

## Een kwaliteitsprogramma met externe rondzending voor interpretatie van laboratoriumuitslagen

W.P. OOSTERHUIS, H.J.L.M. ULENKATE, M. van der HORST, J.E. KOOTSTRA-ROS, D. van LOON, M. VOLMER en R.W. WULKAN

### Inleiding

De NVKC-werkgroep Klinische Chemometrie werkt aan het ontwikkelen van systemen voor autorisatie en automatische detectie van afwijkende combinaties van uitslagen (1, 2). Deze vormen een hulpmiddel bij de interpretatie van uitslagen en het geven van advies. In 2005 liet een enquête van de werkgroep zien, dat er tussen laboratoria veel verschillen bestaan in de wijze waarop testen werden geautoriseerd. Dit was mede aanleiding om een richtlijn op te stellen (3). Interpretatie van uitslagen en consulteren wordt wel gezien als de core-business van de klinische chemie. Grondige kwaliteitscontrole voor interpreteren en becommentariëren van testen is echter afwezig (4). Voor deelgebieden bestaan kwaliteitscontroleprogramma's gericht op interpretatie: bijvoorbeeld beenmergonderzoek en hemoglobinoopathiën. Voor het 'gewone' klinisch-chemisch onderzoek bestaat dit echter in Nederland nog niet. Al jaren werkt de ACP (Association of Clinical Pathologists) met een dergelijk programma, waarbij de hematologie echter ontbreekt.

Om een beeld te vormen van de wijze van interpreteren en becommentariëren van uitslagen is in 2007 op proef een viertal rondzendingen verzorgd.

### Methode

De rondzending bestond uit testuitslagen van vier geanonimiseerde patiënten, aangevuld met relevante klinische informatie uit het laboratorium automatiseringssysteem en het elektronisch dossier. De deelnemers (n=26) werd verzocht om: 1) de uitslagen te interpreteren en 2) advies voor vervolgdagnostiek te geven. De conclusies en opmerkingen van de deelnemers werden gerubriceerd (4). De uitslagen werden geanonimiseerd aan de deelnemers verzonden, samen met een commentaar en een voorstel voor aanvullende diagnostiek. De testpatiënten zijn hier beknopt weergegeven.

*Testpatiënt 1:* Man, 51 jaar, wordt door de huisarts voor bloedonderzoek ingestuurd. De klinische gegevens vermelden alleen 10 maal laboratoriumonderzoek sinds 2002, er zijn geen verwijzingen naar specialisten. Klinische gegevens: nuchter. Laboratoriumonderzoek (referentiewaarden): creatinine 65  $\mu\text{mol/l}$  (70-110),  $\gamma\text{-GT}$  76 U/l, (0-40), ALAT 42 U/l (0-40), triglyceriden 3,57 mmol/l (0,80-2,00), glucose 5,7 mmol/l (4,0-5,6).

*Testpatiënt 2:* Man, 17 jaar zonder relevante medische voorgeschiedenis. Aanvraag door huisarts, geen eerder bloedonderzoek bekend. Tevens is hepatitis-A-

serologie aangevraagd. Laboratoriumonderzoek: bilirubine totaal 32,4  $\mu\text{mol/l}$  (<17,0), BSE 20 mm/uur (1-15), leukocyten  $11,0 \cdot 10^9/\text{l}$  (4,0-10,0).

*Testpatiënt 3:* Vrouw, 82 jaar. Bekend met CABG en hartfalen. Aanvraag door huisarts i.v.m. evaluatie ijzerstatus cq. lichte anemie. Laboratoriumonderzoek: creatinine 92  $\mu\text{mol/l}$  (55-95), MCV 94 fl (80-100), serumijzer 3,7  $\mu\text{mol/l}$  (11,0-30,0),  $\gamma\text{-GT}$  113 U/l (0-40), NT-pro-BNP 9513 pg/ml (<450), %transf.verzadiging 5% (16-45), CRP 13 mg/l (0-12), hemoglobine 7,3 mmol/l (7,5-10,0), MCHC 18,5 mmol/l (19,3-22,5), erythrocyten  $4,18 \cdot 10^{12}/\text{l}$  (4,20-5,40), MDRD 51 ml/min (>90), ferritine 53  $\mu\text{g/l}$  (5-175).

*Testpatiënt 4:* Man, 61 jaar. Aanvraag door huisarts. Elektronisch is er niets over deze patiënt bekend. Laboratoriumonderzoek:  $\gamma\text{-GT}$  179 U/l (0-40), hemoglobine 7,6 mmol/l (8,5-11,0), MCV 61 fl (80-100). Ferritine werd nabepaald en bleek 1046  $\mu\text{g/l}$  (10-275).

### Resultaten

*Testpatiënt 1:* aantal respondenten: 4. Interpretatie [aantal malen vermeld]: alcoholmisbruik [3], dyslipidemie [1], leverlijden [1], beginnende diabetes [1]. Aanbevolen onderzoek: CDT [3], MCV [1], ASAT [1], ontbijttest [1].

*Commentaar:* Er werd vooral gedacht aan alcoholmisbruik, eenmaal werd beginnende diabetes genoemd. Hoewel beide aandoeningen gerelateerd zijn aan de aandoening van deze patiënt, werd de bedoelde aandoening door geen van de deelnemers genoemd. Deze patiënt heeft licht verhoogde leverenzymen. Het nuchtere glucose is marginaal verhoogd, evenals triglyceriden. Dit kan ontstaan door het metabool syndroom. Overgewicht leidt tot leververvetting. Hierdoor kan 'non alcoholic steato-hepatitis' (NASH) ontstaan: een lichte chronische ontsteking van de lever. Aanvullend onderzoek toonde een verhoogd ferritine (504  $\mu\text{g/l}$ ). Dit maakt deze diagnose waarschijnlijker. Bij overgewicht heeft 19% NASH, bij diabetes met obesitas 50% (5). Een echo-onderzoek van de lever kan steatose aantonen (en andere leverpathologie uitsluiten) (6).

*Voorstel commentaar:* Overgewicht? Cave niet-alcoholische steato-hepatitis bij metabool syndroom. Typisch patroon hierbij: verhoogd  $\gamma\text{-GT}$ /ALAT, triglyceriden, urinezuur en ferritine, een laag HDL, evt. combinatie met diabetes mellitus. Overweeg een echo lever.

*Testpatiënt 2:* aantal respondenten: 6. Interpretatie: syndroom van Gilbert [6], hepatitis onwaarschijnlijk

[4], mogelijk infectie/niet te beoordelen [3], medicatie/intoxicatie [1]. Aanvullend onderzoek: LD [2], haptoglobine [1], Epstein-Barr-serologie [1], onderzoek herhalen [1].

*Commentaar:* Er werd een typische patiënt met Gilbert gepresenteerd en door iedereen ook zo geïnterpreteerd. Onderzoek om hemolyse uit te sluiten werd door een minderheid genoemd: LD en haptoglobine waren beide normaal. Herhaling van het onderzoek is relevant, bilirubine is blijvend verhoogd bij Gilbert. In de literatuur is weinig te vinden over medicatie en de remming/interferentie met de conjugatie van bilirubine. De acutefasereactie gaf reden tot aanvullend commentaar. Volgens de huisarts was er een griepachtig ziektebeeld. Bilirubine kan bij Gilbert fluctueren o.i.v. infectie en stress. Hepatitisserologie was aangevraagd omdat icterische sclerae waren opgevallen. Normale leverenzymen maken hepatitis onwaarschijnlijk, de testen waren negatief. Een vermelding dat Gilbert klinisch niet relevant is, lijkt aangewezen: huisartsen verwijzen de patiënt anders soms naar een internist.

*Voorstel commentaar:* Ongeconjugeerd bilirubine verhoogd zonder afwijkende leverenzymwaarden of aanwijzing hemolyse (haptoglobine niet verlaagd, LD niet verhoogd); kan passen bij syndroom van Gilbert (aangeboren lichte conjugatiestoornis, klinisch niet relevant). Herhaal eventueel ter bevestiging dit onderzoek.

*Testpatiënt 3:* aantal respondenten: 6. Interpretatie: nierfunctiestoornis [2], functioneel ijzerebrek [1], ijzerebrek niet uit te sluiten [3], ijzerebrek waarschijnlijk [1], geen evident ijzerebrek [1], anemie chronische ziekte [3].

Aanvullend onderzoek: RDW [2], vit. B12/foliumzuur [3], reticulocyten [1], ret-Hb/ZPP [1].

*Commentaar:* Dit was een minder eenduidige anemie. De interpretaties liepen sterk uiteen, wat op zich al leerzaam is. Bij deze patiënt is eerder leverstuwung vastgesteld bij ernstig hartfalen bij atriumfibrilleren en myocardinfarct. CABG in 1993. Daarnaast heeft zij diabetes mellitus, hypertensie en eerder reflux oesofagitis. Buikklasten werden geduid als angina abdominalis. Het hemoglobine fluctueerde bij haar (het MCV ook), maar was drie maanden eerder 8,3 mmol/l. Alcoholgebruik werd niet vermeld, mogelijk is het  $\gamma$ -GT verhoogd door medicijngebruik en/of leverstuwung. Volgens de NHG-standaard 'Anemie' is er bij lage verzadiging en hoog transferrine sprake van ijzerebrek. De 'likelihood ratio' van een ferritine van 50  $\mu\text{g/l}$  voor ijzerebrek is ongeveer 0,9 (bij een ontstekingsbeeld LR=1,6) (7).

Patiënte is diabeet, daarmee is de kans op anemie bij nierfalen hoger: bij een GFR van 53 ml/min is de prevalentie van anemie ongeveer 10% (8). Anemie van chronische ziekte: het CRP is marginaal verhoogd, misschien dat alle pathologie samen bijdraagt tot 'anemie van chronische ziekte'? Gezien de eerdere refluxoesofagitis kan er sprake zijn van occult bloedverlies. Het bepalen van vit. B12/foliumzuur is te overwegen: hierdoor kan microcytose gemaskeerd zijn. Aanvullend onderzoek naar ijzerebrek is ook goed te verdedigen, al zal niet iedereen een ZPP of ret-Hb kunnen doen.

*Voorstel commentaar:* Lichte normocytair anemie met lage verzadiging en hoog-normaal transferrine. Cave ijzerebrek, deze ferritineuitslag sluit dit niet uit. De verminderde nierfunctie kan -vooral bij diabetes- een rol spelen bij het ontstaan van anemie. Herhaal eventueel dit onderzoek inclusief reticulocyten, vit. B12 en foliumzuur.

*Testpatiënt 4:* aantal respondenten: 7. Interpretatie: hemoglobinopathie/thalassemie [6], ijzerebreksanemie [3], cave coloncarcinoom [3], hemochromatose [3]. Aanvullend onderzoek: Hb-elektroforese [5], DNA op alfa-thalassemie [1], reticulocyten [2], RDW [1], transferrineverzadiging [3], LD/bilirubine [1], DNA op hemochromatose [1], CDT [1].

*Commentaar:* Deze patiënt had beta-thalassemie, opvallend genoeg zonder 'zuidelijke connecties'. Deze diagnose had bijna iedereen in overweging genomen. Historische MCV-waarden zijn belangrijk evenals het RDW en de etniciteit. Een verklaring voor het hoge ferritine lijkt lastiger. Een relatie met thalassemie werd door de deelnemers bij uitzondering gelegd (ten gevolge van ijzertherapie). Vervolgonderzoek met ijzer/verzadiging werd door een minderheid gesuggereerd: dit wordt in de nieuwe richtlijn wel aanbevolen bij verdenking hemochromatose (9). Het hoge  $\gamma$ -GT duidt op levercelverval. Alcohol of medicatie werd gesuggereerd, maar in hoeverre kan de ijzerstapelning hier zelf debet aan zijn? De ijzerverzadiging was 61%. Vanwege het hoge ferritine en verzadiging is geadviseerd om de patiënt te verwijzen. Volgens het hemochromatose-protocol is een MRI van de lever gedaan, waarbij een ernstige ijzerstapelning vastgesteld. DNA-onderzoek toonde een heterozygote H63D-mutatie. De conclusie was een secundaire hemochromatose, mogelijk lichte levertestafwijkingen door alcoholgebruik. Patiënt wordt ontijzerd met Exjade. Patiënten met een heterozygote beta-thalassemie hebben een licht verhoogde kans op ijzerstapelning. Patiënten met thalassemie en een H63D-mutatie (homozygoot) hebben een significant hoger ferritine (gemiddeld 389  $\mu\text{g/l}$ ) dan patiënten zonder deze mutatie (250  $\mu\text{g/l}$ ). Heterozygoten voor H63D hebben wel een hoger ferritine (295  $\mu\text{g/l}$ ) maar het verschil is niet significant (10).

*Voorstel commentaar:* Patiënt met thalassemie, dit verklaart de microcytaire anemie. Tevens wijzen hoge verzadiging en ferritine op ijzerstapelning. Een ferritine boven 1000  $\mu\text{g/l}$  en leverfunctiestoornissen zijn zeker een indicatie voor verder onderzoek. Advies: verwijzing naar interne geneeskunde.

## Discussie

De gemiddelde respons was 20%. Het aantal juiste interpretaties (aantal respondenten, aantal juiste interpretatie): 1. patiënt met steato-hepatitis bij metabool syndroom (n=4, 0); 2. syndroom van Gilbert (n=6, 6); 3. anemie bij mogelijk ijzerebrek en gestoorde nierfunctie (n=6, 4); 4. thalassemie en ijzerstapelning (n=7, 4). Daarmee was de juiste waarschijnlijkheidsdiagnose gemiddeld in 61% (14/23) vermeld. Er was grote variatie in de interpretatie en gegeven adviezen. De bijgeleverde klinische informatie kan hierbij van invloed zijn geweest. Er lijkt hiermee zeker ruimte voor

verbetering en het bewerkstelligen van meer eenheid in interpretatie en becommentariëring van testresultaten. De werkgroep Klinische Chemometrie wil deze rondzending in 2008 voortzetten. Hiermee kan een bijdrage worden geleverd om de consultatieve functie van de klinische chemie te versterken.

#### Referenties

1. Oosterhuis WP, Ulenkate HJLM, Goldschmidt HMJ. Evaluation of LabRespond, a new automated validation system for clinical laboratory test results. *Clin Chem* 2000, 46: 1811-1817.
2. Oosterhuis WP, Ulenkate HJLM. Structured validation of laboratory test results. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 245-248.
3. Oosterhuis WP, Ulenkate HJLM, Dongen K van, Horst M van der, Punt J, Volmer M, Wulkan RW. Richtlijn voor de procedure van het goedkeuren van laboratoriumuitslagen. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2007; 32: 243-249.
4. Vasikaran SD, Penberthy L, Gill J, Scott S, Sikaris KA. Review of a pilot quality-assessment program for interpretative comments. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 250-260.
5. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735-2752.
6. Jansen PLM. Niet-alcoholische steatohepatitis: diagnostiek, pathogenese, behandeling en prognose. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005; 149: 289-294.
7. Guyatt GH, Oxman AD, Ali M, Willan A, McIlroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *J Gen Intern Med* 1992; 7: 145-153.
8. Anonimous. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease. CPR 1.1. Identifying patients and initiating evaluation. *Am J Kidney Dis* 2006; S17-27.
9. Diagnostiek en behandeling van hereditaire hemochromatose. <http://www.nvkc.nl/kwaliteitsborging/documents/richtlijnhemochromatosedefinitief2007.pdf>
10. Melis MA, Cau M, Deidda F, Barella S, Cao A, Galanello R. H63D mutation in the HFE gene increases iron overload in beta-thalassemia carriers. *Haematologica* 2002; 87: 242-245.

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2008; 33: 194-196

## Jak2-diagnostiek: zeventien maanden later

J. PRINS<sup>1</sup>, M.A. FOURAUX<sup>1</sup>, H. KOOIJMAN<sup>1</sup> en M.D. LEVIN<sup>2</sup>

### Inleiding

In de diagnostiek van klonale myeloproliferatieve ziekten als polycythaemia vera (PV) en essentiële trombocytose (ET) neemt het vaststellen van de aanwezigheid van een verworven mutatie in het Jak2-gen (Janus-kinase-2, een tyrosinekinase) een belangrijke plaats in (1-4). Myeloproliferatieve ziekten worden gekenmerkt door een overgevoeligheid of onafhankelijkheid van de hematologische voorlopercellen voor cytokines, leidend tot een ongebreidelde proliferatie met een relatief normale maturatie van met name rode bloedcellen en trombocyten in respectievelijk PV en ET. Het klinische beeld van myeloproliferatieve ziekten wordt gekenmerkt door het optreden van zowel trombo-embolische als hemorragische complicaties, hepatosplenomegalie, klonale beenmerghyperplasie en een predispositie voor transformatie naar acute leukemie (5).

Jak2 is een tyrosinekinase dat betrokken is bij de signaaltransductie van diverse cytokinereceptoren in de hematopoëtische voorlopercellen (1-3). De bedoelde mutatie in het Jak2-gen is een G→T-mutatie in

het JH2-pseudokinasedomein (nucleotide 1849, exon 14) van het Jak2-gen, leidend tot een valine-naar-fenylalaninesubstitutie op aminozuurpositie 617 (Jak2-V617F). Deze mutatie geeft aanleiding tot een continue tyrosinekinaseactiviteit van Jak2 wat resulteert in een proliferatievoordeel voor de betreffende cellijn. De Jak2-V617F-mutatie kon niet worden aangetoond in DNA geïsoleerd uit niet-hematopoëtische weefsels, wat suggereert dat het om een somatische mutatie in de hematopoëtische voorlopercellen gaat (1).

Uit onderzoek is gebleken dat de diagnostische meerwaarde van het bepalen van de aan- of afwezigheid van de Jak2-V617F-mutatie ligt in het onderscheiden van myeloproliferatieve aandoeningen als PV (>95% Jak2-V617F mutatie positief) en ET (~50% Jak2-V617F mutatie positief) van andere oorzaken van erythrocytose of trombocytose (1-6). Tussen november 2006 en maart 2008 heeft ons laboratorium in 121 monsters de aan- of afwezigheid van de Jak2-V617F-mutatie vastgesteld bij patiënten verdacht van PV of ET. Geanalyseerd is of de aan- of afwezigheid van deze Jak2-mutatie effect heeft op meer dan één hematologische parameter in het perifere bloed van deze patiënten.

### Methoden

Van patiënten met een klinische verdenking op PV of ET werd genomisch DNA geïsoleerd uit EDTA-vol-

*Geïntegreerd Klinisch Chemisch Laboratorium<sup>1</sup>, Albert Schweitzer ziekenhuis Dordrecht & RIVAS Beatrix ziekenhuis Gorinchem; Afdeling Interne Geneeskunde<sup>2</sup>, Albert Schweitzer ziekenhuis Dordrecht*