

Uit de laboratoriumpraktijk

Kalibratie 2000: de stand van zaken, de relatie met de IVD-richtlijn, de toekomst

R.T.P. JANSEN

In 1998 werd het plan Kalibratie 2000 gepresenteerd. Het beoogt de ontwikkeling van commuteerbaar kalibratie- en juistheidsverificatiemateriaal, ten behoeve van kalibratie van de medische laboratoria met behulp van de kalibratoren, en controle met behulp van de juistheidsverificatiematerialen van het bereikte effect, en van IVD-conformiteit van methodes. Een groot aantal disciplines werkt in het project samen.

Er werd een algemeen systeem ontwikkeld voor het aantonen van commuteerbaarheid, het Tweelingstudieconcept. In verschillende publicaties vanuit het Kalibratie-2000-project werd het belang van commuteerbaar materiaal voor externe kwaliteitsbewaking aangetoond. De ontwikkelde materialen zijn vooralsnog te gebruiken als nationale kalibratoren. Voor lipiden en enzymen zijn kalibratiematerialen ontwikkeld en breed in gebruik.

De IVD-richtlijn moet uiteindelijk leiden tot identieke kalibratie van laboratoria. De materialen zullen ook gebruikt worden als juistheidsverificatiematerialen en voor het toetsen van IVD-compatibiliteit. Vanuit Kalibratie 2000 is voor de enzymen een internationale pilotstudie gestart voor juistheidsverificatie van de meest gebruikte methodes.

De stand van zaken van de acht projectgroepen wordt gerapporteerd. Voor eiwitten werd een commuteerbaar materiaal ontwikkeld waaraan inmiddels doelwaarden zijn toegekend. Voor endocrinologie werden veelbelovende resultaten bereikt voor TSH. Voor humaan groeihormoon werd een nationaal harmonisatie-/kalibratiemateriaal ontwikkeld dat breed in gebruik is. Op het gebied van stolling werd effect bereikt voor factor VIII. Op het gebied van de flowcytometrie werden wisselende resultaten bereikt met stabilisatiebuffers. Voor hemocytometrie bleek verdere standaardisatie niet nodig. Een commuteerbaar controle materiaal is ontwikkeld.

Sinds de zeventiger jaren van de vorige eeuw vindt in Nederland externe kwaliteitscontrole plaats binnen de klinische chemie, het eerst voor de algemene chemie. Aanvankelijk werd van dierlijk materiaal gebruik gemaakt, zoals paarden- of runderserum, dat drooggevroren was. Later werd meer en meer gebruik ge-

maakt van op humaan materiaal gebaseerde monsters die ook drooggevroren waren. Vooral voor eiwitten, in het bijzonder voor enzymen, werd duidelijk dat dierlijk materiaal niet geschikt is, omdat de verschillende methodes weliswaar consistente maar toch verschillende waarden geven. De gevonden afwijkingen verschillen bovendien van de afwijkingen tussen de methodes die voor humane materialen gevonden worden. De laatste jaren wordt ook duidelijk dat droogvriezen de matrix van het materiaal verandert. Commuteerbaarheid is het begrip dat de vergelijkbaarheid beschrijft van kalibratie- of controle materiaal met normaal vers humaan materiaal. Tijdens het congres ter gelegenheid van het 25-jarig bestaan van de Stichting Kwaliteitsbewaking Ziekenhuis laboratoria (SKZL) in 1998, werd het plan Kalibratie 2000 gepresenteerd (1, 2). Het plan beoogt:

- de ontwikkeling van commuteerbaar kalibratie- en juistheidsverificatiemateriaal,
- kalibratie van de medische laboratoria met behulp van de kalibratoren,
- controle met behulp van de juistheidsverificatiematerialen van het bereikte effect.

Er was van meet af aan belangstelling voor het project vanuit een groot aantal stichtingen en disciplines die actief zijn op het gebied van kwaliteitsbewaking. In 1998 waren deze nog niet ondergebracht bij de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria (SKML). Een stuurgroep werd opgericht en projectgroepen op een zevental terreinen werden ingesteld. Tabel 1 bevat de samenstelling van de stuurgroep met de oude en nieuwe benamingen van de secties.

Over de algemene projectstrategie werd gepubliceerd (3, 4) en op internationale podia werd over het Kalibratie 2000 project bericht (5-8). De strategie is uniform voor alle Projectgroepen en omvat actiepunten op acht deelreinen.

- Beschrijving van de 'state of the art' voor wat betreft binnen- en tussenlaboratoriumprecisie en toelaatbare 'bias'.
- Bereiding en keuze van geschikte kandidaatmaterialen als kalibratoren voor de betreffende parameters.
- Vaststelling van commuteerbaarheid van de geselecteerde materialen met patiëntenmateriaal en tussen methodes in een zogenaamd Tweelingstudieontwerp.
- Toekenning van referentiewaarden aan de kalibratoren met behulp van referentiemethodes.

Voorzitter Stuurgroep Kalibratie 2000

Correspondentie: Dr. R.T.P. Jansen, Klinisch laboratorium, St. Annaziekenhuis, Postbus 90, 5660 AB Geldrop

- Effectmeting van het gebruik van de kalibratoren met behulp van juistheidverificatiematerialen.
- Advies over de introductie van de Kalibratie-2000-materialen.
- Identificatie van methodes met afwijkend gedrag.
- Controle van het geïntroduceerde systeem met externe kwaliteitsbewakingsprogramma's, gebruikmakend van commuteerbare juistheidverificatiematerialen.

In dit artikel wordt aandacht besteed aan

- De lessen die tot nu toe uit kalibratie 2000 getrokken kunnen worden
- De gevolgen voor de praktijkvoering van individuele laboratoria
- De positionering van Kalibratie 2000 ten opzichte van de IVD-richtlijn
- Internationale ontwikkelingen geïnitieerd vanuit Kalibratie 2000
- Korte rapportage over de stand van zaken van de verschillende projectgroepen

Resultaten

Lessen uit Kalibratie 2000

Er werd een algemeen systeem ontwikkeld voor het aantonen van commuteerbaarheid, het zogenaamde Tweelingstudieontwerp. In een tweelingstudie wisselen paren van laboratoria verse humane monsters uit met concentraties die verspreid liggen over het klinisch relevante gebied. Deze monsters worden gemeten tegelijk met kandidaat-kalibratiematerialen. Indien het resultaat van een kandidaatmateriaal op de regressielijn ligt, die door de resultaten van de verse humane monsters getrokken wordt en indien dit voor alle laboratoriumparen geldt, is commuteerbaarheid bewezen. Een publicatie in *Clinical Chemistry* beschrijft dit systeem (9).

Uit de tweelingstudies voor de lipiden en de enzymen is gebleken dat commuteerbaarheid van materialen, dat wil zeggen dat zij zich gedragen als patiëntmateriaal onafhankelijk van de gebruikte methode, essentieel is om een goede indruk te krijgen van de juistheid van een methode. Tevens bleek dat de materialen die tot op heden gebruikt worden in de SKML-rondzendingen voor de enzymen niet commuteerbaar zijn. Hierdoor lijkt de tussenlaboratoriumvariatie niet

te verbeteren voor de groep Kalibratie-2000-gekalibreerde laboratoria. Als echter materiaal rondgestuurd wordt dat bewezen wel-commuteerbaar is, dan wordt een significante verbetering van de tussenlaboratoriumvariatie gezien voor de Kalibratie-2000-groep en niet voor de overige groepen (8). In de rondzendingen van 2004 is voor de lipiden en voor de enzymen steeds het commuteerbare monster H meegezonden. Vanaf 2005 zullen alle monsters commuteerbaar zijn. Dit betekent dat te beginnen voor de algemene chemie niet langer gelyofiliseerde sucrosehoudende materialen gebruikt zullen worden, maar nog slechts bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ingevroren natieve materialen. Van de deelnemende laboratoria wordt verwacht dat zij de monsters bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ opslaan. Er zijn tegenwoordig kleine geschikte diepvriezers verkrijgbaar voor laboratoria die nu nog geen $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -faciliteit hebben. Eventueel kunnen monsters enkele dagen vóór analyse toegezonden worden, die tot analyse bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bewaard worden.

Een tweede belangrijk aspect van juistheidverificatie is de toekenning van doelwaarden aan de externe kwaliteitsbewakingsmaterialen. Tot nu toe wordt gewerkt met methodegroepconsensuswaarden. Als commuteerbaar materiaal gebruikt wordt, kan ook gewerkt worden met door referentiemethoden toegekende waarden. Voor de lipiden worden dergelijke referentiewaarden reeds getoond in de grafieken. Voor lipiden en enzymen zal toetsing ten opzichte van de referentiewaarden met ingang van 2005 gaan plaatsvinden.

Voor bepalingen waar geen referentiemethoden en referentiematerialen bestaan, zoals voor vele bindingsanalysebepalingen, wordt overwogen een keuze voor een toekenningsmethodiek te maken, zodat het ontwikkelde materiaal als 'harmonisator'-materiaal gebruikt kan worden. Dit is bijvoorbeeld gebeurd voor humaan groeihormoon.

Gevolgen voor individuele laboratoria

De in Kalibratie 2000 ontwikkelde materialen kunnen door individuele laboratoria toegepast worden als nationaal kalibratiemateriaal. In het bijzonder kunnen de materialen gebruikt worden bij onbegrepen of ongewenste 'bias'. Zodra aangetoond is dat de tussenfirmavariatie en de tussenmethodevariatie verdwenen zijn als gevolg van de inwerkingtreding van de IVD-richtlijn (zie verder), kunnen de materialen gebruikt

Tabel 1. Samenstelling stuurgroep Kalibratie 2000

Naam	Oorspronkelijke stichting	Huidige SKML-sectie
Dr. R.T.P. Jansen, voorzitter		
Dr.ir. A.W.H.M. Kuypers, secretaris		
Dr. H. Baadenhuijsen	SKZL algemene chemie	algemene chemie
Dr. A. van den Besselaar	CCKL subcommissie stolling	stolling
Dr. C.M. Boersma-Cobbaert	SKZL lipiden	algemene chemie
Dr. F. Preijers	SIHON	leukemie/lymfoomtypering
Dr. J.W. Gratama	SKMI	cellulaire immunologie
Dr. I.S. Klasen	SKMI	humorale immunologie
Dr. E.G.W.M. Lentjes	SKZL-LWBA	endocrinologie (algemeen)
Dr. M. de Metz	VHL	hematologie
Dr. H.A. Ross	SKZL-LWBA	endocrinologie (specieel)
Dr. C.W. Weykamp	SKZL-MCA	monsterbereiding

worden als juistheidsverificatiematerialen, ook weer bij onbegrepen afwijkingen.

De materialen zullen vanaf 2005 gebruikt worden als juistheidsverificatiematerialen in de externe SKML rondzendingen voor de algemene chemie. In deze programma's kan dan getoetst worden op juistheid tegen de met referentiemethoden toegekende doelwaarden. Er zullen commuteerbare monsters rondgezonden worden die concentraties hebben, verspreid over het klinisch relevante gebied, zodat ook naar concentratieafhankelijke effecten gekeken kan worden. Daarbij zal gebruik gemaakt gaan worden van intervallen berekend uit biologische variaties.

Positionering Kalibratie 2000 ten opzichte van de IVD-richtlijn

De IVD-richtlijn EC98/79/EC, die vanaf 7 december 2003 van kracht is, draagt aan het belang van Kalibratie 2000 nog bij. Over de gevolgen van de IVD-richtlijn is onlangs in dit tijdschrift gepubliceerd (10). Binnen de IVD-richtlijn wordt herleidbaarheid ('traceability') vereist voor ongeveer 80 categorie-A-bepalingen. Dat wil zeggen dat de patiëntenresultaten, die met de reagentia en kits verkregen worden, herleidbaar moeten zijn tot de resultaten verkregen met de referentiemethode en referentiematerialen. Dit moet theoretisch leiden tot uniformiteit van laboratoriumuitslagen en verdwijnen van de tussenlaboratorium-'bias'. Een internationale commissie, de Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM), moet de referentiemethoden en referentiematerialen definiëren, die nodig zijn voor het referentiesysteem dat herleidbaarheid mogelijk moet maken. Vervolgens moet de industrie zijn apparatuur en reagentia hierop kalibreren. De professie zal een systeem moeten ontwikkelen voor onafhankelijke toetsing van de juistheid van de meetresultaten. De kalibratoren van Kalibratie 2000 blijven nationaal van belang tot dergelijke referentiesystemen in de praktijk zijn geïmplementeerd. De materialen zouden in een later stadium ook geschikt gemaakt kunnen worden als 'International Secondary Reference Materials'. Hiervoor is echter overname door het Europese Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) nodig. Zolang de referentiesystemen niet geïnteriseerd noch gedefinieerd zijn door JCTLM en niet geïmplementeerd zijn zowel in referentielaboratoria als door de industrie in de analyse-instrumenten en reagenskits, zullen de tussenlaboratoriumverschillen en de tussenbatchverschillen blijven zoals ze al zolang zijn: voor vele bepalingen te groot.

Tot die tijd kunnen, althans in Nederland, de geselecteerde materialen in het kader van het Kalibratie-2000-project, ook als kalibratiematerialen worden gebruikt, zodat in ieder geval in Nederland harmonisatie van laboratoriumgegevens bereikt wordt. Vooral nog betreft dit de lipiden en de enzymen, maar er wordt verder gewerkt voor de algemene chemie en de eiwitten. Als de herleidbaarheid, die vereist wordt in de IVD-richtlijn, uiteindelijk wel is ingevoerd kunnen de Kalibratie-2000-materialen gebruikt gaan worden als juistheidsverificatiematerialen in de rondzendingen.

Hiermee kan getoetst worden of de industrie voldoet aan de eisen van de IVD-richtlijn. Mogelijk kan dit systeem in de toekomst ook gebruikt worden door andere secties. Bij onverwachte systematische afwijkingen van kits en batches reagentia kan gebruik gemaakt worden van de juistheidsverificatiematerialen om de oorzaak op het spoor te komen en hier eventueel voor te corrigeren. Uiteindelijk blijft het doorgeven van uitslagen de verantwoordelijkheid van de professie. De firma's houden verantwoordelijkheid voor de resultaten geproduceerd op basis van hun eigen kalibratoren. Mochten daar ongewenste afwijkingen in zitten naar het oordeel van de professional, dan heeft deze de verantwoordelijkheid correcties aan te brengen, bijvoorbeeld door het gebruik van factoren gebaseerd op een Kalibratie-2000-kalibrator.

Internationale profilering

Internationaal is er belangstelling voor de Kalibratie-2000-materialen. Zowel met JCTLM als met IRMM zijn contacten opgebouwd. Via de European Communities Confederation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EC4) zijn contacten gelegd voor Europese samenwerking op het gebied van juistheidsverificatie (Trueness Verification). Drie referentielaboratoria van het IFCC Network of Reference Laboratories for Serum Enzymes participeren op dit moment in een waardentoekeningsproject voor de enzympreparaten die gebruikt zullen worden als juistheidsverificatiemateriaal.

Eveneens via EC4 is een pilotstudie opgestart vanuit Kalibratie 2000, gezamenlijk met de NEQAS, organisaties in Duitsland en Italië, naar IVD-compatibiliteit en juistheidsverificatie van instrumenten en reagentia voor de enzymen. Laboratoria in de drie landen, die instrumenten van de meest gebruikte firma's hebben, worden gevraagd in de Kalibratie-2000-materialen de enzymen te meten exact volgens de specificaties van de leverancier. Als de opzet slaagt, zullen meer van dergelijke studies gestart worden in de toekomst. De NEQAS-organisatoren beschouwen het als een taak van de professie om de implementatie van de IVD-richtlijn te verifiëren.

Resultaten per Projectgroep

De projectgroepen bevinden zich in verschillende stadia van voortgang. Over de eerste resultaten is gepubliceerd (4). De ervaringen worden uitgewisseld in de stuurgroepvergaderingen die tweemaal per jaar plaatsvinden. Deze gedachtewisselingen worden als stimulerend en waardevol ervaren. Ook nu het de bedoeling is de activiteiten van Kalibratie 2000 onder te brengen bij de secties van de SKML, hebben de leden van de stuurgroep de wens geuit de stuurgroep in stand te houden om ervaringen uit te wisselen, ideeën op te doen, van elkaar te leren en elkaar te stimuleren. De leden zijn allen van mening dat het Kalibratie-2000-project onverkort van groot belang is. Inmiddels hebben enkele nog niet deelnemende secties van de SKML zich aangemeld voor deelname in de Stuurgroep Kalibratie 2000.

Projectgroep Algemene Chemie

De Projectgroep Algemene Chemie heeft zich vooral bezig gehouden met de ontwikkeling van commuteerbaar materiaal voor de kalibratie van de enzymen. Vanuit deze projectgroep is het Tweelingstudieontwerp ontwikkeld (9, 11). Er zijn twee materialen bereid, een gelyofiliseerd en een bevroren materiaal van humane oorsprong en gespiket met door recombinant DNA technieken bereide enzymen. Op verschillende congressen werd hierover bericht (12-15) en een publicatie is in voorbereiding. Intussen is in Nederland een derde van de laboratoria gekalibreerd met het Kalibratie-2000-materiaal voor enzymen. Rondzending van commuteerbaar materiaal in reguliere rondzendingen toont aan dat: de tot op heden gebruikte materialen in de rondzendingen niet-commuteerbaar zijn voor wat betreft de enzymbepalingen en dat de tussenlab-VC van de gekalibreerde laboratoria gereduceerd is tot 2-4% (16).

Op dit moment is via EC4 een samenwerking gestart met Duitsland en Italië om de materialen te targeten met IFCC-referentiemethoden en deze te gebruiken als 'Trueness Verification Material' in een internationaal EQA-project voor vaststelling van IVD-conformiteit van analyseapparatuur en reagentia voor de enzymen door geselecteerde groepen laboratoria in de drie landen.

Een volgend project van de Projectgroep is de ontwikkeling van materiaal voor een groot aantal andere algemeen chemische bepalingen in serum.

Projectgroep Lipiden

Deze projectgroep heeft op basis van het NCCLS-C37-A-protocol materiaal ontwikkeld dat bewezen commuteerbaar is voor serumlipiden en apolipoproteïnen. Hierover is o.a. in *Clinical Chemistry* gepubliceerd (16). Door rondzending in de reguliere externe kwaliteitsbewakingsronden is aangetoond dat de tot op heden gebruikte materialen onvoldoende commuteerbaar zijn (17, 18). Voor wel-commuteerbaar materiaal laten de Nederlandse laboratoria een zodanig kleine tussenlab-VC zien dat verdere kalibratie geen verbetering meer oplevert (19). De Kalibratie-2000-materialen zullen als 'Trueness Control' gebruikt worden voor het toekennen van scores in de rondzendingen. Eventueel kunnen disfunctionerende of aspecifiek metende methodes herkend en aangewezen worden als insufficiënt. Laboratoria in Nederland kunnen de Kalibratie-2000-materialen blijven gebruiken als kalibratiematerialen bij shifts of andere problemen in kits of batches van fabrikanten. De meest recente resultaten werden gepresenteerd op het Euregio-congres in Aken (19).

Projectgroep Eiwitten

In een tweelingstudie werden kandidaatmaterialen getoetst op commuteerbaarheid. Hieruit is een materiaal geselecteerd dat bewezen commuteerbaar is. Hierover is gepubliceerd (20). Met een tiental laboratoria zijn inmiddels waarden toegekend aan het Kalibratie-2000-materiaal op basis van het IRMM-referentiemateriaal CRM 470. Het materiaal is verkrijgbaar via de SKML. Een publicatie is in voorbereiding.

Projectgroep Algemene Endocrinologie

In een tweelingstudie werden kandidaatmaterialen getest. Voor TSH werden veelbelovende resultaten bereikt, maar de experimenten moeten verder uitgewerkt worden. Het eerstvolgende project betreft een aantal tumormerkstoffen, CA125, CA 19.9 en CA 15.3. Daarna zal PSA onder de loep worden genomen. Aandacht gaat ook uit naar vrij T4. Er zijn grote tussenmethodenverschillen, onder meer omdat in het ontwerp van de methode er onvoldoende voor wordt gezorgd dat de verstoring van het evenwicht tussen vrij en eiwitgebonden T4 minimaal is. Hierdoor gedragen sommige methoden zich meer als totaal- dan als vrij-T4-meting. Er zijn experimenten in voorbereiding met humane poolsera, zowel gelyofiliseerd als bevroren, waaraan door middel van standaardaditie bekende hoeveelheden T4 zijn toegevoegd.

Projectgroep Speciale Endocrinologie

Alle aandacht heeft zich gericht op humaan groeihormoon (hGH). Ook de standaardisatie van deze bepaling is van groot belang. Er is nationale harmonisatie bereikt en consensus over afkapwaarden.

Er is een kandidaat-kalibratiemateriaal bereid waaraan een waarde werd toegekend op basis van een WHO-preparaat en een referentiemethode, de 1st International Standard 88/624. Deze waarden verschillen en er zal een keuze gemaakt moeten worden. Vooralsnog wordt de WHO-waarde gehanteerd. De toegekende waarde is de consensuswaarde die in het kalibratiemateriaal verkregen werd door het hGH met 7 verschillende methoden met gebruikmaking van de internationale standaard als referentie te meten. Het gebruik van het Kalibratie-2000-materiaal leidt tot een reductie van de tussenlaboratoriumvariatie van 25% tot minder dan 10%. Een publicatie is in voorbereiding.

Projectgroep Stolling

Over de eerste resultaten werd gepubliceerd (4, 21). Over fibrinogeen, factor VIII en antitrombine zijn tweelingstudies gedaan (22). Effectmeting bij fibrinogeen was niet succesvol. Er moet nieuw materiaal komen dat eerst in de tweelingstudie getest moet worden. Effect bij factor VIII was er vooral in het lage gebied. Effectmeting van antitrombine lijkt ook reductie van de tussenlab.-VC op te leveren. De tweelingstudie wordt opnieuw uitgerekend, nu op basis van de 'state of the art'-binnenlaboratoriumstandaarddeviatie SD_{SA} . Dit wordt nu in een publicatie verwerkt. De gegevens van antitrombine moeten nog geanalyseerd worden.

Projectgroep Flowcytometrie (leukemie-/lymfoomimmunofenotypering & cellulair immunologie)

Algemeen: De meeste flowcytometrische bepalingen voor immuunfenotypering maken gebruik van 'volbloed' (niet bewerkte bloedmonsters). Dit betekent dat de kalibratoren commuteerbaar moeten zijn met volbloed. Hiervoor moeten de bloedmonsters worden gestabiliseerd. Voor het langdurig (6-12 maanden) houdbaar maken van volbloed zijn speciale technieken nodig die zijn gepatenteerd. Hierdoor is het

project afhankelijk van commerciële fabrikanten van dergelijke materialen. Voor het kortdurend (tot 1 maand) houdbaar maken van volbloed wordt nu gebruik gemaakt van commercieel verkrijgbare stabilisatiebuffers. Beide benaderingen zijn met wisselend succes toegepast.

Leukemie-/lymfoomtypering: de projectgroep heeft met 10 Europese laboratoria samengewerkt in het door de EU ('5th framework programme') ondersteunde project 'Eurostandards' om langdurig houdbare kalibratoren te genereren. Dit is slechts voor een beperkt aantal merkers gelukt. Echter, membraanexpressie van bepaalde merkers (zoals CD19, CD56) ging verloren. Ook waren bepalingen van intracellulaire merkers niet mogelijk doordat het stabilisatieproces de leukocyten impermeabel voor de typeringsreagentia maakte. Het maken van kortdurend stabiele bloedmonsters kende dezelfde problemen. Om desondanks voortgang te kunnen boeken zullen door de Stichting Immunotypering Hematologische Oncologie in Nederland (SIHON) alternatieve deelprojecten worden opgezet.

Wel is op andere terreinen voortgang geboekt. De technische richtlijnen voor leukemie-/lymfoomtypering zijn geactualiseerd op basis van de voortschrijdende techniek (3-kleurenimmunofluorescentie) en gepubliceerd op de SIHON-website: www.sihon.nl. Voor het evalueren van de juistheid van de bepalingen in het kader van het SIHON-externe-kwaliteitsbewakingsprogramma is een scoresysteem ('SIHON-score') ontwikkeld, gepubliceerd (23) en verfijnd (zie de SIHON-website). De EQA-materialen worden per overnachtkoerier verzonden naar de deelnemers om de noodzaak tot stabilisatie (zie boven) te vermijden. Lymfocytensubsets: commercieel zijn er geschikte, langdurig houdbare kalibratoren verkrijgbaar (bijv. via EQUALS [Sheffield, UK] en Streck Laboratories [Omaha, NE]). De 'state of the art'-techniek voor het bepalen van absolute aantallen lymfocyten subsets ('single-platform, dual anchor'-methode) is gedefinieerd en in workshopverband geïntroduceerd bij 55 deelnemers. De hiermee verkregen binnen- en tussenlaboratoriumspreidingen (CV resp. 5% en 10%) zijn conform internationaal beschreven resultaten en worden algemeen als acceptabel beschouwd (24). Voor kortdurende stabilisatie is de door UK NEQAS for Leukocyte Immunophenotyping (Sheffield, UK) ontwikkelde buffer 'Transfix' geschikt gebleken. Deze buffer zal door CalTag (Burlingame, CA) op de markt worden gebracht.

Lymfocytensubsets in spoelvloeistof van bronchoalveolaire lavages (BAL); hiervoor zijn langdurig houdbare kalibratoren noch vereist noch beschikbaar. Leukocytensuspensies uit BAL-vloeistof kunnen kortdurend worden gestabiliseerd m.b.v. StabilCyte-buffer (BioErgonomics [St. Paul, Minn]). Met aldus gestabiliseerde leukocytensuspensies zijn 6 externe kwaliteitsbewakingsrondes succesvol georganiseerd. In dit verband worden nu richtlijnen voor typering van lymfocyten in BAL-vloeistof geformuleerd. Momenteel wordt Transfix als alternatieve buffer onderzocht omdat StabilCyte niet langer meer verkrijgbaar is.

CD34+-hematopoïetische stamcelbepalingen: ook voor deze assay zijn geschikte, langdurig houdbare kalibratoren verkrijgbaar (bijv. via Streck Laboratories en WAK Chemie (Steinbach, D)). De 'state of the art'-techniek voor het bepalen van absolute aantallen CD34+-cellen ('single-platform ISHAGE' methode) is gedefinieerd en in workshopverband geïntroduceerd bij 40 deelnemers. De hiermee verkregen binnen- en tussenlaboratoriumspreidingen (CV resp. 5-10% en 10-15%) zijn conform internationaal beschreven resultaten en worden algemeen als acceptabel beschouwd (25). Voor kortdurende stabilisatie van monsters van bloed en afereseproducten zijn StabilCyte en Transfix geschikt gebleken.

Voor het SKML-EQA-programma wordt gebruik gemaakt van gestabiliseerde materialen, hetzij kortdurend gestabiliseerde bloed- en afereseproducten (Transfix), hetzij voor langere duur gestabiliseerde navelstrengbloedmonsters (WAK Chemie).

Het is echter wenselijk om de CD34+-celtelling met een viabiliteitsbepaling te combineren omdat de bepaling van viabele CD34+-cellen in ontdooide afereseproducten essentieel is voor de stamceltransplantatiekliniek. De bepaling van de viabiliteit is niet meer mogelijk na stabilisatie. Binnen een deelproject zal worden onderzocht of in vloeibare stikstof ingevroren referentiemateriaal van afereseproducten als kalibrator hiervoor geschikt is.

Screening voor het HLA-B27-antigeen: gebruikmakend van internationale richtlijnen (o.a. European Federation for Immunogenetics [EFI]) zijn m.b.v. verse bloedmonsters alle commercieel beschikbare reagentia geëvalueerd en aanbevelingen geformuleerd in overleg met de betrokken fabrikanten (26). Op basis van dit onderzoek is een SOP geformuleerd (27). Sinds 1995 worden verse bloedmonsters succesvol gebruikt als testmaterialen in een extern kwaliteitsbewakingsprogramma (28). De EFI-richtlijnen schrijven het gebruik van HLA-B27-positieve en -negatieve materialen als controles in elke assay voor. Dit is alleen mogelijk m.b.v. gestabiliseerde bloedmonsters. Het voor korte duur stabiliseren van bloedmonsters m.b.v. StabilCyte-buffer is niet gelukt. In een deelproject in samenwerking met UK NEQAS for Leukocyte Immunophenotyping zal binnenkort worden onderzocht of het voor lymfocytensubsetbepalingen gebruikte proces voor langdurige stabilisatie van bloedmonsters, ook voor het maken van HLA-B27-kalibratoren geschikt is.

Immunohematologie: sinds 1998 worden in het kader van EQA sera rondgestuurd voor de bepaling van allo-antistoffen tegen trombocyten en lymfocyten, en bloedmonsters voor typering van 'human platelet antigens' (HPA) op DNA-niveau. Aan de hand van dit programma worden richtlijnen ontwikkeld, alsook een scoresysteem om de juistheid van de bepalingen in dit kader vast te kunnen stellen. Als kalibratoren voor deze bepalingen kunnen sera resp. DNA worden gebruikt. De identificatie en productie van deze kalibratoren moet echter nog plaatsvinden.

Projectgroep Hemocytometrie

De Projectgroep Hemocytometrie is klaar. Over de eerste resultaten werd gepubliceerd (29). In de EQA-rondzending is men erin geslaagd bloedmonsters te stabiliseren en zodanig tijdig rond te sturen, dat deze zich volledig commuteerbaar gedragen. De tussenlab.-variatiecoëfficiënten blijken zo klein te zijn dat verdere standaardisatie niet nodig is.

Quo vadimus?

De stuurgroep Kalibratie 2000 wordt uitgebreid met vertegenwoordigers van SKML-secties die nu nog niet deelnemen. Er zijn aanmeldingen vanuit de secties Bacteriologie/mycologie en Geneesmiddelenanalyse en toxicologie. Gezien de bijdrage van Kalibratie 2000 aan nationale standaardisatie in Nederland, gezien het in werking treden van de IVD-richtlijn EC98/79/EC en gezien de oprichting van JCTLM in 2002 is het van groot belang dat Kalibratie 2000 wordt doorgezet. Om harmonisatie van laboratoriumuitslagen te bereiken in meerdere deelgebieden van de medische laboratoriumdiagnostiek zijn zowel kalibratoren als juistheidsverificatiematerialen nodig. Het is van groot belang dat ideeën en krachten gebundeld blijven in een platform als de stuurgroep Kalibratie 2000 en dat van hieruit internationale samenwerking wordt gezocht.

Literatuur

1. Jansen RTP. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1998; 23: 261-264.
2. Jansen RTP. Kalibratie 2000. SKZL: Brug naar kwaliteit. Nationaal congres kwaliteitsbewaking 25 jaar SKZL. Nijmegen, 17-18 september 1998.
3. Jansen RTP. The quest for comparability: Calibration 2000. *Accreditation and Quality Assurance* 2000; 5: 363-366.
4. Jansen RTP, Kuypers AWHM, Baadenhuijsen H, Besselaar AMHP van den, Cobbaert CM, Gratama JW, Klasen IS, Lentjes EGWM, Metz M de, Preijers FWMB, Ross HA, Steigstra H, Weykamp CW. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 153-158.
5. Jansen RTP. Toelichtingslezing Kalibratie 2000. 54e congres van de NVKC. Congrescentrum 'De Blijde Werelt' Lunteren, 11 en 12 april 2001.
6. Jansen RTP. Harmonisation in the EU. ACB/AACC Congress New approaches to Quality Control. Cambridge, 28 september 2000.
7. Jansen RTP. Calibration 2000. Labquality Days, Helsinki, 11-12 februari 2000.
8. Cobbaert CM. Enzyme standardization and lessons from Calibration 2000. *Proc ACB National Meeting* 2004; 22-23.
9. Baadenhuijsen H, Steigstra H, Cobbaert C, Kuypers A, Weykamp C, Jansen R. Commutability Assessment of Potential Reference Materials Using a Multicenter Split-Patient-Sample Between-Field-Methods (Twin-Study) Design: Study within the Framework of the Dutch Project 'Calibration 2000'. *Clin Chem* 2002; 48: 1520-1525.
10. Wielders JPM, Loeber JG, Bartels PCM. Praktische consequenties van de IVD-richtlijn voor laboratoria, kansen en beperkingen. *NTKC* 2004; 29: 209-213.
11. Baadenhuijsen H, Cobbaert C, Kuypers A, Weykamp C, Jansen R. Commutability Assessment of Candidate Calibrators Using a Split-Patient-Sample Between-Field-Laboratory Design; a modification on the NCCLS EP14-P protocol. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 108.
12. Baadenhuijsen H, Jansen RTP, Weykamp CW, Steigstra H, Kuypers AWHM. A nation-wide split patient and control sample experiment to check the commutability of control samples. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37, Suppl: S279.
13. Baadenhuijsen H, Jansen RTP, Weykamp CW, Steigstra H, Kuypers AWHM. A nation-wide split patient and control sample experiment to check the commutability of control samples. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1999; 24: 131.
14. Baadenhuijsen H, Franck PHF, Kuypers A, Weykamp C, Jansen RTP. Enzymstandaardisatie door kalibratie; een uitgebreide pilot. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 73-74.
15. Kuypers A, Baadenhuijsen H, Jansen R. Calibration 2000: EQAS produced commutable secondary calibrators for your laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39 Suppl: S1-S448, S68.
16. Cobbaert C, Weykamp C, Baadenhuijsen H, Kuypers A, Lindemans J, Jansen R. Selection, Preparation, and Characterization of Commutable Frozen Human Serum Pools as Potential Secondary Reference Materials for Lipid and Apolipoprotein Measurements: Study within the Framework of the Dutch Project 'Calibration 2000'. *Clin Chem* 2002; 48: 1526-1538.
17. Cobbaert C, Weykamp C, Lindemans J, Baadenhuijsen H. Evaluation of lipoprotein integrity in commercial and home-made NCCLS C37-P like calibrators. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 65.
18. Cobbaert C, Kuypers A, Weykamp C, Baadenhuijsen H. Ultieme lipiden en apolipoproteïne standaardisatie in Nederland binnen handbereik. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 65.
19. Cobbaert C, Baadenhuijsen H, Weykamp CW, Jansen R. The importance of commutable reference materials. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: A69 (Abstract Euregio Congress Aachen, Symposium S4).
20. Klasen IS, Kuypers A, Weykamp C, Lentjes E, Jol-van der Zijde, Backer E, Baadenhuijsen H. Calibration 2000: results of a twin study for ten serum proteins. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 68.
21. Haas FJLM, Besselaar AMHP van den, Heij-Koene AJM van der, Reijniere GLA. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 299-300.
22. Besselaar AMHP van den, Haas FJLM, Heij-Koene AJM van der. Kalibratie 2000: een tweelingstudie van kandidaat kalibratoren voor bepaling van fibrinogeen, factor VIII en antitrombine. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 110.
23. Kluin-Nelemans JC, Wering ER van, Schoot CE van der, Adriaansen HJ, Veer MB van 't, Dongen JJM van, Gratama JW, on behalf of the Dutch Cooperative Study Group on Immunophenotyping of Haematological Malignancies (SIHON). SIHONSCORE: a scoring system for external quality control of leukaemia/lymphoma immunophenotyping measuring all analytic phases of laboratory performance. *Br J Haematol* 2001; 112: 337-343.
24. Gratama JW, Kraan J, Keeney M, Granger V, Barnett D. Reduction of variation in T-cell subset enumeration between 55 laboratories using single-platform, 3- or 4-color flow cytometry based on CD45 & SSC based gating of lymphocytes. *Cytometry (Clinical Cytometry)* 2002; 50: 92-101.
25. Gratama JW, Kraan J, Keeney M, Sutherland DR, Granger V, Barnett D. Validation of the single-platform ISHAGE method for CD34+ hematopoietic stem and progenitor cell enumeration in an international multicenter study. *Cytotherapy* 2003; 5: 55-65.
26. Levering WHBM, Wind H, Sintnicolaas K, Hooijkaas H, Gratama JW. Flow cytometric HLA-B27 screening: cross-reactivity patterns of commercially available anti-HLA-B27 monoclonal antibodies with other HLA-B antigens. *Cytometry (Clinical Cytometry)* 2003; 54B: 28-38.
27. Levering WHBM, Wind H, Hooijkaas H, Sintnicolaas K, Brando B, Gratama JW. Flow cytometric screening for HLA-B27 on peripheral blood lymphocytes. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents* 2003; 17: 241-246.

28. Levering WHBM, Beemd R van den, Marvelde JG te, Beers WAM van, Hooijkaas H, Sintnicolaas K, Gratama JW. External quality assessment of flow cytometric HLA-B27 typing. *Cytometry (Communications in Clinical Cytometry)* 2000; 42: 95-105.
29. Metz M de, Berg GA van den, Duijnhoven JLP van, Berends F, Verhoef NJ, Kuijpers AWHM. Calibration 2000 project. *Hemocytometry. Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 78.

Summary

Jansen RTP. Calibration 2000: state of art, relation with IVD-guideline, future. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 49-55

In 1998 the project Calibration 2000 was presented. Its aim is the development of commutable calibration and trueness-verification materials, calibration of the Dutch medical laboratories with the calibrators, and assessment, using the trueness-verification materials, of the effect and of IVD conformity of methods. A general system was developed for assessment of commutability, the Twin study design.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 55-60

Registratie van de consulten van de klinisch chemicus: leerzaam en een 'must' ter verbetering van de dienstverlening

H.J.L.M. ULENKATE

Een specialist, huisarts of laboratoriummedewerker kan de klinisch chemicus 24 uur per dag consulteren. Het gebrek aan structuur in de consultregistratie was reden de verslaglegging te herzien. Door het ontwerp van een consultformulier werd structuur aangebracht in de registratie van de consulten waarbij de klinisch chemicus betrokken is. Bijna 1200 consulten werden geregistreerd, aanvankelijk op papier, later in elektronische vorm. De elektronische database is 'multi-user' en toegankelijk voor de klinisch chemici en de KCio. Dankzij de gestructureerde registratie ontbreken er geen essentiële gegevens meer voor een efficiënte afhandeling van de consulten. De gestructureerde elektronische consultregistratie draagt bij aan de kwaliteitsverbetering van de consultatieve dienstverlening van de klinisch chemicus en biedt de mogelijkheid tot

The progress of the eight project groups is reported. In several articles from the Calibration 2000 project the importance of using commutable materials for external quality assessment was demonstrated. The developed materials should be used as national calibrators. For lipids and serum enzymes, calibration materials were developed, which are widely in use.

The IVD directive should ultimately lead to uniform calibration of laboratories. The materials will also be used as trueness-verification materials and for assessing IVD compatibility. For the enzymes, an international-pilot study was started for trueness verification of the most widely used methods.

The results from eight project groups are reported.

A commutable material was developed for proteins, which was targeted. For endocrinology promising results were obtained for TSH. For human growth hormone a harmonisator/calibrator was developed, which is widely in use in the Netherlands. In the field of coagulation effect was achieved for Factor VIII. In the field of flowcytometry varying results were obtained using stabilisation buffers. For haemocytometry standardization is presently satisfactorily. Commutable control material was developed in this field.

kwakeitsverbetering van de opleiding van assistenten en van intercollegiale toetsing. De registratie past ook bij de richtlijnen van CCKL.

Trefwoorden: consult; registratie; dienstverlening; consulent; diagnostisch adviseur; CCKL.

De laboratoriumgeneeskunde beïnvloedt in toenemende mate klinische beslissingen. Mede daardoor verschuift de rol van de klinisch chemicus steeds meer naar die van consulent. De klinisch chemicus/arts klinische chemie of klinisch chemicus in opleiding wordt regelmatig gebeld door een arts voor overleg of advies (1). Omgekeerd belt de laboratoriumspecialist ook zelf naar de aanvragers voor overleg of om ongevraagd advies te geven (2). Daarnaast is er met het laboratoriumpersoneel contact over laboratoriumproblemen bij individuele patiënten. Onder advies wordt verstaan advies op verzoek van een behandelaar over individuele patiënten; onder ongevraagd advies wordt verstaan ongevraagd advies van de klinisch chemicus aan de behandelaar over individuele patiënten. Alle overige contacten vallen in de categorie overleg. De restricties wanneer registratie als advies niet behoort plaats te vinden zijn gehanteerd, conform artikel Doelman (1). Binnen de beroepsgroep wordt de rol van klinisch chemicus als consulent (diagnostisch adviseur) steeds vaker vermeld (2-4). Wij denken dat een gestructureerde registratie van de consulten noodzakelijk is om de taak van consulent goed te kunnen volbrengen.

Medische Laboratoria, Reinier de Graaf Groep, Delft

Correspondentie: dr. H.J.L.M. Ulenkate, Klinisch Chemicus, Medische Laboratoria, afdeling Klinische Chemie, Diagnostisch Centrum SSDZ, Reinier de Graaf Groep, Reinier de Graafweg 7, 2625 AD Delft.
E-mail: ulenkatevrienden@tiscali.nl

Afkortingen. CCKL: Coördinatie Commissie ter bevordering van de Kwaliteitsbeheersing van het Laboratoriumonderzoek op het gebied van de gezondheidszorg; CTG: College Tarieven Gezondheidszorg; DBC: Diagnose Behandel Combinatie; KC: klinisch chemicus; KCio: klinisch chemicus in opleiding; PDA: Personal Digital Assistent; RdGG: Reinier de Graaf Groep