	Nummer
Parvo B 19	–	Parvovirus B 19
PC	–	Personal Computer
pH	–	“potentia hydrogenii” pH-Wert

2 Abkürzungsverzeichnis

PIMA	–	„abmessen“ (<i>Swahili</i>)
PM 650	–	Photometer 650
PVC	–	Polyvinylchlorid
rpm	–	rounds per minute
spez.	–	Spezies
STI	–	Sexual Transmitted Infections
TB	–	Tuberkulose
u.a.	–	unter anderem
USAID	–	United States Agency for International Development
VE	–	Verpackungseinheit
Vit. A	–	Vitamin A
Vit. B	–	Vitamin B
Vit. C	–	Vitamin C
vs.	–	versus
WHO	–	World Health Organisation
z.T.	–	zum Teil
χ^2	–	Chi-Quadrat

Symbole

x, d	–	Mittelwert
Δx	–	Mittelwertdifferenz
σ, s	–	Standardabweichung
↑	–	steigend
↓	–	sinkend

3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 7.1: Landkarte Tansania	23
Abbildung 7.2: Altersverteilung der untersuchten Patienten.....	32
Abbildung 8.1: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen AHD ₅₇₅ und HiCN	35
Abbildung 8.2: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen HCS und HiCN ..	36
Abbildung 8.3: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen Spindocter und HiCN.....	37
Abbildung 8.4: Korrelationsanalyse AHD ₅₇₅	38
Abbildung 8.5: Korrelationsanalyse der HCS	39
Abbildung 8.6: Verteilung der HCS bei $x_{\max} = 9,8$ g/dl	40
Abbildung 8.7: Verteilung der HCS bei $x_{\max} = 7$ g/dl	40
Abbildung 8.8: Verteilung der HCS bei $x_{\min} = 9,9$ g/dl	41
Abbildung 8.9: Korrelationsanalyse Spindocter	42
Abbildung 8.10: Bland-Altman Plot AHD ₅₇₅	43
Abbildung 8.11: Bland-Altman Plot HCS.....	44
Abbildung 8.12: Bland-Altman Plot Spindocter	45
Abbildung 8.13: Verteilung der mittels HiCN Methode ermittelten 751 Hb-Werte.....	51
Abbildung 8.14: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen: Übersicht	53
Abbildung 8.15: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester I.....	54
Abbildung 8.16: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester II.....	55
Abbildung 8.17: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester III	56
Abbildung 8.18: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester IV	56
Abbildung 8.19: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester V	57
Abbildung 8.20: Bland-Altman Plot Tester I	58
Abbildung 8.21: Bland-Altman Plot Tester II.....	58
Abbildung 8.22: Bland-Altman Plot Tester III.....	59
Abbildung 8.23: Bland-Altman Plot Tester IV	60
Abbildung 8.24: Bland-Altman Plot Tester V.....	60

3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 12.1: Übersicht der Ergebnisse.....	93
Abbildung 12.2: Kalibrationskurven der HiCN Methode	94
Abbildung 12.3: Kalibrationskurven der AHD ₅₇₅ Methode	95
Abbildung 12.4: Qualitätsprüfung Rhiele PM 650.....	96
Abbildung 12.5: Fragebogen für medizinisches Personal	105
Abbildung 12.6: Research Permit.....	106
Abbildung 12.7: Research Permit.....	107
Abbildung 12.8: Residents Permit Class C	108
Abbildung 12.9: Bestätigung durch District Medical Officer	109
Abbildung 12.10: Bestätigung durch Regional Medical Officer.....	110
Abbildung 12.11: Ndanda.....	111
Abbildung 12.12: MCH- St. Benedict`s Hospital Ndanda	111
Abbildung 12.13: Stationen- St. Benedict`s Hospital Ndanda	111
Abbildung 12.14: Labor- St. Benedict`s Hospital Ndanda.....	112
Abbildung 12.15: Blutentnahme.....	112
Abbildung 12.16: Vorbereitung der Messung	112
Abbildung 12.17: Dokumentation	113
Abbildung 12.18: Spindoctor	113
Abbildung 12.19: HCS	113
Abbildung 12.20: Infrastruktur auf dem Land	114
Abbildung 12.21: Mnero	114
Abbildung 12.22: Landleben	114
Abbildung 12.23: Diocesian-Hospital Mnero	115
Abbildung 12.24: Labor- Diocesian Hospital Mnero.....	115
Abbildung 12.25: Labor- Diocesian Hospital Mnero.....	115

4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 5.1: Übersicht Norm-Bereiche der Hb- und Hk- Konzentration	2
Tabelle 5.2: Klassifikation der Anämie anhand ihrer Ursache.....	3
Tabelle 5.3: Einteilung Anämie.....	4
Tabelle 8.1: Übersicht der Ergebnisse für AHD ₅₇₅ , HCS und den Spindocter	34
Tabelle 8.2: Vierfeldertabelle HiCN-AHD ₅₇₅	47
Tabelle 8.3: Vierfeldertabelle HiCN-HCS	48
Tabelle 8.4: Vierfeldertabelle HiCN-Spindocter.....	48
Tabelle 8.5: Zusammenfassung der Ergebnisse für AHD ₅₇₅ , HCS und Spindocter.....	49
Tabelle 8.6: Abstand zwischen Messwerten: Prüfverfahren - HiCN	50
Tabelle 8.7: Ergebnisse der Messverfahren in Abhängigkeit der Schwere der Anämie	50
Tabelle 8.8: Zusammenfassung der individuellen Ergebnisse	52
Tabelle 8.9: Zusammenfassung: 5 Tester	61
Tabelle 8.10: Vierfeldertabelle Tester I.....	62
Tabelle 8.11: Vierfeldertabelle Tester II	62
Tabelle 8.12: Vierfeldertabelle Tester III	63
Tabelle 8.13: Vierfeldertabelle Tester IV	63
Tabelle 8.14: Vierfeldertabelle Tester V	64
Tabelle 8.15: Abweichungen zwischen HiCN und HCS.....	65
Tabelle 8.16: Übersicht Messergebnisse in Abhängigkeit vom Licht.....	66
Tabelle 9.1: Kostenübersicht der überprüften Messmethoden	67
Tabelle 9.2: Kostenübersicht für die Eigenherstellung der AHD ₅₇₅ Lösung.....	70
Tabelle 9.3: Kostenübersicht für die kommerziell erhältliche AHD ₅₇₅ Lösung.....	70
Tabelle 9.4: Kosten HCS	80
Tabelle 9.5: Zusammenfassung Hb-Messverfahren . Fehler! Textmarke nicht definiert.	
Tabelle 12.1	103
Tabelle 12.2	103
Tabelle 12.3	103

5 Einführung

5.1 *Hintergrund*

Die Anämie zählt zu den bedrohlichsten Komplikationen zahlreicher Erkrankungen weltweit und ist für einen Großteil vermeidbarer Todesfälle in Malaria-endemischen Gebieten verantwortlich. Obwohl die WHO und weitere Organisationen alarmierende Zahlen über die Häufigkeit der Anämie liefern, wird die Problematik noch immer deutlich unterschätzt.

Etwa 2 Milliarden Menschen, ca. 30% der Weltbevölkerung, sind betroffen. Über die Hälfte der Erkrankten lebt in Entwicklungs- oder Schwellenländern, vornehmlich auf dem afrikanischen und süd-amerikanischen Kontinent sowie im asiatischen Bereich. Zu den besonders gefährdeten Gesellschaftsgruppen rechnet man Kinder, Jugendliche, Frauen im gebärfähigen Alter und Schwangere. So weisen nach Angaben der WHO etwa 37% der Kinder im schulpflichtigen Alter, 43% der jungen Frauen und 50%-60% der Schwangeren in Entwicklungsländern eine manifeste Anämie auf. Ursachen können sowohl genetischer Ursache – wie die Sichelzellanämie –, als auch exogener Genese – wie unzureichende Ernährung (Eisen- oder Vitaminmangel) oder Infektionen (z.B. Malaria, Schistosomiasis) – sein.

Im Allgemeinen versteht man unter Anämie eine Verminderung der Hämoglobinkonzentration, des Hämatokrits oder der Erythrozytenzahl unter die des Alters und Geschlechts entsprechende Norm.

Tabelle 5.1 gibt eine Übersicht über die Norm-Bereiche des Hb-Wertes und des Hämatokrits in Abhängigkeit vom Alter.

	Hb g/dl	Hämatokrit %
Neugeborene	14-20	32-60
2-3 Monate	10,5-12,5	32-60
4 Monate- 6 Jahre	11-13	33-40
6-14 Jahre	12-15	33-40
Erwachsene nicht- schwangere Frauen	12-16	36-44
Erwachsene schwangere Frauen	11-15	33-42
Erwachsene Männer	13-17	40-50

Tabelle 5.1: Übersicht Norm-Bereiche der Hb- und Hk- Konzentration

Quelle: „Principles of medicine in Africa“, S. 924

Der Hb-Wert und der Hämatokrit korrelieren miteinander und sind die entscheidenden Parameter für die Diagnose einer Anämie. Die Erythrozytenzahl korreliert nicht immer mit dem Hb und ist daher kein empfindlicher Parameter für die Erfassung einer Anämie. Eine Einteilung der Anämien ist anhand der zugrunde liegenden Ursachen möglich (siehe Tabelle 5.2). Man unterscheidet die Anämien neben ihrer Entstehung in akut und chronisch anhand vier verschiedener übergeordneter Pathomechanismen. Dies sind Anämien ausgelöst durch Bildungsstörungen (Störung der erythropoetischen Stammzellen, Erythropoetinmangel, Hb-Bildungsstörung, DNS-Bildungsstörung), Anämien durch gesteigerten Erythrozytenabbau (defekte Erythrozyten, extraerythrozytäre Faktoren), Anämien durch Erythrozytenverlust (Blutungen) und Anämien, welche durch Verteilungsstörungen wie das Hyperspleniesyndrom verursacht werden.

Blutverlust		↑ Erythrozyten – Zerstörung		↓ Erythrozyten - Produktion		
Akut	Chron.	Abnorme Hämolyse (bei intakten Erys)	Abnorme/ Veränderte Erythrozyten	Mangel-Ernährung	Hypoplasie	Aplasie
	führt zu Eisenmangel	Infektionen: Malaria andere	Hb-Formen: HbS HbC	Eisen	Infektionen: HIV TB Parvo B19 andere	Primär
		Hyper-splenismus	Enzyme: G6PD-Defizienz	Folsäure	Malignität	Sekundär: Medikamente (Methyldopa, Penicillin) Chemikalien Pankreas-fibrose Strahlung
		Immunabwehr: fetomaternale Inkompatibilität Autoimmun Transfusions-zwischenfall	Membranen: Elliptocytose Sphärocytose	Vit. B	Chronisch hepatische Erkrankung	
		Andere: Verbrennung		Vit. A	Chronisch renale Erkrankung	
				Andere: Protein Vit. C		

Tabelle 5.2: Klassifikation der Anämie anhand ihrer Ursache

Quelle: "Principles of medicine in Africa", S. 926

Eine weitere Möglichkeit der Anämie-Einteilung basiert sich auf der Schwere der Erkrankung. Man unterscheidet die:

1. kompensierte Anämie,
2. dekompenzierte Anämie und
3. lebensbedrohliche Form der Anämie mit Gewebshypoxie oder kardialem Versagen.

Die Unterteilung der Anämie wird durch klinische und pathophysiologische Kriterien definiert. Die Schwere der Anämie ist jedoch nicht nur von der Hb-Konzentration abhängig, sondern auch vom Alter, von der kardialen und respiratorischen Funktion, der

Foudroyanz der Entstehung und dem Plasmavolumen. So können junge gesunde Patienten eine Anämie wesentlich besser kompensieren als ältere.

Eine andere Einteilung orientiert sich an den labortechnisch bestimmten Hb-Werten. Sie unterscheidet die Anämie-Bereiche in mild, moderat, schwer und sehr schwer. Dabei sind hier wiederum das Alter, das Geschlecht und eine bestehende Schwangerschaft von Bedeutung (siehe Tabelle 5.3).

Hb- Bereich für Kinder < 5 J. und schwangere Frauen		Hb- Bereich für Kinder > 5 J. und nicht-schwangere Frauen	
Milde Anämie	9 - 11 g/dl	Milde Anämie	9 - 12 g/dl
Moderate Anämie	7 - 9 g/dl	Moderate Anämie	7 - 9 g/dl
Schwere Anämie	<7 g/dl	Schwere Anämie	<7 g/dl
Sehr schwere Anämie	<4 g/dl	Sehr schwere Anämie	<4 g/dl

Tabelle 5.3: Einteilung Anämie

Quelle: "Anemia Detection Methods in Low-Resource Settings: A Manual For Health Workers", S. 01

Um einer potentiellen Grunderkrankung nachgehen und rechtzeitig therapeutisch intervenieren zu können, sind die allgemeinen Bestrebungen vornehmlich auf eine präventive Diagnostik ausgerichtet. Damit dies unter den meist schwierigen Bedingungen in Ländern mit limitierten Ressourcen durch eine umfassende und angemessene medizinische Versorgung sichergestellt werden kann, ergibt sich die Notwendigkeit einer preiswerten, unkomplizierten, validen und schnellen Messung der Hb-Konzentration im Blut des Patienten.

Das Niveau der medizinischen Versorgung unterliegt teilweise starken regionalen Schwankungen. Besonders in den ärmeren ländlichen Regionen in Ländern eingeschränkter Ressourcen sind Defizite zu verzeichnen. So ist bis heute aufgrund mangelnder technischer Möglichkeiten die Diagnostik schwerer anämischer Zustände durch Blickdiagnose und anhand unspezifischer Symptome wie Müdigkeit, Schwäche, Kopfschmerz oder Dyspnoe weit verbreitet. Nach Angaben der USAID liegt die Sensitivität dieses Verfahrens bei schwerer Anämie bei nur 64%. Die Spezifität schwankt zwischen 70% und 100%. Das bedeutet aufgrund mangelhafter diagnostischer

Möglichkeiten bleiben etwa 40% der Patienten mit lebensbedrohlicher Anämie unentdeckt. Damit eine flächendeckende Diagnostik elementarer Laborparameter wie der Hb-Konzentration besonders auch in ärmeren ländlichen Regionen gewährleistet werden kann, ist die Einführung einer Labormethode von möglichst einfacher und sicherer Handhabung unerlässlich.

Durch eine optimierte medizinische Diagnostik wird es möglich, bestehende (westliche) Standards bezüglich einer Einschätzung des Gesundheitszustandes der Patienten und der entsprechenden Therapierelevanz an die lokalen Gegebenheiten anzugleichen und die notwendigen Interventionsmaßnahmen frühzeitig einzuleiten.

Nur wenn die ökonomische und soziale Sicherheit des Einzelnen gewährleistet ist, kann eine langfristige Verbesserung der Gesamtsituation in Ländern mit limitierten Ressourcen erreicht werden.

5.2 Forschungsfrage

Diese Arbeit führt eine Überprüfung der Effizienz von Hb-Messverfahren im Rahmen einer Feldstudie durch, in der verschiedene Methoden der Hb-Bestimmung in der Praxis miteinander verglichen sowie demographische und topographische Einflüsse berücksichtigt werden. Folgende Messverfahren zur quantitativen Bestimmung der Hb-Konzentration werden untersucht:

- „Haemoglobin Colour Scale“ (HCS) von S. M. Lewis *et al.* in Zusammenarbeit mit der WHO (1998)
- „Alkaline Haematin D-575 Methode“ (AHD₅₇₅) von Prof. Wolf *et al.* (1986)
- „Spindocor Centrifuge“ von Dr. Roy Rickman *et al.*

Als Referenzmethode wird die photometrische Hämoglobincyanid Methode genutzt.

Die einzelnen Verfahren werden bezüglich ihrer Validität, technischen Voraussetzungen, Komplexität in der Anwendung sowie wirtschaftlichen Aspekte beim Einsatz in medizinischen Einrichtungen unterschiedlichen Niveaus geprüft. Hierzu werden 751 Patienten unter besonderer Berücksichtigung der Anämie-Problematik im Kindes- und Jugendalter untersucht.

Innerhalb einer zusätzlichen Testreihe wird eine gesonderte Betrachtung der HCS Methode durchgeführt. Es handelt sich bei diesem Verfahren um eine Optimierung des Tests nach Tallqvist (1900). Durch den Vergleich spezieller Teststreifen mit einer standardisierten Farb-Skala, die jedem Farbwert einen entsprechenden Hb-Wert zuordnet, wird die Hb-Konzentration ermittelt.

Um mögliche subjektive Einflüsse beim Vergleich der Farbeindrücke beurteilen zu können, wird dieses Verfahren einer weiterführenden Exploration unterzogen werden. Dazu werden in 100 Fällen identische Blutproben durch fünf unabhängige Tester mithilfe des neuen Testverfahrens untersucht und die Ergebnisse statistisch ausgewertet.

Im Abschnitt „7 Durchführung“ wird neben der Beschreibung der Studie ein Überblick über das Leben der Bevölkerung und der Bedingungen vor Ort gegeben. Dieser soll Aufschluss über die mögliche Bedeutung exogener Faktoren auf die Hb-Konzentration bzw. auf deren Messung geben.

Im Rahmen einer spezifischen Befragung des medizinischen Personals vor Ort werden bestehende Erfahrungswerte und die individuellen Einschätzungen der notwendigen therapeutischen Interventionsmaßnahmen basierend auf der Höhe der Hb-Konzentration dokumentiert. Eine geplante Überprüfung der Relevanz dieser Beurteilungskriterien anhand einer Verlaufskontrolle der Hb-Konzentration sowohl bei Anämiepatienten mit, als auch ohne durchgeführte Therapie konnte nicht umgesetzt werden. Verantwortlich hierfür waren u.a. die Labororganisation und das Patientenmanagement im Sinne der überwiegend ambulanten Behandlung anämischer Patienten.

Abweichungen von den Interventionsansätzen, wie sie in den WHO-Leitlinien für bestimmte Hb-Konzentrationen empfohlen werden, sind hierbei nicht auszuschließen.

Es ist unser Ziel, effiziente und preiswerte Diagnoseverfahren der Anämie zu finden, die auf das jeweilige Niveau der Gesundheitsversorgung angepasst sind und optimal eingesetzt werden können. Das Verständnis für die Bedeutung exogener Faktoren auf die Hb-Konzentration und die eingesetzten Messverfahren ist hierfür unerlässlich.

6 Material und Methoden

6.1 *Methodik*

Methodisch wird in der Arbeit eine empirisch-analytische Vorgehensweise verfolgt, die die Durchführung einer Feldstudie und die Auswertung des statistischen Materials sowie die Aufarbeitung von Sekundärliteratur beinhaltet.

Zudem wurde ein Fragebogen mit Fragen offenen und geschlossenen Typs erstellt, der sich an das medizinische Personal richtet. Es sollen Informationen über angewandte Labortechniken und über Grundlagen der persönlichen medizinischen Beurteilung anämischer Zustände gesammelt werden.

Zunächst werden die verschiedenen, in der Studie geprüften Hb-Messverfahren erläutert und die Durchführung der Tests beschrieben.

6.2 *Testverfahren*

6.2.1 Hämoglobincyanid Methode

Einführung

Die Hb-Bestimmung anhand der Hämoglobincyanid Methode erfolgt mit Hilfe der Drabkin's Solution oder Transformationslösung. Die exakte Zusammensetzung kann variieren. Ein Beispiel für die Lösung ist nachfolgend aufgelistet:

200 mg	$K_3Fe(CN)_6$
50 mg	KCN
140 mg	KH_2PO_4
1 ml	Nicht- ionisches Detergenz
1 l	Destilliertes Wasser

Alternativ zur eigenen Herstellung sind im Fachhandel auch entsprechende Fertiglösungen erhältlich (z.B. von *RANDOX*®).

Die Lösung ist sehr lichtempfindlich und muss daher in einer braunen Glasflasche unter Lichtabschluss gelagert werden. Bei Raumtemperatur und unter Luftabschluß ist die Reagenz dann über mehrere Monate haltbar. Der pH-Wert der Lösung muss zwischen pH 7,0 und 7,4 liegen, da im sauren pH-Bereich giftiges Cyanid frei wird. Dadurch kann seine Konzentration soweit abnehmen, dass nicht mehr das gesamte Hämoglobin in die Cyanverbindung umgewandelt werden kann. Als Folge werden dann fälschlicherweise zu niedrige Hb-Konzentrationen ermittelt.

Die Transformationslösung sollte wegen des Gehalts an KCN nur mit Pipettierhilfen abgemessen werden.

Der Reaktionsmechanismus der Transformationslösung beruht auf der durch Kaliumhexacyanoferrat induzierten Oxidation von Hämoglobin (FeII^+) zu Hämi- oder Methämoglobin (Fe III^+). Dieses zeigt bei einer Wellenlänge von 540 nm eine für die Hb-Bestimmung geeignete Absorptionsbande. Durch Zusatz eines Detergenz (z.B. nichtionische Tenside wie Brij-35 Lösung) kann die Reaktion beschleunigt werden, so dass sie bereits nach wenigen Minuten beendet ist. Zudem wird durch den Detergentienzusatz das Auftreten von störenden Trübungen im Ansatz weitestgehend vermieden.

Durchführung

Zunächst wird die Fingerbeere am Ringfinger einer Hand (Epidermis meist weniger dick als am Zeigefinger) durch Reiben hyperämisiert und mit Desinfektionsmittel gut abgerieben. Wenn dieses getrocknet ist, wird mit Hilfe des Accu Check Softklix etwa 2-3 mm tief in die Epidermis eingestochen.

Der erste ausgetretene Blutropfen wird mit einem trockenen Tupfer abgewischt. Danach sollte möglichst spontan aus der Einstichstelle austretendes Blut für die Untersuchung verwendet werden.

Starkes Drücken der Fingerbeere sollte vermieden werden, um einer Verdünnung des entnommenen Blutes durch Gewebsflüssigkeit (Fehler bis zu 15 %) vorzubeugen.

Mit Hilfe einer EDTA-Microvette® (SARSTEDT AG & Co.) werden pro Patient ca. 200 µl Blut abgenommen (siehe Anhang Abbildung 12.15). 20 µl des entnommenen Blutes werden in 5 ml *RANDOX*® - Transformationslösung überführt. Die verwendete Mikropipette wird im Anschluss mehrmals mit der Transformationslösung durchgespült, so dass keine Blutspuren mehr in der Kapillare vorhanden sind.

Das Glasröhrchen wird anschließend mit einem Stopfen verschlossen und die Lösung sofort vorsichtig geschüttelt.

Nachdem der Ansatz mindestens 5 Minuten bei Raumtemperatur geruht hat, kann die Extinktion bei 546 nm in einer Küvette von 1 cm Schichtdicke bestimmt werden.

Eine Umrechnung der Extinktionen der Proben in die totale Hb-Konzentration erfolgt abschließend anhand einer zuvor bestimmten Kalibrationskurve (siehe Anhang Abbildung 12.2).

6.2.2 Alkalin Haematin Detergenz- 575

Einführung

Die AHD₅₇₅ Methode benötigt ebenfalls eine spezielle Transformationslösung, die selbst hergestellt werden kann oder als Fertiglösung im Fachhandel erhältlich ist. Die notwendige AHD₅₇₅ Lösung enthält:

4 g	NaOH
25 g	Triton X-100
1000 ml	Destilliertes Wasser

Die Lösung besteht aus dem alkalischen Reagenz NaOH und Triton X-100, einem nicht ionisierenden Detergenz. Bei der Zugabe von Blut kommt es zur Zerstörung der erythrozytären Membranen, die die Freisetzung des bis dahin intrazellulär gebundenen Hämoglobins induziert. Dieses wird in einen stabilen alkalischen Farbkomplex

überführt (= Hämatin), der bei einer Wellenlänge von 575 nm photometrisch bestimmt werden kann. Anhand der gemessenen Extinktion der Lösung kann die Hb-Konzentration des getesteten Blutes ermittelt werden.

Bei der Herstellung der Transformationslösung sollte darauf geachtet werden, dass die Lösung während des Mischens auf 35-37°C erwärmt wird. Nach einem abschließenden filtern durch Whatman No. 1 Filterpapier kann das Reagenz beliebig aufbewahrt werden. Die Lagerung muss im Gegensatz zur HiCN Reagenz nicht in einer Braunglasflasche erfolgen und zusätzlich vor Licht geschützt werden. Im Anschluss an die Herstellung sollte eine Qualitätskontrolle mit Hilfe von im Fachhandel erhältlichen Standardlösungen oder Kontrollblutproben erfolgen. Das Reagenz bleibt mindestens für acht Monate bei Raumtemperatur stabil. Angesichts der starken Blasenbildung sollte die Lösung nicht stark geschüttelt oder übermäßig schnell abgefüllt werden.

Durchführung

Vor der Durchführung der Hb-Bestimmung wird, mit Hilfe der Standardlösungen, eine Kalibrationskurve erstellt. Diese sollte jede Woche bzw. mit jeder neuen Charge aktualisiert bzw. kontrolliert werden. Weiterhin sollten täglich zwei Kontrollwerte, die Prüfstandards C1 und C2, gemessen werden.

Die Kalibrationskurve wird wie folgt ermittelt (siehe Anhang Abbildung 12.3):

1. 6 Teströhrchen werden in einem Reagenzglasständer von 1 bis 6 nummeriert.
2. Im Anschluss erfolgt die Blank-Einstellung des Photometers mit ca. 1,5 ml der AHD₅₇₅ Reagenz.
3. Es ist darauf zu achten, dass die Küvette sauber und trocken ist und die Reagenzien blasenfrei sind.
4. Die Teströhrchen werden jeweils mit 3 ml AHD₅₇₅ Reagenz gefüllt.
5. Die Reagenz in Röhrchen 1 wird anschließend mit 20 µl des Standards No. 1, Röhrchen 2 mit 20 µl des Standards No. 2 usw. versetzt.
6. Mögliche Lösungsreste an der Außenseite der Pipette sollten mit einem sauberen Zellstofftupfer entfernt werden.

7. Die Pipette mit der Standardlösung sollte mehrere Male mit dem Reagenz gespült werden.
8. Danach werden die Reagenzgläser mit einem Stopfen verschlossen und die Lösungen gut gemischt. Es folgt eine mindestens 3-minütige Ruhe/Reaktionszeit.
9. Die Mischung aus AHD₅₇₅ Reagenz und Standardlösung No. 1 wird im Anschluss in eine saubere und trockene Küvette gegeben und die Extinktion der Lösung bei 574 nm photometrisch bestimmt. Dieser Vorgang wiederholt sich für die weiteren 5 Lösungen.

Anhand der resultierenden sechs Werte wird ein Graph erstellt und eine Ausgleichsgerade gezeichnet. Die Steigung und der Achsenabschnitt dieser Geraden liefern die Grundlage für die Umrechnung der Hb-Konzentration aus den Extinktionen. Für die genaue Berechnung siehe Anhang Seite 93: [3] bis [5].

Die Blutentnahme erfolgt wie bereits unter 6.2.1 beschrieben. Bei längeren Standzeiten des Blutes sollte dies vor der weiteren Verwendung gut durchmischt werden.

20 µl des entnommenen Blutes werden in ein vorbereitetes Reagenzglas mit 3 ml AHD₅₇₅ Reagenz gegeben und gut mit dieser durchmischt. Die Reaktionszeit beträgt mindestens 3 Minuten. Zwischenzeitlich kann das aufgewärmte Photometer bei 574 nm mit der AHD₅₇₅ Reagenz abgeglichen werden. Bei den nachfolgenden Messungen muss unbedingt darauf geachtet werden, dass sich keine Luftblasen in der Küvette befinden. Zunächst werden zwei Kontrollproben, aus 3 ml Reagenz und 20 µl Standard No. 6, gemessen. Sollten die Hb-Konzentration beider Proben um mehr als 0,5 g/dl differieren oder der Mittelwert beider Ergebnisse mehr als 0,5 g/dl von dem zu erwartenden Wert der Kontrollprobe (18 g/dl) abweichen, müssen folgende Schritte erfolgen:

1. Wiederholung der Zubereitung der Kontrollproben C1 und C2.
2. Gründliche Reinigung der Küvette und des herausnehmbaren Filters.
3. Sollte der Mittelwert aus C1 und C2 noch immer um mehr als 0,5 g/dl von dem erwarteten Wert abweichen, muss eine neue Kalibrationskurve erstellt werden.

Wenn die Absorptionswerte der Kontrollmessungen den Erfordernissen der internen Qualitätskontrolle entsprechen, werden die Extinktionen aller Patientenproben gemessen. Die Umrechnung der Extinktionen in die Hb-Konzentration erfolgt mit Hilfe eines Daten verarbeitenden Programms.

Eine weitere Möglichkeit der Berechnung der Hb-Konzentration bietet sich mit folgenden Gleichungen:

$$\text{Hb-Konzentration [g / dl]} = AU_{575} \times 34,96 \times \text{Korrekturfaktor} \quad [1]$$

$$\text{Korrekturfaktor} = \frac{AU_{575} \text{ Theoretischer Standardwert } 18 \text{ g / dl}}{AU_{575} \text{ Standardwert } 18 \text{ g / dl}} \quad [2]$$

In der Auswertung verwendete Hb-Konzentrationen wurden mit Hilfe der Kalibrationskurve bestimmt. Die gewonnenen Werte wurden für die anschließenden Berechnungen als exakter erachtet.

6.2.3 Haemoglobin Colour Scale

Einführung

Tallqvist entwickelte 1900 ein sehr einfaches Verfahren, welches die Hb-Bestimmung anhand von Teststreifen und einer standardisierten Farbskala ermöglicht. Da der Test unabhängig von Strom und Wasser angewendet werden kann, fand er besonders in ländlichen Regionen in Ländern mit limitierten Ressourcen Anwendung. Allerdings war sein Gebrauch von Anfang an umstritten, da die Messungen sehr unzuverlässige Ergebnisse lieferten.

Mit Beginn der 90'er Jahre griff das Forscherteam um Lewis, Stott und Wynn das Konzept Tallqvist's auf. Sie entwickelten ein spezielles Chromatographiepapier (Whatman 31 ET), welches die Eigenschaft besitzt Blut sehr schnell zu absorbieren und jeder Hb-Konzentration eine spezifische Farbschattierung zuzuordnen.

Mit Hilfe von standardisiertem Kontrollblut der ICSH konnte eine standardisierte Skala erstellt werden. Die Einteilung erfolgt zwischen 4 g/dl bis 14 g/dl in 2'er Schritten. Die einzelnen Felder der Skala verfügen über eine kreisrunde Öffnung, den so genannten Vergleichsbereich, der den Farbvergleich zwischen Teststreifen und Skala vereinfacht (siehe Anhang Abbildung 12.19).

Bei Durchführung des Verfahrens sollte man sich an die Anweisungen des Herstellers halten, da aus der unkorrekten Anwendung Fehlbestimmungen resultieren können. Hierbei sind besonders auf korrekte Haltung und ausreichende Lichtverhältnisse zu achten. Die besten Ergebnisse sollen erreicht werden, wenn die Skala in einem Winkel über 45° in Augenhöhe gehalten wird und das Licht über die Schulter des Untersuchers auf die Skala fällt.

Durchführung

In der Vorbereitung muss ein geeigneter, heller (Tageslicht oder Lampe) Ort gefunden werden, der die Voraussetzungen einer Anwendung der HCS erfüllt. Dabei sollte direkte Sonneneinstrahlung oder Schatten gemieden werden. Ein Ablesen der Skala im eigenen Schatten wirkt sich, laut Herstellerangaben, ebenfalls ungünstig auf das Messergebnis aus. Zur Anwendung dürfen nur originale, saubere und trockene Teststreifen kommen.

Die Gewinnung der Blutprobe erfolgt, wie bereits unter 6.2.1 beschrieben.

Mit Hilfe einer Kapillare wird im Anschluss ein, im Durchmesser ca. 1 cm großer, Blutropfen auf ein Ende des Teststreifens platziert. Es ist darauf zu achten, dass der Tropfen weder zu groß (Ausbreitung zu dick, Trockenzeit zu lang) noch zu klein (Vergleichsbereich wird nicht ausgefüllt) aufgetragen wird. Nach dem Auftragen sollte man eine Reaktionszeit von mindestens 30 Sekunden abwarten und im Anschluss den Teststreifen mit der Farbskala abgleichen. Die maximale Wartezeit beträgt 2 Minuten. Jede weitere Verzögerung führt, laut Hersteller, zu Fehlbestimmungen, da der Blutropfen heller wird und daraus unzuverlässige Ergebnisse resultieren.

Die Skala wird in einer Hand auf Augenhöhe gehalten, während das Licht von hinten über eine der Schultern fällt. Der Abgleich zwischen Teststreifen und Skala erfolgt

gerichtet, ausgehend von der hellsten (4 g/dl) oder dunkelsten (14 g/dl) Schattierung. Während des Ablesens muss der Streifen dicht an die Rückseite der Skala gehalten werden um Streulichteinflüsse zu vermeiden. Wenn die Färbung des Teststreifens zwischen zwei Schattierungen der Skala liegt, wird der Mittelwert als Ergebnis notiert. Im Zweifelsfall wird empfohlen eher zum niedrigeren Ergebnis zu tendieren. Nach der Messung wird der Teststreifen verworfen und entsorgt.

6.2.4 Spindoctor

Einführung

Der Spindoctor wurde als alternative Hb-Messmethode für Länder mit limitierten Ressourcen bzw. Regionen ohne kontinuierliche Strom- und Wasserversorgung entwickelt. Er entspricht einer handbetriebenen Zentrifuge, die aus einer festen PVC-Scheibe mit an der Vorderseite vier etwa 2 m langen Nylonschnüren und an der Rückseite einem Ankerseil mit Karabinerhaken besteht. Vom Zentrum der PVC-Scheibe des getesteten Spindoctor Prototyps gehen 10 strahlenförmig angeordnete und nummerierte Bohrungen ab. In diesen können max. 10 PVC-Kapillaren (\varnothing 16mm, Länge: 45mm) platziert werden. Über das Seil und den Karabinerhaken auf der Rückseite des Spindoctor wird dieser an einem Baum oder etwas vergleichbarem befestigt. Die Nylonschnüre auf der Vorderseite der Zentrifuge enden in einer Schlaufe, über die mit Hilfe eines Holzgriffes, der Spindoctor durch den Untersucher gehalten wird (siehe Anhang Abbildung 12.18). Nach der Zentrifugierung der Kapillare werden diese in den „PIMA“- Block übertragen und die Hb-Konzentration anhand der spezifischen Farbskala bestimmt. Der markante Unterschied zu üblichen Skaleneinteilungen besteht in den farbigen Banden, die zwischen 0 g/dl und 20 g/dl jeweils einen Bereich von 5 g/dl umfassen. Die rote Bande der Skala entspricht dabei einem Hb-Wert von 0-5 g/dl, die gelbe Bande 5-10 g/dl, die grüne Bande 10-15 g/dl und die blaue Bande 15-20 g/dl. Der inzwischen erhältliche Spindoctor besitzt im Vergleich zum Prototyp 20 Halterungen für 50 mm lange Kapillare. Zudem ist auf der Rückseite

der durchsichtigen PVC-Scheibe eine Skala angebracht, die ein direktes Ablesen der Hb-Ergebnisse ermöglicht. Ein Übertragen der Kapillaren in den PIMA-Block ist somit nicht mehr notwendig. Die Einteilung der Skala wurde modifiziert und ermöglicht durch die Unterteilung in 1'er Schritte ein exakteres Ablesen der Resultate. Die Zentrifugierung kann bei dem aktuellen Spindocor sowohl herkömmlich als auch in Kombination mit elektrischen Zentrifugen durchgeführt werden. Der neue Spindocor wurde an die Untersuchung größerer Patientenzahlen angepasst und soll beispielsweise in MCH- und Kinderkliniken Anwendung finden.

Durchführung

Die Blutentnahme erfolgt wie bereits unter 6.2.1 beschrieben.

Im Anschluss wird die Kapillare bis zu einer Markierung bei 42 mm Blutsäule gefüllt und mit einem 3 mm langen Plastilin Pfropf einseitig verschlossen. Sie wird in eine der nummerierten Bohrungen platziert. Wenn die Handzentrifuge beladen ist und die Kapillare durch einen Stopfen im Zentrum der PVC-Scheibe gesichert sind, kann die Zentrifugierung beginnen. Die 4 Nylonschnüre, an denen der Spindocor aufgehängt ist, müssen parallel zum Boden verlaufen. Die Zentrifuge sollte senkrecht zu ihnen ausgerichtet sein und sich etwa in der Mitte der Schnüre befinden. Während mit einer Hand der Holzgriff gehalten wird, wird mit der anderen Hand die Scheibe zunächst langsam gedreht, so dass sich die Nylonschnüre miteinander verdrillen. Sobald die Schnüre ausreichend tordiert sind, wird durch Zug am Holzgriff der Spindocor in eine schnelle Drehbewegung versetzt. Durch nachgeben und ziehen am Griff kann die Geschwindigkeit der Drehung reguliert werden. Erreicht man eine geschätzte Geschwindigkeit von ca. 5000 rpm, wird der Vorgang gleichmäßig über etwa 3 bis 4 Minuten fortgesetzt. Sobald die Erythrozyten eine dicht gepackte Zellsäule und die Leuko- und Thrombozyten eine deutliche, auf der Oberfläche dieser Zellsäule gelegene, weiße Schicht gebildet haben, kann die Zentrifugierung beendet werden. Die Kapillaren müssen sofort entnommen und aufrecht im „PIMA“- Block entsprechend der Nummerierung der Kapillare platziert werden. Die Hb-Konzentration wird mit der „PIMA“- Skala über die Höhe der Erythrozytensäule ermittelt.

6.3 Labor Management

Zwischen 8:00 Uhr und 14:00 Uhr wurden im Labor des St. Benedict Hospitals in Ndanda/ Tansania die labortechnischen Untersuchungen ambulanter und stationärer Patienten durchgeführt.

Neben der Vielzahl parasitologischer Untersuchungen wurden auch verschiedene Blutparameter wie z.B. die Hb-Konzentration bestimmt.

Im Rahmen der Studie wurde jedem Patienten ca. 200 µl Kapillarblut entweder an einem Finger bzw. bei Neugeborenen an der Ferse entnommen. Jeden Tag wurden die Proben neu mit „1“ beginnend nummeriert und mit dem Namen und dem Geschlecht des Patienten beschriftet. Zusätzlich erfolgte eine genaue Dokumentation mit Angaben zu Alter, Erkrankung, angeordneter Labordiagnostik und möglicher Therapie des betreffenden Patienten. Nach der Blutentnahme wurde die EDTA-Blutprobe direkt in den laboreigenen Kühlschrank gebracht und bis zu den Messungen bei 4 °C gelagert.

Nach Ende der allgemeinen Laboröffnungszeit wurden die Hb-Messungen vorbereitet und durchgeführt. Zunächst wurden entsprechend der Anzahl der gesammelten Proben des Tages Reagenzgläser für die HiCN Methode und die AHD₅₇₅ Methode vorbereitet. Die Röhrchen wurden mit der jeweiligen Transformationslösung befüllt und zum Schutz vor Verdunstung mit einem Stopfen verschlossen. Die zwischenzeitlich im Kühlschrank aufbewahrten Blutproben wurden bei Raumtemperatur aufgewärmt und sorgfältig durchmischt. Da die Reaktionszeit der HiCN Transformationslösung mit etwa 5 Minuten vergleichsweise lang dauert, wurden zunächst die Patientenproben in die jeweilige vorgesehene HiCN Lösung pipettiert. Nach jeder Patientenprobe wurde die Pipette gründlich mit destilliertem Wasser gespült und mit einem sauberen Tupfer getrocknet. Im Anschluss daran wurde dieser Vorgang für das AHD₅₇₅ Reagenz wiederholt. Beim Wechsel von der HiCN- auf die AHD₅₇₅ Lösung wurde eine neue Pipette verwendet.

Bei Durchführung der AHD₅₇₅ Methode sind im Rahmen einer täglichen Qualitätsprüfung Kontrollwerte (C1 und C2) zu bestimmen.

Hierfür werden je 20 µl der Standardlösung No. 6 in zwei mit AHD₅₇₅ Lösung vorbereitete Reagenzgläser gegeben und mit einem Stopfen verschlossen. Bevor die photometrische Messung durchgeführt wurde, erfolgte zunächst die Hb-Bestimmung anhand der HCS und des Spindocor.

In einem zweiten Dokumentationsbuch (siehe Anhang Abbildung 12.17) wurden entsprechend der Nummerierung der Probe und des Namen des Patienten die Resultate der Messungen tabellarisch festgehalten. Ergänzungen bezüglich der Kalibrierung, die Ergebnisse der AHD₅₇₅ Kontrollwerte und Probleme während der Messungen wurden ebenfalls vermerkt. Als zusätzliche Information wurden die täglichen Wetter- und Lichtverhältnisse beschrieben. Nach Abschluss der subjektiv bewerteten Messverfahren erfolgte die Messung der Extinktionen der HiCN Lösungen. Die Proben wurden nacheinander gemessen und die Extinktionen im Laborbuch notiert. Zwischen den Messungen wurde die Küvette mit destilliertem Wasser gespült und mit einem sauberen Tupfer getrocknet.

Im Anschluss folgte die Messung der AHD₅₇₅ Methode. Entsprachen die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle den Erfordernissen, schlossen sich die Messungen der AHD₅₇₅ Proben an. Nach jeder Bestimmung wurde die Küvette mit destilliertem Wasser ausgespült und getrocknet. Die Resultate jeder Probe wurden notiert.

Im Anschluss an die Messungen im Labor wurden die Ergebnisse in eine hierfür erstellte EXCEL-Tabelle (siehe Anhang Abbildung 12.1) übertragen. Neben der Umrechnung der Extinktion in die Hb-Konzentration (g/dl) erfolgte täglich eine statistische Auswertung der gesammelten Ergebnisse.

6.4 *Material und Reagenzien*

Es folgt eine genaue Aufstellung der eingesetzten Materialien.

Für die Untersuchungen wurden folgende technischen Geräte und Laborinstrumentarien benötigt:

1. Photometrische HämoglobincyanidTM Methode
 - Accu-Check, Softclix Pro®
 - Accu-Check, Softclix Pro® Lanzetten
 - RANDOX Haemoglobin HG 980® (Drabkin`s Solution, Brij-35-Solution, Standard)
 - Destilliertes Wasser
 - Rhiele PM 650®
 - Filter der Wellenlänge 546 nm
 - Präzisionsküvette, Spiegelglas, Standardgröße

2. Photometrische AHD₅₇₅TM Methode
 - a. Haemodirect® Kit der medisynthana GmbH
 - Accu-Check, Softclix Pro®
 - Accu-Check, Softclix Pro® Lanzetten
 - Alkaline Haematin-D Reagenz
 - AHD₅₇₅ Standard-Lösung
 - Rhiele PM 650®
 - Filter der Wellenlänge 575 nm
 - Präzisionsküvette, Spiegelglas, Standardgröße

- Haemoquant® Photometer Prototyp
 - b. Reagenzien für eigene Herstellung der AHD₅₇₅ Reagenz
- Natriumhydroxid, UN 1823, Kl. 8, C6, II-LQ, CAS: 1310-73-2/BAY 02-46701000
- Triton X-100, UN 3082, Kl. 9, M6, III-LQ, Ch.Nr. K34014503 501
- Destilliertes Wasser

3. Haemoglobin Colour Scale™ Methode

- Accu-Check, Softclix Pro®
- Accu-Check, Softclix Pro® Lanzetten
- Haemoglobin Colour Scale-Teststreifen
- Standardisierte Farbskala

4. Spindocor Centrifuge™

- Spindocor Centrifuge™
- PIMA-Skala®
- PVC-Kapillare, Ø 16mm
- Kapillar-Verschlußwachs

Qualitätskontrolle des Rhiele PM 650®

- mö-Zell 8L Kontrollblut, 2,5 ml, Los-Nr. 93810...7,2g/dl
- mö-Zell 8N Kontrollblut, 2,5 ml, Los-Nr. 93810...13,2g/dl
- mö-Zell 8H Kontrollblut, 2,5 ml, Los-Nr. 93810...18,2g/dl

Sonstige Labormaterialien

- Latexhandschuhe, unsteril
- Zellstofftupfer, unsteril, 4x 5cm
- Cutasept F®, 1l, UN 1219, Kl. 3, F 1, II-LQ, Ch.Nr. 232323
- 2 x 1l Braunglasflasche für Dispenser
- 2 x Flaschendispenser 1,0-10 ml
- 2 x Spritzflasche aus Polyäthylen, 500ml
- Hämometerpipette nach Sahli™, 20 µl
- Mikropipettierhelfer Mikro-Klassik®
- Silikonschlauch mit Adapter für Mikro-Klassik
- Messpipette, Glas, 5 ml
- Pipettierball (Peleusball)
- Microvette®, 200µl, Sarstedt
- Zentrifugenröhrchen, Rundboden, 100x16mm
- Stopfen für Zentrifugenröhrchen, Ø 16mm
- Reagenzglasgestell aus Draht für 24 Gläser

Technische Geräte

- Rhiele PM 650®
- Inverter

Weitere Hilfsmittel

- 2 Dokumentationsbücher
- PC
- Microsoft EXCEL®
- CD-ROM

7 Durchführung

7.1 *Organisation*

Nachdem die Forschungsfrage ausführlich formuliert worden war, folgte die Organisation der Rahmenbedingungen der Feldstudie. In diesem Zusammenhang wurde ein Forschungsplan verfasst, welcher die Studie kurz beschreibt. Er wurde bei der „Commission for Science and Technology“ (COSTECH) und beim „National Institute For Medical Research“ (NIMR) in Dar es Salaam eingereicht. Diese Behörden sind für die Überprüfung der ethischen Rahmenbedingungen verantwortlich. Zudem wurde eine Aufenthaltsgenehmigung zu Forschungszwecken beantragt.

Nach Erhalt der offiziellen Dokumente vor Ort wurde die Studie zudem dem Regional Medical Officer in Mtwara und dem District Medical Officer in Masasi vorgestellt. Nach ihrem abschließenden Einverständnis konnte die Forschungsarbeit im Rahmen der vorliegenden Feldstudie in Ndanda/ Tansania durchgeführt werden.

Aufgrund von nicht vorhersehbaren Verzögerungen, musste der Beginn der Studie um 4 Wochen verschoben werden. Die klinische Untersuchung dauerte insgesamt 12 Wochen. Während dieser Zeit wurde die Studie durchgeführt und umfassend dokumentiert.

Im Rahmen der theoretischen Vorbereitung der Forschungsarbeit erfolgte im Vorfeld eine umfangreiche Literaturrecherche. Weiterhin wurden die einzelnen Verfahrenstechniken erlernt, Fragebögen erstellt und die computergestützte Auswertung zur Bearbeitung der Ergebnisse vor Ort vorbereitet.

Die Kopien der offiziellen Dokumente sind im Anhang unter Abbildung 12.6 bis Abbildung 12.10 einzusehen.

7.2 Land und Leute

7.2.1 Geographie und Klima

Tansania liegt südlich des Äquators zwischen dem 1° und 12° südlicher Breite. Es hat eine Gesamtfläche von etwa 945.000 km². Im Norden wird das Land von Kenia und Uganda, im Westen von Ruanda, Burundi und der Demokratischen Republik Kongo, im Osten vom Indischen Ozean und im Süden von Sambia, Malawi und Mosambik begrenzt. Die Begrenzung erfolgt größtenteils durch Seen und Flüsse. So liegen im Westen des Landes der Tanganyika- und der Nyassa-See, welche die natürliche Grenze zu Malawi, Sambia und den Kongo bilden. Der Norden wird durch den Victoria-See von Uganda und der Süden durch den Ruvuma-River von Mosambik getrennt.



Abbildung 7.1: Landkarte Tansania

Quelle: <http://geology.com/world/tanzania-satellite-image.shtml>

Das Klima Tansanias wird durch seine Lage in Äquatornähe bestimmt. Durch die topographisch stark variierenden Landschaftsformen zeigen sich allerdings regional sehr starke Variationen.

Die sich abwechselnden Regen- und Trockenzeiten sind für das Leben der Menschen sowie für die Pflanzen- und Tierwelt entscheidend. Die Zeiten und die Dauer der einzelnen Perioden differieren dabei zwischen Nord- und Südtansania.

Aufgrund der überwiegend von der Landwirtschaft lebenden Bevölkerung sind die Dauer und Intensität der Regen- und Trockenzeiten für die wirtschaftliche Lage der Familien grundlegend. Weiterhin haben die Regenzeiten aufgrund der teilweise sehr schlechten Infrastruktur einen limitierenden Einfluss auf den Personen- und Güterverkehr.

Letztlich sind die Witterungsbedingungen eine Herausforderung für die Gesundheit der Bevölkerung. Durch die hohe Luftfeuchtigkeit und Umgebungstemperaturen können sich Insekten wie z.B. Moskitos (Malaria, Dengue) aber auch Pilze optimal vermehren. Die Lebensdauer technischer Geräte und Anlagen ist durch die klimatisch bedingten starken Korrosionsvorgänge und den Pilzbefall deutlich verringert.

7.2.2 Politik und Gesundheitswesen

Das Staatssystem in Tansania beruht auf einer föderativen Präsidentialrepublik. Die amtlichen Sprachen sind Swahili und Englisch. In Tansania leben ca. 130 verschiedene Volksgruppen und Stämme zusammen. Etwa 43% der Tansanier sind Christen (jeweils zur Hälfte Katholiken und Protestanten), 38% sind Moslems, etwa 1% Hindus und ca. 18% sind Anhänger der traditionellen Religionen und Ahnenkultur.

Der Staat verfügt bisher nicht über ein einheitliches Sozial- und Krankenversicherungssystem. Die Gesundheitsversorgung Tansanias erfolgt innerhalb staatlicher und kirchlicher Krankenhäuser. Die Behandlung in den staatlichen Hospitälern ist im Gegensatz zu den kirchlichen Häusern kostenlos. Allerdings leiden die staatlichen Krankenhäuser aus diesem Grund auch unter starkem Patientenandrang, Geldmangel und schlecht ausgebildetem und überlastetem Personal.

Die medizinische Versorgung auf dem Land wird überwiegend durch Einrichtungen kirchlicher Träger gewährleistet.

Da den verhältnismäßig hohen Kosten für die medizinische Versorgung die ländliche Armut gegenübersteht, haben die traditionellen Medizinmänner, von denen es in Tansania noch etwa 75.000 gibt, einen hohen Zulauf. Ihre Behandlung ist wesentlich günstiger und kann durch Sachmittel bezahlt werden.

7.2.3 Bildung

Die Ausbildung der Kinder erfolgt in Kindergärten und Schulen. So gibt es in allen größeren Dörfern und Städten Kindergärten sowie Grund- und Volksschulen, in denen die Kinder bis zur 7. Klasse unterrichtet werden.

Eine weitergehende Schulausbildung ist an einer der vielen „Secondary Schools“ möglich. Diese sind im Gegensatz zur Volksschule kostenpflichtig und werden von den Schülern mit einer dem Abitur vergleichbaren Prüfung abgeschlossen. Nach Abschluss der Schulausbildung bleiben nur wenige Abiturienten auf dem Land um eine Ausbildung zu beginnen. Die meisten ziehen in die Städte, wo die Lebensbedingungen und die Verdienstmöglichkeiten wesentlich besser sind.

Diese Landflucht gehört neben dem so genannten „brain train“ gut ausgebildeter und studierter Fachkräfte in finanzkräftige Nachbarländer zu dem Hauptproblem des wirtschaftlich schwachen Staates. Die Zahl gut ausgebildeter Fachkräfte nimmt besonders in ländlichen Regionen laufend ab. Dadurch ist auch die professionelle medizinische Versorgung der Landbevölkerung gefährdet und vereinzelt schon nicht mehr möglich. Aus diesem Grund ist die Entwicklung angepasster, einfacher und kostengünstiger Diagnostik- und Therapieverfahren für die Sicherstellung der medizinischen Versorgung von großer Relevanz.

7.2.4 Wirtschaft

Tansania zählt zu den ärmsten Ländern der Welt. Besonders das geringe Bruttoinlandsprodukt, die Korruptionsproblematik in öffentlichen Einrichtungen, die Landflucht der jungen Generationen und der zunehmende Abstrom gut ausgebildeter Fachkräfte in benachbarte oder westliche Länder gehören zu den grundlegenden Problemen. Den wichtigsten Wirtschaftszweig bildet der Agrarsektor, in dem etwa 90% der Erwerbstätigen beschäftigt sind. Zu den bedeutendsten Exportwaren gehören neben Kaffee und Tee auch Tabak, Bananen und Cashewnüsse. Die Hoffnungsträger für einen wirtschaftlichen Aufschwung sind derzeit die aufblühende Touristik-Industrie und der vermehrte Rohstoffabbau (Diamanten, Gold). Besonders Unternehmen aus Südafrika, Indien, Deutschland, England und Japan haben Tansania als wirtschaftlichen Partner für sich entdeckt. Trotz der beginnenden Verbesserung der wirtschaftlichen Situation bleibt für den Großteil der Bevölkerung insbesondere auf dem Land die Armutproblematik bestehen.

7.2.5 Lebensbedingungen

Der Großteil der Landbevölkerung lebt in traditionellen Lehmhütten (siehe Anhang Abbildung 12.22) oder in einfachen Wellblech-Hütten. Hier besteht weder Wasser- noch Stromversorgung. Als Wasserreservoir dienen häufig Seen, Flüsse oder Wasserlöcher in der Umgebung. In größeren Dörfern und kleinen Städten verfügen die Haushalte zumindest teilweise über Generatorenstrom und Grundwasserbrunnen oder Zisternen.

Das Leben der Menschen spielt sich überwiegend vor dem Haus ab. Gekocht wird auf einfachen Holzfeueröfen. Als Grundnahrungsmittel dienen Getreide wie Mais, Reis und Hirse. Zusätzliche Kohlenhydratlieferanten sind Kasava, Süßkartoffeln und Zuckerrohr. Ergänzt wird die überwiegend vegetarische Ernährung durch verschiedene Gemüse, Hülsenfrüchte, Kochbananen, Erdnüsse und Trockenfisch.

Schlechte hygienische Bedingungen, ungenügende Bildung und Aufklärung, fehlende Prävention und unzureichender Zugang zu medizinischer Versorgung sind mitverantwortlich für die Vielzahl an Infektionserkrankungen der Haut, des Respirationstraktes, des Magen-Darm-Traktes sowie der Geschlechtsorgane (STI). Weiterhin stellen die zahlreichen tropischen Insekten, allen voran die Moskitos und die von ihnen übertragenen Krankheitserreger ein hohes Gesundheitsrisiko dar. Innerhalb der letzten 2 Jahrzehnte musste zudem die Ausbreitung der Immunschwächekrankheit HIV (Prävalenz 7% (USAID 2004)) besonders unter den 15- bis 50 Jährigen beobachtet werden. Neben den Infektionserkrankungen zählen Unfälle, Tumoren und chronische Erkrankungen, insbesondere Diabetes mellitus und Hypertonie, zu den häufigsten Krankheiten.

7.2.6 Ndanda

Der Ort Ndanda, in welchem der Großteil der Forschungsarbeit durchgeführt wurde, liegt ca. 40 km östlich der Distrikthauptstadt Masasi und ca. 160 km westlich von Mtwara, der Hauptstadt der Region. Er erstreckt sich entlang der B5, einer wichtigen Versorgungsstraße zwischen Mtwara und Masasi. In Ndanda leben ca. 10.000 Einwohner. Das Dorf wird durch eine der größten Benediktiner-Abteien in Tansania geprägt. Die Bruderschaft und die Einrichtungen der Benediktiner beeinflussen in vielen Bereichen des öffentlichen Lebens den Alltag der Bevölkerung. So gehören das Krankenhaus, die Druckerei, die Kfz- und die Steinmetz-Werkstatt zu den wichtigsten Arbeitgebern der Region. Das durch Quellwasser betriebene Wasserkraftwerk, welches die Strom- und Wasserversorgung großer Teile des Ortes sicherstellt, wurde ebenfalls durch den Orden errichtet.

Das St. Benedict's Hospital gehört zu einem der wenigen ländlichen Krankenhäusern Tansanias, welches über eine ununterbrochene Strom- und Trinkwasserversorgung verfügt. Dadurch wird die Möglichkeit einer permanent einsatzbereiten Diagnostik und Versorgung der Patienten sichergestellt und bietet viele Vorteile für Patienten und Personal.

Das Krankenhaus wird von einheimischen Ärzten geleitet. Lediglich Entscheidungen bezüglich des Etat und Instandhaltungsmaßnahmen werden vom „Hospital Board of Trustees“, den die Benediktiner stellen, getroffen. Wesentlichen Einfluss auf die Abläufe in der Klinik haben zudem die Schwestern des Tutzinger- und Tulu-Ordens, die sowohl administrative als auch medizinisch ärztliche Aufgaben wahrnehmen.

Die Leitung der Abtei und das Missionsärztliche Institut in Würzburg arbeiten seit mehreren Jahrzehnten immer wieder bei Projekten im St. Benedict's Hospital zusammen. Durch diese Verbindung und aufgrund der guten Infrastruktur vor Ort ergab sich die Idee, die Feldstudie in Ndanda durchzuführen.

Das Hospital (siehe Anhang Abbildung 12.12 und Abbildung 12.13) ist eine ländliche Klinik mittlerer Größe. Sie hat 300 Betten und verfügt über 18 Abteilungen:

- Allgemeine Notaufnahme und Private Notaufnahme
- MCH- Klinik und Natural Family Planning (NFP)
- Medizinische Station und Tuberkulose Station
- Pädiatrische Station (für Kinder bis zum 5. Lebensjahr)
- Isolationsstation
- Operative Abteilung (Allgemeine- und Unfallchirurgie, Gynäkologie, Urologie)
- Schwangeren- und Wöchnerinnenstation
- Station für Augen- und Zahnerkrankungen
- Labor, Röntgen, Sozialdienst, Physiotherapie
- Schwesternschule

Die Stationen für Tb-, Augen-, Zahn- und Privatpatienten liegen außerhalb des Hauptgebäudes. In dem gut ausgerüsteten Labor (siehe Anhang Abbildung 12.14) und der Röntgen-Abteilung können grundlegende diagnostische Untersuchungen durchgeführt werden. In dem modernen Op-Trakt werden täglich Operationen der verschiedenen medizinischen Abteilungen durchgeführt.

Der Klinik sind eine Schwesternschule und eine Schule für Physiotherapie angegliedert.

Das St. Benedict's Hospital gehört aufgrund der bereits genannten Vorteile bezüglich seiner Infrastruktur, der technischen Einrichtung und der Versorgung der Patienten, zu den am besten ausgestatteten Krankenhäusern in Südtansania. Das Patienteneinzugsgebiet der Klinik erstreckt sich über mehrere hundert Kilometer bis in den Norden von Mosambik. Zum Teil werden auch Patienten größerer staatlicher Kliniken wegen der besseren medizinischen Versorgung nach Ndanda überwiesen. Das Krankenhaus sichert die medizinische Versorgung für etwa 2,2 Millionen Menschen in der Region.

7.2.7 Patientenmanagement

Die Patientenversorgung erfolgt ambulant oder stationär. Ob ein stationärer Aufenthalt notwendig wird, ist von der medizinischen Dringlichkeit, dem Patientenzustand und der Zahlungsfähigkeit der Angehörigen abhängig.

Aus Kostengründen werden eine Vielzahl der Patienten mit Infektionserkrankungen, Malaria oder auch Anämie ambulant behandelt. Aus diesem Grund wurden die im Vorfeld der Studie geplanten regelmäßigen Hb-Verlaufsmessungen bei Patienten mit schwerer Anämie unmöglich.

7.2.8 Mnero

Während der Arbeit in Ndanda ergab sich die Möglichkeit eines einwöchigen Forschungsaufenthalts am Diocesan Hospital in Mnero (siehe Anhang Abbildung 12.23).

Mnero liegt ca. 30 km nördlich von Nachingwea im Distrikt Lindi. Der Ort ist fernab der asphaltierten Strassen nur über Lehm- und Sandpisten zu erreichen (siehe Anhang Abbildung 12.20 und Abbildung 12.21). Mnero hat etwa 6000 Einwohner. Das Diocesan Hospital bietet der ansässigen Landbevölkerung (ca. 60.000 Menschen)

neben der staatlichen Klinik in Nachingwea die einzige Möglichkeit auf eine medizinische Versorgung im Umkreis von 100 km.

Die Bedingungen vor Ort ermöglichen eine medizinische Grundversorgung der Patienten. Die Klinik verfügt über 120 stationäre Betten. Neben einer chirurgischen und allgemeinen Notfallambulanz gibt es fünf Stationen (Männer, Frauen, Kinder, Tb, Wöchnerinnen), eine Apotheke, einen OP und ein kleines Röntgengerät.

Im Labor der Klinik werden die wichtigsten diagnostischen Untersuchungen wie Blutausstriche, Hb-Messungen, Stuhl- und Urinuntersuchung sowie HIV-Teste durchgeführt.

Die Klinik wird über einen Grundwasserbrunnen mit Wasser und durch einen eigenen Dieselgenerator mit Strom versorgt. Allerdings wird dieser nur in den frühen Abendstunden und bei Bedarf, z.B. bei Operationen, eingeschaltet. Das Labor verfügt zusätzlich über ein Regenwasserreservoir.

In der Klinik als auch in der ganzen Region zeigt sich die extreme Abhängigkeit des Lebens von den klimatischen Gegebenheiten. So werden z.B. die Brunnen nur während den Regenzeiten aufgefüllt, so dass bei lang dauernder Trockenzeit oder einer unergiebigsten Regenperiode und dem damit verbundenen sinkenden Grundwasserspiegel Wasserarmut herrscht und das Leben stark beeinträchtigt wird.

Im Labor des Diocesan Hospital fanden sich im Vergleich zum St. Benedict`s Hospital deutlich schlechtere Arbeitsbedingungen (siehe Anhang Abbildung 12.24 und Abbildung 12.25). Neben mangelhafter Sauberkeit erschwerte insbesondere die schlechte Raumbeleuchtung die tägliche Arbeit.

Die Arbeit in Mnero sollte zeigen wie groß der Einfluss der Umgebungsbedingungen auf die verschiedenen Hb-Messverfahren bzw. auf ihre Anwendung sein kann.

7.3 Erwartete Ergebnisse und Probleme

Die Studie hat eine genaue Analyse der Vor- und Nachteile verschiedener Hb-Messverfahren zum Ziel. Hierbei soll insbesondere auf die Eignung der Verfahren bei Anwendung auf unterschiedlichen Versorgungsniveaus (Ndanda vs. Mnero) geachtet werden.

Auf der Basis der statistischen Analyse der Ergebnisse erfolgt ein direkter Vergleich zwischen den Messverfahren. Neben der Genauigkeit der Messwerte werden auch Faktoren wie Kostenaufwand, Komplexität in der Handhabung und technische Voraussetzungen berücksichtigt. Somit soll eine Einschätzung der klinischen Relevanz der Verfahren für den praktischen Einsatz möglich werden.

Die Auswertung der Befragung des medizinischen Personals soll Aufschluss darüber geben, inwieweit die Ergebnisse der Hb-Messungen als klinisch relevant empfunden werden und ab welchen Hb-Konzentrationen eine therapeutische Intervention eingeleitet wird. Durch diese Einschätzung seitens des medizinischen Personals vor Ort ergibt sich ein Überblick, bei welchen Hb-Konzentrationen sich in Abhängigkeit von individuellen und regionalen Gegebenheiten für bzw. gegen eine Therapie entschieden wird.

Im Verlauf der Studie sind keine nennenswerten bzw. unerwarteten Schwierigkeiten aufgetreten. Bei der Sicherstellung der Strom- und Wasserversorgung musste teilweise improvisiert werden. So wurde in Mnero filtriertes Regenwasser als Ersatz für destilliertes Wasser genutzt. Aufgrund der unsicheren Stromversorgung untertags wurden die photometrischen Messungen in die frühen Abendstunden verschoben, wenn die Nutzung von Generatorstrom sichergestellt war.

Die klimatischen Bedingungen machten bei entsprechender Vorbereitung keinerlei Probleme.

Die Verständigung mit den Patienten und dem Personal funktionierte ohne größere Missverständnisse. Das Interesse des Personals an der Studie war so groß, dass eine gute Zusammenarbeit vor Ort möglich wurde.

Um statistische als auch systematische Fehler so gering wie möglich zu halten, wurden die Messungen mit größter Sorgfalt und Genauigkeit durchgeführt. Weiterhin wurden regelmäßig Qualitätskontrollen durchgeführt (siehe Anhang Abbildung 12.2 bis Abbildung 12.4).

7.4 Altersverteilung

Die während der Studie untersuchten Kinder ($n = 751$) verteilen sich bezüglich ihres Alters wie folgt:

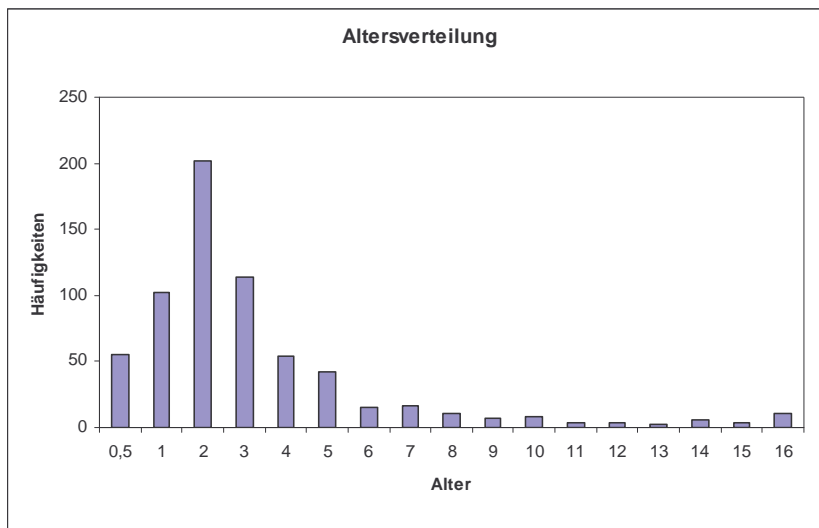


Abbildung 7.2: Altersverteilung der untersuchten Patienten

49 % der untersuchten Patienten waren männlich und 51% weiblich. Bei 631 Kindern wurde neben der Hämoglobinmessung ebenfalls ein Blutausstrich durchgeführt. In 38,9% der Fälle konnte eine Infektion mit *Plasmodium falciparum* nachgewiesen werden.

8 Auswertung

8.1 Einleitung

In der vorliegenden Studie werden drei vergleichsweise neue Hb-Messverfahren der Goldstandardmethode der Hb-Messung (nach ICSH) gegenübergestellt. Zwei der Methoden wurden speziell für die Anwendung unter sehr einfachen und klimatisch extremen Bedingungen entwickelt. Bei den beiden Messverfahren handelt es sich um:

1. die Haemoglobin Colour Scale,
2. den Spindocor.

Das dritte Verfahren, basierend auf Alkalin-Haematin-Detergent 575, wurde bereits 1986, als Alternative zur Goldstandardmethode der ICSH, entwickelt. Zunächst war es nur für Einrichtungen industrialisierter Länder vorgesehen. Aber aufgrund seiner angepassten Eigenschaften soll es nun auch in Ländern mit limitierten Ressourcen etabliert werden.

Für die Referenzmessungen wurde die photometrische HiCN Bestimmung angewendet. Es wurden innerhalb der Studie 751 Patienten, hauptsächlich Kleinkinder im Alter zwischen 1 Monat und 5 Jahren, bezüglich ihres Hb-Wertes untersucht. Dafür wurde den Patienten jeweils 200 µl kapillares Blut an einer Fingerbeere entnommen. Die gewonnene EDTA-Probe wurde zunächst mit der HCS- und Spindocor-Methode und im Anschluss mit den photometergestützten Verfahren untersucht.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des datenverarbeitenden Programmes Microsoft EXCEL®.

Die Werte wurden zur Auswertung in Abbildung 12.1 (siehe Anhang) gegenübergestellt und im folgendem miteinander verglichen.

Voraussetzung für einen objektiven Vergleich sind identische Umweltbedingungen, die für alle 3 Testverfahren und die Standardmethode vorlagen.

8 Auswertung

Zur Klärung der zentralen Frage, welches der Messverfahren die im Vergleich zur Referenzmethode exaktesten Werte bestimmt, dient der anschließende Abschnitt. Hierfür wurden anerkannte statistische Größen aus den Wertepaaren ermittelt, die eine Aussage über die Qualität des jeweiligen Tests erlauben.

Begriffserklärungen, die dem Verständnis des anschließenden Abschnitts dienen, sind im Anhang unter 12.3 nachzulesen.

Es folgt Tabelle 8.1, die einen Überblick der gesammelten Daten gibt.

Methode	Pro- be n	MW Δx	MW- Diff	SD σ	SD- Diff	Weite	Limits of agreement		An- stieg <i>m</i>	Inter- cept <i>b</i>	Corr <i>r</i>
							Schätz- wert	95% CI			
HiCN	751	10,1	-	2,4	-	4,3- 17,4	-		1	0	1
AHD ₅₇₅	751	9,5	-0,7	2,6	0,7	3,7- 16,9	-2,1 : 0,7	(-2,2;- 2,0): (0,78;0,8)	1,02	-0,82	0,96
HCS	751	10,2	0,1	2,0	1,4	4-14*	-2,7 : 2,9	(-2,9;- 2,6): (2,7;3,0)	0,67	3,22	0,79
Spindoc- tor	751	11,7	1,6	3,0	1,4	4,5-20	-1,2 : 4,4	(-1,4;- 1,0): (4,2;4,6)	1,10	0,55	0,88

Tabelle 8.1: Übersicht der Ergebnisse für AHD₅₇₅, HCS und den Spindoc-tor

* Begrenzung durch Aufteilung der Skala zwischen 4-14 g/dl

8.2 Statistische Auswertung der Hauptstudie

8.2.1 Mittelwert, Standardabweichung

Alkaline Haematin Detergent 575 (AHD₅₇₅)

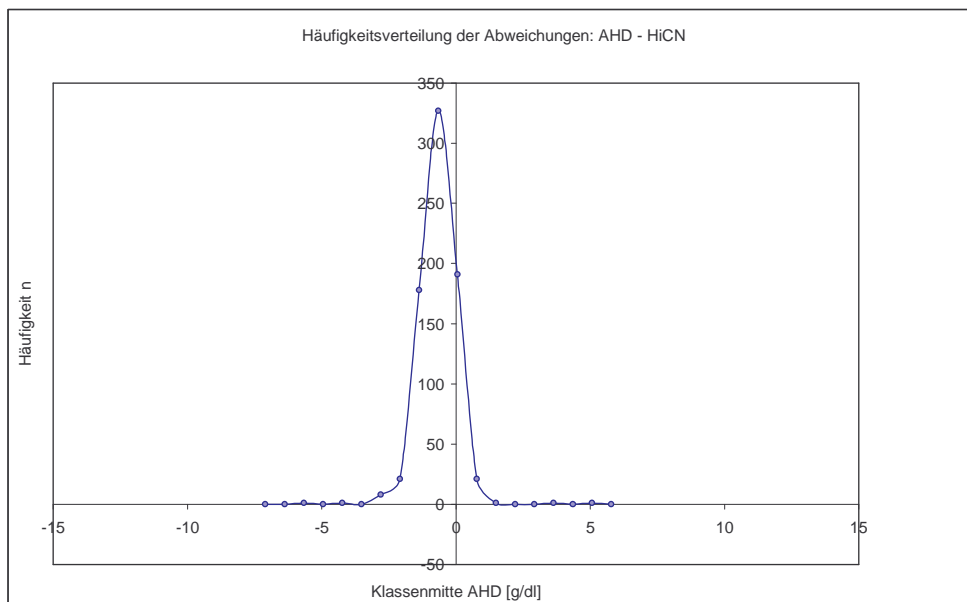


Abbildung 8.1: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen AHD₅₇₅ und HiCN

Die mittels AHD₅₇₅ ermittelten Hb-Werte liegen im Mittel unter den Referenzwerten. Dies kann sowohl anhand der Mittelwertdifferenz aller AHD₅₇₅ Messwerte (-0,7) als auch am negativen x-Wert (-0,7) des Höhepunktes in der Grafik in Abbildung 8.1 abgelesen werden.

Für die Standardabweichung der Differenzen zwischen Referenz- und Testwerten ergibt sich ein Wert von 0,7. Dieser ist im Vergleich der Abweichungen der HCS und des Spindocor am geringsten. In Abbildung 8.1 kann man dieses Ergebnis aus der schmalen Basis und der hohen Steilheit der Glockenkurve ableiten.

68% der Messwerte streuen zwischen 0 und -1,4 (Σ 1,4) um die Mittelwertdifferenz.

Haemoglobin Colour Scale (HCS)

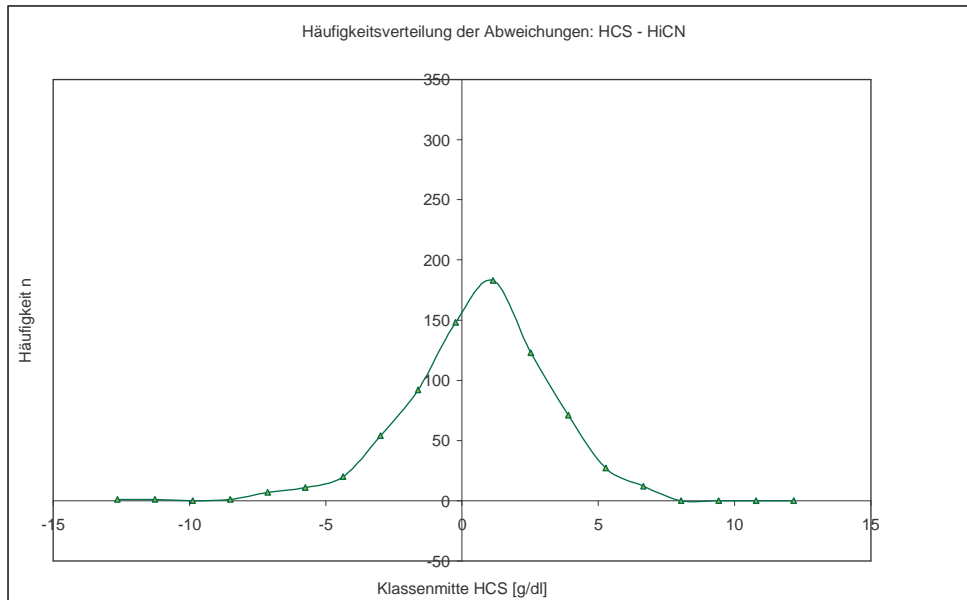


Abbildung 8.2: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen HCS und HiCN

Die HCS Methode weist eine gering positive Mittelwertdifferenz (+0,1) auf. Die gemessenen Hb-Konzentrationen liegen demnach im Mittel über den Referenzwerten. In Abbildung 8.2 lässt sich das anhand des positiven x-Wertes (+1,1) des Höhepunktes der Kurve erkennen.

Die Standardabweichung der Differenz ist mit 1,4 doppelt so groß wie die der AHD₅₇₅ Methode. Die Messergebnisse der HCS Methode streuen stärker um die Referenzwerte. Dementsprechend ist die Basis der grünen Glockenkurve in Abbildung 8.2 doppelt so breit wie die der Glockenkurve in Abbildung 8.1.

68% der HCS Werte streuen zwischen -1,3 und 1,5 (Σ 2,8) um die Mittelwertdifferenz.

Spinductor

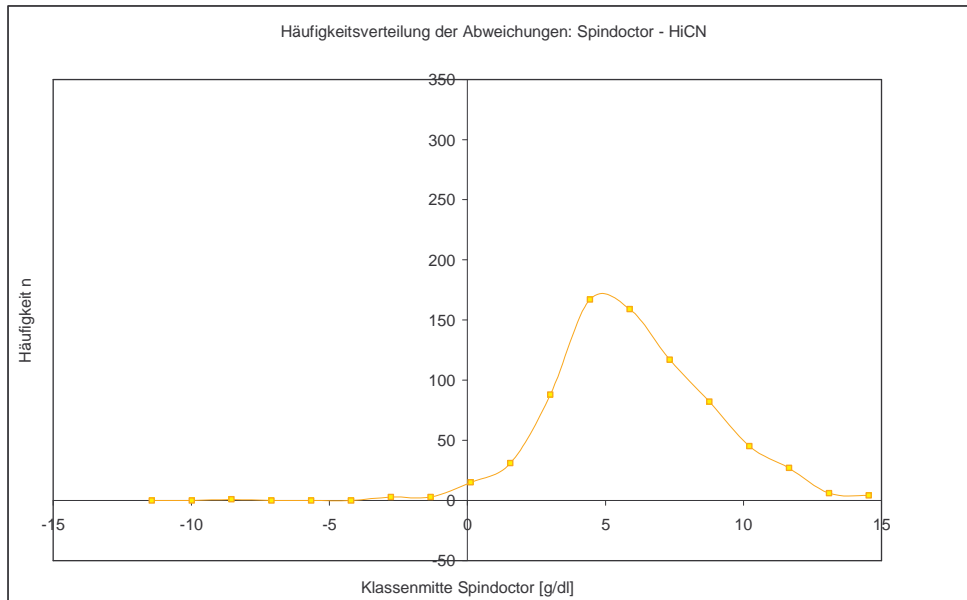


Abbildung 8.3: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen zwischen Spinductor und HiCN

Die Mittelwertdifferenz beträgt für den Spinductor +1,6. Die Messwerte der Spinductor Methode sind im Mittel größer als die tatsächlichen Messwerte. In Abbildung 8.3 lässt sich dies am positiven x-Wert des Höhepunktes (+4,4) der Glockenkurve erkennen.

Die Differenz der Standardabweichung beträgt +1,4 und ist doppelt so groß wie die der AHD₅₇₅ Methode. In Abbildung 8.3 wird dies anhand der breiten Basis der Kurve deutlich. Der Kurvenverlauf ist mit der HCS Kurve vergleichbar.

68% der Spinductor Werte streuen zwischen 0,2 und 3,0 (Σ 2,8) um die Mittelwertdifferenz.

8.2.2 Korrelationskoeffizient und lineare Regression

Im folgenden Abschnitt werden für die drei verschiedenen Messverfahren der Korrelationskoeffizient und die lineare Regression dargestellt. Die endgültige Beurteilung der Verfahren erfolgt anhand der Bland-Altman Plots (siehe 8.2.3).

Alkaline Haematin Detergent 575 (AHD₅₇₅)

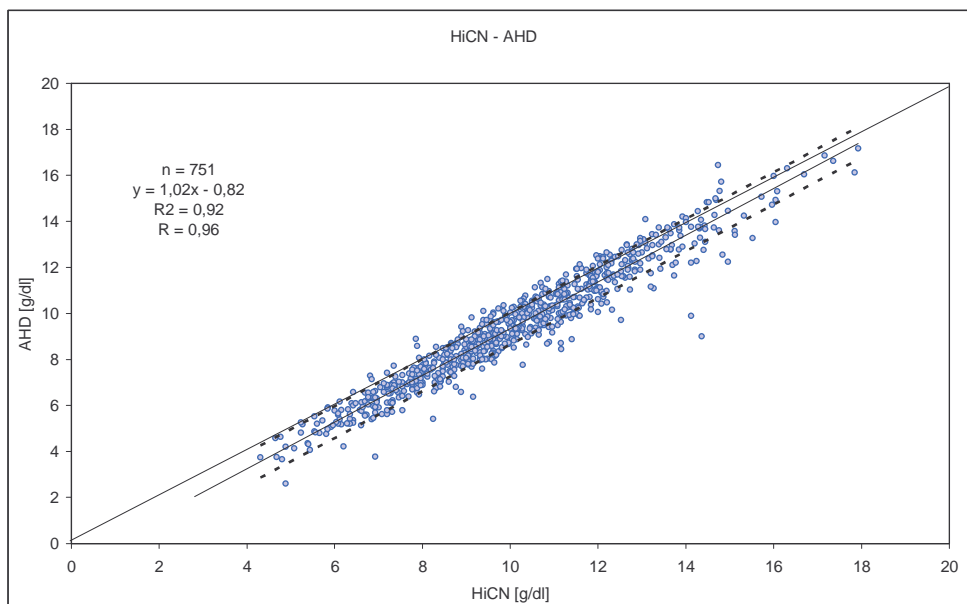


Abbildung 8.4: Korrelationsanalyse AHD₅₇₅

Der Korrelationskoeffizient der AHD₅₇₅ Methode beträgt $r = 0,96$. Die gestreckte Punktwolke in Abbildung 8.4 bildet annähernd eine steigende Gerade, die den linearen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der AHD₅₇₅ und der Referenzmethode widerspiegelt. Der Achsenabschnitt der Regressionsgeraden beträgt $b = -0,82$. Dementsprechend werden für alle tatsächlichen Konzentrationen zwischen 0 und ∞ g/dl die Messwerte mit der AHD₅₇₅ im Mittel niedriger bestimmt. Der Verlauf der Regressionsgeraden und der Referenzwertgeraden ist annähernd parallel. Die Steigung der Regressionsgeraden liegt bei $m = 1,02$. Der Mittelwert beträgt $\Delta x = 9,5$ und die Standardabweichung $\sigma = 2,6$.

Haemoglobin Colour Scale (HCS)

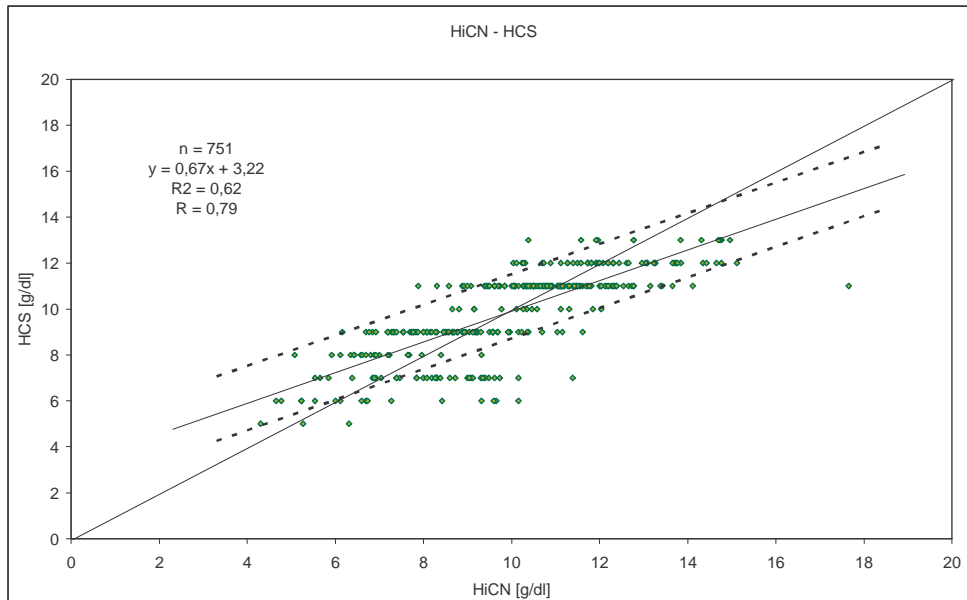


Abbildung 8.5: Korrelationsanalyse der HCS

Der Korrelationskoeffizient beträgt für die HCS Methode $r = 0,79$. Für den Achsenabschnitt ergibt sich ein Wert von $b = 3,2$. Die Steigung der Regressionsgeraden beträgt $m = 0,67$. Der Mittelwert beträgt $\Delta x = 10,2$. Für die Mittelwertdifferenz ergibt sich $x = 0,1$. Die Standardabweichung beträgt $\sigma = 2,0$.

Bei Betrachtung des Graphen in Abbildung 8.5 fällt die horizontale, linienförmige Folge der Messergebnisse auf, die sich durch die Skalierung in 2'er Schritten ergibt. Wie durch den Hersteller beschrieben, wurde bei Unsicherheit zwischen zwei aufeinander folgenden Farbnüancen das Ergebnis auch in 1'er Schritten abgelesen.

Die Regressionsgerade schneidet die Referenzwertlinie in dem Punkt (9,8; 9,8). Dieser Verlauf zeigt an, dass die HCS Methode links des Schnittpunktes eher höhere und rechts davon niedrigere Ergebnisse als die Referenzmethode ermittelt. Das bedeutet, dass bei einer tatsächlichen Hb-Konzentration $< 9,8$ g/dl durch die HCS tendenziell höhere Werte und bei Konzentrationen $> 9,8$ g/dl tendenziell niedrigere Werte gemessen werden.

Zur Veranschaulichung zeigen Abbildung 8.6 und Abbildung 8.7 die Verteilung der Messwerte bis zu einer max. tatsächlichen Konzentration von 9,8 g/dl bzw. 7 g/dl.

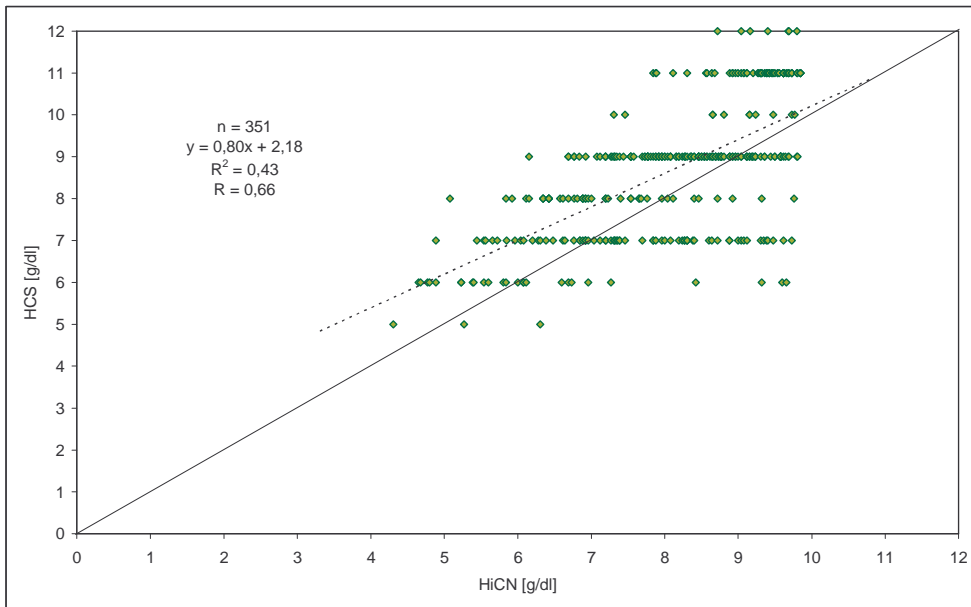


Abbildung 8.6: Verteilung der HCS bei $x_{\max} = 9,8$ g/dl

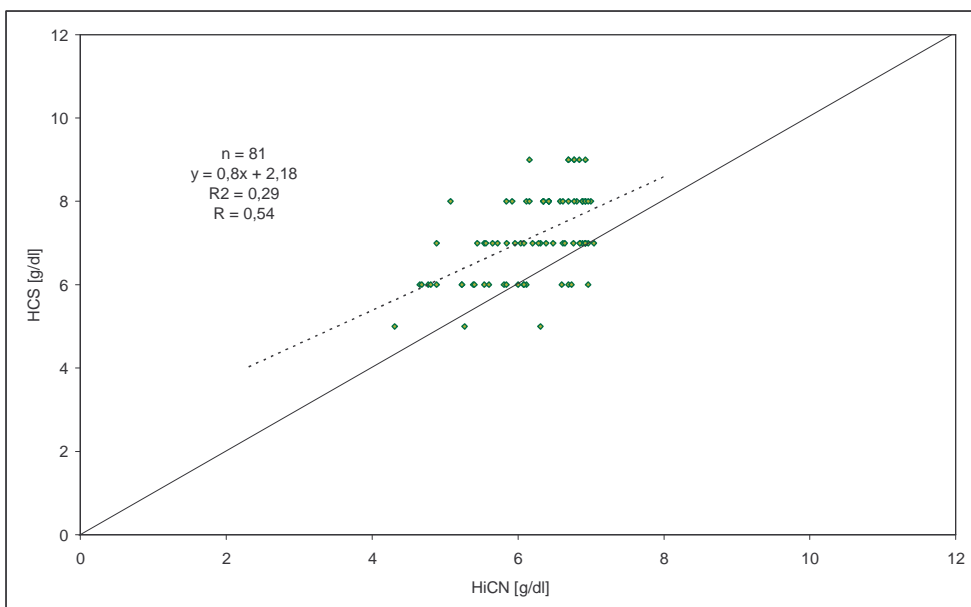


Abbildung 8.7: Verteilung der HCS bei $x_{\max} = 7$ g/dl

Die Punktwolken liegen deutlich oberhalb der Linie der Referenzwerte. 71% der Werte bis zu einer tatsächlichen Konzentration von 9,8 g/dl werden mit der HCS zu hoch

bestimmt. Zieht man die Grenze bei 7 g/dl werden 88% der Werte zu hoch bestimmt. Der Korrelationskoeffizient liegt für Werte bis 9,8 g/dl bei $r = 0,66$. Er beträgt für Konzentrationen bis 7 g/dl allerdings nur noch $r = 0,54$. Insgesamt liegen etwa 47% ($n = 351$) aller gemessenen Werte zwischen 4 g/dl und 9,8 g/dl.

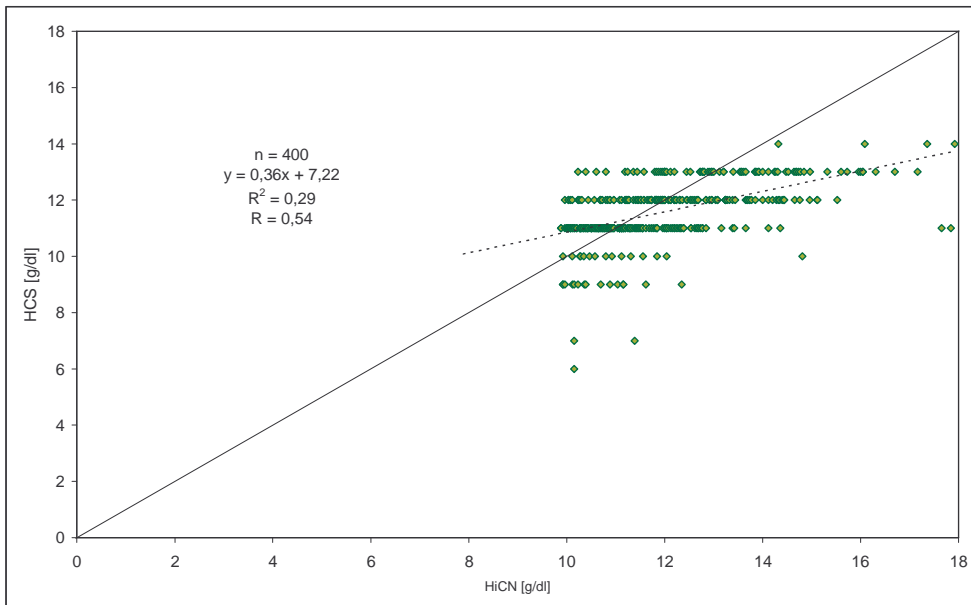


Abbildung 8.8: Verteilung der HCS bei $x_{\min} = 9,9$ g/dl

In Abbildung 8.8 ist die Verteilung der Messwerte beginnend mit einer Konzentration von 9,9 g/dl dargestellt. Die Punktwolke liegt unterhalb der Linie der Referenzwerte. 55% der Werte ab einer tatsächlichen Konzentration von 9,9 g/dl werden mit der HCS zu niedrig bestimmt. Der Korrelationskoeffizient liegt für Werte ab 9,9 g/dl bei $r = 0,54$.

Spindoctoctor

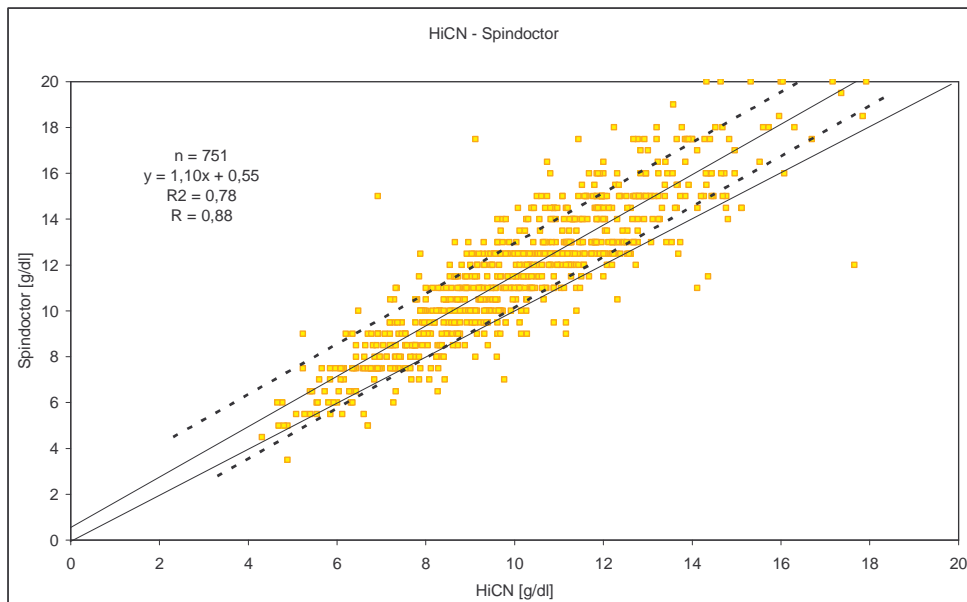


Abbildung 8.9: Korrelationsanalyse Spindoctoctor

Der Korrelationskoeffizient der Spindoctoctor Methode beträgt $r = 0,88$. Allerdings ist zu beachten, dass der Spindoctoctor im Durchschnitt zu hohe Messergebnisse erzielt.

Der Achsenabschnitt beträgt $b = 0,55$. Die Regressionsgerade verläuft oberhalb der Referenzwertlinie und nähert sich allmählich an. Der Verlauf der Gerade in Abbildung 8.9 zeigt, dass bei der Spindoctoctor Methode eine proportionale Abweichung zwischen dem ermittelten und dem tatsächlichen Hb-Wert vorliegt. Je höher die ermittelte Hb-Konzentration ist, umso höher ist auch die Abweichung vom Referenzwert. Dies wird durch die Steigung $m > 1$ ($m = 1,1$) bestätigt. Der Mittelwert beträgt $\Delta x = 11,7$. Für die Mittelwertdifferenz ergibt sich $x = 1,6$. Die Standardabweichung beträgt $\sigma = 3,0$.

Die Punktwolke in Abbildung 8.9 zeigt, dass die Messwerte des Spindoctoctor in den hohen Wertebereich verschoben sind. Die gemessenen Werte sind im Mittel größer als die tatsächlichen Werte.

8.2.3 Limits of agreement

Der Bland-Altman Plot ist eine Methode zur statistischen Auswertung und Vergleich verschiedener Messverfahren. Es folgen die Plots für die getesteten Hb-Messverfahren in Referenz zur HiCN Methode.

Alkaline Haematin Detergent 575 (AHD₅₇₅)

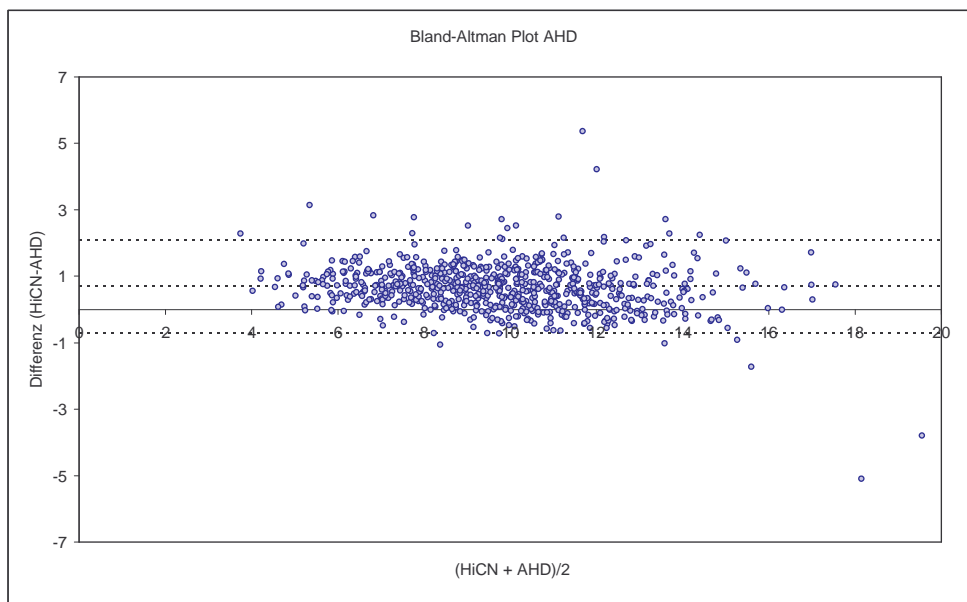
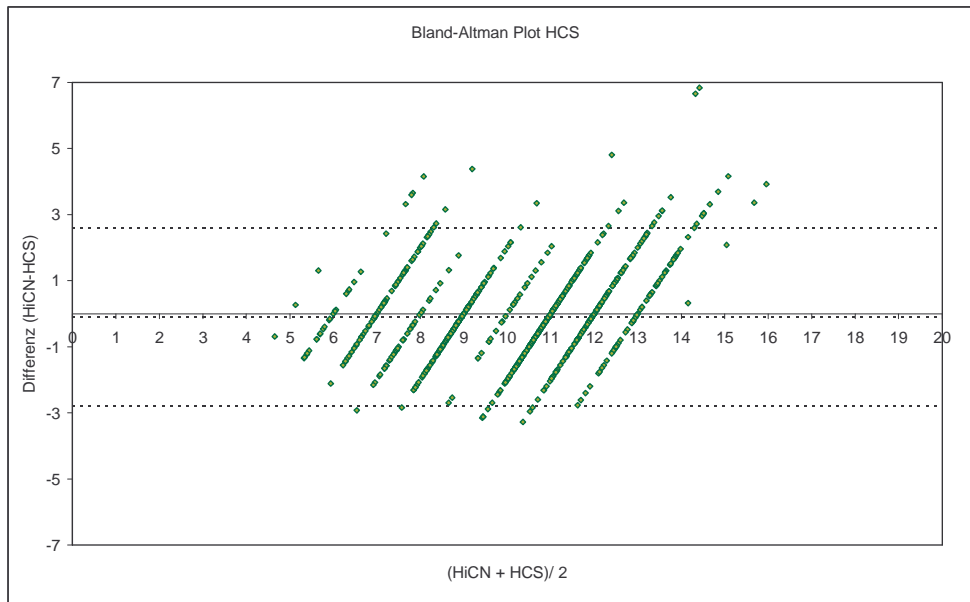


Abbildung 8.10: Bland-Altman Plot AHD₅₇₅

Die Verteilung der Differenzen der Messergebnisse zwischen der HiCN- und der AHD₅₇₅ Methode im Bland-Altman Plot lassen auf eine ausgeprägte Äquivalenz beider Verfahren schließen. Die Punktwolke spannt sich zwischen $(d + 2s)$ und $(d - 2s)$ bzw. -0,7 und 2,1 auf. In diesem Bereich liegen 96% der gemessenen Werte.

In Abbildung 8.10 wird deutlich, dass die Mehrzahl der gemessenen AHD₅₇₅ Werte geringer als die tatsächliche Konzentration sind. Der Mittelwert der Differenzen beträgt $x = 0,7$.

Haemoglobin Colour Scale (HCS)**Abbildung 8.11: Bland-Altman Plot HCS**

Der Bland-Altman Plot der HCS in Abbildung 8.11 zeigt eine diagonale linienförmige Punktwolke, die einem Parallelogramm ähnelt. Hierfür verantwortlich ist die Skaleneinteilung der HCS.

Die Mittelwertlinie verläuft bei $y = -0,1$. Die Punktwolke spannt sich zwischen $(d + 2s)$ und $(d - 2s)$ bzw. $-2,8$ und $2,6$ auf $(5,4)$. In diesem Bereich liegen 96% der gemessenen Werte.

Spindoctor



Abbildung 8.12: Bland-Altman Plot Spindoctor

Der Bland-Altman Plot der Spindoctor Methode zeigt eine Punktwolke mit Verlauf von links oben nach rechts unten. Das weist auf das Vorliegen eines proportionalen Fehlers hin. Die Abweichungen der Messergebnisse nehmen mit steigender tatsächlicher Hb-Konzentration zu.

Die Mittelwertlinie verläuft mit $y = -1,5$. Die Messwerte liegen im Mittel entsprechend höher als die Referenzwerte. 96% der Messergebnisse streuen im Differenzbereich ($d + 2s$; $d - 2s$) zwischen 1,1 und -4,3 (5,4).

8.2.4 Signifikanz

Bei Berechnung der statistischen Signifikanz der zu prüfenden Testverfahren, zeigt sich folgendes Ergebnis:

Für die AHD₅₇₅ Methode ergeben sich die Annahmen:

H0: Die AHD₅₇₅ Methode misst so gut wie die HCS.

H1: Die AHD₅₇₅ Methode misst genauer als die HCS.

Im Ergebnis zeigt sich, dass die Nullhypothese zum Signifikanzniveau von $> 99\%$ verworfen werden muss. Dementsprechend ergibt sich, dass das Testergebnis: die AHD₅₇₅ Methode misst besser als die HCS zu $> 99\%$ signifikant ist ($p = 0,01$).

Für die HCS ergeben sich die Annahmen:

H0: Die HCS misst so gut wie der Spinductor.

H1: Die HCS misst genauer als der Spinductor.

Das Ergebnis zeigt, dass die Nullhypothese zum Signifikanzniveau von $> 99\%$ verworfen werden muss. Folglich ergibt sich, dass das Testergebnis: die HCS misst besser als der Spinductor zu $> 99\%$ signifikant ist ($p = 0,01$).

Für die Spinductor Methode ergeben sich die Annahmen:

H0: Der Spinductor misst genauso gut wie die AHD₅₇₅ Methode.

H1: Der Spinductor misst schlechter als die AHD₅₇₅ Methode.

Im Ergebnis zeigt sich, dass die Nullhypothese zum Signifikanzniveau von $> 99\%$ verworfen werden muss. Demnach ergibt sich, dass das Testergebnis: der Spinductor misst ungenauer als die AHD₅₇₅ Methode zu $> 99\%$ signifikant ist ($p = 0,01$).

8.2.5 Spezifität, Sensitivität, positiver und negativer Vorhersagewert

Anhand verschiedener Größen kann eine qualitative Aussage über den untersuchten Test getroffen werden. Zu den relevanten Werten gehören die Spezifität, Sensitivität, falsch-positiv Rate, falsch-negativ Rate, der positiv prädiktive Wert (Relevanz), der negativ prädiktive Wert (Segreganz) sowie die Korrekt- und Falschklassifikationsrate. Die beschriebenen Größen wurden für jedes Messverfahren mit Hilfe einer Vierfeldertafel ermittelt.

HiCN - AHD₅₇₅

		HiCN		N
		7	> 7	
AHD ₅₇₅	7	78	58	136
		97,5%	9%	
	> 7	2	613	615
		2,5%	91%	
n		80	671	751

Tabelle 8.2: Vierfeldertabelle HiCN-AHD₅₇₅

Die Untersuchung von 751 EDTA-Blutproben (kapillar) mittels HiCN und AHD₅₇₅ wurde in einer Vierfeldertabelle dargestellt. Das Ergebnis lautet wie folgt:

Bei 98% der Anämiepatienten wurde ein Hb unter 7 g/dl exakt erkannt (= diagnostische Sensitivität).

Bei 91% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität).

Bei 9% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde mit Hilfe der AHD₅₇₅ Methode ein Hb < 7 g/dl (falsch positiver Wert) ermittelt.

Bei 3% der Patienten mit einem Hb unter 7 g/dl wurde anhand der AHD₅₇₅ Methode ein Hb > 7 g/dl (falsch negativer Wert) gemessen.

Der negative prädiktive Wert beträgt 100%. Der positive prädiktive Wert beträgt 57%.

HiCN - HCS

		HiCN		N
		7	> 7	
HCS	7	49 61%	53 8%	102
	> 7	31 39%	618 92%	
n		80	671	751

Tabelle 8.3: Vierfeldertabelle HiCN-HCS

Die Untersuchung von 751 EDTA-Blutproben (kapillar) mittels HiCN und HCS wurde in einer Vierfeldertabelle dargestellt. Das Ergebnis lautet wie folgt:

Bei 61% der Anämiepatienten wurde ein Hb unter 7 g/dl exakt erkannt (= diagnostische Sensitivität).

Bei 92% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität)

Bei 8% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde mit der HCS Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert) ermittelt.

Bei 39% der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl wurde mittels der HCS eine Hb-Konzentration über 7 g/dl (falsch negativer Wert) gemessen.

Der negative prädiktive Wert beträgt 95%. Der positive prädiktive Wert beträgt 48%.

HiCN - Spindocor

		HiCN		N
		7	> 7	
Spindocor	7	35 44%	8 1%	43
	> 7	45 45%	663 99%	
n		80	671	751

Tabelle 8.4: Vierfeldertabelle HiCN-Spindocor

Die Untersuchung von 751 EDTA-Blutproben (kapillar) mittels HiCN und Spindocor wurde in einer Vierfeldertabelle dargestellt. Das Ergebnis lautet wie folgt:

Bei 44% der Patienten wurde der Hb unter 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität).

Bei 99% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität).

Bei 1% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde mit Hilfe des Spindocter eine Hb-Konzentration unter 7 g/dl (= falsch positiver Wert) ermittelt.

Bei 56% der Patienten mit einem Hb unter 7 g/dl ergab sich mit dem Spindocter eine Hb-Konzentration über 7 g/dl (= falsch negativer Wert).

Der negative prädiktive Wert beträgt 94%. Der positive prädiktive Wert beträgt 81%.

Zusammenfassung

	Sensi	Spezi	falsch - (Hb < 7 g/dl)	falsch +	neg.prädiktiver Wert	pos.prädiktiver Wert
AHD ₅₇₅	97,5%	91%	2,5%	9%	100%	57%
HCS	61%	92%	39%	8%	95%	48%
Spin	44%	99%	56%	1%	94%	81%

Tabelle 8.5: Zusammenfassung der Ergebnisse für AHD₅₇₅, HCS und Spindocter

Eine Testmethode gilt als zuverlässig, wenn sowohl die Spezifität als auch die Sensitivität möglichst hohe Werte erreichen. Der Idealwert beträgt 100%. Eine Wertung bezüglich der Zuverlässigkeit kann nur unter Berücksichtigung beider Faktoren abgegeben werden. Eine für die Beurteilung eines Testverfahrens wichtige Rolle spielt zudem der Anteil der falsch negativen Messergebnisse. In Bezug auf den Hämoglobinwert kann es lebensbedrohliche Folgen für den Patienten haben, wenn eine schwere Anämie nicht erkannt und somit nicht therapiert wird.

Für die Zuverlässigkeit eines Messverfahrens sind weiterhin die falsch positiven Ergebnisse, die den Untersuchten fälschlicherweise als anämisch einstufen, bedeutend. Da die Fehlbestimmung in der Regel primär nicht auffallen wird, bergen unnötige

Transfusionen das erhöhte Risiko einer Infektion mit HIV, Hepatitis oder Blutparasiten wie Malaria.

Ergänzend zur qualitativen Betrachtung erfolgt in Tabelle 8.6 eine Differenzierung der methodenspezifischen Messwerte anhand des Abstandes (in g/dl) zu den Referenzwerten.

	Nähe zur HiCN			
	± 1 g/dl	1,1-2,0 g/dl	2,1-3,0 g/dl	> 3,0 g/dl
AHD ₅₇₅	530 (71) ^a	197 (26)	19 (2)	5 (1)
HCS	399 (53)	251 (34)	74 (9)	27 (4)
Spinductor	256 (34)	224 (30)	154 (20)	117 (16)

Tabelle 8.6: Abstand zwischen Messwerten: Prüfverfahren - HiCN

^a Angaben in Klammern in Prozent

Bei der AHD₅₇₅ Methode weichen 71% der Messwerte um max. 1 g/dl, 26% um max. 2 g/dl und 3% um > 2 g/dl von den HiCN Werten ab.

Bei der HCS Methode weichen 53% der Messwerte um max. 1 g/dl, 34% innerhalb von 2 g/dl und 13% um > 2 g/dl von den tatsächlichen Konzentrationen ab.

Bei der Spinductor Methode weichen 34% der Messwerte um max. 1 g/dl, 30% um max. 2 g/dl und 36% um > 2g/dl von den Referenzwerten ab.

Tabelle 8.7 gibt einen Überblick über die Prävalenz der verschiedenen Anämie-Schweregrade (Anämieprävalenz ~ 80%) und die mit Hilfe jedes Messverfahrens ermittelten Patientenhäufigkeiten innerhalb dieser Einteilung.

	Norm	Milde A.	Moderate A.	Schwere A.	Sehr schwere A.
	12 g/dl	9; < 12 g/dl	7; < 9 g/dl	> 5; < 7 g/dl	5 g/dl
HiCN	163 (22) ^a	346 (45)	163 (22)	72 (10)	7 (1)
AHD ₅₇₅	118 (16)	312 (42)	192 (26)	110 (15)	19 (3)
HCS	210 (28)	396 (53)	115 (15)	30 (4)	0
Spinductor	384 (51)	237 (32)	97 (13)	31 (4)	2 (0,3)

Tabelle 8.7: Ergebnisse der Messverfahren in Abhängigkeit der Schwere der Anämie

^a Angaben in Klammern in Prozent

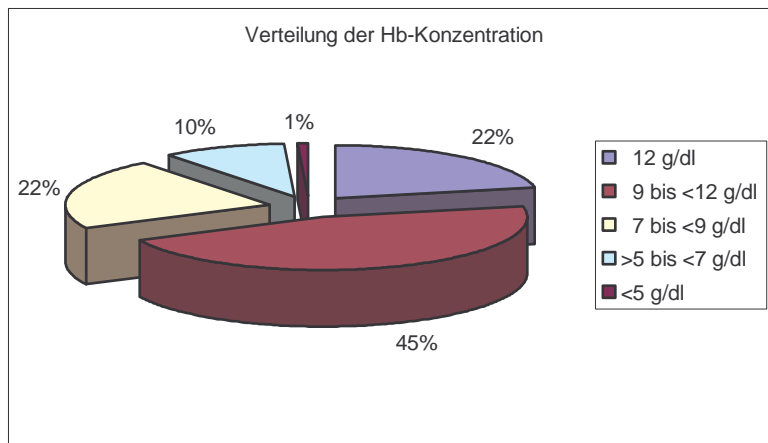


Abbildung 8.13: Verteilung der mittels HiCN Methode ermittelten 751 Hb-Werte

8.2.6 Validität

Die Validität gibt ein qualitatives Urteil bzw. den Grad der Genauigkeit an, mit dem eine bestimmte Methode das Merkmal erfasst, welches es zu erfassen beansprucht.

Die untersuchten Verfahren wurden speziell für die Hb-Bestimmung entwickelt. Die Frage, ob die Tests das messen, was sie angeben zu messen, kann mit ja beantwortet werden. Dies wurde durch den Vergleich zwischen den Messergebnissen der Referenzmethode und den zu überprüfenden Verfahren bestätigt. Auf die Zuverlässigkeit und Objektivität der Messungen wird unter „9 Diskussion“ näher eingegangen.

8.2.7 Separate Betrachtung der Haemoglobin Colour Scale

Im folgenden Abschnitt wird die Methodik der HCS im Einzelnen überprüft. Dabei werden insbesondere die individuellen Unterschiede und der Einfluss exogener Faktoren bei Anwendung der HCS betrachtet. Die Untersuchung wurde in Zusammenarbeit mit vier vor Ort beschäftigten Labor-Technikern und der Doktorandin durchgeführt. Sie bestimmten jeweils die Hb-Konzentrationen aus 100 Proben von Kleinkindern (1 Monat - 5 Jahre) mit Hilfe der HCS. Alle Tester bekamen identische Proben, arbeiteten unter identischen Raum- und Lichtbedingungen und unabhängig voneinander. Als Referenzmethode diente wiederum die HiCN Methode, die im Anschluss jeder HCS Messung durchgeführt wurde. Bei keinem der Freiwilligen war bei Durchführung der Teilstudie eine Farbsehstörung bekannt.

Zur Ermittlung der Unterschiede, die während der Messungen auftraten, werden nachfolgend, die wichtigsten statistischen Größen erläutert. Weiterhin wird der exogene Faktor Licht, der möglicherweise großen Einfluss auf die Qualität der Messergebnisse hat, ausführlich betrachtet.

Es folgt Tabelle 8.8, welche eine Übersicht über die Ergebnisse der Teilstudie gibt.

Tester	Probe <i>n</i>	Mittel Δx	Mittel-Diff	SD σ	SD-Diff	Limits of agreement		Anstieg <i>m</i>	Intercept <i>B</i>	Corr. <i>R</i>
						Schätzwert	95% CI			
I	100	8,7	-1,6	2,6	1,3	-4,2 : 1,0	(-4,8;-3,7): (0,4;1,6)	0,98	-1,34	0,87
II	100	9,0	-1,3	2,2	1,7	-4,7 : 2,1	(-5,3;-4,1): (1,5;2,7)	0,69	1,84	0,7
III	100	9,9	-0,4	2,0	1,9	-4,2 : 3,4	(-4,9;-3,6): (2,8;4,1)	0,55	4,21	0,64
IV	100	9,1	-1,2	2,4	1,6	-4,3 : 1,9	(-4,9;-3,8): (1,4;2,5)	0,79	1,04	0,75
V	100	10,4	0,1	1,7	1,2	-2,3 : 2,5	(-2,7;-1,9): (2,1;2,9)	0,62	4,00	0,86

Tabelle 8.8: Zusammenfassung der individuellen Ergebnisse

Mittelwert

Der Mittelwert der Differenz aus „HCS – HiCN“ ist für Tester I bis IV negativ. Im Vergleich zum Referenzwert werden die von den Testern gemessenen Hb Konzentrationen im Mittel zu niedrig bestimmt. Die Ergebnisse unterscheiden sich untereinander lediglich durch die Höhe der Abweichung.

Der Betrag der Mittelwertdifferenz von Tester V ist positiv und liegt bei 0,1 g/dl.

Standardabweichung

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der einzelnen Tester anhand der Standardabweichung miteinander verglichen. Die Berechnungen hierfür erfolgten anhand der Differenz aus Messwert und Referenzwert „HCS – HiCN“.

Die Standardabweichungen der Tester liegen zwischen $\sigma = 1,3$ g/dl und $\sigma = 2,1$ g/dl. In der Darstellung der Normalverteilungen (Abbildung 8.14) zeigt sich für die einzelnen Tester, dass die Messergebnisse individuell streuen. Die Breite der Kurvenbasis ist dabei maßgebend für die Genauigkeit der Messungen.

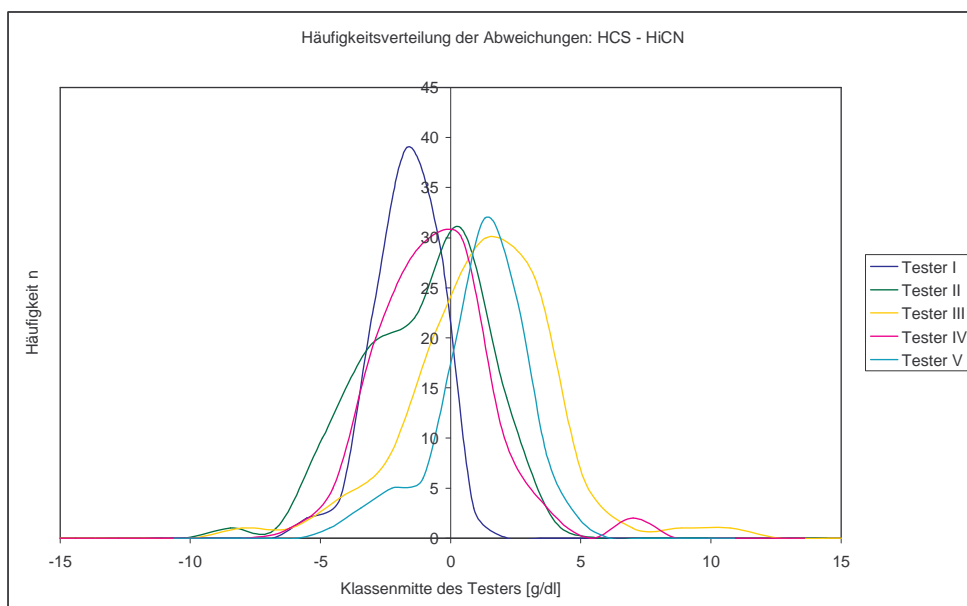


Abbildung 8.14: Häufigkeitsverteilung der Abweichungen: Übersicht

Die Standardabweichung von Tester I beträgt $\sigma = 1,3$. Die Glockenkurve ist schmal und hoch. 68% der Werte liegen im Bereich zwischen -2,9 und -0,3 ($\Sigma 3,2$).

Die Standardabweichung von Tester II beträgt $\sigma = 1,7$. Entsprechend der Standardabweichung liegen 68% der Werte zwischen -3,0 und 0,4 ($\Sigma 3,4$).

Die Standardabweichung von Tester III beträgt $\sigma = 1,9$. Der Verlauf des Graphen ist flach. 68% der Werte verteilen sich zwischen -2,3 und 1,5 ($\Sigma 3,8$).

Die Standardabweichung von Tester IV beträgt $\sigma = 1,6$. Die Glockenkurve verläuft hoch und mit einer schmalen Basis. 68% der Werte liegen zwischen -2,8 und 0,4 ($\Sigma 3,2$).

Die Standardabweichung von Tester V beträgt $\sigma = 1,2$. Der Verlauf des Graphen ist schmal und hoch. 68% der Werte verteilen sich zwischen -1,1 und 1,3 ($\Sigma 2,4$).

Korrelationskoeffizient, lineare Regression, Steigung und y-Intercept

Der Korrelationskoeffizient und die lineare Regression werden neben den allgemein anerkannten Größen: Steigung und y-Intercept, an dieser Stelle mit aufgeführt.

Es wird allerdings darauf hingewiesen, dass für die zuverlässige Beurteilung eines Verfahrens der im nächsten Abschnitt erläuterte Bland-Altman-Plot zu bevorzugen ist.

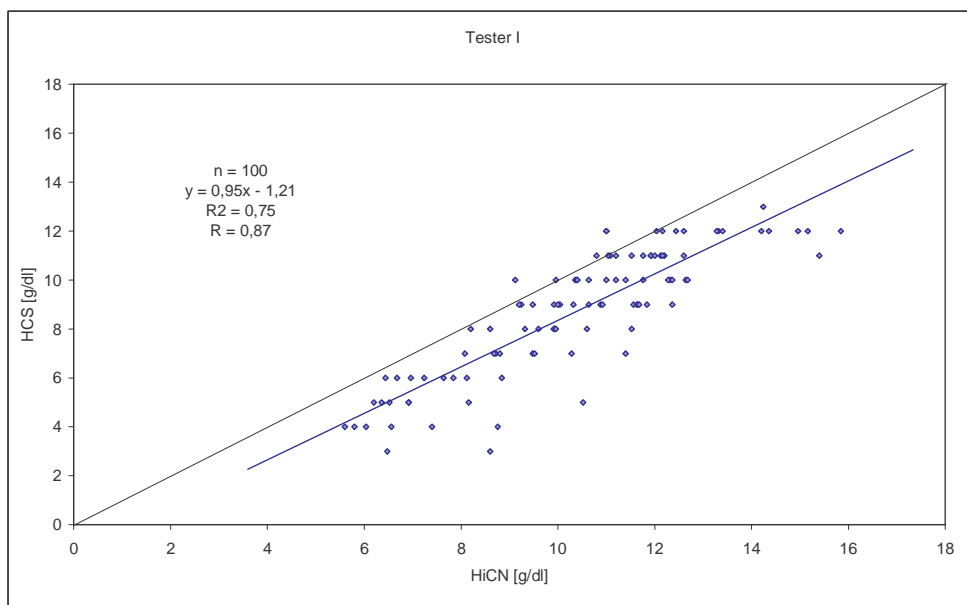


Abbildung 8.15: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester I

Der Korrelationskoeffizienten für Tester I beträgt $r = 0,87$. Die Regressionsgerade der Prüfwerte verläuft unterhalb und parallel der Ausgleichsgeraden der Referenzwerte (siehe Abbildung 8.15). Der Achsenabschnitt beträgt $b = -1,2$ und die Steigung $m \sim 1$.

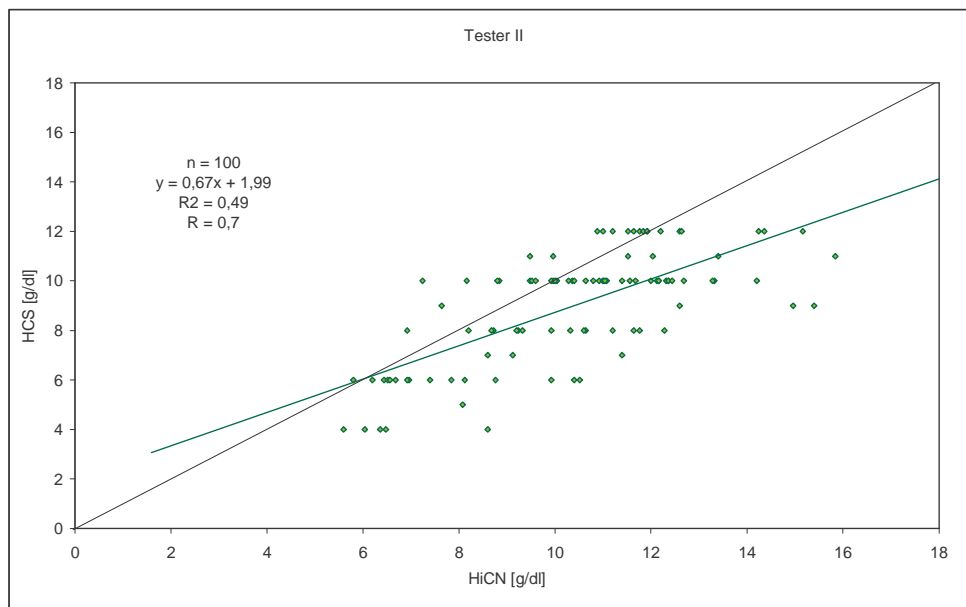


Abbildung 8.16: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester II

Der Korrelationskoeffizient von Tester II beträgt $r = 0,7$ (siehe Abbildung 8.16). Mit Hilfe der Gleichung der Regressionsgeraden für die Messwerte von Tester II lässt sich ein Schnittpunkt mit der Geraden der Referenzwerte bei $(6,03; 6,03)$ bestimmen. Die Steigung beträgt $m = 0,67$ und der Achsenabschnitt $b = 1,99$.

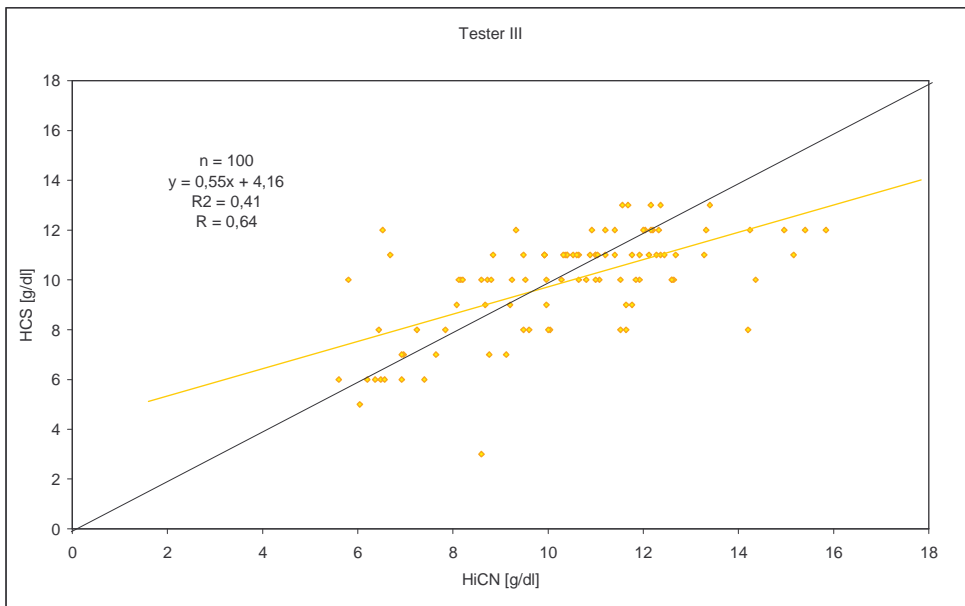


Abbildung 8.17: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester III

Der Korrelationskoeffizient von Tester III beträgt $r = 0,64$ (siehe Abbildung 8.17). Mit Hilfe der Gleichung der Regressionsgeraden und der Geraden der Referenzwerte lässt sich ein Schnittpunkt bei $(9,24; 9,24)$ bestimmen. Die Steigung beträgt $m = 0,55$ und der Achsenabschnitt $b = 4,16$.

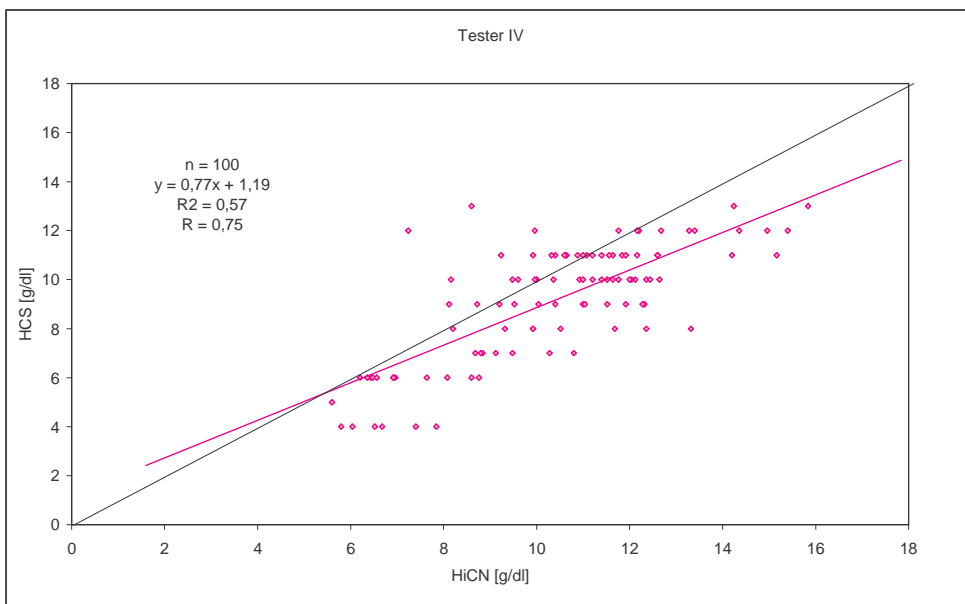


Abbildung 8.18: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester IV

Der Korrelationskoeffizient beträgt für Tester IV $r = 0,77$ (siehe Abbildung 8.18). Mittels der Gleichungen der Ausgleichsgeraden von Referenz- und Prüfwerten lässt sich bei Tester IV ein Schnittpunkt beider Geraden bei $(5,17; 5,17)$. Die Steigung der beträgt $m = 0,77$ und der Achsenabschnitt $b = 1,19$.

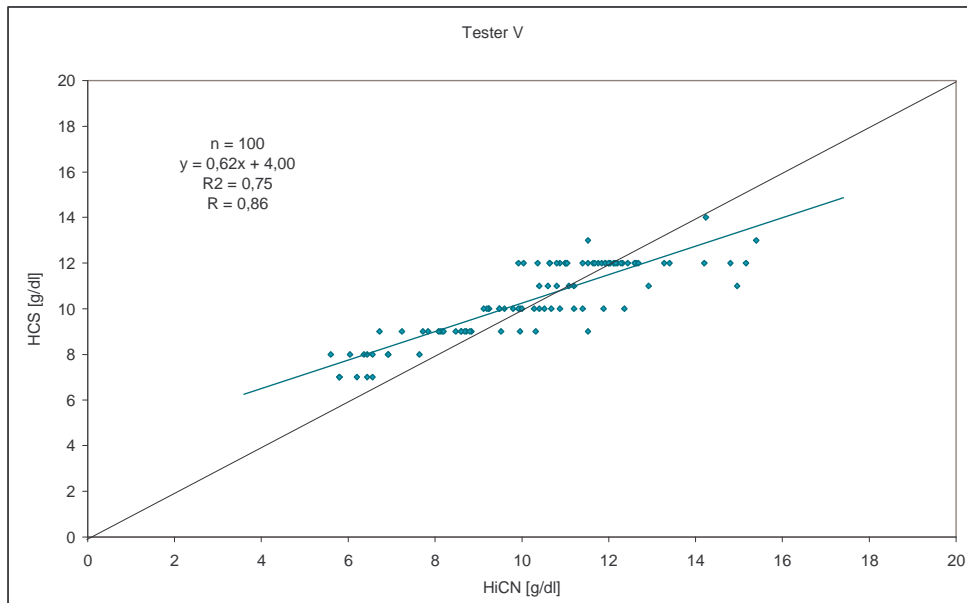


Abbildung 8.19: Korrelationsanalyse und lineare Regression Tester V

Der Korrelationskoeffizient beträgt für Tester V $r = 0,86$ (siehe Abbildung 8.19). Mittels der Gleichungen der Ausgleichsgeraden von Referenz- und Prüfwerten lässt sich bei Tester V ein Schnittpunkt beider Geraden bei $(10,5; 10,5)$ ermitteln. Die Steigung beträgt $m = 0,62$ und der Achsenabschnitt $b = 4,00$.

„Limits of agreement“

Der Bland-Altman Plot ist als geeignete Methode zur statistischen Auswertung und Vergleich von Messverfahren mit dem Goldstandard anerkannt.

In den folgenden Diagrammen werden die Ergebnisse der einzelnen Tester den Ergebnissen der HiCN Methode gegenübergestellt.

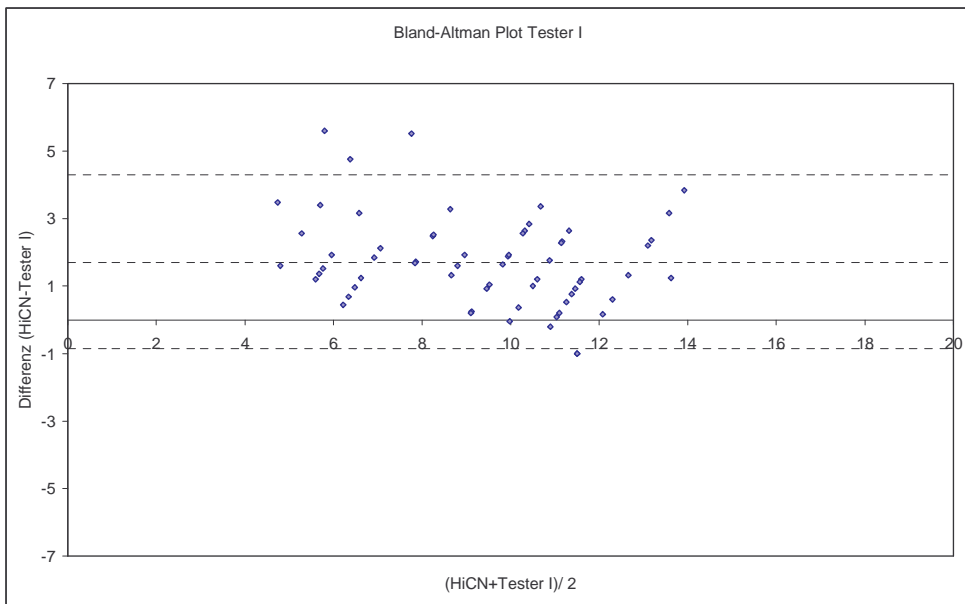


Abbildung 8.20: Bland-Altman Plot Tester I

Der Bland-Altman Plot der Ergebnisse von Tester I im Vergleich zur Referenzmethode zeigt eine Punktwolke mit Lage im positiven Bereich (siehe Abbildung 8.20). Die Mittelwertlinie verläuft mit $y = 1,7$. 96% der Ergebnisse verteilen sich zwischen $(d + 2s)$ und $(d - 2s)$ bzw. zwischen 4,3 und -0,9 ($\pm 5,2$). Die Messwerte werden im Durchschnitt zu klein bestimmt.

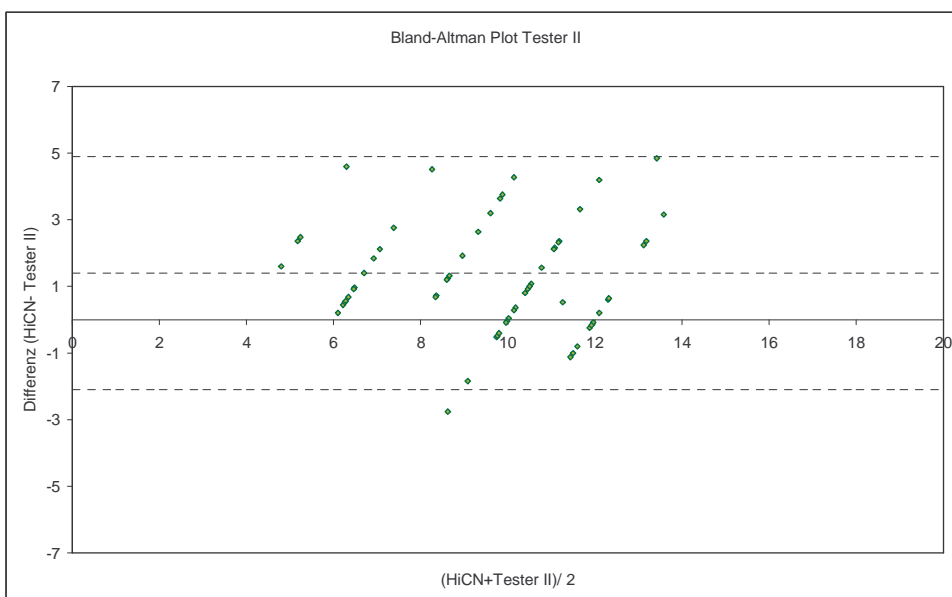


Abbildung 8.21: Bland-Altman Plot Tester II

Der Bland-Altman Plot von Tester II zeigt eine Punktwolke, welche im positiven Differenzbereich (siehe Abbildung 8.21) liegt. Die Mittelwertlinie verläuft bei $y = 1,4$. 96% der Ergebnisse streuen zwischen 5 und $-2,2$ ($\pm 7,2$). Die Messwerte werden im Mittel zu klein bestimmt.

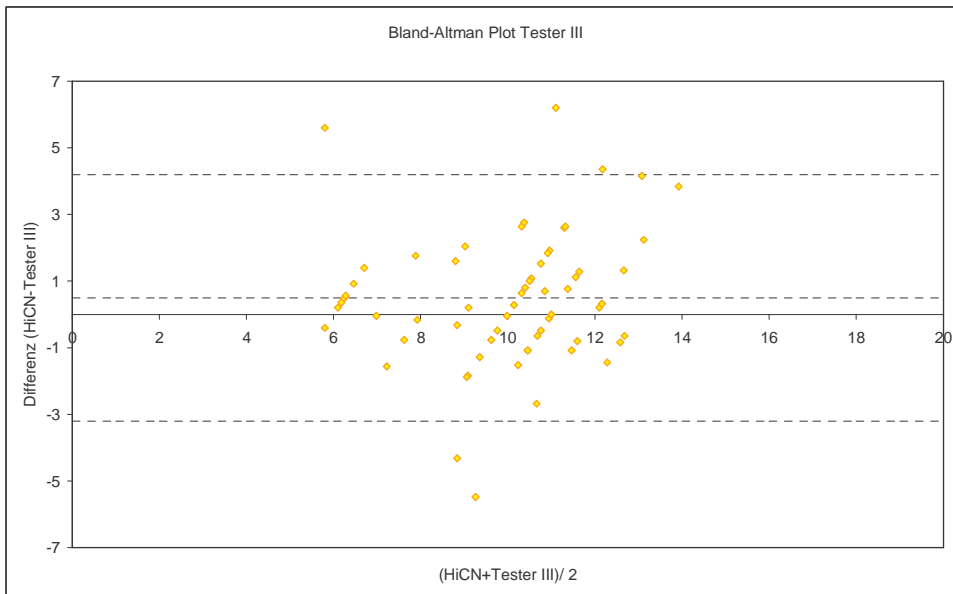


Abbildung 8.22: Bland-Altman Plot Tester III

Der Bland-Altman Plot von Tester III zeigt eine Punktwolke, die sich im positiven und negativen Differenzbereich (siehe Abbildung 8.22) ausdehnt. Die Mittelwertlinie verläuft mit $y = 0,5$. Die Schwankungen der Differenzen nehmen mit steigender Hb-Konzentration zu. 96% der Ergebnisse verteilen sich zwischen 4,3 und $-3,3$ ($\pm 7,6$). Die Messwerte von Tester III werden im Vergleich zu Tester I und II häufiger zu hoch bestimmt. Im Mittel weichen die Differenzen aus HiCN und Testergebnis in den positiven Differenzbereich ab.

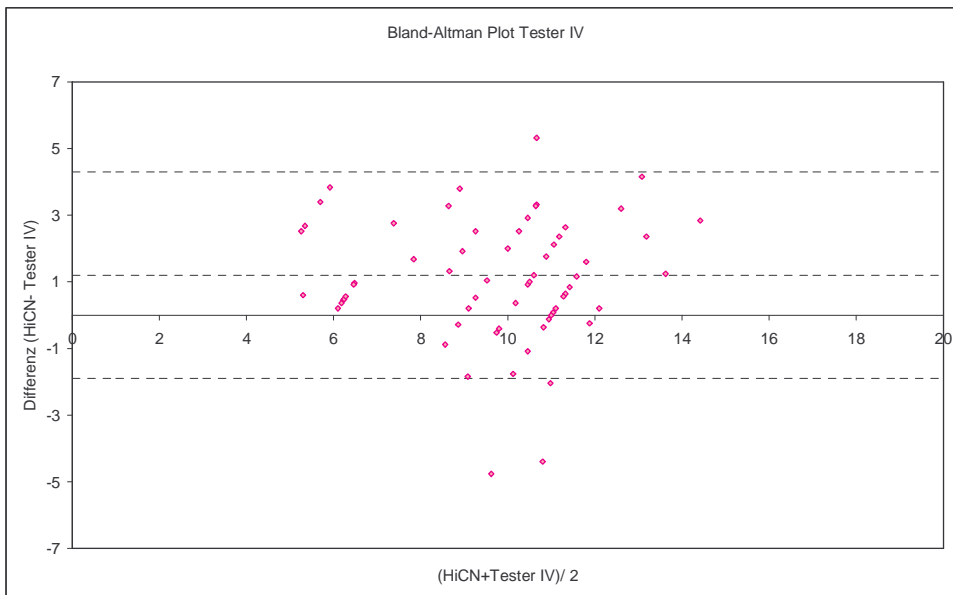


Abbildung 8.23: Bland-Altman Plot Tester IV

Der Bland-Altman Plot von Tester IV zeigt eine Punktwolke, die überwiegend im positiven Differenzbereich (siehe Abbildung 8.23) liegt. Die Mittelwertlinie verläuft mit $y = 1,2$. 96% der Werte streuen zwischen 4,4 und -2 ($-6,4$). Die Messwerte von Tester IV werden im Vergleich zu Tester I und II häufiger zu hoch bestimmt. Im Mittel weichen die Differenzen aus HiCN und Testergebnis in den positiven Differenzbereich ab.

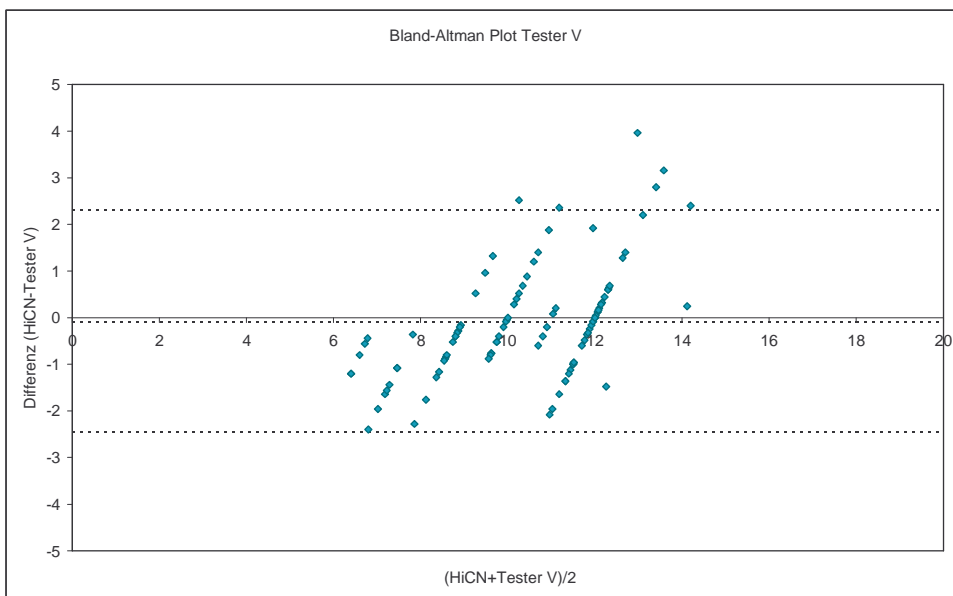


Abbildung 8.24: Bland-Altman Plot Tester V

Der Bland-Altman Plot von Tester V zeigt eine Punktwolke, die sich im positiven und negativen Differenzbereich (siehe Abbildung 8.24) aufspannt. Die Mittelwertlinie verläuft mit $y = -0,1$. 96% der Werte streuen zwischen 2,3 und -2,5 (-4,8). Die Messwerte werden sowohl zu groß als auch zu klein bestimmt. Im Mittel weichen die Differenzen aus HiCN und Testergebnis in den negativen Bereich ab.

Sensitivität und Spezifität

Die Untersuchung der Sensitivität und Spezifität eines Messverfahrens sind wichtiger Bestandteil einer Qualitätsprüfung. Zur genaueren Klassifikation und Beurteilung der Güte der Ergebnisse wurden zudem der falsch positive und falsch negative Wert sowie der positive und negative prädiktive Wert ermittelt.

Tabelle 8.9 gibt eine Zusammenfassung über die Ergebnisse der 5 Tester aus den nachfolgenden Berechnungen.

Tester	Sensitivität	Spezifität	falsch – (Hb 7g/dl)	falsch +	Neg. prädiktiver Wert	Pos. prädiktiver Wert
Tester I	100%	79%	0%	21%	100%	42%
Tester II	92%	86%	8%	14%	99%	50%
Tester III	69%	94%	31%	6%	95%	64%
Tester IV	100%	85%	0%	15%	100%	50%
Tester V	38%	100%	62%	0%	92%	100%
Mittel	80%	89%	20%	11%	97%	51%

Tabelle 8.9: Zusammenfassung: 5 Tester

Im Einzelnen ergeben sich bei der Untersuchung von jeweils 100 EDTA-Blutproben (kapillar) der fünf Tester folgende Ergebnisse:

Tester I

		HiCN		n
		7	> 7	
Tester I	7	13	18	31
		100%	21%	
	> 7	0	69	69
		0%	79%	
N		13	87	100

Tabelle 8.10: Vierfeldertabelle Tester I

Bei 100% der Anämiepatienten wurde ein Hb < 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität). Bei 79% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität). Bei 21% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl ermittelte Tester I mit Hilfe der HCS Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert). Bei keinem der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl ermittelte Tester I eine Hb-Konzentration von über 7 g/dl (falsch negativer Wert). Der negative prädiktive Wert beträgt 100% der Patienten. Der positive prädiktive Wert beträgt 42% der Patienten.

Tester II

		HiCN		n
		7	> 7	
Tester II	7	12	12	24
		92%	14%	
	> 7	1	75	76
		8%	86%	
n		13	87	100

Tabelle 8.11: Vierfeldertabelle Tester II

Bei 92% der Anämiepatienten wurde ein Hb < 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität). Bei 86% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität). Bei 14% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl ermittelte Tester II mit Hilfe der HCS-Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert).

Bei 8% der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl ermittelte Tester II eine Hb-Konzentration von über 7 g/dl (falsch negativer Wert). Der negative prädiktive Wert beträgt 99% der Patienten. Der positive prädiktive Wert beträgt 50% der Patienten.

Tester III

		HiCN		n
		7	> 7	
Tester III	7	9	5	14
		69%	6%	
	> 7	4	82	86
31%		94%		
	n	13	87	100

Tabelle 8.12: Vierfeldertabelle Tester III

Bei 69% der Anämiepatienten wurde ein Hb < 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität). Bei 94% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität). Bei 6% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl ermittelte Tester III mit Hilfe der HCS-Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert). Bei 31% der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl ermittelte Tester III eine Hb-Konzentration von über 7 g/dl (falsch negativer Wert). Der negative prädiktive Wert beträgt 95% der Patienten. Der positive prädiktive Wert beträgt 64% der Patienten.

Tester IV

		HiCN		n
		7	> 7	
Tester IV	7	13	13	26
		100%	15%	
	> 7	0	74	74
0%		85%		
	n	13	87	100

Tabelle 8.13: Vierfeldertabelle Tester IV

Bei 100% der Anämiepatienten wurde ein Hb < 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität).

Bei 85% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb- Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität). Bei 15% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl ermittelte Tester IV mit Hilfe der HCS-Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert). Bei keinem der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl ermittelte Tester IV eine Hb-Konzentration von über 7 g/dl (falsch negativer Wert). Der negative prädiktive Wert beträgt 100% der Patienten. Der positive prädiktive Wert beträgt 50% der Patienten.

Tester V

		HiCN		N
		7	> 7	
Tester V	7	5 38%	0 0%	5
	> 7	8 62%	87 100%	
n		13	87	100

Tabelle 8.14: Vierfeldertabelle Tester V

Bei 38,5% der Anämiepatienten wurde ein Hb < 7 g/dl richtig erkannt (= diagnostische Sensitivität). Bei 100% der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl wurde die Hb-Konzentration richtig erkannt (= diagnostische Spezifität). Bei keinem der Patienten mit einem Hb über 7 g/dl ermittelte Tester IV mit Hilfe der HCS-Methode eine Hb-Konzentration von 7 g/dl (falsch positiver Wert). Bei 61,5% der Anämiepatienten mit einem Hb unter 7 g/dl ermittelte Tester IV eine Hb- Konzentration von über 7 g/dl (falsch negativer Wert). Der negative prädiktive Wert beträgt 92% der Patienten. Der positive prädiktive Wert beträgt 100% der Patienten. Ergänzend zur qualitativen Betrachtung erfolgt in Tabelle 8.15 eine Differenzierung der personenspezifischen Messwerte anhand des Abstandes (in g/dl) zu den Referenzwerten.

	1 g/dl	1,1-2 g/dl	2,1-3 g/dl	3 g/dl
Tester I	32	35	20	13
Tester II	38	23	21	18
Tester III	49	28	11	12
Tester IV	39	26	21	14
Tester V	65	25	8	2
Summe	223 (56) ^a	137 (34)	81 (20)	59 (15)

Tabelle 8.15: Abweichungen zwischen HiCN und HCS

^a Prozentangabe in Klammern

Von den mit Hilfe der HCS ermittelten Ergebnissen weichen 56% der Werte bis zu 1 g/dl von den entsprechenden Referenzwerten ab. Weiterhin differieren 34% der Messwerte zwischen 1 g/dl und 2 g/dl, 20% zwischen 2 g/dl und 3 g/dl und 15% mehr als 3 g/dl zu den tatsächlichen Konzentrationen. Insgesamt weichen 69% der HCS-Werte um mehr als 1 g/dl und 35% um mehr als 2 g/dl von den tatsächlichen Konzentrationen ab.

Exogene Faktoren

Wie bei herkömmlichen und etablierten Farbvergleich-Methoden (z.B. Sahli) bekannt, sind die Lichtverhältnisse vor Ort für die Qualität der Messung entscheidend. Auch der Hersteller der HCS verweist in seiner Gebrauchsanweisung auf die Notwendigkeit angepasster Lichtverhältnisse um mit der HCS zuverlässige Resultate zu erhalten. Führt man zur Überprüfung der Hypothese: „Zwischen der Sonneneinstrahlung und den HCS Ergebnissen besteht kein Zusammenhang (Unabhängigkeit).“ einen χ^2 - Test* durch, ergibt sich, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von 1% diese tatsächlich zutrifft. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die Alternativhypothese: „Zwischen der Sonneneinstrahlung und den HCS Ergebnissen besteht ein Zusammenhang (Abhängigkeit).“ mit einer Wahrscheinlichkeit von 99% zutrifft.

In Tabelle 8.16 werden 109 Messergebnisse, welche während der Hauptstudie gesammelt wurden, der zum Zeitpunkt der Messung dokumentierten Lichtbedingung gegenübergestellt. Hierbei fällt auf, dass bei Sonneneinstrahlung und damit hellem Licht

die Messergebnisse mit der HCS niedriger ausfallen als bei der Referenzmethode.

Der Mittelwert der Abweichung beträgt $\Delta x = -0,4$ und die Standardabweichung $\sigma = 1,4$.

Bei Bewölkung dagegen werden mit der HCS höhere Hb-Konzentrationen als mit der Referenzmethode gemessen. Der Mittelwert der Abweichung beträgt für diese Ergebnisse $\Delta x = 0,7$ und die Standardabweichung $\sigma = 1,3$.

	Licht		N
	Sonne	Wolken	
HCS<HiCN	45	13	58
	67%	31%	
HCS>HiCN	22	29	51
	33%	69%	
N	67	42	109

Tabelle 8.16: Übersicht Messergebnisse in Abhängigkeit vom Licht

8.2.8 Fragebogenauswertung

Der verwendete Fragebogen ist im Anhang unter Abbildung 12.5 abgebildet. Es wurden in Ndanda und Mnero insgesamt 17 Ärztinnen und Ärzte befragt.

In den ersten beiden Fragen wird nach der normalen und der Hb-Konzentration bei schwerer Anämie in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht gefragt. In der Beantwortung zeigte sich, dass die Mediziner vor Ort etwa 1 g/dl bis 2 g/dl niedrigere Werte als normal bzw. hoch anämisch einstufen als in den WHO Standards angegeben. Weiterhin wurde festgestellt, dass für alle Befragten neben der labortechnisch ermittelten Hb-Konzentration auch die Beurteilung der klinischen Zeichen maßgebend für die Therapieentscheidung ist. Auf die Frage, ab welcher Hb-Konzentration, unabhängig von klinischen Zeichen, definitiv eine Transfusion erfolgen sollte, gaben die Ärzte aus Ndanda unabhängig von Alter und Geschlecht des Patienten Werte zwischen 4 g/dl und 5 g/dl an. In Mnero lagen die Werte bei < 7 g/dl bei Erwachsenen und < 6 g/dl bei Kindern. Als die häufigsten regionalen Ursachen einer Anämie wurden Malaria- und Wurminfektionen sowie Mangelernährung angegeben. Auf die letzte Frage, die nach einer akzeptablen Messungengenauigkeit des Hb-Messverfahrens fragt, geben 82% (= 14) der Befragten eine Abweichung von $\pm 0,5$ g/dl, 12% $\pm 0,1$ g/dl und 6% ± 2 g/dl an.

9 Diskussion

Die in der vorliegenden Studie getesteten Hb-Messverfahren wurden als Alternative zur standardisierten HiCN Methode entwickelt. Die Entwickler des Verfahrens mittels AHD₅₇₅ sehen diese Methode sowohl für den Einsatz in industrialisierten als auch in Ländern mit limitierten Ressourcen vor. Im Gegensatz dazu wurden die HCS und der Spindocor ausschließlich für den Einsatz in Entwicklungsländern entwickelt.

Für die AHD₅₇₅ und HCS Methode liegen zahlreiche Studien vor, in denen die positiven Eigenschaften der Methodik hervorgehoben und sie für den Einsatz in Ländern mit limitierten Ressourcen favorisiert werden. Der Spindocor verfügt bisher über keinen hohen Bekanntheitsgrad und wurde noch in keiner Studie getestet.

In folgendem Abschnitt werden die Vor- und Nachteile der Methodik, die Zuverlässigkeit der Ergebnisse und die Höhe der Anschaffungs- und Unterhaltskosten für jedes geprüfte Testverfahren zusammengefasst.

Die Beurteilung und der Vergleich der verschiedenen Verfahren erfolgt anhand allgemein anerkannter statistischer Variablen sowie des Bland-Altman Plots.

Allgemeine Kostenübersicht

Tabelle 9.1 gibt eine Übersicht über die Kosten der getesteten Messverfahren und der Referenzmethode in Abhängigkeit von ihrer Verpackungseinheit.

Verfahren	Testanzahl/ VE	Preis/ VE [€]	Preis/ Test [€ Cent]
HiCN	400	20,00	5,00
HiCN*	1270	23,50	1,85
AHD	3324	120,00	3,61
AHD*	19129	59,30	0,31
HCS	1941	33,00	1,70
Spindocor		240,00	Abhängig von Kapillaren. Kosten beim Hersteller zu erfragen.

*Eigene Herstellung

Tabelle 9.1: Kostenübersicht der überprüften Messmethoden

9.1 *Alkaline- Haematin- Detergent 575*

Die Alkaline Haematin Detergent-575 Methode beruht auf der Freisetzung des in Erythrozyten gebundenen Hämoglobins durch Zerstörung ihrer Zellmembranen. Das freie Hämoglobin wird anschließend an ein alkalisches Detergenz (Triton-X 100) gebunden und in einen stabilen Farbkomplex, das Hämatin, überführt. Dieses kann mit Hilfe eines Photometers bei 575 nm gemessen und somit die Hb-Konzentration ermittelt werden.

Die während der Durchführung der Studie gewonnenen Ergebnisse der AHD₅₇₅ Methode belegen die hohe Validität und Reliabilität des Verfahrens.

Die Differenzen der Ergebnisse der AHD₅₇₅ und Referenzmethode sind im Mittel gering negativ. Im Bland-Altman Plot stellt sich eine dichte Punktwolke im Bereich der Null-Linie dar, die auf die zuverlässigen Ergebnisse während der Messungen schließen lässt. 95% der Differenzen streuen zwischen -1,8 und 0,6 g/dl um das arithmetische Mittel aus AHD₅₇₅ - und HiCN Methode. Die Messwerte weichen im Mittel minimal zu geringeren Hb-Konzentrationen ab. 73% der Messwerte schwanken innerhalb von 1 g/dl um die Ergebnisse der HiCN und 27% innerhalb von 2 g/dl (siehe Tabelle 8.6). Bei der qualitativen Betrachtung ergibt sich: die Sensitivität beträgt 99%, die Spezifität 88%, der falsch positive Wert beträgt 12% und der falsch negative Wert 1,3%.

Die statistische Auswertung verdeutlicht, dass die Ergebnisse der AHD₅₇₅ und der Referenzmethode vergleichbar und die Verfahren somit gegeneinander austauschbar sind.

Die Eigenschaften und die Methodik des Messverfahrens weisen im Vergleich zur HiCN Methode zahlreiche Vorteile auf. Die Durchführung des Tests ist einfacher und schneller. Der Zeitaufwand ist mit der Referenzmethode vergleichbar. Die Reaktionszeit der Transformationslösung der AHD₅₇₅ Methode beträgt im Gegensatz zur Referenzmethode 30 Sekunden. Dies spielt allerdings in medizinischen Einrichtungen in Ländern limitierter Ressourcen aufgrund der fehlenden Automatisierung nur eine untergeordnete Rolle.

Die Reagenzien der AHD₅₇₅ Methode sind nicht toxisch und in ihrer Anwendung umweltschonend. Dies kann in Zeiten eines zunehmenden ökologischen Bewusstseins als wichtige Verbesserung gesehen werden.

Die Methodik des Tests und die Bedienung eines Photometers sind unter Anweisung schnell erlernbar. Die Lagerung der Transformationslösung gestaltet sich als unkompliziert, da diese im Gegensatz zur „Drabkin`s Solution“ lichtunempfindlich ist.

Trotz der zahlreichen positiven Eigenschaften des Verfahrens sind einige praktische Einzelheiten negativ aufgefallen. Die Qualitätssicherung verlangt in regelmäßigen Abständen, aber mindestens einmal pro Woche, die Erstellung einer aktuellen Kalibrationskurve. Grundsätzlich birgt die empfohlene regelmäßige Neukalibrierung die Gefahr von Ungenauigkeiten. Aus diesem Grund erscheinen nach unserer Ansicht Qualitätskontrollen der AHD₅₇₅ Lösung mittels Kontrollblut als sinnvoll.

Während der Durchführung der Studie wurde beobachtet, dass die Kontroll-Werte vereinzelt bereits nach kurzer Standzeit des AHD₅₇₅ Reagenz stark differierten. Die Kalibrationskurven mussten entsprechend nach wenigen Tagen neu erstellt werden. Der Verdacht, dass Verdunstung ursächlich für die Differenzen war, bestätigte sich bei der Überprüfung nicht. Im Zusammenhang mit der Kalibrierung ist die sehr schlechte Pipettierbarkeit der flüssigen Standard-Lösungen aufgefallen. Weiterhin wurde eine auch unter großer Vorsicht auftretende starke Blasenbildung der Reagenzien festgestellt, welche eine weitere potentielle Fehlerquelle darstellt.

Die Voraussetzungen für die unkomplizierte Anwendung dieser Methode sind das Vorhandensein eines funktionierenden Photometers und kontinuierlich verfügbarem Wasser und Strom. In Ländern mit limitierten Ressourcen stellt dies keine Selbstverständlichkeit dar. Dies sollte vor der Entscheidung für ein photometergestütztes Hb-Messverfahren unbedingt bedacht werden.

Nachfolgend wird auf den Kostenfaktor eingegangen, der besonders in Ländern mit limitierten Ressourcen zur entscheidenden Größe für die Einführung eines neuen

Laborverfahrens wird. Die Tabelle 9.2 und Tabelle 9.3 geben eine Übersicht der Kosten, welche bei der Umstellung auf die AHD₅₇₅ Methode zu erwarten sind.

Die Anschaffungskosten für Photometer, Küvetten, notwendige Labormaterialien wie Pipetten sowie der zusätzliche Stromverbrauch finden in der Übersicht keine Beachtung.

Chemikalien	VE	Testzahl	Kosten [€]	Kosten/ Test [€ Cent]
NaOH	1kg	84000	16,80	0,02
Triton X-100	1l	14655	42,50	0,29
				Summe: 0,31

Tabelle 9.2: Kostenübersicht für die Eigenherstellung der AHD₅₇₅ Lösung

Produktname	Inhalt	VE	Testzahl	Kosten [€]	Kosten/ Test [€ Cent]
haemoquant®	AHD-Reagenz	10l	3324	120,00	3,61
haemostand®	AHD-Standard	6 x 1,5ml	75	27,80	37,1/Kalibration
haemodirect®	AHD-Reagenz + AHD-Standard	1l + 6 x 1,5ml	400	37,80	9,45

Tabelle 9.3: Kostenübersicht für die kommerziell erhältliche AHD₅₇₅ Lösung

Die Reagenzien der AHD₅₇₅ Methode sind inzwischen als Fertigprodukt im Handel erhältlich. Zur deutlichen Kostenersparnis ist alternativ auch eine schnelle und einfache Herstellung der Lösung selbstständig vor Ort möglich.

In der Übersicht fällt auf, dass die Kosten pro Test für die kommerziellen Lösungen (exklusive Transportkosten) die Kosten einer laboreigenen Herstellung deutlich übersteigen. Ein AHD₅₇₅ Test mit haemoquant® kostet somit 12 Mal und mit haemodirect® 30 Mal mehr als ein Test, welcher mit selbst hergestellter AHD₅₇₅ Lösung durchgeführt wird. Auch bei Halbierung der Lösungsmenge, wie vom Hersteller vorgeschlagen, von 3 ml auf 1,5 ml belaufen sich die Kosten auf 4,73 Cent pro Test (haemodirect®).

Die bisher einzige Firma, welche die AHD₅₇₅ Lösungen produziert und verkauft, ist die medisynthana GmbH. Sie hat zudem ein Mini-Photometer entwickelt, mit welchem

ausschließlich der Hb-Wert bestimmt werden kann. Die Kosten für das Photometer sollen sich auf etwa 320,- € zzgl. Mehrwertsteuer und Transport belaufen.

Photometer anderer Firmen, die zur Bestimmung zahlreicher Zielwerte wie Glucose, Bilirubin, Albumin, Kreatinin etc. ausgelegt sind, sind im Vergleich dazu bereits für ca. 1000,- € im Handel erhältlich.

Die medisyntana GmbH plant im Rahmen eines Komplett-Sets auch passende Glasküvetten anzubieten.

Die AHD₅₇₅ Methode kann als Alternative zur HiCN Methode in Hospitälern auf Regional- oder District Ebene und in Einrichtungen, in denen die notwendigen Voraussetzungen vorhanden sind, empfohlen werden.

Eine medizinische Einrichtung auf „primary level“ ohne sichere Wasser- und Stromversorgung und geringem finanziellem Rahmen sollte die ihr mögliche einfache Medizin auch in Zukunft durchführen. Bewährt hat sich für solche Gegebenheiten u.a. die bei exakter Durchführung zuverlässige und anspruchslose Methode nach Sahli.

Die ersten Arbeiten [1, 2], die sich in der Vergangenheit mit der AHD₅₇₅ Methode beschäftigten, sorgten in Fachkreisen aufgrund ihrer sehr kritischen Darstellung der HiCN Methode für kontroverse Diskussionen [22]. Die AHD₅₇₅ Methode wurde von Zander *et al.* als ernstzunehmende Alternative zum bisherigen Goldstandard vorgestellt. Allerdings fehlten zu diesem Zeitpunkt noch technischen Details, praktische Erfahrungen und Studien, die die angekündigte Zuverlässigkeit der Messungen belegten.

Eine vergleichbare Arbeit wurde von Lema *et al.* (1994) [9] veröffentlicht. Die Feldstudie legt ihr Augenmerk auf die einfache, günstige, exakte und nicht-toxische Messung unter limitierten Umgebungsbedingungen. Allerdings erfolgte die Auswertung der Studie auf Grundlage eines geringen Probenumfangs (n = 100) und anhand von unangepassten statistischen Größen (Korrelation, Regression). Zudem ist die Wahl des Studienlabors nicht repräsentativ für ein Labor auf „primary level“ (Clinical Department, AMREF, Nairobi/Kenia). Die Frage, inwieweit dieses Verfahren auf

niedrigem medizinischem Level angewendet werden kann, konnte in dieser Studie somit nicht beantwortet werden.

Eine von Moharram *et al.* (2006) [18] veröffentlichte Studie entstand in Zusammenarbeit mit der WHO. Die Wahl repräsentativer Studienlabors für Länder mit limitierten Ressourcen fiel überwiegend auf Einrichtungen in Schwellenländern Nordafrikas (Ägypten, Marokko, Oman) und auf nicht repräsentative deutsche Labore.

Einzig eine Einrichtung in Tansania wurde als Studienlabor in einem Land mit limitierten Ressourcen angeführt. Allerdings konnten hier lediglich 31 Proben untersucht werden, welche bei einem Studienumfang von mehr als 1000 gesammelten Daten als nicht repräsentativ anzusehen sind. Eine Aussage über die Zuverlässigkeit und die Angepasstheit an ein niedriges medizinisches Niveau ist hierdurch nicht möglich.

Laut der Studie von Moharram *et al.* [18] sind in Ländern limitierter Ressourcen Hb-Messverfahren, welche zuverlässige Ergebnisse liefern, nicht verfügbar und der Erwerb der Chemikalien, welche für die HiCN Methode benötigt werden, nur schwer bis nicht möglich. Im Verlauf der vorliegenden Studie wurden diese Probleme ebenfalls berücksichtigt. So sind in Tansania, die für die HiCN Methode notwendigen Reagenzien im Fachhandel ohne Einschränkungen erhältlich. Die Kosten belaufen sich auf etwa 20,- Euro für 400 Tests. Das entspricht ca. 5 Cent pro Test. Die Internationalen Standards der HiCN Methode und die Chemikalien zur Herstellung der „Drabkin`s Solution“ werden u.a. auch durch den staatlichen Anbieter für medizinischen Bedarf (Medical Store Department) vertrieben. Im Zusammenhang mit den angeblich nicht verfügbaren zuverlässigen Hb-Messmethoden wurden Verfahren nach Lovibond und Sahli von Moharram *et al.* mit der als allgemein unangemessen angesehenen Tallqvist Methode gleichgesetzt und als hoch unzuverlässig bezeichnet. Verschiedene Studien haben dies für die Filterpapiermethode auch bewiesen. Entsprechend ist die modifizierte Farbskala der WHO heftig umstritten. Für die Hb-Messung nach Sahli und Lovibond fehlen allerdings repräsentative und zuverlässige Studien, die die Validität der Verfahren untersuchen.

Da innerhalb der Studie von Moharram *et al.* [18] die Ergebnisse anhand einer Korrelations- und Regressionsanalyse ausgewertet werden, fehlt die Möglichkeit eines Vergleichs zwischen den Verfahren. Die Ergebnisse der Studie werden als sehr gut und mit der Referenzmethode vergleichbar interpretiert.

Zu dem gleichen Ergebnis kommt die vorliegende Studie. Die Resultate der Messungen sind mit denen der Referenzmethode vergleichbar und lassen die Aussage zu, dass die AHD₅₇₅ Methode einen adäquaten Ersatz für die HiCN Methode darstellt.

Die Methode wird in der Studie von Moharram *et al.* [18] als einfaches, schnelles, nicht toxisches und unkompliziertes Verfahren charakterisiert. Im Bezug auf die Reaktionszeit wird wiederholt die schnelle Umsetzung des Hämoglobins in Hämatin betont. Allerdings bleibt auf dem Niveau der medizinischen Grundversorgung besonders in ländlichen Regionen dieser Vorteil zweitrangig.

Die Auswertung erfolgte anhand des Korrelationskoeffizienten und der linearen Regression mit Vergleich von Steigung und Achsenabschnitt. Eine Aussage über die Zuverlässigkeit der AHD₅₇₅ Methode ist laut White und van den Broek (2004) [21] anhand dieser Daten nicht möglich.

Negative Eigenschaften, wie sie in der vorliegenden Studie aufgefallen sind, wurden durch Moharram *et al.* [18] nicht beschrieben. Die regelmäßige Qualitätssicherung durch das Erstellen von Kalibrationskurven wird von Moharram *et al.* [18] als unnötig bezeichnet.

Die Forscher kamen zu dem Ergebnis, dass die mittels Kalibrationskurve ermittelten Korrelationen der Hb-Konzentrationen mit den Ergebnissen, welche anhand der Umrechnung mit spezifischen Absorptionsfaktoren ermittelt wurden, vergleichbar sind. Allerdings bleibt hierbei zu bedenken, dass konstante Abweichungen in eine Richtung der Konzentration zu identischen Korrelationen führen.

Obwohl grundlegend für die Entscheidung, ob die AHD₅₇₅ Methode an „primary level“ angepasst ist, bleibt die Problematik der Wasser- und Stromversorgung sowie der

entstehenden Kosten bei Moharram *et al.* [18] ungeklärt. In der Studie wird lediglich die Unabhängigkeit der AHD₅₇₅ Methode von destilliertem Wasser dargestellt. Dies wird anhand von Versuchen mit einfach gefiltertem Fluss- und Pfützenwasser belegt. Auf die Problematik der Verfügbarkeit von elektrischem Strom wird dagegen nicht näher eingegangen. Weiterhin bleibt die Frage der Erstananschaffung sowie der Pflege und Instandhaltung eines Photometers unbeachtet.

Neben den allgemeinen Kosten des Verfahrens sind die technischen und allgemeinen Umgebungsbedingungen wie Wasser, Strom, aber auch Infrastruktur mit entscheidend für die Anwendung eines Testverfahrens auf „primary level“.

Diese praktischen Sachverhalte bleiben sowohl in der Studie von Moharram *et al.* als auch von Lema *et al.* [9] unbeachtet.

Die in der vorliegenden Studie wichtige Unterteilung, welche Bedingungen für welche Verfahren grundlegend sind, wird in den genannten Referenzstudien nicht getroffen.

Schließlich soll auf die Kosten der AHD₅₇₅ Methode eingegangen werden. Innerhalb der Studie von Moharram *et al.* [18] wird nur erwähnt, dass das AHD₅₇₅ Verfahren preiswert ist. Allerdings trifft dies nur auf Lösungen zu, die selbst hergestellt werden (siehe Tabelle 9.2 und Tabelle 9.3). Der Vergleich zwischen der kommerziellen AHD₅₇₅ - und der eigen hergestellten AHD₅₇₅ Lösung zeigt, dass die Kosten der kommerziellen Lösung das 12- bis 30-fache (abhängig von der Verpackungseinheit) der selbst hergestellten Lösung betragen. Dabei muss bedacht werden, dass Fertiglösungen importiert werden müssen.

Verfügt das jeweilige Labor bereits über ein Photometer und eine kontinuierliche Stromversorgung, ist eine Umstellung von HiCN auf AHD₅₇₅ ohne weitere Kosten möglich. Da das AHD₅₇₅ Verfahren noch nicht etabliert ist, bleibt weiterhin zu prüfen, inwieweit die notwendigen Chemikalien lokal erhältlich sind.

Moharram *et al.* [18] kommen zu dem Schluss, dass die in der Studie aufgeführten positiven Eigenschaften die AHD₅₇₅ Methode zur allgemeinen Referenz- und

Routinemethode qualifizieren. Der Autor bezieht sich in seiner Studie auch auf die Studie von Lema *et al.* [9]. Die vorliegende Studie kommt ebenfalls zu dem Schluss, dass sowohl die Ergebnisse, die Eigenschaften und auch die entstehenden Kosten überaus günstig sind. Allerdings kann die Aussage von Moharram *et al.* [18], dass dieses Verfahren auf allen medizinischen Niveaus am besten zur Hb-Messung geeignet ist, nicht unterstützt werden.

Die vorliegende Studie brachte zahlreiche Erkenntnisse über die Umsetzung der Testverfahren unter extremen klimatischen und allgemeinen Umgebungsbedingungen. So sollten in jedem Fall die Notwendigkeit eines Photometers und die Abhängigkeit von Strom und Wasser Anlass sein, vor der Einführung dieses Verfahrens genau zu evaluieren, in welchen Einrichtungen diese Methode von Nutzen sein kann. Weiterhin müssen die besonders unter stark limitierten Bedingungen auftretenden Probleme der Wartung und Pflege elektrischer Einrichtungen Beachtung finden.

Aufgrund der sich ergebenden Kosten der kommerziellen Lösungen, wird die Eigenherstellung der Reagenzien empfohlen. Die anfallenden Kosten pro Test liegen in diesem Fall sogar unter den Kosten der HiCN Methode.

Die AHD₅₇₅ Methode kann anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie als Alternative zur HiCN Methode in Hospitälern auf Regional- oder District- Ebene bzw. in Einrichtungen mit den vorhandenen notwendigen Voraussetzungen empfohlen werden. Die Relationen zwischen der wirtschaftlichen Lage der Patienten, der Klinik, der Ausbildung des medizinischen Personals, der Diagnostik und der Interventionsmöglichkeiten müssen gewahrt bleiben. Die Einführung eines photometergestützten komplizierten Messverfahrens mit seinen finanziellen und logistischen Anforderungen steht auf diesen Versorgungsniveau nicht im Verhältnis zu den allgemein vorliegenden medizinischen Rahmenbedingungen.

Damit sich das Angebot der medisynthana GmbH gegen die bisher durchgeführte HiCN Methode behaupten kann, müssen die Kosten der angebotenen Fertiglösungen deutlich

sinken. Dies wäre allein durch lokale Produktion möglich. Neben den Vorteilen der neuen Methode für den medizinischen Bereich würde auch die Wirtschaft des jeweiligen Landes gefördert und Arbeitsplätze geschaffen werden.

Als Entwicklungshelfer, Mediziner oder medizinisch technisches Personal sollte man verantwortungsvoll, vorausschauend und in Abhängigkeit der Gegebenheiten vor Ort entscheiden, durch welche Methode die Hämoglobinbestimmung in Zukunft adäquat erfolgen kann.

9.2 Haemoglobin-Colour-Scale

Die bestehende Anämieproblematik und die begrenzten diagnostischen Möglichkeiten in Ländern mit limitierten Ressourcen ließ ein Forscherteam um Lewis, Stott und Wynn Anfang der 90'er Jahre ein kostengünstiges und einfaches Verfahren zur Hb-Bestimmung entwickeln.

Als Grundlage ihres Verfahrens diente die Methode von Tallqvist [15], anhand einer standardisierten Farbskala und eines speziellen Filterpapiers die Hb-Konzentration zu bestimmen. Voraussetzung hierfür war die Entwicklung des Whatman 31 ET Chromatographiepapiers, welches die Eigenschaft besitzt Blut sehr schnell zu absorbieren und jeder Hb-Konzentration eine spezifische Farbschattierung zu verleihen. Eine standardisierte Farbskala gibt die Hb-Konzentration zwischen 4 g/dl und 14 g/dl in einer Abstufung von 2 g/dl an. Bei der Durchführung des Verfahrens sollte man sich unbedingt an die Anweisungen des Herstellers halten, da aus der unkorrekten Anwendung Fehlbestimmungen resultieren können. Hierbei ist besonders auf die korrekte Haltung und ausreichende Lichtverhältnisse zu achten. Die besten Ergebnisse sollen erreicht werden, wenn die Skala in einem Winkel über 45° in Augenhöhe gehalten wird und das Licht über die Schulter des Untersuchers auf die Skala fällt.

Das Verfahren wurde 1995 von der WHO vorgestellt und wird seit 2001 über die

COPACK GmbH (Oststeinbek, Deutschland) vertrieben. Im Laufe der Jahre wurden zahlreiche Studien veröffentlicht, die zu kontroversen Diskussionen über den Nutzen der HCS geführt haben.

Die Überprüfung der HCS innerhalb der vorliegenden Studie dient der genauen Betrachtung dieses Verfahrens unter „real life“ Bedingungen. In der Auswertung der vorliegenden Studie ergibt sich für die HCS ein 95% CI (-2,9;-2,6): (2,7; 3,0) bzw. ein „limit of agreement“ von (-2,7; 2,9). Im Bland-Altman Plot zeigt sich eine Parallelogramm-ähnliche Verteilung der Messwerte. Anhand dieser Punktwolke kann ein systematischer Fehler und ein proportionaler Anstieg des Messfehlers bei steigendem tatsächlichem Hb-Wert abgeleitet werden. Bei Betrachtung der Differenzen zwischen Referenz- und Messwerten weichen 53% der Ergebnisse innerhalb von 1 g/dl, 34% innerhalb von 2 g/dl und 13% um mehr als 2 g/dl von den Referenzwerten ab.

Die HCS ermittelt bei tatsächlichen Hb Konzentrationen $\leq 9,8$ g/dl tendenziell höhere Werte und bei Konzentrationen $> 9,8$ g/dl tendenziell niedrigere Werte.

Zu einem ähnlichen Resultat kommen Lindblade *et al.* [11], die in ihrer Arbeit feststellen, dass die HCS bis zu einer tatsächlichen Konzentration von 9 g/dl im Durchschnitt um 1 g/dl zu hohe Messergebnisse angibt.

Im klinischen Alltag können die zu hoch bestimmten Messwerte zum Ausbleiben einer dringend notwendigen Therapie führen und lebensbedrohliche Konsequenzen für den betroffenen Patienten haben. Werden im Gegensatz dazu die Werte zu niedrig bestimmt, ergibt sich hieraus eine unnötige therapeutische Intervention mit den damit verbundenen Kosten und Risiken.

Zu dem gleichen Ergebnis kommen auch Lindblade *et al.* [11] in ihrer Arbeit.

Etwa 47% (n = 351) aller in der vorliegenden Studie ermittelten Werte liegen zwischen 4 g/dl und 9,8 g/dl. Davon werden in 71% der Fälle bei einer tatsächlichen Konzentration $\leq 9,8$ g/dl mit der HCS zu hohe Ergebnisse bestimmt. Bei Konzentrationen bis 7 g/dl werden in 88% und bis 6 g/dl sogar in 96% der Fälle mit der

HCS zu hohe Ergebnisse gemessen. Die Sensitivität bei schwerer Anämie (Hb < 7 g/dl) beträgt 61%, die Spezifität 92%, der falsch positive Wert 8% und der falsch negative Wert 39%.

Lindblade *et al.* [11] führten eine der vorliegenden Arbeit ähnliche „real life“ Studie in verschiedenen Gesundheitseinrichtungen in Kenia durch. Die Messungen innerhalb der Studie wurden durch das medizinische Personal vor Ort durchgeführt.

Im Gegensatz dazu wurden die Tests in der vorliegenden Studie nur von einer Person durchgeführt. Bei Paddle [10] erfolgten die Messungen ebenfalls nur durch eine Person. Der Vorteil liegt hierbei in der Möglichkeit einen einfachen und aussagekräftigen Vergleich zwischen verschiedenen Messmethoden zu treffen.

Um individuelle Unterschiede in der Anwendung der HCS beurteilen zu können, erfolgte in der vorliegenden Studie eine zusätzliche Testreihe der HCS durch mehrere Laborassistenten vor Ort. Eine vergleichbare Betrachtung der HCS in anderen Arbeiten ist nicht bekannt. In einer Reihe von Studien (Timan *et al.* 2004 [6], Montresor *et al.* 2000 [12], Scott und Massey 1999 [3]) beruht die statistische Auswertung u.a. auf der Korrelation. Allerdings ist sie zur Beurteilung der Qualität eines Messverfahrens laut Critchley *et al.* 2005 [13], WHO 2004 [27], Paddle 2002 [10] und van den Broek *et al.* 2004 [21] unangepasst. Da es aufgrund der statistischen Auswertung wiederholt zu Diskussionen kam, stellte die WHO 2004 Leitlinien zur Prüfung von Messverfahren auf. In diesen wird u.a. der Bland-Altman-Plot und die Verwendung qualitativer Daten als Goldstandard empfohlen.

Die bisher durchgeführten Studien lassen sich in reine Laborstudien mit Supervision und ohne repräsentatives Patientenkollektiv (Timan *et al.* 2004 [6], Paddle 2002 [10], Lewis und Emmanuel 2001 [31], Ingram und Lewis 2000 [5], Lewis *et al.* 1998 [4]) und Feldstudien ohne Supervision mit einem repräsentativen Patientenkollektiv (Lindblade *et al.* 2006 [11], Medina Lara *et al.* 2005 [8], Barduagni *et al.* 2003 [23], Montresor *et al.* 2003 [24], Montresor *et al.* 2000 [12], Scott und Massey 1999 [3]) unterteilen. Letztere wurden in ländlichen Regionen in Ländern limitierter Ressourcen durchgeführt.

Innerhalb der Laborstudien wurde im Durchschnitt eine Sensitivität zwischen 85% und 99% und eine Spezifität zwischen 91% und 100% ermittelt. Die Ergebnisse der Feldstudien fallen deutlich schlechter aus. Die Sensitivität beträgt nur 76% bis 88% und die Spezifität liegt deutlich unter den Werten der Laborstudien.

Im Vorfeld einiger Studien wurden vereinzelt mehrtägige Übungen zur korrekten Anwendung der Skala durchgeführt (Lindblade *et al.* 2006 [11], Barduagni *et al.* 2003 [23], Montresor *et al.* 2003 [24], Montresor *et al.* 2000 [12], Lewis *et al.* 1998 [4]). Innerhalb der Studie von Lewis und Ingram [5] wurden durch Supervision fehlerhafte Messungen korrigiert. Sowohl Critchley und Bates [13] als auch Paddle [10] weisen in ihren Arbeiten darauf hin, dass ein solches Vorgehen weder repräsentativ ist noch vor Ort nachvollzogen werden kann.

Die Vorteile der HCS liegen in der einfachen Anwendung, so dass nach Angaben der WHO [15] der Test ohne spezielles Training auch von ungelerntem Personal innerhalb kürzester Zeit erlernt und selbständig durchgeführt werden kann. Die Anwendung ist unabhängig von einer Strom- und Wasserversorgung und toxischen Reagenzien. Die Reaktionszeit beträgt 30 Sekunden, so dass das Ergebnis schnell ablesbar ist. Allerdings ist der Vorteil der Zeitersparnis, wie bei AHD₅₇₅ Methode bereits beschrieben, eher nebensächlich. Der Test ist handlich und einfach zu transportieren. Eine technische Wartung und Pflege entfällt bei diesem Verfahren.

Innerhalb der HCS Studie wurden individuelle Unterschiede in der Beurteilung und die Beeinflussung durch äußere Faktoren bei der Anwendung der Skala betrachtet. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Zuverlässigkeit des Verfahrens sowohl von subjektiven als auch von objektiven Größen stark beeinflusst wird.

Anhand der Auswertung lässt sich feststellen, dass trotz identischer Proben, Lichtverhältnisse und Umgebungsbedingungen jeder Tester unterschiedlich gute Messergebnisse mit der HCS ermittelt hat. Die Ergebnisse der Tester untereinander differieren besonders deutlich im niedrigen Hb-Bereich.

An sonnigen Tagen wurden die Hb-Werte überwiegend zu niedrig bestimmt, was ein negativer Mittelwert der Abweichung (HiCN - HCS) dieser Tage bestätigt. An bewölkten oder regnerischen Tagen wurden die Werte entsprechend höher bestimmt. Dies kann durch einen positiven Mittelwert der Abweichung dieser Tage belegt werden. Bei Anwendung der HCS sind einzelne Details negativ aufgefallen. So konnte z.B. in Bezug auf optimale Lichtverhältnisse den Anweisungen der Hersteller nicht gefolgt werden. Da die vorliegende Studie während der Regenzeit durchgeführt wurde, kam es teilweise zu stunden- bis tagelanger starker Bewölkung. Fehlt wie in Mnero eine gute Raumbelichtung, wird es unmöglich optimale Lichtbedingungen zu schaffen. Weiterhin wird die Skaleneinteilung in 2-er Abstufungen als unzureichend empfunden. Die Fragebogenauswertung der vorliegenden Arbeit hat gezeigt, dass auch von medizinischem Personal auf „primary level“ eine Messgenauigkeit von $\pm 0,5$ g/dl bei Anwendung eines Hb-Messverfahrens verlangt wird.

Die in der Skala dargestellten Farbnuancen beeinträchtigten die exakte Bewertung zum Teil erheblich. Auffallend waren dabei Probleme, die bei der Messung zwischen 8 g/dl und 10 g/dl auftraten. Die abgebildeten Farbschattierungen konnten nur schwer voneinander differenziert werden. Die Streuung der Ergebnisse in diesem Konzentrationsbereich ist somit deutlich höher.

In Tabelle 9.4 folgt eine Auflistung der Kosten, der im Handel erhältlichen Verpackungsgrößen der HCS (COPACK GmbH, Oststeinbek, Deutschland).

HCS-Einheit	Skala enthalten	Test-Streifen	Kosten	Kosten/Test [€ Cent]
Starter Kit Basic	x	200	8,95	4,5
Starter Kit	x	1000	21,45	2,0
Refill Kit	-	2000	33,00	1,7

Tabelle 9.4: Kosten HCS

Die Kosten für die HCS liegen zwischen 1,7 Cent und 4,5 Cent pro Test in Abhängigkeit der Verpackungsgröße.

In der Gegenüberstellung in

Tabelle 9.1 wird deutlich, dass die HCS als kommerzielle Hb-Messmethode die vergleichsweise preiswerteste Methode ist. Die normalerweise anfallenden Steuern und Einfuhrzölle entfallen aufgrund einer Zusammenarbeit zwischen WHO und UNICEF. Das internationale Kinderhilfswerk hat aufgrund der frühen sehr guten Studienergebnisse der WHO die HCS auf ihre Standardlisten für Laborbedarf aufgenommen, so dass die HCS von Einfuhrbeschränkungen und Zöllen verschont bleibt.

Über den Nutzen der HCS gibt es sehr unterschiedliche Ansichten, wie Critchley und Bates [13] feststellen. So wird die HCS von Montresor *et al.* [24] als nützliche Alternative zur Anämiediagnostik in Ländern mit limitierten Ressourcen gesehen, während Paddle [10] aufgrund der unzuverlässigen und ungenauen Messungen den Nutzen der HCS in Frage stellt.

Die WHO kam 2004 [27] zu dem Ergebnis, dass das Verfahren weiter beobachtet und sein Nutzen für Länder mit limitierten Ressourcen durch weitere „real life“ Studien belegt werden müsse. Zudem wurde die allgemeine Empfehlung ausgesprochen, dieses Verfahren nur in Verbindung mit klinischen Anämiezeichen anzuwenden.

Trotz der allgemeinen Diskussion und öffentlichen Bedenken der WHO wird die HCS im Katalog des Internationalen Roten Kreuzes von 2004 als einfache und preiswerte Hb-Messmethode für den Feldeinsatz angeboten.

Obwohl die HCS zahlreiche Vorteile gegenüber herkömmlichen Methoden aufweist, kann die Skala wegen der unzuverlässigen Ergebnisse nicht empfohlen werden. Das vorrangige Ziel, mithilfe dieses Verfahrens die Verdachtsdiagnose einer schweren Anämie zu sichern und sie von einer moderaten Anämie abzugrenzen, wird nicht erreicht.

Anhand eigener Erfahrungen und der Ergebnisse der Studie von Barduagni *et al.* [23] wird auch weiterhin die Methode nach Sahli für die Hb-Diagnostik auf „primary level“ empfohlen. Wie bei Barduagni *et al.* [23] beschrieben, sind die Zuverlässigkeit, die

Genauigkeit der Messungen und die Kosten pro Test der Sahli-Methode und der HCS vergleichbar.

Wie in vorangegangenen Studien empfohlen wird, sollten weitere „real-life“ Beobachtungen folgen um den Nutzen der HCS für die Anämiediagnostik in Ländern mit limitierten Ressourcen sicher definieren zu können. Bis zur endgültigen Entscheidung der WHO ist unserer Ansicht nach und auf der Basis der Ergebnisse der vorliegenden Studie von einer Verwendung der HCS im klinischen Alltag abzuraten.

Mit der HCS ist ein Ansatz gelungen, der die Anämieproblematik unter Kindern und schwangeren Frauen in das Bewusstsein von Wissenschaftlern, Medizinern und Hilfsorganisationen rückt. Dies sollte Anlass sein die Entwicklung neuer und die Verbesserung herkömmlicher Hb-Messverfahren voranzutreiben.

9.3 Spindocto

Der Spindocto ist von den untersuchten Verfahren die am wenigsten bekannte Messmethode. Es existieren bisher keine Studien, welche die von Roy Rickman *et al.* entwickelte Methode überprüfen. Bei dem innerhalb der Studie zur Anwendung gekommenen Spindocto handelt es sich um einen Prototyp.

Das Prinzip dieses Verfahrens entspricht einer Handzentrifuge. Durch die sich drehende Kunststoffscheibe werden bis zu 10 blutgefüllte Kapillaren auf ca. 5400 rpm beschleunigt. Der Zentrifugationsvorgang muss ausreichend lang, ca. 3 bis 4 Minuten erfolgen, um die Erythrozyten vollständig von den übrigen Blutbestandteilen zu trennen und somit Verfälschungen durch andere Zellen wie z.B. Leukozyten zu vermeiden. Die Höhe der Erythrozytensäule und die entsprechende Hb-Konzentration werden mithilfe einer speziellen Skala abgelesen.

Durch den Handbetrieb ist das Verfahren unabhängig von jeglicher Wasser- und Stromversorgung. Aufgrund von geringer Größe und Gewicht (160 g) ist die Zentrifuge handlich und einfach zu transportieren.

Die durch die Spindocor Methode ermittelten Hb-Werte liegen im Mittel 1,5 g/dl über den Referenzwerten. Der Hersteller der Methode gibt in der Beschreibung des Verfahrens bei exakter Anwendung des Tests eine Streuung von +/- 1,5 g/dl an. Die Ergebnisse streuen im Bereich +1,96 und -1,96 der Standardabweichung zwischen -1,2 und 4,4 g/dl (95% CI (-1,4;-1,0): (4,2;4,6)). 34% der Spindocor Messwerte weichen innerhalb von 1g/dl, 30% maximal um 2g/dl und 36% um mehr als 2g/dl von den Referenzwerten ab (siehe Tabelle 8.6). Die Sensitivität dieses Verfahrens beträgt 44%, die Spezifität 99%, der falsch positive Wert 1,2% und der falsch negative Wert 56%.

Die Zahl der falsch negativ bestimmten Patienten liegt mit 56 von 100 Patienten aller drei Verfahren vergleichsweise am höchsten.

Die Punktwolke im Bland-Altman Plot ist annähernd dreieckig und steigt in positiver Richtung an. Je größer die tatsächliche Hb-Konzentration ist, umso stärker schwanken die Messergebnisse um den Messwert. Der Fehler der Spindocor Methode steigt mit der Höhe des Messwertes an.

Die statistische Auswertung zeigt, dass die Messergebnisse vergleichsweise unzuverlässig und zu hoch bestimmt werden. Dabei begünstigt besonders die Einteilung der verwendeten PIMA-Skala in 5'er Schritten die auftretenden Messungenauigkeiten. Weiterhin muss bei diesem Verfahren mit Verfälschungen der Messwerte durch variierende Zellvolumina bei mikro- und makrozytärer Anämie gerechnet werden.

Infolge anfänglicher Probleme der korrekten Durchführung des Verfahrens im Rahmen der Studie wird vor einem routinemäßigen Gebrauch ein Erproben und Üben der einzelnen Arbeitsschritte empfohlen. Zum einen sollte auf das blasenfreie Befüllen und Verschließen der Kapillaren und zum anderen auf einen gleichmäßigen und angemessen schnellen Spinvorgang geachtet werden.

Bei der routinemäßigen Durchführung der Tests kam es zu Problemen bei der Zentrifugation. Erfolgt der Vorgang nicht ausreichend lang oder mit zu geringer

Beschleunigung, wird der Hb-Wert zu hoch bestimmt. Andererseits ist beim häufigen und starken zentrifugieren der Verschleiß der Aufhängung (Nylon) durch die Wärmeentwicklung sehr groß, so dass innerhalb weniger Tage die Fäden mürbe werden und reißen. Während der Studie musste die Aufhängung bis zu 2-mal pro Woche gewechselt werden.

Die Kosten einer Erstanschaffung belaufen sich auf 175,- £ oder 240,- €. Unter Berücksichtigung der Einfachheit des Gerätes sind die Kosten verhältnismäßig hoch.

Der Erwerb der passenden Polypropylen Kapillare ist kompliziert. Da sie mit einem Durchmesser von 16 mm von der Normkapillare abweichen, sind sie nicht über den lokalen Fachhandel, sondern nur über den Hersteller in Großbritannien (diamedica Ltd.®) erhältlich. Die aktuellen Kosten für die Kapillare liegen nicht vor und sind direkt beim Hersteller zu erfragen. Laut Hersteller liegt der Vorteil der speziellen Kapillaren darin, dass sie stabil sind und wieder verwendet werden können.

Problematisch ist der einseitige Plastilin-Verschluss, dessen Entfernung sehr aufwendig ist. Mittels eines Autoklaven sollen die Kapillaren sterilisiert und abschließend mit einer Lösung aus Heparin benetzt, getrocknet und so erneut gebrauchsfertig gemacht werden. Verwirft man die Kapillare nach Gebrauch, müssen die kontaminierten PP-Kapillaren entsorgt werden und der Test wird teuer.

Der Spindoctor bietet eine weitere einfache und unkomplizierte Alternative für eine Hb-Messung auf „primary level“. Allerdings sind wesentliche Verbesserungen des untersuchten Prototyps nötig, um die Methode wettbewerbsfähig zu machen. Neben der Optimierung der Produktmaterialien liegt das Hauptaugenmerk auf der Skala. Diese muss ein zuverlässiges und einfaches Ablesen der Hb-Konzentrationen für den Tester ermöglichen.

Nach Angaben des Herstellers wurde der Spindoctor im vergangenen Jahr in vielerlei Hinsicht verbessert. Neben dem Design und Verbesserungen der Sicherheitselemente wurde auch die Skala modifiziert. Laut Herstellerangaben wurde die Abweichung

zwischen Messergebnis und Referenzwert auf 0,2 g/dl minimiert. Weiterhin wurde seine Effizienz durch Erhöhung des Probenumfangs pro Spin-Vorgang um 100 % gesteigert.

Aufgrund der schlechten Ergebnisse kann der Prototyp des Spindocter für den klinischen Gebrauch nicht empfohlen werden. Um die neue Version der Zentrifuge objektiv beurteilen zu können, sollten repräsentative Feldstudien folgen. Aufgrund fehlender Daten und Erfahrungen im Umgang mit dem neuen Spindocter kann keine Empfehlung für seine Verwendung gegeben werden.

10 Zusammenfassung

Die Anämie zählt zu den weltweit bedeutendsten medizinischen Problemen. Der Großteil der Anämiepatienten lebt in Ländern mit limitierten Ressourcen. Für die Verbesserung der Anämiesituation ist es essentiell, effiziente und preiswerte Diagnoseverfahren zu finden, die auf das jeweilige Maß der Gesundheitsversorgung angepasst sind.

Aus diesem Grund erfolgte in dieser Arbeit die Überprüfung von drei Hb-Messverfahren, welche u.a. für den Einsatz in Ländern mit limitierten Ressourcen entwickelt wurden. Es wurden die „Alkaline Haematin D-575 Methode“ (AHD₅₇₅) von Wolf *et al.* (1986), die „Haemoglobin Colour Scale“ (HCS) von Lewis *et al.* (1998) und die „Spindocor Centrifuge“ von Rickman *et al.* mit der etablierten Hämoglobincyanid Methode (HiCN) als Gold-Standard verglichen.

Die einzelnen Verfahren wurden bezüglich Validität, Komplexität sowie Wirtschaftlichkeit beim Einsatz in medizinischen Einrichtungen unterschiedlicher Niveaus geprüft. Im Rahmen der Feldstudie wurden im St. Benedict`s Hospital in Ndanda und im Diocesan Hospital in Mnero, Tansania, 751 Patienten im Kindes- und Jugendalter untersucht. Innerhalb einer weiteren Testreihe erfolgte eine gesonderte Betrachtung der HCS Methode, um eine Beeinflussung des Messergebnisses durch subjektive und objektive Faktoren zu analysieren. Für diese Teilstudie wurden 100 identische Blutproben durch fünf unabhängige Tester mithilfe der HCS untersucht.

Ferner wurde das medizinische Personal vor Ort mittels eines Fragebogens allgemein zum Thema Anämie befragt.

In der Auswertung erweist sich die AHD₅₇₅ Methode als das Verfahren höchster Validität und Reliabilität. Die Eigenschaften und die Methodik des Messverfahrens weisen im Vergleich zur HiCN Methode zahlreiche Vorteile auf. Dazu gehören die umweltschonende Anwendung ohne toxische Reagenzien, die geringen Kosten im Vergleich zu anderen photometrischen Methoden und die unkomplizierte Lagerung der Transformationslösung. Nachteilig sind bei den im Handel erhältlichen Lösungen die

notwendige regelmäßige Kalibrierung, welche zudem die Gefahr von Messungenauigkeiten birgt, und die schlechte Pipettierbarkeit der flüssigen Standard-Lösungen aufgefallen. Weiterhin sind die starke Blasenbildung der Reagenz während der photometrischen Messung hinderlich und kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Die Notwendigkeit eines Photometers, die damit verbundene Pflege und Instandhaltung des Geräts sowie die Abhängigkeit von Strom und Wasser sollten vor einer Umstellung auf diese Methode unbedingt bedacht werden. Aufgrund der hohen Kosten für die im Handel erhältlichen Fertiglösungen wird die Anwendung eigens hergestellter Transformationslösungen empfohlen.

Zusammenfassend kann die AHD₅₇₅ Methode als Alternative zur HiCN Methode in Hospitälern auf Regional- oder District-Ebene bzw. in Einrichtungen, die über die notwendigen infrastrukturellen Voraussetzungen verfügen, empfohlen werden.

Die statistische Auswertung der HCS Ergebnisse zeigt eine vergleichsweise niedrige Validität und Reliabilität. In der Auswertung fiel auf, dass bei tatsächlichen Hb-Konzentrationen $\leq 9,8$ g/dl tendenziell höhere Werte und bei Konzentrationen $> 9,8$ g/dl tendenziell niedrigere Werte bestimmt wurden. Etwa 47% (n = 351) aller ermittelten Werte lagen zwischen 4 g/dl und 9,8 g/dl. Davon wurden in 71% der Fälle bei einer tatsächlichen Konzentration $\leq 9,8$ g/dl zu hohe Ergebnisse bestimmt. Bei Konzentrationen bis 7 g/dl wurden in 88% und bis 6 g/dl sogar in 96% der Fälle mit der HCS zu hohe Ergebnisse gemessen. Die Sensitivität beträgt bei schwerer Anämie (Hb 7 g/dl) 61% und die Spezifität 92%.

Die Vorteile der HCS liegen in der einfachen und unkomplizierten Anwendung. Laut WHO [7] soll die Methode somit vor allem auch durch ungelernetes Personal genutzt werden können. Sie ist unabhängig von einer Strom- und Wasserversorgung, das Ergebnis ist schnell ablesbar und es sind keine Chemikalien für die Durchführung des Tests notwendig. Schließlich ist Anwendung der HCS sehr preiswert. Den Vorteil, in der HCS eine Hb-Messmethode für medizinisches Laienpersonal gefunden zu haben, sollte man allerdings kritisch betrachten. Die Kombination aus fehlendem medizinischem Wissen beim Anwender und die nachgewiesene Unzuverlässigkeit der HCS im Bereich niedriger Hb-Konzentrationen kann lebensbedrohliche Folgen für den Patienten haben. Innerhalb der gesonderten Betrachtung der HCS konnte die

Abhängigkeit des Verfahrens von exogenen Faktoren (Licht) sowie die Beeinflussung der Messergebnisse durch individuelle Unterschiede bei der Beurteilung belegt werden. Angeregt durch die öffentliche Diskussion kam die WHO 2004 [27] zu dem Ergebnis, dass das Verfahren beobachtet und der Nutzen für Länder mit limitierten Ressourcen durch weitere „real life“ Studien belegt werden muss.

Durch die vorliegende Studie wurde die Unzuverlässigkeit der HCS an einem zahlenmäßig großen Patientenkollektiv und unter „real life“ Bedingungen erneut nachgewiesen. Aufgrund dieser Ergebnisse muss generell von dem klinischen Einsatz der HCS abgeraten werden. Als Methode der Wahl auf „primary level“ wird das Verfahren nach Sahli empfohlen.

Der Spinddoctor ist von den untersuchten Verfahren die am wenigsten bekannte Messmethode. Bei dem innerhalb der Studie zur Anwendung gekommenen Spinddoctor handelt es sich um einen Prototyp des aktuell erhältlichen Modells. Durch die Einfachheit der Methode und die Unabhängigkeit von der Wasser- und Stromversorgung erfüllt er die Voraussetzungen für die Anwendung auf „primary level“. Er ist handlich, einfach zu transportieren und seine Pflege gestaltet sich unkompliziert. In der statistischen Auswertung zeigte sich allerdings, dass die Messungen vergleichsweise unzuverlässig sind. Als wesentliche Ursache wird die ungenaue Einteilung der Skala gesehen. Fehlbestimmungen können aber auch aus einer mikro- oder makrozytären Anämie des Patienten resultieren und müssen bei der Anwendung der Zentrifuge unbedingt bedacht werden.

Nachteilig fielen auch der starke Verschleiß der Befestigungsseile und die verhältnismäßig hohen Kosten bei der Eranschaffung auf.

Der Spinddoctor bietet eine unkomplizierte Möglichkeit eine Hb-Messung auf „primary level“ zu ermöglichen. Allerdings wird der Einsatz des Prototyps im klinischen Alltag nicht empfohlen.

Der Kampf gegen die Anämie erfordert vermehrtes internationales Engagement!

Die Entwicklung angepasster Verfahren muss die wirtschaftliche, infrastrukturelle, klimatische und medizinische Realität in Ländern mit limitierten Ressourcen berücksichtigen. Es ist notwendig die Diagnostik zu standardisieren und mit einheitlichen Empfehlungen für Gesundheitsarbeiter vor Ort zu versehen.

Tabelle 10.1 soll einen abschließenden Überblick über die einzelnen Verfahren geben.

Methode	Messgenauigkeit	Kosten Preis/Test	Vorteile	Nachteile	Bewertung
HiCN	Hoch	5,00	Verfügbarkeit der Chemikalien, unter Anweisung schnell erlernbar	Toxisch, aufwendige Lagerung, Voraussetzung: Wasser, Strom, Photometer.	Med. Einrichtung auf Regional- oder District Ebene. Verfügbarkeit von angeleitetem Personal, Wasser, Strom und Chemikalien. Gute Infrastruktur notwendig.
HiCN*		1,85			
AHD	Hoch	3,61	Nicht toxisch, unter Anweisung schnell erlernbar, einfache Lagerung	Voraussetzung: Wasser, Strom, Photometer. Regelmäßige Qualitätssicherung (min. 1x/Woche)	Med. Einrichtung auf Regional- oder District Ebene. Verfügbarkeit von angeleitetem Personal, Wasser, Strom und Chemikalien. Gute Infrastruktur notwendig.
AHD*		0,31			
HCS	Gering, hohe Fehlerrate besonders bei niedrigen Hb-Konzentrationen	1,70	Nicht toxisch, einfach, leicht, keine Notwendigkeit von Strom und Wasser.	Lichtabhängig, hohe Fehlerrate bei falscher Anwendung	Med. Einrichtungen auf „Primary Level“ entwickelt: nicht zu empfehlen wg. Unzuverlässigkeit insbesondere bei niedrigen Hb-Konzentrationen
Spindoctor	Gering	Aktuelle Kosten beim Hersteller zu erfragen	Nicht toxisch, einfach, leicht, keine Notwendigkeit von Strom und Wasser.	Hoher Verschleiß	Für med. Einrichtungen auf „Primary Level“ entwickelt: Prototyp nicht zu empfehlen wegen hoher Unzuverlässigkeit

* Eigens hergestellte Lösung

Tabelle 10.1: Zusammenfassung Hb-Messverfahren

11 Literatur

1. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. I. Description of the method. Zander, Wolf, Lang; *Clinica Chimica Acta*, 1984, 136:83-93.
2. Alkaline haematin D-575, a new tool for the determination of haemoglobin as an alternative to the cyanhaemoglobin method. II. Standardisation of the method using pure chlorohaemin. Zander, Wolf, Lang; *Clinica Chimica Acta*, 1984, 136:95-104.
3. An elective in Tanzania, Africa: Ndanda mission hospital, Nachingwea government hospital. Scott, Massey, Lewis; 1999.
4. An inexpensive and reliable new haemoglobin colour scale for assessing anaemia. Lewis, Stott, Wynn; *Journal of Clinical Pathology*, 1998, 51(5):416.
5. Clinical use of WHO haemoglobin colour scale: validation and critique. Ingram, Lewis; *Journal of Clinical Pathology*, 2000, 53:933-937.
6. Comparison of haemoglobinometry by WHO Haemoglobin Colour Scale and copper sulphate against haemoglobinocyanide reference method. Timan, Tatsumi, Aulia, Wangsasaputra; *Clinical and Laboratory Haematology*, 2004, 26:253-258.
7. Devices and clinical technology (DCT)- Haemoglobin Colour Scale. http://www.who.int/bct/Main_areas_of_work/DCT/Haemoglobin.htm,
8. Evaluation and costs of different haemoglobin methods for use in district hospitals in Malawi. Medina Lara, Mundy, Kandulu, Chisuwo, Bates; *Journal of Clinical Pathology*, 2005, 58:56-60.
9. Evaluation of the alkaline haematin D-575 method for haemoglobin estimation in east Africa. Lema, Carter, Arube, Munafu, Wangai, Rees; *Bulletin of the WHO*, 1994, 72(6):937-941.
10. Evaluation of the Haemoglobin Colour Scale and comparison with the HemoCue haemoglobin assay. Paddle; *Bulletin of the WHO*, 10/2002, Vol. 80 No. 10.

11. Evaluation of the WHO Haemoglobin Colour Scale for diagnosis in children and pregnant women as used by primary health care nurses and community health workers in western Kenya. Lindblade, Mwololo, van Eijk, Peterson, Odhiambo, Williamson, Slutsker; *Tropical Medicine and International Health*, 11/2006, Vol. 11, No. 11, pp. 1679-1687.
12. Field trial of a haemoglobin colour scale: an effective tool to detect anaemia in preschool children. Montresor, Albonico, Khalfan, Stoltzfus, Tielsch, Chwaya, Savioli; *Tropical Medicine and International Health*, 02/2000, Vol. 5, No. 2, pp. 129-133.
13. Haemoglobin colour scale for anaemia diagnosis where there is no laboratory: a systematic review. Critchley, Bates; *International Journal of Epidemiology*, 2005, 34:1425-1434.
14. Haemoglobin Colour Scale- operational research agenda and study design. WHO, Department of Essential Health Technologies, 05/2004.
15. Haemoglobin Colour Scale...a practical answer to a vital need. WHO, Department of Blood Safety and Clinical Technology; 2001.
16. HIV- Information: <http://data.unaids.org/pub/GlobalReport/2006>
17. How objective are the supporters of the Haemoglobin Colour Scale? Paddle; *Letters, Bulletin of the WHO*, 2002, 80 (12):987.
18. International collaborative assessment study of the AHD₅₇₅ method for the measurement of blood haemoglobin. Moharram, El Aouad, Al Busaidy, Fabricius, Heller, Wood, Wolf, Heuck; *WHO Eastern Mediterranean Health Journal*, 2006, Vol. 12, No. 6.
19. Looking backwards to the future: the WHO Haemoglobin Colour Scale. Lewis; *Turkish Journal of Hematology*, 2002, 19(2):185-189.
20. Measurement of haemoglobin as a screening test in general practice. Lewis, Osei-Bimpong, Bradshaw; *Journal of Medical Screening*, 2004, 11(2):103-105.
21. Methods for assessing reliability and validity for a measurement tool: a case study and critique using the WHO haemoglobin colour scale. White, van den Broek; *Statistics in Medicine*, 2004, 23:1603-1619.

22. Observations on the Alkaline Haematin/Detergent complex proposed for measuring Haemoglobin Concentration. van Assendelft, Zijlstra; *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 1989, Vol. 27, pp. 191-195.
23. Performance of Sahli and colour scale methods in diagnosing anaemia among school children in low prevalence areas. Barduagni, Ahmed, Curtale, Raafat, Soliman; *Tropical Medicine and International Health*, 07/2003, Vo. 8, No. 7, pp 615-618.
24. Performance of the Haemoglobin Colour Scale in diagnosing severe and very severe anaemia. Montresor, Ramsan, Khalfan, Albonico, Stoltzfus, Tielsch, Savioli; *Tropical Medicine and International Health*, 07/2003, Vol. 8, No. 7, pp 619-624.
25. Preparation, purification and characterization of chlorohaemin. Wolf, Link, Lang; *Biological Chemistry*, 06/1992, Vol. 373, pp. 305-313.
26. Principles of medicine in Africa. Parry, Godfrey, Mabey, Gill; Third Edition, Cambridge University Press, 2004, pp. 924- 957.
27. Review of the Haemoglobin Colour Scale- report of an informal consultation. WHO, Department of Essential Health Technologies, 05/2004.
28. Spindocor Information: <http://www.diamedica.co.uk/qa.htm>,
<http://www.diamedica.co.uk/products.htm>, 21.08.2006
29. The determination of Haemoglobin as Cyanhaemoglobin or as Alkaline Haematin D-575, comparison of method-related errors. Zander, Wolf, Lang; *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 1989, Vol. 27, pp. 185-189.
30. The determination of haemoglobin in whole blood- diverging developments in clinical chemical analysis: critique and commentary. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 1989, Vol. 27, pp. 181-184.
31. Validity of the haemoglobin colour scale in blood donor screening. Lewis, Emmanuel; *Vox Sanguinis*, 01/2001, 80(1):28-33.

12 Anhang

12.1 Übersicht

Messung	Hb n. KK.	AHD Hb n. KK. Abw.	HCS Hb Abw.	Spindector Hb abg. Abw.
Anzahl	751	751	751	751
Mittelwert	10,1	9,5	10,2	11,7
Std.abw.	2,4	2,6	2,0	3,0
Unsich.	0,1	0,1	0,1	0,1
Delta_12		-0,7		
Delta_12		0,1		
AHD > HCS?		ja		
proz. Sig.		< 99%		
Delta_23			-1,5	
Delta_23			0,1	
AHD > SpD?			ja	
proz. Sig.			< 99%	
Delta_31				2,2
Delta_31				0,1
SpD > AHD?				nein
proz. Sig.				< 99%
Steigung		0,016	-0,334	0,099
St.ruhl		0,715	1,126	1,423
Achs.abw.		-0,817	3,451	0,552

Abbildung 12.1: Übersicht der Ergebnisse

Berechnung der Konzentration anhand der Extinktionen

$$\text{Konzentration} = \frac{\text{Extinktion} - \text{Achsenabschnitt } b}{\text{Steigung } a} \quad [3]$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad [4]$$

$$b = \frac{\Sigma(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\Sigma(x - \bar{x})^2} \quad [5]$$

12.2 Kalibrationskurven

Es folgen die während der Studiendurchführung ermittelten Kalibrationskurven der HiCN-Methode:

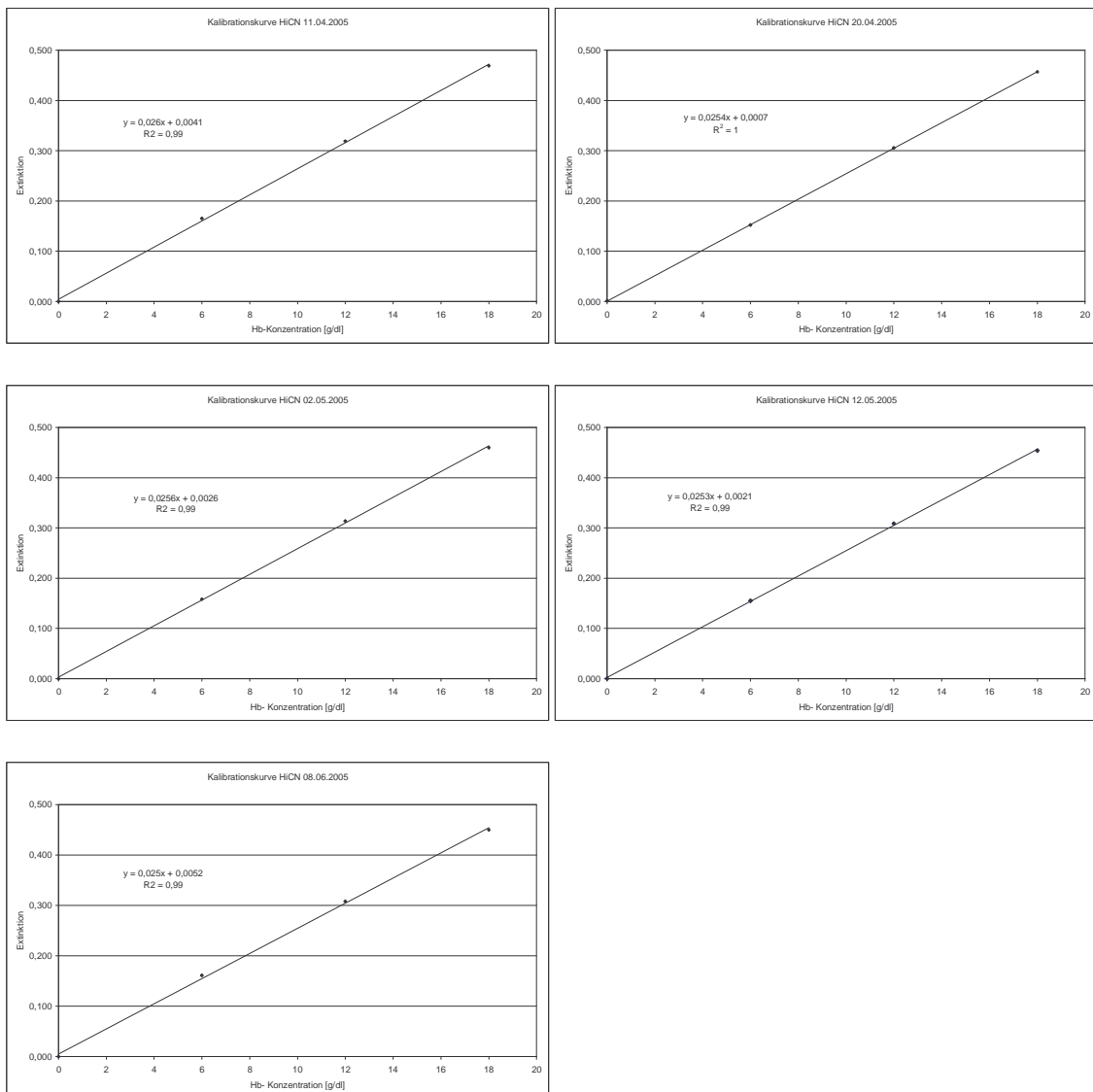


Abbildung 12.2: Kalibrationskurven der HiCN Methode

Es folgen die während der Studie durchgeführten Kalibrationskurven der AHD₅₇₅ Methode:

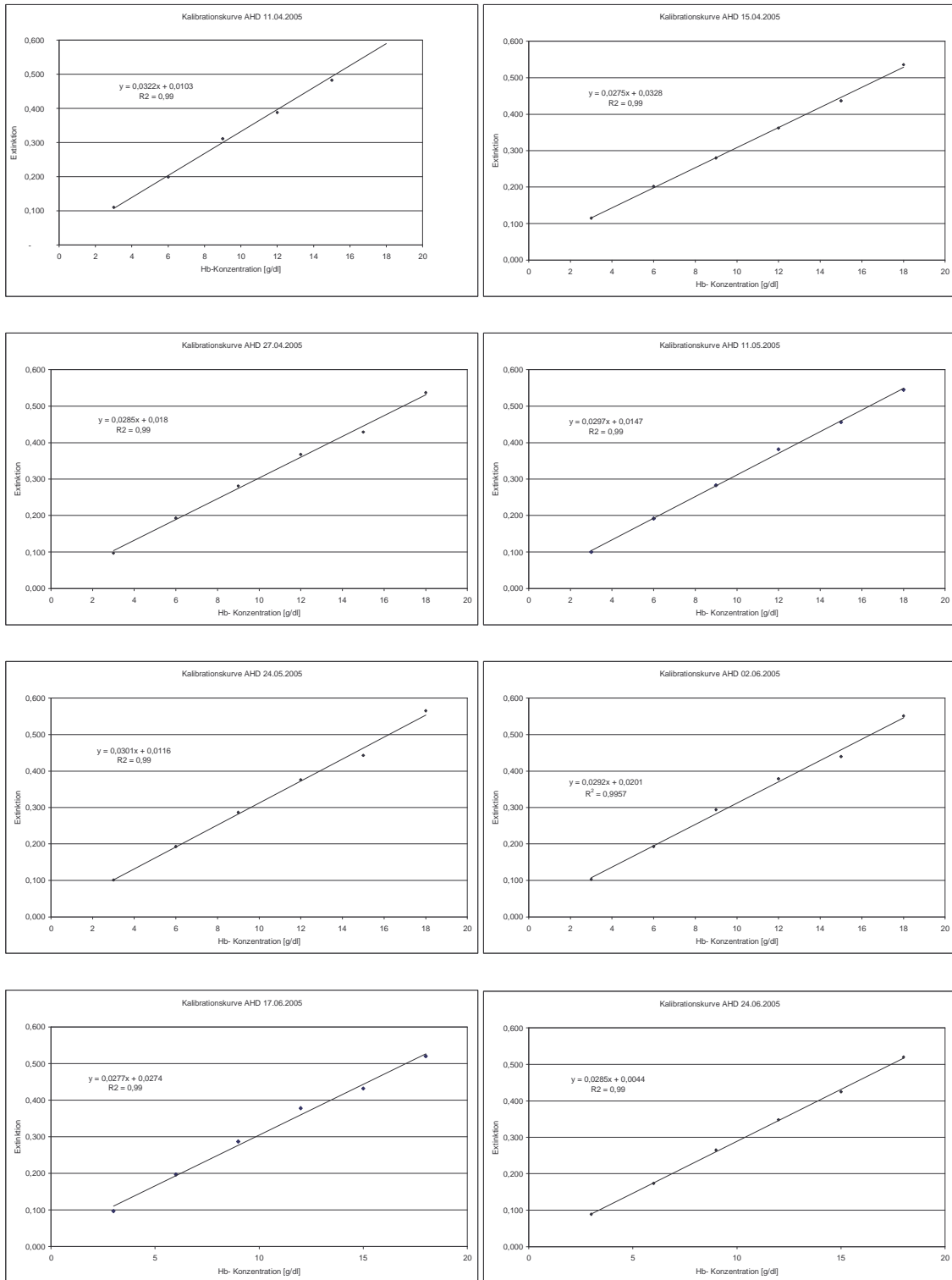


Abbildung 12.3: Kalibrationskurven der AHD₅₇₅ Methode

Es folgen die Kalibrationskurven der Qualitätsprüfungen des PM 650® mit Hilfe standardisierter Blutproben:

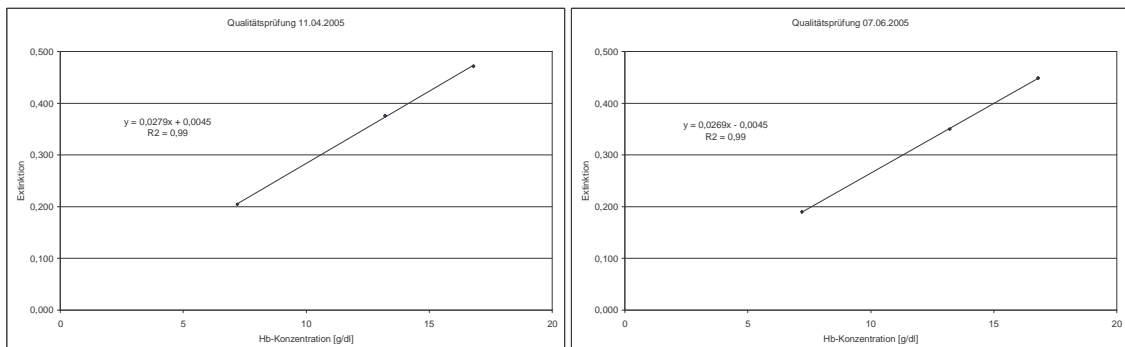


Abbildung 12.4: Qualitätsprüfung Rhielc PM 650

12.3 Statistische Kenngrößen

Mittelwert der Differenz

Der Mittelwert der Differenz ergibt sich aus den Differenzen zwischen Referenzwerten und Prüfwerten. Er gibt Auskunft wie weit die Prüfwerte im Mittel vom Referenzwert abweichen.

Eine negative mittlere Abweichung zeigt an, dass die Messwerte der geprüften Verfahren im Mittel unter den Referenzwerten liegen. Das bedeutet, dass die Methode zu kleine Werte im Vergleich zur Referenzmethode misst.

Dementsprechend zeigt ein positiver Mittelwert, dass die Messwerte im Mittel über den Referenzwerten liegen. Damit werden mit der betreffenden Methode zu große Werte gemessen.

Standardabweichung der Differenz

Die Standardabweichung σ der Differenzen zwischen Mess- und Referenzwerten gibt an, wie stark die Differenzen um ihren Mittelwert streuen.

Je größer die Standardabweichung ist umso weiter streuen die Differenzen um den Mittelwert und umso ungenauer misst die Methode. Dementsprechend ergibt sich für eine kleine Standardabweichung, dass die Differenzen gering um den Mittelwert streuen und damit die Ergebnisse präziser werden.

68% der Differenzen liegen im Bereich zwischen $\bar{x} - 1\sigma$ und $\bar{x} + 1\sigma$. \bar{x} entspricht dabei dem Mittelwert.

Signifikanz

Allgemein versteht man unter Signifikanz p (probability of error) die „Irrtumswahrscheinlichkeit“. Sie gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass ein gefundener Zusammenhang bzw. Unterschied zwischen zwei oder mehreren Merkmalen nicht besteht.

Die statistische Signifikanz beschreibt, ob ein Ergebnis im statistischen Sinne bedeutend ist und darf nicht mit der klinischen Relevanz eines Ergebnisses gleichgesetzt werden.

Ein Signifikanzniveau α von 0,05 besagt, dass mit einer ermittelten Wahrscheinlichkeit von 5% der ermittelte Zusammenhang nicht zutrifft. Das bedeutet im entgegengesetzten Sinne, dass der Zusammenhang mit 95% Wahrscheinlichkeit zutrifft. Aus diesem Grund sollte α immer möglichst klein gewählt werden um eine hoch signifikante Aussage treffen zu können.

Typische Werte für das Signifikanzniveau α sind 0,1; 0,05; 0,01. Dabei entspricht $p = 0,1$ (10%) einem schwach signifikantem, $p = 0,05$ (5%) einem signifikantem und $p = 0,01$ (1%) einem hoch signifikantem Ergebnis.

Aus dem Gesamt-Mittelwert der Differenzen, der Gesamt-Standardabweichung der Differenzen und der Anzahl der Proben, lässt sich anhand der Gleichungen [6] bis [9] die Signifikanz in Abbildung 12.1 berechnen.

$$\text{Delta}_{12} = \text{Mittelwertdifferenz Methode 1} - \text{Mittelwertdifferenz Methode 2} \quad [6]$$

$$\text{delta}_{12} = \sqrt{\text{Unsicherheit Methode 1}^2 - \text{Unsicherheit Methode 2}^2} \quad [7]$$

$$x_{12} = \frac{\text{Delta}_{12}}{\text{delta}_{12}} \quad [8]$$

$$\text{wenn } x_{12} > \pm 1,64 \text{ dann } p < 0,1 \quad [9]$$

$$> \pm 2,00 \text{ dann } p < 0,025$$

$$> \pm 2,58 \text{ dann } p < 0,01$$

Eine alleinige Betrachtung von Mittelwert und Standardabweichung reicht in der Regel für eine qualitative Beurteilung des Verfahrens nicht aus. Erst mit Hilfe der Signifikanz ist eine Aussage über die Genauigkeit einer Messmethode möglich.

Die vorliegende Studie ist diesbezüglich eine Ausnahme, da mit der Differenz der Messwerte gerechnet wird. Die Mittelwerte der Differenz drücken bereits die Tendenz des Fehlers aus. Wenn der Fehler bzw. die Differenz gering ist, resultiert eine kleine Mittelwertdifferenz und deutet damit auf eine präzisere Messung hin. Das Gegenteil tritt ein wenn der Fehler bzw. die Differenz groß ist. Die Differenz der Standardabweichung verhält sich identisch.

Steigung

Die Steigung ist definiert als das Maß der Steilheit einer Geraden oder einer Kurve und gibt die Änderung entlang der Regressionsgeraden an. Sie entspricht dem Quotienten aus dem vertikalen und horizontalen Abstand zweier beliebiger Punkte der Geraden.

Im Idealfall ergibt sich für den Anstieg $m = 1$ bei einer durch den Punkt (0; 0) verlaufenden Geraden.

Vergleicht man zwei Methoden miteinander, wären ihre Graphen in diesem Fall deckungsgleich. Die Differenz zwischen den Verfahren entspräche damit 0. Der Anstieg kann ebenfalls 1 betragen wenn zwei miteinander verglichene Verfahren konstant voneinander abweichen. Die Geraden würden in diesem Fall allerdings nicht durch den Ursprung verlaufen.

Die Gleichung, nach der die Steigung einer Regressionsgeraden berechnet wird, lautet:

$$b = \frac{\Sigma(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\Sigma(x - \bar{x})^2} \quad [10]$$

Dabei entsprechen \bar{x} und \bar{y} den Stichprobenmittelwerten, x den Referenzwerten und y den Differenzen zwischen Referenz- und den Messwerten der jeweiligen Methode. Der Abstand zwischen der Trendlinie der Prüfwerte und der Linie der Referenzwerte beschreibt ihre Abweichung voneinander.

Bei Betrachtung der Steigung muss man zwischen der Steigung der Prüfwerte und der Abweichungen unterscheiden. Für die Steigung der Prüfwerte ergibt sich:

$$m_{\text{Prüfwert}} = m_{\text{Abweichung}} + m_{\text{Referenzwert}} \quad \text{bei } m_{\text{Referenzwert}} = 1 \quad [11]$$

Eine Steigung für die Messwerte von $m < 1$ bedeutet somit, dass die Prüfwerte im Vergleich zum Referenzwert kleiner sind.

Achsenabschnitt

Die allgemeine Geradengleichung lautet:

$$y = mx + b \quad [12]$$

Dabei ist m die Steigung der Geraden und b ihr Achsenabschnitt. Unter dem Achsenabschnitt b einer Geraden versteht man den y -Wert des Punktes, bei dem die Gerade die y -Achse schneidet. Der x -Wert beträgt in diesem Fall null.

Standardfehler (Unsicherheit)

Der Standardfehler bzw. die Unsicherheit gibt die Streuung der Mittelwerte von verschiedenen Stichproben gleichen Umfangs um den wahren Mittelwert der

Gesamtheit an. Er ist in der Statistik definiert als der Quotient aus der Standardabweichung und der Wurzel des Stichprobenumfangs.

$$\text{Standardfehler} = \frac{\text{Standardabweichung } \sigma}{\sqrt{\text{Stichprobenumfang } n}} \quad [13]$$

Nullstelle

Unter der Nullstelle versteht man den Schnittpunkt einer Funktion mit der x- Achse. Die Abweichung zwischen Prüf- und Referenzwert ist in diesem Punkt gleich 0. Je weiter ein Wert von der Nullstelle entfernt liegt umso ungenauer wird er.

Die Nullstelle ist im Gegensatz zum Achsenabschnitt unabhängig von der Steigung, so dass der Betrag der Abweichung sowohl links als auch rechts der Nullstelle immer zunimmt. Weiterhin kann man aus dem Verlauf des Graphen folgern, dass die Werte zwischen der x-Achse und der Geraden mit positivem Achsenabschnitt im Mittel größer als die Referenzwerte sind, d.h. die Differenz zwischen Mess- und Referenzwert ist größer als der Referenzwert.

Demnach sind die Werte zwischen der Regressionsgeraden und der x-Achse mit negativer Abweichung kleiner als die entsprechenden Referenzwerte, d.h. die Differenz aus Mess- und Referenzwert ist kleiner als der Referenzwert.

Zufällige Messfehler

Zufällige Messfehler verursachen die Streuung der Einzelmessungen. Ursache der zufälligen Messfehler sind Schwankungen von Ereignissen, die den Messprozess beeinflussen jedoch nicht kontrollierbar sind, wie zum Beispiel ein Ablesefehler beim "Messen von Hand". Im Allgemeinen darf unterstellt werden, dass der aktuelle Wert des

zufälligen Fehlers durch Überlagerung mehrerer oder auch vieler etwa gleichgroßer Störungen erzeugt worden ist.

Nach Aussage des Zentralen Grenzwertsatzes der Statistik dürfen die zufälligen Fehler dann zumindest annähernd als normal verteilt gesehen werden. Ändern sich die Kenndaten der so postulierten Normalverteilung während des Aufzeichnens der Einzelmessungen nicht, arbeitet die Messapparatur im Sinne der Terminologie der Statistik stationär.

Korrelation

Für metrisch skalierte Merkmale stellt der Korrelationskoeffizient r nach Bravais-Pearson ein Maß für die lineare Abhängigkeit zweier statistischer Variablen dar.

Es gilt: Je näher r 0 kommt, desto schwächer ist der lineare Zusammenhang, d.h. die Korrelation. Je kleiner r wird, desto verwaschener wird die Gerade bis hin zur strukturlosen Punktwolke. Je stärker r sich 1 nähert umso stärker ist der lineare Zusammenhang. Ist der Korrelationskoeffizient kleiner als Null, hat die Punktwolke eine fallende Tendenz.

Allerdings muss erwähnt werden, dass die Korrelation kein Maß für Übereinstimmung ist. Seine Verwendung beim Vergleich zweier Messverfahren ist daher für sich allein nicht aussagefähig und häufig nicht adäquat. Ein Korrelationskoeffizient nahe 1 wird auch dann erreicht, wenn zum Beispiel beim Vergleich zweier Verfahren eines der Verfahren über den kompletten Messbereich doppelt so hohe Werte liefert wie das andere. Die Messwerte müssen über den gesamten Messbereich konstant voneinander abweichen.

Man kann sagen, dass der Korrelationskoeffizient r den linearen Zusammenhang zwischen 2 Variablen zeigt. Er kann Werte zwischen -1 und $+1$ annehmen.

Der Korrelationskoeffizient dient nicht der Darstellung von kausalen Zusammenhängen oder Übereinstimmungen.

Qualitative Aussagen

Die Spezifität besagt, wie viel Prozent der Nicht-Kranken korrekt als gesund eingestuft werden. Der Wert liegt zwischen 0 und 100 und beträgt im Idealfall 100. Die Falsch-Positiv-Rate ordnet sich dem Begriff der Spezifität unter. Sie definiert den Anteil der Gesunden, die durch den Test fälschlicherweise als krank erkannt werden.

Die Sensitivität gibt im Gegenzug dazu an, wie viel Prozent der Kranken durch einen Test richtig als krank ermittelt werden. Auch hier beträgt der Wert im Idealfall 100.

In Verbindung mit der Sensitivität ist die Falsch- Negativ- Rate zu nennen. Diese beschreibt den Anteil der Kranken, die durch den Test fälschlicherweise als gesund eingestuft werden.

Unter Relevanz (= positiv prädiktiver Wert) versteht man die Wahrscheinlichkeit, dass bei einer positiven Diagnose die betroffene Person wirklich krank ist. Die Segreganz (= negativer prädiktiver Wert) definiert sich dementsprechend als die Wahrscheinlichkeit, dass die betreffende Person bei negativer Diagnose wirklich gesund ist.

Die Korrektklassifikationsrate beschreibt die Wahrscheinlichkeit für eine richtige und die Falschklassifikationsrate entsprechend für eine falsche Diagnose.

Validität (= Gültigkeit)

Die Validität gibt ein qualitatives Urteil bzw. den Grad der Genauigkeit an, mit dem eine bestimmte Methode dasjenige Merkmal erfasst, das sie zu erfassen beansprucht.

Objektivität wie Reliabilität sind notwendige, aber nicht hinreichende Bedingungen für die Validität. Sollen Messungen valide sein, so müssen sie auch reliabel und objektiv sein; aber umgekehrt ist ein Ergebnis nicht schon allein darum valide, weil es reliabel und objektiv gewonnen wurde. Validität zeichnet sich zusätzlich dadurch aus, dass tatsächlich das gemessen wird, was gemessen werden soll.

Berechnung des χ^2 - Tests

Der χ^2 - Vierfeldertest dient dazu, die Häufigkeit eines Merkmals in zwei statistisch unabhängigen Gruppen zu vergleichen und zugleich die Frage nach der Signifikanz des Tests zu beantworten.

	Licht		n
	Sonne	Wolken	
HCS<HiCN	45	13	58
	67%	31%	
HCS>HiCN	22	29	51
	33%	69%	
n	67	42	109

Tabelle 12.1

$$\text{Erwartete Häufigkeit } f_e = \frac{\text{Zeilensumme} \times \text{Spaltensumme}}{\text{Gesamtsumme}} \quad [14]$$

	Feld a	Feld b	Feld c	Feld d
f_e	$\frac{67 \times 58}{109} = 36$	$\frac{42 \times 58}{109} = 22$	$\frac{67 \times 51}{109} = 31$	$\frac{42 \times 51}{109} = 20$

Tabelle 12.2

Berechnung des χ^2	Beobachtete Häufigkeit f_b	Erwartete Häufigkeit f_e	Differenz $f_b - f_e$	Quadrierte Diff. $(f_b - f_e)^2$	Quadr. Diff. im Verhältnis zur Erwartung $\frac{(f_b - f_e)^2}{f_e}$
a)	45	36	9	81	2,25
b)	13	22	-9	81	3,68
c)	22	31	-9	81	2,61
d)	29	20	9	81	4,05
					$\chi^2 = 12,56$

Tabelle 12.3

bei $df = 1$

nach Chi-Quadrat-Tabelle: für $\alpha = 0,01$ und $df = 1$ à Grenzwert $\chi^2 = 6,63$

errechneter χ^2 -Wert > Grenzwert à $\chi^2 = 12,56 > 6,63$

à H0 muss aufgrund des Ergebnisses des χ^2 - Tests verworfen werden.

à Die Alternativhypothese, welche besagt, dass zwischen der Sonneneinstrahlung und den "Haemoglobin- Colour- Scale" - Ergebnissen ein Zusammenhang (Abhängigkeit) besteht, ist zu 99% statistisch signifikant.

Die äquivalente Formel zu dieser Berechnung lautet: $\chi^2 = \frac{(f_b - f_e)^2}{f_e}$ [15]

Der Grenzwert von χ^2 für $df = 1$ und die Wahrscheinlichkeit 99 % ($p = 0,01$) beträgt 6,63. Ist der errechnete χ^2 -Wert größer als der χ^2 - Grenzwert spricht man nicht mehr von einer zufälligen Verteilung und verwirft die Nullhypothese, wie das hier der Fall ist.

Kati Werner	Interview of the medical staff	Page 1 of 1
<p>This questionnaire is designed to get information about the clinical management of anaemia in your hospital. The interview is carried out anonymously.</p>		
Hospital:		
Department: (you work in- at the moment)		
Qualification / Profession: (MO, MA...)		
Clinical experience: (in years)		
<p>Please answer the following questions by giving numbers, checking the applicable answer or in keywords.</p>		
<p>1. What do you consider as a normal Hb (in g/dl) for:</p>		
a. Women adult		
b. Men adult		
c. Children < 5 years		
d. Children ≥ 5 years		
<p>2. What do you consider as a severe anaemia (in g/dl) for:</p>		
a. Women adult		
b. Men adult		
c. Children < 5 years		
d. Children ≥ 5 years		
<p>3. Do you rather decide for blood transfusion on clinical signs or rather by using the labs Hb? (tick box)</p>		
a. Clinical signs		
b. Lab Hb results		
c. In combination		
<p>4. To what magnitude do you expect an Hb increase after transfusing a single blood unit?</p>		
<p>5. What is a crucial Hb result for group a-d (woman adult- children ≥ 5) that figures out a blood transfusion regardless of clinical signs?</p>		
<p>6. What do you think are the main reason for your patients to become anaemic?</p>		
<p>7. How do you usually proceed in suspicious anaemic cases?</p>		
<p>8. How long does it take to get blood units for transfusion in your health facilities? Is a volunteer blood bank available in your hospital or do you depend on blood donations of relatives?</p>		
<p>9. What do you think is the normal/acceptable standard variation for Hb caused by the Hb measurement procedure (in the lab) itself? E.g. Hb 10 ± 0,1 g/dl</p>		
a. ± 0,1 g/dl		
b. ± 0,5 g/dl		
c. ± 1,0 g/dl		
d. ± 2,0 g/dl		
<p>Ahsante sana for your support!</p>		

Abbildung 12.5: Fragebogen für medizinisches Personal

**TANZANIA COMMISSION FOR SCIENCE AND TECHNOLOGY
(COSTECH)**

Telegrams: COSTECH
Telephones: (255 - 51) 75155 - 6, 700745-6
Director General: (255 - 51) 700750 & 75315
Fax: (255 - 22) 75313
Telex: 41177 UTAFITI
E-M: Rclearance@costech.or.tz



Ali Hassan Mwinyi Road
P.O. Box 4302
Dar es Salaam
Tanzania

RESEARCH PERMIT

No. 2005 – 77- NA– 2004-149

Date: 5th April 2005

1. Name : **Kati Christin Werner**
2. Nationality : **German**
3. Title : **An Examination Concerning the Choice of Appropriate Methods for Measuring the Haemoglobin Concentration in Human Blood under Consideration of Clinical, Social and Economic Aspects in Developing Countries**
4. Research shall be confined to the following region(s): **Mtwara**
5. Permit validity: **24th March 2005 to 23rd March 2006**
6. Local Contact/collaborator: **M. Malecela, National Institute for Medical Research, P.O. Box 419191, Dar es Salaam**
7. Researcher is required to submit progress report on quarterly basis and submit all publications made after research.



H. Gideon
for: **DIRECTOR GENERAL**

Abbildung 12.6: Research Permit

**TANZANIA COMMISSION FOR SCIENCE AND TECHNOLOGY
(COSTECH)**

Telegrams: COSTECH

Telephones: (255 - 51) 75155 - 6, 700745-6

Director General: (255 - 51) 700750 & 75315

Fax: (255 - 51) 75313

Telex: 41177 UTAFITI

E-M: Rclearance@costech.or.tz



Ali Hassan Mwinyi Road

P.O. Box 4302

Dar es Salaam

Tanzania

In reply please quote: CST/RCA 2004/149/408/2005

5th April 2005

Director of Immigration Services

Ministry of Home Affairs

P.O. Box 512

DAR ES SALAAM

Dear Sir/Madam,

RESEARCH PERMIT

We wish to introduce to **Kati Christin Werner** from **Germany** who has been granted a research permit **No. 2005 – 77- NA– 2004-144** dated **4th April 2005**

The permit allows him/her to do research in the country entitled **“An Examination Concerning the Choice of Appropriate Methods for Measuring the Haemoglobin Concentration in Human Blood under Consideration of Clinical, Social and Economic Aspects in Developing Countries”**

We would like to support the application of the researcher(s) for the appropriate immigration status to enable the scholar(s) begin research as soon as possible.

By copy of this letter, we are requesting regional authorities and other relevant institutions to accord the researcher(s) all the necessary assistance. Similarly the designated local contact is requested to assist the researcher(s).

Yours faithfully,

H. Gideon

for: DIRECTOR GENERAL

- CC:**
1. Regional Administrative Secretary: **Mtwara**
 2. Local contact: **M. Malecela, National Institute for Medical Research, P.O. Box 419191, Dar es Salaam**
 3. Co-researcher: **none**

Abbildung 12.7: Research Permit

JA 27/340/081 VOLLETT22
GERMAN
FG



IMMIGRATION OFFICERS
06 APR 2005
PERMITS SECTION
IMMIGRATION
CAMPUS SALAMU
TANZANIA



THE UNITED REPUBLIC OF TANZANIA
The Immigration Act, 1995
(Section 20)

TIF 4B

RESIDENCE PERMIT CLASS C No. 038197

Mr./Mrs./Miss KAJI CHRISTIN WERNER
Box 3 MWARA

is hereby authorized to enter Tanzania and to remain therein for a period of ONE YEAR/11
03-04-2006 for specific employment with COSIECH

and subject to the provisions of the Immigration Act, 1995 and to the following conditions:-

- (a) (i) Place of work MWARA
- (ii) Place of residence MWARA
- *(b) the holder shall not engage in any employment, trade, business or profession other than RESEARCHER
- *(c) wife and children whose names have been endorsed on this permit are not allowed to engage in Employment
- *(d) (other specific conditions) NO CHANGE OF IMMIGRATION STATUS

Description of Passport:-
Country of issue GERMANY No. HA 906332620
Date of issue 20-10- 20. 04

Fees: US \$ 120 received vide E.R. No. 2754768 of 06-04-2005
issued at DSM TO


 Director of Immigration Services

All persons entitled to enter the United Republic under this permit must on entering the United Republic report to an Immigration Officer without undue delay (Reg. 18).
(Section 25)

Full Name	Relationship to Holder	Age
.....
.....
.....
.....
.....

Date 20.....


 Director of Immigration Services

*Delete if not applicable

NPC-SPD


Abbildung 12.8: Residents Permit Class C

<p>Kati Werner c/o St. Benedict's Hospital Ndanda, Mtwara/Tanzania</p>	<p>Kati Werner c/o St. Benedict's Hospital Ndanda P.O. Box 3 Mtwara / Tanzania e-Mail: Kati_Werner@web.de</p>
<p>Dear <u>Dr. Papalika</u>,</p>	<p>Datum: 08.03.2005</p>
<p>my name is Kati Werner and I'm a medical student in Würzburg/Germany. I'm 23 years old and study medicine since 2000. I absolved my basic study in Jena/Germany. After my preliminary medical examination I changed university and moved to Würzburg. During my basic studies I had my first experiences with working in tropical countries during a stay of 8 weeks in St. Mary's Hospital in Rehoboth/Namibia, in which I participated at the daily work of the physicians and the nurses business as a practical trainee. It was a great experience for me and I learnt a lot about the people and their culture. Therefore feeling home in an international environment and showing a high sensitivity and social competence by dealing with people of all nations is self-evident to me.</p>	
<p>Since this experience I decided to work in development aid projects in tropical countries, after my studies. On this account I attended to a series of special lectures about working and diseases in tropical countries of the Medical Mission Institute of Würzburg. In this connection I was given the opportunity to graduate my dissertation at the Medical Mission Institute.</p>	
<p>In the context of my thesis I want to do a study about new technologies for haemoglobin measurement. I will compare four different methods: the "Haemoglobin Colour Scale" by S. M. Lewis et al. (UK), "Alkaline Haematin D-575 Method" by Prof Wolf et al. (GER), "Spindocotor" by Roy Rickman et al. (UK) in reference to "Haemoglobincyanid Method". Furthermore it shall be accomplished to examine possible new or not yet documented exogenous factors (like special traditional alimentation, chronic diseases, behaviour pattern) which probably can effect the haemoglobin concentration and/or the measuring procedure on site. The study shall include more than 1000 patients (especially children and adolescent) which will be tested for haemoglobin concentration in the blood. Additional I will perform another "small" study with about 100 patients to examine identical blood tests with the help of the Haemoglobin Colour Scale by several independent testers to get further information about the subjective judgement at the interpretation of its colour coding. The beneficiaries of my research will be the patients who use medical services in central and especially in decentralised laboratories due to well established laboratory methods.</p>	
<p>That was just a short overview about my plans for the study. For more information about the content herewith I also send you my research plan.</p>	
<p>Because of the good relations between my tutor Andreas Fabricius and St. Benedict's Hospital in Ndanda/Mtwara I already got the promise by Dr. Sapuli (Medical Supervisor) and Louis Jucker (Hospital Administrator) to carry out my study there. I will stay in Ndanda for about 10 weeks (March-May).</p>	
<p>With this letter I would like to introduce myself and my work to you. It would be a great pleasure for me if it is possible to meet you during my time in Ndanda.</p>	
<p>Best Regards Kati Werner Kati Werner</p>	<p><i>Dr. John Papalika</i> <i>AS DMO</i> <i>08/03/05</i> MGANGA MKUU WA WILAYA MASASI</p>

Abbildung 12.9: Bestätigung durch District Medical Officer

**UNITED REPUBLIC OF TANZANIA
PRESIDENT'S OFFICE
REGIONAL ADMINISTRATION AND LOCAL GOVERNMENT**

MTWARA REGION
Telegrams: REGCOM
TELEPHONE: 023-233-3944
Fax NO: 023-2333194
Ref. No. L. 1/1/53



DEPARTMENT OF HEALTH
P.O.Box 520
MTWARA
Date: 08.04.2005.....

RE: Research project of Kati Werner in Ndanda Hospital, Mtwara

To whom it may concern,

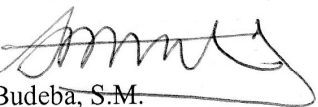
Ms Kati Werner, Medical Student from Germany, is visiting Mtwara Region in order to do research on methods to measure Haemoglobin for her thesis at Ndanda Hospital, Masasi.

Ms Werner has presented all necessary documents enabling her to do her research as planned, mainly the research permit issued by COSTECH to the Regional Medical Office.

We appreciate very much to welcome Ms Werner in our Region and kindly ask you to assist her in whatever way necessary to complete her project successfully.

Thank you very much for your cooperation.

Yours sincerely,


Dr. Budeba, S.M.
Regional Medical Officer

REGIONAL MEDICAL OFFICER
P.O. Box 520
MTWARA REGION

Cc: Regional Administrative Secretary, Mtwara

Abbildung 12.10: Bestätigung durch Regional Medical Officer



Abbildung 12.11: Ndanda



Abbildung 12.12: MCH- St. Benedict's Hospital Ndanda

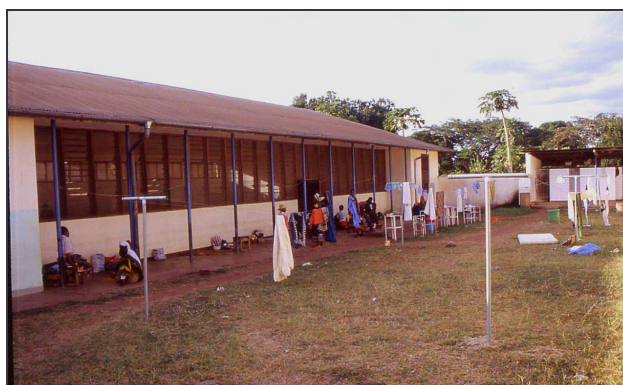


Abbildung 12.13: Stationen- St. Benedict's Hospital Ndanda



Abbildung 12.14: Labor- St. Benedict`s Hospital Ndanda



Abbildung 12.15: Blutentnahme



Abbildung 12.16: Vorbereitung der Messung



Abbildung 12.17: Dokumentation



Abbildung 12.18: Spindocotor

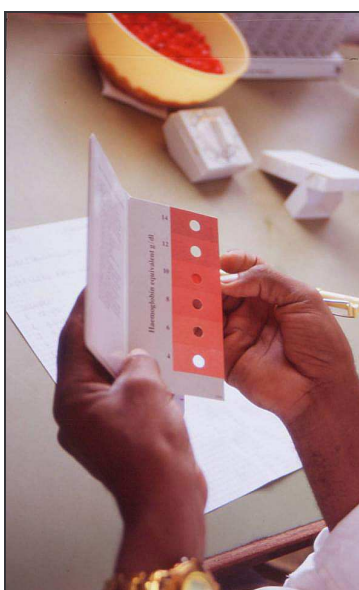


Abbildung 12.19: HCS



Abbildung 12.20: Infrastruktur auf dem Land



Abbildung 12.21: Mnero



Abbildung 12.22: Landleben



Abbildung 12.23: Diocesan-Hospital Mnero

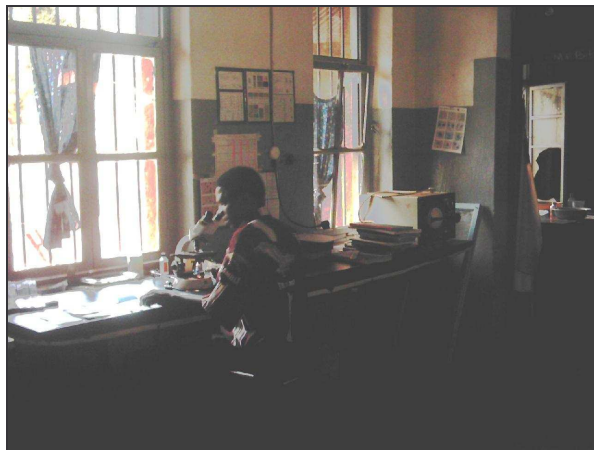


Abbildung 12.24: Labor- Diocesan Hospital Mnero

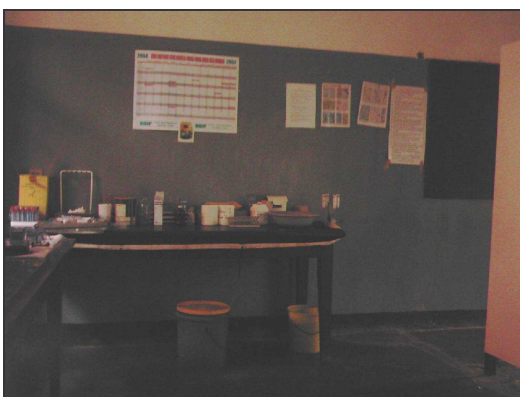


Abbildung 12.25: Labor- Diocesan Hospital Mnero

Danksagung

Ich danke ganz herzlich meinem Doktorvater PD Dr. Stich für dieses interessante und wichtige Thema, dass ich unter seiner Leitung bearbeiten durfte.

Herzlich danken möchte ich meinem Betreuer Andreas Fabricius für seine Hilfe und seine Ideen. Deine Hartnäckigkeit, Begeisterung und Erfahrung haben mir beim Schreiben immer wieder den roten Faden und die Relevanz des Themas vor Augen geführt.

Ein riesiges Dankeschön geht an die Mädels vom Institut: Daniela Hoyer (Dani), Andrea Rogers, Silvia Miksch, Hanne Fleischmann und Sieglinde Mauder. Es hat eine Menge Spaß gemacht mit euch zu arbeiten. Ihr habt mir den ein- oder anderen Stein aus dem Weg gerollt und mir gerade in der turbulenten Zeit der Reisevorbereitung Mut gemacht. Auf euch war und ist einfach Verlass!

Ich möchte an dieser Stelle auch ganz herzlich all meinen Freunden in Tansania danken. Besonders Br. Andreas: du hast mir geholfen in Ndanda eine neue Heimat zu finden und dieses Land und seine Menschen lieben zu lernen.

Ganz herzlich danken möchte ich auch Christian Helzel für seine Unterstützung und Geduld bezüglich der Tabellenkalkulation und Statistik. Ohne dich wäre die Arbeit nicht was sie ist!

Meinen Eltern gilt ganz besonderer Dank: ohne eure Geduld, euren Zuspruch und den Glauben an mich und meine Ziele hätte ich diese Arbeit nie in dieser Art und Weise schreiben können.

Schließlich möchte ich meinem Matti danken- einfach für alles.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die Dissertation selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation wurde weder vollständig noch teilweise einer anderen Fakultät vorgelegt, mit dem Ziel einen akademischen Grad zu erwerben.

Ich habe noch nie versucht, einen akademischen Grad zu erwerben, es wurde mir auch kein solcher entzogen.

Gegen mich ist kein strafrechtliches Ermittlungsverfahren oder Disziplinarverfahren eingeleitet.

Kati Werner

Würzburg, den 12.08.2008