

Kalibratie 2000 en de weerbarstige praktijk aan de hand van de LD-bepaling

H. BAADENHUIJSEN, C. M. COBBAERT en R.T.P. JANSEN

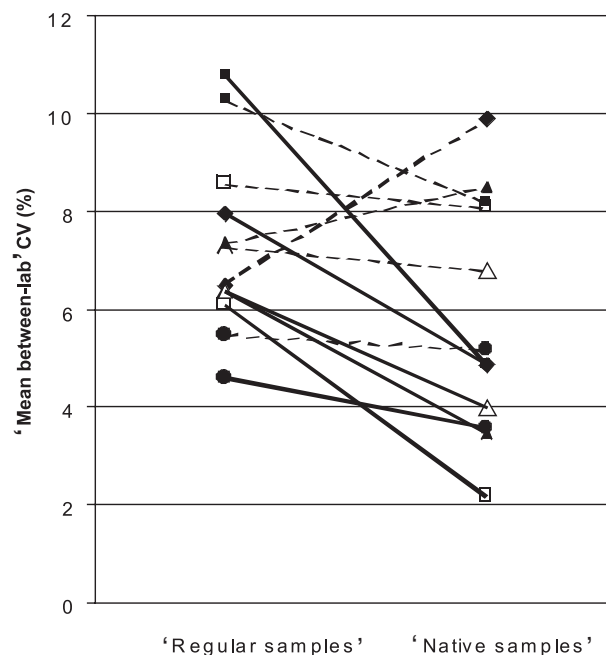
Naar aanleiding van een discussie in het kader van het project Kalibratie 2000 met één van onze collega's over de SKML-methode-indeling in de rondzending Combi Algemene Chemie voor de LD-bepaling willen we graag recente bevindingen van SKML-resultaten becommentariëren en het SKML-standpunt naar voren brengen.

De per 7 december 2005 definitief van kracht geworden Europese IVD-richtlijn 98/79EC en het in 2002 opgerichte Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM) onderstrepen de noodzaak van de herleidbaarheid van alle laboratoriumuitslagen naar zogenaamde 'JCTLM-endorsed standards of a higher order'. Daarmee moet worden bereikt dat er uniformiteit komt in de laboratoriumuitslagen en dat de tussenlaboratoriumverschillen hiermee zullen verdwijnen. Recentelijk is over de impact van de IVD-richtlijn in dit tijdschrift gepubliceerd (1). In JCTLM-verband worden de referentiemethoden en referentiematerialen gedefinieerd die nodig zijn voor het referentiesysteem dat genoemde herleidbaarheid mogelijk moet maken. De industrie moet vervolgens zijn apparatuur en reagentia hierop afijken. De professe dient daarnaast een systeem te ontwikkelen voor onafhankelijke toetsing van de geclaimde juistheid van de resultaten. Zo beschouwd is het project Kalibratie 2000 geëvolueerd van een bij de start in 1998 eigenstandig project naar een, in ieder geval -nationaal, min of meer geformaliseerd systeem van genoemde professionele toetsing. De essenties en voortgang van het project Kalibratie 2000 zijn uitvoerig in dit tijdschrift besproken door de initiator van het project, collega Jansen (2).

In 2001 werd de eerste enzymkalibrator door de SKML (destijds nog SKZL) aan de laboratoria ter beschikking gesteld. De serumbasis van het preparaat werd van de benodigde extra enzymactiviteit voorzien door toevoeging met door recombinant-DNA-technieken bereide humane enzymen. Vanwege de langetermijnhoudbaarheid en -stabiliteit werd besloten om deze kalibrator in aanwezigheid van sucrose te vriesdrogen. Voor de vaststelling van de 'referentiewaarden' in deze eerste enzymkalibrator werd gebruik gemaakt van de consensuswaarden die berekend werden uit de resultaten van alle deelnemende laboratoria toen dit preparaat als controlemateriaal was ingezet in één van de reguliere enquêterondes. Het betrof de consensuswaarden voor de IFCC- of IFCC-conforme methodes bij 37 °C. Voor de LD-bepaling, waarvoor destijds nog geen officiële IFCC-aanbeveling bestond (lactaat als substraat; boven-

grens van gezonde volwassenen: 250 U/l), werd gekozen voor de door de grote meerderheid van de laboratoria gebruikte SFBC-methode (pyruvaat als substraat; bovengrens: 450 U/l).

In de SKML-systematiek voor de methode-indeling bij de enzymen werden methodes gedefinieerd die aangeven of het insturende laboratorium resultaten instuurt op basis van kalibratie (of omrekening) op de SKML-enzymkalibrator. Doordat de rondzendmonsters tot voor 2005 weliswaar humaan, maar daarentegen wel waren gevriesdroogd, bleken de enquête-resultaten toch te wijzen op de nodige ongewenste methodespecificiteit. Hiervoor dachten we een oplossing te vinden door meerdere Kalibratie-2000-methoden te creëren, hetgeen achteraf gezien toch enigszins indruist tegen het Kalibratie-2000-principe van harmonisatie gekoppeld aan het streven naar de juistheid van resultaten. Dat de methodespecificiteit in zeer sterke mate veroorzaakt werd door de aard van het rondzendmateriaal kon worden aangetoond doordat in 2003 en 2004 naast de gevriesdroogde monsters telkens in iedere ronde ook een bevroren natief monster ter analyse werd aangeboden. In figuur 1, uit



Figuur 1. Gemiddelde tussenlaboratoriumvariatiecoëfficiënten (%) vergeleken voor reguliere gevriesdroogde rondzendmonsters en voor natieve monsters, voor zowel Kalibratie-2000-gekalibreerde als niet-Kalibratie-2000-gekalibreerde laboratoria. ◆ AP; ■ AST; ▲ ALT; □ LD; △ CK; ● GGT; - - - - 'Non-calibrated'; — 'Calibrated'

een recente publicatie (3), met de waargenomen tussenlaboratoriumvariatiecoëfficiënt in verschillende situaties, is duidelijk te zien dat het effect van Kalibratie 2000 slechts goed zichtbaar wordt als er gewerkt wordt met natieve monsters, maar slechts dan als de laboratoria gebruik maken van kalibratie (of omrekening) op de enzymkalibrator.

Dit gegeven deed ons besluiten dat met ingang van 2005 de rondzendmonsters niet langer gevriesdroogd zullen zijn, maar slechts in de vorm van bij $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ingevroren natieve materialen zullen worden aangeboden (verzending op droogijs; tussentijdse opslag bij $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ tot $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Het van kracht worden van de IVD-98/79EC-richtlijn was daarnaast de directe aanleiding om de huidige batch van de SKML-enzymkalibrator te laten voorzien van doelwaarden verkregen met de inmiddels voor 6 enzymen (ASAT, ALAT, LD, γ -GT, CK en amylase) aanwezige IFCC-referentiemethoden door 3 erkende referentielaboratoria (voor details zie het productcertificaat van de enzymkalibrator batch 2003.0114). Een Kalibratie-2000-materiaal is ook gebruikt in een internationale studie waarin de IVD-compatibiliteit werd getoetst van een aantal veel gebruikte meetsystemen. De resultaten van deze studie zijn inmiddels gepubliceerd (4).

In vergelijking met de aanvankelijk op consensuswaarden gebaseerde doelwaarden waren er geen grote verschillen voor ASAT, ALAT en CK en een verschil van 15% voor de γ -GT. Voor de LD-bepaling en voor de bepaling van amylase had dit echter consequenties van een geheel andere orde, aangezien de meest in gebruik zijnde methodes (LD: SFBC-methode¹ met pyruvaat als substraat; amylase de EPG-methode² en daarvan afgeleide technieken), met respectievelijk voor LD en amylase een bovengrens voor gezonde volwassenen van 450 U/l en 220 U/l, via de nu officiële IFCC-methoden bovengrenzen genereren van respectievelijk 250 U/l en 100 U/l.

Aangezien ook de rondzendmonsters door dezelfde drie referentielaboratoria van doelwaarden zijn voorzien, zijn de presentatie en het score-systeem, dat sinds begin 2005 in gebruik is, ook geënt op deze voor LD en amylase nieuwe referentiewaarden. Met name bij de LD-bepaling is inmiddels gebleken (stand van zaken december 2005) dat er van de groep van 45 deelnemers die als methode een Kalibratie-

2000-methode opgeven, er meer dan de helft (26) resultaten doorgeeft op een uitslagniveau dat beslist niet strookt met de (officiële IFCC-methode-)waarde die aan de enzymkalibrator 2003.0114 hangt. Het gevolg is dat de berekende consensuswaarde een mix is van juist ingestelde en onjuist ingestelde laboratoria. Deze mix is dusdanig samengesteld dat ook de uitbijterverwijderingsprocedure niet in staat is om 'goed' en 'slecht' van elkaar te onderscheiden. Omdat, zoals gezegd, de waarden met de oude SFBC- en de IFCC-methode ruwweg een factor twee verschillen, geeft de berekende consensuswaarde een zeer verkeerde indruk. Wij hebben de groep van 26 laboratoria benaderd en hen verzocht om hetzij de tot nu gekozen Kalibratie-2000-methode niet meer te gebruiken, hetzij resultaten naar de SKML op te sturen die eerst zijn omgerekend naar het IFCC-niveau.

In het productcertificaat van de huidige enzymkalibrator 2003.0114 is verantwoording afgelegd voor de keuze van de SKML-sectie Algemene Chemie om, in het licht van de toegenomen kwaliteit van de rondzendmonsters, een sterk pleidooi te voeren voor een landelijk beleid waarin de LD- en amylasebepalingen meetresultaten produceren die traceerbaar zijn naar de officiële IFCC-37°C-referentiemethoden. Uiteraard realiseren wij ons dat dit soms bestaande regionale afspraken kan doorkruisen. Toch zouden we deze regio's willen voorstellen om in onderling overleg een strategie voor de naaste of middellange toekomst te ontwikkelen, waarin een overgang naar een uitslagniveau conform de IFCC-37°C-referentiemethoden een plaats krijgt.

Literatuur

1. Wielders JPM, Loeber JG, Bartels PCM. Praktische consequenties van de IVD-richtlijn voor laboratoria, kansen en beperkingen. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2004; 29: 209-213.
2. Jansen RTP. Kalibratie 2000: De stand van zaken, de relatie met de IVD-richtlijn, de toekomst. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2005; 30: 49-55.
3. Baadenhuijsen H, Kuypers A, Weykamp C, Cobbaert C, Jansen R. External quality assessment in The Netherlands: time to introduce commutable survey specimens. Lessons from the Dutch 'Calibration 2000' project. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 304-307.
4. Jansen R, Schumann G, Baadenhuijsen H, Franck P, Franzini C, Kruse R, Kuypers A, Weykamp C, Panteghini M. Trueness verification and traceability assessment of results from commercial systems for measurement of six enzyme activities in serum. An international study in the EC4 framework of the Calibration 2000 project. *Clin Chim Acta* 2006; 368: 160-167.

¹ SFBC : Societé Française de Biologie Chimique

² EPG7 : Ethylideen geblokkeerd 4-nitrofenyl maltoheptaoside