

Indien hemolysaten met de Tosoh-G8 worden gemeten dan zijn de resultaten structureel iets hoger: hem. G8=1,06 (1,00-1,16) x volbloed + 5,52 (0,60-8,23); r=0,9844; bias(hem.G8-volbloed): 8,10 (-7,01-9,19). Ook de Capillary-2 meet de hemolysaten structureel iets hoger: hem.Cap=1,00 (0,93-1,02) x volbloed + 6,00 (4,57-9,21); r=0,9884; bias(hem.cap-volbloed): 5,24 (4,39-6,08).

Filterkaartjes worden routinematig met de immunochemische procedure gebruikt voor de analyse van HbA1c. Bij de capillaire elektroforese komt te weinig hemoglobine in het capillair voor een betrouwbare meting en procedure met de Tosoh-G8 vraagt nog verdere optimalisatie.

Conclusies

Qua reproduceerbaarheid presteert de Capillary-2 vergelijkbaar met de Tosoh-G8 en beter dan de Integra-800. Bij monsters met een Hb-pathie heeft de Tosoh-G8 duidelijk meer problemen om een HbA1c resultaat te produceren dan de Integra en de Capillary-2. De laatste 2 hebben allebei problemen met neonatale monsters waarin overwegend HbF aanwezig is; de Integra-800 meet het HbA1c in deze monsters te laag, terwijl de Capillary-2 geen resultaat geeft omdat geen goede identificatie van de piek kan worden verkregen. Tot slot blijkt alleen de Integra-800 HbA1c via de filterkaartjes procedure te kunnen meten, terwijl hemolysaten met alle drie methoden kunnen worden gebruikt.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2013; 38: 128-130

Afwijkende vervormbaarheid van erythrocyten met een hemoglobinopathie

P. FRANCK, P. BUIJS, A. SPAANS, C. POSTMA, F. HUDIG en J.L. KERKHOFFS

De erythrocyt van patiënten met een erfelijke hemolytische anemie zijn zwakker van opbouw. De oorzaak hiervan zijn mutaties in het hemoglobine, de enzymen of de eiwitten van het membraanskelet. Deze afwijkingen beïnvloeden de conditie van de cel en zorgen voor een verkorte levensduur. Bij cellen met een membraan defect is deze verzwakking meetbaar in een ektacytometer (1, 2).

In deze analyzer wordt gekeken naar de vervormbaarheid van de erythrocyt, door een 'shear stress' op de cellen aan te brengen (1). De mate van vervormbaarheid wordt uitgedrukt in de Elongation Index (EI), waarbij gekeken wordt naar de uitrekbaarheid van de cel als maat voor de vervormbaarheid (figuur 1A).

Optimale flexibiliteit is essentieel voor een functionele erythrocyt in de kleine haarvaten. De zeefwerking in de milt is mede hierop gebaseerd. Oude cellen zijn minder vervormbaar en niet in staat om de poriën van de sinussen te passeren en worden weggevangen uit de bloedsomloop.

Over de relatie tussen de vervormbaarheid, het type mutatie, maar ook de ernst van de anemie is veel onderzoek gedaan bij hemolytische anemieën met een membraan defect. Het wordt als een betrouwbare diagnostische test gebruikt (3, 4).

Cellen van patiënten met een hemoglobino (Hb)-pathie hebben eveneens een veranderde membraansamenstelling. Deze wordt veroorzaakt door neerslag van (hemo)globine moleculen (Heinz bodies) op het membraan of een verstoord integriteit van het membraanskelet als gevolg van een toegenomen oxidatieve

stress (5). Bij sikkelcelanemie kan dit uiteindelijk leiden tot irreversibele vorming van sikkelcellen.

In onze studie wordt de vervormbaarheid van rode bloedcellen van patiënten met verschillende Hb-pathieën onderzocht, waaronder α - en β -thalassemie en sikkelcelanemie.

Materiaal en methode

Hemoglobine HbS, HbF en HbA₂ (β -thalassemie) is aangetoond met behulp van capillaire elektroforese (Capillary 2, Sebia). Mutatie onderzoek van het α -globine gen is uitgevoerd met behulp van DNA amplificatie technieken. De verschillende α deleties zijn bepaald door gebruik te maken van specifieke primer sets voor de 4 meest voorkomende deleties 3,7 kb, 4,2 kb, SEA en MED, gevolgd door agarose MP-elektroforese. Ook werd gebruik gemaakt van een reverse-hybridisatie StripAssay voor de screening op 21 α -globine deleties/mutaties die minder vaak voorkomen met een eventueel vervolgonderzoek. DNA is met behulp van QIAGEN DNA isolatiekit geïsoleerd uit buffy coat/witte bloedcellen afkomstig uit perifere bloed.

De vervormbaarheid van erythrocyten wordt gemeten met behulp van de ektacytometer LoRRca Maxis Osmoscan (Mechatronics). Als maat voor de vervormbaarheid wordt de rekbaarheid/Elongation Index (EI) van de cel onder veranderende osmolaliteit (50 - 500 mOsm/kg) in een viskeus PVP medium gemeten, waarbij de aangebrachte shear stress op de cellen constant is (1). Karakteristieke punten in de curve zijn de EI-max/O-max en EI-min/O-min, waarbij respectievelijk de maximale en minimale rekbaarheid van de cel wordt uitgedrukt (figuur 1A). Er is alleen bloed van patiënten met een Hb-pathie onderzocht die geen (recente) bloedtransfusie hebben gehad.

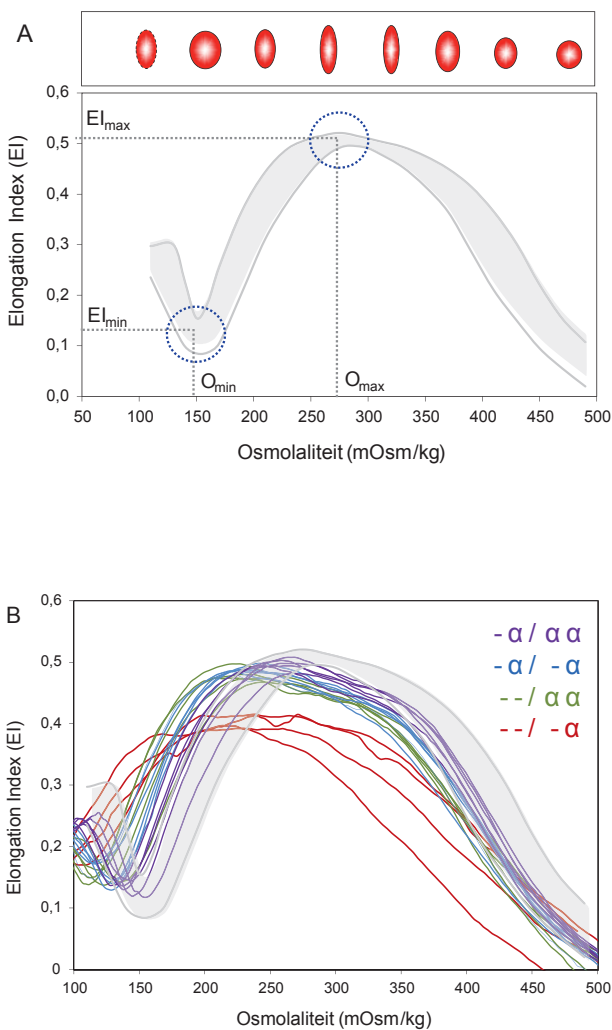
HagaZiekenhuis, Lab West, Den Haag

E-mail: p.franck@hagaziekenhuis.nl

Resultaten

Cellen van patiënten met α -thalassemie hebben in de ektactometer een verlaagde maximale Elongation Index (EI-max). Onderscheid wordt gemaakt tussen patiënten met één, twee of drie α -globine deleties (figuur 1B). Hierbij is de EI-max van de cellen met één of twee α -globine deleties het minst veranderd. Een groot verschil is zichtbaar bij cellen met een deletie van drie α -globine allelen (HbH), waarbij een sterk verlaagde EI-max wordt waargenomen. Patiënten met een heterozygote β -thalassemie hebben eveneens een verlaagde EI max. Bij intermediaire β -thalassemie is de vervormbaarheid veel lager.

Bij sikkelcellen is de vervormbaarheid van de dragers AS relatief weinig aangedaan. Daarentegen laat de homozygote SS vorm een sterk verlaagde EI-max zien en een grote variatie tussen de patiënten onderling (figuur 2A). Bij deze SS patiënten is er een duidelijke relatie zichtbaar tussen de aanwezigheid van de hoeveelheid HbS en de mate van vervormbaarheid (figuur 2B).



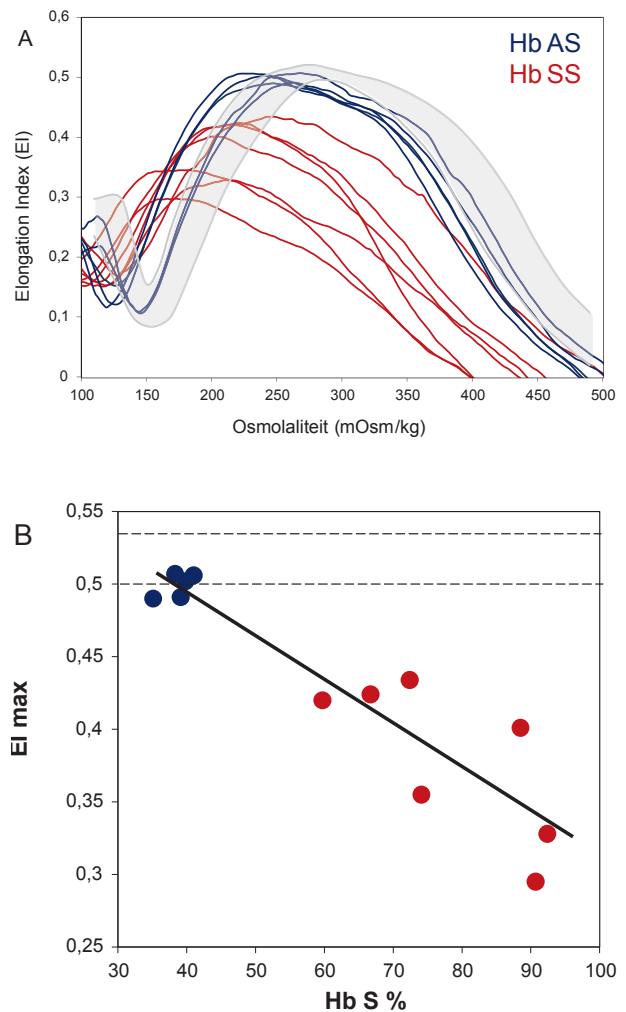
Figuur 1. Vervormbaarheids curve van normale rode bloedcellen. Figuur 1A: vervormbaarheid van normale erythrocyten als functie van osmolaliteit. Figuur 1B laat de vervormbaarheidscurven van erythrocyten van patiënten met α -thalassemie zien, waarbij één (paars), twee (blauw, α^+ deletie en groen, α^0 deletie) en drie α deleties (rood, HbH) zijn aangetoond.

Conclusie

Cellen van patiënten die doorgaans een milde anemie hebben, zoals bij één of twee α -deleties, heterozygote β -thalassemie en AS drager, laten een verlaagde maar relatief weinig afwijkende vervormbaarheid zien. Mutaties die een ernstige anemie kunnen veroorzaken, zoals α -thalassemie HbH, intermediaire β -thalassemie en SS ziekte hebben een sterk verminderde vervormbaarheid van hun cellen.

De invloed van een toenemende hoeveelheid HbF zorgt bij SS patiënten voor een gunstig klinisch effect, waarbij het proces van sikkelen verstoord is. Deze toename van HbF gaat gepaard met een afname van de hoeveelheid HbS. In onze studie is te zien, dat deze afname van HbS in de cel gepaard gaat met een verbeterde vervormbaarheid van de sikkelcellen.

De ektactometer is een analyser die de conditie van de erythrocyten binnen verschillende Hb-pathieën goed kan meten aan de hand van een veranderende vervormbaarheid.



Figuur 2. Vervormbaarheidscurven van sikkelcel patiënten (A) waarbij de AS / dragers in blauw en de homozygote SS patiënten in rood zijn weergegeven. In figuur 2B is de relatie tussen de aanwezigheid van een variabele hoeveelheid HbS in de cel en de vervormbaarheid / EI-max zichtbaar bij dezelfde AS en SS patiënten als in figuur 2A.

Referenties

1. Clark MR, Mohandas N, Shohet SB. Osmotic gradient ektacytometry. Comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance. *Blood* 1983; 61: 899-910.
2. Postma C, Spaans A, Hardeman M, Veuger M, Franck P. Een familie met hereditaire elliptocytose: meer klinische klachten door een derde mutatie in Exon 6 van het α -spectrine gen. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*. 2011; 36: 265-266.
3. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet* 2008; 372: 1411-1426.
4. Silveira P, Cynober T, Dhermy D, Mohandas N, Tchernia G. Red blood cell abnormalities in hereditary elliptocytosis and their relevance to variable clinical expression. *Am J Pathol*. 1997; 108: 391-399.
5. Chiu D, Lubin B. Oxidative hemoglobin denaturation and RBC destruction: the effect of heme on red cell membranes. *Semin Hematol*. 1989; 26: 254-276.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2013; 38: 130-131

Kan beenmerg afgenomen met een intraossale canule voor laboratoriumonderzoek gebruikt worden?

M.A. FRANSSSEN, H.A. KLEINVELD, D. BUSSMANN-WILLEMS en M.T.M. RAIJMAKERS

Bij patiënten op de SEH kan niet altijd een vasculaire toegang worden verkregen. Enige jaren geleden beschreven Hartholt en collega's in het NTvG de mogelijkheden van een intraossale canule (i.e. botnaald) als alternatief om toegang tot de perifere circulatie te verkrijgen (1). Terloops merkten zij hierbij op dat materiaal verkregen uit een botnaald geschikt is voor het uitvoeren van klinisch chemische en hematologische analyses. Tot op heden zijn echter slechts een viertal onderzoeken beschreven waarin dit onderzocht is. Bovendien is er een slechte overeenkomst tussen de gebruikte studiepopulaties en de patiënten, die in de praktijk een botnaald behoeven (2-5). Mede op basis van dit artikel is de wens ontstaan om materiaal verkregen met een botnaald naar het laboratorium te sturen voor onderzoek. Indien beenmerg uit een botnaald werkelijk voor klinisch chemisch laboratoriumonderzoek gebruikt kan worden zou sneller een werkdiagnose gesteld kunnen worden. In dit onderzoek hebben we gekeken naar de preanalytische kwaliteit van een afname met een botnaald en de vergelijkbaarheid van laboratorium parameters met veneus bloed.

Methode

In een prospectieve beschrijvende studie werden volwassen, hemodynamisch instabiele patiënten in een acute situatie zoals shock en reanimatie, waarbij twee vasculaire toegangswegen noodzakelijk zijn maar moeizaam te verkrijgen, ingesloten. Patiënten werden uitgesloten voor het onderzoek indien ze een fractuur of huidinfectie van de proximale tibia hadden, of hemodynamisch stabiel waren. Materiaal afgenomen uit de botnaald en een perifere lijn werd ter analyse van klinische chemische en hematologische parameters (natrium, kalium, magnesium, totaal calcium, glucose, lactaat, albumine, kreatinine, ureum, AF, γ -GT,

LD, ASAT, ALAT, CK, TnT, CBC, PT/INR en APTT) op het laboratorium aangeboden. Op het laboratorium is de kwaliteit van het materiaal (eventueel na centrifugeren bekeken) beoordeeld, waarbij de analist zelfstandig kon beslissen of hij het aandurft om het monster aan de analyzers aan te bieden. Na 18 maanden is een interim-analyse uitgevoerd. Hierin is naast de vergelijking van de laboratoriumuitslagen gekeken naar de preanalytische kwaliteit van het beenmerg.

Resultaat

In anderhalf jaar studie zijn bij 8 patiënten monsters afgenomen voor de studie. Van deze 8 monsters zijn 2 monsters afgekeurd voor analyse, omdat deze macroscopisch gesteld waren. Zelfs na centrifugeren was er geen geschikt materiaal om te analyseren. Van de overige 6 monsters was, met uitzondering van 1 monster, de kwaliteit slecht. Per monster werden één of meerdere preanalytische afwijkingen geconstateerd zoals lipemie (n=2), sterke hemolyse (n=4) en kleine stolsels (n=1). Meerdere parameters konden hierdoor bij vier monsters niet betrouwbaar gemeten worden. Daarnaast kon in vier gevallen op basis van de aanwezigheid van stolsels of een te laag volume geen stollingsonderzoek worden uitgevoerd. Gezien de lage kwantiteit en kwaliteit van de monsters kunnen er geen uitspraken gedaan worden over de klinische vergelijkbaarheid.

Discussie

Tijdens de 18 maanden tot de interim-analyse van de studie zijn slechts een laag aantal patiënten ingesloten. Dit kan een teken zijn van de lage noodzaak van de plaatsing van een botnaald. Met een dergelijke lage frequentie van voorkomen kunnen vraagekens gezet worden bij de kwaliteit van afname van beenmerg met een botnaald, maar ook bij de resultaten van het laboratoriumonderzoek. De medewerker op de SEH verrichten onder druk een niet alledaagse afname. Na plaatsing van de botnaald kan een gesloten systeem

Atrium Medisch Centrum, Parkstad Heerlen

E-mail: m.raijmakers@atriummc.nl