

Uit de laboratoriumpraktijk

Karakterisering van de bepaling van de bezinkingsnelheid van erythrocyten met behulp van de Test-1 van Alifax

J.D. OOSTING, V. PEL, R.GROENEVELT en P. van 't SANT

De gouden standaard voor de bepaling van de bezinkingsnelheid van erythrocyten (BSE) is de Westergren-methode (1). De laatste jaren zijn er veel (semi-) geautomatiseerde methoden ontwikkeld die allemaal in hoge mate zijn gebaseerd op deze gouden standaard. Recent is er een nieuw apparaat op de (Nederlandse) markt gekomen dat volgens een ander principe werkt, waardoor het binnen 4 minuten een BSE-uitslag geeft (2, 3). Wij hebben de prestaties van deze nieuwe Test-1 (Alifax S.P.A., Padova, Italië) onderzocht op basis van de correlatie met de Westergren-methode, de precisie, de invloed van de hematocriet en de bewaartermijn van de te analyseren monsters.

Methoden

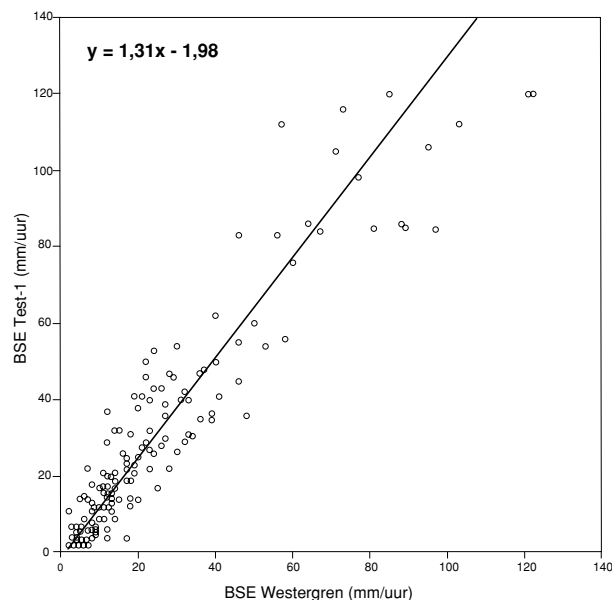
Van 166 patiënten is bloed afgenomen door middel van venapunctie in een buis met citraat (0,129 M natriumcitraat) en in een buis met EDTA (K_3EDTA) als anticoagulans. In de citraatbuis is de BSE bepaald volgens de klassieke Westergren-methode of een geautomatiseerde methode (Sedimatic, Becton Dickinson, Meylan, Frankrijk) en met de EDTA-buis is de BSE bepaald met de Test-1.

De Test-1 mengt de buizen met volbloed eerst 180 s, daarna wordt 175 μ l monster opgezogen in een capillair en vervolgens gecentrifugeerd. Tijdens centrifugatie wordt de verandering van dichtheid in de tijd fotometrisch (golflengte 950 nm) gemeten, waarbij er een directe correlatie is met de concentratie erythrocyten in de capillair. Via software wordt de curve die zo ontstaat (sedimentatiecurve, die bestaat uit 1.000 meetpunten) omgerekend naar een bezinkingsuitslag volgens Westergren. Een factor die bij deze omrekening gebruikt wordt, kan per laboratorium standaard aangepast worden zodat de resultaten met de Test-1 goed overeenkomen met de uitslagen van de gangbare methode. De capaciteit van het Test-1-systeem is 110 monsters per uur waarbij het eerste resultaat na 3,5 minuut bekend is en de volgende resultaten met intervallen van 30 s verschijnen.

Met Passing en Bablok (4, 5) is de nieuwe methode

(Test-1) vergeleken met de gouden standaard (Westergren) en met de Sedimatic. De precisie is bepaald door van monsters met vier verschillende BSE-niveaus in 10 verschillende runs de BSE te bepalen met de Test-1. De variatiecoëfficiënt is berekend op een BSE-niveau van 15, 25, 38 en 77 mm/uur. De invloed van de hematocriet is bepaald door bij 3 monsters (met een BSE-uitslag van 2, 5 en 50 mm/uur) de cellen van het plasma te scheiden en in zodanige verhoudingen te reconstitueren dat een hematocriet van 0,1; 0,2; 0,3 en 0,4 l/l ontstaat. Van deze monsters is vervolgens de BSE bepaald met de Test-1 en de Westergren-methode.

De bewaartermijn van te analyseren monsters is onderzocht door de EDTA-buizen van 23 patiënten (met een BSE tussen de 2 en 120 mm/uur) 0, 18, 24, 48 en 72 uur te bewaren bij 4 °C en vervolgens, na 30 minuten opwarming tot kamertemperatuur en menging, de BSE te bepalen met de Test-1. Met de gepaarde Student *t*-test is gekeken of er verschillen in uitkomsten tussen de bewaartermijnen aanwezig waren.



Figuur 1. Correlatie tussen Test-1 en Westergren volgens Passing en Bablok (n = 166, r = 0,94).

Klinisch-chemisch laboratorium, ziekenhuis Bernhoven, Oss-Veghel.

Resultaten

De correlatie tussen de 166 BSE-uitslagen van de Test-1- en de Westergren-methode (zie figuur 1) was volgens Passing en Bablok: Test-1 = 1,31 x Westergren - 1,98 mm/uur; correlatiecoëfficiënt 0,94 (95% betrouwbaarheidsinterval richtingscoëfficiënt: 1,21 tot 1,40 en intercept: -3,58 tot -0,18). De vergelijking van de Test-1 met de Sedimatic gaf als uitkomst: Test-1 = 1,14 x Sedimatic - 1,14 mm/uur; correlatiecoëfficiënt 0,96 (95% betrouwbaarheidsinterval richtingscoëfficiënt: 1,09 tot 1,20 en intercept: -1,60 tot -0,18).

De totale (tussenrun)variatiecoëfficiënten van de Test-1 zijn weergegeven in tabel 1.

De invloed van de hematocriet op de BSE-uitslag met de Test-1 was verwaarloosbaar. Bij een hematocriet dalend van 0,4 l/l naar 0,1 l/l steeg de BSE-uitslag met de Test-1 bij alle drie de gereconstitueerde monsters (met een BSE van 2, 5 en 50 mm/uur) minder dan 10 mm/uur. Met de Westergren-methode steeg de BSE-uitslag bij dezelfde drie gereconstitueerde monsters echter van 2 naar 58 mm/uur, van 5 naar 20 mm/uur en van 50 naar 158 mm/uur als de hematocriet van 0,4 l/l naar 0,1 l/l daalde.

Door monsters 18 uur bij 4 °C te bewaren daalde de gemiddelde BSE-uitslag met 1,14 mm/uur (3,0%): dit was niet statistisch significant ($p=0,0977$). Na 24 uur daalde de gemiddelde BSE waarde met 2,55 mm/uur (6,7%; $p=0,0149$), na 48 uur was de daling 4,77 mm/uur (12,5%; $p=0,0014$) en na 72 uur was dit 6,77 mm/uur (17,7%; $p=0,0003$). Hoewel de laatste drie dalingen statistisch significant zijn, vonden wij de bewaartijd tot 48 uur geen klinisch relevante verschillen opleveren en dus nog acceptabel.

Conclusie

De Test-1 is een apparaat waarmee zeer snel een betrouwbare BSE kan worden bepaald. De correlatie met de gouden standaard is goed. De richtingscoëfficiënt van de vergelijking kan nog worden aangepast met een in te geven factor in het apparaat. De precisie is prima en de invloed van de hematocriet is verwaarloosbaar. De Westergren-methode is per definitie wel gevoelig voor een verandering in hematocriet, maar

Tabel 1. De precisie van de Test-1-methode; de variatiecoëfficiënten (VC) zijn weergegeven op verschillende BSE-niveaus ($n=10$)

BSE (mm/uur)	15	25	38	77
VC (%)	6,8	4,2	3,3	1,6

omdat de BSE-aanvraag niet gebruikt wordt om de hematocriet te bepalen maar primair bedoeld is om een verandering in plasma-eiwitsamenstelling (veroorzaakt door ontstekingsreacties en ontspoorde antistofvorming) op te sporen is de invloed van de hematocriet hierop ongewenst.

Doordat patiëntenmonsters bij 4 °C (maximaal) 48 uur houdbaar zijn kunnen deze ook als interne kwaliteitscontrole de volgende dag opnieuw bepaald worden. Het gebruik van EDTA in plaats van citraat als anticoagulans heeft als voordeel dat er geen verdunning plaatsvindt die (pre)analytische fouten kan introduceren en dat dezelfde bloedbuis gebruikt kan worden voor zowel de routinehematologie als de bezinking.

Literatuur

1. Westergren A. Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis. *Acta Med Scand* 1921; 46: 198-203.
2. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC, Bernardi D, Stockreiter E. The TEST 1 Automated System-a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 334-340.
3. Jonge N de, Sewkaransing I, Slinger J, Rijdsdijk JJM. Erythrocyte Sedimentation Rate by the Test-1 Analyzer. *Clin Chem* 2000; 46: 881-882.
4. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part I. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 709-720.
5. Passing H, Bablok W. Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample sizes. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part II. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 431-445.