

Uit de laboratoriumpraktijk

Het nut van het gebruik van onafhankelijke bloedmonsters bij de kwaliteitsbewaking van bloedgasanalyse

M.J.M. KNUBBEN en R.T.P. JANSEN

De fractie COHb in monsters van externe kwaliteitsbewaking van de Combi Bloedgasenquête van de SKZL werd door ons te hoog gevonden t.o.v. de consensuswaarde van de methode. Volgens de leverancier van de ABL520 bloedgasanalysator, de firma Radiometer, waren er geen problemen gezien de juiste uitslagen van het Qualicheck-controlemonster van de firma. Vergelijking met patiëntenmonsters tussen de OSM3 en de ABL520 bevestigde onze eerdere bevindingen. Het absorptiespectrum van patiëntenmateriaal liet scherpe pieken en dalen zien, terwijl het Qualicheck-monster brede maxima en minima vertoonde. De golflengten waarbij gemeten wordt liggen net buiten de toppen hetgeen tot de gevonden afwijkingen leidde. Op ons verzoek werd de monochromator van de ABL520 door de firma opnieuw afgesteld. Daarmee verdween de eerder gevonden asafsnede. Diepgaand inzicht in meetmethoden en in het analytische proces, met inbreng vanuit de klinisch chemische beroepsgroepen, blijft onmisbaar voor het signaleren van mogelijke fouten. Ondersteuning van de firma is hierin niet altijd voldoende. Een Qualicheck-monster als controle is ongeschikt voor de controle van de meting van de hemoxymetrieparameters.

Trefwoorden: Koolmonoxide; kwaliteitsbewaking; hemoxymetrie

In ons laboratorium worden de pH bloedgassen en de verschillende Hb fracties, waaronder COHb, gemeten op de ABL520 van de firma Radiometer. Sinds 1999 zendt de SKZL in de Combi Bloedgas Enquête, naast de ampullen voor meting van pH, pCO₂ en pO₂, ook flesjes met gelyofyliseerd bloed rond voor controle van de hemoxymetrieparameters. De fractie COHb in de hemoxymetriemonsters van de Combi Bloedgas Enquête werd door ons te hoog gevonden t.o.v. de methode. Het leek een constant verschil van ca. 3 absolute procenten. De indruk bestond dat bij patiënten soms onterecht verhoogde waarden werden gevonden. De resultaten van het Qualicheck-monster van

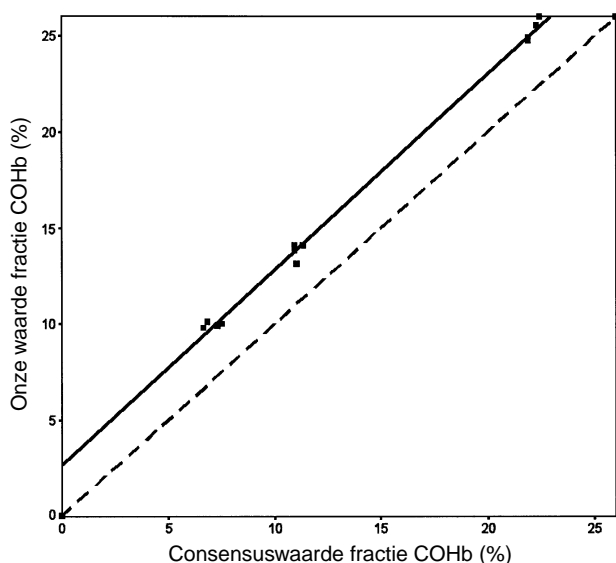
Radiometer lagen echter goed binnen de opgegeven grenzen. De firma Radiometer gaf de hemolyzerunit van het instrument als oorzaak aan. Aangezien deze unit wegens storing al enkele malen werd vervangen, zonder dat hierna een effect werd gezien op de resultaten van de COHb-meting, hechtten wij hieraan geen geloof. De argumenten van de firma dat de monsters van de rondzending zich anders zouden gedragen dan verse bloedmonsters en dat de resultaten van het Qualicheck-monster binnen de opgegeven grenzen lagen, stelden ons niet gerust over de juistheid van de meting. Ons werd aangeboden mee te doen in het Radiometer-kwaliteitsbewakingsprogramma, maar hiervoor kozen wij niet vanwege het feit dat ook hier gebruik werd gemaakt van de Qualicheck-monsters en niet van onafhankelijke bloedmonsters. Bij navraag bij andere ABL520-gebruikers bleek dat de SKZL-monsters binnen deze laboratoria waarden opleverden, die wel nagenoeg gelijk waren aan de consensuswaarden. Na uitwisseling van een bloedmonster en een SKZL-monster met een andere ABL520-gebruiker bleken wij een ca. 3 absolute procenten hogere waarde voor COHb te meten. In dit artikel beschrijven wij het onderzoek naar de oorzaak en de oplossing van dit probleem

MATERIALEN en METHODEN

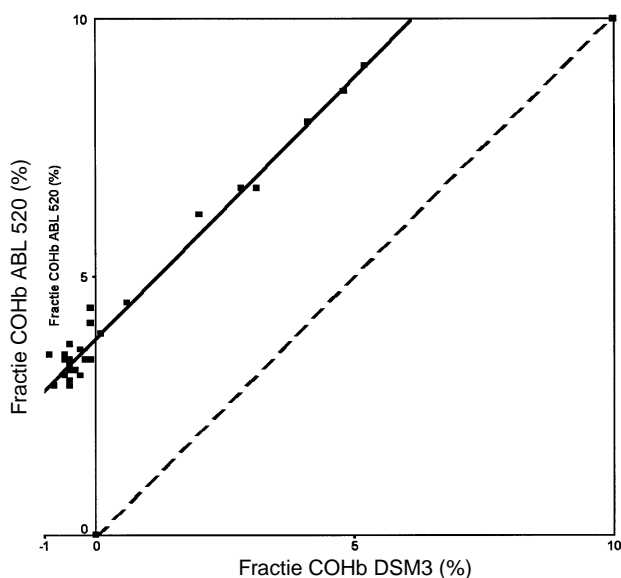
Voor de experimenten werd gebruik gemaakt van veneus EDTA-bloed en arterieel heparinebloed van willekeurige patiënten. In overleg met de firma Radiometer werd een OSM3-hemoxymeter op het laboratorium geplaatst. De gevonden waarden van de OSM3 werden vergeleken met de waarden van de ABL520. De apparatuur werd bediend volgens de instructies van de leverancier/fabrikant. De op de ABL520 gemeten fractie COHb van 12 monsters van de Combi Bloedgas Enquête 1999 werden vergeleken met de consensuswaarden. Er werd een regressievergelijking uitgevoerd volgens Passing en Bablok. Vervolgens werd van 31 verse EDTA- en heparinebloedmonsters de fractie COHb gemeten, zowel op de OSM3 als op de ABL520. De waarden werden vergeleken in een regressievergelijking volgens Passing en Bablok. Binnen ons laboratorium wordt voor de dagelijkse kwaliteitsbewaking gebruik gemaakt van de Qualicheck-monsters van Radiometer. Qualicheck level 3 bevat een mengsel van kleurstoffen om de meting van de hemoxymetrieparameters te controleren.

Klinisch laboratorium, Sint Annaziekenhuis, Geldrop

Correspondentie: M.J.M. Knubben, Klinisch Laboratorium, Sint Annaziekenhuis, Postbus 90, 5660 AB Geldrop.
e-mail: margriet.knubben@st-anna.nl
Ingekomen: 28.03.01

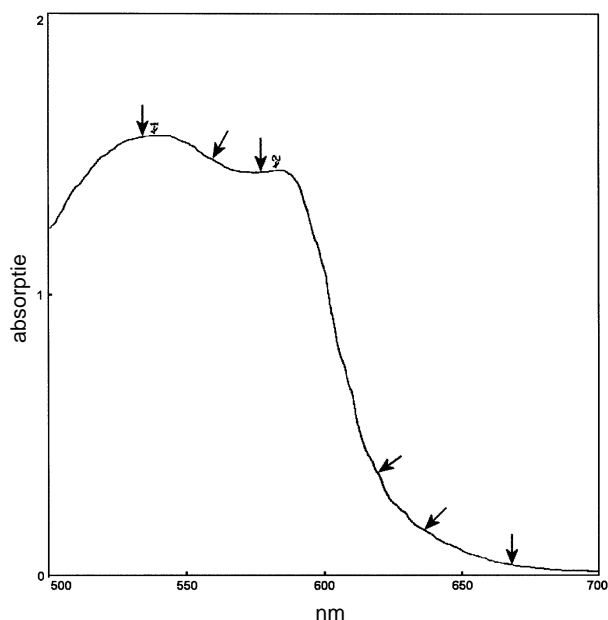


Figuur 1. Resultaten SKZL Combi Bloedgas Enquête. De op de ABL520 gemeten fractie COHb van de monsters van de Combi Bloedgas Enquête 1999 uitgezet tegen de consensuswaarden. De vergelijkende lijn volgens Passing en Bablok wordt omschreven als $y = ax + b$; y (gemeten fractie COHb) = $1,02 \times$ (consensuswaarde COHb) + 2,59; correlatiecoëfficiënt = 0,998. Asafsnede = 2,59 (95% betrouwbaarheids interval 2,27 - 3,10). Helling = 1,02 (95% betrouwbaarheidsinterval 0,99 - 1,05).



Figuur 2. Vergelijking fractie COHb OSM3 en ABL520. De vergelijkende lijn volgens Passing en Bablok wordt omschreven als $y = ax + b$; y (fractie COHb ABL520) = $1,07 \times$ (fractie COHb OSM3) + 3,04; correlatiecoëfficiënt = 0,985. Asafsnede = 3,04 (95% betrouwbaarheidsinterval 0,72 - 3,80). Helling = 1,07 (95% betrouwbaarheidsinterval 1,00 - 1,30)

Om na te gaan waar in het absorptiespectrum het Qualicheck-monster pieken vertoont, werd dit monster 40 maal verdund met gedemineraliseerd water. Van deze verdunning werd het absorptiespectrum gemeten op de UV/VIS spectrofotometer (PU8750; Philips) in een glazen cuvet bij weglengte 1,0 cm, spleetbreedte 2 nm. In de OSM3 en de ABL520 wordt gebruik gemaakt van de golflengten: 535, 560, 577, 622, 636, 670 nm. Ter vergelijking werd het ab-

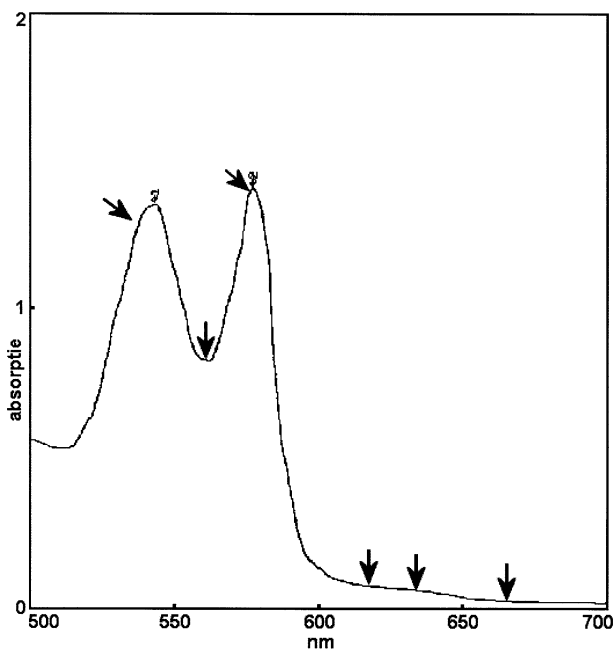


Figuur 3. Absorptiespectrum Qualicheck 3 op UV-VIS. Absorptiespectrum van het Qualicheck-monster, gemeten op de UV/VIS spectrofotometer. In het absorptiespectrum worden de golflengten, die de OSM3 en de ABL520 gebruiken aangegeven met een pijltje. De kleurstoffen in het Qualicheck-monster vertonen geen scherpe pieken bij de, voor de berekening van de hemoxymetrieparameters, gebruikte golflengten, met name bij 535 en 577 nm.

sorptiespectrum van een bloedmonster gemeten. Hiervoor werd vers EDTA-bloed gehemoliseerd door respectievelijk invriezen en ontdooien. Van het hemolysaat werd een verdunning gemaakt met gedemineraliseerd water. Na centrifugeren werd van de heldere vloeistof het absorptiespectrum gemeten op de UV/VIS-spectrofotometer, zoals hierboven beschreven.

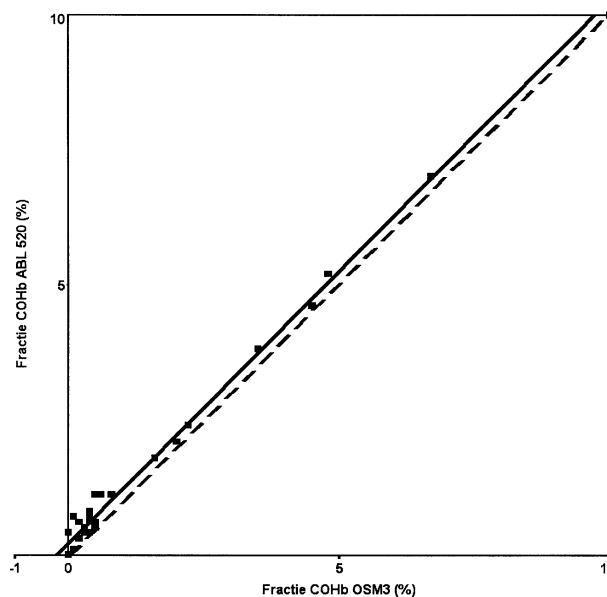
RESULTATEN EN DISCUSSIE

De op de ABL520 gemeten fracties COHb van de monsters van de Combi Bloedgas Enquête 1999 werden vergeleken met de consensuswaarden. Er werd een regressievergelijking berekend, waarbij een statistisch significante asafsnede van 2,59 absolute procenten werd gevonden (95% betrouwbaarheidsinterval 2,27 - 3,10) en een helling van 1,02 (95% betrouwbaarheidsinterval 0,99 - 1,05). De vergelijking is getoond in figuur 1. Vervolgens werd van een aantal verse EDTA- en heparinebloedmonsters de fractie COHb gemeten, zowel op de OSM3 als op de ABL520. Dit om na te gaan of onze vermoedens, dat de door de ABL520 geleverde waarden niet correct waren, te verifiëren. Na uitvoeren van een regressieanalyse werd een statistisch significante asafsnede gevonden van 3,04 absolute procenten 95% betrouwbaarheidsinterval 0,72 - 3,80) en een helling van 1,07 (95% betrouwbaarheidsinterval 1,00 - 1,30). De vergelijking is getoond in figuur 2. Ook hier werd dus een significante asafsnede gevonden. Om na te gaan waar in het absorptiespectrum het Qualicheck-monster pieken vertoont, werd het absorptiespectrum gemeten op de UV/VIS spectrofotometer. Het gevonden absorptiespectrum is afgebeeld in figuur 3. In het ab-



Figuur 4. Absorptiespectrum vers bloedmonster op UV-VIS spectrofotometer. Absorptiespectrum van gehemolyseerd volbloed. In het absorptiespectrum worden twee smalle pieken gevonden bij 542 en 576 nm. De in de OSM3 en de ABL520 gebruikte golflengten worden in het absorptiespectrum aangegeven met een pijltje.

sorptiespectrum worden twee brede pieken gevonden rond 538 en 583 nm. In de OSM3 en de ABL520 wordt gebruik gemaakt van de golflengten: 535, 560, 577, 622, 636, 670 nm. In het absorptiespectrum worden deze golflengten aangegeven met een pijltje. De kleurstoffen in het Qualicheck-monster vertonen geen pieken, maar brede plateaus bij de, voor de berekening van de hemoxymetrieparameters, gebruikte golflengten. Ter vergelijking werd het absorptiespectrum van een gehemolyseerd bloedmonster gemeten. Het gevonden absorptiespectrum is afgebeeld in figuur 4. In het absorptiespectrum worden twee smalle pieken gevonden bij 542 en 576 nm. De in de OSM3 en de ABL520 gebruikte golflengten worden in het absorptiespectrum aangegeven met een pijltje. Een aantal, voor de berekening van de hemoxymetrieparameters, gebruikte golflengten valt juist buiten de toppen en dalen van het absorptiespectrum. De in de OSM3 en de ABL520 gebruikte golflengten (tabel 1) komen niet geheel overeen met de in de literatuur gegeven optima (1,2,3). Bij 535 nm bevindt zich de piek van COHb en een stijgende flank naar de piek van OxyHb; bij 560 nm bevindt zich een dal achter de pieken van OxyHb en COHb en vóór de tweede piek van OxyHb; bij 577 nm bevindt zich een tweede piek van OxyHb; bij 622 nm een stijgende flank naar de piek van MetHb; bij 636 nm een dalende flank vanaf MetHb; bij 670 nm bevindt zich geen piek van de hemoxymetrieparameters. De invloed van een afwijking in de gekozen golflengten op de matrixberekeningen kon door ons niet gecontroleerd worden, aangezien de software van de instrumenten voor berekening van de parameters en afstelling van de monochromator voor de gebruiker niet toegankelijk is. Controle van de monochromator door de firma is



Figuur 5. Herhaling vergelijking fractie COHb ABL520 met OSM3 na opnieuw afgeregeld monochromator ABL520. De regressielijn volgens Passing en Bablok wordt omschreven als $y = ax + b$; y (fractie COHb ABL520) = $0,96 \times$ (fractie COHb OSM3) + $0,32$; correlatiecoëfficiënt = $0,993$. Asafsnede = $0,32$ (95% betrouwbaarheidsinterval $-0,20 - 1,03$). Helling = $0,96$ (95% betrouwbaarheidsinterval $0,90 - 1,00$).

weliswaar opgenomen in het servicecontract, maar wordt uitgevoerd met het Qualicheck-monster. De op de ABL520 gemeten waarden voor COHb liggen hoger dan op de OSM3. Het betreft een asafsnede van 3,04 absolute procenten. Dit versterkte het vermoeden dat dit veroorzaakt werd door een verkeerde afstelling van de monochromator. Een afwijking van enkele nanometers kan een grote invloed hebben op het resultaat van de fractie COHb. Dit wordt niet gezien aan het resultaat van het Qualicheck-monster, omdat dit, in tegenstelling tot een bloedmonster, een vlakke piek vertoont in het voor de meting van COHb relevante golflengtegebied. De servicemonteur van Radiometer heeft, in de veronderstelling dat er een probleem met de hemolyzerunit was, deze verscheidene malen gereviseerd. Op ons verzoek heeft de servicemonteur tenslotte de monochromator opnieuw afgesteld. Van 26 verse EDTA- en heparinebloedmonsters werd vervolgens de fractie COHb gemeten, zowel op de OSM3 als op de ABL520. Na uitvoeren van een regressieanalyse werd een asafsnede gevonden van 0,32 absolute procenten (95% betrouwbaar-

Tabel 1. Absorptiemaxima hemoglobinederivaten

Component	Absorptiemaxima (nm) in literatuur				
deoxyHb	429		555		
OxyHb	414	541	577		
COHb	418	537	570		
MetHb	404	500	540	578	630

In de literatuur gegeven optima in het absorptiespectrum van hemoglobinederivaten. In de OSM3 en de ABL520 wordt gebruik gemaakt van de golflengten: 535, 560, 577, 622, 636, 670 nm.

heidsinterval -0,20 - 1,03) en een helling van 0,96 (95% betrouwbaarheidsinterval 0,90 - 1,00). Bij een fractie COHb van 5% bedraagt het verschil maximaal 0,1 absoluut procent. Dit verschil wordt acceptabel gevonden. De vergelijking is uitgezet in figuur 5.

CONCLUSIE

De afwijking die gevonden werd voor de COHb-bepaling op de Radiometer ABL520 in SKZL-enquêtes was aanleiding voor het hier gepresenteerde onderzoek. De firma gaf aan dat er geen problemen waren gezien de juiste uitslagen van het Qualicheck-monster. Herhaalde servicebeurten van de hemolyzer-unit door de firma boden geen soelaas. Nadat onderzoek van ons laboratorium aantoonde dat er een probleem met de monochromator moest zijn, werd deze door de firma afgesteld. Dit resulteerde in acceptabele COHb-metingen. De door Radiometer gebruikte golflengten wijken af van de piekgolflengten die in de literatuur worden opgegeven. Door de scherpte van de pieken in bloedmonsters liggen sommige van de meetgolflengten op steile flanken. Hierdoor kunnen kleine afwijkingen in de monochromator grote gevolgen hebben voor de berekende parameters. Ondanks het feit dat er steeds meer gebruiksvriendelijke apparatuur geproduceerd wordt, waarvan men beweert dat deze voor "bedside gebruik" geschikt is, blijkt diepgaand inzicht in de meetmethoden onmisbaar voor het signaleren van mogelijke fouten. De ondersteuning van de firma is hierin niet altijd voldoende. Inzicht in het analytische proces met inbreng vanuit de klinisch chemische beroepsgroepen (klinisch chemici en analisten) is van cruciaal belang. Ook het belang van deelname aan een onafhankelijke kwaliteitsbewakingsronde kan niet voldoende onderstreept worden. Het Qualicheck-monster gedraagt

zich niet hetzelfde als een bloedmonster. Het Qualicheck-monster is daarom ongeschikt om de meting van de hemoxymetrieparameters te controleren.

Literatuur

1. Miale JB, Laboratory Medicine Hematology, 6^e ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1982.
2. Henry RJ, Donald C Cannon, James W Winkelman, Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2^e ed. Medical department Harper and Row Publishers.
3. Tietz NW, Fundamentals of Clinical Chemistry, 3^e ed. Saunders Company, Philadelphia, 1982.

Summary

The use of independent blood samples in quality control of blood gas analysis. Knubben MJM and Jansen RTP. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 186-189.

The fraction COHb in samples of the Combi Bloodgas external quality scheme was found too high in our laboratory compared with the mean values of the method. According to Radiometer, provider of the ABL520 bloodgas analyzer, there were no problems, since the values measured in the Radiometer quality control sample were correct. Comparison of patient samples between the OSM3 and the ABL520 confirmed our earlier experiences. The absorption spectrum of a patient sample showed sharp peaks and valleys, where the Qualicheck control sample showed broad minima and maxima. The wavelengths used for the measurement were just outside of the peaks, resulting in the deviations. We asked the company to adjust the monochromator of the ABL520. After this adjustment, the earlier found offset disappeared. Profound knowledge of methods of measurement remains necessary for the detection of possible errors. Support by the company is not always sufficient. Understanding by the analytical process, with contribution from the clinical chemical professionals, is of crucial importance. The Qualicheck control sample is not suitable to control the measurement of hemoxymetry parameters.

Key-words: CO; quality control; hemoxymetry