

Standaardisatie: een zaak van Lipiden Referentie Laboratoria?

Referentie Laboratoria, waaronder het Lipiden Referentie Lab (LRL) Rotterdam, voeren internationaal erkende referentiemethoden, met name de Abell-Kendall referentiemethode voor totaal-cholesterol; de CDC UC en de CDC "Designated Comparison Method" voor HDLc; en de CDC betaquant methode voor LDLc. In ontwikkeling zijn de triglyceride referentiemethode en het apolipoproteïne juistheidsplatform, dit laatste aan de hand van bewezen commuteerbare, primaire WHO standaarden.

De rol van het LRL Rotterdam werd geïllustreerd aan de hand van "bias" onderzoeken, volgens officiële CDC protocollen, uitgevoerd n.a.v. de introductie van de directe HDLc meetmethoden. Directe vergelijking van verse humane sera laat toe om heldere uitspraken te doen over de absolute juistheid van nieuwe meetmethoden op specifieke analysesystemen.

Standaardisatie: een zaak van de leverancier?

Fabrikanten dienen robuuste meetmethoden en commuteerbare kalibratoren te ontwikkelen. Bij introductie van nieuwe meetmethoden dienen leveranciers, waar mogelijk, zichzelf te vergewissen van de herleidbaarheid van de meetresultaten en bewijs te leveren aan de beroepsgroep. Daarnaast dienen leveranciers systemen te ontwikkelen om de herleidbaarheid te waarborgen in de tijd (over diverse lotnummers heen). Zowel interne als onafhankelijke, externe validaties zijn hierbij nodig. In samenspraak met referentielaboratoria kunnen zij hiervoor instrumentarium ontwikkelen.

Standaardisatie: een zaak van de SKZL?

De cholesterolbepaling is landelijk vrij goed gestandaardiseerd. Thans halen 70% van de laboratoria in Nederland de juistheidslimiet voor cholesterol van $\leq 3\%$; 95% van de laboratoria heeft een toevallige fout van $\leq 3\%$. De gecertificeerde waarden voor cholesterol worden vermeld in de externe SKZL rapportages. Scoring van de laboratoria geschiedt evenwel nog steeds t.o.v. het consensus gemiddelde.

Voor de cholesterolbepaling is uit de externe QC-gegevens gebleken dat sucrose-houdende, gelyofiliseerde controlematerialen beter commuteerbaar zijn dan niet sucrose-houdende controlematerialen. Deze laatste in combinatie met minder robuuste cholesterol

meetmethoden kan leiden tot een onterecht slechte score en een penaltie.

Voor HDLc is er nog geen landelijke standaardisatie. De huidige SKZL controlematerialen zijn onvoldoende commuteerbaar en niet voorzien van een referentiewaarde. De juistheid van de HDLc werd eind 1996 getoetst in een pilot studie (N = 25 laboratoria). Met de destijds gehanteerde chemische precipitatie methoden (N = 4) bleek dat 50% van de laboratoria een gemiddelde systematische meetfout had van $> \pm 5\%$ en een totale meetfout van $> 13\%$. De gelyofiliseerde, sucrose-houdende controlematerialen bleken in het geval van de chemische precipitatie methoden niet geschikt voor juistheidsonderzoek. Preliminair onderzoek heeft aangetoond dat de gelyofiliseerde, sucrose-houdende controlematerialen wel geschikt lijken voor juistheidsonderzoek bij de directe HDLc meetmethoden.

Voor de HDL-cholesterolbepaling is uit de externe kwaliteitscontrolegegevens (periode 1995 - medio 1997) gebleken dat er zeer grote tussen-lab spreidingen bestaan. Daarbij bepaalde vnl. de grootste gebruikersgroep het consensus gemiddelde. Concluderend kan men stellen dat op basis van de huidige kwaliteit van de SKZL controlematerialen individuele klinische laboratoria geen instrumentarium hebben om de juistheid van de gevoerde HDLc meetmethoden te toetsen.

Voor de triglyceriden, LDLc, apoA-I en apoB bepalingen werd landelijke standaardisatie nog niet gestart.

Mede in het licht van "Kalibratie 2000" dient er gestreefd te worden naar ontwikkeling van commuteerbare controlematerialen voor lipiden en apolipoproteïnen, de welke periodiek juistheidsonderzoek voor alle genoemde parameters mogelijk maken.

Conclusies

Uit de discussie bleek dat gewenste analytische kwaliteit gedefiniëerd dient te worden in termen van bias en imprecisie. Bijna unaniem werd gedragen dat voor het creëren van analytische kwaliteit vooral een rol is weggelegd voor leveranciers en lipiden referentie laboratoria. Met éénstemmigheid werd gesteld dat bij het controleren van de analytische kwaliteit de rol van de SKZL essentieel is; commuteerbare kwaliteitscontrolematerialen dienen hiertoe ontwikkeld te worden. Gebruik van gecertificeerde waarden i.p.v. consensuswaarden is dan mogelijk.

Externe kwaliteitsbewaking van liquor

K.J.B. LAMERS¹, A.W. TEELKEN² en I.S. KLASSEN³

Academisch Ziekenhuis Nijmegen St Radboud^{1,3}, Nijmegen; Academisch Ziekenhuis Groningen², Groningen

Ongeveer 50 laboratoria uit Nederland en 2 laboratoria uit België hebben de afgelopen jaren deelgenomen aan externe liquor kwaliteitscontrole, georganiseerd door de SKZL. Daarbij werden 2 x per jaar monsters opgestuurd voor de bepaling van totaal eiwit, albumine, IgG en oligoclonale banden. Analyses van liquorcomponenten worden dikwijls gekenmerkt door gebrekkige standaardisatie van methodieken en het

ontbreken van adequaat controlemateriaal. Betrouwbare (leeftijdsafhankelijke) referentiewaarden zijn onvoldoende beschikbaar en de interpretatie van de uitslagen laat te wensen over. Concentraties van bepaalde eiwitten in liquor (o.a. albumine en immunoglobulinen) zijn afhankelijk van de bloedwaarden en de functie van de bloedliquorbarrière (BLB). De waarden van de liquor/serum quotiënten van deze eiwitten

zijn daarom klinisch relevanter dan de absolute concentraties (1). Wanneer de analyses van deze eiwitten in liquor en serum worden uitgevoerd in dezelfde analyse-run representeren deze quotiënten methode onafhankelijke waarden. Het verdient daarom aanbeveling deze strategie toe te passen in het laboratorium. Het quotiënt liquor/serum albumine (Q albumine) is de beste maat voor functie van de BLB (2). Het quotiënt is afhankelijk van de leeftijd van de patiënt, de liquor flow rate en het afnamevolume van de liquor. Intrathecaal (locale) immuunproductie kan onderscheiden worden indien gebruik wordt gemaakt van quotiënten en indices (IgG index = ratio Q IgG / Q albumine). Evenwel is de relatie tussen Q IgG en Q albumine géén lineaire functie. Daarom hebben grafische presentaties van de uitslagen met behulp van quotiënt diagrammen of formules voor immuunproductie de voorkeur boven de toepassing van indices voor het vaststellen van een locale immuunproductie (1).

Materiaal en ontwerp van de enquête

Twee maal per jaar wordt een set van 3 monsterparen verstuurd; liquor 2 ml, serum 0.5 ml. De liquor-monsters worden in het Academisch Ziekenhuis Nijmegen samengesteld. Abnormale liquor-monsters worden geprepareerd door middel van "spiking". Serummonsters zijn afkomstig uit Winterswijk. In ieder monster moet het totaal eiwit, IgG en albumine worden bepaald. Bovendien wordt gevraagd in één van de monsters (de case) een kwalitatieve test uit te voeren voor het vaststellen van oligoclonale banden. Bij ieder monsterpaar wordt de "leeftijd van de patiënt" vermeld. De participanten dienen op een meegeleverd uitslagformulier de kwantitatieve uitslagen, de quotiënten en de indices te vermelden en de resultaten van de monsterparen te interpreteren. Bij de case wordt gevraagd om naast het vaststellen van "oligoclonale banden" tevens het monsterpaar klinisch te typeren. Van alle kwantitatieve parameters wordt de consensus waarde vastgesteld na uitsluiting van "outliers". De consensus waarde van de kwantitatieve parameters wordt gebruikt voor de evaluatie. De klinische interpretaties van de 3 monsterparen worden van alle participanten vermeld inclusief de eigen interpretatie. Het referentielaboratorium stelt de juiste uitslag van de case vast op basis van de aanbevolen methode van het Europese consensus rapport (2).

Resultaten van de kwantitatieve testen

Uit eigen onderzoek in het Academisch Ziekenhuis Nijmegen is gebleken dat de kwaliteit van de afgeleide parameters goed kan zijn wanneer de analyses in liquor en in serum in dezelfde analyse-run worden uitgevoerd. Voor de interne kwaliteitscontrole neemt het betreffende laboratorium dagelijks één liquor-pool- en één serumpoolmonster mee in de analyse-run. Negenentachtig gepaarde monsters werden in de eerste helft van het jaar 1998 geanalyseerd. De variatiecoëfficiënten voor de afgeleide parameters: Q albumine, Q IgG en IgG index waren respectievelijk 2.8%, 3.2% en 3.7%. Een analyse van de externe kwaliteitscontrole van 2 enquêtes (mei 1996 en mei

1997) leverde de volgende gemiddelde variatiecoëfficiënten voor de diverse parameters op: Q albumine 6.9%, Q IgG 8.5% en IgG index 10.2%. Deze variatiecoëfficiënten zijn redelijk. De interpretaties van de kwantitatieve uitslagen van de afgelopen enquêtes geven aanleiding tot een nadere beschouwing. De Q albumine waarden werden bij diverse enquêtes regelmatig foutief geïnterpreteerd. Dit kan veroorzaakt worden door het hanteren van incorrecte referentiewaarden ofwel door het niet betrekken van de leeftijd van de patiënt bij de beoordeling. De interpretatie van een locale IgG productie op basis van de index kan een incorrecte informatie opleveren, aangezien de referentiewaarden van de IgG index afhankelijk zijn van de functie van de BLB. Bij een ongestoorde BLB ligt de bovengrens bij 0.6, bij een gestoorde BLB kan deze bovengrens theoretisch tot 1.0 oplopen. Reiber stelde dat een hyperbole functie fysiologisch en empirisch de correcte relatie weergeeft. Teelken toonde aan dat bij jonge kinderen en bij volwassenen met een normale- en een gestoorde BLB een exponentiële functie het beste discrimineert tussen locale en niet locale IgG-synthese [3]. Hij stelde een grafische presentatie voor van liquor/serum quotiënten in een diagram, analoog aan het diagram van Reiber. Hij toonde aan dat deze functie in vergelijking met andere functies het beste discrimineert. In de navolgende discussie werd besloten de volgende wijzigingen in het kwantitatieve deel van de enquête door te voeren:

- 2 monsterparen gebruiken voor de kwantitatieve test;
- het vermelden van interlaboratorium VC's bij de consensuswaarde;
- (nu) geen uitbreiding van testen invoeren;
- aan het uitslagformulier het grafisch diagram van Teelken toevoegen ter vaststelling van locale IgG productie en de IgG index als parameter voor locale productie laten vervallen.

Tevens wordt besloten om te enquêteren of de participanten inderdaad de serumeiwitten op het liquor-niveau analyseren.

Resultaten van de kwalitatieve test

De case wordt gebruikt voor het vaststellen van oligoclonale banden met behulp van eiwitseparatietechnieken. Er wordt gevraagd de uitslag te interpreteren aan de hand van een zestal klinische typen. Bij de laatste enquête (mei 1998) gaven 40 laboratoria aan welke methode werd toegepast. De toegepaste methodieken bleken zeer verschillend; 55% van de laboratoria concentreerde vooraf de eiwitten; 68% paste elektroforese toe en 32% isoelektrische focusering (IEF); 90% gebruikte agarose als medium. De eiwit (IgG) detectiemethoden bleken zeer divers: 40% directe eiwitkleuring (a), 20% eiwitkleuring na immuunfixatie (b), 20% eiwitkleuring na blotten op nitrocellulose (c) en 20% immuunenzymkleuring na blotten (d). De resultaten van 7 enquêtes werden geanalyseerd: 61% van de laboratoria presenteerde een juiste uitslag en 39% een foutieve uitslag. De uitslagen van 2 enquêtes (mei 1996 en mei 1997), waarbij de geringe afwijking met een adequate methodiek