

Het gebruik van HIL-indices voor het vaststellen van de invloed van hemolyse, icterie en lipemie op analyses uitgevoerd op de Architect c8000 analyzer

E.C.H.J. MICHELSSEN, M. BOUR, B.H.E. HENDRICKX en J.C.J.M. SWAANENBURG

Inleiding

Interferentie is een bekend fenomeen in klinisch-chemische analyses (1). Interferentie wordt daarbij omschreven als "het effect van een substantie, aanwezig in het te meten lichaamsmateriaal, dat het correcte resultaat van een 'analyt' verandert, meestal weergegeven in concentratie of activiteit" (2). Hierbij wordt een viertal endogene oorzaken onderscheiden: hemolyse, icterie, lipemie (HIL) en de aanwezigheid van een M-proteïne, alsmede een exogene oorzaak, medicijngebruik door de patiënt (2).

Bij het uitvoeren van analyses met een routineklinisch-chemische analyzer dient derhalve altijd te worden gelet op een aantal aspecten van het gebruikte patiëntenserum of -plasma. Hieraan zijn echter enkele beperkingen verbonden. Door verregaande automatisering wordt niet meer elk monster door een analist handmatig aangeboden aan de analyzer, zodat er nauwelijks nog visuele inspectie plaatsvindt. Echter, veel belangrijker is het feit dat meetbare en klinisch relevante interferentie reeds op kan treden voordat visueel sprake is van een afwijkend HIL-aspect.

De Architect c8000 analyzer van Abbott Diagnostics bepaalt altijd spectrofotometrisch de aanwezigheid van hemolyse, icterie en lipemie door het patiëntenserum te verdunnen in fysiologisch zout, waarna bij zeven golflengten de absorptie wordt bepaald. Hiermee worden indices berekend voor de verschillende HIL-aspecten. Met deze semikwantitatieve indices kan per patiëntenserum of -plasma inzicht worden verkregen in deze aspecten. Zo kan het gebruik van HIL-indices zelfs aanleiding zijn tot het stellen van een diagnose die voorheen onbekend was (3).

In dit onderzoek is de invloed onderzocht van hemolyse, icterie en lipemie op klinisch-chemische analyses op de c8000 analyzer. Wanneer de interferentie zo groot bleek te zijn dat analytisch onbetrouwbare resultaten zouden worden geproduceerd, of klinisch relevante verschillen zouden optreden, zijn grenzen op basis van de HIL-indices ingesteld op grond waarvan resultaten worden voorzien van een opmerking, of in het geheel komen te vervallen.

Methode

Voor het bepalen van de invloed van hemolyse, icterie en lipemie werden drie basisoplossingen van het betreffende interferent gemaakt in fysiologisch zout door toevoegen van respectievelijk gelyseerde erythrocyten, bilirubine of intra-lipid®. De hoogste concentraties [indices] voor hemoglobine, bilirubine en intra-lipid® (gemeten als triglyceriden) waren respectievelijk 0,62 mmol/l [9,7], 820 µmol/l [812] en 48 mmol/l [22].

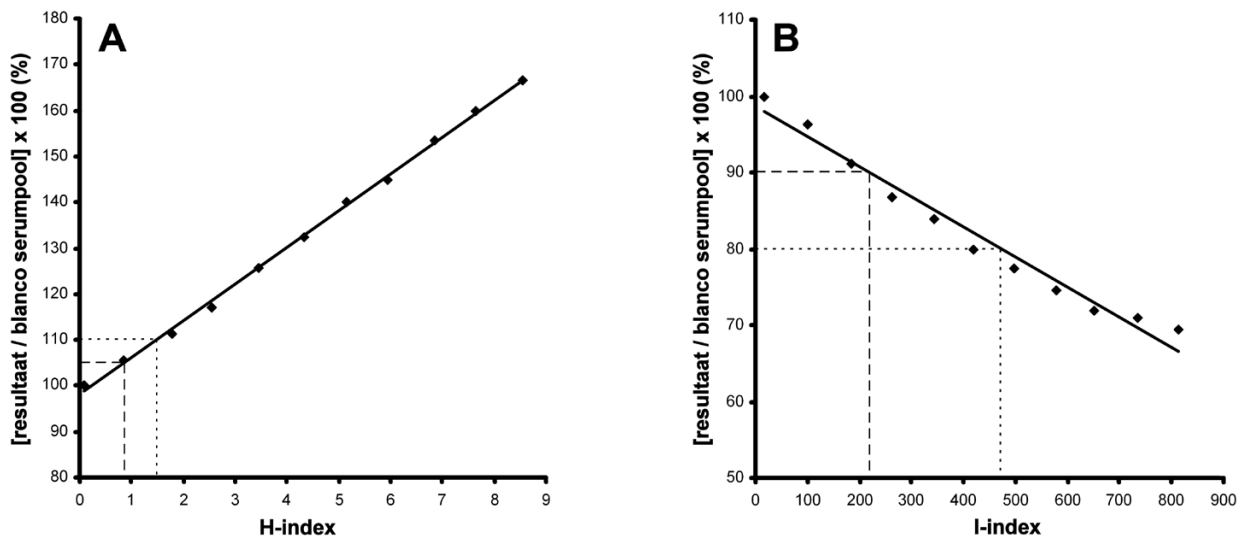
Tevens werd een blanco poolserum samengesteld met serum van gezonde vrijwilligers. Hierbij moest aan twee criteria worden voldaan. Ten eerste mocht er geen sprake zijn van enige vorm van hemolyse, icterie of lipemie. Het tweede vereiste was dat het individuele serum voor alle analyses een waarde in het referentiegebied moest hebben. Aan het poolserum werden 10 olopemde hoeveelheden van de betreffende basisoplossing en 10 aflopende hoeveelheden fysiologisch zout toegevoegd om het eindvolume gelijk te houden. De berekening van de eindresultaten werd gecorrigeerd voor deze verdunning.

Van alle gemaakte oplossingen werden de HIL-indices op de c8000 in triplo bepaald. Tevens werden die analyses uitgevoerd waarbij in de bijsluiters melding werd gemaakt van mogelijke storing door hemolyse, icterie of lipemie en die analyses waarbij de verdenking bestond dat storing hierdoor kon optreden zonder dat dit expliciet in de bijsluiters vermeld was, te weten: ALAT, ASAT, alfa-1-antitrypsine, albumine (BCP), albumine turbidimetrisch, alkalische fosfatase, ammoniak, anorganisch fosfaat, bilirubine direct, bilirubine totaal, complement C3, complement C4, calcium, chloride, cholesterol totaal, CK, CRP, gamma-GT, glucose, haptoglobine, HDL-cholesterol, IgA, IgG, IgM, ijzer, kalium, creatinine (Jaffé), creatinine enzymatisch, LD, lipase, lithium, Lp(a), magnesium, natrium, totaal eiwit, transferrine, ureum en urinezuur.

Om zeker te zijn van overeenkomstige resultaten op de drie op het laboratorium aanwezige analyzers (twee c8000 analyzers in Venlo en een ci8200 analyzer in Venray) werden de gemeten HIL-indices in de verschillende patiëntensera met elkaar vergeleken. De gevonden resultaten werden in Excel 2003 voor Windows ingevoerd. Hier werden de benodigde analyses uitgevoerd en werden grafieken gemaakt volgens een eerder beschreven methode (4).

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

E-mail: etiennemichielsen@gmail.com



Figuur 1. Voorbeeld van twee interferogrammen voor A: kalium en hemolyse; B: cholesterol en icterie. De gestreepte lijn geeft de eerste grens weer (5% voor kalium en 10% voor cholesterol). Hierbij wordt een opmerking aan het resultaat toegevoegd: afwijkende uitslag door interferentie. De stippellijn geeft de tweede grens weer (10% voor kalium en 20% voor cholesterol). Hierbij komt het resultaat te vervallen met de opmerking: resultaat vervallen door interferentie.

Tabel 1. Grenzen voor de lipemische index zoals ingesteld op de c8000 analyzers. Indien een patiëntens serum een lipemische index heeft boven de grenswaarde zal het resultaat van de betreffende analyse van een opmerking worden voorzien of zelfs vervallen, waarbij het resultaat wordt vervangen door een standaardtekst.

Bepaling	Eerste grens: opmerking toevoegen			Tweede grens: resultaat vervalt		
	% Afwijking	Effect	L-index	% Afwijking	Effect	L-index
ALAT	10	↓	14,8	20	↓	*
Albumine (BCP)	10	↑	11,6	20	↑	*
Alkalisch fosfatase	10	↑	14,9	20	↑	16,2
Anorgamisch fosfaat	10	↑	18,9	20	↑	21,4
Bilirubine direct	10	↓	2,3	20	↓	4,8
Bilirubine totaal	10	↑	10,2	20	↑	19,2
Calcium	10	↑	11,4	20	↑	*
Chloride	10	↓	15,1	20	↓	*
CK	10	↓	13,0	20	↓	*
IJzer	10	↑	2,5	20	↑	5,0
Lipase	10	↑	0,3	20	↑	0,6
Lithium	10	↑	3,8	20	↑	8,8
Magnesium	10	↑	1,7	20	↑	3,2
Natrium	10	↓	18,5	20	↓	*
Totaal eiwit	10	↑	1,8	20	↑	3,5
Urinezuur	10	↑	11,0	20	↑	12,4

* Binnen het onderzochte bereik van de lipemische index wordt geen 20% afwijking waargenomen ten opzichte van de blanco serumpool.

Resultaten

Vergelijking van de drie analyzers leverde vrijwel identieke resultaten op met een maximale afwijking van 5% op het hoogste interferentieniveau. Vervolgens werd gekeken naar de overeenkomst tussen de verschillende gemeten HIL-indices en de gemeten concentratie van hemoglobine, totaal bilirubine en triglyceriden. Hierbij werden voor de lineaire regressielijnen correlaties (R^2) gevonden van respectievelijk 0,998 en 0,997 en 0,999. Binnen het onderzochte bereik bleek hemolyse [H-index tussen 0 en 9,7] vooral van invloed op ammoniak, ASAT, bilirubine direct, ijzer, kalium, LD, magnesium en urinezuur. Icterie [I-index tussen 0 en 812] bleek vooral van invloed op creatinine (Jaffé), ammoniak en triglyceriden. Lipemie [L-index tussen 0 en 22] bleek vooral van invloed op bilirubine direct, ijzer, lipase, li-

thium, magnesium en totaal eiwit. Voor alle analyses is vastgesteld bij welk niveau van de betreffende index het gevonden resultaat meer dan 10% en 20% afweek van het resultaat van de blanco serumpool (figuur 1). De waarden van deze HIL-indices zijn vervolgens gebruikt om resultaten van patiëntensera van een opmerking te voorzien. Aan resultaten uit een patiëntens serum met een index boven de 10%-afwijkingsgrens wordt als opmerking toegevoegd: licht afwijkende uitslag door interferentie. Wanneer een index boven de 20%-afwijkingsgrens komt zal dit resultaat komen te vervallen met de opmerking: geen uitslag vanwege interferentie. Voor kalium zijn die indices gebruikt waarbij de afwijking van het poolserum respectievelijk 5% en 10% bedroeg. In tabel 1 zijn de grenzen voor de lipemische index weergegeven zoals ingesteld op de c8000 analyzers.

We zijn er in dit onderzoek vanuit gegaan dat de interferentie gelijk blijft, onafhankelijk van de hoogte van het resultaat van de analyse.

Conclusie

Het merendeel van de analyses op de c8000 analyzer is ongevoelig voor interferentie door HIL in het onderzochte bereik. Waar sprake is van analytisch- en klinisch-relevante afwijkingen, zijn grenzen ingesteld voor HIL-indices. Hierdoor kunnen resultaten van een opmerking worden voorzien, of zelfs komen te vervallen als de afwijking te groot is.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 196-197

Factors reducing hemolysis rates at the emergency department

I.C.A. MUNNIX, M. SCHELLART, C. GORISSEN and H.A. KLEINVELD

Introduction

Preanalytical variables are recognized as the predominant source of mistakes in laboratory medicine (1). Among the various problems that occur in the pre-analytical phase, *in vitro* hemolysis is often reported as the leading source of error. Hemolysis is defined as a rupture of red blood cells with release of hemoglobin and other intracellular contents into plasma. When hemolysis occurs, the blood is unsuitable for many lab analyses (e.g. potassium, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase, coagulation testing) (2), so a second specimen must be obtained, resulting in increased staff workload and patient discomfort. In addition, re-collection of hemolyzed blood specimens delays patient care in overcrowded emergency departments.

Blood collection using newly inserted intravenous (IV) catheters is the favoured technique in our emergency department for two main reasons. First, it is less time consuming to obtain blood from a newly established IV site than it is to find another site from which to obtain blood, which can result in unnecessary delays. The second main reason laboratory blood specimens are obtained using the IV catheter is patient comfort, with most patients preferring a single venipuncture. Hemolyzed samples negate the efficiency that is gained by combining blood collection and IV insertion into one venipuncture.

Department of Clinical Chemistry and Emergency Department, Atrium Medical Centre, Heerlen, The Netherlands

E-mail: imunnix@atriummc.nl

Referenties

1. Steen G, Vermeer HJ, Naus AJ, Goevaerts B, Agricola PT, Schoenmakers CH. Multicenter evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin and lipids on Synchron LX-20 assays. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 413-9.
2. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem* 1994; 40: 1996-2005.
3. Munnix ICA, Raijmakers MTM, Oosterhuis WP, Kleinvelde HA. Detection of a monoclonal gammopathy by lipemia-index measurement. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009; 34: 248-9.
4. Glick MR, Ryder RW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem* 1986; 32: 470-5.

In the period June to December 2008 we compared the number of blood samples arriving from our emergency department with the number of tubes from another department. The clinical chemistry section of our laboratory received 9,754 samples from internal medicine, drawn by venipuncture, and 8,710 tubes from the emergency department, drawn by IV catheters, for routine testing. In 105 specimens from internal medicine hemolysis was observed, compared to 574 samples from the emergency department. Thus, samples arriving from our emergency department showed a higher number of hemolyzed samples compared to other departments. In order to reduce those numbers a study has been designed to identify factors leading to hemolysis and evaluate blood collection practices.

Methods

A total of 600 samples were drawn for this study over a 3-month period. In total 150 patients were included, 100 at the emergency department and 50 at the outpatient clinic. From every patient at the emergency department four subsequent blood samples were collected via IV catheters. A standardized data collection form was completed, which detailed patient demographics, needle size, type of IV catheter (with an Eclipse needle with pre-attached holder or a direct draw adapter), puncture site and degree of difficulty. Similarly, patient specimens were collected using the standard venipuncture procedure used at the outpatient clinic. Samples were assayed for hemolysis and hemolysis-sensitive parameters on a Roche Modular system. Hemolysis was detected by using the automated hemolytic index (HI) function, which uses spectrophotometry to detect differences in absorbance at