

Posterabstracts

Samenvattingen van de posterpresentaties tijdens het 63e Congres van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde op 22 en 23 april 2010 te Veldhoven

Categorie 1 Analytisch

Fotometrie, elektrochemie, sensortechnologie

1. The performance of the platelet function analyzer is insufficient to reliably diagnose an increased bleeding tendency in children and adult patients

A. K. STROOBANTS¹, N. DORS², E. J. van den DOOL¹, E. van der NEUT¹, P. W. KAMPHUISEN³
Laboratory for General Clinical Chemistry¹, Pediatric Hematology², Vascular Medicine³, Academic Medical Centre, Amsterdam

Introduction: Despite widespread use of the Platelet Function Analyzer-100 closure time (PFA) as alternative to the bleeding time (BT) for the analysis of primary hemostasis defects, the predictive value is highly variable. This may partly be due to the lack of larger studies, especially in children. We assessed the sensitivity and specificity of the PFA and BT in a large number of patients with increased bleeding tendency due to von Willebrand disease (vWD) and other platelet function disorders (PFD). In addition, we analysed the effect of desmopressin on the PFA in these patients.

Methods: PFA and/or BT were measured in a total of 1027 patients (484 children) with increased bleeding tendency. The final diagnosis was ascertained by measurement of specific platelet function tests or clotting factor levels. We also analysed the effect of treatment with 0.3 µg/kg desmopressin on the PFA.

Results: Sensitivity and specificity of the PFA were moderate, with no clear differences between children and adults (Table). The detection of PFD with the PFA was better in children than in adults. The sensitivity of the BT was comparable to the PFA, but the specificity in children was very low. In 54 patients desmopressin treatment significantly shortened PFA except for one patient with M. Glanzmann and one with vWD.

Conclusion: Based on this large cohort, the predictive value of the PFA and BT for platelet function disorders and vWD is insufficient to screen patients with increased bleeding tendency in both children and adults. The BT had a comparable sensitivity, whereas its specificity was lower than that for PFA, especially in children. PFA seems suitable for measuring the effect of desmopressin.

2. Validation of the Precision[®] ketone test strip against determination by LC-MS/MS in the same fingerstick sample

M.J.W. JANSSEN¹, B.H.E. HENDRICKX¹, J.A. BAKKER²
Laboratory of Clinical Chemistry and Haematology¹, VieCuri Medical Center, Venlo/Venray; Department of Clinical Genetic², Laboratory of Biochemical Genetics, Maastricht University Hospital

Introduction: The Precision[®] Xceed (Abbott Diabetes Care) biosensor test strips are widely used by diabetes patients and clinical laboratories for measurement of plasma beta-hydroxybutyrate (BHB) concentrations in capillary blood samples from fingerstick. In literature this procedure has been validated only against the enzymatic determination of BHB in plasma, i.e. the method to which the Precision[®] is calibrated.

Methods: In this study the Precision[®] is validated against a methodologically different procedure: determination of BHB by LC-MS/MS in capillary blood spots. Blood spots were obtained from the same fingerstick sample out of which Precision[®] measurements were performed. Linearity was tested by adding varying amounts of standard in an EDTA venous blood matrix.

Results: The Precision[®] was in good agreement with LC-MS/MS within the measuring range 0.0-3.0 mmol/L (P&B regression: R=0.97; n=59; slope = 1.20 and no intercept). The method comparison showed non-linearity at concentrations above 3.0 mmol/L. Standard addition experiments confirmed this non-linearity for the Precision[®]. Literature and supply industry, however, report a measuring range of 0.0-8.0 which is based on only enzymatic BHB assays.

Conclusion: The Precision BHB test strip demonstrates good similarity to LC-MS/MS. The test is valid for use in the clinical relevant range (decision points: 0.6 and 1.5 mmol/L). Results above 3.0 mmol/L are not accurate.

3. Verlenging van het tijdsinterval tussen bloedafname en plasmabereiding naar 6 uur is zonder consequentie voor routine-stollingsonderzoek

M.A. KARIMAN, E.F.A. GEMEN, N.C.V. PÉQUÉRIAUX
Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, Den Bosch

Inleiding: De SKML richtlijn (1) voor het maximale tijdsinterval tussen bloedafname en plasmabereiding voor de stollingsparameters aPTT, fibrinogeen en AT-III is 4 uur bij kamertemperatuur. Bij bloedafname buiten het ziekenhuis bijvoorbeeld op een buitenprikpost of aan huis is dit niet altijd haalbaar en wordt de patiënt voor bloedafname naar het ziekenhuis verwezen. De haalbaarheid tot het uitvoeren van plasma bereiding tot maximaal 6 uur na bloedafname is onderzocht.

Methode: Bij routine bloedafname voor stollingsonderzoek (n=60) zijn volgens standaard procedure 3 extra buizen citraatbloed afgenomen. De buizen zijn tot het moment van centrifugeren in verticale positie bij kamertemperatuur bewaard. Op de tijdsintervallen 1½ uur (T1½), 4 uur (T4) en 6 uur (T6) na bloedafname, zijn direct na centrifugatie de stollingsparameters aPTT, fibrinogeen, AT-III, D-Dimeer, INR, normotest (% Hepato Quick) en PT in plasma bepaald.

Resultaat: De correlatie tussen T1½ en T6 volgens Passing&

Bablok vergelijkingsanalyse geeft de volgende resultaten: INR: $y=0,9732x+0,0089$ (range 0,87-5,33 INR), normotest: $y=1,0435x-0,2391$ (range 8-143%), aPTT: $y=1,0227x-0,2182$ (range 24,9-47,8 sec), PT: $y=1,0149x-0,2918$ (range 12,1-47,6 sec), fibrinogeen: $y=x+0,075$ (range 1,95-8,96 g/l), D-Dimeer: $y=0,9844x-0,0174$ (range 0,13-3,56 mg/l), AT III: $y=1,0909x-7,5455$ (range 56-137%).

Conclusie: De stollingsparameters aPTT, fibrinogeen en AT-III evenals de INR, normotest, PT en D-Dimeer kunnen betrouwbaar gemeten worden uit citraatbloed welke 6 uur bij kamertemperatuur bewaard is. Hierdoor kan een verlaging van tijdsdruk op het patiëntenmateriaaltransport naar het laboratorium bewerkstelligd worden. De plasmabereiding op buitenpost's kan hierdoor komen te vervallen.

Literatuur: 1. Preanalytische voorschriften voor stollingsbepalingen 2009. Sectie Stolling van de SKML.

4. Creatininebepaling via LCMS

A.M.J. KOOIJMAN-BUITING, L. LIEBREGT, H. HATZMANN, W. VERWEIJ
Saltra, Utrecht

Inleiding: Creatinine is een belangrijke marker om de nierfunctie te beoordelen. Binnen ons laboratorium zijn recentelijk twee onverklaarbaar hoge creatinine uitslagen op onze chemie-analyzer geweest, waardoor twee patiënten doorverwezen zijn naar het ziekenhuis. Bij de ene patiënt bleek dat de creatinine uitslag in het ziekenhuis normaal was, eventuele patiëntenverwisseling is uitgesloten. Ter verificatie is het oorspronkelijke serummonster in een ander laboratorium opnieuw bepaald met de HPLC referentie methode en gaf een vergelijkbare hoge uitslag. Bij de andere patiënt werd nog steeds een extreme hoge uitslag gevonden, echter iets lager dan in ons laboratorium. Binnen ons laboratorium is naar aanleiding van deze voorvallen een creatinine bepaling op de LCMS opgezet.

Methode: Aan 20 µl serum werd 1 ml MeCN:MeOH=84:16 toegevoegd en 30' in de diepvries geplaatst. Hierna werd het afgedraaid en 50 µl supernatant werd verdund met 1 ml MeCN. Hierna werd 5 µl geïnjecteerd op de kolom (VisionHT, HILIC,

50 mm x 2 mm, 1 µm) en de creatinine gemeten. Lineariteit en reproduceerbaarheid werden gemeten. De creatinewaarden van minimaal 20 patienten werdenvia LCMS en de AU 2700 (Olympus) vergeleken.

Resultaat: De lineariteit van de creatininebepaling $r^2=0,9950$ (0-2000 µmol/l) en $r^2=0,9991$ (0-500 µmol/l). Reproduceerbaarheid geeft bij een hoogte van 91 µmol/l een sd van 2,3 en een VC van 2,3%. De correlatie tussen de creatinewaarden op de LCMS en de AU 2700 is $y=0,8319x$ (ijklijn met zuivere creatinine) en $y=0,998x$ (ijklijn vanuit calibratiemateriaal Olympus).

Conclusie: De LCMS methode om creatinine te bepalen is een snelle, robuuste en gevoelige meting waarvoor weinig patiëntenmateriaal nodig is. Het is een potentieel geschikte referentie methode. Momenteel wordt de meting meegenomen als referentie methode in de regionale rondzending.

5. Een toevallige lymfocytose? Denk ook aan de monoklonale B-cellymfocytose

R.K. SCHINDHELM¹, M. van MARWIJK KOOY², J.L.L.M. COENEN², P.C. HUIJGENS³, P.A. KUIPER-KRAMER^{1,3}
Klinisch Chemisch laboratorium¹, Interne Geneeskunde², Isala klinieken, Zwolle; Hematologie³, VU medisch centrum, Amsterdam

Inleiding: De criteria voor de diagnose chronische lymfatische leukemie (CLL) zijn in 2008 aangepast waarbij het absolute aantal monoklonale B-cellen leidend is. Bij meer dan $5 \cdot 10^9$ per liter monoklonale B-cellen met het CLL-fenotype in bloed is er sprake van een CLL en bij minder wordt gesproken van een monoklonale B-cel lymfocytose (MBL). Gezien de hoge prevalentie (3-5%) en het gegeven dat deze vaak bij toeval wordt gevonden bij asymptomatische patiënten, is in samenwerking met de hematologen een diagnostisch flow-schema ontwikkeld in de diagnostiek van een toevallige lymfocytose en in het bijzonder van MBL.

Methode: In deze studie is op basis van literatuuronderzoek en consensus-meetings met de hematologen een diagnostisch flow-schema ontwikkeld voor toevallige lymfocytoses en MBL, dat toegepast kan worden in de huisartsenpraktijk.

Resultaat: Aantal lymfocyten, morfologie en immunofenotypering van de lymfocyten zijn essentieel voor het onderscheid

tussen MBL en CLL. Tevens dienen (andere) lymfatische en hematologische maligniteiten te worden uitgesloten. Bij een morfologisch monotone lymfocytenpopulatie van meer dan $4 \cdot 10^9$ per liter wordt geadviseerd nadere immunofenotypering te verrichten. Indien er sprake is van een monoklonale (geringe) lymfocytose met een andere opmaak van de B-lymfocyten dan die van CLL, is nadere diagnostiek gewenst: er zal dan mogelijk een lymfatische maligniteit anders dan MBL/CLL aanwezig zijn.

Conclusie: Het afgrenzen van MBL van CLL of van andere lymfatische maligniteiten is van klinisch belang. In het geval van een MBL kan worden volstaan met jaarlijkse controle van het aantal lymfocyten. Na een éénmalige controle door de hematoloog voor een gericht lichamenlijk ter uitsluiting van andere lymfoproliferatieve aandoeningen, kan verdere controle plaatsvinden door de huisarts. Bij een CLL zal verwijzing naar en controle door de internist-hematoloog plaatsvinden.

6. Eiwitelektroforese: vergelijk agarosegelektroforese met capillaire elektroforese

A.J. BAKKER, L. HENRARTI, T. van ABBEMA, C. ELDERMAN-van der WERF, P.M.J. MCLAUGHLIN, J.J. van ZANDEN

St. Klinisch Chemisch Laboratorium, Leeuwarden

Inleiding: Onderzoek naar de aan-/afwezigheid van een M-proteïne via agarosegelektroforese is tijdrovend door het seriematige karakter en de opeenvolging van de uitvoering van eiwitspectrum en immunofixatie. In deze studie is onderzocht of het onderzoek van het eiwitspectrum met capillaire elektroforese een betrouwbaar en sneller alternatief is voor het opsporen/uitsluiten van M-proteïnemie.

Methode: 738 opeenvolgende patiënten (inclusief 166 bekend met M-proteïne), waarbij diagnostiek voor opsporen en het vervolgen van een M-proteïne was aangevraagd, zijn geïncordeerd. In de serummonsters van deze patiënten is, naast het eiwitspectrum gevolgd door immunofixatie (conform CBO richtlijn; analyse met SPIFE (Helena)), tevens het eiwitspectrum middels capillaire elektroforese met de Capillarys 2 (Sebia) uitgevoerd.

Resultaat: Van de 572 niet-bekende patiënten werd op basis van agarosegelektroforese bij 433 geen vervolgonderzoek nodig geacht, waarbij op grond van capillaire elektroforese 8 wel vervolgonderzoek nodig hadden. In 62/139 waarbij ver-

volgonderzoek werd uitgevoerd, werden monoklonale banden aangetoond. Op basis van capillaire elektroforese werd bij 432 geen vervolgonderzoek nodig geacht, waarvan 8 op grond van agarosegelektroforese/immunofixatie, niet te kwantificeren monoclonale bandjes bevatten. In 54/140 waarbij vervolgonderzoek nodig was, werden monoklonale banden aangetoond. Van de 166 patiënten met een bekend M-proteïne was deze met agarosegelektroforese bij 8 niet meer aantoonbaar. Met capillaire elektroforese werd het M-proteïne bij 119 patiënten direct aangetoond, bij 39 was vervolgonderzoek nodig en bij 8 werd geen vervolgonderzoek nodig geacht. De vergelijking van de gemeten concentratie van het M-proteïne gaf de volgende correlatiegegevens: capillaire elektroforese = 1.01x agarosegelektroforese - 0.27; r = 0.98; n=109.

Conclusie: Met capillaire elektroforese worden duidelijk logistische voordelen (positieve monsteridentificatie, snellere verwerking, minder personele inzet) geboekt. Dit gaat samen met een beperkte afname van de sensitiviteit met name van M-proteïnes met een geringe concentratie.

7. Procalcitonine als vroege marker voor sepsis op de IC

P.M.J. MCLAUGHLIN¹, J.J. van ZANDEN¹, E.C. BOERMA², M.A. KUIPER², A.J. BAKKER¹
KCL¹, IC², MCL, Leeuwarden

Inleiding: Systemische ontsteking door ernstige infecties kan resulteren in een sepsis. De prognose is afhankelijk van vroegtijdige diagnose en subsequeante behandeling. De huidige diagnostiek bestaat uit klinische indicatoren en CRP, WBCs en een bloedkweek. CRP en WBCs zijn niet sensitief genoeg om sepsis vroegtijdig te kunnen opsporen. De bloedkweek is dit wel, maar deze is weer tijdrovend. Procalcitonine (PCT), het propeptide van calcitonine, wordt geduid als een mogelijk zeer sensitieve marker voor gram-negatieve sepsis. Het doel van dit onderzoek is om de toegevoegde waarde van procalcitonine voor diagnostiek van sepsis te bepalen voor patiënten op de IC.

Methode: Gedurende 2 maanden is aan alle CRP aanvragen van de IC een kwantitatieve procalcitoninebepaling van Brahms gekoppeld. PCT > 0,5 µg/L werd als positief beschouwd. Een positieve bloedkweek werd gezien als bewezen sepsis. Honderdtwee patiënten werden geïncordeerd waarbij 625 procalcitoninewaarden bepaald.

Resultaat: Van 25 patiënten met een PCT > 0,5 µg/L waren geen bloedkweken afgenomen. Van de resterende 16 patiënten hadden 10 een positieve bloedkweek en 6 een negatieve bloedkweek. Belangrijkste verklaring voor deze discrepantie is dat behandeling met antibiotica al was gestart voor opname op de IC. Bij vrijwel alle patiënten was er een vergelijkbare respons zichtbaar voor de PCT en CRP kinetiek. Zes patiënten hadden negatieve PCT uitslagen bij een verhoogd CRP. Bij geen van deze patiënten was de bloedkweek positief.

Conclusie: De studieopzet bleek niet optimaal: te ruimhartige aanvraag van CRP resulteerde in veel patiënten zonder bloedkweekresultaat. Toch lijkt PCT sensitiever en specifiekere dan CRP bij sepsis. PCT is echter ook verhoogd bij pancreatitis, brandwonden, traumata en maligniteiten. Een mogelijk scherper onderscheid tussen sepsis en andere oorzaken zou kunnen worden gemaakt door de drempelwaarde te verhogen.

8. Instrumentation Laboratory Gem Premier 4000: zeer hoge onderlinge correlatie bij POCT bloedgasen en elektrolyten

F.P.W. TEGELAERS

Laboratorium voor Klinische Chemie, Hematologie en Immunologie, Medisch Centrum Alkmaar

Inleiding: Het Medisch Centrum Alkmaar beschikt over de GEM Premier 4000 van Instrumentation Laboratory (IL) voor het meten van bloedgasen en elektrolyten. Inmiddels zijn 5 apparaten in gebruik, op het centraal laboratorium, op de SEH en op de ICU. Door het gebruik van multi-use cartridges waarin alle componenten (inclusief electrodes) aanwezig zijn, is het systeem volledig onderhoudsvrij. Daarnaast beschikt de apparatuur over het door IL gepatenteerde Intelligent Quality Management (iQM), een systeem voor real-time automatische en continue kwaliteitscontrole.

Methode: Bij de vrijgifte van de afzonderlijke apparaten wordt (o.a.) gebruik gemaakt van een Passing Bablok analyse van patiëntresultaten (Analyse-It). Daarbij worden de volgende parameters vergeleken: pH, pCO₂, pO₂, Na, K, Cl, Ca, lactaat, glucose, Hb en sO₂.

Resultaat: De uitkomsten van de Passing Bablok analyses tonen

een zeer hoge correlatie van de resultaten die verkregen werden met de verschillende apparaten: het 95% betrouwbaarheidsinterval omvat de asafsnede 0 en de richtingscoëfficiënt van 1,0, voor alle bepalingen, bij alle apparaten. Dit geldt ook voor de resultaten van de cooximeter, waarvan de optische meetcomponenten in de analyzer geplaatst zijn, terwijl de cuvet in de multi-use cartridge aanwezig is.

Conclusie: De combinatie van multi-use cartridges en het Intelligent Quality Management (iQM) resulteert in een uitermate stabiele werkomgeving. iQM zorgt voor continue monitoring van alle parameters; fouten worden automatisch gedetecteerd en gecorrigeerd. Afwijkingen worden gelogd. Door het gebruik van een gesloten cartridge systeem verloopt de kwaliteitscontrole volledig geautomatiseerd. Het resultaat is een uitermate robuust platform, waarvan de metingen van alle parameters volstrekt uitwisselbaar blijken met de andere apparaten op de verschillende locaties.

9. Validatie Dimension Vista 1500 (Siemens Healthcare Diagnostics)

J.J.J. HULSTEIN, H. de WAARD, P. van 'T SANT, G.C.M. KUSTERS

Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, Den Bosch

Inleiding: De Dimension Vista 1500 (Siemens) is een geheel nieuw concept dat verschillende meetmethoden in één systeem verenigt. Het systeem integreert fotometrie, nefelometrie, indirecte ISE en de nieuwe LOCI-chemiluminescentie techniek. Bovendien kan de Vista alle analyses in plasma uitvoeren. Na volledige validatie zal de Vista de huidige chemieanalysers van het Jeroen Bosch Ziekenhuis (Aeroset, Abbott en Integra 800, Roche) gaan vervangen en een groot deel van de bindingsanalyses en eiwitchemie gaan uitvoeren.

Methode: De Vista 1500 wordt gevalideerd met behulp van verschillende CLSI geaccordeerde protocollen: EP5, EP9 en EP10. Voor goedkeuring van de validatie moet een bepaling minimaal voldoen aan de door de firma gestelde testspecificaties en mag de methodevergelijking (EP9) geen klinisch relevante verschillen laten zien t.o.v. de methoden op Aeroset, Integra, Modular E170 en Immulite 2500.

Resultaat: De bepalingen voldoen in grote lijnen aan de vooropgestelde eisen. Opvallend is echter dat de bepalingen in urine veelal de limieten van de firma overschrijden. Een andere opvallende bevinding is dat de CRP-bepaling (nefelometrie) in de methodevergelijking met zowel Aeroset als Integra en knik laat zien rond 100 mg/l. Beide punten worden onderzocht door Siemens. De VC van de creatinine in plasma (Jaffé-methode) voldoet in het lage gebied (tot 100 µmol/l) niet aan de specificaties van Siemens (VC > 4,0%). Als alternatief wordt de enzymatische creatinine gevalideerd. Positief is de lage VC van de indirecte ISE voor elektrolytenmeting in plasma (Na 1,3%, Cl 1,5%, K 1,4%).

Conclusie: Uit de validatieprocedure blijkt dat de Vista over het algemeen voldoet aan de gestelde eisen. De verschillende technieken lijken goed verenigbaar binnen één systeem. Siemens verwacht in 2010 diverse aanpassingen aan het systeem, waardoor onder andere de VC zal verbeteren.

10. Interferentie van ethyleenglycolmetabolieten op de L-lactaatbepaling op diverse analysers en methodes

A. TINTU, H. RUSSCHER

Afdeling Klinische Chemie, Erasmus MC, Rotterdam

Inleiding: Intoxicaties met ethyleenglycol (antivries) komen voor bij alcoholisme, tentamen suïcide en onbedoelde inname. De lever metaboliseert ethyleenglycol naar toxische zuren die ernstige orgaanschade kunnen veroorzaken. Vanwege chemische gelijkenis met L-lactaat en door kruisreactiviteit met het enzym L-lactaatoxidase kunnen deze ethyleenglycolmetabolieten interfereren in de L-lactaatbepaling. Het niet onderkennen van deze interferentie kan van invloed zijn op de differentiaaldiagnose en het daaropvolgend klinisch beleid. Doel van dit onderzoek is om inzichtelijk te maken welke ethyleenglycolmetabolieten interferentie veroorzaken en voor welke lactaatmethodes dit geldt.

Methode: Gepooled patiëntenserum werd verdeeld in 7 aliquots, waarvan er zes werden gespiked met 12,5 mmol/L L-lactaat, ethyleenglycol, of één van de vier ethyleenglycolmetabolieten (glyoxaldehyde, glycolzuur, glyoxylzuur of oxaalzuur). Door een multicenter benadering (34 nationale onderwijsziekenhuizen) werden deze sera op 16 verschillende POCT- en chemie-

analysers van 7 verschillende firma's aangeboden voor de L-lactaatbepaling.

Resultaat: Sera gespiked met 12,5 mmol/L glyoxyl- of glycolzuur vertoonden fors vals verhoogde lactaatconcentraties op 10 verschillende POCT- en chemie-analysers. Alleen de methodes op de Dimension RxL en RapidLab 1250 (Siemens), LX-20 en DxC (Beckman Coulter), AH640 (Olympus), en de Architect C8000 (Abbott) lieten geen interferentie zien. In de sera die gespiked waren met L-lactaat werd op alle analysers een adequate concentratie gemeten.

Conclusie: Het overgrote deel van de fabrikanten biedt voor hun analysers een L-lactaatmethode aan waarbij gebruik wordt gemaakt van L-lactaatoxidase dat kruisreactiviteit vertoont met de ethyleenglycolmetabolieten glyoxylzuur en glycolzuur. Bij onverklaarbare verhoogde lactaat waardes moet de lactaatbepaling herhaald worden met een interferentie-vrije laboratoriummethode. Discrepancie tussen de twee methodes zou de diagnose ethyleenglycolintoxicatie mogelijk ondersteunen.

11. Het gebruik van HIL-indices voor het vaststellen van de invloed van hemolyse, icterie en lipemie op analyses uitgevoerd op de Architect C8000 analyser

E.C.H.J. MICHIELSEN, M. BOUR, B.H.E. HENDRICKX, J.C.J.M. SWAANENBURG

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg, Venlo/Venray

Inleiding: Bij het uitvoeren van analyses met een routine klinisch chemische analyzer dient altijd gelet te worden op een aantal aspecten van het gebruikte plasma of serum. In dit onderzoek werd de invloed van de aspecten hemolyse, icterie en lipemie op 35 klinisch chemische analyses op de Architect C8000 analyzer van Abbott onderzocht. De analyzer bepaalt automatisch de HIL-indices bij elke monster waar een analyse uit gedaan wordt.

Methode: Voor het berekenen van de invloed van hemolyse, icterie en lipemie zijn een basisoplossingen gemaakt met respectievelijk gelyseerde erythrocyten, bilirubine en intra-lipid. Ook werd een poolserum gemaakt met uitgangswaarden in het referentiegebied voor alle analyses. Hieraan werden 10 oplopende hoeveelheden van de betreffende basisoplossing en 10 aflopende hoeveelheden fysiologisch zout toegevoegd om het eindvolume identiek te houden. De hoogste concentraties hemoglobine, bilirubine en intra-lipid waren respectievelijk 0,62 mmol/l, 820 µmol/l en 48 mmol/l.

Resultaat: In het onderzochte bereik bleek hemolyse van invloed op LDH, ASAT, ALAT, gamma-GT, urinezuur, ammoniak, totaal eiwit, ijzer, kalium, bilirubine direct en magnesium. Icterie bleek van invloed op creatinine (Jaffé), ammoniak, cholesterol, gamma-GT, triglyceriden, lithium en lipase. Lipemie bleek van invloed op albumine (BCP), bilirubine totaal, bilirubine direct, calcium, ijzer, lipase, lithium, magnesium, totaal eiwit en urinezuur.

Conclusie: Het merendeel van de analyses is ongevoelig voor hemolyse, icterie en lipemie in het onderzochte bereik. Voor de wel gevoelige analyses zijn vervolgens grenzen ingesteld op basis van de betreffende index waarbij de afwijking van het poolserum groter was dan 10% (opmerking: licht afwijkende uitslag) en groter dan 20% (vervallen: geen uitslag vanwege interferentie). Voor kalium zijn de indices gebruikt waarbij de afwijking van het poolserum respectievelijk 5% en 10% bedroeg.

Hemocytometrie, flowcytometrie, hemostase

12. Evaluatie van de Left Shift 1+ vlag op de ADVIA hemocytometer

F. WEERKAMP¹, P.H. TAAL², B.A. de BOER³, namens de ADDIFVIA-werkgroep

Afdeling Klinische Chemie¹, Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam; Siemens Healthcare Diagnostics², Breda; Klinisch Chemisch Laboratorium³, Rijnland Ziekenhuis, Leiderdorp

Inleiding: De hematologie-analyzer ADVIA (Siemens) vlagt voor mogelijke milde linksverschuiving middels het Left Shift (LS) 1+ alarm. Het gevoel leeft onder ADVIA-gebruikers dat het LS1+ alarm leidt tot veel uitstrijken waarin weinig myeloïde voorlopers worden gevonden en daarmee tot een onnodig grote tijdsbelasting voor de laboratoria. In dit onderzoek werd het percentage LS1+ alarmen en aangetoonde voorlopers onderzocht.

Methode: In zes perifere ziekenhuislaboratoria werden 144.647 ADVIA-uitslagen verzameld. Hiervan had 5,3% uitsluitend een LS1+ vlag. In deze monsters werd het percentage myeloïde voorlopers microscopisch bepaald. Monsters met meer dan 5% staafkernige granulocyten werden positief genoemd. Daarnaast werden in de zes laboratoria gegevens verzameld over patiëntenpopulatie en aanvraaggedrag. De invloed van de handdijf werd onderzocht door elk laboratorium honderd foto's

van granulocyten in verschillende rijpingsstadia te laten beoordelen.

Resultaat: Gemiddeld was 16% van de monsters met een LS1+ vlag positief voor myeloïde voorlopers. Dit aantal verschilde echter sterk tussen de zes ziekenhuizen (4 tot 30% positief). Ook het aantal monsters met enkel LS1+ was wisselend (3,4 tot 7,8%). Deze verschillen waren deels te verklaren uit een verschillende beoordeling van de handdijf door de laboratoria: het aantal foto's beoordeeld als staaf wisselde tussen de 19 en 34% ($p < 0,05$). Ook lijken veel huisartsen als aanvrager, aspecifiek aanvraaggedrag en suboptimale bewaarcondities van de monsters de specificiteit van het LS1+ alarm te verlagen.

Conclusie: Op basis van dit onderzoek kan aan individuele laboratoria advies worden gegeven over optimalisatie van de behandeling van het LS1+ alarm, wat kan resulteren in een significante tijdswinst bij het diffen.

13. Bloedbijmenging in beenmerg: een onmisbare kwaliteitsparameter?

R.K. SCHINDHELM, J.K. van der MOLEN-SINKE, A.P. ABBES, P.A. KUIPER-KRAMER

Klinisch Chemisch laboratorium, Isala klinieken, Zwolle

Inleiding: De hoeveelheid bloedbijmenging bij de afname van een beenmergaspiraats beïnvloedt de zuiverheid en de uiteindelijke representativiteit van het beenmergaspiraats. Een zuiverheid van >80% wordt als wenselijk beschouwd, terwijl bij zeer lagere zuiverheden (<30%) er zo veel bloedbijmenging is dat bijvoorbeeld fenotypering van het beenmerg aspiraats niet zinvol is.

Methode: In deze studie zijn beenmergaspiraten geanalyseerd waarbij zowel het volume van het aspiraats als de zuiverheid bepaald zijn (december 2008 - december 2009). De zuiverheid (in%) van gehomogeniseerd beenmergaspiraats (1) werd bepaald met de gemodificeerde Holdrinet-factor (2). Hiermee wordt de zuiverheid van het aspiraats berekend op basis van de verhouding van de erythrocyten en de leukocyten in bloed en beenmerg. De laboratoriumanalyses zijn uitgevoerd op de Cell DYN Sapphire (Abbott).

Resultaat: In de periode december 2008 tot en met december 2009 zijn 376 beenmergaspiraten geanalyseerd. De zuiverheid

was negatief gecorreleerd met het volume van de beenmergaspiraten ($r = -0,15; P = 0,03$). Een zuiverheid van >80% werd gevonden in 267 van de 376 (71%) beenmergaspiraten, waarbij de beenmergaspiraten met een zuiverheid van >80% een significant lager volume hadden (gemiddelde [standaarddeviatie]: 5,6 [1,9] versus 6,4 [2,7] ml; $P = 0,005$). Een zuiverheid van minder dan 30% werd gevonden in 1,6% van de aspiraten. Bij een volume >4,0 ml neemt het percentage van de beenmergaspiraten dat een zuiverheid heeft van >80% significant af.

Conclusie: In de meerderheid van de beenmergaspiraten werd een zuiverheid gevonden van >80%. Het volume van beenmergaspiraten is negatief gecorreleerd met de zuiverheid. Een optimaal afnamevolume in relatie tot de zuiverheid bedraagt maximaal 4,0 ml.

Literatuur: 1. Van der Molen-Sinke JK et al. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009;34:64-65. 2. Holdrinet R et al. Exp Hematol 1980;8:103-107.

14. A new flowcytometric method for diagnosing spontaneous bacterial peritonitis: comparison with current methods

T.L. NJO¹, M. van GENT¹, G.J.M. van de GEIJN¹, M.H. BEUNIS¹, N. BOM¹, A.J.P. van TILBURG²

Department for Clinical Chemistry and Hematology¹, Department of Gastroenterology², Sint Franciscus Gasthuis, Rotterdam

Introduction: A patient suspected of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) needs prompt analysis of ascitic fluid polymorphonuclear neutrophil (PMN) cell count. PMN > 250 cells/mm³ indicates SBP, requiring immediate antibiotic therapy. The golden standard for ascitic PMN count is manual counting using a counting chamber. Since the manual golden standard can be improved analytically, we introduce a flowcytometric test. Furthermore potential faster methods such as leukocyte esterase urine strips and automatic cell counter are tested.

Methods: EDTA-anticoagulated, ascitic samples (n=53) from 38 patients were studied. PMN, lymphocytes, eosinophils, macrophages, monocytes, erythrocytes and non-hematological cells were defined in the flowcytometric assay using CD15-FITC, CD235-FITC, HLA-DR-PE, CD16-ECD and CD45-

PC5. Flowcount beads were added before measurement on a FC500 flowcytometer (Beckman-Coulter). Automated leukocyte counting and differentiation was performed with a LH750 (Beckman-Coulter). For manual counting a cytospin was stained. The Combur2 (Roche) and UrifletS (Menarini) urine strips were tested in parallel.

Results: The linearity, duplicability, reproducibility and detection limit of the flowcytometric assay demonstrated its suited for diagnosing SBP. Sensitivity and specificity of the other methods calculated against this potential new golden standard, demonstrated manual counting of cytospins had the best sensitivity and specificity (both 100%). The LH750 gave some false positive results for PMN counting (sensitivity 100%, specificity 67%), whereas the leukocyte count correlated well with the

flowcytometer ($r^2 = 0.98$). Sensitivity of urine strips was too low (56 and 67% for UrifletS and Combur2 resp.).

Conclusion: The flowcytometric test was easy to perform, was faster and required less handling than manual differentiation.

15. Flowcytometric leukocyte differentiation: hematoflow

G.J.M. van de GEIJN, V. van REES, N. BOM, M.H. BEUNIS, J.G. PEGELS, T.L. NJO
KCHL, Clinical Chemistry and Hematology Laboratory, Sint Franciscus Gasthuis, Rotterdam

Introduction: Differential white blood cell counts (dWBC) are an important diagnostic tool. Automated dWBC can discriminate five different populations of leukocytes. When automatic dWBC does not meet specific criteria, manual dWBC is performed. Round the clock service for the manual dWBC requires intensive and sustained training of technicians. This is a logistic challenge. Furthermore manual counting includes limited numbers of cells, has significant statistical and inter-observer variation and is labour intensive. We developed an accurate flowcytometric test to replace the manual dWBC, HematoFlow, giving clinically relevant information.

Methods: Hundred normal and hundred abnormal blood samples (EDTA) were selected (CLSI H20-A2 criteria) and stained with antibodies (CD4, CD14, CD34, CD16, CD56, CD19, CD45, CD138, CD3 and CD71) in a single tube. Flowcytometric analysis was performed using five channels (FC500, Beckman-Coulter). With sequential gating 13 cell populations were identified. Flowcount beads were used for absolute

Overall we recommend leukocyte concentration determination with a suited automatic cell counter and PMN differentiation with our flowcytometric method as a new method for diagnosing SBP in ascitic fluid.

cell quantification. HematoFlow differentiation was compared with the automatic dWBC of a haematology analyzer (LH750, Beckman-Coulter) and with a 2x200 cell manual dWBC.

Results: HematoFlow results correlate very well with the LH750 for leukocytes, neutrophils, eosinophils, monocytes and lymphocytes ($r > 0.95$), for both normal and abnormal samples. Correlation with the manual dWBC was less ($r = 0.63-0.99$). The reproducibility of the HematoFlow assay was better than the manual dWBCs and the LH750. Compared to manual and automated dWBCs, additional populations are determined with HematoFlow: T-lymphocytes, CD4-lymphocytes, B-lymphocytes, NK-cells, myeloid progenitors, plasma cells and blasts. These can give valuable clinical information.

Conclusion: Accurate dWBC can be performed with HematoFlow. The assay requires small amounts of blood and can potentially be performed 24h/7d with a short turn around time. This makes HematoFlow a highly interesting technique for clinical laboratories.

16. Does size matter?

R. de JONGE, R. BROUWER, J. LINDEMANS
Department of Clinical Chemistry, Erasmus MC, Rotterdam

Introduction: HemoCue recently launched a very small point-of-care (POC) instrument to count white blood cells (WBC) in blood. We investigated whether the HemoCue WBC analyzer also allows to count WBC in different body fluids.

Methods: Ca. 10 μ L of blood or fluid was drawn into a single-use microcuvette by capillary action. In the reaction chamber, red blood cells were lysed (saponin) and WBC stained (methylene blue). An image of the stained WBC was taken after introduction of the microcuvette in the analyzer and WBC were counted within 3 minutes by image analysis. We analyzed 49 body fluids (ascites, pleural fluid, CAPD, CSF, synovial fluid) on both the HemoCue WBC analyzer and the Sysmex XE-5000 body-fluid mode.

Results: Combining all fluids, excellent agreement was ob-

served between both analyzers: HemoCue = $0.96 \times \text{XE-5000 BF-mode} + 65$ ($n=49$; WBC in 106/L). Exclusion of 5 extreme high WBC counts did not change the results (HemoCue = $1.01 \times \text{XE-5000 BF-mode} + 28$; $n=44$, WBC in 106/L). The few discrepancies arose when large cells like macrophages and mesothelial cells were present in pleural fluid or ascites. These cells are excluded by the XE-5000 whereas false-high counts are generated by the HemoCue.

Conclusion: The HemoCue WBC analyzer is a small POC instrument that allows to count WBC in body fluids. Like most other blood modes on automated cell counters, false-positive counts are generated when large cells are present, especially in ascites and pleural fluid.

17. Digital morphology: towards auto-validation

J.A. RIEDL, R.B. DINKELAAR, W. van GELDER
GKCL, Albert Schweitzer Hospital, Dordrecht

Introduction: Differential counting and morphological analysis of nucleated cells in blood smears is of great diagnostic importance to the clinician. An exciting development in the haematology field was the introduction of an automated microscopy system, the DM96. This computerized system provides an automated morphological analysis of blood smears, including an automated classification of all nucleated cells. We have previously shown that the DM96 is capable of correctly classifying leukocytes in peripheral blood and body fluid samples (1, 2). In this study we analysed the pre-classification performance of the DM96 when compared to a group of highly trained morphology experts using a large-scale leukocyte database.

Methods: A total of 1660337 leukocytes in 6946 blood smears were analysed on the DM96 and manually by experts and pre-classification scores were determined.

Results: Preliminary analysis of this large dataset demonstrates regression coefficients ranging from 0.95-0.99 for neu-

trophils, lymphocytes and eosinophils and 0.87 for basophils and monocytes. Interestingly, sensitivity for blast detection was calculated and is 100%.

Conclusion: Using a large leukocyte database of $> 1.5 \times 10^6$ leukocytes we show that the DM96 is capable of correct classification of the five main peripheral blood leukocyte classes (lymphocytes, neutrophils, eosinophils, basophils and monocytes). We postulate that, using confidence limits, auto-validation is the (logical) next step towards standardisation of morphological assessment of peripheral blood smears in general. Interestingly, blast cells are not missed by the DM96, rendering the DM96 extremely suitable for automated screening of peripheral blood smears of for instance acute leukaemia remission and MDS patients.

Literature: 1. Ceelie et al., J Clin Pathol 2007; 60:72-79; 2. Riedl et al., J Clin Pathol 2009; accepted for publication.

18. Evaluation of ETP-mipa, a microparticle sensitive thrombin generation assay

P.J. MOLENAAR¹, M. van SCHILFGAARDE¹, W.E. TERPSTRA², A. LEYTE¹

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹ and Department of Internal Medicine², Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Introduction: Cellular microparticles are thought to play a role in thromboembolic events. Functional assays for the procoagulant properties of these particles should therefore take account of their thrombin generation capacity. The endogenous thrombin potential (ETP) assay of Siemens Healthcare Diagnostics on the BCS-XP, although able to detect anticoagulant activity, is not sufficiently sensitive to evaluate a microparticle related hypercoagulable state. We aimed to modify this assay appropriately.

Methods: To determine the procoagulant properties of microparticles we adjusted the activation mix of the Siemens ETP protocol and elongated the measuring time. To evaluate the new assay: "ETP-mipa", it was applied to three different concentrations of microparticles prepared by dilution in microparticle free (filtered) plasma (MFP). Several such plasma batches were compared.

Results: As expected, background ETP-mipa activity (AUC)

of microparticle free poolplasma was found to be sufficiently low for the observation of a linear dose-response relation between microparticle number and ETP parameters. Precision was positively influenced by increasing numbers of microparticles. The linear dose-response of three different dilutions of microparticles in MFP was highly reproducible with interrun maximum CV% values of 5% for tlag, 7% for tmax, 12% for Cmax and 10% for AUC. To determine a reference range for the ETP-mipa assay we measured ETP-mipa of three dilutions of plasma derived microparticles of 18 healthy volunteers (39% male, mean age 44).

Conclusion: The Siemens ETP assay was rendered suitable for functional microparticle studies. A linear dose-response relation between microparticle number and ETP parameters was observed. ETP-mipa was analytically validated for use in our laboratory. A reference range was created for use in clinical studies currently being performed.

19. Changes in red blood cell haemoglobinization during pregnancy

M. SCHOORL, D. van der GAAG, P.C.M. BARTELS

Department of Clinical Chemistry, Haematology & Immunology, Medical Center Alkmaar

Introduction: Decreased haemoglobin concentration (Hb) is common in the third trimester of pregnancy. Several diagnostic guidelines are used in obstetric practice. Koninklijke Nederlandse Organisatie voor Verloskundigen (KNOV) and World Health Organization (WHO) practise Hb-values of 6.3 and 6.8 mmol/L respectively for discrimination and subsequent iron supplementation (1, 2). The aim of the study was to gain insight into the additional value of advanced red blood cell parameters such as immature reticulocyte count (IRF) and reticulocyte haemoglobin content (Ret-He) to establish deviations in haemoglobinization (3) and appropriate Hb-discrimination levels.

Methods: Blood samples were selected from 114 pregnant women in the third trimester within a Hb-range suspicious for anaemia (Hb <7.0 mmol/l). Apparently healthy women (n=35) were selected as a reference group. Hb, IRF and Ret-He were determined on a Sysmex XE-2100 analyzer. RBC Zink-protoporphyrine (ZPP/heme ratio) was measured for determination of inappropriate Hb-synthesis.

Results: Discrimination based on the KNOV guideline (Hb

<6.3 mmol/l) resulted in 21% of subjects with decreased Hb concentrations and in case of the WHO guideline (Hb <6.8 mmol/l) even in 69%. Hb-values in 48% of the subjects were in the debatable range of 6.3-6.8 mmol/l; in 33% of these subjects poor RBC-haemoglobinization occurred (Ret-He <1850 amol). ZPP/heme ratio revealed increased results (>75 μmol/mol heme) in 45% of the subjects in the not conclusive range (Hb 6.3-6.8 mmol/l). Due to increased erythropoiesis IRF demonstrated a tendency towards increased results compared to the reference group.

Conclusion: Anaemia-screening based on Hb-measurements during pregnancy is inappropriate. Increased IRF and ZPP and decreased Ret-He results indicate functional iron deficiency. Ret-He is indicative for decreased RBC-haemoglobinization and therefore useful in diagnostic screening and follow-up during pregnancy.

Literature: 1. KNOV-standaard (2000). 2. Milman N: Eur J Hematol 2007;79:39-46. 3. Bartels PCM: Clin Lab 2006;52:107-114.

20. Evaluatie van de Coasys Plus C stollingsanalyzer

H. ULENKATE, M. van DOREN, H. VANDEPITTE, N. MAENHAUT, M. SMET, P. DEY, D. DIELEMAN, M. van WEIJNSBERGEN, C. VERSLUYS

Klinisch Chemisch Laboratorium, ZorgSaam Ziekenhuis, Terneuzen

Inleiding: Als opvolger voor de huidige stollingsanalyzer Trombolyzer (Kordia) is gekozen voor de Coasys Plus C (Roche). De analyzer is in het voorjaar getest tijdens een proefplaatsing en in het najaar na de installatie.

Methoden: Omdat de stollingsanalyzers veel op elkaar lijken, is gekozen voor een korte evaluatie. Er is een patiëntenvergelijking gemaakt van de PT, APTT en fibrinogeen. Voor de INR zijn de uitslagen ook vergeleken met de Coaguchek XS (Roche). De koppeling is getest door na te gaan of de uitslagen van de analyzer in Labosys en Ezis terecht komen. Ook is nagegaan of de verwerking van flags, errors en controles goed verloopt in het LIS. Met Passing & Bablok is een methodevergelijking gemaakt.

Resultaat: De koppeling werkte meteen. De uitslagen kwamen goed over in het LIS en ZIS. Slechts een kleine koppelingsaanpassing was nodig voor een verbeterde afwerking van errormeldingen en de kwaliteitscontroles CoagNorm en CoagPath.

Het referentiegebied voor de PT (neoplastine-R) is aangepast van 9-13 sec in 10-14 sec. Voor de APTT (cephascreen) is het referentiegebied aangepast van 20-35 sec in 22-31 sec. Met een MNPT/ISI instelling van 13,3/1,02 werd een goede correlatie verkregen voor de INR. PT-INR <4,5: Coasys vs Trombolyzer: $y=0,90x+0,2$ $r^2=0,92$ (n=47); Coasys vs Coaguchek: $y=0,96x+0,23$ $r^2=0,93$ (n=42); APTT: $y=1,02x-0,59$ $r^2=0,76$ (n=78); Fibrinogeen: $y=0,80x+0,3$ $r^2=0,85$ (n=60). De VC's van de kwaliteitscontroles lagen tussen de 2,8-4,6%.

Conclusie: De medewerkers waren snel ingewerkt op de nieuwe stollingsanalyzer. De resultaten van de geteste analyzers kwamen goed overeen. De INR waarden in het therapeutisch gebied correleren goed met de Coaguchekmeter. Daarboven liggen de waarden van de Coasys iets hoger. De koppeling verliep vrijwel vlekkeloos. Na een korte evaluatietijd is de analyzer dan ook in gebruik genomen.

21. Implementatie van een flowcytometrisch panel voor de diagnostiek en monitoring van patiënten met het multipole myeloom

A.P. VAN ROSSUM¹, C.M. COBBAERT¹, W.A.F. MARIJT²

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Centraal Klinisch Hematologisch Laboratorium², Leids Universitair Medisch Centrum

Inleiding: De International Myeloma Working Group vereist het aantonen van klonaliteit van plasmacellen in de diagnose multipole myeloom (MM). Tevens kan het immunofenotype van de neoplastische plasmacellen worden gebruikt bij de detectie van minimale restziekte activiteit (MRD). Teneinde hieraan te kunnen voldoen is binnen het Centraal Klinisch Hematologisch Laboratorium (CKHL) van het LUMC een flowcytometrisch panel ontwikkeld, gevalideerd en geïntroduceerd. De keuze van markers binnen het flowcytometrische panel werd gebaseerd op de richtlijnen van de European Myeloma Network (EMN). Eveneens is onderzoek gedaan naar de beschreven discrepantie in aantallen plasmacellen na morfologische en flowcytometrische telling.

Methode: Beenmerg (BM) van 18 patiënten met MM en 4 patiënten zonder MM werd opgewerkt via een lyse-wash-stain procedure. Voor de immunofenotypering werd gebruik gemaakt van een 4-kleuren immunofluorescentie techniek. Hierbij werd gebruik gemaakt van de volgende antilichaam-combinaties: CD45/CD19/CD38/CD138, CD56/CD19/CD38/CD138, CD20/CD117/CD38/CD138, CD33/CD28/CD38/CD138, CD27/-/CD38/CD138 en cIgλ/cIgκ/CD38/CD138. Aantallen

plasmacellen geteld via morfologie en flowcytometrie (met respectievelijk zonder zeven van het BM materiaal) zijn met elkaar vergeleken.

Resultaat: Flowcytometrische analyse van het BM van patiënten met MM liet een prevalentie zien van respectievelijk 100%, 72%, 38%, 11%, 6% en 6% voor de navolgende antigenen: CD19-, CD56+, CD117+, CD28+, CD20+ en CD33+. Aankleuring van CD27 was slecht beoordeelbaar. BM van patiënten zonder MM lieten een CD19+/CD56-/CD117-/CD20-/CD28-/CD33- fenotype zien. Bepaling van klonaliteit van de plasmacellen was accuraat. Percentages plasmacellen uit het eerste aspiraats na morfologische en flowcytometrische telling lieten geen correlatie zien ($r^2=0,15$). Zeven van BM had geen invloed op het percentage flowcytometrisch getelde plasmacellen en aantallen WBC.

Conclusie: Flowcytometrische analyse met het bovenbeschreven panel is geschikt voor de bepaling van klonale plasmacellen. Het aberrante fenotype CD19-/CD56+(evt. CD117+, CD28+, CD20+ en CD33+) kan worden gebruikt om MRD bij MM patiënten te vervolgen.

22. Comparison of the Ves-Matic Cube 200 with known Westergren based methods for the measurement of erythrocyte sedimentation

J. CURVERS¹, J. KOOREN², M.H. HERRUER², V. SCHARNHORST¹

Algemeen Klinisch Laboratorium¹, Catharina-ziekenhuis Eindhoven; Media², medisch-diagnostische laboratoria, Hoofddorp

Introduction: Although the erythrocyte sedimentation rate (ESR) may be regarded as a miscellaneous test, it is still a frequently used diagnostic parameter. Recently, new methods based on direct measurement of ESR in a standard EDTA tube have been developed. Here we compare the analytical performance of the novell Ves-Matic Cube ESR method with two established Westergren based methods and the original Westergren reference method.

Method: We have determined ESR in whole blood of 244 patients with the SEDIsystemTM (BD), StaRRsed (Interrliner, Mechatronics) and the fully automated Ves-Matic Cube 200 (Diesse Diagnostica Senese). Additional manual Westergren ESR was performed in samples with enough blood available.

Results: Both the SEDIsystemTM and StaRRsed method correlated well with the manual Westergren ($r^2=0,92$), but correlation was lower between the Ves-Matic and the Westergren reference method ($r^2=0,69$). The Ves-Matic method showed

a significant negative bias compared to the reference method within the normal range (ESR <20 mm/h). At higher ESR values a more random bias was found, that showed some correlation with differences in Hb/Ht content of the deviated samples measured.

Conclusion: New methods to determine ESR directly from a standard EDTA-anticoagulated tube have many practical advantages. In general they reduce analytical time, use less blood and give waste reduction. However, when compared with two Westergren based methods, we observed a poor correlation between the new Ves-Matic Cube method with the Westergren reference method and a significant bias at all levels of ESR measurement. To some extent, observed deviations could be explained by a Hb/Ht dependent influence on ESR readings by the Ves-Matic method. We conclude that the Ves-Matic method is not interchangeable with two current Westergren based methods.

23. IJzerdeficiëntie en Hb-pathie vaststellen op basis van volbloedparameters

J. LEUVENINK, M.L. van GERVEN, H. MARTENS

Laboratorium voor Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

Inleiding: Het vaststellen van een ijzerdeficiëntie en een Hb-pathie op basis van volbloedparameters (Hb, MCV, MCH) is lastig. Een screeningsmethode met een hoge positieve voorspellende waarde zou een waardevolle additie zijn. In deze studie wordt onderzocht of men met toevoeging van Ret-He en ZPP snel een ijzerdeficiëntie of een Hb-pathie kunt vaststellen.

Methode: In dit onderzoek zijn van twee groepen patiënten, een groep anemiepatiënten (n=178) en een referentiegroep (n=120) volbloedparameters (MCV, MCH, Ret-He, ZPP) bepaald. Tevens is in beide groepen ferritine in serum bepaald. Voor het vaststellen van een ijzerdeficiëntie zijn de volgende

thresholdwaarden gebruikt; MCV <80fl, MCH <1,60 fmol, ZPP >0,36 mmol/mol Hb, Ret-He < 1,75 fmol en Ferritine < 20 ug/l. Er zijn ROC curve analyses uitgevoerd per gesorteerde set. Van Hb-pathie patiënten is de Ret-He bepaald en een ijzerdeficiëntie m.b.v. ferritine en ZPP uitgesloten.

Resultaat: Het gemiddelde Ret-He van Hb-pathie patiënten is significant lager dan van een referentiegroep namelijk $1,55 \pm 0,147$ (n=121) en respectievelijk $2,045 \pm 0,264$ (n=121) ($P<0,01$). Voor de individuele volbloedparameters, gebruikt om een ijzerdeficiëntie vast te stellen in de anemiepatiënten en de referentiegroep, waren de AUC waarden van de ROC

curves groter dan 0,90. Voor ferritine was de AUC waarde kleiner <0,80. Wanneer de 4 volbloedparameters gezamenlijk werden gebruikt, was het mogelijk om in meer dan 93% van de patiënten vast te stellen of er sprake is van ijzerdeficiëntie of Hb-pathie.

Conclusie: Door gebruik te maken in de dagelijkse praktijk van volbloedparameters als MCV, MCH, Ret-He en ZPP is het mogelijk om binnen 2 uur in meer dan 93% van de patiënten vast te stellen of er sprake is van ijzerdeficiëntie of Hb-pathie.

24. Analytical validation of Biophen Heparin 3 versus HemosIL® Liquid Heparin assay on the ACL-TOP® analyzer

M. SCHOORL, M. SCHOORL, P.C.M. BARTELS

Department for Clinical Chemistry, Haematology & Immunology, Medical Center Alkmaar

Introduction: Heparin and heparin like anticoagulants are currently applied for curative or preventive purposes. Measuring anti-Xa concentrations yields information for monitoring therapy and adjusting anticoagulant dosage. In this study Low Molecular Weight Heparin (LMWH) results of Biophen Heparin 3 assay are compared with results of HemosIL® Liquid Heparin assay established on the ACL-TOP® analyzer. The Biophen Heparin 3 assay (Hyphen BioMed) is a chromogenic assay for establishment of LMWH. Concentrations anti-Xa ranges from 0.05 kIU/L up to 2.0 kIU/L for LMWH. A five-point calibration is used. The HemosIL® Liquid Heparin assay (Instrumentation Laboratory) is a one stage chromogenic assay based on a synthetic chromogenic substrate and Factor Xa inactivation enabling measurement of UF and LMWH in the range of 0.04-2.0 kIU/L. A three-point calibration is used. With both tests also unfractionated heparin can be determined.

Methods: The study is performed in 56 citrated plasma samples from subjects anticoagulated with Nadroparin.

Results: For Biophen Heparin 3 within-run coefficients of variation of 9.1%, 6.5% and 2.7% are obtained at concentrations of 0.11, 0.31 and 1.11 kIU/L, respectively. At a level of 0.70 kIU/L day-to-day precision amounts 2.9%. For HemosIL® Liquid Heparin within-run coefficients of variation of 12.5%, 9.5% and 3.4% are obtained at concentrations of 0.08, 0.21 and 0.89 kIU/L, respectively. At a level of 0.57 kIU/L day-to-day precision amounts 2.0%. Linear regression analysis is determined as $y = 1.11 + 0.06x$, in which $y =$ Biophen and $x =$ HemosIL® assay. A correlation coefficient of 0.993 is obtained.

Conclusion: In conclusion, both tests are easily to perform on a ACL-TOP® analyzer with analytically reliable results. The use of LMWH calibrators traceable to WHO International Standards is a great advantage.

25. Evaluatie van hemoglobopathie diagnostiek middels capillaire elektroforese

Y. MAKAYA, A. OOSTERWEGEL, A. SPAANS, R. LEEUWANGH, C. POSTMA, F. HUDIG

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, HagaZiekenhuis, Den Haag

Inleiding: Hemoglobopathiën vormen een heterogene groep erfelijke aandoeningen, veroorzaakt door mutaties die leiden tot een gereduceerde of afwezige synthese van één van de globinegenen (thalassemieën) of tot de synthese van globine ketens met een structurele verandering (Hb-varianten). De diagnostiek voor hemoglobopathie bestaat uit analyse van het rode bloedbeeld en het scheiden en kwantificeren van hemoglobine fracties (HbA, HbF, HbA2, HbS, HbE en HbD).

Methode: In deze studie is de scheiding en kwantificering van hemoglobine fracties middels HPLC vergeleken met een nieuwe techniek, de capillaire elektroforese. Er is onderzoek

gedaan naar reproduceerbaarheid, precisie en juistheid van het geautomatiseerde capillaire elektroforesesysteem, Capillarys van Sebia.

Resultaat: De precisie van HbA2 was 3%, HbF 4% en HbS 2%. Ruim 100 patiëntenmonsters met normale en afwijkende hemoglobinefracties, zijn geanalyseerd. De correlatie tussen oude en nieuwe methode voor de diverse hemoglobinefracties is > 0.96

Conclusie: Het geautomatiseerd capillaire elektroforesesysteem kan diverse hemoglobinefracties scheiden en kwantificeren op een vergelijkbaar wijze als de huidige HPLC techniek.

26. Monitoren van recombinant factor VIII ReFactoAF; wat is de juiste factor-VIII-bepaling?

M. VEUGER¹, M. LORSHEIJ², P. YPMA², F. HUDIG¹

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹ en afdeling Hematologie², HagaZiekenhuis, Den Haag

Inleiding: Verschillende recombinant-factor-VIII(rFVIII)-preparaten zijn in gebruik voor de behandeling van Hemofilie A. In 2009 heeft de firma Wyeth een aangepast rFVIII-preparaat, ReFacto AF, geïntroduceerd. De moleculaire structuur was gewijzigd, enkel aangepaste vervaardiging. Aangeraden werd ReFacto AF-spiegels te monitoren met de FVIII-chromogene assay. Voor een one-stage assay, werd aanbevolen gebruik te maken van de ReFacto AF Laboratorium Standaard. Het Haga-Ziekenhuis had een aantal patiënten die met het oude ReFacto gesuppleerd werden.

Methode: Vóór overgang naar ReFacto AF werden bij 3 patiënten proefdoseringen uitgevoerd met ReFacto AF waarna FVIII-activiteit gemeten werd met standaard one-stage assays (Sysmex en Roche) en vergeleken met de chromogene assay (Instrumentation Laboratory). In alle gevallen gaf de one-stage assay de verwachte opbrengst. FVIII-activiteiten gemeten met de chromogene assay waren 2x hoger dan de one-stage activiteiten. Op basis van deze uitslagen werd er overgestapt naar

ReFacto AF en besloten FVIII te monitoren met de standaard one-stage assay. Na overgang onderging één patiënt een chirurgische ingreep (enkel atrodese) waarbij FVIII opgeladen en post-operatief gecontinueerd werd volgens geprotocolleerde dosering. De OK was ongecompliceerd verlopen en post-operatief waren er geen bloedingscomplicaties opgetreden.

Resultaat: Pre-operatief werden FVIII-activiteiten bereikt van ca 90% (one-stage assay) en 150% (chromogene assay). Twee dagen post-operatief bleek het niet meer mogelijk om een goede FVIII-opbrengst te bereiken ondanks aanzienlijke verhoging van ReFacto AF suppletie. Vijf dagen post-operatief werd suppletie met rFVIII gestaakt. Verschillende oorzaken van de slechte FVIII-opbrengst werden uitgesloten zoals aanwezigheid van FVIII-remmers, heparinebijmenging, verlaagde von Willebrand factor activiteit en afname van de nierfunctie.

Conclusie: Bovenstaande casus illustreert de problematiek van FVIII-monitoring bij een patiënt met Hemofilie A gesuppleerd met ReFacto AF.

Immunoassay, (bloedgroepen-)serologie

27. Validatie van de Myoglobineklaring op de VIDAS 30

T. DOKTER, B. NIENHUIS, R.F.M. OUDE ELFERINK
LabNoord, Martini Ziekenhuis, Groningen

Inleiding: De consolidatie van bepalingen was de aanleiding om de myoglobineklaring te valideren op de VIDAS30

Methode: Voor de methoden vergelijking werden 50 patiënten monsters gemeten op de Immulite1000 en de VIDAS30. Mbv Biorad Cardiac controles werden de reproduceerbaarheid en lineariteit van de myoglobinebepaling op de VIDAS30 getoetst. Een verdunningsreeks van gebufferde urine (1+1 PBS 1%BSA) werd gebruikt voor recovery berekeningen en een precision profile.

Resultaat: De methoden vergelijking volgens Passing Bablock is; VIDAS30 = 0.965xImmulite1000-8.2 (n=50;r=0.98). De repro-

duceerbaarheid is 2,4% (36 g/l), 1,9% (102 g/l) en 4% (157 g/l) en de bepaling is lineair over deze range (p=0.997). De recovery in gebufferde urine varieerde van 105% (2x) tot 150% (8x) en de functionele sensitiviteit is 2 g/l.

Conclusie: De myoglobinebepaling op de VIDAS30 is een goed reproduceerbare bepaling. Dit geldt ook voor lage waarden in gebufferde urine. Uit dit onderzoek blijkt dat de VIDAS30 een goed alternatief is voor de Immulite1000 om de myoglobineklaring te bepalen bij dreigende nierschade tgv rhabdomyolyse.

28. Analytische interferentie door antistoffen tegen ruthenium

M.M. BUIJS¹, J.P.M.C. GORGELS¹, E. ENDERT²

Medial medisch-diagnostische laboratoria¹, Hoofddorp; Afd. Endocrinologie en Radiochemie², AMC, Amsterdam

Inleiding: Analytische interferentie door heterofiele antistoffen kan tot vals verlaagde of vals verhoogde resultaten leiden in immunoassays. Een methode specifieke interferentie t.g.v. rutheniumantistoffen is beschreven voor de Elecsys / Modular E fT4 en fT3 immunoassay. Onlangs werd in ons laboratorium tevens interferentie door rutheniumantistoffen in de TSH assay gevonden. Dit leidde tot de vraagstelling of mogelijk ook andere assays bij patiënten met deze antistoffen gestoord zouden kunnen worden.

Methode: De afgelopen jaren werd door ons bij 5 patiënten interferentie door rutheniumantistoffen verondersteld doordat er discrepanties waren tussen de TSH, fT4 en fT3 concentraties. Materiaal werd opgestuurd naar het diagnostisch laboratorium van Roche te Penzberg in Duitsland. Hier werd bevestigd dat de gevonden discrepanties daadwerkelijk verklaard konden worden door interferentie t.g.v. rutheniumantistoffen. Deze 5 patiënten is vervolgens gevraagd om éénmalig 37 ml bloed af

te laten nemen. In het plasma en serum van de patiënten zijn 23 analyten met zowel de Modular E als een ruthenium-onafhankelijk platform bepaald. De meetresultaten zijn met elkaar vergeleken, rekening houdend met de bekende verschillen tussen de gebruikte methoden.

Resultaat: Van de 5 patiënten hebben 2 patiënten aan het onderzoek deelgenomen. Zoals verwacht werd significante interferentie gevonden in de TSH, fT4 en fT3 assay; TSH concentraties werden vals verlaagd en fT4 en fT3 concentraties vals verhoogd. De overige assays, zowel competitief als immunometrisch vertoonden geen interferentie ondanks de aanwezigheid van antistoffen tegen ruthenium.

Conclusie: Ondanks dat rutheniumantistoffen in het plasma en/of serum van patiënten theoretisch alle assays op de Elecsys en/of Modular E zou kunnen storen, werd bij onze patiënten alleen analytische interferentie gevonden in de TSH, fT4 en fT3 assay.

29. BNP stabiliteitsonderzoek ten behoeve van de SKML rondzending hartmerkers

W.M. TIEL GROENESTEGER¹, M.J.W. JANSSEN¹, C.W. WEYKAMP²

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹, VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg, Venlo / Venray; Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium², Streekliekenhuis Koningin Beatrix, Winterswijk

Inleiding: Bij de rondzending hartmerkers van de SKML blijkt dat de levels BNP in de monsters te laag zijn door instabiliteit van BNP. De instabiliteit van BNP kan veroorzaakt worden door de matrix, materiaal van de vial, herhaald vriezen en ontdooien of een combinatie van bovenstaande. De stabiliteit van BNP werd onderzocht onder verschillende omstandigheden.

Methode: BNP werd bepaald uit gepooled patiëntenmateriaal op de Architect i2000 (Abbott).

Resultaat: Het matrixeffect werd onderzocht door de stabiliteit van BNP te bepalen in EDTA, heparine en EDTA+heparine plasma. Na een bewaartijd van 24 uur bij 4°C, werd respectievelijk nog 88%, 70% en 50% van de BNP beginwaarde gedetecteerd. Tot 2 maal extra invriezen en ontdooien liet een restwaarde zien van 95%, 79% en 97% respectievelijk. Bij vergelijking tussen kunststof en glazen vials bleek dat na 24 uur bij 4°C in

kunststof 93% van de BNP beginwaarde werd gedetecteerd en in glas 27%. Vriesdregen of invriezen van het monstermateriaal bleek geen verschil in BNP stabiliteit op te leveren. Na toevoeging van 1000 KIU/ml van het protectant aprotinine werd na 24 uur bij 4°C nog 95% van de beginwaarde van BNP teruggevonden terwijl dit 70% was zonder toevoeging. Voor de stabilisator PPACKII was de teruggevonden waarde onder dezelfde condities met protectant 60% en zonder 29%.

Conclusie: De uitgevoerde experimenten laten zien dat BNP het meest stabiel blijft in EDTA plasma, in kunststof vials en dat toevoeging van de protectanten aprotinine en PPACKII de stabiliteit van BNP verhogen. Herhaaldelijk invriezen en ontdooien heeft een geringe afname van de BNP concentratie tot gevolg. Vervolgonderzoek zal uit moeten wijzen of de stabiliteit van BNP over langere periode bewaard kan blijven.

30. Semi-kwantitatieve troponine T bepaling met behulp van de Roche Cobas h232 'point of care testing' meter

J. SCHERRENBURG¹, A. GOLUKE², D. TELTING¹

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹ en Cardiologie², Alysis Zorggroep, Zevenaar

Inleiding: Deze studie is opgezet om de troponine T (cTnT) test op de Roche Cobas h232 te vergelijken met de Roche E170 cTnT test.

Methode: Van 48 aanvragen voor een cTnT bepaling werd de bepaling uitgevoerd met zowel de E170 (Roche volautomaat) als de Cobas h232 'point of care testing' (POCT) meter (Roche, CARDIAC T Quantitative teststrip). Bij de POCT test kon het resultaat worden ingedeeld in een laag risico (<0,03 ng/ml, negatief), een medium risico (0,03-0,1 ng/ml, positief) of een hoog risico (>0,1 ng/ml, positief) op cardiale ischemie (acuut coronair syndroom of myocard infarct), waarbij resultaten in de range 0,1-2 ng/ml kwantitatief werden weergegeven. De kwantitatieve resultaten verkregen met de E170 werden verdeeld in negatief (<0,03 ng/ml) of positief (>0,03 ng/ml). De correlatie tussen beide methoden in de range 0,1-2 ng/ml is bepaald met

behulp van Passing en Bablok regressieanalyse. Tevens werd de analytische variatie in het meetbereik bepaald.

Resultaat: Ten opzichte van de E170 cTnT bepaling was de sensitiviteit van de POCT methode 87% en de specificiteit 100%. Drie uitslagen waren positief (>0,03 ng/ml) met de E170 test, maar negatief met het Cobas h232 systeem. Bij één van deze drie patiënten was klinisch geen sprake van ischemie, maar van sinus bradycardie op basis van Sotalol. In de range 0,1-2 ng/ml werd de volgende relatie tussen de twee methoden gevonden: $h232 = 0,77 (E170) - 0,018$ (95% CI intercept: -0.041-0.043; 95% CI richtingscoëfficiënt: 0,69-0,84).

Conclusie: Uit de resultaten van deze studie blijkt een lagere sensitiviteit van de Cobas h232 cTnT bepaling ten opzichte van de E170 cTnT bepaling.

31. Een financieel en klinisch verantwoord vervangingstraject voor de bepaling van tumormarkers

M.M.J.F. KOENDERS, R.H. TRIEPELS

Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium en Trombosedienst, Tilburg

Inleiding: Vervangingstrajecten van nieuwe (routine)analyzers hebben vaak verstrekken gevolgen voor aanvragers m.b.t de handhaving van een correcte klinische interpretatie van de laboratoriumdiagnostiek. Zeker wanneer het apparaat betreft voor sequentieel georiënteerd laboratoriumdiagnostiek van tumormarkers. Recentelijk heeft het KCHL getracht om de tumormarkerdiagnostiek op een financieel en kwalitatief verantwoorde manier over te zetten van de Immulite 2500 (Siemens) naar de COBAS e analyzer (Roche Diagnostics).

Methode: Gedurende een half jaar lang zijn de tumormarkers (alfa-foetoproteïne, β 2-microglobuline, CA-125, CA-15.3, CA-19.9, CEA, PSA en vrij PSA) slechts eenmalig per patiënt zowel gemeten op de COBAS e601 als de Immulite 2000. In bovenstaande periode zijn ruim 4000 patiënten geïncludeerd.

Resultaat: Over het algemeen vertonen beide assays een goede correlatie binnen de gestelde referentiewaarden en treedt patiëntafhankelijkheid grotendeels op bij gemeten pathologische waarden. In 98% van de aanvragen was de behandelend arts in staat om met de ingezette overgang de resultaten van de nieuwe essay te correleren aan de onderliggende pathologie. In slechts 2% van de aanvragen leek dit ontoereikend.

Conclusie: Uit de beschreven studie blijkt dat bij de invoering van een nieuwe essay voor het meten van de tumormarkers kan worden volstaan met een eenmalig "dubbele" analyse. Gestuurd door een goede communicatie met de aanvragers is de beschreven methode een financieel gunstige methodiek zonder verlies van kwaliteit.

Categorie 1 Analytisch

Chromatografie: HPLC, GC, CE

32. C2Nijmegen; een nieuwe transferrinevariant

H.K. de WOLF¹, B.B. BOUMAN-van der MEIJDEN², M. van WIJNEN², M. de METZ¹, J.M.W. van den OUWELAND¹, J.P.M. WIELDERS²

Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen; Klinisch Chemisch Laboratorium², Meander Medisch Centrum, Amersfoort

Inleiding: Voor het aantonen van chronisch en overmatig alcoholgebruik wordt veelvuldig gebruik gemaakt van de bepaling van koolhydraatdeficiënt transferrine (CDT).

Methode: De Helander-methode is een HPLC-referentiemethode waarbij de disialofractie ten opzichte van de totale hoeveelheid transferrine gekwantificeerd wordt (1). Met deze chromatografische scheiding kunnen ook varianten van het transferrine opgespoord worden.

Resultaat: Routinematige CDT-analyse (HPLC volgens Helander) identificeerde een patiënt met een onbekend elutiepatroon van de transferrinesialofracties, mogelijk passend bij een genetische transferrinevariant. In tegenstelling tot de bekende B- en D-polymorfismen, waarbij de ratio tussen de sialopieken van de variant en het C1-fenotype vaak ongeveer één is, was hier sprake van een beduidend lagere ratio. Kwantificering van de disialofractie was niet mogelijk. Immunochemische detectie met behulp van de N-latex CDT-assay van Siemens gaf een CDT-waarde van 2,5% (referentiewaarden 1,3 – 2,3%).

Sequentieanalyse van het transferrinegen toonde een heterozygoot genotype aan van een C1 en een nog niet eerder beschreven mutatie die wij C2Nijmegen noemen (139 Thr>Met). Dezelfde variant werd aangetroffen bij alle vier de directe familieleden van de casuspatient (moeder, zus en twee broers), met N-Latex CDT waarden van 1,5 – 1,6%. Behalve een laag-normale transferrineconcentratie (95% BI van 24.4-32.7 umol/l, referentiewaarden 23-40 umol/l) leverde analyse van het ijzermetabolisme geen afwijkende verdelingen op.

Conclusie: Middels routine CDT-analyse is een familie geïdentificeerd, waarbij vijf dragerschapen van een tot op heden onbekende genetische transferrinevariant voorkomen. Afwijkingen in het ijzermetabolisme lijken beperkt, dan wel afwezig.

Literatuur: 1: Helander A, Husa A, Jeppsson JO. Improved HPLC method for carbohydrate-deficient transferrin in serum. Clin Chem 2003; 49: 1881-1890

33. Automated mass spectrometric analysis of urinary free catecholamines using XLC-MS/MS

W.H.A. de JONG¹, E.G.E. de VRIES², B.H.R. WOLFFENBUTTEL³, I.P. KEMA¹

Departments of Laboratory Medicine¹, Medical Oncology² and Endocrinology³, University Medical Center, Groningen

Introduction: Analysis of catecholamines (epinephrine, norepinephrine and dopamine) in plasma and urine is used for diagnosis and treatment of catecholamine-producing pheochromocytoma. Current analytical techniques for catecholamine quantification are laborious, time consuming and technically demanding. Aim was to develop an automated on-line solid-phase extraction method coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (XLC-MS/MS) for the quantification of free catecholamines in urine.

Methods: Five μL urine equivalent was pre-purified by automated on-line solid-phase extraction, using phenylboronic acid complexation. Reversed phase (pentafluorophenylpropyl column) chromatography was applied. Mass spectrometric detection was operated in multiple reaction monitoring mode using a quadrupole tandem mass spectrometer with positive electrospray ionisation. Urinary reference intervals were set

in 24h-urine collections of 120 healthy subjects. XLC-MS/MS was compared with liquid-chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD).

Results: Total run-time was 14 min. Intra- and inter-assay analytical variation were $<10\%$. Linearity was excellent ($r^2 > 0.99$). Quantification limits were 1.47 nmol/L, 15.8 nmol/L and 11.7 nmol/L for epinephrine, norepinephrine and dopamine, respectively. XLC-MS/MS correlated well with HPLC-ECD (correlation coefficient > 0.98). Reference intervals were 1-10, 10-50 and 60-225 $\mu\text{mol/mol}$ creatinine for epinephrine, norepinephrine and dopamine, respectively.

Conclusion: Advantages of the XLC-MS/MS catecholamine method include its high analytical performance by selective PBA affinity and high specificity and sensitivity by unique MS/MS fragmentation.

34. Automated mass spectrometric analysis of urinary and plasma serotonin

W.H.A. de JONG¹, M.H.L.I. WILKENS¹, E.G.E. de VRIES², I.P. KEMA¹

Departments of Laboratory Medicine¹ and Medical Oncology², University Medical Center, Groningen

Introduction: Serotonin emerges as crucial neurotransmitter and hormone in a growing number of different physiologic processes. Beside extensive serotonin production previously noted in patients with metastatic carcinoid tumors, serotonin now is implicated in liver cell regeneration and bone formation. The aim was to develop a rapid, sensitive and highly selective automated on-line solid-phase extraction method coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (XLC-MS/MS) to quantify low serotonin concentrations in matrices such as platelet-poor plasma and urine.

Methods: Fifty μL plasma or 2.5 μL urine equivalent were pre-purified by automated on-line solid-phase extraction, using weak cation exchange. Chromatography of serotonin and its deuterated internal standard was performed with hydrophilic interaction chromatography. Mass spectrometric detection was operated in multiple reaction monitoring mode using a quadrupole tandem mass spectrometer with positive electrospray

ionisation. Serotonin concentrations were determined in platelet-poor plasma of metastatic carcinoid patients ($n = 23$) and healthy controls ($n = 22$). Urinary reference intervals were set by analyzing 24h-urine collections of 120 healthy subjects.

Results: Total run-time was 6 min. Intra- and inter-assay analytical variation were $<10\%$. Linearity in the 0-7300 $\mu\text{mol/L}$ calibration range was excellent ($r^2 > 0.99$). Quantification limits were 30 and 0.9 nmol/L in urine and plasma, respectively. Platelet-poor serotonin concentrations in metastatic carcinoid patients were significantly higher than in controls. The urinary reference interval was 10-78 $\mu\text{mol/mol}$ creatinine.

Conclusion: Serotonin analysis with sensitive and specific XLC-MS/MS overcomes limitations of conventional HPLC. This enables accurate quantification of serotonin for both routine diagnostic procedures and research in serotonin-related disorders.

35. Analytical validation of the screening for glutathionylated haemoglobin (HbX1d3) by maldi-tofms in order to monitor oxidative stress

D. de BOER^{1,3}, A.M.J. ROUSSEAU^{1,3}, D.M.M. van HEDEL-BOSCH^{1,3}, N.L. REYNAERT², W.K.W.H. WODZIG^{1,3}

Department of Clinical Chemistry¹ and of Respiratory Medicine², Maastricht Proteomics Centre³, Maastricht University Medical Centre

Introduction: Beside traditional techniques based on electrophoresis and chromatography, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOFMS) also has potential to screen for haemoglobin (Hb) disorders. However, whereas separation approaches detect signals of symmetric pairs of dimers of holo-subunits and assigns signals to Hb variants based on retention time, the MALDI-TOFMS approach detects signals of separate apo-subunits based on m/z values. This study validates the determination of %HbX1d3 in haemolysates of erythrocytes as measured by MALDI-TOFMS, where the notation X1d3 stands for glutathionylated β -subunit of Hb (β -[X]-ssg) and X for A, S, C, etc. Within red blood cells, oxidized glutathione reacts with Hb forming

HbX1d3, so that HbX1d3 may reflect the exposure to oxidative stress and %HbX1d3 may serve as a useful clinical marker of oxidative stress in relevant syndromes.

Methods: Haemolysates were prepared by dilution with water. Mass spectra of the pseudo-molecular ions of apo-subunits were obtained by MALDI-TOFMS. Ions were assigned to apo-subunits based on theoretical m/z values after internal calibration.

Results: Mass accuracy \pm SD for the apo- β -[A]-ssg-subunit was m/z 16173.4 \pm 0.1 (theoretical m/z 16173.3) [$n=14$], while repeatability [$n=5$] and reproducibility [$n=14$] were $<0.0008\%$. Precision reproducibility of %HbX1d3 in a quality control sample (2.5% \pm 0.2 [$n=14$]) was 8.3%. The frequency histogram of %HbX1d3 in a heterogeneous population [$n=62$] with

amongst others suspected pathological Hb disorders showed besides one extreme outlier at 12.9%, two distinct populations (frequency tops at 4.5% and 6.3%, respectively).

Conclusion: A MALDI-TOFMS method was validated to distinguish the Hb apo- β -[X]-sbg-subunit from other apo-

subunits. Profiles of apo- β -[X]-sbg-subunits indicated two populations for %HbX1d3, which apparently were subjected to distinct kind of oxidative stress. Also observed was an outlier, which actually was subjected to extreme oxidative stress.

36. Measurement of 25-OH-vitamin D in human serum using UPLC tandem-mass spectrometry with comparison to radioimmunoassay and automated immunoassay

J.M.W. van den OUWELAND, A.M. BEIJERS, P.N.M. DEMACKER, H. van DAAL
Department of Clinical Chemistry, Canisius Wilhelmina Hospital, Nijmegen

Introduction: The plasma 25-OH vitamin D (25(OH)D) concentration is a reliable biomarker for vitamin D status but assay's variability makes adequate monitoring of vitamin D status difficult. We employed isotope-dilution Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)-tandem-mass spectrometry (MS/MS) for the measurement of both 25(OH)D3 and 25(OH)D2 in human serum.

Methods: Hexadeuterium labelled 25(OH)D3 internal standard (IS) was added to calibrators (prepared in phosphate-buffered saline with 60 g/L albumin), controls or patient sera and 25(OH)D metabolites were released from vitamin D binding protein by adding sodium hydroxide prior to protein precipitation by acetonitrile/methanol (9:1, v/v). Subsequent off-line solid-phase extraction was followed by chromatographic separation on a C-18 column using a water/methanol/ammonium acetate gradient. Detection was by Atmospheric Pressure Electrospray Ionisation (AP-ESI) followed by selected reaction monitoring. We compared the UPLC-MS/MS assay to the DiaSorin

radioimmunoassay (RIA) and a recently re-standardised version of an automated electrochemiluminescent immunoassay (ECLIA) from Roche Diagnostics. We also analysed external quality control samples from the International Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS) for comparison with other participating laboratories using LC-MS.

Results: The method was linear from 5 to at least 550 nmol/L with intra- and interday CV's $\Delta\%$ for both 25(OH)D3 and 25(OH)D2. Recoveries ranged between 94.9-106.9% for 25(OH)D3 and 82.7-100.3% for 25(OH)D2. Our results for the DEQAS serum pools averaged -7.2% from the overall LC-MS method mean. The DiaSorin RIA agreed well with the UPLC-MS/MS method ($r^2=0.90$; average bias 1.61 nmol/L), the Roche ECLIA considerably disagreed ($r^2=0.58$; bias 10.13 nmol/L).

Conclusion: This UPLC-MS/MS method is reliable and robust for the measurement of both 25(OH)D3 and 25(OH)D2 in human serum.

37. Combined measurement of cortisol and cortisone in human saliva using UPLC tandem-mass spectrometry

J.M.W. van den OUWELAND¹, A.M. BEIJERS¹, F.C.G.J. SWEEP², P.N.M. DEMACKER¹, H. van DAAL¹
Department of Clinical Chemistry¹, Canisius Wilhelmina Hospital, Nijmegen; Department of Laboratory Medicine², Radboud University Nijmegen Medical Centre

Introduction: Salivary cortisol and cortisone measurements are useful in evaluation of Cushing syndrome, apparent mineralocorticoid excess syndrome, and adrenal insufficiency. Salivary cortisone is a consequence of the salivary glands expressing 11 β -hydroxysteroiddehydrogenase type 2 (11 β -HSD2) converting cortisol to cortisone. The advantages of measuring salivary cortisol are the non-invasive sampling and the good correlation between cortisol in saliva and the unbound, biologically active serum cortisol fraction. We developed a method for combined measurement of cortisol and cortisone in saliva using Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)-tandem mass-spectrometry (MS/MS).

Methods: Deuterated cortisol (internal standard) was added to calibrators, controls or patient saliva. After extraction with dichloromethane, analytes were separated by C-18 column chromatography with a water/acetonitrile mobile phase containing glacial acetic acid. Mass spectrometric detection was per-

formed by selected reaction monitoring. The results for salivary cortisol were compared to an in-house radioimmunoassay (RIA) after prior extraction and paper chromatography.

Results: Cortisol and cortisone eluted at approximately 2.1 min, with a full run time of 5 min. The assay was linear up to 2000 nmol/L, intra- and interassay variation was <16%, functional sensitivity (S/N=10) was 0.5 nmol/L, and recoveries were within 80-120% for both analytes. The UPLC-MS/MS method for cortisol showed excellent correlation with the RIA ($r^2=0.99$), although 20% higher values in the RIA suggests differences in calibration between both methods.

Conclusion: We have developed a rapid UPLC-MS/MS assay for the combined measurement of salivary cortisol and cortisone. This method can be used as a non-invasive tool to assess the value of salivary cortisol as a surrogate for free serum cortisol and as a potential way to assess 11 β -HSD2 activity, e.g. in studies on liquorice-induced hypertension.

38. Measurement of 3-hydroxybutyric acid in EDTA anti-coagulated blood, plasma and dried blood spots using UPLC-Tandem MS

J.A. BAKKER, C.D. HABETS-van der POEL, J. BIERAU
Laboratory for Biochemical Genetics, Maastricht University Medical Centre

Introduction: UPLC-ESI- tandemMS is a powerful tool for the quantitative determination of metabolites in biological fluids and tissues. We describe a method for the quantification of 3-hydroxybutyric acid (3-HBA) in EDTA anti-coagulated blood, plasma and dried blood spots (DBS) after derivatisation with 3-nitrophenylhydrazine (NPH).

Methods: 50 μ l of EDTA blood or plasma was mixed with 50 μ l internal standard solution (13C4-3-hydroxybutyric acid). 600 μ l methanol was added under constant mixing and after

centrifugation 100 μ l of the supernatant was derivatised with 100 μ l NPH solution and 200 μ l EDC/pyridine solution (60°C, 20 min). DBS were extracted with 200 μ l methanol/acetic acid (99/1, v/v), after addition of 50 μ l IS solution. 100 μ l extract was derivatised with 25 μ l NPH solution and 50 μ l EDC/pyridine solution (60°C, 20 min). After dilution with 8% acetic acid, retention of 3-hydroxybutyric acid was obtained using an Acquity BEH-C18 column and a formic acid/acetonitrile gradient. The MS was operated in ESI-negative mode.

Results: 3-HBA was detected in EDTA blood, plasma and DBS using the above described method. The detection was linear up to 5 mmol/l. The limit of quantification was 0.5 $\mu\text{mol/l}$. Recovery experiments for 3-HBA showed recoveries of 100% in EDTA blood and plasma and 90% in DBS. Imprecision of the method was 2% for EDTA blood and plasma and 8% for DBS. Reference values were established for the different materials

using this method. 3-HBA in DBS was stable >3 weeks at room temperature.

Conclusion: The described method makes reliable quantification of 3-hydroxy butyric acid in various body fluids possible. The stability of 3-hydroxybutyric acid in DBS allows quantification in retrospect.

Categorie 1 Analytisch

Moleculaire biologie

39. A rapid single-tube multiplex PCR assay for the 7 most prevalent α -thalassemia deletions and $\alpha\alpha\alpha\text{anti}3.7$ α -globin gene triplication

A. de MARE, A. HEIJS-OUDE GROENEGER, S. SCHUURMAN, F.A.T.J.M. van den BERGH, J. SLOMP
Laboratory, Medisch Spectrum Twente Hospital Group, Enschede

Introduction: Alfa-thalassemia and β -thalassemia are genetic blood diseases which are the result of reduced or deficient synthesis of either the α -globin chains or β -globin chains of hemoglobin. Alpha globin gene triplication may exacerbate the α and β chain imbalance in β -thalassemia and may compensate for the effect of α -globin gene deletion in α -thalassemia. Identification of α -globin gene triplication is, therefore, valuable in predicting the clinical phenotype of the thalassemias.

Methods: We have modified an existing PCR assay for the 7 most prevalent α -globin gene deletions by incorporating 2 α -globin gene triplication-specific primers and concurrently substituting 1 of the original primers by a newly designed primer. This modified multiplex PCR assay was evaluated by performing the assay on archival DNA samples and on blood samples from 163 suspected thalassemia cases.

Results: The multiplex PCR assay functioned consistently and

reproducibly. All deletions as well as α -globin gene triplication could be detected. Further evaluation of the assay on peripheral blood samples from 163 suspected thalassemia cases identified 26 α -thalassemia patients and 2 triplication carriers.

Conclusion: The ability to recognize both carriers of the 7 most commonly occurring α -globin gene deletions and α -globin gene triplication carriers is an important feature of routine thalassemia diagnostics and screening. The PCR assay described here can detect both the α -globin gene deletions and the $\alpha\alpha\alpha\text{anti}3.7$ α -globin gene triplication in a single tube reaction. Hence, it is a less laborious and less expensive technique than previously described PCR assays that require a separate tube for the detection of α -globin gene triplication. Our PCR assay thereby represents a simple and rapid method for both the characterization of α -thalassemia and the screening of α -triplication.

40. Simultaneous real-time detection of HLA-B*27 using the Olerup and Dominguez primer sets

M.A.C. BROEREN, D. BIERMANN, H.L. VADER
Klinisch Laboratorium, Máxima Medisch Centrum, Veldhoven

Introduction: The use of a single primer set to detect HLA-B*27 can lead to false positive or negative results.¹ Therefore the SKML recommends the use of two sequence specific primers reported by Olerup (exon 2) and Dominguez (exon 3).^{2,3} We developed a PCR method for the Olerup primer set that runs on the same PCR program as our Taqman assay based on the Dominguez primer set. In this way both assays can be run simultaneously.

Methods: A Taqman probe was designed that binds to the 144 bp amplicon that is formed when the Olerup primers are applied to a positive sample. To safeguard against false negative results a primer pair and taqman probe for the β -globin gene were included. The PCR program applied in our laboratory for the taqman-based assay using the Dominguez primers was also applied to the Olerup primer/probe set.

Results: Fluorescence curve analysis on a Roche Lightcycler 2.0 platform showed clear identification of HLA-B*27 positive samples and no discrepancies with the Dominguez assay. Initially 40 positive samples were compared. The SKML quality control samples that appeared to be positive using the Dominguez primers but negative using the Olerup primers were also negative using this Taqman based Olerup assay.

Conclusion: A Taqman based assay using Olerup primers for the detection of HLA-B*27 has been developed. The program is identical to the Taqman assay using Dominguez primers, which allows for parallel analysis in a single run.

Literature: 1. Eidfjord H.H.M. et al. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009, 34: 74 (abstract). 2. Dominguez O. et al. *Immunogenetics* 1992, 36: 277-282. 3. Olerup O. *Tissue Antigens* 1994, 43: 253-256.

41. Automated genomic DNA extraction from saliva using QIAxtractor

H. KEIJZER¹, S.C. ENDENBURG¹, M.G. SMITS², M. KOOPMANN³, J.M.T. KLEIN GUNNEWIEK¹
Department of Clinical Chemistry and Hematology¹, Department of Neurology², Department of Pharmacology³, Hospital Gelderse Vallei, Ede

Introduction: Venipuncture is an invasive procedure in order to obtain whole blood to get high quality and sufficient amounts of genomic DNA. Obtaining DNA from non-invasive sources is preferential to the patient, medical doctor and researcher. Saliva collected with cotton swabs (Salivette[®]) is increasingly used to study chemical compounds and it can also be used as a source for DNA extraction. However, extracting DNA from Salivettes is very laborious and time consuming. We therefore

developed a protocol for automated genomic DNA extraction from saliva collected in Salivette[®] using the QIAxtractor.

Methods: Saliva was collected by chewing on a Salivette[®] for 1-2 minutes. A total of 70 samples, collected from healthy volunteers, were extracted with the QIAxtractor robot and a Qiagen DX reagent pack. Quantity and quality was assessed with UV-spectrometry and real-time PCR (substitution at position -729 in the CYP1A2 gene).

Results: The average DNA concentration from the saliva samples was 6.0 µg/mL (95% CI 5.4-6.6 µg/mL) and in 100% of the saliva samples PCR products were detected with a average cycle threshold of 23.1 (95% CI 22.6-23.6).

Conclusion: DNA can be extracted in sufficient amounts from saliva using Salivette® with a fully automated system and a short turn-around time. A real-time PCR can be conducted with those samples.

Categorie 1 Analytisch

Overigen

42. Het effect van Hemo-Form siliconenpasta voor capillaire bloedafname op laboratoriumuitslagen

R.H. STOKWIELDER, M. WESSELING, K.M.K. de VOOGHT

Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht

Inleiding: Vanwege het niet meer leverbaar zijn van Hemade, en de grote vraag naar een goed alternatief, hebben wij onderzocht of Hemo-Form (Ljungberg & Kogel AB), een siliconenpasta voor capillaire bloedafname, (immuno)chemische of hemocytometrische bepalingen stoort.

Methode: Materiaal uit Li-heparinecups, -buisen, stolcups en stolbuisen is getest op een Beckman DxC/DxI analyzer. Hemocytometrie is uitgevoerd mbv de Abbott Cell-Dyn Sapphire. Volbloed is evt gecentrifugeerd mbv de Hettich Rotanta 460S (kamertemperatuur, 10 minuten, 1861g). Experiment 1: 20, 40 of 80 µl Hemo-Form is toegevoegd aan Li-heparine buizen, Li-heparinecups, stolcups en citraatcups met bloed. Na afdraaien is beoordeeld of Hemo-Form pipetteren zou kunnen beïnvloeden. Experiment 2: Bloed uit vier EDTA buizen is op de Sapphire in CBC+RETC mode gemeten. Hierna is minimaal 100 µl Hemo-Form toegevoegd, gemengd en opnieuw gemeten. Experiment 3: Bij twee vrijwilligers zijn elk 2 Li-heparine en 2 stolbuisen afgenomen. Aan één Li-heparinebuis en één stolbuis van beide

vrijwilligers is een beetje Hemo-Form toegevoegd. Na centrifugeren en verwijderen van het vliesje Hemo-Form zijn alle beschikbare (immuno)chemieparameters gemeten.

Resultaat: Experiment 1 Bij cups en buizen is er al bij 20 µl sprake van vorming van een laagje Hemo-Form op het plasma/serumoppervlak. Dit kan voor pipetteerproblemen zorgen. Experiment 2 Hemocytometrische bepalingen worden niet gestoord door Hemo-Form. Experiment 3 Voor analytische storing van Hemo-Form op (immuno)chemieparameters is geen aanwijzing gevonden.

Conclusie: De gangbare (immuno)chemische en hemocytometrische laboratoriumbepalingen worden analytisch niet gestoord door de aanwezigheid van Hemo-Form. Wel moet, vanwege mechanische storingen, vermeden worden dat onnodig veel Hemo-Form in het monstermateriaal terecht komt. Omdat er normaal maar zeer weinig siliconenpasta op de huid gesmeerd wordt, lijkt de toepassing van Hemo-Form bij capillaire bloedafname veilig.

43. Het effect van chymotrypsine op de viscositeit van semen en motiliteit van zaadcellen

C. BEIJER, A.J. van der PLAS

Klinisch Chemisch Laboratorium, Rijnland Ziekenhuis, Leiderdorp

Inleiding: Recent heeft de Werkgroep Semen (NVKC/KLEM) een protocol opgesteld voor de (laboratorium)controle na vasectomie (1). In dit protocol wordt gemeld dat de werkgroep nog geen uitspraak doet over het gebruik van enzymen ter verlaging van de viscositeit van semen, immers het effect op de viscositeit van semen en op de motiliteit van zaadcellen is niet goed vastgesteld. Verlaging van de viscositeit kan noodzakelijk zijn om een homogener monster te verkrijgen met een betere verdeling van zaadcellen wat een betrouwbaardere telling mogelijk maakt. Hier beschrijven wij op kwantitatieve wijze het effect van chymotrypsine op de viscositeit van semen en op de motiliteit van zaadcellen.

Methode: De activiteit van chymotrypsine werd bepaald volgens Delmar et al (2). Chymotrypsine (C4129) en andere benodigde reagentia werden verkregen van Sigma. Viscositeitsmetingen werden verricht met een viscositeitsmeter (Brookfield, MA, USA) bij 37°C.

Resultaat: Het referentie-interval voor de viscositeit van semen

(n=70) is vastgesteld als 2,2-7,2 cP. Na toevoegen van chymotrypsine (12,5 x 10 E3 U/l) daalt de viscositeit gemiddeld van 4,7 naar 2,7 cP (n=40). In monsters met een verhoogde viscositeit (>7,2 cP) daalt deze naar waarden binnen het referentie-interval (2,2-7,2 cP). Chymotrypsine heeft geen negatief effect op de motiliteit (A+B) van zaadcellen (n=40).

Conclusie: Toevoegen van chymotrypsine aan semen leidt tot een significante daling van de viscositeit zonder een negatief effect op de motiliteit van zaadcellen. Door de verlaging van de viscositeit van semenmonsters met een verhoogde viscositeit worden homogener monsters verkregen met een betere verdeling van zaadcellen hetgeen een statistisch betrouwbaarder telling oplevert.

Literatuur: 1. Werkgroep Semen NVKC/KLEM. Laboratorium praktijkrichtlijn controle na vasectomie, 2009. 2. Delmar et al. Anal Biochem 1979; 99: 316.

44. Evaluation of the recently developed RAPIDpoint 350

J.A.P. BONS^{1,2}, M.J.J. CLAES-OBEN¹, M.M. PELSERS^{1,2}, Y.M.C. HENSKENS², O. BEKERS¹

Department of Clinical Chemistry¹ and Hematology², University Hospital Maastricht

Introduction: RAPIDpoint (RP) 400/405 analysers were the first point-of-care testing (POCT) blood gas systems developed by Siemens. Recently this firm developed a new portable cartridge-based blood gas system, RAPIDpoint 350 (RP350). The aim of the present study was to compare the analytical performance of RP350 and RP405 with RAPIDlab 850 (Siemens) for blood gas and electrolyte analysis and LH750 cell counter (Beckman Coulter) for hemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct).

Methods: Arterial blood samples of 100 patients were analysed on all four instruments. Precision studies were performed using three levels of quality controls (QC's) (Siemens). QC's were measured in duplicate, four runs per day for a period of 5 days. Correlation and precision results were analysed using EP Evaluator software.

Results: Deming's regression correlation coefficients (CC) for RP350 were >0.98 for blood gas, Na⁺, K⁺, 0.92 for Ca²⁺, 0.84 and 0.85 for respectively Hb and Hct. CC for RP405 were

>0.97 for blood gas, Na⁺, K⁺, 0.83 for Ca²⁺, 0.94 and 0.93 for respectively Hb and Hct. Precision experiments yielded good coefficients of variations (CV's). Total CV's for RP350 were 0.1% for pH, <2.5% for pCO₂ and electrolytes, <8% for pO₂. CV's for RP405 were <0.1% for pH, <1% for electrolytes, <2% for pO₂ and pCO₂. CV's for both RAPIDpoints were slightly higher compared to the specifications.

Conclusion: RP350 is a compact system and easier for transport compared to RP405. CV's of RP405 are superior compared to RP350. In conclusion, both RAPIDpoints are suitable for POCT, the performance of the Ca²⁺ parameters can be improved when optimized by the firm. The Hb and Hct parameters are performing well on RP405 and less on RP350.

45. Stability of cardiac troponin T in human serum or plasma spiked with NIST standard reference material 2921

A.M.A. MINGELS¹, N. de JONG², W.F.P.M. van den HOF¹, P. MATHEW¹, C.M. COBBAERT³, M.P. van DIEIJEN-VISSER¹

Department of Clinical Chemistry¹, Maastricht University Medical Center; Department of Clinical Chemistry and Hematology², Amphia Hospital, Breda; Department of Clinical Chemistry³, Leiden University Medical Center

Introduction: Ultimate standardization of troponin T (cTnT) and especially troponin I (cTnI) results is dependent on the availability of an international recognized reference system. Recently, well characterized NIST standard reference material (SRM) 2921 became available. With this reference material European Quality Assurance Organizations (EQAS), such as the Dutch SKML, aim to monitor cTnT and cTnI standardization and harmonization.

Methods: Matrix-based pools from healthy controls (serum and heparin plasma) were spiked with NIST SRM 2921, immediately incubated at 4°C and 37°C and aliquots were collected at 0 h, 0.5 h, 2 h, 6 h, 24 h, 48 h, and 72 h. cTnT stability was investigated using a Cobas 6000 analyzer (Roche Diagnostics). In addition, immunoprecipitation was followed by SDS-PAGE and cTnT Western Blot detection using the original Roche catcher (M11.7) and detector antibody (M7).

Results: Overall cTnT recovery remained constant for NIST SRM 2921 incubated at 4°C. Western Blot detection confirmed no time-dependent degradation of cTnT in heparin plasma, but revealed time-dependent instability in serum with decreasing intact cTnT of 37 kD and increasing fragments of 27 kD and 15 kD. Incubation at 37°C resulted in decreased cTnT recovery already after 6 h and Western Blot detection confirmed the higher extent of cTnT degradation.

Conclusion: We show that cTnT in the NIST SRM 2921 standard is susceptible to time-dependent degradation when spiked in serum but not in heparin plasma, even at 4°C. For standardization purposes, spiked heparin plasma seems to be preferable. Further characterization of cTnI incubation mixtures should confirm if NIST SRM 2921 is indeed suitable for standardization of cTnI assays.

46. Drastisch effect van een cryoglobuline op bloedcel telling, erythrocyten morfologie en M-proteïne concentratie

J.F.W. KEUREN, M.T.M. RAIJMAKERS, M.P.G. LEERS
Afdeling Klinische Chemie, Atrium Medisch Centrum Heerlen

Inleiding: Een 85-jarige vrouw wordt door de huisarts met een niet op antibiotica reagerende koorts naar ons ziekenhuis verwezen. Macroscopisch is haar bloed visceus. Onze hematologie analyzer (Sysmex XE 2100) meet een Hb van 6,5 en een verhoogde trombocytconcentratie (1546x10⁹/L, impedantie modus). Overmeten in de optische modus geeft een normale trombocytconcentratie. Het gemaakte bloeduitstrijkje toont poikilocytose met compleet verlies van de normale erythrocyten morfologie. Op basis van de hemocytometrie uitslagen en viscositeit besloten wij bij deze patiënt vervolgonderzoek uit te voeren.

Methode: Er wordt een trombocytentelling (impedantiemodus), bloeduitstrijk en M-proteïne detectie en kwantificering (Capillaire elektroforese, Sebia) uitgevoerd bij kamertemperatuur, 37°C en na afkoelen tot 4°C.

Resultaat: Na 30 min incubatie van EDTA-bloed bij 37°C wordt een normale trombocytconcentratie (301x10⁹/l) gemeten en is de erythrocytenmorfologie in de bloeduitstrijk nor-

maal. Capillaire elektroforese van serum bij kamertemperatuur toont een monoclonaal IgM kappa aan (10,9 g/l). Wanneer we bloed echter laten stollen bij 37°C en vervolgens serum analyse uitvoeren is de concentratie M-proteïne verdrievoudigd (28,3 g/l). Indien we dit serum afkoelen tot 4°C daalt de M-proteïne concentratie (1,1 g/l).

Conclusie: Onze patiënte heeft een M-proteïne IgM Kappa dat zich gedraagt als een cryoglobuline. Het is bekend dat een cryoglobuline kan interfereren met klinisch chemische testen. Effecten op hematologische testen zijn minder beschreven. Precipitatie zorgt voor artificieel verhoogde trombocytconcentratie. Verder zorgt het cryoglobuline voor een sterk afwijkende erythrocytenmorfologie, niet passend bij reeds beschreven poikilocytose. Tijdige herkenning van een cryoglobuline is belangrijk, anders kan een M-proteïne (gedeeltelijk) gemist worden. Een maligniteit kan dan aangezien worden voor een "monoclonal gammopathy of undetermined significance".

47. Evaluation of the Accu-Chek Performa meter system technology

J.H. GERRITS, R.F.M. OUDE ELFERINK, J.W. SMIT
LabNoord, Martini Hospital, Groningen

Introduction: Measurement of blood glucose concentrations using point-of-care (POC) blood monitoring systems is used widely in patients with diabetes mellitus. We evaluated the imprecision and method comparison of the Accu-Chek Performa (ACP; Roche; modified glucose dehydrogenase) strips compared to Precision PCx (Abbott; glucose oxidase method) and reference analyzers, LX (Beckman Coulter; glucose oxidase method), ABL625 (Radiometer; glucose oxidase method) and Modular (Roche; hexokinase method).

Methods: Imprecision was analysed using external controls (BioRad; low and high concentration). To assess the method comparison of the ACP strip, at least 20 heparinized blood samples were analysed to determine glucose concentration using the POC meters and reference analyzers. Additionally, the hematocrit influence of the ACP on glucose concentration was studied using heparinized peripheral blood from healthy individuals. Blood samples were prepared at different hematocrit levels ranging from 0.31-0.73 l/l. Low and normal blood glucose concentrations were studied.

Results: The ACP strip demonstrated imprecision that was not different according to the manufactures Performa strip manual (Low: CV, 2.8%; High: CV, 2.9%). Only ACP strip showed good correlation with the reference methods (LX-ACP, $y=1.02x+0.07$, $r=0.98$, $n=20$; ABL-ACP, $y=1.02x+0.10$, $r=0.96$, $n=20$; Mod-ACP, $y=1.01x-0.25$, $r=0.98$, $n=40$). The ACP strips were not affected by hematocrit interferences at low and normal glucose concentration.

Conclusion: The Accu-Chek Performa meter system has an acceptable imprecision and method comparison compared to reference methods. It seems that the Performa strips were not affected by analytical interferences, such as hematocrit. However, additional studies for hematocrit interferences have to be performed using peripheral blood of patients with diabetes mellitus.

48. Influence of the storage temperature on timed urine sample

E.A.T. van BERKEL, A.K. BOER
Clinical Laboratory, Catharina Hospital, Eindhoven

Introduction: An advantage of timed urine samples is that it minimizes the short term biological effects on analytes. A prerequisite is that the collected urine should be kept in the refrigerator. However, the storage of urine at 4°C is very unpractical and is often uncared for. In common practice the urine specimen is kept at room temperature (RT), which may influence the stability of analytes due to chemical decomposition or bacterial growth. A potential solution to this problem is to add preservatives before collection. We investigated the effect of storage at RT and bacterial growth on a panel of chemical analytes.

Methods: Urine containing bacteria was collected and stored either at RT or in the presence or absence of sodiumazide to prevent further bacterial growth. At time point zero, after 24 and 72 hours urine samples were analyzed for bacterial growth, albumin, amylase, calcium, chloride, protein, inorganic phosphorus, potassium, creatinine, magnesium, sodium and ureum concentration.

Results: Similar levels of most analytes tested after storage at 4°C for up to 72 hours compared to time point zero were detected. In contrast, a positive bias in the concentration of several analytes after incubation at RT compared to time point zero was observed. The addition of bactericide levels of sodiumazide before incubation of the urine at RT did not diminish this bias, indicating that bacterial growth alone could not account for the observed bias.

Conclusion: This study under scribes the necessity of storage of timed urine samples at 4°C rather than at RT and one should be aware of the bias introduced in analyte concentration in timed urine samples due to unavoidable improper storage of urine by the patient.

49. 'Side by side' technische en analytische vergelijking automatische urinesediment analyzers UF1000i, iQ200 en SediMax

M. VEUGER, F. FLORENTINA, M. SLINGER, J. SCHIPPEREN, N. de JONGE
Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, HagaZiekenhuis, Den Haag

Inleiding: De handmatige urinesediment analyse onder de microscoop is een arbeidsintensieve en weinig gestandaardiseerde methode. Er zijn verschillende systemen voor een geautomatiseerde analyse op de markt. Dit kent belangrijke voordelen: kwaliteitsverbetering door verdwijnen van analist-tot-analist variatie en automatische rapportage in het LIS, tijdswinst door wegvallen centrifugestap, automatische doorvoer van dipstick-reader en korte analysetijd en vermindering benodigde urine-volume (voordeel pediatische monsters). Wij evalueerden de diagnostische karakteristieken, het gebruiksgemak en de bijdrage aan verbetering van de efficiency van drie systemen: UF1000i (Sysmex), iQ200 (Instrumentation Laboratory) en SediMax (Menarini).

Methode: De UF1000i is gebaseerd op flowcytometrie. Na aankleuring van celkernmaterialen wordt de impedantie, scatter en fluorescentie gemeten en weergegeven in verschillende scatterplots. De iQ200 werkt via het principe van een geautomatiseerde beeldherkenning. Urine wordt in een flowcell belicht door een stroboscoop gevolgd door 500 beeldopnames.

Identificatie vindt plaats op basis van grootte, vorm, contrast en structuur. De SediMax is gebaseerd op beeldherkenning. Urine wordt gecentrifugeerd in een detectiecuveet waarna digitale opname van 15 gezichtsvelden. Identificatie gebaseerd op basis van grootte, vorm, contrast en structuur.

Resultaat: Intra- en interrun precisie werd geanalyseerd met een ICLS EP5 protocol. De interrun VC (%) voor erythrocyten (gemiddeld 175/gezichtsveld) en leukocyten (gemiddeld 120/gezichtsveld) bedragen respectievelijk 19,0/10,7, 15,5/32,2 en 57,5/11,0 voor de SediMax, UF1000i en iQ200 vergeleken met 32,7/23,9 voor microscopische bepaling. Methode vergelijking op 130 urinemonsters volgens een EP9 protocol (referentie microscopie) resulteerde in een Cohen's Kappa (%) voor erythrocyten/leukocyten van 17,4/21,9, 6,8/15,5, en -0,6/19,9 voor de SediMax, UF1000i en iQ200 respectievelijk.

Conclusie: De precisie van de apparatuur is beter dan die van microscopie. Momenteel worden de data opnieuw geëvalueerd op de SediMax met verbeterde software waarna definitieve conclusies getrokken worden.

50. Efficiënt screening algoritme voor detectie van monoclonale gammopathie

R.M.J. HOEDEMAKERS¹, H.A.M. MARTENS¹, J.F.M. PRUIJT²
Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie¹, Afdeling Interne Geneeskunde², Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

Inleiding: De CBO-richtlijn Monoclonale Gammopathie (MG) adviseert bij aanvraag 'screening M-proteïnen' analyse van eiwitelektroforese (ES) en immuunfixatie (IF) in serum en urine (CBO-panel). Recente literatuur laat zien dat nieuwe kwantitatieve bepaling vrije lichte ketens in serum (sVLK) de hoogste sensitiviteit heeft voor detectie monoclonale VLK. Doel van deze studie is het optimaliseren van een screening algoritme voor detectie van MG.

Methode: Gedurende 5 maanden werd de sVLK bepaling (The Binding Site; BN-prospec-Siemens) standaard toegevoegd aan CBO-panel (ES/IF Hydrasys-Sebia). Alleen patiënten met zowel urine als serum werden geïncludeerd in studie (n=400). Vier screening algoritmes werden retrospectief geanalyseerd in relatie tot optimale detectie van MG: (I) CBO-panel, (II) CBO-panel + sVLK, (III) serum-ES/IF + sVLK en (IV) serum-ES/IF + urine-[TE] + sVLK (alleen sVLK indien urine-[TE] > 0,2 g/L en/of M-proteïne aanwezig).

Resultaat: (I) Het CBO-panel detecteerde in 61/400 (15%) monsters een M-proteïne. De bijbehorende diagnoses waren MM (n=16), lichte keten-MM (n=4), MGUS (n=27), andere hematologische ziekten (n=2) en andere diagnoses (n=12). (II) Toevoeging sVLK aan CBO-panel resulteerde in detectie M-proteïnen bij 67/400 monsters. Bij 5/6 patiënten met alleen afwijkende kappa/lambda-ratio kon geen MG-gerelateerde diagnose worden vastgesteld. De andere patiënt was bekend met AL-amyloidose. (III) Gebruik van serum-ES/IF en sVLK resulteerde in detectie M-proteïnen bij 66/400 monsters (66/67

conform (II)). (IV) Selectief inzetten van sVLK op basis van urine-[TE] resulteerde in detectie M-proteïnen bij 61/400 monsters (61/61 conform (I)). Reductie in aantal uit te voeren sVLK bedroeg 52% (207/400).

Conclusie: Serum-ES/IF in combinatie met sVLK resulteert in optimale detectie van M-proteïnen. Urine-IF kan hierdoor komen te vervallen (cave: amyloidose). Selectief beleid voor inzetten van de sVLK op basis van urine-[TE] bevordert verdere efficiëntie.

51. Pro-atrial natriuretic peptide, pro-adrenomedullin and pro-endothelin-1 in subjects with Mild Cognitive Impairment

M. SCHOORL, M. SCHOORL, P.C.M. BARTELS

Department for Clinical Chemistry, Haematology & Immunology, Medical Center Alkmaar

Introduction: Mild Cognitive Impairment (MCI) is considered to be a prodromal phase of Alzheimer Disease (AD). Microvascular inflammations within the brain precede neurodegeneration. C-terminal pro-endothelin-1 (pro-ET), midregional pro-adrenomedullin (pro-ADM) and pro-atrial natriuretic peptide (pro-ANP) are markers for endothelial vasodilatory function. Understanding of inflammatory pathways yield evidence for early diagnosis. Because no single biomarker is without limitation, multi-marker panels are applied for risk assessment and appropriate therapy.

Methods: Blood samples are collected from 145 subjects with MCI, aged 70-80 years. Healthy subjects aged 45- (n=18) and 70+ (n=34) are selected as reference groups.

Results: Concentrations of the multimarker panel pro-ADM (nMol/L), pro-ANP (pMol/L) and pro-ET (pMol/L) are described in the same sequence and as mean±SD. In case of MCI concentrations of pro-ADM, pro-ANP and pro-ET amounted to 0.70±0.16, 134±71 and 83±17 respectively. Results of the

multimarker panel are obviously increased compared with the 45- subjects' group (0.16±0.07, 46±20 and 37±22, p=0.000). Mean concentrations of the multi-marker panel in MCI do not deviate from the 70+ subjects group (0.70±0.18, 119±63 and 81±21). Results beyond the upper levels of the 70+ reference range of pro-ADM, pro-ANP and pro-ET are established in respectively 8%, 11% and 4% of the MCI subjects. Only in one subject with MCI three biomarkers are elevated simultaneously. Two elevated biomarkers occur in 2 subjects with MCI and in 18 subjects only one different biomarker is elevated. In the 70+ reference group 4 subjects with one elevated result occur.

Conclusion: Increased concentrations of the multimarker panel support the hypothesis of endothelial vasodilatory dysfunction in the elderly. Multimarkers together with clinical cognition scores may yield a tool in the follow up of the elderly.

Literature: 1. Thijssen: J Physiol 2008;586:319-24.

52. Pro-Endotheline-1 clearance in subjects with haemodialysis treatment

M. SCHOORL, M. SCHOORL, P.C.M. BARTELS

Department for Clinical Chemistry, Haematology & Immunology, Medical Center Alkmaar

Introduction: A proinflammatory state may occur after secretion of cytokines from monocytes, macrophages, fibroblasts and endothelial cells. Phagocytosis of bacteria and cell remnants initiates release of cytokines. Understanding of pathways concerning inflammation supports evidence for early intervention. Secretion of endotheline-1 is regulated by endothelial cells. Due to extracorporeal circulation in case of hemodialysis (HD), shear stress or stimuli such as complement, granulocytes, platelets and free radicals may induce secretion of endothelin-1 and endothelial cell deterioration. Pro-endothelin-1 (pro-ET) is a precursor of endotheline-1, which reveals more stability ex vivo. During HD longitudinal assessment of pro-ET is monitored in order to evaluate endothelial integrity in case of the extracorporeal circuit.

Methods: Twenty five subjects are dialysed with application of a low-flux polysulphone® membrane F-8 using Fragmin® as anticoagulant intravenously. Blood samples are collected at t=0, t=5 and t=150 minutes.

Results: Pro-ET concentrations in HD subjects (mean±SD) amounted to 247±43 pMol/L at t=0. Pro-ET concentrations are obviously increased if compared with healthy subjects (66±30 pMol/L, p=0.000). Comparison with a particular reference group of subjects with uraemia (208±25 pMol/L) did not reveal a statistical significant deviation in case of HD subjects at t=0. After starting HD, concentrations of pro-ET immediately decreased to 196±40 pMol/L at t=5 till 107±31 pMol/L at t=150 minutes.

Conclusion: We hypothesize that increased pro-ET levels concentrations indicate ongoing stress on endothelial cells amongst others due to uremia. The observed decrease during HD treatment is probably caused by clearance of pro-ET or aspecific protein adherence across the dialyser.

Literature: 1. Tomi M. et al: Ren Fail 2008;30:836-42.

53. Digitale beeldverwerking: kwaliteitsverbetering van de urinediagnostiek door automatisering van de sedimentanalyse

S.M. SMITS, G.J.M. van der HAAS, I.A. HAAGEN, A. LEYTE, E.H. SLAATS
Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Inleiding: Urinesedimentanalyse levert, naast biochemische parameters en het klinische beeld, additionele informatie over pathologie van de nieren en urinewegen. Manueel uitgevoerd microscopisch sedimentonderzoek is niet gestandaardiseerd en tijdrovend. Het doel van deze studie is om vast te stellen of automatisering van de sedimentanalyse leidt tot verbeterde monsterverwerking en kwaliteitsverbetering.

Methode: De IQ200 is een volledig geautomatiseerde urine microscopie analyser die gebruik maakt van digitale beeldverwerking (Flow Imaging Technology), waarbij partikels automatisch worden geïdentificeerd mbv Auto-Particle Recognition software. De prestaties van de IQ200 zijn vergeleken met de traditionele microscopie in 116 patiëntenmonsters. Tijdens de evaluatie zijn de precisie, partikelidentificatie van klinisch relevante partikels, tijdswinst, en de gebruiksvriendelijkheid beoordeeld.

Resultaat: De analytische prestaties van de IQ200 waren goed (inter-run variatie bij 1004 erythrocyten/ μl = 3,4%; analytische gevoeligheid = 4 partikels/ μl). Ondanks dat de overall auto-

classificatie van de IQ200 goed is, blijft het kritisch reviewen van de IQ200 data door goed-getrainde analisten erg belangrijk. De analysetijd van het sediment kon worden teruggebracht van ca. 15 naar 5 minuten. Automatische koppeling tussen de urinestrip en sedimentanalyser kan de tijd tussen stripanalyse en sedimentanalyse aanzienlijk terugbrengen van gemiddeld 60 naar 5 minuten. De bediening van het apparaat was erg eenvoudig en gebruiksvriendelijk.

Conclusie: Door standaardisatie en goede analytische prestaties van de IQ200 worden resultaten betrouwbaarder en preciezer. Door de snellere monsterverwerking wordt de werkdruk lager en de kwaliteit van de urine blijft beter behouden. Omdat de resultaten automatisch aan het LIS gerapporteerd worden, kunnen manuele invoerfouten worden voorkomen. Alle data wordt digitaal opgeslagen zodat her-evaluaties en onderwijs mogelijk zijn. Samenvattend zal de kwaliteit, de workflow, en de interpretaties van het urineonderzoek verbeterd worden bij het automatiseren van urinesediment onderzoek.

54. Invloed van siliconengelen voor capillaire afname van bloed op klinisch chemische bepalingen

J. CURVERS, P. van KAATHOVEN, A.K. BOER
Algemeen Klinisch Laboratorium, Catharina-ziekenhuis, Eindhoven

Inleiding: Een capillaire afname kan sterk worden vergemakkelijkt door het gebruik van vet-achtige substanties, die de druppelvorming bevorderen. Bij het gebruik van dergelijke hulpstoffen bestaat de mogelijkheid dat de samenstelling van het bloed zodanig verandert, dat dit resulteert in analytische verstoringen. Tot nog toe werd in verscheidene ziekenhuizen de hemade-gel gebruikt van Biolyon (via Oxoid, Dardilly cedex Frankrijk). Deze gel is vrijgegeven voor capillaire bloedafname, maar kan momenteel niet worden geleverd. Mogelijke alternatieven zouden kunnen zijn; vaseline en dermatix. Van deze "gelen" is echter nooit beschreven welke analytische effecten ze zouden kunnen hebben.

Methode: Vier verschillende afnamecondities (afname met hemade-gel, met vaseline, met Dermatrix of zonder "vetachtige" gel) werden bij vijf gezonde vrijwilligers met elkaar vergeleken. Het bloed werd opgevangen in alle gangbare type afnamecupjes en vervolgens geanalyseerd op de meest aange-

vraagde type bepalingen. Het testpakket bestond uit: natrium, kalium, chloride, bicarbonaat, pO₂, pCO₂, hemoglobine, erythrocyten, trombocyten, differentiatie, glucose, vrij T₄, TSH, serum indices en CRP.

Resultaat: Met behulp van een chi-square toets (Kruskal-Wallis) werd geen significant verschil gevonden tussen de verschillende afnamecondities. Ook na vergelijking van hemade en dermatix met behulp van een mann-witney test werd geen significant verschil gevonden. In het gebruikersgemak werden wel kleine subjectieve verschillen gevonden. De Hemade pasta heeft de dikste consistentie, maar vaseline werkte even goed. De Dermatrix is een verdunde siliconenpasta en wanneer dun uitgesmeerd tevens geschikt voor druppelvorming bij capillaire afname.

Conclusie: Uit dit onderzoek blijkt dat zowel vaseline als silicone-pasta geschikt zijn voor de capillaire afname van bloed. De gelen hebben geen effect op de onderzochte laboratoriumbepalingen.

55. Electrolyte-balanced heparin blood gas syringes introduce a significant bias in the measurement of positively charged electrolytes

E.A.T van BERKEL, V. SCHARNHORST
Clinical Laboratory, Catharina Hospital, Eindhoven

Introduction: Commercially available syringes for the analysis of blood gas and electrolytes in whole blood contain heparin as an anticoagulant, which has the disadvantage of quenching positively charged electrolytes. To prevent the introduction of a negative bias on electrolyte concentration, electrolyte-balanced blood gas syringes are commonly utilized. However, despite the use of electrolyte-balanced blood gas syringes, heparin-induced pre-analytical errors are still found. To investigate whether a discrepancy in results from electrolyte-balanced syringes originates from a difference in manufacturing processing of balanced heparin, we evaluated several commercially available syringes for the bias on positively charged electrolytes in whole blood.

Methods: Venous blood was collected from 16 healthy volunteers in Beckton Dickinson (BD) vacutainer without additives (non-heparinized) (NH) and Ca²⁺, K⁺, Na⁺ concentration was

determined on a blood gas analyser (ABL 735 Radiometer). Subsequently, 1 ml blood was collected in three different blood gas syringes: Preset by BD, Monovette by Sarstedt (SS) and Pico 50-2 by Radiometer (RM) and measured directly.

Results: The Ca²⁺ and Na⁺ concentration was significantly lower in blood collected in syringes from BD and SS compared to the concentration in NH blood. In contrast, Ca²⁺ measured in blood collected in RM syringes was identical to values obtained from NH blood, while Na⁺ measured in blood collected in RM syringes showed a minimal bias. K⁺ levels in whole blood collected in RM, BD and SS syringes were repeatedly and significantly lower compared to those found in NH blood.

Conclusion: In conclusion, one should be aware of the bias introduced by the use of blood gas syringes for the analysis of electrolytes, despite the fact that these syringes nowadays contain electrolyte-balanced heparin.

56. Validatie fecale immunochemische occult bloed testen t.o.v. Hemoccult Sensa

J.S. KAMPHUIS, K.E.C. BLOKLAND, J.D.E. van SUIJLEN

Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium, Gelre ziekenhuizen, Apeldoorn

Inleiding: Het aantonen van occult bloed in feces gebeurt momenteel met de Hemoccult Sensa (HS) test die gebruik maakt van de peroxidase werking van hemoglobine (Hb). Nadelen van deze test zijn de aspecificiteit en de duur tot verkrijgen uitslag (>48 uur). Voordelen van het gebruik van een immunochemische test zijn daarom nader onderzocht.

Methode: Twee immunochemische testen (Hexagon OBTI en Fecal Blood Test) zijn vergeleken met de HS-test: - Een methodevergelijk t.o.v. HS, n=45. - Het bepalen van de ondergrens van de afzonderlijke testen: analyse van feces monsters 'gespiked' met bloed (Hb)(n=5).- De invloed van bewaarcondities van feces op resultaat van de immunochemische testen. Feces monsters (n=5) zijn 'gespiked' met Hb op het niveau van de detectiegrens, bewaard bij -20C, 4C en kamertemperatuur (KT) en nadien geanalyseerd.

Resultaat: Methodevergelijk: Van de 45 bepalingen waren 37 monsters negatief met zowel beide immunochemische testen

als de HS-test en 5 positief met alle testen. Drie positieve monsters met beide immunochemische testen waren negatief met de HS-test, met als verklaring de lagere detectiegrens van de immunochemische test. De immunochemische testen zijn gebruikersvriendelijker en hebben een kortere analyseduur dan de HS-test (resp. 15 min. en 48 uur). Ondergrens: De ondergrens van de immunochemische bepalingen ligt een factor 6 lager dan die van de HS-test (resp. 50 en 300 µg/gr feces). Bewaarcondities: Bewaren van feces gedurende 24, 48 en 72 uur bij verschillende temperaturen (-20C, 4C en KT) heeft geen aantoonbare invloed op het eindresultaat op het niveau van de onderste detectiegrens.

Conclusie: De immunochemische testen (Hexagon OBTI en Fecal Blood Test) zijn gevoeliger, specifiekere, gebruikersvriendelijker en sneller dan de HS-test, waarbij geen verschil in gebruikersvriendelijkheid is geconstateerd tussen beide immunochemische testen.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Dienstverlening, doorlooptijden, workflowanalyse

57. Toepassing van CYP2D6 en CYP2C19 genotypering in de (psychiatrische) kliniek

H. LOOVERS, M. van WEELDEN, J. van der WEIDE

St. Jansdal Ziekenhuis, Harderwijk en GGz Meerkanten, Ermelo

Inleiding: Genetische variatie in de CYP450 enzymen CYP2D6 en CYP2C19 is verantwoordelijk voor een groot deel van de variatie in afbraak en effectiviteit van medicijnen. Dit geldt met name voor antidepressiva en antipsychotica. Routinematige genotypering voor CYP2D6 en CYP2C19 vindt echter maar beperkt plaats. Dit komt mede door het gebrek aan nationale richtlijnen voor het toepassen van genotypering. Op deze poster zal het vernieuwde protocol van de psychiatrische instelling GGz Meerkanten toegelicht worden dat problemen wegens gen-drug interacties zoveel mogelijk moet beperken.

Methode: Genotypering van CYP2D6 en CYP2C19 vindt routinematig plaats voor patiënten opgenomen in GGz Meerkanten. Ook TDM wordt al vele jaren routinematig toegepast. Bij spiegels meer dan 20% buiten het therapeutische gebied wordt door de klinisch chemicus en apotheker gecontroleerd op gen-drug en drug-drug interacties. Sinds maart 2008 worden

mogelijke gen-drug interacties meer preventief bewaakt door bij opname de medicatielijst van langzame en snelle metaboliseerders te controleren en door bij wijziging van medicatie het genotype te controleren. Adviezen aan artsen worden gegeven op basis van de KNMP richtlijnen.

Resultaat: Ongeveer 1000 patiënten worden jaarlijks opgenomen. In de periode maart 2008 tot november 2009 is 1037x preventief gecontroleerd op gen-drug interacties. Een waarschuwing aan de arts werd in 57 gevallen verstrekt (36x bij opname, 21x bij medicatieverandering). De meeste adviezen betroffen een langzame metaboliseerder die venlafaxine, nortriptyline, clomipramine, risperidone of haloperidole voorgeschreven kreeg.

Conclusie: De gegevens laten zien dat met een goede samenwerking tussen laboratorium en apotheek waardevolle adviezen kunnen worden gegeven aan behandeld arts, zowel bij opname als tijdens de behandeling.

58. Is the waste based simulation a new approach to improve complex workflows? Proof of principle in the diagnostic cyclus

F.A.L. van der HORST¹, R. WIDJAYA², M.D. SECK²

Department of Clinical Chemistry¹, Reinier de Graaf Groep, Delft; Faculty of Technology, Policy and Management², Technical University of Delft

Introduction: In health care Lean Six Sigma (LSS) is used to improve the efficiency of processes. With LSS so called 'waste', which is an inappropriate use of resources, can be identified and quantitated. With LSS functional requirements can be defined to reduce wastes. Without implementation of a digital working environment, LSS is less suited to evaluate the suitability of such system in a complex multi-actor system. Process simulation can be used for this and combining simulation with LSS may provide an efficient solution for business process redesign. A proof of principle of this waste-based simulation is demonstrated for the diagnostic cycle of laboratory testing.

Methods: Waste and system requirements were identified and quantitated by means of LSS techniques such as interviewing the actors (e.g. doctors, clerks and medical technicians) and by applying user case analysis. Next it was established which (informational) resources in the system were needed to reduce

these types of wastes. Based on these data a simulation model was assembled (Arena™ software package), by which the impact was evaluated on types of waste such as redundant blood draws and redundant activities.

Results: With the LSS outcome as input for the simulation model we were able to evaluate the system suitability of the proposed digital working environment in the diagnostic cycle. The model clearly shows that significant reduction of redundancy can be achieved if the physician is properly informed during order entry about the diagnostic options.

Conclusion: Waste-based simulation provide a convenient way to establish the system suitability of digital working environments with respect to waste reduction and activity impact of actors.

Literature: Lean Six Sigma for Service and Healthcare. Jeroen de Mast et al, Beaumont Quality Publications, 2006.

59. Anemieprotocollen voor de eerste lijn in Nederland

W.P.H.G. VERBOEKET-van de VENNE, W.P. OOSTERHUIS, H.A. KLEINVELD, M.P.G. LEERS
Afdeling Klinische Chemie en Hematologie, Atrium Medisch Centrum Parkstad, Heerlen

Inleiding: Bij de vraagstelling anemie kunnen aan de hand van een protocol automatisch aanvullende testen worden uitgevoerd waardoor de diagnostiek wordt verbeterd. Dit protocol kan een afgeleide zijn van de NHG-Standaard Anemie (bijv. het LESA probleemgeoriënteerde aanvraagformulier) of een zelf ontwikkeld schema. Soms is het laboratorium intensiever betrokken bij de interpretatie door de testresultaten te voorzien van commentaar. Het beoogde effect van deze werkwijze is een snellere diagnostiek en minder belasting voor de patiënt. Het doel van dit onderzoek is het inventariseren van de toegepaste anemieprotocollen voor de eerste lijn in Nederland.

Methode: In totaal zijn 86 klinisch chemische laboratoria in Nederland benaderd (via e-mail, NVKC-forum en / of brief). Een drietal vragen werd gesteld: 1) Welk anemieprotocol voor de eerste lijn wordt gebruikt?, 2) Wanneer wordt dit anemieprotocol in gang gezet?, 3) Wordt het uitslagrapport voorzien van interpretatief commentaar?

Resultaat: Van 69 laboratoria ontvingen we een reactie, een respons van 80%. In 44 laboratoria werd een anemieprotocol voor de eerste lijn gehanteerd; in 18 laboratoria was geen anemieprotocol voorhanden en 7 laboratoria voerden geen diagnostiek uit voor de eerste lijn. Een voorlopige analyse van de protocollen liet een grote diversiteit aan diagnostische flow-schema's zien, variërend van een paar bepalingen tot een uitgebreide analyse van alle mogelijke oorzaken van anemie. Bij 27% van de laboratoria met een anemieprotocol voor de eerste lijn werden de resultaten voorzien van interpretatief commentaar.

Conclusie: Uit de resultaten kunnen we concluderen dat het harmoniseren van anemiediagnostiek voor de eerste lijn van groot belang is, met het oog op een eenduidig beleid voor huisartsen. Hierbij kan gedacht worden aan een richtlijn met betrekking tot het onderzoeken van de verschillende oorzaken van anemie.

60. Factors reducing hemolysis rates at the emergency department

I.C.A. MUNNIX¹, M. SCHELLART², C. GORISSEN², H.A. KLEINVELD¹
Departments of Clinical Chemistry¹ and Emergency², Atrium Medical Centre, Heerlen

Introduction: Re-collection of hemolyzed blood specimens delays patient care in overcrowded emergency departments. Our emergency department exhibited a higher hemolysis rate for the collection of blood samples than other departments. To decrease the number of hemolyzed samples, factors attributing to hemolysis of blood samples were evaluated and performance improving activities were investigated, including elimination of the first blood tube.

Methods: In total 150 patients were included in this study, 100 at the emergency department and 50 at the out-patient clinic. From every patient at the emergency department four subsequent blood samples were collected via intravenous catheters. A standardized data collection form was completed. Similarly, patient specimens were collected using the standard venipuncture procedure used at the out-patient clinic. Samples were processed and assessed for hemolysis and hemolysis-sensitive parameters using standard procedures by laboratory technicians.

Results: Only blood drawn through intravenous catheters resulted in hemolysis (16% of samples), mostly in the first sample, while the remaining tubes showed no hemolysis. Specimens collected through venipuncture exhibited no hemolysis. Blood draw collection factors with the highest hemolysis rates included 20-gauge intravenous catheters; blood drawing categorized as difficult and tourniquet time > 1 min.

Conclusion: Drawing blood through intravenous catheters was associated with significantly more hemolysis than standard venipuncture. Clinically meaningful factors associated with hemolysis rates included the use of a 20-gauge intravenous catheter size and tourniquet time. The number of hemolyzed specimens sent to the laboratory can be reduced by discarding the first blood tube. Changing blood collection practices can reduce hemolysis and thereby improve turn around time, patient care and staff efficiency.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Point-of-care testing

61. Six of eight HbA1c Point-of-Care instruments do not meet the general accepted analytical performance criteria

E. LENTERS-WESTRA^{1,2}, R.J. SLINGERLAND^{1,2}
Department of Clinical Chemistry¹, Isala klinieken, Zwolle; European Reference Laboratory for Glycohemoglobin², Zwolle

Introduction: HbA1c point-of-care (POC) instruments are widely used to provide rapid turnaround results in diabetic care centers. We investigated the conformance of various HbA1c POC instruments (In2it from Bio-Rad, DCA Vantage from Siemens, Afinion and Nycocard from Axis-Shield, Clover from Infopia, InnovaStar from DiaSys, A1cNow from Bayer and Quo-Test from Quotient Diagnostics) with generally accepted performance criteria for HbA1c.

Methods: The Clinical and Laboratory Standards Institute protocols EP-10, EP-5 and EP-9 were applied to investigate imprecision, accuracy and bias. Bias was assessed using three certified secondary reference measurement procedures and the mean of the three reference methods. Assay conformance with the National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) certification criteria, as calculated from analyses with two different reagent lot numbers for each HbA1c method, was also evaluated.

Results: Two of the eight manufacturers decided not to continue the evaluation due to disappointing EP-10 results. The total CVs from EP-5 evaluations for the different instruments with a low and high HbA1c value were: In2it 4.9% and 3.3%, DCA Vantage 1.8% and 3.7%, Clover 4.0% and 3.5%, InnovaStar 3.2% and 3.9%, Nycocard 4.8% and 5.2%, Afinion 2.4% and 1.8%. Only the Afinion and the DCA Vantage passed the NGSP criteria with two different reagent lot numbers.

Conclusion: Only the Afinion and the DCA Vantage met the acceptance criteria of having a total CV < 3% in the clinically relevant range. The EP-9 results and the calculations of the NGSP certification showed significant differences in analytical performance between different reagent lot numbers for all HbA1c POC instruments.

62. Maltose interferentie bij POC-glucosemeting: evaluatie van een nieuwe glucoseteststrip

J.M.A. EMMEN, D.L. BAKKEREN

Klinisch laboratorium, Máxima Medisch Centrum, Veldhoven

Inleiding: Bij peritoneaaldialysepatiënten die een behandeling met icodextrine ondergaan kan het gebruik van een point-of-care (POC) glucosemeter leiden tot foutief verhoogde glucose waarden. Icodextrine is een glucosepolymeer welke omgezet kan worden in glucose-oligomeren waaronder maltose. Eerder onderzoek uit ons laboratorium heeft aangetoond dat POC-glucosemeters die gebruik maken van bacterieel geproduceerd glucosedehydrogenase (GDH) glucosespecificiteit ontberen, waardoor maltose een overschatting van de glucosewaarde geeft. Recentelijk is op ons laboratorium een nieuwe glucoseteststrip in gebruik genomen, Accu-Chek Performa teststrip (Roche), welke gebruik maakt van een gemodificeerde vorm van GDH waarbij geen storing door maltose meer optreedt. Wij evalueerden deze teststrip op maltose interferentie.

Methode: Patiëntenmonsters werden gespiked met maltose (eindconcentratie 3, 7, 13 of 19 mmol/L). Van de verkregen oplossingen werd de glucoseconcentratie bepaald met behulp van de nieuwe glucoseteststrip op de POC-glucosemeter (Accu-Chek Inform II-meter, Roche) en vergeleken met ongespiked

heparinebloed. Het verschil hiertussen werd geïnterpreteerd als het glucoseverhogend effect van het toegevoegde maltose. Vervolgens werd gebruik gemaakt van error grids om de klinische relevantie van de afwijkende "glucose" meting te evalueren.

Resultaat: Toevoeging van oplopende concentraties maltose aan heparinebloed leidde tot een oplopende verhoging van gemeten "glucose"-concentratie, alias een onterechte glucoseverhoging. Weergave van de gemeten glucosewaarden in een zogenaamde error grid liet echter zien dat deze afwijkingen geen effect zouden hebben op klinische uitkomst.

Conclusie: Evaluatie van de gemodificeerde glucoseteststrip toont aan dat de gemodificeerde glucoseteststrips niet ongevoelig zijn voor maltose-interferentie. Echter, in vergelijking met verkregen resultaten uit ons vorige onderzoek is het "glucoseverhogend" effect van de maltose toevoeging gering en het klinische belang van de gemeten glucoseafwijkingen lijkt afwezig tot zeer minimaal.

Literatuur: Apperloo, Vader. Clin Chem Lab Med 2005, 43: 314.

63. Evaluatie en klinische acceptatie van de ABL-800-FLEX bloedgasanalyser voor POCT-gebruik

S. HOGENBOOM, S.M. SMITS, T.C.M. de BRUIJN-van der PAUWKRAAN, J.N.M. van LEEUWEN, E.H. SLAATS
Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Inleiding: De ABL800-FLEX (Radiometer) is een geautomatiseerde volbloed analyser voor bepaling van pH-bloedgassen, CO-oximetrie (met bilirubine), elektrolyten en metabolieten. De FLEXLINK-technologie scant en koppelt gegevens van bloedgasspuit, gebruiker en patiënt. Foutieve patiëntidentificatie is daardoor vrijwel onmogelijk.

Methode: Ivm vervanging van aanwezige apparatuur en betere klinische acceptatie door eindgebruikers werd de ABL-800-FLEX gevalideerd (precisie-studies en correlatiestudie met bestaande analyzers (rapidlab865 (Siemens) en CobasB221 (Roche))) voor natrium, kalium, chloor, pH, pCO₂, pO₂, co-oxymetrie, glucose, lactaat, bilirubine en geïoniseerd calcium. Tevens werd in samenwerking met ICU en Radiometer gekeken of de FLEXLINK-technologie zoveel mogelijk geïntegreerd kon worden met het op de ICU/OK gebruikte datamanagementsysteem METAVISION.

Resultaat: Controles in alle concentratieranges voldeden aan de gestelde validatiecriteria (elektrolyten <1.5%, glucose, lactaat, bilirubine en bloedgassen <3% (pH<0.2%) en co-oxymetrie <5%). De correlatiestudie laat voor alle gemeten parameters

een slope zien tussen 0,95 en 1,05 en een verwaarloosbaar intercept. FLEXLINK is gekoppeld aan METAVISION zodat reeds aanwezige gegevens van gebruiker en patiënt niet dubbel ingevoerd hoeven te worden maar automatisch worden gekoppeld. Tevens werden alle overbodige schermen en bevestigingen in FLEXLINK verwijderd of semi-geautomatiseerd dmv barcode-scanning. Eindgebruikers zijn hierdoor zeer tevreden zowel koppeling, bedieningsgemak als de mogelijkheid om gelijktijdig 3 samples aan te bieden. Hierdoor is het percentage bloedgassamples dat door de ICU decentraal wordt gemeten gestegen van <25% naar >95%. Tevens zijn er sinds de ingebruikname op de ICU (nov 2009) geen foutieve patiënt-identificaties voor bloedgasmetingen meer voorgekomen op de ICU.

Conclusie: De ABL800-FLEX is een geschikte bloedgasanalyser voor zowel centrale als decentrale bloedgasanalyse. De eenvoud van de bediening en de ondersteuning van traceerbaarheid en patiëntveiligheid door integratie van FLEXLINK in METAVISION heeft geleid tot uitstekende acceptatie door eindgebruikers van decentraal geplaatste analyzers.

64. Troponine T-testen voor en door de SEH: een pilot

J. TAK¹, I. de VRIES-VERBAAS², E.A. DUBOIS³, M.A. FOURAUX^{1,4}

KCL¹, Ikazia Ziekenhuis, Rotterdam; SEH², Ikazia Ziekenhuis, Rotterdam; Cardiologie³, Ikazia Ziekenhuis, Rotterdam; GKCL⁴, Albert Schweitzer ziekenhuis, Dordrecht

Inleiding: Troponine-testen worden met name door de spoedeisende hulp (SEH) aangevraagd als triagemarker voor acute hartnood. Hierbij wordt binnen het Ikazia ziekenhuis de doorlooptijd van de troponine T-test als te lang ervaren door SEH-artsen en cardiologen. In deze pilot is gekeken of de introductie van een point of care-test voor Troponine T op de SEH een oplossing is. De H232-analyser van de firma Roche Diagnostics meet uit gehepariniseerd volbloed kwantitatief Troponine T in circa 20 minuten.

Methode: Na een korte analytische evaluatie van de H232 is deze geïntroduceerd op de SEH gedurende drie maanden. Iedere aangevraagde Troponine T-test is zowel op de SEH (H232) als op het KCL bepaald (Cobas 6000). Tijdens de pilot

is de gebruikersvriendelijkheid, de doorlooptijden van beide bepalingen en de klinische correlatie tussen beide methoden vergeleken. Ook is gekeken naar de eventuele effecten van de POCT-test op de doorloopsnelheid van de patienten.

Resultaat: Het SEH-personeel ervaarde het dagelijkse gebruik als makkelijk. Er zijn 276 metingen verricht, waarvan 259 evalueerbaar. 86% met negatieve (<0,05 µg/L), 5% positieve (>0,1 µg/L) en 9% dubieuze uitslag (0,05-0,1 µg/L). De klinische correlatie was 91% tussen beide methoden en de uitslag van de POCT was ruim binnen 60 minuten beschikbaar. De KCL-uitslag duurde langer, 89% beschikbaar binnen 60% minuten. De snellere uitslag had verrassend genoeg geen invloed op de doorloop van patienten.

Conclusie: Deze pilot is als positief bestempeld door de deelnemers, echter er was geen effect zichtbaar op de snelheid waarmee patiënten werden doorverwezen vanuit de SEH. Het is dus mogelijk dat er andere factoren belangrijker zijn in het

bepalen van de doorloopsnelheid van patiënten dan de snelheid van de Troponine bepaling. Dit wordt in een vervolgonderzoek getest.

65. POCT HbA1c analyzers

S. BOUMA, K. van der LAAN, E.F. EPPENS
Afdeling Klinische Chemie, Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam

Inleiding: Plaatsing van een HbA1c POCT meter was wenselijk op de kinderdiabetes poli. In het verleden werd een enveloppe met afnamecupje toegestuurd waarna de patiënt voor polibezoek enkele druppels bloed in het cupje verzamelde en deze terugzond naar het laboratorium voor analyse. Echter monsters werden vaak niet tijdig teruggestuurd.

Methode: De HbA1c uitslag van 38 volbloed monsters (spreiding: 4,5 - 14%) verkregen op de Menarini werden vergeleken met de DCA Vantage (Siemens) en de Afinion (Axis-Shield).

Resultaat: Regressie analyse gaf de volgende correlaties: DCA = $0,96x + 0,51$ en Afinion = $0,96x + 0,31$. Reproduceerbaarheid voor HbA1c concentraties van 4,9%, 7,0%, 12,6% was respectievelijk: DCA 1,9%, 2,6%, 2,2% en Afinion 2,8%, 1,6%, 0,70%. Geen uitslag werd verkregen op de Afinion met kwaliteitscontrole materiaal (Instruchemie) met een normale en hoge HbA1c concentratie zoals gebruikt op de Menarini. HbA1c bij Hb-varianten (HbAC, HbAS) werd op beide appa-

raten zonder problemen gemeten. Echter in aanwezigheid van een alfa- of beta-thalassemie gaf de Afinion foutmeldingen en bij enkele monsters werd geen uitslag verkregen. Gebruiksvriendelijkheid werd middels enquête onderzocht na gebruik van de meters door twee diabetesverpleegkundigen waarbij geen verschillen werden gevonden.

Conclusie: De HbA1c uitslag op beide meters verschilde niet met de Menarini HA8160. Voor plaatsing op de diabetespoli is gekozen voor de DCA op basis van de foutmeldingen op de Afinion bij de monsters met alfa- of beta-thalassemie en bij het externe kwaliteitscontrole materiaal. Verbeteringen in software van beide analyzers is wenselijk om de meter als hoogwaardig POCT apparaat te gebruiken. Na invoer van patiëntenidentificatienummer zou een positieve identificatie moeten plaatsvinden door naam, geslacht en geboortedatum van de patiënt in het scherm van de meter te tonen.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Kwaliteit, referentiewaarden

66. Eenvoudige grafische vergelijkbaarheid apparatuur met patiëntenmonsters op één of meerdere locaties

G. KOERS, R.F.M. OUDE ELFERINK
LabNoord, Groningen

Inleiding: Het betreft hier een methode om op regelmatige basis (bv per 1 á 2 maand) de vergelijkbaarheid van apparaten te toetsen. Dit is noodzakelijk als van patiënten de monsters op een willekeurig apparaat gemeten kunnen worden, terwijl het resultaat tot dezelfde klinische conclusie moet leiden. Deze vergelijking is globaal op te splitsen in een vergelijking van twee apparaten op één locatie en in een vergelijking van meer dan twee apparaten op verschillende locaties.

Methode: TEa = total error allowable = Bias + Z* CVa; Bias = $0,250 (CVI2 + CVG2)^{1/2}$; CVa = $0,5CVI$; CVI = intra-individuele variatie; CVG = inter-individuele variatie; Z = 1,65 eenzijdig getoetst bij een betrouwbaarheid van 95%. Variatie: • systematische variatie (Bias; beïnvloedbaar). • willekeurige variatie (random error; precision; niet te beïnvloeden). Stelling: tussen dezelfde apparaten en methoden bestaat geen Bias.

Resultaat: Bij twee apparaten is meestal onbekend welk apparaat de gouden standaard is. Daarom wordt genormeerd op één apparaat; het toegestane verschil is $< 0,33CVI$. Kan hier niet aan worden voldaan dan geldt de TEa; next best is: State-of-the-Art. Bij meer dan twee apparaten wordt genormeerd op het gemiddelde van alle apparaten. Deze benadert tenslotte de werkelijke waarde het best. Toegestaan verschil tov gemiddelde waarde: TEa = 1,65 CVa = 1,65 (0,50CVI); optimale uitkomst; TEa = 1,65 CVa = 1,65 (0,75CVI); minimale uitkomst bv bij natrium en calcium. Met behulp van een Excel-sjabloon worden de resultaten grafisch weergegeven.

Conclusie: Via een grafische weergave is in één oogopslag te zien of alles onder controle is. Bij afwijkingen kan efficiënt en gericht tot actie worden overgegaan.

67. Onderzoek naar de juistheid van immunochemische bepalingen uit ongecentrifugeerd en 24 uur bij kamertemperatuur bewaard serum en plasma

R. CASTEL, M. VERDAAS, M. FOURAUX, F. VERHEIJEN
Geïntegreerd Klinisch Chemisch Laboratorium, Albert Schweitzer ziekenhuis, Dordrecht

Inleiding: Het vervoer van bloedmonsters die zijn afgenomen op buitenposten naar het diagnostische laboratorium kan vertraging opleveren. Dan dient zich de vraag aan welke immunochemische bepalingen nog juist gemeten kunnen worden na een bepaalde tijd ongecentrifugeerd bij kamertemperatuur te hebben gestaan. We hebben dit onderzoek gedaan om het antwoord op deze vraag empirisch vast te stellen voor de testen die wij draaien op een Immulite 2500 (Siemens Healthcare Diagnostics).

Methode: Op de polikliniek bloedafname van het Albert Schweitzer ziekenhuis zijn aan willekeurig gekozen 25 mannen en

25 vrouwen gevraagd om bij hen vijf extra buizen veneus bloed af te mogen nemen. Dit betrof drie serumbuizen, één lithium-heparinebuis en één EDTA-buis. De serumbuizen werden direct, en na 5 en 24 uur bij kamertemperatuur gestaan te hebben, gecentrifugeerd en vervolgens voor dertig bepalingen aan een Immulite 2500 aangeboden. De heparine- en EDTA-plasma-buizen zijn na centrifugeren direct aangeboden aan dezelfde Immulite 2500. De direct gecentrifugeerde serum-buis werd als 'gouden standaard' beschouwd en de uitslagen uit de andere buizen zijn hiermee vergeleken met behulp van de statistische software EP EvaluatorTM.

Resultaat: Van de in totaal 30 verschillende testen die wij op deze Immulite 2500 bepalen waren er voor 28 testen in serum en 25 testen in plasma voldoende uitslagen om te analyseren. Een groot aantal bepalingen blijkt nog juist te kunnen worden gemeten in serum na 24 uur ongecentrifugeerd gestaan te hebben bij kamertemperatuur. Ook voor bepalingen uit heparine-

plasma en uit EDTA-plasma geldt dat sommige uitslagen nog juist zijn.

Conclusie: Voor het merendeel van de geteste immunochemische bepalingen is het mogelijk om 24 uur oud, of eventueel heparine- en/of EDTA-plasma te gebruiken. Onze resultaten helpen de service richting patiënten te verhogen.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Automatisering, dataverwerking

68. Verhoogde efficiëntie en verbeterde sturing van de bloedafnamedienst door introductie van web-based data verwerking

M.T.M. RAIJMAKERS, R.J.P.P.M. SCHEPERS, J.H.C.M. PANTUS, H.A. KLEINVELD

Klinisch Chemisch & Hematologisch Laboratorium, Atrium Medisch Centrum Parkstad, Heerlen

Inleiding: Voor het adequaat aansturen van een bloedafnamedienst is het belangrijk om tijdig over de juiste managementinformatie te beschikken. De Bloedafnamedienst Oostelijk Zuid Limburg, prikt dagelijks gemiddeld 300 patiënten thuis, 500 op een prikpost en haalt bij 20 huisartsen materiaal op. Op werkformulieren werden het aantal gereden kilometers, geprikte patiënten, gewerkte uren en eventuele afwijkingen (IKA's) bijgehouden. Deze gegevens werden manueel in verschillende decentrale systemen ingebracht door meerdere personen. Regelmatig ontstond vertraging in de verwerking en kon de organisatie niet tijdig sturen bij problemen. Om de verwerking van deze informatie te verbeteren werd gekozen voor een web-based oplossing.

Methode: In samenspraak met de bloedafnamemedewerksters is een met een veiligheidscertificaat (https) versleutelde webpagina ontworpen. Hierbij werd gebruik gemaakt van WordPress. Priklijsten worden van deze website gedownload en de werkformulieren digitaal ingevuld, waarbij een plausibiliteits-

controle plaatsvindt via een PHP-script. Na elektronisch versturen van de gegevens naar de centrale database op het laboratorium vindt automatische verwerking plaats.

Resultaat: Het gebruik van de website heeft geresulteerd in een reductie van de personele inzet (0,5 fte) voor de afhandeling van de werkformulieren. De formulieren worden door één enkel persoon nagekeken, waarbij de weinige invulfouten door de plausibiliteitscontrole gemarkeerd worden. Deze medewerker ziet ook de status van de te verwachten werkformulieren. Doordat alle managementinformatie verzameld wordt in één database en per direct opvraagbaar is, kan op korte termijn sturing plaatsvinden. Bovendien zorgt de koppeling aan het IKA-systeem voor een verhoogde patiëntveiligheid, omdat snel verbeterpunten gedefinieerd kunnen worden.

Conclusie: Digitalisering van de managementinformatie van de externe bloedafname heeft de volgende voordelen: een reductie in personele inzet, snellere beschikbaarheid van managementinformatie en een betere borging van de patiëntveiligheid.

69. De mountainplot: statistiek met een grillige piek

H.K. de WOLF, M. de METZ

Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen

Inleiding: Voor de evaluatie van een nieuwe bepaling wordt veelal gebruik gemaakt van de bepaling van de totaal analytische fout. Voor de weergave hiervan hanteert de EP 21 richtlijn, naast de meer frequent gebruikte Bland-Altman-plot de relatief onbekende 'mountainplot'. Naar aanleiding van een recent praktijkvoorbeeld hebben wij de toegevoegde waarde van deze plot in twijfel getrokken. De visuele kracht van de mountainplot in het weergeven van methodeverschillen is daarom nader onderzocht.

Methode: Aan de hand van een gesimuleerde dataset van methodeverschillen is een aantal scenario's geschetst waarbij de Bland-Altman en de mountainplot met elkaar zijn vergeleken. *Resultaat:* Voor de weergave van de beide plots is minimale statistische bewerking van de oorspronkelijke dataset nodig. Net als bij de Bland-Altman-plot kan de vorm en de ligging van

de mountainplot een indicatie geven over de soort afwijking in de correlatie tussen de twee methoden. Wanneer er sprake is van een dataset die niet normaal verdeeld is, dan kan de mountainplot superieur zijn in de detectie hiervan. Echter, de gevoeligheid waarmee de mountainplot dergelijke afwijkingen weergeeft is afhankelijk van factoren die niet door de gebruiker kunnen worden beïnvloed. In geval van een niet-normaal verdeelde dataset kan alleen aan de hand van de mountainplot een totaal analytische fout berekend worden.

Conclusie: De waarde van de mountainplot bij de evaluatie van een nieuwe bepaling is beperkt tot gebruik voor de berekening van de totaal analytische fout, wanneer sprake is van een niet-normaal verdeelde dataset. De grafiek dient niet te worden gebruikt om afwijkingen in de normaalverdeling van de dataset uit te sluiten.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Overigen

70. Ontwikkeling van een geïntegreerd systeem voor competentieonderhoud op routine chemische analyzers

F.P.W. TEGELAERS

Laboratorium voor Klinische Chemie, Hematologie en Immunologie, Medisch Centrum Alkmaar

Inleiding: Het werk van analisten wordt steeds complexer: consolidatie vereist breder inzicht, terwijl de apparatuur tegelijkertijd makkelijker te bedienen wordt. De hands-on tijd loopt terug: een (oplopende) kennisachterstand is derhalve een reëel

risico. Dit vergroot de noodzaak van een efficiënte nascholing: een laboratoriummeting is in principe een risicovolle handeling, die jaarlijks getoetst zou moeten worden analoog aan het kader van een BIG toetsing.

Methode: Een geïntegreerde benadering voor competentiegericht opleiden is uitgewerkt voor een Beckman Coulter DxC 860i. Het model voorziet in een integratie van (reeds bestaande) losse modules middels een verbindende schil in de vorm van een toets. De toets wordt door laboratorium én leverancier gezamenlijk ontwikkeld.

Resultaat: De analyseapparatuur zelf is het benodigde skills-lab, terwijl (interactieve) helpschermen en een e-learning module reeds beschikbaar zijn. Het ontbrekende onderdeel is een competentietoets op de werkplek, die de modules en het apparaat intelligent met elkaar verbindt en zorgt voor de noodzakelijke afstemming. Een fout antwoord in de toets leidt direct naar

een helpscherm en/of een e-learning passage. De analist neemt kennis van de lesstof en keert vervolgens terug naar de vraag: is het antwoord nu juist, dan verschijnt de volgende vraag.

Conclusie: Het hier voorgestelde systeem biedt twee wezenlijke voordelen. Door het geïntegreerde model toetst de analist zijn kennis en verwerft tegelijkertijd ontbrekende kennis waardoor de benodigde tijd voor het integrale leerproces geminimaliseerd is. Aangezien laboratorium en leverancier hun kennis integreren in de vorm van een toets krijgen beide partners inzicht in de competenties van de analisten én in “weak spots” van de apparatuur. Middels kennisdeling werken de betrokken partijen zo interactief aan een continu verbeterproces.

71. Een marketingplan als nieuwe dimensie voor laboratoriumgericht ondernemerschap

J.H. HOOIJBERG¹, M. SCHOORL¹, S. DERKX², R.V.D. VEER¹, P.C.M. BARTELS¹
Laboratorium voor KCHI¹, Marketing & Communicatie², Medisch Centrum Alkmaar

Inleiding: Binnen de laboratoriumdiagnostiek ontstaat een toenemende gevoeligheid voor marktwerking en concurrentiedreiging. Eerder heeft het Laboratorium KCHI m.b.v. een reeks werkconferenties leidinggevenden geschoold in klantgerichtheid en ondernemerschap (1). Het opleidingstraject resulteerde in bewustwording van strategische marketingontwikkelingen, maar nog niet in concrete acties. Een vervolgvraag is hoe klantgerichtheid in de praktijk vorm kan krijgen. In deze studie is onderzocht of het opstellen van een marketingplan bijdraagt aan verbetering van klantgerichtheid en ondernemerschap. Daarbij is nagegaan of een marketingplan een hulpmiddel is voor optimalisatie van zorgprocessen.

Methode: In samenwerking met de afdeling Marketing & Communicatie van het ziekenhuis is een marketingplan opgesteld. Een laboratoriumspecialist fungeerde als coördinator. Het marketingplan omvat een situatieanalyse volgens het 7S-model van McKinsey (2), SWOT-analyse en confrontatiematrix, marktsegmentatie, marketingdoelstellingen, marketingstrategie, activiteitenplan en voorziet in periodieke evaluaties.

Resultaat: Als gevolg van het opstellen van het marketingplan

zijn de marktpositie en de speerpunten van het laboratorium t.a.v. klantgerichtheid duidelijker geworden. Voor de uitvoering van het plan zijn taakgroepen opgericht: Frontoffice, Accountmanagement, PR&Communicatie, Expertisecentrum en Consult&Advies. Deze taakgroepen richten zich op relaties met klanten ten einde zorgprocessen te verbeteren. Het marketingplan maakt dwarsverbanden en mogelijkheden voor samenwerking tussen de taakgroepen inzichtelijk. Omdat het plan een totaaloverzicht biedt van situatieanalyse, strategische keuzes en activiteiten, creëert het onder leidinggevenden begrip en draagvlak voor marketing. Voorwaarden voor succes zijn de voortgang van acties en periodieke evaluaties.

Conclusie: Het opstellen van een marketingplan voor het laboratorium blijkt een essentieel hulpmiddel in medische ondersteuning en zorgverlening. Het stimuleert ondernemerschap onder leidinggevenden en verheldert de strategische doelstellingen.

Literatuur: 1 Schoorl M. et al., Ned Tijdschr Klin Chem Lab, 33, 2008, no. 3. 2 Waterman R. et al., Business Horizons, 23, 1980, 14-26.

Categorie 3 Klinisch

Hart- en vaatziekten, atherosclerose

72. Progressive coronary atherosclerosis is associated with increasing circulating levels of high-sensitive cardiac troponin T

A.M.A. MINGELS¹, E.M. LAUFER², M.H.M. WINKENS², I.A.P.G. JOOSEN², M.W.M. SCHELLINGS², T. LEINER³, J.E. WILDBERGER³, J. NARULA⁴, M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, L. HOFSTRA²

Department of Clinical Chemistry¹, Maastricht University Medical Center, The Netherlands; Cardiovascular Research Institute², Maastricht University Medical Center, The Netherlands; Department of Radiology³, Maastricht University Medical Center, The Netherlands; Department of Cardiology⁴, University of California, Irvine School of Medicine, USA

Inleiding: This study explored the relationship between coronary atherosclerotic plaque burden and quantifiable circulating levels of troponin measured with a recently introduced high-sensitive cardiac troponin T (hs-cTnT) assay.

Methode: Cardiac patients suspected of having Coronary Artery Disease (CAD), but without acute coronary syndrome were studied. All patients (n=615) underwent cardiac computed tomographic angiography (CCTA) and were classified as having no CAD, mild (<50% diameter stenosis), moderate (50-70% diameter stenosis), severe (>70% diameter stenosis) or multivessel CAD (multiple >70% diameter stenosis), respectively. cTnT levels were assessed using the fifth generation hs-cTnT assay and for comparison also using the fourth generation cTnT assay. In addition, cardiac risk factors were obtained and hsCRP and NT-proBNP concentrations were measured.

Resultaat: Progressively increasing hs-cTnT levels were found in patients with mild (median 4.5 ng/L), moderate (median 5.5 ng/L), severe (median 5.7 ng/L) and multivessel CAD (median 8.6 ng/L) compared to patients without CAD (median 3.7 ng/L), all P<0.01. For hsCRP and NT-proBNP no such relation was observed. In patients without CAD, 11% showed hs-cTnT levels in the highest quartile compared to 62% in the multivessel disease group (P<0.05). Multivariate analysis identified hs-cTnT as an independent risk factor for the presence of CAD. Furthermore, addition of hs-cTnT to clinical risk profiling (PROCAM) significantly increased the diagnostic accuracy of coronary atherosclerosis (AUC 0.70 and 0.73, respectively).

Conclusie: Coronary atherosclerosis in patients without acute coronary syndrome is associated with quantifiable circulating levels of hs-cTnT, even in mild coronary artery disease.

73. AAA symptomatology is related to changes of serological inflammatory biomarkers

B. PULINX¹, F.A.M.V.I. HELLENTHAL², M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, G.W.H. SCHURINK², W.K.W.H. WODZIG¹
Departments of Clinical Chemistry¹ and General Surgery², Maastricht University Medical Centre

Introduction: Inflammation is a key process in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm (AAA). In ruptured AAA inflammation, resulting from acute haemorrhage and hypovolaemic shock, leads to severe abdominal pain. Although symptomatic non-ruptured AAA do not display such a profound physiological insult, they still experience the same severe abdominal pain. Pain or tenderness of an AAA is widely believed to signify acute expansion and imminent rupture. This study investigates the relation between pain and serum biomarkers.

Methods: From January 2006 until present, pre-operative blood samples have been drawn from patients with large (>50mm) non-ruptured AAA. In 112 asymptomatic (a-AAA) and 17 symptomatic (s-AAA) non-ruptured AAA patients, serum concentrations of total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides were measured on the Synchron LX 20 (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Furthermore, serum concentrations

of CRP and haptoglobin were analysed on BN ProSpec (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA).

Results: Patients with s-AAA had significant higher concentrations of CRP ($p=0.049$) and lower concentrations of HDL ($p=0.025$), triglycerides ($p=0.044$) and albumin ($p<0.001$) compared with a-AAA. This considerable decrease in albumin ($31.9\pm 5.9\text{g/L}$ in a-AAA versus $25.6\pm 5.5\text{g/L}$ in s-AAA) is likely due to dilution and volume redistribution effects of intravenous fluid resuscitation. Therefore, an albumin correction was applied which resulted in significant higher concentrations of CRP ($p=0.050$) and haptoglobin ($p=0.038$) in s-AAA. Presence of a systemic inflammatory response (CRP>10mg/L) was observed in 71% of all s-AAA, whereas only 21% of all a-AAA showed a systemic inflammatory response.

Conclusion: Patients with symptomatic non-ruptured AAA had significant increased concentrations of CRP and haptoglobin compared with asymptomatic non-ruptured AAA.

74. Statin therapy in AAA: effect on atherogenic lipoproteins and systemic inflammation

B. PULINX¹, F.A.M.V.I. HELLENTHAL², M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, G.W.H. SCHURINK², W.K.W.H. WODZIG¹
Departments of Clinical Chemistry¹ and General Surgery², Maastricht University Medical Centre

Introduction: Statins have a wide range of biological effects in addition to lipid lowering, including reductions in the concentrations of CRP and slowing AAA expansion, a phenomenon commonly termed a "pleiotropic effect". Theoretically, by decreasing the concentrations of atherogenic lipoproteins, statins could decrease systemic inflammation, thereby reducing CRP concentrations. An alternative hypothesis proposes that statins have direct anti-inflammatory effects, independent of their lipid-lowering capabilities. This study investigates the lipid lowering and anti-inflammatory effects of statins in AAA patients.

Methods: From January 2006 until present, blood samples have been drawn from patients with small AAA (<55mm) enrolled in a standardized six monthly follow up regime ($n=101$). Serum concentrations of total cholesterol, HDL, LDL and triglycerides were measured on the Synchron LX 20 (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Furthermore, serum concentrations

of CRP and haptoglobin were analysed on BN ProSpec (Dade Behring Inc., Deerfield, IL, USA).

Results: Statin therapy in AAA patients ($n=58$) resulted in significant reductions in total cholesterol ($p<0.001$) and LDL ($3.1\pm 0.7\text{mmol/L}$ in non-users versus $2.2\pm 0.8\text{mmol/L}$ in statin users; $p<0.001$). Haptoglobin concentrations were significantly higher among statin users ($p=0.033$). Furthermore, a considerable but non-significant increase in CRP ($8.7\pm 21.8\text{mg/L}$ in statin users versus $4.6\pm 5.3\text{mg/L}$ in non-users) was observed.

Conclusion: Our results demonstrate that AAA patients who use statins have approximately 30% lower LDL concentrations as compared with non-users. In contrast to previous studies, CRP and haptoglobin concentrations were higher among statin users. These results support the hypothesis that statins reduce systemic inflammation via decreasing the concentrations of atherogenic lipoproteins.

75. Geen aanwijzingen voor een negatieve interferentie in de cTnT bepaling door auto-antilichamen tegen cTnT

J.C. FISCHER¹, J.P. van STRAALEN¹, A. STURK¹, R.J. de WINTER²
Adeling Klinische Chemie¹ en Cardiologie², Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Inleiding: Recentelijk werd de aanwezigheid beschreven van auto-antilichamen tegen cardiaal Troponine T (cTnT) in serum/plasma bij 9,9% van een populatie bloeddonoren (1). Verondersteld dat deze bevinding ook van toepassing is op ons adherentiegebied, kan de vraag worden gesteld of deze hoge prevalentie in de praktijk leidt tot interferentie in de cTnT bepaling. Dit werd getoetst door onderzoek naar mogelijk vals-negatieve cTnT-ten opzichte van CK-MB uitslagen.

Methode: CK-MBmass (referentie interval < 0,2 µg/L) en cTnT (referentie interval < 0,03 µg/L) werden gemeten in respectievelijk heparineplasma en serum op een E170 unit van Roche Diagnostics. Retrospectief werden gegevens teruggezocht van patiënten die tussen 24 januari 2008 en 28 november 2008 werden geëvalueerd op de mogelijke aanwezigheid van een acuut coronair syndroom. Bij patiënten met een CK-MB uitslag >5,2 µg/L waarbij binnen dezelfde afname een cTnT werd gemeten <0,03 µg/L werd in het medisch dossier de oorzaak van de CK-MB verhoging nagezocht.

Resultaat: In het aangeven tijdvak bleek bij 767 patiënten zowel CK-MB als cTnT gemeten. Bij 46 (6,0%) patiënten werd op enig moment in het diagnostisch traject een CK-MB >5,2 µg/L gevonden met een cTnT <0,03 µg/L. Veel van deze geïsoleerde CK-MB verhogingen bleken terug te leiden naar een fysiek trauma. Bij 14 patiënten (1,8%) was er sprake van een mogelijke cardiale achtergrond.

Conclusie: Het onderzoek kan vals-negatieve uitslagen in de cTnT bepaling door interferentie van auto-antilichamen tegen het cTnT niet geheel uitsluiten. In dit onderzoek is dit maximaal 1,8%. Indien de 9,9% prevalentie van auto-antistoffen tegen cTnT ook in onze populatie optreedt dan geven blijkbaar de meeste auto-antistoffen geen interferentie in de cTnT bepaling.

Literatuur: 1. Adamczyk et al. Clin Chem 2009, 55: 1592.

76. Chronic heart failure (CHF) in nursing home residents in Aruba: Prevalence, undetected cases, misdiagnoses and the diagnostic value of Brain Natriuretic Peptide (BNP)

E. STOUTJESDIJK¹, R.M. BROUNTS², M. BARENTS³, M.J. de JONGSTE⁴, H. BESSELINK⁵, J.D. CHENG⁶, R.M.F. WEVER², F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine¹, University Medical Center Groningen, the Netherlands; Public Health Laboratory², Oranjestad, Aruba; Zonnehuis Nursing Home³, Zuidhorn, The Netherlands; Department of Cardiology⁴, UMC Groningen, The Netherlands; General Practitioner⁵, Aruba; Cardiologist⁶, Aruba

Introduction: CHF prevalence increases with age and reaches above-average percentages in nursing homes. Undetected cases and incorrect CHF diagnoses in nursing homes are common. BNP measurement has proven its usefulness in CHF diagnosis. We examined CHF prevalence, percentages undetected cases and misdiagnoses, and the diagnostic value of BNP in nursing home residents in Aruba.

Methods: We screened 235 nursing home residents at three different locations. Exclusion criteria were neuro-psychiatric disease and metastatic cancer. CHF was diagnosed independently by an experienced general practitioner and an experienced cardiologist. Diagnosis was based on medical history, ECG, physical examination (general practitioner-only) and BNP (cardiologist-only). BNP was analyzed by point-of-care immunoassay (Biosite Triage BNP test).

Results: 51 residents (78 years; 56-93) were included. The general practitioner diagnosed 2 CHF patients who were rejected

by the cardiologist. The cardiologist diagnosed 4 patients who were rejected by the general physician. The cardiologist's diagnosis was adopted. He rejected CHF in 2 of 7 residents (28.6%) suspected to have CHF prior to screening. CHF was established in 16 (31.4%) of which 11 (68.8%) were previously undetected. Mean (range) BNP (in pg/mL) of the 16 with CHF and 35 without CHF were: 156 (72-1,029) and 59 (9-191), respectively. At a 100 pg/mL cut-off, BNP had the following characteristics: sensitivity 0.75, specificity 0.69, PPV 0.52, NPV 0.86, LR+ 2.39 and LR- 0.36.

Conclusion: There was reasonable agreement between CHF diagnosis of an experienced (BNP-unaware) general practitioner and a cardiologist. The CHF prevalence was high (31%) and most cases were undetected (69%). 29% of residents suspected to have CHF were incorrectly diagnosed. BNP at 100 pg/mL seems reasonably accurate for CHF rule-out in this setting.

Categorie 3 Klinisch

Endocrinologie en intermediaire stofwisseling

77. Elevated urinary free and deconjugated catecholamines after consumption of a catecholamine-rich diet

W.H.A. de JONG¹, W.J. POST², M.N. KERSTENS³, E.G.E. de VRIES⁴, I.P. KEMA¹

Departments of Laboratory Medicine¹, Epidemiology², Endocrinology³ and Medical Oncology⁴, University Medical Center Groningen

Introduction: The biochemical diagnosis of pheochromocytoma depends on demonstration of elevated levels of catecholamines (i.e. epinephrine, norepinephrine and dopamine) and their metabolites. Aim of this study is to determine the pre-analytical influence of a catecholamine-rich diet on urinary free and deconjugated catecholamines in healthy volunteers with a highly specific and sensitive analytical technique.

Methods: A cross-over study was performed in 27 healthy adults. Subjects consumed catecholamine-rich nuts and fruits at fixed times on one day (about 35 μ mol dopamine and 1 μ mol norepinephrine) and catecholamine-poor products on another day. Urine samples were collected at timed intervals before, during and after experimental and control interventions. Automated on-line sample preparation coupled to isotope-dilution mass spectrometry was applied for the measurement of urinary concentrations of free and deconjugated catecholamines.

Results: The catecholamine-rich diet had substantial effects on urinary excretions of deconjugated dopamine (up to 20-fold increases) and norepinephrine (up to 10-fold). Dietary catecholamines had less but significant effects on urinary excretion of free dopamine and norepinephrine (up to 1.5-fold increases). Outputs of urinary free and deconjugated epinephrine remained unaffected.

Conclusion: Urinary excretion of deconjugated norepinephrine and dopamine is strongly affected by consumption of catecholamine-rich food products, thereby increasing the likelihood of a false-positive test result during hormonal evaluation for pheochromocytoma. Measurement of deconjugated catecholamines should therefore preferably be avoided, in favour of measurement of urinary free catecholamines. In case of demonstrating increased urinary excretion of deconjugated norepinephrine and dopamine, repeated measurements are warranted with dietary restrictions prior to sample collection.

78. High prevalence of vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel diseases

P.H.A. BOURS¹, R. VERMEIJDEN¹, A. van de WIEL¹, J.P.M. WIELDERS²

Dept. Internal Medicine¹, Dept. Clinical Chemistry², Meander Medisch Centrum, Amersfoort

Introduction: Patients suffering from inflammatory bowel diseases (IBD) have an increased risk of osteoporosis. Low vitamin D (vitD) status is an important risk factor of osteoporosis. In a cross-sectional study, we assessed the prevalence of vitD deficiency and its risk factors in IBD patients.

Methods: Adult patients with Crohn's disease (CD) or ulcerative colitis (UC) were included in October/November 2009. Disease activity of IBD was assessed by the Manitoba IBD index. Patient characteristics came from their medical records. Serum 25(OH)D levels were measured by the Roche method. VitD intake from diet, supplements or ultraviolet light was as-

sessed using a questionnaire. VitD deficiency was defined as 25(OH)D <50nmol/L.

Results: 304 IBD patients were included (58%UC, 42% CD). Mean age (\pm SD) was 48.9 \pm 14.8 years. VitD deficiency was seen in 38.5% of the patients, with no significant difference between CD and UC patients. Low vitD level was significantly associated with IBD disease activity (p=0.035), high BMI (p=0.003), elevated ESR (p=0.004) and Gamma-GT (p=0.001). Sunexposure (p=0.046), solarium visit (p=0.005), sunholiday (p=0.02) and smoking (p=0.002) were associated with high vitD levels. Ninety-seven (32%) patients used oral vitD supplementation in

(generally low) dosages. Nevertheless, 29% of this subgroup was still vitD deficient.

Conclusion: VitD deficiency is common in this large sample of IBD patients. Associated with low vitD levels are IBD disease activity, high BMI, and increased ESR and Gamma-GT. Sun-

exposure, sunholidays, smoking, and solarium visits are associated with higher vitD levels. The effects of commonly used oral vitD supplements on serum 25(OH)D are poor. Therefore, optimal vitD dosages in IBD patients should be re-evaluated in future studies.

79. Vitamin D status of fish and non-fish eating populations in Tanzania. Lessons for an optimal interaction of the environment with our genome

M.F. LUXWOLDA, R.S. KUIPERS, D.A.J. DIJCK-BROUWER, E. van der VEER, F.A.J. MUSKIET
Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen

Introduction: Vitamin D has calcemic and non-calcemic functions that are important for health across the entire life cycle. Vitamin D derives from cutaneous photosynthesis, diet (fish) or supplements. The optimal vitamin D status is controversial. The Dutch Health Council (2008) considers >30 nmol/L 25(OH)D appropriate for women <50 and men <70 years, and >50 nmol/L above these ages. Most contemporary vitamin D papers consider >80 nmol/L appropriate. All agree that 25(OH)D>200-250 nmol/L is inadvisable. Since genes have been adapted to environment, and not vice versa, we studied 25(OH)D in traditionally living populations to reconstruct the vitamin D status on which our genome might have become to what it currently is.

Methods: Blood was collected from healthy Bantu (n=29; 23 years, 17-42) and Maasai (n=21; 29, 17-50) living in Tanzania. Bantu spend a considerable part of the day indoors. The pastoral Maasai reside mainly in the sun, half naked. Bantu group

was composed of a high-carbohydrate, non-fish-eating subgroup (n=21; 22, 17-38) and a subgroup that consumes freshwater fish at least once daily (n=8; 24.5, 18-42). The Maasai consume mostly meat and milk. Serum 25(OH)D was measured by 125I RIA [Diasorin 25(OH)D].

Results: Fish-eating and non-fish-eating Bantu had similar 25(OH)D. Maasai had higher 25(OH)D compared to the Bantu: 102.5±28.9 vs. 66.3±14.9 nmol/L (p<0.001).

Conclusion: Fish consumption does not seem to influence 25(OH)D in Tanzania. Vitamin D status seems mostly determined by sun exposure of the uncovered skin. The about 100 nmol/L 25(OH)D vitamin D status of the Maasai might represent the optimum for homo sapiens. At high latitudes such levels can not be reached in winter without exceeding the conservative 50 microgram vitamin D/day 'upper limit' for vitamin D supplements.

80. Remarkably low insulin response following oral sucrose loading in hunter-gathering Koisan Hadzabe people, compared to Nilotic Maasai and Caucasian controls in Tanzania

M.F. LUXWOLDA, R.S. KUIPERS, D.A.J. DIJCK-BROUWER, A.C. MULLER KOBOLD, F.A.J. MUSKIET
Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen

Introduction: Our current sedentary lifestyle with e.g. abundant intakes of refined carbohydrates are, amongst other mismatches, at the basis of many, if not all, typically Western diseases. Chronic low grade inflammation and ensuing compromised insulin sensitivity are common denominators. We investigated insulin sensitivity in the Hadzabe, who are among the last hunter-gathering tribes in the world. They hunt primarily small mammals and gather berries, tubers and honey. Pastoral Maasai and Caucasians served as controls. The traditional Maasai diet is composed of milk and meat, supplemented with available berries from their grazing lands. Both Hadzabe and Maasai are remarkably fit.

Methods: Blood was collected from 12 apparently healthy Hadzabe (33.4±9.9 years; 66.7% male) and 10 Maasai (31.3±16.8; 90%) at -5, 40, 80 and 120 min, after consuming 100 g sucrose in the fasting state. Seven fasting Caucasian medical students and MDs (27.2±6.1;14.3%) served as controls at -5, 30, 60, 90

and 120 min. Plasma glucose (Roche modular) and serum insulin (Abbott, Architect) were analyzed. The 120 min 'areas under the curve' (AUC) for glucose (min*mmol/L) and insulin (min*µU/mL) were calculated.

Results: There were no between-group differences in glucose responses. The mean±SD insulin AUC of the Hadzabe (427.6±229.6) was lower (p<0.001) compared to Maasai (2296.0±918.6) and Caucasians (2239.5±758.4). Maasai and Caucasians exhibited no difference.

Conclusion: The remarkably high insulin sensitivity of the Hadzabe concurs with a non-Western lifestyle. The fitness of the Maasai may be counteracted by Westernization of their diet with refined carbohydrates. Hadzabe data may reflect the insulin sensitivity on which homo sapiens has evolved and might provide optimal values for diagnosis and therapeutic aims in Clinical Chemistry instead of reference values derived from Western populations.

81. Clinical microdialysis of testosterone: preliminary results

H.N. BUI¹, V.L. WESTER², A.C. HEIJBOER¹, M.A. BLANKENSTEIN¹, W. de RONDE²
Dept. of Clinical Chemistry¹, Dept. of Endocrinology², VU University Medical Center, Amsterdam

Introduction: For diagnostic purposes, total-testosterone levels are generally assessed in plasma. However, as the primary site of action of testosterone is in tissue, evaluation of the distribution of testosterone in tissue fluids and the extent of its conversion to other hormones such as estrogens or the more potent derivative DHT could give enhanced insight into the (patho) physiological state. Clinical microdialysis allows for sampling at tissue level based on diffusion. We established such a technique and present its preliminary evaluation here.

Methods: A CMA20 microdialysis probe was continuously perfused with Ringer's lactate containing 0.6 nmol/L D5-tes-

tosterone as internal reference. At a flow-rate of 10 µL/min, in vitro experiments showed a testosterone recovery of 19%. Tubing was minimized to limit absorption. Microdialysis was performed on the vastus lateralis muscle in two healthy male volunteers for 4h, preceded by 1h for stabilization. A sample interval of 15min was used. Additionally, blood and saliva specimens were drawn in each interval. 1h after the onset of dialysis, 100mg testosterone gel was applied to the back skin in an attempt to vary systemic testosterone levels. Testosterone was analyzed using a highly sensitive assay involving derivatization and ID-LC-MS/MS.

Results: Testosterone profiles in the collected microdialysis, plasma, and saliva samples from both volunteers were comparable. Testosterone levels increased after cutaneous administration, although this effect was much more prominent in saliva (200%) than in microdialysate (70%) and plasma (60%).

Conclusion: The initial results of clinical microdialysis are

promising. Low testosterone levels as well as increased concentrations after supplementation could be reliably detected. Further research is necessary to thoroughly evaluate the microdialysis procedure. Hopefully, in vivo experiments in the near future will enrich our knowledge about testosterone at the tissue level.

Categorie 3 Klinisch

Bloedvorming, bloedstolling, transfusie

82. Toepasbaarheid POC Dimeertest voor diepe veneuze trombose (DVT)

C.G.J. van de KLASHORST, M. PIERSMA, R.F.M. OUDE ELFERINK
LabNoord, Groningen

Inleiding: Onderzoek naar de invloed van de prevalentie op de toepasbaarheid van een point of care (POC) D-dimeertest voor het uitsluiten van een DVT.

Methode: Bij 303 huisartsenpatiënten met een verdenking op een DVT is op basis van een echo-onderzoek een trombose vastgesteld of uitgesloten. Standaard werd ook een risico score en een laboratoriumtest voor de D-dimeer (VIDAS) uitgevoerd. Daarnaast werd een POC Simplify uitslag bepaald, zodat voor de POC-test en de laboratoriumtest zowel de sensitiviteit, specificiteit en de negatief voorspellende waarde (NVW) voor het uitsluiten van een DVT konden worden berekend.

Resultaat: Bij 11,9% (N = 36) van de 303 patiënten is een DVT (22 proximale; 14 distale) vastgesteld. Voor de POC Simplify werd een veel lager sensitiviteit voor proximale trombose vastgesteld dan voor de laboratorium dimeer test (resp. 91,3% tov 100%). De negatief voorspellende waarde bij een incidentie in

de huisartsenpraktijk van 7,3% blijken echter niet veel te verschillen (resp. 98,8 (CI:95,2 – 99,8)% en 100 (CI: 96,2-100)%). Een hogere incidentie, zoals op een SEH-afdeling van een ziekenhuis, zorgt er voor dat de sensitiviteit een grotere negatieve invloed heeft op de NVW.

Conclusie: Een distale DVT is, welke test men ook toepast lastig vast te stellen. Dit wordt ook weerspiegeld in de resultaten van deze studie. Ondanks de relatief lage sensitiviteit van de Simplify POC-test, blijkt dat deze test geschikt is, om naast risico score, een proximale DVT uit te sluiten in de huisartsenpraktijk. Dit wordt verklaard door de lage incidentie in die situatie. Echter in die situaties, waar de incidentie hoger is, moet men kunnen terug vallen op de 'gouden standaard', de spoed uit te voeren laboratorium D-dimeer test met een hoge sensitiviteit.

83. Thrombocytopenia in early malaria results from peripheral platelet clearance in the absence of systemic platelet activation or consumptive coagulopathy

Q. de MAST¹, P.G. de GROOT², W.L. van HEERDE³, M. ROESTENBERG⁴, J.F. van VELZEN³, B. VERBRUGGEN³, M. ROEST², M. MCCALL⁴, A.E. NIEMAN⁴, J. WESTENDORP¹, D. SYAFRUDDIN⁵, R. FIJNHEER², E.C. van DONGEN-LASES⁶, R.W. SAUERWEIN⁴, A.J. van der VEN¹

Department of General Internal Medicine¹, Radboud University Nijmegen, The Netherlands; Department of Clinical Chemistry and Haematology², University Medical Center Utrecht; Central Laboratory for Haematology³, Medical Microbiology⁴ and Laboratory Medicine⁶, Nijmegen, The Netherlands; Eijkman Institute for Molecular Biology⁵, Jakarta, Indonesia

Introduction: Platelet numbers decrease early in malaria, but the underlying mechanisms remain incompletely understood. The aim of our study was to investigate whether compromised platelet production, platelet activation and consumptive coagulopathy contribute to the malaria-associated thrombocytopenia.

Methods: Markers of platelet production (thrombopoietin; immature platelet fraction, IPF), platelet activation and coagulopathy were followed in time in volunteers experimentally infected with *P. falciparum*. Findings were confirmed in Indonesian malaria patients and in vitro studies.

Results: The decrease in circulating platelet numbers was associated with a concurrent rise in the IPF and plasma thrombopoietin concentrations. D-dimer concentrations were elevated in 9 of 11 volunteers without a prolongation in APTT or decrease in fibrinogen concentrations. There was also no increase in expression of the platelet surface markers CD62P, PAC-1 and CD63 or in plasma concentrations of the soluble

platelet factors P-selectin, CXCR4, CXCL7, RANTES and CD40L. In contrast, soluble glycoprotein-1b (sGP1b) concentrations, the external domain of the platelet receptor for von Willebrand factor (vWF), increased early in experimental malaria. sGP1b concentrations were also significantly higher in Indonesian patients with symptomatic malaria than in healthy controls. Finally, incubation of platelets with parasitized erythrocytes in vitro failed to induce platelet aggregation or increase the expression of the platelet receptors CD62P, CD40, CD36 and Toll like receptors-2/4/9.

Conclusion: Neither a compromised platelet production nor platelet activation or consumptive coagulopathy are responsible for the early thrombocytopenia in malaria. Previously, endothelial cell activation with vWF-mediated platelet sequestration was suggested to be involved in the thrombocytopenia. Shedding of GP1b may interfere with vWF/platelet interaction.

84. Vijftien jaar autologe stamcel transplantaties in de Isala klinieken

R.K. SCHINDHELM¹, P.A. JOBSE², J.G. KRABBE¹, M. van MARWIJK KOOY², J.L.L.M. COENEN², P.C. HUIJGENS³, P.A. KUIPER-KRAMER^{1,3}

Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Afdeling Interne Geneeskunde², Isala klinieken Zwolle; Afdeling Hematologie³, VU Medisch Centrum, Amsterdam

Inleiding: Bij een autologe stamceltransplantatie (auto-SCT) worden CD34+-hematopoëtische stamcellen van de patiënt verzameld na mobilisatie met groeifactoren en teruggegeven na behandeling met myeloablatieve radio- en/of chemotherapie. In de Isala klinieken worden sinds 1994 auto-SCT's verricht.

Methode: Het betreft een retrospectieve analyse van de auto-SCT-database. Hierin zijn diagnose, demografische gegevens, gegevens van de perifere stamcelaferezes (PSCF) (o.a. aantal procedures om de streefwaarde van 3 106 CD34 per kg te verkrijgen, CD34+ opbrengst totaal en per procedure, en klinische hersteldata (herstelperiode van leukocyten en trombocyten) en klinische complicaties opgenomen.

Resultaat: In de periode 1994-2008 werden bij 150 patiënten (97 mannen; leeftijd 49,4 [18-65] jaar) 321 PSCF uitgevoerd. De eerste 239 procedures (104 patiënten) tot medio 2005 zijn uitgevoerd door Sanquin en de resterende 82 procedures (46 patiënten) daarna in eigen beheer door het Klinisch Chemisch

Laboratorium. Het gemiddelde aantal procedures per patiënt was 2 met een mediane opbrengst (25%-75%-percentiel) van 1,3 (0,6-2,8) en een totale opbrengst per patiënt van 3,8 (2,9-6,4) 106 CD34+-stamcellen per kg. Van 80 van de 150 patiënten zijn de beschikbare klinische hersteldata en complicaties geëvalueerd. Herstel van granulocyten (>0,5 binnen 15 dagen) werd bereikt in 90% van deze patiënten, terwijl herstel van de trombocyten (>50 na 28 dagen) bereikt werd in al deze patiënten. De meest frequente klinische complicaties waren: neutropene koorts (36%) en mucositis (26%).

Conclusie: Sinds 1994 worden in de Isala klinieken auto-SCT's verricht met kwaliteitsparameters die vergelijkbaar zijn met de parameters gepubliceerd in de (internationale) literatuur. Door de intensieve samenwerking van het Klinisch Chemisch Laboratorium en de afdeling Interne Geneeskunde kan hoogwaardige patiëntenzorg geboden worden op het gebied van de auto-SCT's.

85. Human alternatively spliced tissue factor is not secreted and does not trigger coagulation

A.N. BÖING, C.M. HAU, A. STURK, R. NIEUWLAND

Department of Clinical Chemistry, Academic Medical Center, Amsterdam

Introduction: An alternatively spliced form of TF (asTF) is expressed by several cell types, but its secretion and procoagulant properties are still disputed. In the present study, we determined secretion of endothelial asTF both in cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and in a human TF-deficient cancer cell line (Mia PaCa-2 cells), and determined its procoagulant properties.

Methods: RNA was isolated from human endothelial cells. Constructs of asTF cDNA were transfected into Mia PaCa-2 cells. Coagulant activity of asTF was determined by thrombin generation.

Results: Upon activation with interleukin-1 α , HUVEC expressed asTF RNA. The corresponding asTF protein, however, was not detectable in cell lysates, microparticles or culture su-

pernatant. In contrast, when MIA PaCa-2 cells were transfected with endothelial asTF, a 27 kDa asTF was detectable in cell lysates, but not in microparticles or culture supernatant. Lysates of asTF-transfected Mia PaCa-2 cells generated F.VII(a)- but not F.XII(a)-dependent thrombin generation, suggesting that asTF indeed has the ability to trigger TF-mediated coagulation. Lysates from both untransfected- and MOCK-transfected Mia PaCa-2 cells, however, triggered F.VII(a)-mediated thrombin generation to a similar extent.

Conclusion: Detectable levels of asTF protein are present in MIA PaCa-2 cells transfected with human endothelial asTF RNA, but not in (activated) endothelial cells. AsTF is not secreted by the cells and does not trigger thrombin generation in plasma.

86. Diagnostiek ijzerebrek, RET-He of toch maar klassiek? Een systematische vergelijking met de ijzervoorraad in beenmerg

H. de WAARD, E. GEMEN, J. LEUVENINK, N. PEQUERIAUX

Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

Inleiding: Ondanks de beschikbaarheid van meerdere laboratoriumtesten blijft de diagnose van ijzerebreksanemie lastig. Het repertoire van testen is recentelijk uitgebreid met de hemoglobine content van de reticulocyt (RET-He of Chr). De vraag naar de toegevoegde waarde van deze bepalingen wordt in de literatuur niet eenduidig beantwoord. Verschillende resultaten worden mede veroorzaakt door verschillende keuzes in de definitie van ijzerebrek. In deze studies wordt er over het algemeen niet gekozen voor de gouden standaard (ijzerkleuring in beenmerg), maar voor surrogaat-markers.

Methode: Retrospectief zijn bij alle patiënten in het Jeroen Bosch Ziekenhuis, waarbij vanaf november 2006 een beenmergpunctie uitgevoerd is, de originele Perl's gekleurde beenmergaspiraten teruggezocht en dubbelblind herbeoordeeld. Tevens zijn de beschikbare ijzerparameters (Hb, MCV, MCH, MCHC, ferritine, ZPP en RET-He) in kaart gebracht. Statistische analyse maakt een vergelijking van deze parameters ten op-

zichte van de gouden standaard (ijzervoorraad in beenmerg) in de diagnostiek van ijzerebrek mogelijk.

Resultaat: Preliminair analyse, op basis van 200 patiënten laat vergelijkbare performance (vergelijkbare AUC in ROC curve analyse) zien voor RET-He en de klassieke ijzerparameters. Ferritine blijkt in deze studie een duidelijk hogere AUC te hebben dan de andere parameters. Verdere uitbreiding en analyse van het onderzoek vindt plaats.

Conclusie: De gekozen patiëntenpopulatie is per definitie geen standaard doorsnee van de bevolking. De reden van biptie varieert van anemie e.c.i tot vaststelling hematologische maligniteit. Echter, door geen selectie op reden voor punctie toe te passen hebben we zoveel mogelijk voorkomen dat deze analyse gebiased wordt en geeft, ons inziens, dit onderzoek een betrouwbaar beeld van de performance van de verschillende ijzerparameters in de diagnose van ijzerebrek in een standaard klinische setting.

87. Hemoglobinopathiediagnostiek: de toegevoegde waarde van 'reflecterend testen' door laboratoriumspecialisten

W.P.H.G. VERBOEKET-van de VENNE, W.P. OOSTERHUIS, M.P.G. LEERS, H.A. KLEINVELD
Afdeling Klinische Chemie en Hematologie, Atrium Medisch Centrum Parkstad, Heerlen

Inleiding: In juni 2006 is in ons laboratorium de procedure 'reflecterend testen' ingevoerd, met name bij eerstelijns laboratoriumaanvragen. Bij deze werkwijze interpreteert de laboratoriumspecialist afwijkende uitslagen en beoordeelt of aanvullende testen nodig zijn om de diagnostiek zinvol te completeren. Daarnaast worden resultaten voorzien van commentaar. Het doel van dit onderzoek is te beoordelen of de procedure 'reflecterend testen' meerwaarde heeft met betrekking tot het diagnostiseren van hemoglobinopathieën.

Methode: Uit ons laboratoriuminformatiesysteem (LIMS) zijn eerstelijns aanvragen in de periode 2004 - 2009 geselecteerd waarbij een Hb-elektroforese werd aangevraagd. Hierbij vond de detectie en typering van hemoglobinopathieën in bloed plaats met behulp van HPLC; vanaf 2009 door middel van capillaire elektroforese. Indien van toepassing is nader DNA-onderzoek verricht. Er is onderscheid gemaakt tussen een gerichte aanvraag (via de huisarts) of een door het laboratorium geïnitieerde aanvraag (door tussenkomst van de laboratoriumspecialist).

Resultaat: Het totale aantal hemoglobinopathie-analyses neemt aanzienlijk toe sinds de invoering van het 'reflecterend testen' in 2006 (2004: 8; 2005: 9; 2006: 14; 2007: 39; 2008: 39; 2009: 57). Opvallend hierbij is dat het aantal aanvragen via de huisarts vrijwel constant blijft, terwijl het aantal door de laboratoriumspecialist geïnitieerde aanvragen toeneemt: dit bedraagt 50% van het totale aantal analyses in 2006 (7/14), 74% in 2007 (29/39), 69% in 2008 (27/39) en 75% in 2009 (43/57). Nadere evaluatie van de hemoglobinopathieën wijst uit dat heterozygote β -thalassemie het meest wordt opgespoord door de laboratoriumspecialist. Daarnaast worden regelmatig verschillende vormen van α -thalassemie aangetoond, al dan niet in combinatie met HbC, HbE of HbS.

Conclusie: De procedure 'reflecterend testen' leidt tot een aanzienlijke toename van het aantal gevonden hemoglobinopathieën.

88. Changes in procoagulant potential of microparticles in patients with acute myeloid leukemia during chemotherapeutic treatment: behaviour of blast-derived microparticles in a phospholipid- and tissue factor depleted endogenous thrombin potential assay

M.C. van AALDEREN¹, M. C. TRAPPENBURG¹, M. van SCHILFGAARDE², P. J. MOLENAAR², W. E. TERPSTRA¹, A. LEYTE²

Internal Medicine Department¹, Hematology and Clinical Chemistry Laboratory², Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Introduction: Microparticles (MP) are thought to be of significance in the pre-thrombotic state as present in cancer patients. Given the high number of circulating cancer cells and the sometimes fast changing numbers of these and other hematopoietic cells during chemotherapy, acute myeloid leukemia (AML) was chosen as a model to investigate the relation between the phenotypic and procoagulant properties of MP before, during and after chemotherapy.

Methods: The Siemens endogenous thrombin generation potential (ETP) assay was rendered suitable for functional MP studies by lowering its phospholipid and tissue factor content to levels where a linear dose-response relation between MP number and ETP parameters was observed. With this tool, combined with flowcytometric analysis, we characterized the numbers and phenotypic MP profiles and corresponding procoagulant activity of three patients with AML before, during and after chemotherapeutic treatment.

Results: 95% of control-MP were of platelet origin. In AML patients 1 and 2 this percentage was lower, and MP were displaying myeloblast markers such as CD13, CD34 and HLA-DR. Before chemotherapy, the numbers of Annexin V positive MP from patient 1 was lower. Despite this, the MP-related ETP was found to be increased. Upon chemotherapy, myeloblast markers disappeared and the ETP normalized. Late after chemotherapeutic treatment, the total number of MP in patients 1, 2 and 3 was markedly increased as opposed to before, during and shortly after chemotherapy.

Conclusion: Our results suggest an increased ETP of myeloblast-derived MP and a possible role for them in the increased risk at thrombosis in AML patients. The high number of Annexin V positive MP long after chemotherapy may be related to vascular damage as a late post-chemotherapy effect

89. Newborn from consanguineous parents with hyperbilirubemia and hemolysis: γ -glutamylcysteine synthetase deficiency

J.A. REMIJS¹, D.J. POT², H.J. ADRIAANSEN¹, R. van WIJK³

Department of Clinical Chemistry and Hematology¹, Gelre ziekenhuizen, Apeldoorn/Zutphen; Department of Pediatrics², Gelre ziekenhuizen, Apeldoorn; Department of Clinical Chemistry and Hematology³, University Medical Center, Utrecht

Introduction: Erythrocytes depend mainly on the anaerobic conversion of glucose by the Embden-Meyerhof pathway and the hexose-monophosphate pathway (HMP). Glucose catabolism via the HMP increases upon oxidative stress by infection or drugs. The HMP generates NADPH which is required for the reduction of oxidized glutathione (GSSG) to glutathione (GSH) by glutathione-reductase. Glutathione is synthesized by γ -glutamylcysteine synthetase.

Methods: We present a newborn girl from consanguineous parents. 6 hours after birth she appeared to be remarkably yellow. Since the presence of a familial 'glutathione defect' she was transferred to the hospital.

Results: Laboratory analysis showed increased bilirubin (216 mmol/L; ref: < 100 mmol/L), increased LD (887 U/L; ref: < 250 U/L), decreased haptoglobin (0,08 g/L; ref: 0,4 - 2,0 g/L), increased reticulocytes (443/nL; ref: 25 - 110/nL), negative Coombs, and leucocytosis (35,3/ nL; ref. 10,0 - 26,0/nL) with left shifted granulocytes. The patient was directly treated with phototherapy, exchange bloodtransfusion, antibiotics and recovered well. Since the presence of a familial glutathione defect a glutathione-instability test was performed. GSH decrease upon exposure of oxidative stress to the patients erythrocytes was normal. However, the baseline-value of GSH was strongly decreased (0,65 mmol GSH/mL erythrocytes; ref.: 1,5-2,9

mmol GSH/ml), which suggested a defect in GSH synthesis and thereby defective γ -glutamylcysteine synthetase. DNA analysis showed a homozygous Pro158Leu mutation on the gene coding for γ -glutamylcysteine synthetase which results in γ -glutamylcysteine synthetase deficiency¹.

Conclusion: We report a homozygous Pro158Leu mutation on the gene coding for γ -glutamylcysteine synthetase resulting

in γ -glutamylcysteine synthetase deficiency in a newborn girl from consanguineous parents. The presence of bacterial infection maybe the trigger and source of oxidative stress resulting in hyperbilirubemia and hemolysis.

Literature: 1. Ristoff et al, Blood 2000;95:2193-97.

90. Binding van vancomycine aan monoklonale IgM veroorzaakt sterk afwijkende vancomycine farmacokinetiek; toxische vancomycine spiegels verklaard?

M.J.T. VEUGER¹, J.W.F. UGES³, F. BABOE², D.J. TOUW³, P.W. WIJERMANS²

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹ HagaZiekenhuis, Afdeling Hematologie², Apotheek Haagse Ziekenhuizen³, Den Haag

Inleiding: Een patiënte met een combinatie van Multipel Myeloom (vrije lambda-ketens; kappa/lambda 0.05) en Morbus Waldenström (IgM kappa) werd behandeld vanwege progressie van het Waldenström. In verband met persisterende koorts werd protocollair gestart met vancomycine/ceftazidime. Bij controle van de vancomycinespiegels werden ondanks een goede nierfunctie extreem hoge concentraties waargenomen (330 mg/l; referentie <40 mg/l). Gedurende vancomycine toediening werd kortstondig neurotoxiciteit waargenomen. Doserings- en monsterafname fouten werden uitgesloten. Uit farmacokinetische analyse werd een sterk verminderd verdeelingsvolume (factor 10) en een sterk afgenomen klaring (factor 100) waargenomen. Op basis van bovenstaande analyse werd gepostuleerd dat de vancomycine intravasculair bleef en zich niet kon verdelen over de rest van het lichaam. Onze hypothese was dat de afwijkende farmacokinetiek van vancomycine kon worden verklaard door binding van vancomycine aan het monoclonale IgM, resulterend in hoge bloedspiegels, een klein verdeelingsvolume en een sterk afgenomen klaring.

Methode: Om de eiwitbinding van vancomycine aan te tonen, werd onder meer een ultracentrifugatie uitgevoerd, waarna vancomycine, immunoglobulines en albumine werden gemeten. Tevens werden in vitro bindingsstudies uitgevoerd. Om vancomycine-IgM binding aan te tonen, werd serum IgM geïsoleerd met een HiTrap IgM bindingskolom. In elutiefracties werden IgM, vancomycine en albumine gemeten.

Resultaat: Vancomycine is regulier voor 30-55% gebonden aan albumine en IgA. Bij patiënte bleek echter gemiddeld 98.5% van vancomycine gebonden te zijn. (versus 37% bij controle patiënten met/zonder MM). Uit in vitro experimenten werd duidelijk dat vrij vancomycine volledig werd gebonden bij menging met patiëntserum zonder vancomycine.

Conclusie: De toxische vancomycine spiegels kunnen worden verklaard door verhoogde eiwitbinding, waarschijnlijk aan specifieke monoclonale Ig's. Dit gebonden vancomycine verdeeld zich niet extravasculair, waardoor mogelijk (locale) toxiciteit optreedt. Bewijs dat de vancomycine specifiek IgM gebonden is wordt momenteel nader onderzocht.

91. Gemaskeerde vitamine B12 deficiëntie bij een patiënt met heterozygote β thalassemie: een schaaap in wolfskleren

H.A. HENDRIKS, G.J. VRIELINK, M. van LEEUWEN, W. de KIEVIET

Klinisch Laboratorium, St. Lucas Andreas Ziekenhuis, Amsterdam

Inleiding: De diagnose vitamine B12 deficiëntie naast een β thalassemie kan uitdagend zijn. De karakteristieke hematologische parameters behorend bij een VB12 deficiëntie kunnen in deze situatie veranderd zijn en een TTP-achtig beeld geven. In deze casus wordt een 71-jarige man beschreven, die werd verwezen vanwege een sinds enkele maanden progressieve vermoeidheid die uiteindelijk bleek te berusten op een diepe pernacieuze anemie bij een heterozygote β thalassemie.

Methode: Anemie diagnostiek werd ingezet.

Resultaat: Hb 3,3 mmol/l, leukocyten 2,9 x 10⁹/l, trombocyten 184 x 10⁹/l, MCV 80 fl, reticulocyten 14 x 10⁹/l, RDW 36,1%. Directe Coombs test: negatief. Perifere bloed: fragmentocyten, traandruppelcellen en elliptocyten. Overige afwijkende laboratorium waarden: ASAT 120 U/l, ALAT 54 U/l, LD 4800 U/l, bilirubine totaal 41 μ mol/l, bilirubine geconjugeerd 0 μ mol/l, vitamine B12 69 pmol/l, haptoglobine <0,1 g/l. Er was geen sprake van foliumzuur en ijzerdeficiëntie. Later werden de uitslagen van het overige laboratorium onderzoek bekend: hemo-

globine elektroforese liet een heterozygote β thalassemie zien met 5,6% HbA2 en 5,6% HbF. De ADAMTS 13 activiteit 68% (normaal). Geen immunologische aanwijzingen voor PNH. Antistoffen tegen intrinsic factor en pariëtale cellen: positief, passend bij een pernacieuze anemie. Beenmergonderzoek: zeer celrijk, passend bij een megaloblastaire anemie met een hyperplastische, linksverschoven, licht megaloblastaire erythropoese. Tevens pathologische granulopoese met hypersegmentatie en reuzenstaven.

Conclusie: Pernacieuze anemie gemaskeerd door thalassemie kan een normocytair anemie met veel fragmentocyten en een trombopenie veroorzaken, dat een TTP-achtig beeld geeft. Bij een beeld van een microangiopathische anemie met een zeer hoge LD waarde, een hoge RDW en een laag aantal reticulocyten moet altijd gekeken worden naar een vitamine B12 deficiëntie. Daarnaast moet ook een bijkomend probleem, zoals een thalassemie of een ijzergebrek niet over het hoofd worden gezien.

92. De diagnostische performance van allergeen-moleculen ten opzichte van allergeen-extracten

I.J.M. van der LINDEN¹, M.J.M. de GROOT¹, C.C.M. de JONG¹, Z. BOZKURT¹, G.J. JONKER², C.M. COBBAERT^{1,3}. *Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹, Amphia Ziekenhuis, Locatie Molengracht, Breda; Afdeling Allergie², Amphia Ziekenhuis, Locatie Pasteurlaan, Oosterhout; Klinisch Chemisch Laboratorium³, LUMC, Leiden*

Inleiding: De standaardisatie van allergiebepalingen zou een enorme stap voorwaarts maken indien het allergeen-molecuul verantwoordelijk voor de allergische reactie specifiek aangegeven kan worden. In deze studie is de diagnostische performance van gekarakteriseerde allergeen-moleculen vergeleken met die van klassieke allergeen-extracten voor huisstofmijt, kattenepitheel/roos en hondenroos.

Methode: Serummonsters van 66 gedocumenteerde allergische patiënten (ref) werden getest op anti-IgE tegen huisstofmijt (n=54), kattenepitheel/roos (n=47) en hondenroos (n=50) allergeen-moleculen en allergeen-extracten (Siemens). Een positief testresultaat is gedefinieerd als een concentratie anti-IgE > 0,35kU/L. Patiënten zijn studie diagnose-positief wanneer ze een positieve kliniek/geschiedenis en positieve huidpriktest hebben (1).

Resultaat: Huisstofmijt: Het allergeen-extract D1 vertoont 93% total agreement (TA) en 100% sensitiviteit ten opzichte van de studie diagnose. De allergeen-moleculen nDer p1, nDer f1, nDer p2 en nDer f2 hebben een TA tussen 76-81% en een sensitiviteit van 57-70%. De specificiteit van het allergeen-extract en de allergeen-moleculen is respectievelijk 87% en

90%. Kattenepitheel/roos: Het allergeen-extract E1 vertoont 89% TA met de studie diagnose en het allergeen-molecuul nFel d1 94%. De sensitiviteit en specificiteit van het allergeen-extract zijn respectievelijk 85% en 93%. De sensitiviteit en specificiteit van het allergeen-molecuul nFel d1 bedragen 90% en 96%. Hondenroos: Het allergeen-extract E5 vertoont 78% TA en heeft een sensitiviteit van 52%. Het allergeen-molecuul nCan f1 vertoont 84% TA met de studie diagnose en heeft een sensitiviteit van 71%. De specificiteit van het allergeen-extract en het allergeen-molecuul bedraagt respectievelijk 97% en 93%.

Conclusie: De onderzochte allergeen-moleculen voor huisstofmijt zijn niet de enige belangrijke determinanten in het huisstofmijt allergeen-extract. De diagnostische performance van de allergeen-moleculen voor kattenepitheel/roos (nFel d1) en hondenroos (nCan f1) is beter dan die van de corresponderende allergeen-extracten.

Literatuur: 1. C.M. Cobbaert et al. Clin Chem Lab Med 2005, 43:772-781.

93. Vergelijking diagnostische waarde van lysozym en calprotectine in faeces in patiënten met darmproblematiek

K. GIJZEN¹, R. STROET¹, M.H. OTTEN², F.A.J.T.M. van den BERGH³, J.P.M. WIELDERS¹, R.J. KRAAIJENHAGEN¹. *Afdeling Klinische Chemie¹, Interne geneeskunde², Meander Medisch Centrum, Amersfoort; Klinisch Chemisch Laboratorium³, Medisch Spectrum Twente, Enschede*

Inleiding: Voor differentiatie tussen 'inflammatory bowel disease' (IBD) en 'irritable bowel syndrome' (IBS) wordt als gouden standaard invasieve diagnostiek toegepast. De bepaling van calprotectine in faeces is beschreven als een goed alternatief. Dit ontstekings eiwit kan gebruikt worden ter discriminatie tussen IBD en IBS en als follow-up van IBD. In de jaren tachtig werd hiervoor ook lysozym in faeces gebruikt, maar hierover is geen recent onderzoek bekend. In dit oriënterend onderzoek vergelijken we de diagnostische waarde van lysozym en calprotectine in patiënten met darmproblematiek.

Methode: Bij 54 patiënten (6-84 jaar) met darmproblematiek werd zowel lysozym als calprotectine bepaald in hetzelfde faecesmonster. Lysozym werd bepaald m.b.v. een turbidimetrische bepaling op basis van een suspensie van *Micrococcus lysodeicticus* met het faecesmonster. Calprotectine werd bepaald in Medisch Spectrum Twente m.b.v. een ELISA methode.

Resultaat: Van de 54 patiënten had 10 IBD, 7 IBS, en 37 overige darmafwijkingen. Voor calprotectine (normaal tot 30 mg/l) werden de volgende waarden (in mg/l) gemeten (gemiddelde (SD), mediaan (reeks)): IBD 1683 (3717), 41 (6-12000), IBS 10 (7), 6 (6-22), en overig 48 (68), 19 (6-310). Voor lysozym (normaal tot 42 mgKEL/l) werden de volgende waarden (in mgKEL/l) gemeten: IBD 63 (69), 15 (10-170), IBS 17 (8), 13 (10-27), en overig 29 (32), 12 (10-120). Bij IBD en IBS patiënten was er een goede correlatie tussen de hoogte van calprotectine en lysozymuitslagen terwijl bij patiënten met overige darmafwijkingen een aantal discrepanties te zien waren.

Conclusie: Zowel bij calprotectine als lysozym werden gemiddeld verhoogde concentraties gemeten in faeces bij IBD patiënten i.v.m. met patiënten met IBS en overige darmafwijkingen. Deze eerste data suggereren dat naast calprotectine ook lysozym van waarde is in de diagnostiek voor darmaandoeningen.

Gynaecologie/obstetrie

94. Testosteron/FSH ratio in vruchtwater als hulpmiddel bij de prenatale geslachtsbepaling

J.A.P. BONNS¹, D. de BOER¹, C. WILLEKES², P.P.C.A. MENHEERE¹

Laboratorium Klinische Chemie¹, Afdeling Gynaecologie², Maastricht Universitair Medisch Centrum

Inleiding: Voor de prenatale geslachtsbepaling wordt vooral gebruik gemaakt van echografie en cytogenetica. Echografie is betrouwbaar vanaf een zwangerschapsduur van 18-20 weken. Indien er bij echografie sprake is van een dubieus geslacht of er is een discrepantie tussen echografie en cytogenetica dan kan de ratio testosteron/FSH in vruchtwater ondersteuning geven bij de geslachtsbepaling. Tevens kan de testosteron/FSH-ratio een bijdrage leveren bij het voorspellen van de fenotypische uiting bij genotypisch bevestigde geslachtsafwijkingen. Een uitspraak over het geslacht van de foetus wordt mogelijk door de vergelijking van de gevonden concentraties met een eigen opgebouwde referentiepopulatie.

Methode: Testosteron werd bepaald met de RIA Coat-a-Count methode (Siemens-DPC). FSH werd bepaald met de hFSH methode op een Autodelphia (Perkin Elmer). Referentiewaarden van testosteron en FSH zijn bepaald in vruchtwaters van 50 vrouwen afgenomen bij een zwangerschapsduur van 16 weken. Het genotype van de foetussen was cytogenetisch bepaald en

kwam in alle gevallen overeen met het fenotype bij de geboorte. Ondanks de mogelijke beperkingen worden uitslagen van monsters afgenomen gedurende de gehele zwangerschap met deze "referentie"-groep vergeleken.

Resultaat: Voor de referentiepopulatie waren de gemiddelde/sd voor testosteron voor jongens en meisjes respectievelijk 1,57/0,66 en 0,74/0,30 nmol/l. Gemiddelde/sd voor FSH voor jongens en meisjes waren respectievelijk 0,32/0,22 en 2,20/1,34 U/l. Gemiddelde/sd voor ratio testosteron/FSH voor jongens en meisjes waren respectievelijk 7,0/7,66 en 0,41/0,25. Bij een afkappgrens van 1,68 voor de testosteron/FSH ratio bleek zowel de sensitiviteit als de specificiteit 100% te bedragen.

Conclusie: De testosteron/FSH ratio in vruchtwater kan een zinvolle bijdrage leveren bij de geslachtsbepaling. Ondanks de hoge sensitiviteit en specificiteit wordt er naar gestreefd om zwangerschapsduur afhankelijke referentiewaarden te verkrijgen. Door het geringe aantal aanvragen is dit een langdurig proces.

Neurologie, psychiatrie, KNO en oogheelkunde

95. Increased osteopontin plasma levels in MS patients correlate with bone-specific markers

M.H.J. VOGT¹, J. ten KATE¹, R.J.M. DRENT¹, C.H. POLMAN², R. HUPPERTS³

Department of Clinical Chemistry and Hematology¹, Orbis Medical Center, Sittard-Geleen; Department of Neurology², VU University Medical Centre, Amsterdam; Department of Neurology³, Orbis Medical Center, Sittard-Geleen

Introduction: The pro-inflammatory cytokine osteopontin (OPN) has been found to be highly expressed in MS lesions and plasma levels are increased during relapses in relapse-onset MS patients. The objective was to determine the relationship between osteopontin plasma and cerebrospinal fluid (CSF) levels in relation with the IgG index. In addition, OPN plasma levels were compared with OPN mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and bone-specific markers to analyze whether OPN may be peripherally produced.

Methods: OPN and bone-specific markers were determined in paired plasma-CSF samples and serum samples of relapse-onset MS patients (n=36), respectively. OPN mRNA levels were determined by quantitative PCR analysis.

Results: Compared to healthy controls (HC, n=20), plasma osteopontin levels were significantly increased in RR MS pa-

tients and correlated (r=0.43, p=0.013) with the IgG index. In contrast, CSF OPN levels correlated neither with plasma OPN in paired samples nor with the IgG index. Since OPN mRNA levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of RR MS patients did not correlate with OPN plasma levels, PBMC might not be the major source for the increased OPN plasma levels. OPN plasma levels correlated (r=0.42, p=0.035) with the bone-specific degradation product c-telopeptide of type-1 collagen. In addition, another immunomodulatory molecule involved in bone metabolism, 25(OH)vitamin D, correlated negatively (r=-0.359, p=0.048) with the IgG index.

Conclusion: This study suggests that bone-related molecules like OPN and vitamin D with important immunomodulatory functions are related to the IgG index in RR-MS patients.

Oncologie

96. Thrombocytopenia (TCP) in adult cancer patients receiving cytotoxic chemotherapy: incidence and relative risk estimates from a retrospective hospital-based cohort study

M.J. ten BERG^{1,2}, P.M.L.A. van den BEMT^{1,3}, S. SHANTAKUMAR⁴, D. BENNETT⁵, E.E. VOEST⁶, A. HUISMAN², W.W. van SOLINGE^{1,2}, T.C.G. EGBERTS^{1,7}

Division of Pharmacoepidemiology and Pharmacotherapy¹, Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Science, Utrecht University, The Netherlands; Department of Clinical Chemistry and Haematology², University Medical Center Utrecht, The Netherlands; Department of Hospital Pharmacy³, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands; Epidemiology⁴, GlaxoSmithKline R&D Oncology, Research Triangle Park, North Carolina, United States of America; Epidemiology⁵, GlaxoSmithKline R&D Oncology, Collegeville, Pennsylvania, United States of America; Department of Medical Oncology⁶, University Medical Center Utrecht, The Netherlands; Department of Clinical Pharmacy⁷, University Medical Center Utrecht, The Netherlands

Introduction: We aimed to determine the incidence and relative risk (RR) of chemotherapy-induced thrombocytopenia (TCP) in adult patients with solid tumors.

Methods: Patients receiving standard chemotherapy at UMC Utrecht from 2004-2006 were identified from the Utrecht Patient Oriented Database (UPOD) and the Regional Cancer Registry Middle Netherlands in this single-center retrospective cohort study. The aim of this study is to determine the incidence of a) overall TCP (platelet count $<100 \times 10^9/L$ at any time during the first course of chemotherapy) as well its grade according to the NCI-CTC criteria v 3; b) TCP occurring with or without other cytopenias; c) the incidence and RR of TCP associated with different cytotoxic agents (used as monotherapy or in combination).

Results: 614 patients receiving 19 different cytotoxic agents in 39 different regimens were identified. The incidence of overall TCP was 21.8%. Grade 1, 2, 3, and 4 TCP occurred

in 9.9%, 5.0%, 3.6%, and 3.3% of patients, respectively. The incidence of TCP without other cytopenias was 6.2%. The highest incidences of TCP occurred in patients receiving carboplatin monotherapy (81.8%), carboplatin combination therapy (58.2%), gemcitabine combination therapy (64.4%) and paclitaxel combination therapy (59.3%). The highest RR of TCP, compared to cisplatin based therapy (the most commonly used regimen), was observed for combination therapy of carboplatin/gemcitabine (RR 10.1, 95% CI 5.5-18.5) and for combination therapy of carboplatin/paclitaxel/etoposide (RR 11.8, 95% CI 6.7-20.8). The highest incidences of TCP without other cytopenias were observed in combination therapies including oxaliplatin (28.6%) and gemcitabine (28.9%).

Conclusion: In daily clinical practice, TCP was observed in one of five cancer patients receiving chemotherapy. Regimens with carboplatin, gemcitabine and paclitaxel are associated with the highest risk of TCP.

97. Discriminative value of platelet size indices for the identification of the mechanism of chemotherapy-induced thrombocytopenia

M.J. ten BERG^{1,2}, A. HUISMAN², P.M.L.A. van den BEMT^{1,3}, H. den BREEIJEN^{1,4}, T.C.G. EGBERTS^{1,4}, W.W. van SOLINGE^{1,2}

Division of Pharmacoepidemiology and Pharmacotherapy¹, Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Science, Utrecht University; Department of Clinical Chemistry and Haematology², University Medical Center Utrecht; Department of Hospital Pharmacy³, Erasmus Medical Center, Rotterdam; Department of Clinical Pharmacy⁴, University Medical Center Utrecht

Introduction: This study aimed to explore the discriminative value of mean platelet volume (MPV) and platelet distribution width (PDW) for immune-mediated and bone marrow-suppression related chemotherapy-induced thrombocytopenia in oncology patients.

Methods: Within a cohort of oncology patients who received treatment with non-clinical trial chemotherapy in the period 2005-2006 three groups of patients were identified: i) patients with isolated thrombocytopenia (proxy for immune-mediated thrombocytopenia): platelet count $<100 \times 10^9/L$ without concurrent anemia, leukopenia and neutropenia; ii) non-isolated thrombocytopenia (proxy for bone marrow suppression-related thrombocytopenia); iii.) patients without thrombocytopenia. For each group mean MPV, mean PDW and the percentage of patients with an abnormally high MPV (>9.5 femtoliter [fL]) was determined. Between-group differences in mean MPV, mean PDW and percentages of patients with an abnormally high MPV were tested for statistical significance with appropriate tests.

Results: 34 patients with isolated thrombocytopenia, 63 with non-isolated thrombocytopenia and 305 without thrombocytopenia were studied. Mean MPV and mean PDW were not different for patients with isolated and non-isolated thrombocytopenia (MPV 9.0 vs. 8.7, $p=0.381$; PDW 16.5 vs. 15.8, $p=0.248$), nor were the percentages of patients with an abnormally high MPV (29.4 vs. 27.0, $p=0.799$). Mean MPV and the percentage of patients with an abnormally high MPV for patients with isolated thrombocytopenia and patients with non-isolated thrombocytopenia were significantly different ($p<0.05$) from patients without thrombocytopenia (MPV 7.6; high MPV 4.6%). Mean PDW for patients without thrombocytopenia (16.0) did not differ from mean PDW of the other groups.

Conclusion: The results of this study suggest that MPV and PDW are not useful to discriminate between immune-mediated and bone marrow suppression-related chemotherapy-induced thrombocytopenia.

98. Cystatine C is een nauwkeuriger nierfunctieparameter dan creatinine bij kinderen met een maligniteit

J. TROMP¹, F. ABBINK¹, B. STOFFEL-WAGNER², A.A. BOUMAN³, J.A.E. van WIJK¹, A. BÖKENKAMP¹
*Afdeling Kindergeneeskunde¹, VU Medisch Centrum, Amsterdam; Instituut van Klinische Chemie en Farmacologie²,
Universiteit Bonn Medisch Centrum, Bonn, Duitsland; Afdeling Klinische Chemie³, VU Medisch Centrum, Amsterdam*

Inleiding: Meting van nierfunctie is belangrijk voor kinderen die behandeld worden met chemotherapie. Het gebruik van serum creatinine voor meting van de glomerulaire filtratie snelheid (GFR) is onnauwkeurig vanwege zijn afhankelijkheid van spiermassa. Verlies van spiermassa in kankerpatiënten kan leiden tot overschatting van de GFR door creatinine. Cystatine C is een alternatief gebleden voor creatinine. Data over cystatine C in kinderoncologische patiënten zijn schaars, hoewel deze parameter juist in deze populatie extra voordelig kan zijn vanwege zijn onafhankelijkheid van spiermassa.

Methode: Inulineklaring (Cin), schatting van GFR met cystatin C volgens Filler (eGFRcys) en schatting van GFR met creatinine volgens Schwartz (eGFRcrea) werden gemeten in 68 patiënten met actieve maligniteit en 150 controlepatiënten. Het verschil tussen gemeten en geschatte GFR en de prestatie van beide GFRs in patiënten met actieve maligniteit en controles werd geanalyseerd.

Resultaat: Multipole lineaire regressie liet een overschatting zien van de GFR door eGFRcrea bij zowel vrouwen ($b=-8,65$, $p=0,001$) als patiënten met een actieve maligniteit ($b=-6,05$, $p=0,069$). eGFRcys overschatte de GFR in vrouwen ($b=-7,33$, $p=0,016$), maar was onafhankelijk van maligniteit. Overeenkomst tussen de geschatte GFRs en inulineklaring was vergelijkbaar in de controlegroep (κ eGFRcrea 0,367 vs. eGFRcys 0,396), maar eGFRcrea presteerde slecht (κ -0,114) in de groep met actieve maligniteit. ROC analyse liet een hogere diagnostische nauwkeurigheid zien van eGFRcys ten opzichte van eGFRcrea (AUC 0,823 vs. 0,599) in de groep met actieve maligniteit, terwijl ze vergelijkbaar presteerden in de controlegroep (AUC 0,928 vs. 0,910).

Conclusie: Cystatine C is een nauwkeuriger nierfunctieparameter dan creatinine bij kinderen met een maligniteit.

99. CYP2D6 fenotype voorspelt effectiviteit van tamoxifen behandeling bij gemetastaseerd mamma-carcinoom

R.H.N. van SCHAIK, L.A. LAMMERS, T. van GELDER, M.J. BIJL, A.M. de GRAAN, C. SEYNAEVE, M.A. van FESSEM, E.M. BERNS, A.G. VULTO, R.H.J. MATHIJSEN
Afd. Klinische Chemie, Afd. Ziekenhuisfarmacie en Afd. Medische Oncologie, Erasmus MC, Rotterdam

Inleiding: Tamoxifen wordt gebruikt bij de behandeling van borstkanker, zowel als adjuvant (ter voorkoming van ziekte na operatie) als bij de behandeling van gemetastaseerde ziekte. Cytochroom P450 2D6 (CYP2D6) speelt een belangrijke rol in de omzetting van tamoxifen naar de actieve metaboliet endoxifen. 5-10% van de populatie heeft een lage CYP2D6 enzymactiviteit (poor metabolizers) als gevolg van de overerving van twee inactieve allelen. Geenitsch normale metaboliseerders kunnen een traag CYP2D6 metabolisme krijgen wanneer ze behandeld worden met CYP2D6 inhibitoren. Voor adjuvante tamoxifen is aangetoond dat CYP2D6 trage metaboliseerders een kortere ziektevrije overleving hebben. In deze studie is gekeken naar het effect van CYP2D6 fenotype en co-medicatie op ziektevrije overleving op tamoxifen bij gemetastaseerd mamma-carcinoom.

Methode: Van 102 vrouwen die behandeld werden met tamoxifen (40 mg/dag) voor gemetastaseerde ziekte werden CYP2D6 variant allelen *3, *4, *5, *6, *10 en *41 bepaald middels

TaqMan analyses. CYP2D6 comediatie werd ingedeeld naar CYP2D6 inhiberend vermogen: fluoxetine, paroxetine en bupropion (sterk), duloxetine en terbinafine (matig), amiodarone, cimetidine, citalopram en sertraline (zwak). Op basis van fenotype en co-medicatie werden trage, intermediaire en normale CYP2D6 fenotypes vastgesteld, en vergeleken met Time to Tumor Progression (TTP) en Overall Survival (OS).

Resultaat: OS was significant korter in CYP2D6 trage metaboliseerders ten opzichte van normale metaboliseerders (HR=2,09; $P=0,034$; 95% CI: 1,06-4,12). Co-medicatie alleen was ook al geassocieerd met een slechtere OS (HR=3,55; $P=0,002$; 95% CI: 1,59-7,96) en TTP (HR=2,97; $P=0,008$; 95% CI: 1,33-6,67) vergeleken met patiënten zonder CYP2D6 inhibitoren.

Conclusie: Het CYP2D6 fenotype, vastgesteld als combinatie van fenotype en co-medicatie, is een goede voorspeller van progressie en overall survival in vrouwen die behandeld worden met tamoxifen voor gemetastaseerde ziekte.

100. [-2]proPSA en Phi als markers voor detectie van prostaatkanker in het 2-10 ng/ml PSA gebied

R.H.N. van SCHAIK¹, W.J. CATALONA², A.W. PARTIN³, M.G. SANDA⁴, G.G. KLEE⁵, C.H. BANGMA⁶, K.M. SLAWIN⁷, L.S. MARKS⁸, S. LOEB⁹, D.W. CHAN⁹, L.J. SOKOLL⁹, W.L. ROBERTS⁹
Afd. Klinische Chemie¹, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands; Department of Urology², Northwestern Feinberg School of Medicine, Chicago, USA; Yale University School of Medicine³, New Haven, USA; Department of Urology⁴, University of Michigan School of Medicine, Ann Arbor, USA; Department of Pathology⁵, Vancouver General Hospital, Canada; Afd. Urologie⁶, ErasmusMC, Rotterdam, The Netherlands; The Baylor Prostate Center⁷, Baylor College of Medicine, Houston, USA; Urological Sciences Research Foundation⁸, Los Angeles, USA; Department of Urology⁹, Johns Hopkins School of Medicine, Baltimore, USA

Introductie: Sinds de introductie in 1994 wordt PSA als prostaatkankermarker is het percentage gevorderde kanker bij diagnose is met 85% afgenomen en prostaatkankersterfte is gedaald met 40%. Echter, het gebied 4,0-10 ng/mL heeft PSA slechts een geringe specificiteit: bij 25% van de patiënten wordt bij biopsie prostaatkanker gevonden. Dit betekent dat 75% van de biopsies onnodig. Om de specificiteit te verhogen, kan vrij PSA (fPSA) worden gemeten, en sinds kort ook [-2]proPSA (p2PSA), een PSA-vorm die sterk geassocieerd is met prostaatkanker. In een multi-center studie is onderzocht hoe de specificiteit van PSA en PSA-vormen voor de detectie van

prostaatkanker verbetert kan worden. Hierbij is ook een mathematische formule gebruikt, met PSA, fPSA en [-2]proPSA: de *prostatic-health-index (phi)*.

Methode: Van 892 mannen (430 prostaatkanker, 462 controles) >50 jaar uit 8 medische centra (periode 2003-2009) met een negatief DRE, een pre-studie PSA van 2,0-10,0 en een beschikbaar en geanalyseerd biopt binnen 6 maanden na de PSA meting, werd [-2]proPSA, PSA en fPSA gemeten op een Beckman-Coulter Access2 Immunoassay Analyzer. Aanwezigheid van prostaatkanker in het biopt werd gecorreleerd met PSA, fPSA, %fPSA, [-2]proPSA, ratio [-2]proPSA/fPSA en phi.

Resultaten: De grootste specificiteit werd gevonden voor *phi* (16%), gevolgd door [-2]proPSA/fPSA ratio (12%), %fPSA (8,4%), [-2]proPSA (7,6%), PSA (6,5%) fPSA (3,5%). ROC analyse geeft een significant grotere AUC voor *phi* (0,703) dan voor %fPSA (0,648), fPSA (0,615), p2PSA (0,557) of PSA (0,525). Het relatieve risico op prostaatkanker was 1,6 voor

phi 25-35, 3,0 voor 35-55 en 4,7 voor >55, vergeleken met *phi* <25. Een *phi* >55 was geassocieerd met 52% kans op prostaatkanker.

Conclusie: *Phi* is de beste PSA-gebaseerde parameter om het risico op prostaatkanker in te schatten bij patiënten met een PSA tussen 2,0 en 10 ng/ml.

101. Interference of PT-INR by high levels of M-protein

E. van MIRRE, W.L.E. VASMEL, H.A. HENDRIKS

Klinisch Laboratorium en Interne Geneeskunde, Sint Lucas Andreas Ziekenhuis, Amsterdam

Introduction: Monoclonal gammopathies form a group of diseases that are characterised by the presence of an M-protein, a monoclonal immunoglobulin. Recently, it has been shown that MGUS and multiple myeloma are associated with an increased incidence of venous thrombotic events (VTE). Changes in the coagulation pathways can be assessed and therapy can be monitored by the PT and APTT. Here we report a case of interference of an PT assay by high levels of M-protein.

Methods: Routine coagulation diagnostics and immunofixation
Results: The patient discussed here progressed from an MGUS to multiple myeloma, while being treated with a vitamin K-antagonist for an episode of VTE. In view of therapy monitoring coagulation testing was performed. Observed was a normal APTT (29.9 s ref. range 20.8 – 31.2 s), normal fibrinogen levels

(3.0 g/L; ref. range 1.8 – 3.5 g/L) and an INR >7.5 (ref. range 0.8 – 1.2). Vitamin K injection did not ameliorate the INR. Therefore, the INR was measured using another method. Here, the INR was 1.0. Treatment of the multiple myeloma led to a decrease of the M-protein (from 47 g/L to 13 g/L). Next to that, the INR could be measured again using the initial method.

Conclusion: Interference on laboratory test by M-proteins is a well characterised phenomenon. Mostly, these interferences are caused by changes in the turbidity of the plasma. However, there have been reports that in some cases M-proteins interfere directly with (components of) the reagent used in the test. Here we report a case of interference of an PT assay by high levels of M-protein that might be caused by competition for the phospholipids in the reagent used in this assay.

Categorie 3 Klinisch

Acute zorg, IC, toxicologie

102. Hyponatriëmie bij hyperglycemie: geen obligaat kenmerk

R.W. WULKAN

Afd. Klinische Chemie, Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam

Inleiding: Het ontstaan van hyponatriëmie bij hyperglycemie wordt verklaard door verdunning met water uit de weefsels, en door natriumverlies in de urine. De literatuur vermeldt als correctiefactor 1 mmol/L natriumverlaging per 1,4 mmol/L glucosestijging boven 22,2 mmol/L (1). Wij zagen enkele patiënten met een normaal, of slechts matig verlaagd natrium bij hyperglycemie en onderzochten of er kenmerken zijn die deze patiënten onderscheiden van patiënten met hyponatriëmie.

Methode: De gegevens van 100 patiënten met een glucose >20 mmol/L werden prospectief verzameld. Gezocht werd naar onderscheidende kenmerken tussen de groep patiënten met een normale natriumverlaging (groep A) en de groep met een hoger dan verwachte natriumconcentratie (groep B). Significantierverschil in frequentie van een kenmerk werd getest volgens Rümke (2).

Resultaat: De patiëntgroep bestond uit 15 kinderen en 85 volwassenen. Groep A toonde een hyponatriëmie zoals verwacht. Groep B (17 pat.) had een hoger natrium dan verwacht. De vol-

gende kenmerken waren niet onderscheidend ($p < 0,05$) voor een van beide groepen: $\text{pH} < 7,25$, bicarbonaat < 10 mmol/L, ketonurie, kreat $> 2 \times$ verhoogd, ureum/kreat $> 8\%$, anion gap > 11 mmol/L. Alleen een osmolaliteitsgap > 11 mosmol/L kwam significant vaker voor in groep B. Het mediane glucose was significant hoger in groep B (63 vs. 35 mmol/L). De data vertonen een sterke strooing (figuur). De gemiddelde natriumverlaging was 1 mmol/L per 2,3 mmol/L glucosestijging.

Conclusie: We vonden een atypisch natrium bij 17% van de patiënten (groep B) en een sterkere gemiddelde natriumverlaging dan in de literatuur (groep A). De onderscheidende kenmerken tussen beide groepen waren een hoger mediaan glucose en het vaker voorkomen van een verhoogde osmolaliteitsgap. Het fenomeen wacht op een fysiologische verklaring.

Literatuur: 1. Hillier. Am J Med 1999,106:399-403. 2. Rümke. Ned Tijdschr Geneesk 1976,120:2205-11.

103. Low selenium relates to poor outcome after subarachnoid haemorrhage

P.J.W. DENNESEN¹, R.D. OUDE ENGBERINK², M. OTOIDE-VREE³, L.R.J. LOUWERSHEIMER², G.A.E. PONJEE²
Department of Intensive Care¹, Department of Clinical Chemistry², Landsteiner Institute³, MCHaaglanden, Den Haag

Introduction: Mortality after subarachnoid haemorrhage (SAH) is high (~50%). Oxidative stress plays an imminent role in secondary brain injury. One of the scavenger systems responsible for neutralizing the excess of free radicals during oxidative stress is the selenium-dependent glutathione peroxidase. Our aim was to explore endogenous selenium levels in serum following SAH and to study the association of selenium levels and clinical outcome.

Methods: In this prospective study we included 94 aneurismal SAH patients. Initial blood samples were collected within 24

hours after onset and subsequently for 10 days. Selenium serum levels were measured by electro thermal atomic absorption spectrometry. The modified Rankin score was used to evaluate the clinical outcome at 6 months. We qualified 0 to 3 as good outcome (independent) and 4 and 5 (dependent) together with death as poor outcome.

Results: Out of 94 studied patients, 19 (20%) had poor outcomes. Mean selenium level on admission was 0.96 ± 0.04 $\mu\text{mol/L}$ in good outcomes and 0.85 ± 0.08 $\mu\text{mol/L}$ in poor outcomes ($P=0.025$). Lowest selenium levels were observed on

day 3 with $0.90 \pm 0.04 \mu\text{mol/L}$ in good outcomes and $0.73 \pm 0.09 \mu\text{mol/L}$ in poor outcomes ($P=0.0002$). Poor outcome was 7% in patients with normal selenium levels at day 3 ($0.86\text{--}0.94 \mu\text{mol/L}$) and 33% in patients with low selenium levels at day 3 ($0.66\text{--}0.81 \mu\text{mol/L}$), ($OR=0.0014$; 95% $CI=0.00 - 0.20$).

Conclusion: A low concentration of endogenous selenium is a strong predictive factor for death or dependent outcomes in SAH patients. Beneficial effects of selenium supplementation in these patients during the first days of ICU admission should be investigated.

104. Lactaat acidose bij metformine gebruik: feit of fictie!?

R.D. OUDE ENGBERINK¹, A.G. VLUG², R. ROELOFS³

Afdeling Klinische Chemie¹, Afdeling Interne geneeskunde², Apotheek Haagse Ziekenhuizen³, MCHaaglanden, Den Haag

Inleiding: Een 68-jarige patiënt presenteerde zich op de Spoedeisende Hulp met diarree, braken, koorts en gewichtsverlies sinds drie weken. Bloeddruk was normaal. Bloedgas analyse liet een pH 7,05, $p\text{CO}_2$ 11,4 mmHg en bicarbonaat 6,2 mmol/L zien. Bij verder onderzoek werd duidelijk dat de patiënt ernstig gedehydrateerd was en een acute nierinsufficiëntie had ontwikkeld (creatinine 465 $\mu\text{mol/L}$, ureum 17,1 mmol/L). Uit de anamnese kwam naar voren dat de patiënt bekend was met diabetes mellitus (DM) type II waarvoor zij met metformine werd behandeld. Kliniek en labuitslagen deden het vermoeden ontstaan van een metformine-geassocieerde lactaat acidose.

Methode: Lactaat werd gemeten op een bloedgas analyzer (ABL-700). Metformine spiegels werden bepaald met een HPLC-DAD methode (Agilent 1100). Referentiewaarden: Aniongap < 14mmol/L, lactaat 0,5 – 2,2 mmol/L en metformine 0,1 - 2 mg/L (therapeutisch gebied).

Resultaat: Op geleide van de lage pH en een verhoogde aniongap (33 mmol/L) werd vervolgens een lactaat gemeten van

12,8 mmol/L. De metformine spiegel was 25 mg/L. Ondanks rehydratie verergerde de lactaat acidose (14,8 mmol/L). Patiënt werd opgenomen op de ICU voor dialyse waarbij bicarbonaat werd toegediend.

Conclusie: Opvallend is dat we hier te maken hebben met een niet-septische, niet-hypoxische patiënt met een ernstige lactaat acidose bij een toxische metformine spiegel. Metformine is tegenwoordig het meest voorgeschreven middel als medicamenteuze behandeling van DM type II. Lactaat acidose wordt in de bijsluiter omschreven als zeldzame bijwerking van metformine accumulatie. Er wordt geadviseerd de dosering aan te passen aan de nierfunctie. Grote meta-analyses ontkennen echter het bestaan van deze bijwerking. Om dit verder uit te zoeken is recentelijk in het MCH de multidisciplinaire 'MetClear' studie van start gegaan waarin het doseringsbeleid van metformine, nierfunctie en complicaties bij diabetes patiënten in kaart worden gebracht.

105. Vroege diagnostiek naar een acuut myocardinfarct m.b.v. een gevoelige troponine test

V. SCHARNHORST¹, M. VAN'T VEER², K. KRASZNAI², R. MICHELS²

Algemeen Klinisch Laboratorium¹ en Hartcentrum², Catharina Ziekenhuis, Eindhoven

Inleiding: Snelle identificatie en behandeling van patiënten met een myocard infarct (MI) leidt tot het beste behandelresultaat. Troponineverhogingen in combinatie met een passend klinisch beeld zijn voldoende om de diagnose MI te stellen. In deze studie zijn de voorspellende waarden van troponine concentraties gemeten bij binnenkomst (t0) en 2 uur later (t2) onderzocht.

Methode: 157 SEH patiënten met verdenking acute hartschade zijn geïncludeerd. Naast bloedonderzoek op t0, 6 en 12 is ook 2h na binnenkomst bloed afgenomen. Troponine I (m.b.v. een gevoelige troponine-test (1) is gemeten op een Advia Centaur (Siemens). Alle resultaten van het laboratoriumonderzoek behalve de resultaten verkregen op t2 zijn gerapporteerd. Een piektroponine $\geq 0,1$ microg/L werd als passend bij MI beschouwd, dynamische ECG afwijkingen als passend bij instabiele angina of NSTEMI, karakteristieke ECG afwijkingen als passend bij STEMI. De dienstdoende cardioloog stelde op basis van alle bevindingen een klinische diagnose.

Resultaat: Een troponine-meting op t2 heeft een sensitiviteit van 85% en een specificiteit van 100% voor de klinische diagnose myocardinfarct (PPV 100%, NPV 96%). Wanneer een stijging van 30% tussen de troponineconcentraties op t0 en t2, ook al zijn de absolute concentraties <0,1 microg/L, als indicatief voor myocardinfarct wordt geduid is de sensitiviteit voor de klinische diagnose myocardinfarct 97% en de specificiteit 88% (PPV 73%, NPV 99%).

Conclusie: M.b.v. een gevoelige troponine assay en twee eenvoudige beslisregels kan de diagnose acuut myocardinfarct op de SEH binnen 2 uur worden gesteld (wanneer de troponineconcentratie op t2 >0,1 microg/L) danwel worden verworpen (wanneer de stijging tussen de troponineconcentratie op t0 en t2 <30%). Patiënten ontvangen zo sneller de juiste behandeling of kunnen sneller worden ontslagen.

Literatuur: 1. Van de Kerkhof et al. Annals of Clin Biochem 2008, 45:316.

106. De relatie tussen microalbuminurie, de ernst van ziekte, microcirculatie en ziektebeloop bij IC-patiënten

S.M. SMITS¹, N. GODIJS², P.H.J. van der VOORT², D.F. ZANDSTRA², E.H. SLAATS¹

Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Intensive Care², Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Inleiding: Het voorspellen van het ziekteverloop bij IC-patiënten is van groot belang voor de behandeling van de patiënt. Prognostische 'meetinstrumenten' zoals APACHE en SOFA zijn valide, maar behoeven een grote hoeveelheid input. Microalbuminurie is voorgesteld als een snel non-invasief meetinstrument om de ernst van ziekte vast te stellen. Het doel van deze studie was om het gedrag van microalbuminurie in de tijd vast te stellen en om de relatie tot de microcirculatie, APACHE II/SOFA score en ontstekingsparameters te bestuderen.

Methode: In totaal namen 150 IC-patiënten (>18 jaar) deel aan een prospectieve longitudinale cohort studie. De microalbumine/creatinine ratio (MACR) werd bepaald gedurende 5 dagen en gerelateerd aan de ernst van de ziekte (APACHE en SOFA scores), ontstekingsparameters (CRP en leukocyten), en sublinguale microcirculatie (sidestream dark-field imaging).

Resultaat: De gemiddelde leeftijd was $68,6 \pm 11,1$ jaar (gemiddelde APACHE II score van $20,5 \pm 6,3$ en een gemiddelde SOFA score van $5,0 \pm 2,9$). Bij alle patiënten nam de MACR toe in de

eerste drie dagen (mediaan dag 1 = 3,7mg/mmol; mediaan dag 3 = 11,2mg/mmol), en nam daarna af voor alle subgroepen behalve de diabetes patiënten. Een significante correlatie werd gevonden tussen de MACR en de ernst van ziekte (APACHE II: $p < 0,01$; SOFA: $p < 0,01$). Alleen bij chirurgische patiënten werd een significante correlatie gevonden tussen de MACR en de ontstekingsparameters (CRP: $p < 0,01$; leukocyten: $p < 0,05$).

Er werd geen significante correlatie gevonden tussen de MACR en de microcirculatie. Bovendien werd er geen significante voorspellende waarde van de MACR en/of APACHE II/SOFA score gevonden voor de mortaliteit.

Conclusie: Een significante correlatie werd gevonden tussen de MACR en de ernst van de ziekte, terwijl er geen correlatie werd gevonden tussen de MACR en de microcirculatie.

Categorie 3 Klinisch

Erfelijke stofwisselingsziekten

107. Hypercholesterolemia in a GSD III patient with a novel genotype

I.M.L.W. KEULARTS¹, M.E. RUBIO-GOZALBO^{1,2}, L. DORLAND¹, R. KIRK³, A. DALTON³, M.A. BREUKELS⁴, G.A.P.T. HURKX⁴, E.M.C. van der PLOEG⁵, L.J.M. SPAAPEN¹

Laboratory for Biochemical Genetics¹, Dept. Clinical Genetics, Maastricht University Medical Center, Department of Pediatrics², Maastricht University Medical Center, The Netherlands; Sheffield Children's NHS Foundation Trust³, Sheffield, UK; Department of Pediatrics⁴, Elkerliek Hospital, Helmond, The Netherlands; Department of Dietetics⁵, Maastricht University Medical Center, The Netherlands

Introduction: Glycogen storage disease III (GSD III) is a rare autosomal recessive metabolic disorder due to a deficiency of the glycogen debrancher enzyme encoded by the AGL gene. Patients normally present with hypoglycemia, growth retardation and hepatomegaly. We report a patient presenting with a growth retardation/hepatomegaly and motor developmental delay but most striking was hypercholesterolemia.

Methods: Cholesterol (total, LDL- and HDL-cholesterol), triglycerides, gamma glutamyl transferase, ASAT, ALAT, LDH and glucose were measured with LX-20 (Beckman Coulter). Basic metabolic screening was performed with oligosaccharide analysis with TLC (thin-layer chromatography) and orcinol/sulfuric acid staining. Debranching enzyme (GSD III) and phosphorylase kinase activity (reference enzyme) were measured in erythrocytes by Schoonderwoerd (Erasmus MC, Rotterdam). Mutation analysis was performed by Dalton (Sheffield, UK).

Results: Plasma cholesterol was strongly increased (14.1 mmol/l)

with slightly elevated triglycerides (3.9 mmol/l). Medical history, physical examination and clinical chemistry results suggested a GSD III. Finding of the tetraglucose band on TLC supported this diagnosis which was confirmed by strongly decreased activity of glycogen debrancher enzyme in erythrocytes of 1.9 nmol/24h/mg Hb (ref. 8-34 nmol/24h/mg Hb). Molecular genetic testing revealed a compound heterozygosity of c.1222C>T mutation in exon 11 and c.21202121delAA mutation in exon 17 of the AGL gene; the latter mutation has not been described before. On dietary therapy, consisting of high carbohydrate intake (65-energy%) and moderate fat restriction (22-energy%), plasma cholesterol decreased to (low-)normal (2.4 mmol/l) within two months. Catch-up growth and improvement in motor development occurred within 8 months.

Conclusion: We describe a GSD III patient with a novel genotype presenting with a hypercholesterolemia. On dietary therapy, plasma cholesterol normalised and the patient clinically improved.

108. Fatal cerebral edema associated with serine deficiency in CSF

I.M.L.W. KEULARTS¹, P.L.J.M LEROY², E.M. RUBIO-GOZALBO^{1,2}, L.J.M. SPAAPEN¹, B. WEBER³, B. DORLAND¹, T.J. de KONING⁴, N.M. VERHOEVEN-DUIF⁵

Laboratory for Biochemical Genetics¹, Dept. Clinical Genetics, Maastricht University Medical Center; Department of Pediatrics², Maastricht University Medical Center; Department of Neurology³, Maastricht University Medical Center; Department of Pediatrics⁴, Wilhelmina Children's Hospital, University Medical Center Utrecht; Department of Metabolic and Endocrine Diseases⁵ and Netherlands Metabolomics Center, University Medical Center Utrecht

Introduction: Two young females without a notable medical history except for asthma presented with an acute toxic encephalopathy with very low serine concentrations both in plasma and cerebrospinal fluid (CSF) comparable to patients with 3-phosphoglycerate dehydrogenase (3-PGDH) deficiency.

Methods: Plasma and CSF amino acids were measured with Quattro Premier LC-MS/MS. D- and L-serine were measured by chiral derivatization and LC-MS analysis. 3-PGDH enzyme activity was measured in cultured fibroblasts. Ketone bodies and lactate in plasma, urine and CSF were measured with GC-MS.

Results: Amino acid analysis of both plasma and CSF revealed strongly decreased serine concentrations for both patients (CSF: 8 and 7 $\mu\text{mol/l}$ with ref. 19-38 $\mu\text{mol/l}$ and in plasma 31 and 33 $\mu\text{mol/l}$ with ref. 95-166 $\mu\text{mol/l}$) comparable to levels observed in 3-PGDH deficiency. Enantiomer separation revealed

D-serine to be 0.9 $\mu\text{mol/L}$ (ref. 0.8-4.3 $\mu\text{mol/L}$) and L-serine of 4.0 $\mu\text{mol/L}$ (17.2-44.0 $\mu\text{mol/L}$) with slightly elevated D-serine/total serine ratio of 18% in CSF in patient 1. The concentrations of several other (non-)essential amino acids were low-normal resembling a non-specific pattern. Clinical symptoms and enzyme measurement excluded 3-PGDH deficiency. Deficiencies in other serine biosynthesis enzymes were highly unlikely on clinical grounds.

Conclusion: On basis of the fasting state, ketone bodies and lactate in plasma, urine and CSF, we speculate that reduced serine levels in CSF of both patients were not due to a metabolic disorder but due to its use as gluconeogenic substrate, conversion to pyruvate by brain serine racemase or decreased L-serine production because of a lack of glucose. Our data strongly suggest that secondary causes of serine deficiency have to be considered in acute toxic encephalopathy.

109. Biochemical and molecular characterisation of a patient with fatal thymidine phosphorylase deficiency

J.A. BAKKER¹, B. FRANÇOIS², P. SCHLESSER², H.J. SMEETS³, J. BIERAU¹

Laboratory for Biochemical Genetics¹, Maastricht University Medical Centre, The Netherlands; Dept. Pediatrics², CHC Clinic d'Espérance, Montegnée-Liege, Belgium; Clinical Genomics Unit³, Maastricht University Medical Centre, The Netherlands

Introduction: Thymidine phosphorylase (TP) deficiency is a rare, late onset, autosomal recessive disorder of pyrimidine metabolism causing MNGIE syndrome, i.e. mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy. Patients show elevated levels of thymidine (Thd) and deoxyuridine (dUrd) in their body fluids and have multiple deletions and depletions in their mtDNA. Here we present the biochemical and molecular characterisation of a patient who came to our attention at 36 years of age. The patient died at 38 years of age, due to a combination of late stage disease and medication.

Methods: Selective metabolic screening was performed in urine and plasma. Thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activities were measured in lymphocytes. The gene encoding TP, TYMP, was sequenced in the proband, his siblings and parents.

Results: Plasma Thd and dUrd were 10 and 20 µmol/l (ref <0.1 µmol/l), respectively. Urinary Thd and dUrd were 29 µmol/mmol

cr. (ref < 5 µmol/mmol cr.) and 51 µmol/mmol cr. (ref. < 2 µmol/mmol cr.), respectively. TP activity was 10 nmol/mg/hr in the proband and 200-320 nmol/mg/hr in the siblings and parents, ref. 360-830 nmol/mg/hr. The proband was homozygous for the TYMP c.866A>C p.E289A mutation in exon 7. The siblings and both parents were heterozygous carriers for this mutation. The patient also showed mild thymine/uraciluria, but had normal DPD activity. Urinary analysis showed a hyperaminoaciduria and an increased excretion of ethylmalonate.

Conclusion: Our patient showed the classical biochemical and molecular aberrations of TP deficiency. Our results also demonstrate that this patient showed aberrations that are secondary to TP deficiency and impaired mitochondrial function. Conversely, signs of mitochondrial impairment should prompt analysis of purines and pyrimidines to exclude inborn errors in (mitochondrial) purine and pyrimidine metabolism.

110. Idiopathic recurrence of calciumoxalate induced nephrolithiasis: consider primary hyperoxaluria type I

R.J. SANDERS¹, A. NERADOVA², M. DURAN⁴, P.C.M. BARTELS¹, W.A. BAX³

Laboratorium voor Klinische Chemie, Hematologie en Immunologie¹, afdeling Interne geneeskunde², afdeling Nefrologie³, Medisch Centrum Alkmaar; Laboratorium voor Genetische Metabole Ziekten⁴, Afdeling Klinische Chemie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Introduction: Nephrolithiasis affects up to 5% of the population, with a lifetime risk of passing a kidney stone of about 8-10%. Approximately 80% of patients with nephrolithiasis form calcium stones, which predominantly consist of calcium-oxalate. One of the rare causes of calciumoxalate stones is primary hyperoxaluria type 1 (PHO1), with an incidence of approximately 1.3 per 1 million siblings. PHO1 is an autosomal recessive inherited peroxisomal disorder caused by mutations in the AGXT gene, which encodes alanine:glyoxylate-aminotransferase (AGT). AGT deficiency results in accumulation of glycolic acid and oxalate in the cell.

Methods: A 54-year-old man presented with end-stage renal failure. His medical history mentioned hypertension and nephrolithiasis. Until 5 years before presentation, he had been using vitamin C (1 gram per day for 15 years) and potassium citrate for many years.

Results: Blood tests revealed impaired renal function (urea 28.7 mmol/l and creatinine 836 µmol/l), and intact PTH 54.4 pmol/l. Autoimmune screening was negative. Kidney biopsy showed normal glomeruli with some interstitial oedema and degenerative changes of tubuli, and crystalline material in the tubuli (calcium oxalate). High blood concentrations of glycolic acid (98.8 µmol/l; reference 0 – 5 µmol/l) and of oxalate (184.7 µmol/l; reference 0 - 5 µmol/l) suggest PHO1. PHO1 diagnosis was confirmed by compound heterozygous mutations in the AGXT gene (c.3334insC mutation encoding a non-functional product; and a c.508G>A (G170R) mutation encoding AGT that is targeted to mitochondria instead of peroxisomes).

Conclusion: Clinicians should always consider PHO1 in patients with clinical symptoms of recurrent calciumoxalate stones, calciumoxalate crystals in the urine sediment, nephrocalcinosis, and marked hyperoxaluria.

111. Elevated concentrations of C7-sugars in bloodspots of patients with cystinosis caused by the 57kb deletion, implications for neonatal screening

M.M.C. WAMELINK¹, E.A. STRUYS¹, E.E.W. JANSEN¹, H.J. BLOM¹, C. JAKOBS¹, E. LEVTCHENKO²

Department of Clinical Chemistry¹, Metabolic Unit, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; Department of Pediatric Nephrology², Katholieke Universiteit Leuven, Belgium

Introduction: Patients with cystinosis caused by the 57kb deletion of the CTNS gene have increased urinary concentrations of sedoheptulose, because this deletion includes the adjacent gene SHPK/CARKL [1]. SHPK codes for sedoheptulokinase, which phosphorylates sedoheptulose to sedoheptulose-7-phosphate. We describe a new LC-MS/MS method for the determination of seven-carbon (C7) sugars in dried blood spots (DBS) for neonatal screening and clinical diagnoses.

Methods: DBS were obtained from cystinosis patients with the homozygous 57kb deletion and from patients with other mutations in the CTNS gene. DBS were extracted with 50% methanol, 0.1 M hydrochloride containing 3 µM 13C6-glucose as IS. Derivatization was performed with pentafluorobenzyl hydroxylamine. The samples were analysed by LC-MS/MS.

Results: The C7-sugar concentrations in DBS from controls and from cystinosis patients who are not homozygous for the deletion were < 1.0 µmol/l (n=44; n=18) while the concentra-

tions in patients with the homozygous 57kb deletion were substantially increased from 5.4 till 19 µmol/l (n=8). Cystinosis patients who are heterozygous for the deletion or homozygous for other mutations, have normal concentrations of the C7-sugars in DBS.

Conclusion: This new method for C7-sugar quantification using DBS has the advantage that only a small amount of blood is required and that the material can be sent by mail. With this test, only cystinosis patients carrying the 57kb deletion are detected, approximately 50% of the Caucasian patients. It is very likely that this marker is also elevated in neonatal bloodspots, but this still has to be confirmed. Our procedure likely allow early pre-symptomatic detection of patients with cystinosis caused by the 57-kb del when incorporated in the neonatal screening program, enabling early treatment.

Literature: 1. Wamelink et al. Hum. Mutat. 2008, 29; 532.

Overigen

112. Serum active B12 levels are increased in renal insufficiency

S.G. HEIL¹, P. GRIFFIOEN¹, R. de JONGE¹, M. van WIJNEN², E. SANDERS³, T. RAMMELOO⁴, M.R. HEINER-FOKKEMA⁵, A.C. MULLER-KOBOLD⁵, J.M. PEKELHARING⁶, H.J. ADRIAANSEN⁷, P. TRIENEKENS⁸, J. LINDEMANS¹

Department of Clinical Chemistry¹, Erasmus MC Rotterdam; Laboratory for Clinical Chemistry², Meander MC, Amersfoort; Laboratory for Clinical Chemistry³, Lievevberg Bergen op Zoom; Laboratory for Clinical Chemistry⁴, Franciscus Hospital, Roosendaal; Laboratory Medicine⁵, MC Leeuwarden and UMC Groningen; Diagnostic Center SSDZ⁶, Delft; KCHL⁷, Gelre Hospitals, Apeldoorn; Star-MDC⁸, Rotterdam

Introduction: Vitamin B12 deficiency occurs frequently among elderly individuals. Both total B12 and active B12 (i.e. holotranscobalamin) can be assessed in diagnosis of vitamin B12 deficiency. Methylmalonic acid (MMA) is seen as gold standard in determination of metabolic vitamin B12 deficiency, however, MMA has been shown to be strongly correlated with renal function. In this study, we assessed whether active B12 and total B12 are dependent on renal function.

Methods: 1,723 blood samples were collected by 8 Dutch hospitals. Total B12 and active B12 were measured in serum (Abbott, AxSYM). GFR was calculated from serum creatinine according to MDRD guidelines.

Results: No correlation was present between total B12 and GFR ($R = -0.03$, $P = 0.25$). However, active B12 showed a weak correlation with GFR ($R = -0.19$, $P < 0.001$). Stratification according to renal function (i.e. $GFR < 60$ ml/min/1.73m²) demonstrated that the correlation between active B12 and GFR was stronger in individuals with renal insufficiency ($R = -0.26$, $P < 0.001$) than in individuals with normal renal function ($R = 0.08$, $P = 0.008$). Mean active B12 levels were significantly elevated in individuals with renal insufficiency (44.7 ± 1.9 pmol/L vs. 36.3 ± 1.7 pmol/L, $P < 0.001$).

Conclusion: Serum active B12 levels are elevated in renal insufficiency. Clinical relevance of this finding regarding to intracellular metabolism should be further investigated.

113. Excessive folate supplementation: A double edged sword

J.H. HOOIJBERG, W. REUS, P.C.M. BARTELS

Clinical Chemistry, Haematology and Immunology, Medical Center Alkmaar

Introduction: Folate supplementation of the diet conveys protective effects against various pathologies, including macrocytic anemia, carcinogenesis, cognitive decline, and neural tube defects in unborn (1). Also, it is increasingly an essential part of chemotherapies to reduce toxicity and improve efficacy. In contrast, supraphysiological folate intake, i.e. above ~ 1 mg folic acid per day, may induce tumour progression, cognitive decline, drug resistance, and carcinogenesis (1,2). Recently, the Health Council of The Netherlands published an advisory report for optimal use of folic acid. The Council advises to avoid excessive folate intake, and to warn specific patient groups against dietary folate supplementation. In the present study we investigated whether folate oversuppletion is an issue in clinical practice. We established folate levels in patients treated by medical specialists and general practitioners.

Methods: Serum folate concentrations in patients were monitored during a 5-years period (2003-2008). Reference values were 5-30 nM. Concentrations > 50 nM were classified as 'sup-

rphysiological'. Data were obtained from the LIS using Labosys Reporting Tool 1.2 (Philips Medical Systems).

Results: During the follow-up period serum folate concentrations were measured in 23,413 patients. Supraphysiological folate concentrations were observed in 2577 patients, of which 342 had these levels longer than 6 months, and 89 longer than 24 months. The majority of the supraphysiological patients were treated by medical specialists (internal medicine, geriatrics, rheumatology).

Conclusion: This study shows that folate overexposure is substantially present in clinical practice. Folate dosage and folate levels should be monitored appropriately. Development of therapeutic windows, and warning limits in case of folate supplementation might be considered.

Literature: 1. Smith AD et al. Am J Clin Nutr 2008;87:517-33.

2. Weggemans RM et al. Eur J Clin Nutr. 2009 Aug;63(8):1034-6.

114. (IgG and IgM)Anti-cardiolipin versus IgG anti-β2-glycoprotein measurement for the laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome

A.E. van HERWAARDEN^{1,2}, J. RUINEMANS-KOERTS¹

Department of Clinical Chemistry and Hematology¹, Alysis Zorggroep, Rijnstate Hospital, Arnhem; Department of Laboratory Medicine², St Radboud University Medical Center, Nijmegen

Introduction: Lupus anticoagulants (LA) are associated stronger with thrombotic events than anti-β2-glycoprotein and anti-cardiolipin antibodies. Furthermore, anti-β2-glycoprotein antibodies show higher frequency of significant associations with thrombosis than anti-cardiolipin, and IgM- anti-cardiolipin and anti-β2-glycoprotein show less association with thrombosis than IgG- anti-cardiolipin and anti-β2-glycoprotein (1,2). We investigated whether IgG anti-β2-glycoprotein measurement in addition to LA analysis makes anti-cardiolipin measurement redundant.

Methods: IgG anti-β2-glycoprotein (Phadia) was measured in 313 patient blood samples for which LA (Roche) and IgG/IgM anti-cardiolipin (Phadia) was ordered by the clinic.

Results: In 28 (out of 313) cases one or more tests were positive, including 3 cases where only anti-cardiolipin, and 3 cases where only anti-β2-glycoprotein was positive. Only 27% initial positive samples were repeated, as advised in the classification criteria. 50% remained positive. In 5 out of 8 cases the interval was shorter than advised (3).

Conclusion: In only a minority of cases positive measurements were repeated to verify sustained presence of LA or anti-cardiolipin antibodies. Clearly, the laboratory could exert an advisory role here to ensure proper use of the laboratory results. All three cases of only anti-cardiolipin positivity were of the IgM class. As presence of IgM anti-cardiolipin is poorly associated with thrombosis, due to transiently elevated levels,

clinical significance of these measurements is possibly low. Thus, results of our population indicate that replacing IgG/IgM anti-cardiolipin by IgG anti- β 2-glycoprotein measurements does not lead to clinically relevant missed diagnoses. Furthermore, three patients with negative results for LA and

anti-cardiolipin were positive for anti- β 2-glycoprotein, possibly identifying an additional three clinically relevant cases.

Literature: 1. Galli et al. Blood 2003, 102: 2717. 2. Galli et al. Blood 2007, 110: 1178. 3. Miyakis et al. J Thromb Hemos 2006, 4: 295.

115. Estimated macronutrient and fatty acid intakes from a 3,000 kcal East African Paleolithic diet

R.S. KUIPERS¹, M.F. LUXWOLDA¹, D.A.J. DIJCK-BROUWER¹, S.B. EATON², M.A. CRAWFORD³, L. CORDAIN⁴, F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine¹, University Medical Center Groningen, The Netherlands; Departments of Anthropology and Radiology², Emory University, Atlanta, USA; Institute of Brain Chemistry and Human Nutrition³, London Metropolitan University, London, United Kingdom; Department of Health and Exercise Science⁴, Colorado State University, USA

Introduction: Our genome is the product of millions of years of evolutionary adaptation to our (changing) environment. Recent rapid changes in our lifestyle caused a conflict with our genome that still resides in the Paleolithics. Over 95% of Western diseases are not primarily genetic in nature, but caused by changes in lifestyle, including environment and diet. By modelling our Paleolithic diet we aim at reconstructing the nutritional balance on which our genome evolved.

Methods: We composed a database of natural, preferably East-African, plant and animal foods to model a 3,000 kcal Paleolithic diet within two pathophysiological constraints (<35 energy% protein; >1.7 en% linoleic acid) and 70/30-30/70 en%/en% plant/animal subsistence ratios. In addition to earlier models we introduced fish consumption and selective consumption of brain and bone marrow into four models differing in foraging strategies.

Results: We found moderate-high protein (medians 25-29 en%;

range 8-36) and fat (30-39; 20-72), and moderate carbohydrate (40; 19-48) intakes. Compared to current Western intakes and recommendations, the fatty acid (FA) composition was high in saturated-FA and moderate-to-high in monounsaturated-FA and polyunsaturated-FA, notably alpha-linolenic acid and long chain polyunsaturated-FA (LCP), but low in linoleic acid. The medians (range) omega-3 and omega-6 LCP intakes were exceptionally high: 2.26-17.0 (1.47-33.9) and 2.54-8.84 (1.91-17.4) g/day, respectively.

Conclusion: Discrepancies between current intakes, recommendations and the reconstructed Paleolithic diet might play an important role in the etiology of typically Western diseases. Correction might not as much affect our life expectancy, but rather our number of years in health. Our data might be of use for the rational design of intervention studies that do not aim at investigating single nutrients but rather at our diet as a whole.

116. Maternal and infant fatty acid (FA) status at delivery and after 3 months exclusive breastfeeding in three groups with wide differences in lifetime intakes of freshwater fish

R.S. KUIPERS¹, M.F. LUXWOLDA¹, W.S. SANGO², G.K. WESIGABO³, D.A.J. DIJCK-BROUWER¹, F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine¹, University Medical Center Groningen, The Netherlands; Same Regional Hospital², Same, Tanzania; Department of Epidemiology and Biostatistics³, Muhimbili University College of Health Sciences, Dar es Salaam, Tanzania

Introduction: There are few data on maternal and infant FA changes from delivery to lactation and no such data on populations with high-fish intakes. Low-fish consumption is related to suboptimal neurodevelopment, coronary artery disease and (postpartum) depression. This is not surprising, since our hominin ancestors evolved in a land-water ecosystem.

Methods: We determined erythrocyte (RBC) FA in Tanzanian mother-infant pairs at delivery and after 3 months exclusive breastfeeding. The study populations were: Maasai (no fish), Pare (low freshwater fish) and inhabitants of Sengerema (daily freshwater fish).

Results: RBC-FA courses during lactation showed decreasing activities of de novo lipid synthesis (DNL; e.g. lower 16:0) and "9-desaturase (e.g. 18:1 ω 7, 18:1 ω 9) and an 18:0 increase. Postpartum RBC-14:0 increased in infants; not their mothers. Linoleic acid (LA) increased in both mothers and infants. Arachidonic acid (AA) increased in mothers, but decreased

in infants. Despite high between-group maternal RBC-AA differences, there was remarkably similar infant RBC-AA at delivery and at 3 months postpartum. Docosahexaenoic acid (DHA) decreased in all mothers. Infant RBC-DHA decreased in Maasai, was stable in Pare and increased in Sengerema.

Conclusion: Peripartum hormonal changes, notably of insulin, may explain decreasing DNL/"9-desaturase activities and RBC-18:0 increases. Increasing infant RBC-14:0 derives from DNL in the breast. Increasing maternal RBC-LA and AA may reflect recovery from high transplacental transfer. The change from low-LA, high-AA transplacental to high-LA, low-AA transfer via breastmilk causes an LA surge and concomitantly decreasing infant RBC-AA. Intrauterine and postpartum infant RBC-AA seems tightly regulated and independent of maternal RBC- or breastmilk-AA. Postpartum maternal RBC-DHA is compromised by lactation. Breastfed infants are only able to augment their RBC-DHA at very high maternal fish intakes.

117. Innovatief systeem om bloedvaten onder de huid zichtbaar te maken en bloedafname bij kinderen te vergemakkelijken

N.J. CUPER¹, R.M. VERDAASDONK², R. de ROODE¹, K.M.K. de VOOGHT³, M.A. VIERGEVER⁴,
C.J. KALKMAN⁵, J.C. de GRAAFF⁵

Medische Technologie en Klinische Fysica¹, UMCU, Utrecht; Fysica en Medische Technologie², VUMC, Amsterdam; Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie³, UMCU, Utrecht; Image Sciences Institute⁴, UMCU, Utrecht; Divisie perioperatieve zorg en spoedeisende hulp⁵, UMCU, Utrecht

Inleiding: Het aanprikken van bloedvaten voor bloedafname kan vooral bij jonge kinderen lastig zijn. Om het aanprikken van bloedvaten te verbeteren, hebben wij een systeem ontwikkeld dat in staat is bloedvaten onderhuids zichtbaar te maken met behulp van infrarood licht: de VascuLuminator. Een eerste haalbaarheidsonderzoek naar gebruik van een prototype van de VascuLuminator bij bloedafname bij kinderen wordt hier beschreven.

Methode: De faalkans (meer dan één prik nodig om bloed te verkrijgen) van bloedafnames bij kinderen van 0 tot 6 jaar is vergeleken in 45 kinderen met en 80 kinderen zonder de VascuLuminator. De bloedafnames werden verricht door laboranten met ervaring in het verrichten van bloedafnames in kinderen. Na elk gebruik van de VascuLuminator werd genoteerd of het gebruik ervan werd beoordeeld als positief, neutraal of negatief.

Resultaat: De VascuLuminator was in staat bloedvaten te visualiseren op de standaard locaties voor bloedafname: de hand, de voet en de fossa cubitalis. In 26 van de 45 bloedafnames werd het gebruik van de VascuLuminator als positief beoordeeld. In geen van de gevallen ervoer men het gebruik als negatief. De faalkans met gebruik van de VascuLuminator was 1/45 (2%) en daarmee kleiner dan de faalkans zonder VascuLuminator (10/80; 13%; $p = 0,052$).

Conclusie: De VascuLuminator is in staat gebleken de bloedvaten op de relevante locaties te kunnen visualiseren bij kinderen tot 6 jaar oud. Deze eerste resultaten van het gebruik van de VascuLuminator bij bloedafname bij kinderen zijn veelbelovend, met een duidelijke afname van de faalkans en tevreden gebruikers.