

## Kalium bij hemolyse: een LIS-tige beslissing

R.L. SMEETS, E.P.L.M. de GROUW, M. de KLUIS, G. DULOS en J.D. OOSTING

Kalium is een van de meest aangevraagde analyses in de kliniek en verhoogde of verlaagde concentraties in de circulatie dienen direct gecorrigeerd te worden. Dit geeft dan ook direct de klinische behoefte van de behandelend arts aan om een aangevraagd kalium ook kwantitatief gerapporteerd te krijgen. Waar met name het probleem tussen laboratorium en kliniek ontstaat als de gemeten kalium concentratie niet gerapporteerd wordt in geval van aanwezige hemolyse, vastgesteld via de hemolytische index. Een alom bekend probleem waarvoor geen eenduidige oplossing bestaat. In veel gevallen worden uitslagen vanaf een vastgestelde hemolyse grens niet meer gerapporteerd, dit tot (terechte) ergernis van de kliniek. In dit artikel hebben we het effect van hemolyse op de kalium concentratie onderzocht en hebben we op grond van de verkregen resultaten een geautomatiseerd beslismodel opgesteld via het LIS om de kalium waarden in alle gevallen ook bij aanwezige hemolyse te rapporteren met bijbehorende interpretatie.

Hemolyse kan op meerdere manieren de analyse van biomarkers beïnvloeden; direct door het vrijkomen van de desbetreffende analyte uit het intracellulaire compartiment (additie) of via beïnvloeding van het absorptiespectrum van de analyse (interferentie) of indirect door het vrijkomen van inhibitoren (antagonisten) of agonisten uit het intracellulaire compartiment. Indien de analyte vrijgekomen is uit de cellen, is het van belang bij de klinische interpretatie van de analyseresultaten te weten of de hemolyse een pre-analytisch artefact is (ex vivo hemolyse) of past bij de pathologie van de patiënt (in vivo hemolyse).

In dit artikel is in het bijzonder bekeken wat het effect is van de mate van hemolyse, en daarmee dus het vrijkomen van intracellulaire componenten op de plasma waardes voor kalium. Tevens is bekeken wat de mogelijkheden zijn om analyseresultaten van hemolytische monsters te corrigeren om zo een betrouwbare schatting te kunnen geven van de kalium waarde in een niet hemolytisch monster op basis van lineaire interpolatie. Daar een hoge of lage kalium waarde altijd klinisch relevant is en direct actie vereist is het van belang om de kliniek van resultaat te voorzien met daarbij de inachtneming van de al dan niet aanwezige hemolyse. Hiermee kan de vraag richting de kliniek beantwoord

worden, maar zullen wel grenzen gedefinieerd dienen te worden waarbinnen 1) de kalium uitslag zonder probleem kan worden gerapporteerd, 2) wanneer aanvullende consultatie behoeft en 3) wanneer niet meer kan worden gerapporteerd daar het onverenigbaar is met de kliniek. Echter dit roept tevens vragen op, daar er geen onderscheid kan worden gemaakt in het type hemolyse (in vivo/ex vivo); kortom een lastige spagaat tussen laboratorium en kliniek, wat een listige oplossing behoeft.

### Materiaal en Methode

#### *LIS data extractie kalium resultaten*

Om een inzicht te krijgen in het aantal kalium analyses in relatie tot het resultaat en de hemolyse is er een LIS dump gemaakt. Deze LIS data van kalium uitslagen met bijbehorende hemolytische index (HI of H-index) bevat ruim 13.000 items. Deze dataset heeft als basis gediend voor de frequentie-distributie analyse en het analyseren van de kalium concentratie in relatie tot de H-index.

#### *Analyse, referentiewaarden en doorbelgrenzen*

Kalium wordt bepaald middels ISE op de Architect C16000 (Abbott, IL,USA) met een meetbereik van 1,0 tot 10,0 mmol/l. De geldende referentiewaarden voor kalium binnen het Radboudumc zijn 3,5-4,7 mmol/l. Als doorbelgrenzen worden gehanteerd, <2,6 en >6,0 mmol/l.

#### *Hemolysaat interferentie analyse*

Hemolysaten zijn verkregen uit erythrocyten concentraten van verschillende donoren middels repeterende vries-dooi cycli (5 maal). Deze stock oplossing is vervolgens serieel doorverdund (1:1) in fysiologisch zout oplossing (0,9% NaCl). Aan niet hemolytische plasma monsters, met lage (~3 mmol/l), gemiddelde (~4 mmol/l) en hoge (~6 mmol/l) kalium concentratie, is in oplopende concentratie hemolysaat toegevoegd om het effect van hemolyse te kunnen bestuderen. De HI, waarbij een significante afwijking van de gemeten kaliumwaarde in vergelijking met nul meting ontstaat, wordt vastgesteld door de berekening van het kritisch verschil volgens de formule;  $2 \cdot \sqrt{2} \cdot (CV_w)$ , waarbij de intra-individuele CV = 4.6% (www.Westgard.com).

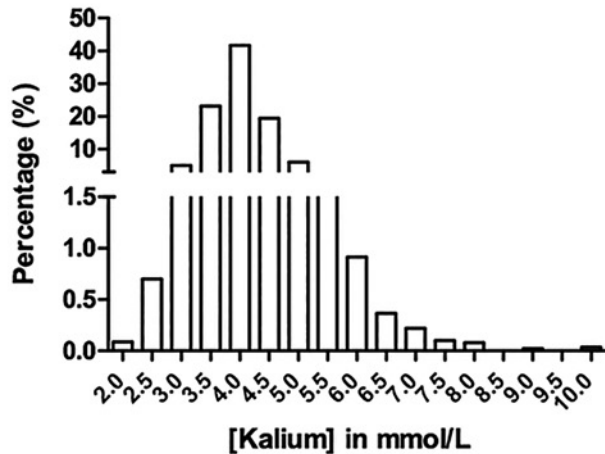
#### *Data analyse en statistiek*

Voor het analyseren van de data, het genereren van frequentie distributies en grafieken is gebruik gemaakt van Graphpad prism 4.0 software.

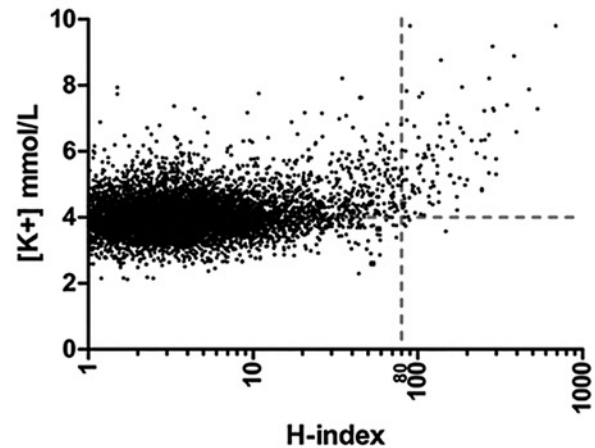
Laboratorium Klinische Chemie, afdeling Laboratorium-geneeskunde, Radboudumc, Nijmegen, Nederland

E-mail: Ruben.Smeets@radboudumc.nl

A



B



**Figuur 1.** Weergave van kaliumresultaten uit LIS: frequentie distributie (A) en dot-plot van kalium concentratie in relatie tot de gemeten H-index (B).

## Resultaten en conclusie

### LIS data analyse en statistiek

De frequentie distributie, weergegeven in figuur 1A, vertoont een scheve distributie van de kalium resultaten in het LIS, waarbij 0,8% en 1,7% van de resultaten van respectievelijk <2,6 mmol/l en >6,0 mmol/l dienen te worden doorgebeld. Uit de resultaten weergegeven in figuur 1B is het effect van hemolyse op de gemeten kalium concentratie duidelijk zichtbaar bij een H-index rond de 80. Verder kan men uit deze grafiek concluderen dat kalium concentraties boven de 8,0 mmol/l met name voorkomen als gevolg van een hoge mate van hemolyse.

### Beschrijving van het effect van hemolyse op de kalium concentratie

Na het retrospectief analyseren van de resultaten in het LIS is gestart met het bestuderen van het additie effect van het door hemolyse vrijgekomen kalium op de gemeten kalium concentratie. Van 2 verschillende donoren is afzonderlijk een hemolysaat gemaakt. Hieruit blijkt een verwacht, maar duidelijk lineair verband resulterend in een  $R^2 > 0,99$ . De concentratie kalium in beide hemolysaten varieert licht, te weten 1,9 mmol/l (H-index = ~200) en 2,2 mmol/l bij een H-index van ~300. Bijbehorende richtingscoëfficiënten waren hierbij respectievelijk 0,0074 en 0,0059 (gem=0,0067). Deze vastgestelde gemiddelde RC kan gebruikt worden om de kalium concentratie te corrigeren wanneer er sprake is van ex-vivo hemolyse.

Het effect van het toevoegen van het hemolysaat op de kalium concentratie is bestudeerd op plasma met een laag (2,7 mmol/l), normaal (4,0 mmol/l) en hoog (6,0 mmol/l) kalium. Deze concentraties zijn zo gekozen omdat ze de normaalwaarden vertegenwoordigen, of rond de doorbelgrenzen liggen. Uit de resultaten van de analyse blijkt dat het additie effect van de twee verschillende hemolysaat stock oplossingen op de bovengenoemde start concentraties resulteert in verschillende afkapwaarden voor de H-index op grond van het te berekenen kritisch verschil (zie Tabel 1)

De H-index waarbij significante verschillen optreden als

gevolg van hemolyse is vastgesteld als de gemiddelde waarde van de H-index uit de verschillende experimenten te weten 80. Deze waarde ligt ook in de zelfde orde van grootte als de geschatte waarde die men zou verwachten op grond van de data analyse weergegeven in figuur 1B.

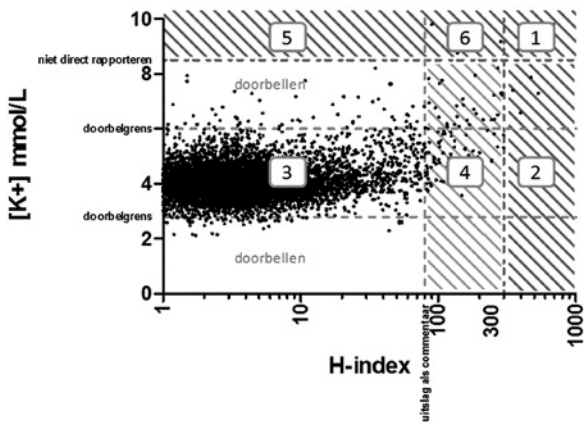
### Integratie van data en inrichting van beslisalgoritme in het LIS

Door het vaststellen van drie uitgangspunten is in figuur 2 een indeling gemaakt voor de werkwijze rondom verschillende kalium uitslagen in relatie tot de H-index. De drie uitgangspunten betreffen: 1) de H-Index waarbij er een aannemelijke bijdrage valt te verwachten van de kalium concentratie door hemolyse is vastgesteld op >80; 2) de maximaal geteste H-index van 300 wordt gehanteerd als sterk hemolytische grens; 3) een kalium van 8,5 mmol/l in afwezigheid van hemolyse wordt gezien als niet verenigbaar met het leven.

Hierbij zijn de verschillende segmenten, zoals weergegeven in de figuur, in te richten volgens onderstaande beslisregels binnen het LIS, te weten:

**Tabel 1.** Experimentele opzet en resultaten van HI grenzen bij kritisch verschil

Start concentratie Kalium (mmol/l)	Kalium + Kritisch verschil ( $2 \cdot \sqrt{2 \cdot CVw}$ )	H-index bij kritisch verschil
2,7 ( + HI 200)	$2,7 + (2,8 \cdot (2,7/100)) \cdot 4,6 = 3,0$	49
2,7 ( + HI 300)		61
4,0 ( + HI 200)	$4,0 + (2,8 \cdot (4,0/100)) \cdot 4,6 = 4,5$	69
4,0 ( + HI 300)		85
6,0 ( + HI 200)	$6,0 + (2,8 \cdot (6,0/100)) \cdot 4,6 = 6,8$	101
6,0 ( + HI 300)		117
Gemiddelde		80



**Figuur 2.** Inrichting beslisregels

- 1  $K^+ > 8,5$  en H-index  $> 300 \rightarrow$  ntb (niet te bepalen); commentaar; sterk hemolytisch
- 2  $K^+ < 8,5$  en H-index  $> 300 \rightarrow$  ZIE; commentaar; sterk hemolytisch,  $K^+ = \dots \text{mmol/l}$ , is (foutief) verhoogd
- 3  $K^+ < 8,5$  en H-index  $< 80 \rightarrow$  normale rapportage
- 4  $K^+ < 8,5$  en H-index  $80, K^+ < 300 \rightarrow$  ZIE; commentaar; hemolytisch,  $K^+ = \dots \text{mmol/l}$ , is (foutief) verhoogd
- 5  $K^+ > 8,5$  en H-index  $< 80 \rightarrow$  ZIE; commentaar; mogelijk pre-analytische fout. In autorisatie kan commentaar worden toegevoegd
- 6  $K^+ > 8,5$  en H-index  $> 80 < 300 \rightarrow$  ZIE; commentaar; hemolytisch,  $K^+ = \dots \text{mmol/l}$ , is (foutief) verhoogd

Hierbij wordt onder de hyperlink ZIE, welke op de resultaat regel in het ZIS kan worden weergegeven, het bijgevoegde commentaar gegeven. Hierbij worden al-

leen de resultaten bij een  $K^+ > 8,5$  en H-index  $> 300$  en een  $K^+ > 8,5$  en H-index  $< 80$  niet gerapporteerd, maar wel voorzien van een extern commentaar. Alle overige resultaten worden wel direct weergegeven (categorie 3), dan wel via een extern commentaar met de gemeten, niet gecorrigeerde kalium concentratie gerapporteerd (categorie 2, 4 en 6). Doordat deze resultaten in de laatstgenoemde categorieën niet direct inzichtelijk zijn voor de arts, men moet namelijk de hyperlink openen om het resultaat met bijbehorend commentaar te kunnen inzien, kan men erop vertrouwen dat het externe commentaar ook daadwerkelijk is gelezen. Daarnaast zullen de resultaten ook niet als numerieke waarden in cumulatieve rapporten verschijnen, daar ze gerapporteerd zijn in een tekstveld.

### Conclusie

Door de beschreven manier van inrichting in het LIS is er een werkbaar algoritme gecreëerd, wat zorg draagt voor een correcte interpretatie van de kalium uitslagen door de arts. Tevens zorgt deze oplossing voor een het doorgeven van meer resultaten dan tot dusverre gebruikelijk, zodat de arts toch in de mogelijkheid wordt gesteld om de gemeten concentratie onder ogen te krijgen. Daarnaast levert dit ook voor het lab voordelen op, te weten een geautomatiseerde manier van rapportage zonder de noodzaak de kalium waarde te corrigeren voor hemolyse, of te besluiten het resultaat niet te communiceren. Mocht de arts toch behoefte hebben aan een gecorrigeerde kalium concentratie in geval men er zeker sprake is dat ex vivo hemolyse kan de waarde gecorrigeerd worden middels de formule; [gecorrigeerde kalium] = [gemeten kalium] - (H-index \* 0,0067). Kortom maatwerk voor een probleem dat maatwerk behoeft.

## Uit de laboratoriumpraktijk

# Vijftien miljoen typeringen van het donorbestand biedt tijdwinst en ondersteunt adequate preventie van immunisatie rondom bloedtransfusies

N. VREESWIJK, J. JONGERIUS, A. van WEERT en H. BOS

Vrijwel alle actieve volbloeddonors met bloedgroep A en O zijn naast de typering voor de ABO, RhD, RhCE en K (Kell) bloedgroep ook getypeerd voor veel andere belangrijke bloedgroepantigenen. Met dit getypeerde donorbestand biedt Sanquin Bloedvoorziening de transfusielaboratoria van de ziekenhuizen in Nederland de mogelijkheid om eenvoudig erythrocytenproducten (EC's) met een specifiek antigeenprofiel voor patiënten te selecteren. Dit kan zowel uit de voorraad van het ziekenhuis als uit de voorraad bij Sanquin. Hierdoor wordt belangrijke tijdwinst behaald bij spoedeisende erythrocytentransfusies voor patiënten met irregulaire erythrocytenantistoffen. Daarnaast leidt het ook tot gezondheidswinst omdat in de CBO richtlijn van 2011 voor verschillende patiëntengroepen preventieve matchingstrategieën zijn opgenomen en men met getypeerde erythrocytentransfusies immunisatie kan voorkomen. Om deze dienstverlening te kunnen realiseren heeft Sanquin in overleg met de gebruikers de afgelopen jaren ruim vijftien miljoen typeringstesten verricht om zo een dynamisch getypeerd bestand van bijna 280.000 donors op te bouwen.

### Historie opbouw donorbestand getypeerde erythrocyten bij Sanquin

In 2004 is Sanquin, op verzoek van de Landelijke Gebruikers Raad (LGR) en na advies van de Medische Advies Raad van Sanquin (MAR), gestart met de opbouw van een getypeerd donorbestand. Belangrijke uitgangspunten daarbij waren het gebruik van getypeerde eenheden door de ziekenhuizen tot 2004, schattingen van de toekomstige vraag, de immunogeniciteit van in het bijzonder de klinisch belangrijke bloedgroepantigenen en de frequentie van bloedgroepantigenen binnen de Nederlandse donorpopulatie. Besloten is om vooral erythrocyten van volbloeddonors met de bloedgroep O en A te typeren op de aan- of afwezigheid van (maximaal) 22 verschillende bloedgroepantigenen:

C, c, E, e, C<sup>w</sup>, K, k, Kp<sup>a</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, M, N, S, s, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, P<sub>1</sub>, Wr<sup>a</sup>, Lu<sup>a</sup> en Co<sup>b</sup>.

### Noodzaak gebruik van getypeerde erythrocyten

Als van een patiënt bekend is dat hij/zij klinisch belangrijke irregulaire antistoffen tegen erythrocytenantigenen heeft, zal bij een erythrocytentransfusie voor deze patiënt ABO/RhD compatibel bloed geselecteerd worden dat negatief is voor het betreffende bloedgroepantigeen en daarnaast ook RhCE en K bloedgroep compatibel is om verdere immunisatie te voorkomen. De compatibiliteit van het geselecteerde bloed wordt vervolgens met een volledige kruisproef gecontroleerd. Om de vorming van irregulaire erythrocytenantistoffen zoveel mogelijk te voorkomen, is in de CBO richtlijn Bloedtransfusie 2011 een aantal preventieve maatregelen opgenomen. De CBO richtlijn doet aanbevelingen om voor specifieke patiëntengroepen, te weten: vrouwen jonger dan 45 jaar, patiënten met auto-immuun hemolytische anemie, myelodysplastisch syndroom, hemoglobinepathieën of met een klinisch relevante erythrocytenantistof, preventief Rh fenotype, K en in sommige gevallen ook Duffy (Fy), Kidd (Jk) en Ss compatibel donorbloed te selecteren. Door deze preventieve maatregelen en het feit dat sommige transfusielaboratoria voor de antigenen RhC, c, E, e en K niet antigeen-compatibel maar antigeen-negatief transfunderen is de vraag naar getypeerde erythrocytenproducten verder toegenomen en wordt extra druk op het getypeerd bestand gelegd.

*Sanquin Bloedvoorziening, Amsterdam*

Correspondentie: Dhr. N.J. Vreeswijk MBA, manager relatiebeheer, Sanquin Bloedvoorziening divisie Diagnostiek, Postbus 9190, 1006 AD Amsterdam

E-mail: n.vreeswijk@sanquin.nl





## Typeren van donorerytrocyten

Het NSS (Nationaal Screeningslaboratorium Sanquin) maakt voor het typeren van donorbloed gebruik van Olympus PK7300 bloedgroepautomaat (Olympus) en Cellbind met behulp van de Magister bloedgroepautomaat (Sanquin Reagents). De typeringsuitslagen worden vanuit de PK7300 en Magister naar het Laboratorium Informatie Management Systeem (LIMS) van NSS verstuurd. Na autorisatie van de uitslagen worden deze naar het bloedbankinformatiesysteem eProgesa gezonden. Als het van een donor van twee onafhankelijk afgenomen donaties de antigeentypering twee keer negatief bepaald is, wordt het resultaat vanuit eProgesa oegleesbaar op het productetiket afgedrukt (zie voorbeeldetiket hieronder). Bij een volgende donatie hoeft niet opnieuw de afwezigheid van het betreffende antigeen te worden vastgesteld. De ABO/RhD bloedgroep wordt wel van iedere donatie opnieuw vastgesteld. Typeringsinformatie (aan- en afwezigheid van antigenen) is ook in een barcode in het kwadrant rechtsonder van het productetiket verwerkt. Voor uitvoerige details over de typeringsstrategie verwijzen wij de lezer naar het recent gepubliceerde artikel 'Typeren van donorerytrocyten' van J.M. Jongerius en anderen (5).



Op dit moment wordt er naast ABO en RhD op de aan- of afwezigheid van (maximaal) 22 verschillende antigenen getypeerd. Hierdoor is het mogelijk getypeerd bloed direct uit de beschikbare voorraden in de bloedtransfusielaboratoria van de ziekenhuizen of uitgiftecentra van Sanquin te kunnen selecteren. Dit levert in de praktijk veel tijdswinst op. De tijdswinst kan oplopen tot vele uren - uren die in spoedeisende situaties levensreddend kunnen zijn en waardoor er ook extra kosten kunnen worden bespaard.

Voor een aantal antigenen worden typeringen op DNA-niveau verricht, omdat betrouwbare typeringsreagentia voor serologische technieken niet in alle gevallen voorhanden zijn.

## Resultaten

In de Landelijke Gebruikersraad van Sanquin (LGR) zijn afspraken gemaakt over de wensen voor de beschikbaarheid van EC's waarbij bepaalde antigenen afwezig zijn en dat is vertaald in streefwaardes per antigeen. De streefwaardes - en de daadwerkelijk behaalde percentages (2010 t/m 2013) voor twee keer antigeen negatief zijn in onderstaande tabel 1 samengevat. Nagenoeg alle A en O donors zijn getypeerd en daarmee is van ruim 87% van alle donors een uitgebreid antigeenprofiel bekend.

Uit de gegevens van tabel 1 blijkt dat de afgesproken streefwaarden bij 20 van de 22 antigenen behaald zijn. De streefwaarden voor k (cellano) en Kp<sup>a</sup> zijn nog niet behaald. De op internationale literatuur gebaseerde streefwaarde voor k is ondanks alle inspanningen voor de Nederlandse populatie niet haalbaar gebleken, omdat de frequentie van k-negatieve donors in de Nederlandse donorpopulatie lager is dan was aangenomen. Aanpassing van het te behalen percentage wordt momenteel overwogen. De streefwaarde voor Kp<sup>a</sup> negatieve typeringen is begin 2011 in overleg met de LGR verhoogd tot 10%, een inhaalslag is gaande.

Voor patiënten met anti-N is het selecteren van N negatief donorbloed (meestal) niet noodzakelijk, daarom heeft het typeren van het N antigeen altijd een lage prioriteit gehad. Begin 2011 heeft de LGR Sanquin verzocht om toch aan de voor N afgesproken streefwaarde te gaan voldoen. Om aan deze vraag te kunnen voldoen heeft Sanquin een innovatieve typerings-test met behulp voor het N antigeen voor de PK7300 ontwikkeld waardoor de doorlooptijd van de N typeringen kan worden verhoogd. In de LGR van juni 2014 hebben de leden nogmaals aangegeven dat het beschikbaar hebben van s-negatieve eenheden prioriteit heeft boven N-negatieve eenheden. Eenheden die s-negatief zijn worden in de praktijk met een hogere frequente aangevraagd dan verwacht mag worden op basis van de frequentie in de Nederlandse populatie. Daarom zal de nadruk mogelijk meer gelegd worden op de typering van s-negatieve eenheden.

Recent is Sanquin een onderzoek gestart, BloodMatch, met als doel de vraag naar en het aanbod van getypeerd bloed zo optimaal mogelijk op elkaar af te stemmen. Het onderzoek wordt verricht vanuit verschillende invalshoeken zoals vaststellen wat de behoefte is aan getypeerde erythrocytenproducten, onderzoek naar werving en behoud van (getypeerde) donors en het opzetten van een model om de beschikbare voorraad zo effectief mogelijk te gebruiken.

## Getypeerd bestand, een continu proces

Het opbouwen en behouden van een getypeerd bestand vergt aanzienlijk meer typeringen dan de optel-

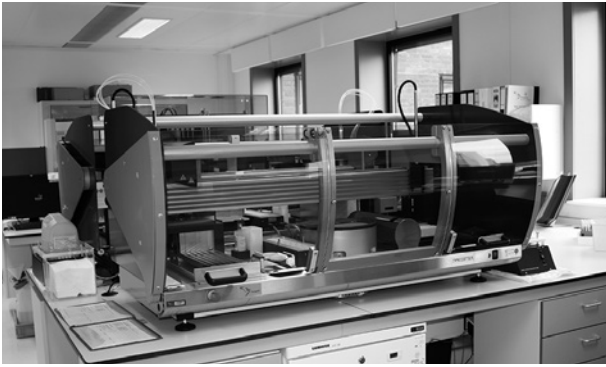
**Tabel 1.** Streefwaarden en de behaalde percentages (2010 t/m 2013) twee keer antigeen-negatief getypeerde actieve volbloeddonors met de bloedgroep O en A. De streefwaarden van Cw, Kp<sup>a</sup> en Wr<sup>a</sup> zijn begin 2011 in overleg met de LGR verhoogd tot 10% (was 2%) en van het N-antigeen in juni 2014 bijgesteld naar 8% (was 10%).

Jaar	2010		2011		2012		2013		
aantal actieve O en A volbloeddonors	292118		287941		286325		278522		
antigeen	streefwaarde 2x neg (%)	n donors 2x neg	% behaald	n donors 2x neg	% behaald	n donors 2x neg	% behaald	n donors 2x neg	% behaald
C	27	95.345	32,6	94.602	32,9	94.934	33,2	93.167	33,5
c	14	46.237	15,8	45.608	15,8	45.307	15,8	44.518	16,0
E	56	191.782	65,7	189.574	65,8	189.072	66,0	185.858	66,7
e	1	6.137	2,1	6.141	2,1	6.017	2,1	5.975	2,1
C <sup>w</sup>	10	19.303	6,6	37.237	12,9	50.227	17,5	72.938	26,2
K	73	238.475	81,6	235.999	82,0	235.428	82,0	232.225	83,4
k	0.15	225	0,08	243	0,08	263	0,09	292	0,10
Kp <sup>a</sup>	10	16.328	5,6	20.013	7,0	18.508	6,5	24.533	8,8
Fy <sup>a</sup>	12	33.945	11,6	34.273	11,9	34.322	12,0	39.108	14,0
Fy <sup>b</sup>	6	19.351	6,6	19.715	6,8	19.667	6,9	19.588	7,0
JK <sup>a</sup>	8	28.911	9,9	31.097	10,8	31.594	11,0	35.306	12,7
JK <sup>b</sup>	9	31.480	10,8	34.803	12,1	35.905	12,5	40.683	14,6
Le <sup>a</sup>	8	18.025	6,2	17.887	6,2	19.996	7,0	49.949	17,9
Le <sup>b</sup>	2	6.252	2,1	6.127	2,1	6.527	2,3	12.652	4,5
M	7	15.163	5,2	18.247	6,3	20.098	7,0	26.705	9,6
N	8	7.017	2,4	10.761	3,7	14.320	5,0	24.512	8,8
S	17	54.385	18,6	60.290	20,9	62.497	22,0	72.427	26,0
s	3	7.375	2,5	7.642	2,7	7.803	2,7	9.554	3,4
Lu <sup>a</sup>	2	12.325	4,2	13.594	4,7	12.634	4,4	15.157	5,4
Wr <sup>a</sup>	10	2.252	7,8	29.087	10,1	28.969	10,1	34.348	12,3
Co <sup>b</sup>	2	8.652	3,0	7.893	2,7	7.301	2,5	6.617	2,4
P <sub>1</sub>	2	17.726	6,1	16.656	5,8	15.307	5,3	21.566	7,7

som van donors zoals weergegeven in tabel 1. Zo stonden eind 2013 9.554 donors als 2x negatief voor het antigeen s in eProgesa geregistreerd. Het percentage s-negatief onder de blanke bevolking is 10%. Dus om één s negatieve donor op te sporen moeten theoretisch 10x zoveel s typeringen worden verricht. Dit vraagt om een uitgekende typeringsstrategie en in de praktijk zal er dan nogmaals een s bepaling verricht moeten worden om de status '2x s-negatief' te bereiken. Om het gewenste aantal '2x s-negatief' bestand op te kunnen bouwen zijn vanaf 2004 vele honderdduizenden s typeringen verricht. Alleen al voor consolidatie van het 's-negatieve bestand' (10% van de actieve donors stopt op jaarbasis met het geven van bloed) is het noodzakelijk om minimaal 20.000 s typeringen per jaar te blijven verrichten.

Eind 2013 waren bij de actieve volbloeddonors met bloedgroep A en O 6.384.277 typeringsuitslagen (1x positief, 2x positief, 1x negatief en 2x negatief) voor de beschreven 22 antigenen, in eProgesa opgeslagen. Sinds de start van de werkzaamheden in 2004 heeft Sanquin ruim 15 miljoen typeringsuitslagen verricht om tot het huidige bestand van getypeerde actieve donors te komen.

Internationaal loopt Sanquin met dit getypeerd bestand ver voor op vele bloedtransfusieorganisaties in de wereld. De opzet en onderhoud van het getypeerde bestand van Sanquin wordt door meerdere bloedtransfusieorganisaties in Europa als voorbeeld gezien om een dergelijk systeem in eigen land op te zetten. Met een donormobiliteit van 40.000 nieuwe donors per jaar moet er circa 800.000 typeringen verricht worden (87% van 40.000 donaties met gemiddeld 2 keer 12 antigeentyperingen) om het bestand actueel te houden. Het getypeerde bestand levert een behoorlijk gezondheidswinst op, alleen al door het feit dat de erythrocyten eenheden sneller beschikbaar zijn voor de patiënten. Ook bij de preventie van de vorming van erythrocyten-antistoffen zijn er naar verwachting grote voordelen; niet alleen met betrekking tot het verminderen van transfusiereacties of vertraging in het beschikbaar krijgen van donorbloed. Het terugdringen van het aantal K, Rhc en RhE immunisaties bijvoorbeeld bij zwangere vrouwen geeft gezondheidswinst voor hun kinderen. Daarnaast bespaar je binnen de bloedtransfusieketen kosten voor het laboratoriumonderzoek. Als onderdeel van het BloodMatch onderzoek zal dit nader in kaart gebracht worden. Met deze kennis kan



het getypeerde bestand zo kosteneffectief mogelijk worden ingericht.

### Conclusie

Op verzoek van de LGR heeft Sanquin geïnvesteerd in een goed en uitgebreid getypeerd donorbestand en zijn de streefwaarden voor 2x antigeen negatief getypeerde percentages behaald. Met uitzondering van k (cellano) en Kp<sup>a</sup> waarvan de frequentie van k-negatieve donors in de Nederlandse donorpopulatie vermoedelijk lager ligt. Het bestand biedt de transfusielaboratoria van de Nederlandse ziekenhuizen een belangrijke tijdwinst bij spoedeisende erythrocytentransfusies bij patiënten met irregulaire antistoffen tegen erythrocyten. Daarnaast bespaart het kosten in de bloedtransfusieketen doordat dubbele typering, immunisatie en transfusiereacties worden voorkomen en dus extra laboratorium-, zorg- en transportkosten worden vermeden.

Om de continuïteit van dit getypeerde bestand te borgen wordt jaarlijks 800.000 typering verricht. Ten

opzichte van bloedtransfusieorganisaties in andere landen loopt Sanquin met de opzet en onderhoud van het getypeerde donorbestand ver voorop.

### Dankwoord

De auteurs bedanken alle medewerkers die de afgelopen 10 jaar met grote inzet en betrokkenheid hebben bijgedragen aan het opbouwen en onderhouden van het unieke getypeerde donorbestand van Sanquin. Verder dank aan Masja de Haas, Claudia Folman, Anneke de Regt, Ruud Smeenk (allen Sanquin Diagnostiek), Marian van Kraaij, Jeroen de Wit, Petra van Krimpen (allen Sanquin Bloedbank) en René van Lier (Sanquin Research) voor hun suggesties en het kritisch nakijken van het manuscript.

### Referenties

1. Richtlijn bloedtransfusie, CBO; 2011.
2. Daniels G. Human Blood Groups: 3rd Edition. March 2013. Wiley-Blackwell Science.
3. Storry JR, Castilho L, Daniels G, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and blood group terminology: Berlin report. *Vox Sanguinis*. 2011; 101: 77-82.
4. Giblett ER. A critique of the theoretical hazard of inter vs. intra-racial transfusion. *Transfusion*. 1961; 1: 233-238.
5. Jongerius JM, Bouman M, Bos HJ, de Wit HJC. Typeren van donorerythrocyten. *Tijdschrift voor Bloedtransfusie*. 2013; 6: 62-64.
6. Overbeeke MAM, Vreeswijk NJ, Ligthart PC, Meulenbroek AJ. Erythrocytenserologie. Tweede druk Sanquin. 2011: 6-7 t/m 6-8.
7. Reid M, Lomas-Francis C, Olsson ML. The Blood Group Antigen FactsBook, 3rd Edition. Sep 2012. Academic Press.



## Rhesus negatief of Rhesus positief: hoe diep moet je gaan?

M.H. de KEIJZER en M. van den BERG

Een tweemaal bepaalde bloedgroep en Rhesus factor wordt in principe als definitief aangemerkt. Slechts na een allogene stamceltransplantatie of een orgaantransplantatie en mogelijk na een infectie of maligniteit kan een bloedgroep- en/of Rhesus verandering in vivo optreden (1-3). In deze casus presenteren wij een 'in vitro' verandering van de Rhesus factor.

### Patiënt

In augustus 2014 onderging een 52-jarige man een buikoperatie in combinatie met het aanleggen van een stoma. Post operatief was sprake van bloedverlies en bij een Hb van 4,7 mmol/l werden 4 eenheden packed cells besteld. De bloedgroep van de patiënt was al eens in 2004 bepaald en werd voor transfusie voor de tweede keer vastgesteld: 0 positief.

De patiënt kreeg drie eenheden 0 negatief bloed en één eenheid 0 positief bloed toegediend en zijn Hb steeg uiteindelijk tot 6,7 mmol/l. Echter, na transfusie van de vierde eenheid ontwikkelde de patiënt koude rillingen en was er sprake van een temperatuurstijging van twee graden. Hierop werd het protocol behorende bij een transfusiereactie afgewerkt.

### Resultaten

Uit het onderzoek naar een mogelijke transfusiereactie kwam als voornaamste bevinding een discrepante bloedgroep naar voren: 0 negatief, waarbij de bloedgroep bepaald werd m.b.v. een AutoVue Innova van Ortho Clinical Diagnostics. De bloedgroep van voor transfusie was ook met deze AutoVue bepaald. Daarop werd met hetzelfde monster een handmatige bepaling van de bloedgroep en Rhesus factor (m.b.v. het Ortho BioVue systeem) ingezet met als resultaat 0 positief. Een tweede bepaling uit een monster van een dag later leverde wederom de resultaten handmethode 0 positief en AutoVue 0 negatief (zie tabel).

Na overleg met medewerkers van Ortho Clinical Diagnostics is uiteindelijk een hypothese opgesteld en getest. De drie 0 negatieve zakken hadden alle een uiterste houdbaarheidsdatum van 8 augustus. In de zakken bevonden zich dus relatief veel oude erythrocyten; deze oude erythrocyten zijn -ten opzichte van de erythrocyten van de patiënt- compacter en kleiner (4).

Na afname van bloed van de patiënt ontstaat hierdoor in de afnamebuis een erythrocyten gradiënt: bovenin de buis voor de lichaamseigen, 0 positieve erythrocyten en onderin de getransfundeerde, 0 negatieve erythrocyten. Voor het bepalen van bloedgroep en Rhesus factor

Tabel 1. Overzicht Rhesus-bepalingen

Datum	Bloedgroep Rhesus	Methode
juni 2004	0 positief	nvt
5 aug 2014	0 positief	AutoVue
transfusie		
6 aug 2014	0 negatief	AutoVue
7 aug 2014	0 positief	handmethode
7 aug 2014	0 negatief	AutoVue
7 aug 2014	0 positief	handmethode

neemt de AutoVue helemaal onder in de buis een monster, terwijl met de handmethode juist bovenin de buis wordt gesampled.

Om deze hypothese te testen is daarna met de handmethode gebruik gemaakt van een monster onderuit de buis en hierin werden inderdaad de Rhesus negatieve erythrocyten gevonden.

### Discussie

Een dergelijke situatie zal in de praktijk nauwelijks voorkomen. Immers, bloedgroep en Rhesus factor wordt in principe niet na een transfusie bepaald. Anders ligt het in geval van een transfusie reactie, waar deze bepaling protocollair vastligt.

Als dan drie zakken met niet-Rhesus compatibele, kleine en compacte erythrocyten worden getransfundeerd en het samplingmechanisme van de analyzer in eerste instantie niet duidelijk is, kan lichte paniek op het transfusielaboratorium uitbreken.

Uiteindelijk was er ook geen sprake van een transfusiereactie: de bloedkweken waren positief en de patiënt bleek een sepsis ontwikkeld te hebben.

### Conclusie

Wij beschrijven een casus, waarin door verschil in monsternamen zowel een positieve als een negatieve Rhesus factor kan worden vastgesteld.

### Literatuur

- van Loghem jr JJ. Verandering in bloedgroep tijdens ziekte. Ned Tijdschr Geneesk. 1963; 107: 1-3.
- Levitus M, van Galen KPM, Som N, Overbeeke MAM, Visser O. Transfusietrammelant rondom allogene stamceltransplantatie. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2011; 36: 192-198.
- Prinzen L, Staal HM, Rouwette SJM, Beckers EAM, ten Broeke RHM, van Rhijn LW, Henskens YMC. Red blood cell alloimmunization after bone-allograft treatment. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2013; 38: 139.
- Lasch J, Küllertz G, Opalka JR. Separation of erythrocytes into age-related fractions by density or size? Counterflow centrifugation. Clin Chem Lab Med. 2000; 38: 629-632.

Amphia ziekenhuis, Breda

E-mail: svandenberga@amphia.nl

## Inventarisatie van de (pre)analytische aspecten van de glucosebepaling in Nederlandse laboratoria: tijd voor uniformiteit

S.A.A. van den BERG, M. H. M. THELEN en K.J.M. BOONEN

Juiste en onderling vergelijkbare resultaten van de bloedglucoseconcentratie vereisen goed gecontroleerde pre-analytische condities. Zo zal bij een te lange tijd tussen bloedafname en analyse de glucoseconcentratie in vitro dalen als gevolg van voortdurende glycolyse. Om dit te voorkomen worden buizen gebruikt met glycolyseremmers. De meest gebruikte remmer (natriumfluoride) is echter pas na enkele uren werkzaam. Om in vitro glycolyse zo veel mogelijk te beperken bieden richtlijnen drie alternatieven waarbij ofwel: bloed onmiddellijk na afname wordt gekoeld, ofwel directe scheiding van cellen en plasma plaats vindt, ofwel een snel werkende glycolyse remmer wordt gebruikt. Om meer inzicht te krijgen in de toepassing van deze methoden is een enquête verspreid onder hoofden van klinisch chemische laboratoria in Nederland. Er blijken grote verschillen te bestaan tussen laboratoria met betrekking tot de pre-analyse, waarbij opvallend is dat veel laboratoria geen maatregelen treffen om direct de glycolyse te remmen.

Het aantal Nederlanders met diabetes mellitus is tussen 2000 en 2011 met ruim de helft gestegen. Uit de laatste getallen van het Nationaal Kompas Volksgezondheid blijkt dat ons land meer dan 830.000 diabeten kent, en dat bij tenminste 200.000 diabeten de diagnose nog niet is gesteld.

De diagnose diabetes wordt in Nederland gesteld op basis van (herhaalde) nuchter glucosemetingen, al dan niet aangevuld met een orale glucosetolerantie test (OGTT). Richtlijnen maken daarbij gebruik van harde afkapwaarden. Zo houdt de NHG richtlijn 'Diabetes mellitus type 2' aan dat de diagnose diabetes mellitus mag worden gesteld bij 1) 2 nuchtere plasmaglucozewaarden  $\geq 7,0$  mmol/l op 2 verschillende dagen of 2) een nuchtere glucozewaarde  $\geq 7,0$  mmol/l of willekeurige plasmaglucozewaarde  $\geq 11,1$  mmol/l in combinatie met klachten passend bij hyperglykemie.

Om een diagnose te stellen is het dus van belang dat de laboratorium bepaling van glucose wordt uitgevoerd in geschikt materiaal, dat op de juiste manier behandeld is. De meest bekende pre-analytische variabele waarmee rekening moet worden gehouden is het voortduren van de glycolyse na bloedafname.

Het is bekend dat indien er geen maatregelen worden getroffen om de in vitro afbraak van glucose te stoppen, de plasma glucoseconcentratie snel zal dalen en dus vals verlaagd wordt gerapporteerd. De daling kan

oplopen tot 0,6 mmol/l per uur, en is onder andere afhankelijk van het gekozen buistype, tijd en de combinatie daarvan (1), temperatuur (2, 3) en het aantal leukocyten (4, 5). Een recente gemeenschappelijke richtlijn van National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), de American Association for Clinical Chemistry (AACC) samen met de American Diabetes Association (ADA) heeft, om een juiste rapportage van de glucoseconcentratie/waarden spiegel te borgen, naast het direct centrifugeren van het materiaal, een tweetal mogelijke pre-analyse protocollen vastgesteld als gelijkwaardig (6). Door gelijktijdige publicatie in internationaal goed gelezen tijdschriften voor diabetes en klinische chemie (6, 7) hebben de opstellers geprobeerd hun aanbevelingen bij een zo breed mogelijke doelgroep te laten doordringen.

De eerste mogelijkheid betreft het plaatsen van de afname buis in een water/ijsmengsel, direct na afname van het materiaal. Het plasma wordt daarna binnen 30 minuten gescheiden van de cellen. Als dit niet mogelijk is, dan kan een glycolyse remmer worden toegevoegd (6). De meest bekende remmer is de enolase remmer natrium fluoride (NaF). Echter, NaF is pas optimaal werkzaam na enkele uren. Dit betekent dat indien geen directe remmer wordt toegevoegd, de glucoseconcentratie gedurende de eerste uren zal dalen (1).

Afname materiaal waarin andere glycolyse remmers zijn toegevoegd dan NaF zijn (nog) geen algemeen gebruik. Daarnaast is er geen direct overzicht van de gebruikte protocollen met betrekking tot de glucosebepaling in de diverse laboratoria in Nederland. Om hier inzicht in te krijgen hebben wij een enquête gestuurd naar de hoofden van een groot aantal klinisch chemische laboratoria in Nederland.

### Resultaten

#### *Afnamemateriaal*

De meeste deelnemende laboratoria (n=25) maken gebruik van BD als leverancier van afname materiaal voor glucosebepalingen (n=24, figuur 1A). Slechts 1 laboratorium in onze inventarisatie maakt gebruik van materiaal van Greiner. Daarbij worden vooral de heparine buis (n=8) en NaF-oxalaat/NaF-EDTA buis gebruikt (n=22, figuur 1B). Geen van de laboratoria in onze steekproef gebruikt Sarsted of Terumo materiaal. Soms worden zowel heparine als NaF-oxalaat/NaF-EDTA buizen gebruikt, waarbij de keuze per af-

name ingegeven wordt door de aanwezigheid van een externe afname post. Hierbij geldt dat bloed dat op een externe locatie in NaF buizen wordt afgenomen.

#### Turn-around-time en pre-analyse

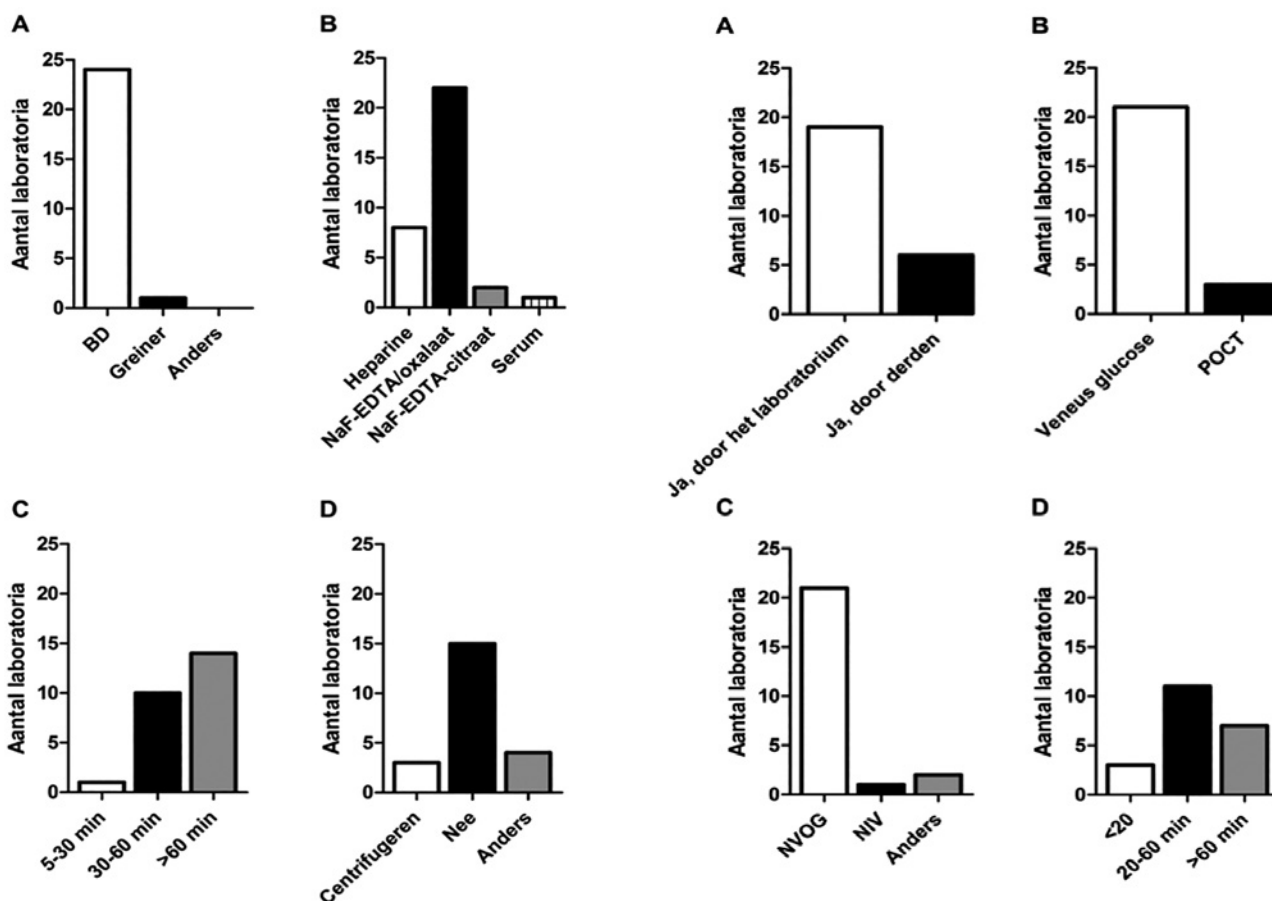
Slechts 1 laboratorium had een turn-around-time (TAT) korter dan 30 minuten. Dit laboratorium gebruikte heparine buizen (figuur 1C).

Bij een middellange turn-around-time (TAT) (tussen 30 en 60 minuten, n=10), wordt vaak geen gebruik gemaakt van directe glycolyse inhibitie (figuur 1D). Geen van de 10 laboratoria met een TAT tussen 30 en 60 minuten maakt gebruik van ijs, in 1 laboratorium wordt de buis direct na afname gecentrifugeerd, in 1 laboratorium worden wel de heparine maar niet NaF buizen direct afgedraaid. Daarnaast wordt in 1 laboratorium gebruik gemaakt van directe glycolyse inhibitie door aanzuring (citraat). In 8 laboratoria wordt niet routinematig glycolyse inhibitie toegepast. Echter, in een aantal laboratoria is mogelijk sprake van direct centrifugeren, maar wordt onderscheid gemaakt tussen materiaal dat afkomstig is van een buitenpost (wel afgedraaid) en materiaal dat in huis wordt afgenomen (niet afgedraaid). Van deze laboratoria is dus niet dui-

delijk of er sprake is van een lange TAT zonder maatregelen om glycolyse te inhiberen.

Bovenstaande betekent dat in de meerderheid van de laboratoria waarbij de TAT tussen de 30 en 60 minuten varieert, geen andere maatregelen worden getroffen om in vitro glycolyse tegen te gaan anders dan het toevoegen van de langzame enolase remmer NaF.

De routine TAT in de deelnemende laboratoria is vaak langer dan een uur (n=14). Geen van de laboratoria maakt gebruik van ijs om het afgenomen materiaal te koelen na de afname. Slechts 1 laboratorium maakt gebruik van afnamemateriaal waarin een directe glycolyse remmer aanwezig is (citraat). Daarnaast wordt in 2 laboratoria een protocol aangehouden waarbij het afgenomen materiaal direct na afname wordt gecentrifugeerd (figuur 1D), 1 laboratorium houdt een maximale tijd tot centrifugeren aan van 30 minuten en 1 laboratorium houdt een maximum tijd tot centrifugeren aan van 5 uur. Hierbij dient wederom opgemerkt te worden dat er in een aantal laboratoria mogelijk wel sprake is van centrifugeren, maar dat er onderscheid wordt gemaakt tussen materiaal dat afkomstig is van een buitenpost en materiaal dat in huis wordt afgenomen. In 7 van de 14 laboratoria met een TAT langer



**Figuur 1.** Uitkomsten van de enquête per vraag. A) Van welke leverancier betreft u buizen voor glucosebepalingen binnen uw centrum? B) Welk anticoagulans wordt gebruikt voor glucosebepalingen? C) Met betrekking tot de bepaling van veneus glucose, wat is de geschatte niet-CITO tijd tot analyse? D) Stelt u nog voorwaarden aan de pre-analyse voor glucosebepalingen, anders dan buistype en/of turn-around-time? Resultaat in absolute aantallen.

**Figuur 2.** Uitkomsten van de enquête per vraag. A) Worden OGTT uitgevoerd in uw centrum, en indien ja; worden deze uitgevoerd door het laboratorium? B) Wordt de OGTT uitgevoerd op basis van veneuze glucosebepalingen of point-of-care analyse? C) Welke richtlijn wordt aangehouden voor de diagnostiek van zwangerschapsdiabetes? D) Met betrekking tot de bepaling van glucose tijdens een OGTT, wat is de geschatte gemiddelde tijd van afname tot analyse? Resultaten in absolute aantallen.

dan 60 minuten wordt zeker geen van de aanbevolen maatregelen getroffen om direct in vitro glycolyse tegen te gaan.

#### *Glucosetolerantie testen*

In alle deelnemende centra worden OGTT uitgevoerd, al dan niet door derden (zelf, n=19; derden, n=6, figuur 2A). In de meeste centra wordt de OGTT uitgevoerd op basis van glucose bepaald in veneus bloed (n=21), terwijl 3 laboratoria kiezen voor een point of care (POC) oplossing (figuur 2B), van 1 laboratorium werd geen informatie ontvangen. Beslissingscriteria zijn in de overgrote meerderheid van de centra gebaseerd op de NVOG richtlijn 'Diabetes mellitus en zwangerschap – 2010' (n=21, figuur 2C). Opvallend is dat in 6 laboratoria een kortere TAT wordt opgegeven indien een glucoseconcentratie wordt gemeten in de context van een OGTT dan wanneer deze wordt bepaald in de context van een andere (poli)klinische afname (figuur 2D). Daarnaast geeft 1 laboratorium aan dat materiaal afgenomen wordt in NaF buizen indien het een OGTT betreft, maar in heparine indien dit niet het geval is.

#### **Discussie**

Uit voorgaande resultaten blijkt dat er tussen Nederlandse laboratoria veel overeenkomsten zijn, voornamelijk in de keuze van buistype en leverancier. Echter, er is grote variatie in andere (pre)analytische aspecten rondom de glucosebepaling. Grote verschillen worden gevonden in de TAT en de manier waarop bij een lange TAT geborgd wordt dat de glucoseconcentratie stabiel blijft.

De keuze van leverancier voor buizen voor de glucosebepaling is opvallend, aangezien BD geen buis in het assortiment heeft waaraan een snel werkende glycolyse remmer is toegevoegd.

De meeste laboratoria gebruiken de glycolyse remmer NaF als agens om in vitro glycolyse te inhiberen. Hoewel NaF uitstekend werkt om de lange termijn stabiliteit van de glucoseconcentratie te borgen, heeft het geen effect op de initiële daling (1). Het wordt dan ook aangeraden daarnaast een glycolyse remmer te gebruiken die direct de glycolyse remt, zoals citraat (6).

Greiner heeft recent een dergelijke buis in het assortiment opgenomen (eind 2013), de Glucomedics buis. Er moet wel rekening mee worden gehouden dat deze buis een vloeibaar additief bevat, waardoor het cruciaal is dat de verhouding tussen het additief en bloed correct is. Het is bekend dat de vulling van dergelijke buizen aan variatie onderhevig is en dat ongeveer 1% van het totaal aantal buizen onvoldoende of juist te veel gevuld is (8, 9). Belangrijk om te realiseren is dat bij een vulniveau van 95% de gerapporteerde glucoseconcentratie 0,6 mmol/l en bij een vulniveau van 90% 1,3 mmol/l afwijkt bij een werkelijke concentratie van 11 mmol/l. Dit wordt veroorzaakt door de veranderde mengverhouding en dus incorrecte post-hoc correctie. Omdat de mate van verdunning erg afhankelijk is van de volledigheid van vulling bij afname, terwijl de absolute waarde van de glucoseconcentratie in de context van diabetes een cruciale rol speelt, vraagt een dergelijke buis een dusdanig zorgvuldige werkwijze met

betrekking tot de volledigheid van vulling, dat deze in ieder geval als niet praktisch beschouwd kan worden. Op dit moment heeft alleen Terumo een 'droge' citraat buis in het assortiment (Glycaemia - VF-052SFC), wat een uitkomst biedt om de glycolyse direct te remmen zonder het afgenomen bloed te verdunnen. Op dit moment wordt deze buis nog niet gebruikt in de onder-vraagde laboratoria.

Gegeven de lange TAT in een groot deel van de laboratoria, gekoppeld aan het feit dat er geen directe glycolyse inhibitie wordt toegepast, is het mogelijk dat vaak glucoseconcentraties te laag worden gerapporteerd. Dit betekent dat bij een geringe verhoging van de nuchtere waarde (gestoord nuchtere glucose) of een licht verstoorde glucosetolerantie een onterecht normale uitslag kan worden gevonden. Beide kunnen echter, indien onbehandeld, resulteren in de ontwikkeling van diabetes en/of cardiovasculaire aandoeningen (10, 11). Opvallend is ook het feit dat een aantal laboratoria (16%) een ander, vaak strikter, pre-analytische protocol aanhoudt indien de glucosebepaling wordt uitgevoerd in het kader van een OGTT. Het gaat daarbij voornamelijk om een kortere TAT en het gebruik van NaF buizen in plaats van heparine buizen.

In drie laboratoria wordt POC analyse uitgevoerd in het kader van de OGTT. Hoewel de totale TAT bij POC uiteraard vele malen sneller is dan bij een veneus gebaseerd protocol, staat de toepasbaarheid van POC testen in de context van het stellen van de diagnose diabetes nog steeds ter discussie. Hierbij splitst de discussie zich voornamelijk toe op de grote imprecisie in de glucosemeting bij POC analyzers. Binnen deze discussie zijn voor en tegenstanders te vinden voor het gebruik van POC apparatuur (12-14).

Het is echter belangrijker om te realiseren dat er grote verschillen in de dynamiek van glucoseveranderingen in het veneuze en interstitiële compartiment bestaan. De glucoseconcentratie in het interstitiële compartiment is namelijk significant hoger dan dat in het veneuze compartiment na glucosebelasting (15, 16). Dit kan resulteren in een foutief positieve diagnose wanneer de patiënt een veneus glucose rond het afkappunt heeft. Naar onze mening is er dan ook geen plaats voor POC analyse tijdens de OGTT.

#### **Conclusie**

Hoewel er vele overeenkomsten zijn in de leverancier van de buizen en het gekozen buistype, is er grote variatie in de pre-analyse van glucose tussen laboratoria. De verschillen betreffen voornamelijk de turn-around-time en de maatregelen die worden getroffen om glycolyse te remmen in de cruciale eerste uren na afname. Opvallend is dat de aanbevolen methoden om een juiste glucosemeting te borgen niet altijd opgevolgd worden en dat er in een aantal laboratoria separate protocollen worden aangehouden voor afnamen in het kader van diagnostiek (OGTT) en monitoring, waarbij niet alleen tijd en buistype variëren maar ook de meetmethode. Dit resulteert er in dat laboratoria vaak gebruik maken van een protocol dat mogelijk resulteert in vals lage glucosewaarden en dus een verkeerde diabetesdiagnose.

In onze ogen vragen de uitkomsten van de inventarisatie om nadere studie. In een prospectieve studie (CCMO studie NL46462.015.13, optimalisatie van de (pre)analyse van zwangerschapsdiabetes), willen we twee vragen beantwoorden. Ten eerste willen we onderzoeken in welke mate de in Nederland gebruikelijke (en in theorie onvoldoende) glycolyse inhibitie tot verschillende uitkomsten leidt ten opzichte van de in de richtlijn aanbevolen werkwijzen. Daarnaast wordt zo duidelijk of de in de richtlijn aanbevolen werkwijzen inderdaad onderling gelijkwaardig zijn. De uitkomsten van die analyse zullen door ons en andere laboratoria gebruikt kunnen worden in de prospectieve risico-analyse van de GTT en random glucosemeting ten behoeve van diabetesdiagnostiek en andere toepassingen van glucoseconcentratie. Zo lang wij of anderen niet hebben kunnen aantonen dat het volgen van de aanbevelingen van AACC en ADA uit 2011 met betrekking tot de pre-analyse van de glucosebepaling niet nodig is, bevelen we alle laboratoria aan om bij de pre-analyse van glucose een keuze te maken tussen één van de in de aanbevelingen genoemde opties.

#### Literatuur

- Chan AY, Swaminathan R, Cockram CS. Effectiveness of sodium fluoride as a preservative of glucose in blood. *Clin Chem.* 1989; 35: 315-317.
- Beitland S, Opdahl H, Aspelin T, Torjesen PA, Lyberg T. Reduction of glucose and insulin concentrations during in vitro incubation of human whole blood at different temperatures. *Journal of Diabetes Research and Clinical Metabolism* 2013 2: 11
- Meites S, Bohman N. In vitro stabilization of blood glucose with water. *Clin Chem.* 1963; 102: 594-599.
- Ybarra J, Isern J. Leukocytosis-induced artifactual hypoglycemia. *Endocrine J.* 2003; 50: 481-482.
- Weismann M, Kein B. Evaluation of glucose determinations in untreated serum samples. *Clin Chem.* 1958; 4: 420-422.
- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Position statement executive summary: guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2011; 34: 1419-1423.
- Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of Diabetes Mellitus. *Clin Chem.* 2011; 57: e1-e47.
- Romero A, Munoz M, Ramos JR, Campos A, Ramirez G. Identification of preanalytical mistakes in the stat section of the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med.* 2005; 43: 974-975.
- Salvagno GL, Lippi G, Bassi A, Poli G, Guidi GC. Prevalence and type of pre-analytical problems for inpatients samples in coagulation laboratory. *J Eval Clin Pract.* 2008; 14: 351-353.
- de Vegt F, Dekker JM, Jager A, Hienkens E, Kostense PJ, Stehouwer CD, et al. Relation of impaired fasting and post-load glucose with incident type 2 diabetes in a Dutch population: The Hoorn Study. *JAMA.* 2001; 285: 2109-2113.
- Janssen PG, Gorter KJ, Stolk RP, Akarsubasi M, Rutten GE. Three years follow-up of screen-detected diabetic and non-diabetic subjects: who is better off? The ADDITION Netherlands study. *BMC Fam Pract.* 2008; 9: 67.
- Cengiz E, Tamborlane WV. A tale of two compartments: interstitial versus blood glucose monitoring. *Diabetes Technol Ther.* 2009; 11 Suppl 1: S11-S16.
- Haackel R, Raber R, Wosniok W. Prevalence-dependent decision limits for the early detection of type 2 diabetes mellitus in venous blood, venous plasma and capillary blood during glucose challenge. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 1462-1471.
- Rush E, Crook N, Simmons D. Point-of-care testing as a tool for screening for diabetes and pre-diabetes. *Diabet Med.* 2008; 25: 1070-1075.
- Kuwa K, Nakayama T, Hoshino T, Tominaga M. Relationships of glucose concentrations in capillary whole blood, venous whole blood and venous plasma. *Clin Chim Acta.* 2001; 307: 187-192.
- Stavrianos C, Anastasiou E. Oral glucose tolerance test evaluation with forearm and fingertip glucose measurements in pregnant women. *Diabetes Care.* 2004; 27: 627-628.

#### Summary

*Van den Berg SAA, Thelen MHM, Boonen KJM. Inventarisatie of the (pre)analytical aspects of the glucose determination in Dutch laboratories: time for harmonization. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2015; 40: 69-72*

Well controlled pre-analytical variables are essential to ensure a correct glucose measurement. Due to ongoing glycolysis, glucose levels are known to drop in vitro. To prevent this, glycolysis inhibitors are added to the tube. The most commonly used inhibitor (sodium fluoride), however, is not an immediate inhibitor, and it takes several hours to achieve the maximum effect. To inhibit glycolysis during the initial phase, guidelines recommend to choose between three alternatives: immediate cooling of the material, immediate separation of cells and plasma, or the use of direct glycolysis inhibitors. To gain insight in the protocols used in Dutch clinical laboratories, a survey was sent out to all heads of laboratories. Surprisingly, large differences exist between laboratories concerning specimen handling and, even more surprisingly, most of the laboratories used no direct glycolysis inhibition at all.

## Beschouwingen

### Commentaar op het 'NHG-Standpunt Diagnostiek van vitamine- B<sub>12</sub>-deficiëntie'

F.A.J. MUSKIET<sup>1</sup> en E.M.H. MATHUS-VLIEGEN<sup>2</sup>

In het september nummer van Huisarts en Wetenschap is het 'NHG-Standpunt Diagnostiek van vitamine- B<sub>12</sub>-deficiëntie' gepubliceerd (1). In deze bijdrage wordt dit Standpunt becommentarieerd.

**Kernpunten van het NHG-Standpunt vitamine B<sub>12</sub>**  
Aanleiding voor het Standpunt (1) was behoefte aan inhoudelijk advies over de diagnostiek van een vitamine B<sub>12</sub>-tekort. Er was sprake van een toegenomen aantal verzoeken aan het NHG van zowel huisartsen als patiënten om aandacht te schenken aan dit onderwerp. Bij het publiek is een groeiende belangstelling voor vitamine B<sub>12</sub> en de gevolgen van een mogelijk tekort daaraan. De belangrijkste onderdelen van het Standpunt zijn als volgt.

Indicaties voor laboratoriumonderzoek zijn niet-microcytaire anemie en neurologische symptomen, met name paresthesiën (sensorische neuropathie) en ataxie (abnormale tred). Risico lopen mensen met malabsorptie, vooral atrofische gastritis (pernicieuze anemie en de in het Standpunt niet vermeldde niet-autoimmuunvorm van atrofische gastritis die veel voorkomt bij ouderen), operaties (ileo-cecaalresectie, (sub)totale maagresectie, schade aan de vagus), ziektes van het ileum (bijv. Crohn), maar ook B<sub>12</sub>-consumerende bacteriële overgroei (in Standpunt niet vermeld) en bij langdurig gebruik van o.a. metformine en protonrem-

mers. Lage inname (alcohol, vegetariër/veganist) komt minder vaak voor. Duizeligheid, vermoeidheid en problemen met de concentratie en cognitie zijn specifieke klachten die tegenwoordig niet zelden door patiënten in verband worden gebracht met een vitamine B<sub>12</sub>-tekort. Echter, daarvoor is volgens het NHG-Standpunt geen overtuigend bewijs en deze klachten hebben een geringe a priori kans op een vitamine B<sub>12</sub>-tekort.

De voorgestelde laboratoriumdiagnostiek is primair gericht op het plasma vitamine B<sub>12</sub>, waarvoor een grenswaarde van 148 pmol/l wordt gehanteerd. Dit is de ondergrens van het referentie-interval. Bij de interpretatie dient een verlaagde vitamine B<sub>12</sub> met klachten (genoemd een 'daadwerkelijk tekort'; lees: klinische deficiëntie) te worden onderscheiden van een verlaging zonder klachten (subklinische deficiëntie). Personen met een 'daadwerkelijk tekort' worden behandeld met 1.000 µg vitamine B<sub>12</sub> oraal per dag. Injecties zijn slechts geïndiceerd voor snelle normalisering vanwege de ernst van de klachten. Zijn er geen klachten dan is sprake van een 'toevallig' geconstateerde verlaagde vitamine B<sub>12</sub> en kan "desgewenst worden volstaan met een afwachtend beleid". Bij een vitamine B<sub>12</sub> tussen 148 en 250 pmol/l is volgens het Standpunt een tekort onwaarschijnlijk, maar sluit dit niet geheel uit. Indien daarbij de klachten suggestief zijn voor een tekort, of de patiënt blijft twifelen aan het uitsluiten van een oorzakelijk verband, kan een methylmalonzuur (MMA) bepaling een mogelijk tekort minder waarschijnlijk maken. Bij zulke laag-normale waarden en klachten kan ook een proefbehandeling met oraal vitamine B<sub>12</sub> worden overwogen. Deze klachten dienen dan binnen enkele maanden te verdwijnen.

Voorts vermeldt het NHG-Standpunt dat er vooralsnog onvoldoende grond is voor routinematige periodieke controles van gebruikers van metformine en protonremmers. Na suppletie is controle van het plasma vitamine B<sub>12</sub> "over het algemeen weinig zinvol, omdat deze altijd zal stijgen" en de duur van de suppletie is afhankelijk van de oorzaak (bij atrofische gastritis en resecties levenslang).

#### Evidence Based Medicine and Nutrition

Het NHG-Standpunt vitamine B<sub>12</sub> reflecteert de huidige opvatting van 'Evidence Based Medicine' (EBM). Hierbij is het uitgangspunt 'bewijs' uit gerandomiseerd

<sup>1</sup> *Klinisch Chemicus en Hoogleraar Pathofysiologie en Klinisch Chemische Analyse, Universitair Medisch Centrum Groningen (UMCG)*

<sup>2</sup> *Maag-Darm-Leverarts en em. Hoogleraar Klinische Voeding, Academisch Medisch Centrum (AMC), Universiteit van Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam.*

Correspondentie: Prof. dr. Frits A.J. Muskiet, Laboratorium Geneeskunde, Y2.131; Kamer 083; Interne Postcode EA61, Universitair Medisch Centrum (en Rijksuniversiteit Groningen), Postbus 30.001, 9700 RB Groningen, Nederland.  
E-mail: f.a.j.muskiet@umcg.nl

#### Belangenverstrengeling

Beide auteurs zijn lid van de wetenschappelijke raad van het Vitamine Informatie Bureau (VIB). Ze verklaren geen belangen te hebben bij een toename van laboratoriumbepalingen of de verkoop van vitamine supplementen.

onderzoek (RCTs) met harde eindpunten. Bewijs is voorhanden voor vitamine B<sub>12</sub> suppletie bij gecombineerde strengziekte en macrocytaire anemie, maar niet bij specifieke klachten en subklinische deficiënties. Dat het verlangde bewijs voor een causale rol van subklinische deficiënties nagenoeg niet valt te leveren, o.a. vanwege ethiek, tijdsduur en kosten, wordt hierbij meestal niet vermeld. Ook is 'geen-bewijs bij de behandeling van een bestaande ziekte met vitamine B<sub>12</sub>' geen synoniem van 'geen rol in de etiologie'. Want niet alles is reversibel, zoals dat wordt vermoed van een langdurig vitamine B<sub>12</sub>-tekort. Aan de andere kant bestaat in de voedingswetenschap een weinig kritische houding tegenover de uitkomsten van RCTs en hun meta-analyses. Hun wetenschappelijke beperkingen (2-4) worden meestal genegeerd. RCTs met alleen vitamine B<sub>12</sub> lijden a priori aan imperfecties, omdat hierbij doorgaans geen rekening wordt gehouden met de vele co-variabelen. De waarde van RCTs met een enkele nutriënt wordt dan ook in toenemende mate betwijfeld. In het IC-metabolisme, waarin vitamine B<sub>12</sub> o.a. fungeert als cofactor, spelen folaat, vitamines B<sub>6</sub> en B<sub>2</sub>, methionine, choline/betaïne en talrijke polymorfismen eveneens een rol. Met elk van deze factoren dient dan ook rekening te worden gehouden (5). Bijvoorbeeld, de combinatie van een laag vitamine B<sub>12</sub> en een hoge foliumzuurinnname, draagt in zich het risico op het maskeren van de anemie met behoud van de neurologische component (6). Een laag B<sub>12</sub>/hoog folaat combinatie levert een vier maal hoger associatief risico op cognitieve aantasting vergeleken met een normaal B<sub>12</sub> en folaat (7). Tenslotte worden vals-verlaagde vitamine B<sub>12</sub> concentraties gezien bij folaat-deficiëntie (5). De koele benadering vanuit de epidemiologie en het verwerpen van associaties met neurodegeneratieve ziektes contrasteren met de potentiële ernst van een subklinische vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie en de eenvoudige oplossing daarvan. Oorspronkelijk was EBM 'the conscientious, explicit and judicious use of current best evidence in making decisions about the care of individual patients'. EBM was niet beperkt tot RCTs en meta-analyses, geen kookboekgeneeskunde en ook niet bedoeld voor bezuinigingen in de gezondheidszorg (8). Helaas is dat precies wat het is geworden, waarbij commissies die richtlijnen maken zich bedienen van een hiërarchie in de bewijskracht, die geen wetenschappelijke basis heeft anders dan intuïtie. Arbitraire weegfactoren worden toegekend aan onderzoeksresultaten waarbij verwezen wordt naar het beschouwen van het 'geheel aan bewijs', maar dat in de praktijk neerkomt op slechts het accepteren van RCTs en hun meta-analyses. Er bestaat naar ons weten geen wetenschappelijk onderzoek dat aantoonde dat EBM op deze manier bedreven beter is dan iets anders. Het heersende primaat van RCTs beperkt vooral het maken van richtlijnen voor onze leefstijl, waaronder voeding, en vormt daarmee een rem op 'preventie'. Het paradigma wordt bovendien inconsequent toegepast: er bestaat geen RCT die aantoonde dat roken longkanker veroorzaakt en een RCT met stoppen van roken toonde gelijke totale mortaliteit (9). Lezenswaardig is het artikel van Thomas (10) met de titel 'How evidence-

based medicine biases physicians against nutrition'. Het gevolg is dat leefstijl in toenemende mate wordt vervangen door geneesmiddelen, zoals dat bijvoorbeeld gezien is in de secundaire preventie van hart- en vaatziekten met visolie (11, 12). Het hanteren van de Hill-criteria voor causaliteit (13) vormt een praktisch bruikbaar alternatief.

Vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie staat sterk in de belangstelling. In 2013 en 2014 verschenen hierover tenminste 3 overzichtsartikelen in high-impact bladen (14-16). Een laag-normale vitamine B<sub>12</sub>-spiegel wordt in verband gebracht met cognitieve achteruitgang, de ziekte van Alzheimer, vasculaire demantie, Parkinson en depressie (17). Indachtig het effect van een uitgesproken vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie op het zenuwstelsel is een dergelijke uitkomst plausibel. De patiënt heeft recht op deze informatie, desgewenst met een toelichting over de wetenschappelijke onzekerheden die hierover bestaan. Vermoed mag worden dat een patiënt met een subklinische vitamine B<sub>12</sub> deficiënte die op de hoogte is van deze associaties zal kiezen voor nader onderzoek, ongeacht het feit dat 'lang niet iedereen met een lage vitamine-B<sub>12</sub>-spiegel het stadium zal bereiken waarin er ook klinische verschijnselen zijn en dat een lage spiegel ook spontaan kan normaliseren' (1). Of dat hij/zij direct besluit tot suppletie, dit temeer vanwege de afwezigheid van bijwerkingen en de relatief geringe kosten van het supplement. En dit ondanks het feit dat hij/zij het supplement zelf moet betalen.

#### **Van klinisch manifeste naar subklinische deficiëntie**

De anemie die gezien kan worden bij de klinisch manifeste vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie komt waarschijnlijk voort uit een gestoorde nucleïnezuursynthese (rol vitamine B<sub>12</sub> in de folaatcyclus). De neurologische component stamt waarschijnlijk uit een gestoorde methylering (rol vitamine B<sub>12</sub> in het IC-metabolisme, waarbij homocysteïne wordt gremethyleerd naar methionine), mogelijk van het 'myelin basic protein', fosfolipiden of bij de neurotransmitter synthese. Beide metabole routes vergen vitamine B<sub>12</sub> in de vorm van methylcobalamine. De neurologische symptomen kunnen zich eerder openbaren dan de anemie en zelfs zonder anemie. Daarnaast speelt vitamine B<sub>12</sub>, in de vorm van adenosylcobalamine, een unieke rol bij de omzetting van methylmalonylCoA naar succinylCoA. Een inadequate vitamine B<sub>12</sub>-status veroorzaakt ophoping van de substraten homocysteïne en MMA. Aan beide worden neurotoxische eigenschappen toegeschreven (6, 7, 17-20).

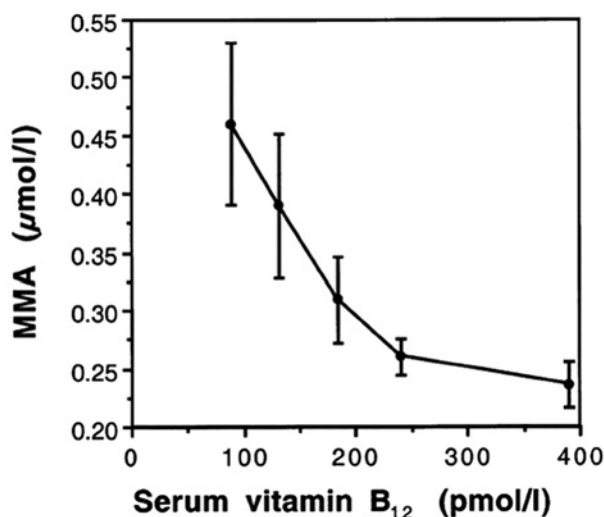
Er zijn weinig harde data over de (lange termijn) consequenties van een subklinische vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie. Deze zijn per definitie moeilijk in RCTs met harde eindpunten te vatten. De logica doet echter vermoeden dat er tussen 'adequaat' en 'inadequaat' geen scherpe afkapgrens is, onder andere vanwege inter-individuele (deels genetische) verschillen en interacties met andere nutriënten. Weinig begrip voor het dilemma rond dit onderwerp blijkt uit: 'De discussie over de betrouwbaarheid van de gangbare grenswaarde voor een verlaagd vitamine B<sub>12</sub> lijkt te worden gevoed door onder-

zoek waarin verhoogde methylmalonzuurspiegels, of verlaging daarvan door vitamine- B<sub>12</sub>-suppletie, als referentie worden gebruikt. De voordelen daarvan zijn evenwel onvoldoende aangetoond'(1).

### Het grijze gebied van het plasma vitamine B<sub>12</sub>

Er is geen gouden standaard voor de vitamine B<sub>12</sub> diagnostiek (5). Zoals gezegd wordt circulerend MMA gezien als een marker voor de werkzaamheid van vitamine B<sub>12</sub> in de MMA-route. Het plasma homocysteïne zegt iets over de werkzaamheid van vitamine B<sub>12</sub> in de remethyleringsroute, maar is daarvoor niet specifiek vanwege andere factoren, vooral folaat, vitamine B<sub>6</sub> en choline/betaïne. MMA en homocysteïne zijn 'functionele markers' die in principe meer (patho) fysiologische informatie leveren dan een plasma vitamine B<sub>12</sub> (een statische marker) en ook meer dan de hoeveelheid vitamine B<sub>12</sub> die voor opname in cellen aan het juiste transporteiwit is gebonden (holotranscobalamine). Belangrijk is ook de relatie van homocysteïne met hart- en vaatziekten. Zoals ook het geval bij andere functionele markers is het plasma MMA omgekeerd gerelateerd aan het plasma vitamine B<sub>12</sub> (Figuur 1; (21)). De laagste MMA concentratie, een surrogaat voor 'biochemisch optimale vitamine B<sub>12</sub> functionaliteit', wordt bereikt bij een plasma vitamine B<sub>12</sub> van ongeveer 250-260 pmol/l en die waarde ligt dus een stuk hoger dan de 148 pmol/l ondergrens van het referentie-interval. Mogelijk moet de MMA grens nog verder worden aangescherpt (22).

De reeds lang voorliggende vraag is wat dit zogenaamde 'grijze gebied' tussen 148 pmol/l en 250 pmol/l betekent. Dichotomiseren van het plasma vitamine B<sub>12</sub> in 'normaal' en 'verlaagd' gaat voorbij aan de geleidelijkheid die een rol speelt bij iedere overgang van



**Figuur 1.** De omgekeerde relatie tussen serum vitamine B<sub>12</sub> (een statische parameter) en plasma methylmalonzuur (een functionele parameter). De gegevens stammen uit de Britse 'National Diet and Nutrition Survey' van 1994-1995. Hierin werd een subgroep van 313 personen boven de 65 jaar onderzocht. De gegevens zijn gecorrigeerd voor leeftijd en plasma creatinine. MMA, methylmalonzuur. Overgenomen uit Bates et al. (21) met toestemming van Nature Publishing Group.

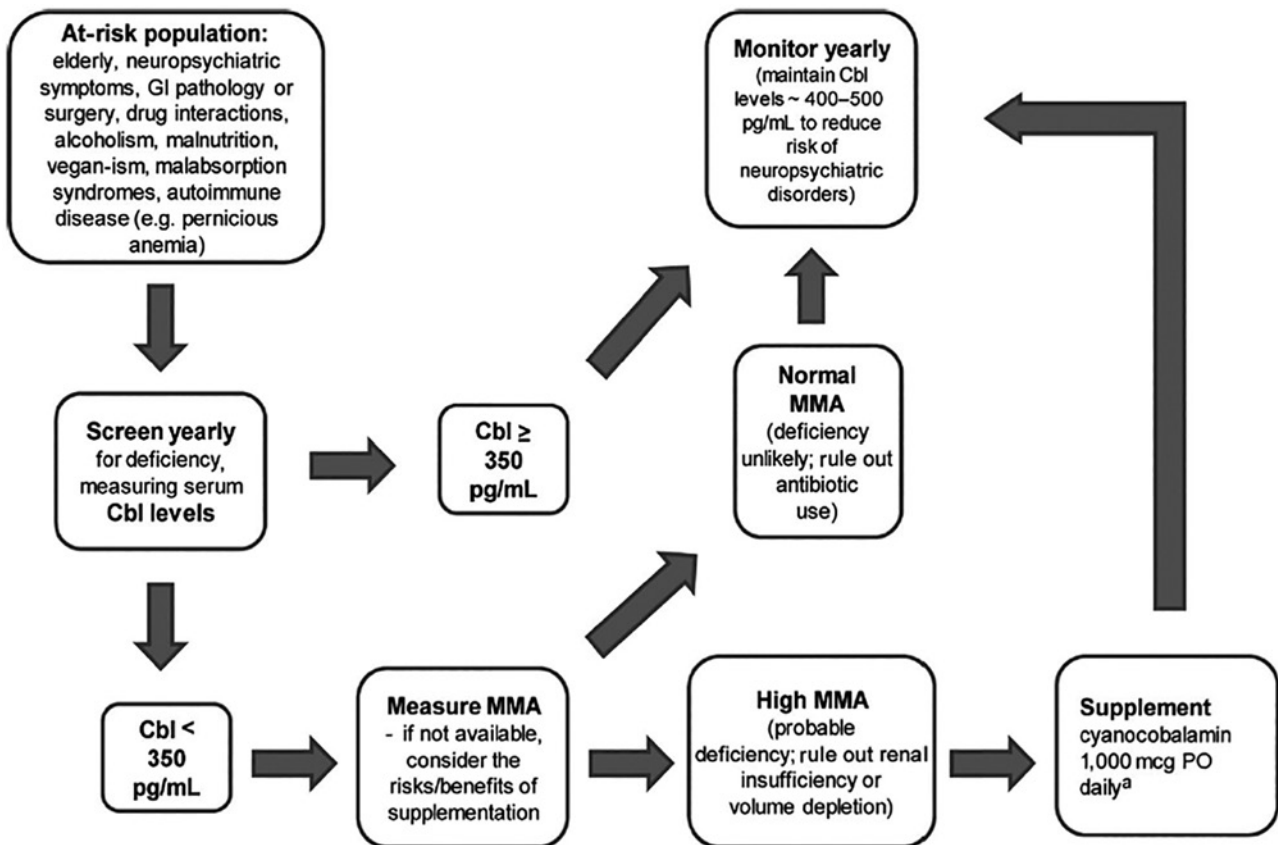
adequaat naar inadequaat. Bovendien is een referentiewaarde geen streefwaarde, zeker niet bij vitamines. Er is teveel ontzag voor de 148 pmol/l ondergrens van het plasma vitamine B<sub>12</sub> referentie-interval omdat het in-tussen duidelijk is dat die over de werkzaamheid niets zegt. Resultaten van RCTs en meta-analyses met harde klinische eindpunten die specifiek gericht zijn op het grijze gebied zullen nog lang op zich laten wachten, voor zover die ooit zullen worden gedaan. Daarom zijn er al vele beslisbomen geconstrueerd waarin plasma vitamine B<sub>12</sub> wordt gecombineerd met de functionele markers MMA en eventueel homocysteïne. Een voorbeeld is die uit 1998 van het gezaghebbende Amerikaanse Institute of Medicine (18), maar er zijn veel meer. Een recent voorbeeld van zo'n beslisboom wordt weergegeven in Figuur 2 (17).

Hoe deze algoritmes uitpakken kan worden geïllustreerd aan de hand van de gegevens van niet-geinstitutionaliseerde personen uit de Amerikaanse 'National Health and Nutritional Evaluation Survey' (20). Van de onderzochte personen zonder nierinsufficiëntie had 3,1% een B<sub>12</sub><148 pmol/l en hiervan had slechts 1/3 deel (1,1%) ook een verhoogde MMA (>270 nmol/l). Een verlaagd B<sub>12</sub> is dus geen synoniem voor een functioneel tekort. Daarentegen bedroeg het percentage personen met een B<sub>12</sub>>148 pmol/l samen met een MMA>270 nmol/l maar liefst 5,4%. Er zijn dus in de (USA) bevolking meer mensen met een lage B<sub>12</sub> functionaliteit in het grijze gebied dan onder het B<sub>12</sub> referentie-interval. Onder diegenen met een verhoogde MMA bevond zich een opvallend hoog percentage deelnemers met leeftijden boven de 60 jaar (40-51%). In Nederland heeft 23,8% van de ouderen een verhoogde plasma MMA (>320 nmol/l) en dat weten we al meer dan 16 jaar (23). Op grond van de slechte relatie met de vitamine B<sub>12</sub> functionaliteit is de vraag valide of er eigenlijk nog wel plaats is voor de bepaling van het plasma vitamine B<sub>12</sub>.

### Suppletie beleid

Bij gebruik van het plasma MMA (grenswaarde 250-260 nmol/l) of van het plasma vitamine B<sub>12</sub> (grenswaarde 148 pmol/l) in combinatie met MMA, wordt het vervolg eenvoudiger en eenduidiger: suppleren bij afwijkende waarden indien de oorzaak niet is weg te halen. Het is niet nodig om hierbij de klachten nogmaals te betrekken. Laboratoriumonderzoek dient niet te worden aangevraagd indien de uitslag a priori geen consequenties heeft. Een 'desgewenst' afwachtend beleid na een 'toevallig' geconstateerde verlaagde vitamine B<sub>12</sub>-spiegel in een persoon zonder klachten (1) of met vage (potentieel aan vitamine B<sub>12</sub>-geassocieerde) klachten, heeft dus geen voorkeur. Het NHG-Standpunt acht het niet nodig om na vitamine B<sub>12</sub> suppletie de vitamine B<sub>12</sub>-spiegels te controleren ("stijgt immers altijd"), maar de vraag is of daarmee ook de functie van vitamine B<sub>12</sub> (i.e. de MMA spiegel) is hersteld. Tenslotte moeten de auteurs van het NHG-Standpunt worden geprezen voor het ten overvoede wijzen op de mogelijkheid om een adequate vitamine B<sub>12</sub>-status te behalen via orale suppletie, ook bij perniciëuze anemie. Gehoopt mag worden dat zorgverzekeraars dit





**Figuur 2.** Beslisboom voor de diagnostiek van klinische en subklinische vitamine B<sub>12</sub>-tekorten met daaropvolgend orale suppletie beleid. De gebruikte vitamine B<sub>12</sub>-grens van 350 pg/ml komt overeen met 260 pmol/l. Een andere optie is om slechts methylmalonzuur te meten. Cbl, cobalamine; MMA, methylmalonzuur. Overgenomen van Lachner et al. (17) met toestemming van The American Psychiatric Association.

vertalen en de uitgespaarde kosten investeren in vitamine B<sub>12</sub> onderzoek.

### Conclusies en alternatief

Het is niet ‘Evidence Based’ om te wachten op een definitief bewijs voor de potentieel ernstige consequenties van een subklinisch vitamine B<sub>12</sub>-tekort. De loutere beschouwing van RCTs is niet de bedoeling van EBM, want het gaat bij dit frequent misbruikte paradigma om het ‘totaal aan bewijs’. Voor de laboratoriumdiagnostiek van vitamine B<sub>12</sub>-insufficiëntie is de MMA bepaling tot nader orde de beste optie. Een uitslag onder de 250-260 nmol/l sluit vitamine B<sub>12</sub> dysfunctie uit. Versturende factoren zijn nierfunctie, oudere leeftijd en mogelijk enkele andere zoals bacteriële flora. MMA uitslagen boven 250-260 nmol/l vragen om nader onderzoek naar de oorzaak. Indien de oorzaak niet is weg te nemen of bij onduidelijkheid, is orale suppletie geïndiceerd. De drempel hiervoor is laag vanwege de veiligheid en de lage kosten. Zoals door Latov (24) verwoord moet worden voorkómen dat het maken van Evidence Based Guidelines “een academische exercitie wordt, die vooral ontworpen is voor de evaluatie van de kwaliteit van trials, met weinig oog voor hetgeen daarop volgt”.

### Literatuur

1. Wiersma T, Woutersen-Koch H. NHG-Standpunt Diagnostiek van vitamine-B12 -deficiëntie. Huisarts en Wetenschap. 2014; 57: 472-475.
2. Ames BN, McCann JC, Stampfer MJ, Willett WC. Evidence-based decision making on micronutrients and chronic disease: long-term randomized controlled trials are not enough. Am J Clin Nutr. 2007; 86: 522-523; author reply 523-524.
3. Blumberg J, Heaney RP, Huncharek M, Scholl T, Stampfer M, Vieth R, Weaver CM, Zeisel SH. Evidence-based criteria in the nutritional context. Nutr Rev. 2010; 68: 478-484.
4. Frei B, Ames BN, Blumberg JB, Willett WC. Enough is enough. Ann Intern Med 2014; 160: 807-811.
5. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. Clin Chem. 2000; 46: 1277-1283.
6. Cuskelly GJ, Mooney KM, Young IS. Folate and vitamin B12: friendly or enemy nutrients for the elderly. Proc Nutr Soc. 2007; 66: 548-558.
7. Moore EM, Ames D, Mander AG, Carne RP, Brodaty H, Woodward MC, Boundy K, Ellis KA, Bush AI, Faux NG, et al. Among vitamin B12 deficient older people, high folate levels are associated with worse cognitive function: combined data from three cohorts. J Alzheimers Dis. 2014; 39: 661-668.
8. Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JA, Haynes RB, Richardson WS. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. BMJ. 1996; 312: 71-72.

9. Rose G, Hamilton PJ, Colwell L, Shipley MJ. A randomised controlled trial of anti-smoking advice: 10-year results. *J Epidemiol Community Health*. 1982; 36: 102-108.
10. Thomas LE. How evidence-based medicine biases physicians against nutrition. *Med Hypotheses*. 2013; 81: 1116-1119.
11. Harris WS. Are n-3 fatty acids still cardioprotective? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013; 16: 141-149.
12. DiNicolantonio JJ, Niazi AK, McCarty MF, O'Keefe JH, Meier P, Lavie CJ. Omega-3s and cardiovascular health. *Ochsner J*. 2014; 14: 399-412.
13. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965; 58: 295-300.
14. Stabler SP. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med*. 2013; 368: 149-160.
15. Hunt A, Harrington D, Robinson S. Vitamin B12 deficiency. *BMJ*. 2014; 349: g5226.
16. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. *Br J Haematol*. 2014; 166: 496-513.
17. Lachner C, Steinle NI, Regenold WT. The neuropsychiatry of vitamin B12 deficiency in elderly patients. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2012; 24: 5-15.
18. Washington Institute of Medicine. Dietary reference intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline: a report of the Standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes food and nutrition board. *Nat Acad Press*, 1998.
19. Selhub J, Troen A, Rosenberg IH. B vitamins and the aging brain. *Nutr Rev*. 2010; 68 Suppl 2: S112-118.
20. Carmel R. Diagnosis and management of clinical and sub-clinical cobalamin deficiencies: why controversies persist in the age of sensitive metabolic testing. *Biochimie* 2013; 95: 1047-1055.
21. Bates CJ, Schneede J, Mishra G, Prentice A, Mansoor MA. Relationship between methylmalonic acid, homocysteine, vitamin B12 intake and status and socio-economic indices, in a subset of participants in the British National Diet and Nutrition Survey of people aged 65 y and over. *Eur J Clin Nutr*. 2003; 57: 349-357.
22. Bailey RL, Durazo-Arvizu RA, Carmel R, Green R, Pfeiffer CM, Sempos CT, Carriquiry A, Yetley EA. Modeling a methylmalonic acid-derived change point for serum vitamin B-12 for adults in NHANES. *Am J Clin Nutr*. 2013; 98: 460-467.
23. van Asselt DZ, de Groot LC, van Staveren WA, Blom HJ, Wevers RA, Biemond I, Hoefnagels WH. Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr*. 1998; 68: 328-334.
24. Latov N. Evidence-based guidelines: not recommended. *J Am Physic Surg*. 2005; 10: 18-19.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2015; 40: 77

## Ingezonden

---

Het artikel 'Arbeidsmarkt voor jonge klaren – de stand van zaken' in ons Tijdschrift (2014; 39: 264-267), geeft ons aanleiding tot de volgende opmerkingen. In het artikel wordt op heldere wijze verwoord hoe onze beroepsgroep probeert het overschot aan 'jonge klaren' uit de opleiding op te vangen. Hierbij blijkt het fenomeen 'Project KC' effectief en is de werkgroep DVKC (de veelzijdige klinisch chemicus) op zoek naar uitstroom mogelijkheden richting aanpalende vakgebieden en zelfs het buitenland. Wat wij echter nadrukkelijk missen in het artikel en ook in de door ons ervaren heersende opvatting hierover binnen onze beroepsgroep, is de stelling dat de NVKC zelf verantwoordelijk is voor het te hoge aantal jonge klaren.

---

*dr. J.L.P. van Duijnhoven, dr. M.M.J.F. Koenders,  
dr. C.H.H. Schoenmakers  
klinisch chemicus*

Iedere jonge klare wordt immers opgeleid door een opleider in een laboratorium dat daartoe de opleidingsbevoegdheid is verleend door de Registratie Commissie van de NVKC.

In het samenspel van Bestuur, Registratie Commissie en individuele opleiders zijn naar onze stellige overtuiging voldoende mogelijkheden om op een verantwoorde manier te sturen in het aantal jonge klaren. Dit los van het door de stichting BOLS vastgestelde gewenste jaarlijkse aantal instromers in de opleiding tot Laboratorium Specialist Klinische Chemie.

Het structureel te hoge aantal jonge klaren is niet alleen voor deze collega's schadelijk, alhoewel het persoonlijke leed daar wel het grootst en meest direct zichtbaar is. Ook de 'zittende' collega's ondervinden schade door een structureel groot overschot van jonge klaren omdat dit het beroep devalueert. Het overschot raakt daarmee alle Laboratorium Specialisten Klinische Chemie. Het is daarom aan de NVKC zelf om in te grijpen.

## In Memoriam

---



Op 2 oktober jl. is collega **dr. Joost C.J.M. Swaanenburg** op de dag na zijn 61e verjaardag overleden. Een noodlottig ongeval tijdens het uitvoeren van zijn hobby, met de sulky achter één van zijn dravers, veranderde in één klap zijn leven. Nadat de artsen veertien dagen hebben geprobeerd om zijn leven te redden, bleek dat er voor hem geen hoop meer was. De uitvaart was 9 oktober in zijn woonplaats Hegelsom. In gedachten verblijven we bij Ellemiek en hun drie dochters Elleke, Simone en Stefanie.

Na de HBS in Den Haag en studie scheikunde aan de Universiteit Leiden is Joost opgeleid tot klinisch chemicus bij de Stichting Medische Laboratoria in Breda, met als opleiders drs. R.J.H. Scholtis en drs. N.A. Schmidt. Na zijn registratie als klinisch chemicus in 1986 werkte hij tot 2000 in het Academisch Ziekenhuis Groningen bij prof. dr. W. van der Slik met als aandachtsgebieden algemene klinische chemie, eiwitchemie en bindingsanalyse. In deze periode organiseerde Joost op zeer voortvarende wijze zijn eigen promotietraject, dat in 2000 geresulteerd heeft in een dissertatie 'The biochemical and clinical assessment of cardiac markers for the detection of various forms of myocardial tissue damage' (Promotores prof. dr. S. Poppema, prof. dr. H.J.M.G. Crijns en prof. F.S. Apple).

Na een korte periode in het Sint Jans Gasthuis in Weert, werkte hij vanaf 2003 als hoofd van het Klinisch

Chemisch en Hematologisch Laboratorium van VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg met laboratoriumlocaties in Venlo en Venray. Joost was de drijvende kracht achter het uitbouwen van het laboratorium tot een modern ingerichte, gerobotiseerde, diagnostische afdeling. Hij was opleider en had een groot hart voor het opleiden van jonge vakgenoten. Onder zijn verantwoordelijkheid zijn in VieCuri vier klinisch chemici opgeleid. Joost is lid geweest van diverse NVKC commissies waaronder commissie automatisering, informatisering en communicatietechnologie (1992-2008), visitatiecommissie (2002-2008), en recent de werkgroepen vakgroepsvisitaties en ontwikkeling indicatoren klinische chemie.

Joost profileerde zich bij ons als een gedreven en vakkundig klinisch chemicus met een scherpe blik op ontwikkelingen rondom het vakgebied. Hij was wars van onnodige plichtplegingen en benaderde problemen direct. Daarbij hanteerde Joost het motto "als het niet kan zoals het mot, dan mot het maar zoals het kan". Opvallend was dat achter zijn duidelijke stellingname altijd een heldere analyse en goede verkenning van andere standpunten school. We verliezen in Joost een collega die zijn stempel drukte op onze manier van werken. Hij deed dat met kennis van zaken, verlichtigd met spitsvondige uitspraken en geslaagde grappen.

*Marcel Janssen en Marlea van Drunen, klinisch chemici, en Henk Neervoort, manager organisatorische eenheid KCHL, VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg*

## Mededelingen

---

### *Nieuwe leden*

Dr. T. Sijbrandij, werkzaam in UMC Groningen  
Dr.ing. G.J. Leus, werkzaam in UMC Groningen  
J.A. van Balveren MSc., werkzaam in Jeroen Bosch  
Ziekenhuis, Den Bosch  
A.L.M. Deiman, werkzaam in Catharina Ziekenhuis,  
Eindhoven

### *Wijziging werkadres*

Dr. A.M.C.P. Joossen, Sint Elisabeth Ziekenhuis,  
Tilburg  
M.J.C. Dane MSc., LabWest, Locatie HagaZieken-  
huis, Den Haag  
Dr. D.J. van de Wijngaart, Franciscus Ziekenhuis,  
Roosendaal  
Dr. B.S. van der Veen, Ziekenhuis Sint Jansdal,  
Harderwijk  
Dr. H.A.M. Voorbij, Stg. Artsenlaboratorium en  
Trombosedienst, Koog aan de Zaan  
Dr. M. Treskes, Sint Lucas Andreas Ziekenhuis,  
Amsterdam

### *Wijziging priveadres*

Dr. I. Kuipers, Van der Voortvaart 6, 2497 XA Den  
Haag  
Drs. R.F.M. Oude Elferink, Weemhofseiland 8,  
9766 VL Eelderwolde  
Dr. J.C.M. Meenhuis, Distelmeent 70, 1218 AK  
Hilversum  
Dr. H.M. Loovers, Debussylaan 48, 9402 WG Assen  
Dr. D.J. van de Wijngaart, Rietvelddreef 14, 2992 HH  
Barendrecht  
Dr. A.J. de Graaf, Kalevala 5, 7604 KG Almelo  
Dr. N.E. Ajubi, 91 Billy Folly Rd, Rancho Cielo D4,  
Pelican, Phillipsburg, St. Maarten

### *Registraties*

Dr. J. Lambers-Scherrenburg per 10-9-2014  
Dr. J.M.E.P. Gillis per 1-11-2014  
Dr. B.S. van der Veen per 1-11-2014  
Dr.ir. A.M.C.P. Joosen per 1-12-2014  
Dr. M.J. Vos per 1-12-2014  
Dr. D.J. van de Wijngaart per 1-12-2014

### *Herregistraties*

Dr. L.S.M. Boesten per 1-11-2014  
Dr. H.B. Brouwer per 1-11-2014  
Dr. E.C. van Dongen-Lases per 1-12-2014  
Dr. F.A. Lindeboom per 1-12-2014  
Ir. H.A. Perdok-Hendriks per 1-12-2014  
Dr.ing. R.H.J. Bruijns per 1-1-2015  
Dr. F.P.L. van der Dijs per 1-1-2015  
Dr. F. van der Graaf per 1-1-2015  
Dr. J.J.M.L. Hoffmann per 1-1-2015  
Dr. H. Russcher per 1-1-2015  
Dr. J.W.P.H. Soons per 1-1-2015  
Dr. M. Treskes per 1-1-2015

### *Aantekening aandachtsgebied Endocrinologie*

Dr. M.J.M. de Groot per 25-09-2014

### *Overleden*

Dr. P.C.M. Janson  
Dr. J.C.J.M. Swaanenburg

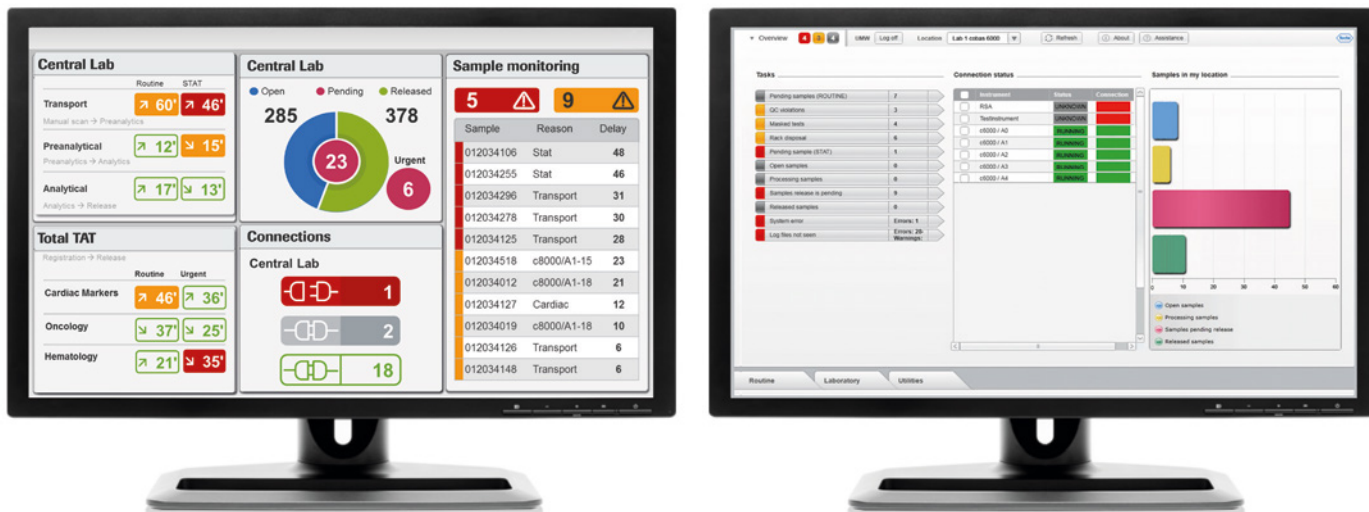


## Faeces hygiënisch opvangen? Fe-Col® ! Kwaliteit in pre-analyse



- Hygiënisch
- Voorkomt contaminatie met toiletwater en reinigingsmiddelen
- Eenvoudig in gebruik
- Doorspoelbaar en 100% afbreekbaar
- In GBO Faeces container naar Lab





# The Power of Knowing

**Hoe zorg ik dat patiëntgegevens en resultaten veilig naar het juiste LIS worden verstuurd? Hoe kan ik patiëntmateriaal uitwisselen tussen verschillende locaties? Hoe monitor ik de prestaties van de verschillende locaties en waar kan ik verbeteringen doorvoeren?**

Roche Diagnostics denkt met u mee en biedt u de oplossing met cobas® IT middleware. Met cobas® IT middleware is het mogelijk om binnen één enkel web-based platform, de workflows binnen en tussen locaties te realiseren. Niet uitsluitend met één enkel laboratorium-informatiesysteem (LIS), maar ook met verschillende laboratorium-informatiesystemen van verschillende fabrikanten. Met cobas® IT middleware bent u klaar voor huidige en toekomstige samenwerkingsverbanden.

Maar Roche gaat verder. Naast het realiseren van een efficiënte workflow kunt u real-time uw prestaties monitoren en waar nodig bijsturen. Niet alleen op uw desk top computer, maar ook op uw mobiele apparaten. Op deze manier dragen we samen bij aan een efficiënte en veilige patiëntendiagnostiek.

Wilt u meer informatie of een persoonlijke demonstratie? Wij staan voor u klaar, uw Account Manager informeert u graag over de mogelijkheden. Telefonisch zijn wij bereikbaar via 036-5394 911 of stuur een e-mail naar [almere.cssl@roche.com](mailto:almere.cssl@roche.com). Volg ons via twitter @RocheDiaNL.

