

## Uit de laboratoriumpraktijk

### Is een betere afstemming van analyse-resultaten tussen laboratoria mogelijk? Bilirubine als model

A. J. BAKKER

In regionaal verband (regio noord, VKCN) is onderzocht of het gebruik van één en dezelfde kalibrator kan leiden tot een betere afstemming van analyse resultaten tussen de verschillende laboratoria. Vanwege de beschikbaarheid, via de SKZL, van een goede kalibrator, is hierbij gekozen voor bilirubine als model. Alle deelnemende laboratoria hebben bilirubine gekalibreerd met hun eigen methode. Daarna werden de drie bilirubinestandaarden alsmede de twee, in de regio gebruikte, controles in triplo geanalyseerd. De resultaten geven aan dat met het gebruik van hetzelfde kalibratiemateriaal de resultaten van bilirubine beter op elkaar kunnen worden afgestemd (VC = 13,7 en 11,9% vóór en 10,7 en 8,2% na herberekening op één van de bilirubinestandaarden). Daarnaast blijkt na herijking op de bilirubinestandaard in de groep laboratoria die dagelijks kalibreren de variatie tussen de laboratoria groter te zijn (7,0 resp. 4,3%), dan in de groep laboratoria die de bilirubinebepaling met een vaste factor hebben afgeregeld (3,6 resp. 1,9%). Concluderend kan worden gesteld dat de afstemming van analyse resultaten tussen laboratoria is te verbeteren en dat het werken met een vaste factor voor bilirubine is te verkiezen boven dagelijkse kalibratie.

*Trefwoorden: bilirubine; afstemming analyseresultaten; kalibratieprocedure*

Resultaten van een analytisch proces behoren vandaag-tot-dag, jaar-in- jaar-uit onderling vergelijkbaar te zijn. Deze onderlinge vergelijkbaarheid, de reproduceerbaarheid, is binnen één laboratorium heel goed te realiseren door voortdurend dezelfde wijze van standaardisatie te gebruiken en door bij elke analyse-serie kwaliteitscontrole monsters mee te nemen. Inzicht in de onderlinge vergelijkbaarheid tussen verschillende laboratoria wordt verkregen door analyse van dezelfde kwaliteitscontrolemonsters in deze laboratoria. In de jaren zeventig is deze vorm van toetsing

van de onderlinge vergelijkbaarheid van de analyse-resultaten van de verschillende klinisch-chemische laboratoria in Nederland opgezet en uitgebouwd onder de paraplu van de SKZL (Stichting Kwaliteitsbewaking Klinisch Chemische Ziekenhuis Laboratoria) (1,2). Het gevolg is dat ieder ziekenhuislaboratorium inmiddels goed inzicht heeft in de ligging van de eigen resultaten ten opzichte van die van de andere deelnemende laboratoria.

Kunnen de onderlinge resultaten nog beter op elkaar worden afgestemd? Het belang hiervan is o.a. gelegen bij laboratoriumonderzoek dat in het kader van multicenter trials wordt uitgevoerd. Voor éénduidige interpretatie van de resultaten van deze trials gaat de industrie er steeds meer toe over de analyses in één centraal laboratorium uit te laten voeren, waarbij aan de negatieve invloeden die dit heeft met betrekking tot de veelal beperkte houdbaarheid van de te analyseren componenten voorbij wordt gegaan. Door de NVKC wordt terecht geprobeerd deze trend tegen te gaan, omdat zowel de kwaliteit van de resultaten van multicenter trials als de direkt aan deze trials gerelateerde patiëntenzorg nadelig worden beïnvloed door uitstel van de analyses ten gevolge van het transport van de monsters naar een centraal laboratorium. De ontwikkeling van het Virtueel Centraal Laboratorium (VCL)(3) waarbij de resultaten van een deelnemend laboratorium genormeerd worden op basis van de onderlinge vergelijkbaarheid van de resultaten, heeft tot doel de kwaliteit van multicenter trials te verbeteren, terwijl de afname en verwerking geschiedt via de vertrouwde kanalen binnen het individuele laboratorium (geringere kans op fouten, vermindering van de pre-analytische variabiliteit, geen stabiliteitsproblemen en minder logistieke problemen). Eén van de aspecten die bij het opzetten van het VCL een belangrijke rol gaat spelen, is de vraag hoe de resultaten van de verschillende laboratoria op elkaar worden afgestemd. Hierbij spelen twee zaken een rol; enerzijds de wijze van standaardisatie en anderzijds de gehanteerde methodiek.

Om problemen met normering zoveel mogelijk te beperken lijkt het zinvol, dat laboratoria dezelfde standaarden gaan gebruiken. De concentratie van deze standaarden dient daarbij middels een geaccepteerde referentiemethode te zijn vastgesteld. In onze regio is onderzocht of het gebruik van een gezamenlijke standaard inderdaad leidt tot een betere afstemming van de resultaten. Hiervoor is bilirubine als

*Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden*

Namens de standaardisatiecommissie van de VKCN, regio Noord

Correspondentie: Dr.A.J.Bakker, Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 850, 8901 BR, Leeuwarden.  
Ingekomen: 13.10.95

**Tabel 1.** Overzicht van gebruikte apparatuur, analysemethode en wijze van standaardisatie van de bilirubine bepaling

Laboratorium	Analyzer	Methode	Wijze van kalibratie
1 routine	Cobas Mira	Jendrassik-Grof	Vaste factor
micro	PU 8800	vlg's Richerich	Vaste factor
2 routine	BM Hitachi 717	Jendrassik-Grof	BM Multikalibrator gebaseerde factor
micro	O'Hara	Spektrofotometrie	Hitachi gebaseerde factor
3 routine	BM Hitachi 717	Jendrassik-Grof	Vink standaarden gebaseerde factor
micro	Cobas Fara	Micro "Vink procedure"	Vaste factor (mol.ext.coëff.)
4	Bayer RA-1000	Evelyn Malloy	Bayer setpoint kalibratie
5	BM Hitachi 717	Jendrassik-Grof	BM Multikalibrator
6	Beckman Synchron	Evelyn Malloy	Beckman bilirubine kalibrator
7	Kodak	Modif.Jendrassik-Grof	Kodak kalibratoren
8	Merck Mega	Bilirubine DPD	Merck Qualitrol HS N
9	Hitachi 911	Bilirubine DPD	BM Multikalibrator
10	Hitachi 717	Jendrassik-Grof	BM Multikalibrator
11	Kodak	Modif.Jendrassik-Grof	Kodak kalibratoren
12	Beckman Synchron	Jendrassik-Grof	Beckman bilirubine kalibrator
14	Cobas Bio	Jendrassik-Grof	Dade Stabil gebaseerde factor
15	BM Hitachi 704	Jendrassik-Grof	Vaste factor (ingewogen standaard)
16	Beckman Synchron	Jendrassik-Grof	BM Seronorm bili gebaseerde factor

BM: Boehringer Mannheim; PU: Pye Unicam

model genomen. De keuze voor bilirubine is ingegeven door een combinatie van factoren. Enerzijds is voor bilirubine een standaard beschikbaar via de SKZL, waarvan de concentratie met een goede referentieprocedure is vastgesteld (4). Anderzijds worstelde één van de laboratoria in de regio met het probleem, dat in de SKZL combi-enquete de bilirubine bepaling altijd beneden de consensus waarde lag, ondanks schijnbaar optimale kalibratie. In het onderstaande wordt verslag gedaan van de ervaringen met dit regionale standaardisatieproject voor bilirubine.

#### LABORATORIA EN METHODEN

De laboratoria die hebben deelgenomen aan dit project staan vermeld in de appendix. In tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de door de verschillende laboratoria gehanteerde analyseprocedures (apparatuur, reagentia en wijze van standaardisatie).

#### Onderzoeksoepzet

Drie gecertificeerde bilirubine standaarden (batch 94.15) werden vanuit Winterswijk naar de deelnemende laboratoria gestuurd. De gevriesdroogde bilirubine standaarden werden volgens de bijsluiters opgelost in 2 ml aquadest en in triplo geanalyseerd samen met de twee in de regio gebruikte controles (testpoint 1 en 2 van Bayer). De resultaten werden voor nadere evaluatie ter beschikking gesteld aan de Standaardisatiecommissie van de VKCN.

#### RESULTATEN

De resultaten van de triplo's van de analyse van elk van de drie gecertificeerde standaarden werden per laboratorium gemiddeld. Voor deze gemiddelde waarden werd het regionale gemiddelde en de variatie berekend (tabel 2). Tevens werden de ratio's van de twee hoogste standaarden ten opzichte van de laagste standaard uitgerekend. Het gemiddelde van deze ra-

tio's en de variatie daarin zijn eveneens in tabel 2 vermeld. Het gemiddelde en de variatie van de beide controles voor en na herberekening op basis van elk van de drie gecertificeerde standaarden is in tabel 3 weergegeven.

Bij nadere analyse van de resultaten werd geconstateerd dat de microprocedure van één van de laboratoria een relatief grote bijdrage leverde aan de variatie. Daarom werden na verwijdering van de resultaten van de "micro"procedures de resultaten opnieuw geanalyseerd. De resultaten van deze groep, waarbij de microprocedures waren uitgesloten, werden vervolgens in twee subgroepen onderverdeeld, waarbij de wijze van kalibratie als uitgangspunt werd genomen. In de ene groep werd de bilirubine bepaling dagelijks gekalibreerd; in de andere groep werd met een vaste factor gewerkt. De uitkomsten voor de verschillende subgroepen zijn eveneens in tabel 3 opgenomen.

#### DISCUSSIE

Uit dit bilirubineproject komen verschillende dingen naar voren. Ten eerste is daar het feit dat met de gebruikelijke wijze van kalibratie (met commercieel kalibratieserum) over het geheel genomen hogere waarden voor bilirubine in de controles worden gemeten dan wanneer gebruik gemaakt wordt van de bij de SKZL verkrijgbare bilirubinestandaarden. Het ene

**Tabel 2.** Overzicht van de gemiddelden, variatiecoëfficiënten en ratio's voor de standaarden

Standaard ( $\mu\text{mol/l}$ )	gemiddeld resultaat $\pm$ standaarddeviatie ( $\mu\text{mol/l}$ )	variatiecoëfficiënt (%)
1 (97,8)	103,8 $\pm$ 5,6	5,4
2 (194,2)	207,8 $\pm$ 14,2	6,8
3 (295,1)	313,4 $\pm$ 21,4	6,8
ratio 2/1 (1,986)	2,00 $\pm$ 0,04	2,1
ratio 3/1 (3,017)	3,02 $\pm$ 0,09	2,9

**Tabel 3.** Resultaten voor twee controlesera voor en na herberekening op de SKZL standaarden in subgroepen gebaseerd op kalibratieprocedure en analysemethode

	Controle 1		Controle 2	
	$x_{\text{gem}} \pm \text{SD}$ ( $\mu\text{mol/l}$ )	VC (%)	$x_{\text{gem}} \pm \text{SD}$ ( $\mu\text{mol/l}$ )	VC (%)
Vóór herberekening	29,0 $\pm$ 4,0	13,7	73,1 $\pm$ 8,7	11,9
<i>Herberekening op</i>				
- standaard 1	27,2 $\pm$ 2,9	10,7	68,5 $\pm$ 5,6	8,2
- standaard 2	27,0 $\pm$ 3,0	11,2	68,0 $\pm$ 5,7	8,5
- standaard 3	27,2 $\pm$ 3,2	11,9	68,4 $\pm$ 6,2	9,0
<i>Herberekening op standaard 1 voor</i>				
- alle methoden	27,2 $\pm$ 2,9	10,7	68,5 $\pm$ 5,6	8,2
- Idem excl. "micro"methoden	26,3 $\pm$ 1,7	6,3	66,6 $\pm$ 2,4	3,6
"routine" methoden met kalibratie	26,8 $\pm$ 1,9	7,0	66,6 $\pm$ 2,9	4,3
"routine" methoden met vaste factor	25,6 $\pm$ 0,9	3,6	66,6 $\pm$ 1,3	1,9

laboratorium op wiens verzoek dit onderzoek mede werd gestart, bleek tezamen met drie andere laboratoria de gecertificeerde bilirubine waarden op het juiste niveau terug te vinden, terwijl de overige laboratoria, die in de SKZL enquetes beter scoorden (m.a.w. beter liggen t.o.v. de consensuswaarden), te hoge waarden vonden. Hieruit kan dan ook worden geconcludeerd dat de wijze waarop de verschillende leveranciers hun kalibratiesera van kalibratiewaarden voorzien, verbeterd kan worden.

Een tweede aspect dat opvalt, is dat het gebruik van dezelfde kalibrator de regionale variatie met ca. 20% reduceert. Bij dit onderzoek is voor de routine kalibratie gebruik gemaakt van commercieel verkrijgbare kalibratiesera (5 verschillende leveranciers!) of er is gewerkt met een vaste factor. Deze vaste factor is eveneens op uiterst diverse wijze tot stand gekomen en varieert van een factor gebaseerd op de molaire extinctiecoëfficiënt, een experimenteel vastgestelde factor met een ingewogen standaard tot een factor vastgesteld op basis van de resultaten met een commercieel kalibratieserum. Dit onderzoek heeft aangetoond dat het gebruik van dezelfde kalibrator de regionale variatie aanzienlijk kan terugdringen. Extrapolatie van deze resultaten doet de verwachting rechtvaardigen dat bij een landelijk gebruik van hetzelfde kalibratieserum de tussen-lab. variatie zal verminderen. Mogelijk kan voor de SKZL een rol weggelegd zijn bij dit verminderen van de tussen-lab variatie, bijvoorbeeld door het aanmaken van zo'n landelijk te gebruiken kalibratieserum.

Een derde aspect dat uit dit onderzoek naar voren komt, is de aanzienlijke variatie die voortvloeit uit de dagelijkse kalibratie van bilirubine. Immers de variatie in de controles voor die laboratoria die dagelijks kalibreren is in dezelfde orde van grootte als de variatie voor de gehele groep exclusief de microprocedures. De variatie is echter voor de laboratoria die met een vaste factor werken aanzienlijk kleiner (niveau ligt ca. 50% lager) dan de variatie voor de laboratoria die dagelijks kalibreren. Het gebruik van een vaste factor voor de bepaling van bilirubine is aan te raden. Samenvattend kan uit dit bilirubine onderzoek worden geconcludeerd, dat door het gebruik van het-

zelfde referentiemateriaal door alle klinisch-chemische laboratoria de resultaten beter op elkaar worden afgestemd. Daarnaast voegt een dagelijks uitgevoerde kalibratie extra variabiliteit toe aan de bepaling, m.a.w. indien het mogelijk is om bij een bepaling een vaste factor te gebruiken i.p.v. een dagelijkse kalibratie, dan heeft dit de voorkeur. Tot slot zijn de door de firma's geleverde kalibratiematerialen onvoldoende op elkaar afgestemd en niet van de juiste kalibratiewaarde voorzien. Dit laatste probleem zou ondervangen kunnen worden door landelijk via één instantie (SKZL?) referentiemateriaal beschikbaar te stellen waarvan de kalibratiewaarden zijn vastgesteld met geaccepteerde referentieprocedures. Op deze manier zijn de onderlinge verschillen tussen de laboratoria terug te dringen.

De laboratoria (klinisch chemicus) die aan dit project hebben deelgenomen zijn: APZ-Drenthe, Assen (Dr. G.J.J. Beukeveld); Wilhelmina Ziekenhuis, Assen (Drs. G.J. Douma); Delfzicht Ziekenhuis, Delfzijl (Drs. P.A.W. Wijnands); Ziekenhuis de Sionsberg, Dokkum (Drs. A.P. Anker); Ziekenhuis Nij Smellinghe, Drachten (Dr. F.J. Duisterwinkel); Scheperziekenhuis, Emmen (Dr. A. Zwart); Martini Ziekenhuis, Groningen (lokatie Van Swieten: Dr. P. Bijster; lokatie Van Ketwich Verschuur: Drs. R.F.M. Oude Elferink); Revalidatiecentrum Beatrixoord, Haren (Dr. B.G. Wolthers); Ziekenhuis Oranjeoord, Harlingen (M. Tel); Ziekenhuis de Tjongerschans, Heerenveen (Drs. C.G. Thomasson); Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden (Dr. A.J. Bakker); Antonius Ziekenhuis, Sneek (Dr. J.W.E. Visser); Ziekenhuis Refaja, Stadskanaal (Drs. J. Bootsma), Sint Lucas Ziekenhuis, Winschoten (Drs. H.A. Assink).

#### Literatuur

1. Hafkenscheid JCM, Baadenhuijsen H, Arts JWMM. Symposium kwaliteitsbewaking, nationaal en internationaal. Tijdschr NVKC 1986; 11: 97.
2. Baadenhuijsen H, Jansen RTP, Meinders AE, Thijssen JHH. Normen externe kwaliteitsbewaking: uitwerking voor combi-enquête algemene chemie. Tijdschr NVKC 1992; 17: 255-261.
3. Jansen RTP. Een lokaal laboratorium, een centraal gegeven. NVKC/FIA Symposium Multicentre trials en laboratoriumonderzoek. Amersfoort, 22 maart 1994.
4. Vink KLJ, van Dreumel RJ, Schuurman W, et al. A candidate standard for use in calibration of total bilirubin in serum. Clin Chem 1987; 38: 1817-1821.

## Summary

*Is better adjustment of analytical results between clinical laboratories achievable? Bilirubin as a model. Bakker A.J. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 62-65.*

In the northern part of the Netherlands, we investigated the possibility of achieving a better adjustment of analytical results between clinical laboratories. Since a bilirubin calibrator is available in the Netherlands through the SKZL, we choose for bilirubin as a model analyte. All participating laboratories calibrated the bilirubin assay according to their daily practice. Thereafter, they assayed the three bilirubin standards together with two QC-samples. For monitoring their daily QC, all participating laboratories used the same batch QC-material. The

results show that between laboratory CV can be improved by using the same calibrator (CV = 13.7 and 11.9% before and 10.7 and 8.2% after recalibration using one of the bilirubin calibrators). Another interesting observation is that the laboratories which calibrate their bilirubin assay daily, have a inter-laboratory CV that is considerably higher (7.0 and 4.3%) than the inter-laboratory CV for the laboratories which use a constant calibration factor instead (3.6 and 1.9%). We therefore conclude that a better adjustment for analytical results between laboratories is possible. A second conclusion is that using a fixed calibration factor for bilirubin reduces the CV in comparison to a daily calibration procedure.

*Keywords: bilirubin; adjustment of analytical results; calibration procedure*

Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 65-67

## Het syndroom van Evans: een valkuil voor celtellers

M. H. de KEIJZER, W. van der MEER, A. E. J. P. MOOREN en D. W. SWINKELS

**Hematologie-automaten werken volgens het principe van de impedantiemeting of m.b.v. lichtverstrooiing. Aan de hand van een patiëntje met het syndroom van Evans wordt geïllustreerd dat bij pathologische bloedmonsters met beide meetmethoden onjuiste uitslagen worden verkregen. Deze casus laat zien dat ook bij automatisering van de celtellingen door hematologie-analysers kennis van de beperkingen van deze apparatuur vereist is.**

*Trefwoorden: syndroom van Evans; cel-indices; celtellers; hematologie-analysers*

In het verleden werden met behulp van handmethodes het hemoglobinegehalte, de hematocriet en het aantal bloedcellen van de verschillende cellijnen bepaald. Tegenwoordig worden automatische celtellers gebruikt die naast het meten en berekenen van een aantal hematologische parameters ook in staat zijn een differentiatie van de leucocyten uit te voeren. Het principe van de moderne hematologie-automaten berust op impedantiemeting of op lichtverstrooiing, al dan niet na hydrodynamische focussing van de verschillende cellen. Door het verschil in meettechniek kunnen apparaten verschillende resultaten produceren van eenzelfde bloedmonster, zeker wanneer er sprake is van pathologische monsters. Daarnaast bestaan er apparaatgebonden opties om tot een zo juist mogelijke meting te komen.

---

*Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Academisch Ziekenhuis St. Radboud Nijmegen.*

Correspondentie: Dr M. H. de Keijzer, Academisch Ziekenhuis St. Radboud, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.  
Ingekomen: 09.09.95

Aan de hand van analyses van het bloed van een patiënt met het syndroom van Evans (combinatie van door auto-antistoffen veroorzaakte trombopenie en hemolyse) wordt geïllustreerd dat het principe van de meettechniek en apparaatgebonden opties consequenties kan hebben voor de laboratoriumpraktijk.

### Casus

Bij een jongetje werd elders op de leeftijd van 2 jaar en 8 maanden de diagnose idiopathische trombocytopenische purpura (ITP) gesteld. Na drie maanden werd tevens een anemie geconstateerd en een vergrote milt. Het patiëntje werd naar ons ziekenhuis overgeplaatst, waar vanwege de voortdurende hemolyse transfusies van erythrocyten en trombocyten noodzakelijk waren. Kruisproeven van donoreenheden packed cells met serum van het patiëntje waren echter positief. Onderzoek door het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst in Amsterdam leerde dat hier sprake was van auto-agglutinatie van de erythrocyten die persisteerde na wassen met fysiologisch zout bij 37°C. Zelfs 6 maal wassen bij 45°C bleek geen afdoende resultaat te hebben. Na behandeling van de erythrocyten met dithiothreitol (DTT; inactiverend IgM antistoffen) verdween de auto-agglutinatie wel. Vanwege de sterke auto-agglutinatie is een directe anti-globuline test niet uitgevoerd. In het serum van de patiënt werden complete warmte-antistoffen van de IgM klasse aangetoond. Bloedgroep-specificiteit kon niet worden vastgesteld en incomplete warmte-antistoffen van de IgG klasse waren niet aantoonbaar. I.v.m. de beschikbaarheid van het materiaal is geen onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van koude agglutinen en hemolysinen. Ook naar auto-antistoffen tegen trombocyten is niet gezocht. De combinatie van ITP en auto-immun hemolytische anemie door warmte-antistoffen wordt het