

9. Siegel JE, Bernard DW, Swami VK, Sazama K. APTT results from partial- vs full-draw tubes. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 184-187.
10. Becton Dickinson and Company. Customer technical information notice. Low volume partial draw sodium citrate tubes and APTT results (1.8 and 2.7 ml, 0.105 and 0.129 M). 20 April 2000.
11. Lawrence JB. Laboratory monitoring of anticoagulant therapy: the key role played by preanalytical variables. *LabNotes* 1999; 9: no 1.
12. Nelson DE. Current considerations in the use of the APTT in monitoring unfractionated heparin. *Clinical Laboratory Science* 1999; 12: 359-364.
13. Walker ID. Blood collection and sample preparation: pre-analytical variation. In: Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F (editors), 2nd revised edition of ECAT assay procedures. A manual of laboratory techniques. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1999; 21-28.
14. Stichting Subcommissie Stolling. Pre-analytische voorschriften voor stollingsbepalingen. Den Haag, mei 2000.

Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 299-300

Kalibratie 2000

F.J.L.M. HAAS, A.M.H.P. van den BESSELAAR, A.J.M. van der HEIJ-KOENE, G.L.A. REIJNIERSE

Als onderdeel van het Kalibratie 2000 plan zijn door de CCKL Stichting Subcommissie Stolling (SSS) een tweetal projecten voorgedragen: de harmonisatie van de APTT bepaling ten behoeve van het monitoren van de therapeutische toediening van niet-gefractioneerde heparine en de harmonisatie van de bepaling van fibrinogeen, antitrombine en factor VIII:C (1).

Het eerste project is bijna afgerond en de voorlopige resultaten zijn gepresenteerd tijdens het SSS Stollingssymposium op 18 mei jl. te Apeldoorn. De deelnemers aan dit project krijgen nog de gelegenheid commentaar te geven op hun eigen resultaten. Het tweede project verkeert nog in de voorbereidingsfase en zal nader worden toegelicht.

Alle deelnemers aan het kwaliteitscontroleprogramma van de SSS zijn benaderd met de vraag of ze geïnteresseerd zijn in deelname aan een pilotstudie voor één of meerdere van de genoemde bepalingen. Op basis van de aanmeldingen zijn de deelnemers ingedeeld in clusters van labparen (tweelingstudies), waarbij door de verschillende combinaties de volgende drie groepen zijn gevormd: fibrinogeen 40 deelnemers, antitrombine 32 deelnemers en factor VIII:C 22 deelnemers.

Alle deelnemers is verzocht tenminste een 15-tal monsters, gespreid over het gehele meetbereik, te verzamelen en in tweevoud in te vriezen bij een temperatuur <-28°C. Hierdoor zijn in combinatie met het toegevoegde laboratorium per bepaling tenminste 30 patiëntenmonsters gegarandeerd. Deze monsters dienen in drie meetseries van 10 patiëntenmonsters in combinatie met drie commerciële plasma's te worden gemeten.

Voor de selectie van de commerciële monsters zijn

alle firma's die op de Nederlandse markt actief zijn benaderd met de volgende vragen:

- Beschikken ze over kalibratie- of controleplasma's voor de genoemde bepalingen.
- Zijn ze bereid voor de pilotstudie de plasma's met 50% korting te leveren.
- Garanderen ze voor een mogelijke vervolgstudie plasma's van dezelfde batch met een geldige houdbaarheidstermijn.
- Tegen welke prijs kunnen de plasma's voor de vervolgstudie worden geleverd.

Er is door negen firma's een offerte uitgebracht en bij zes firma's zijn inmiddels plasma's besteld. De keuze van de plasma's is gebaseerd op de combinatie van opgegeven range en prijs. De plasma's zullen door SSS worden voorzien van eigen etiketten en de verwerking plus rapportage zal gecodeerd plaatsvinden ter voorkoming van oneigenlijk gebruik van de resultaten. De firma's zullen vanzelfsprekend worden geïnformeerd over de resultaten van hun eigen product.

Commerciële monsters kunnen zich anders gedragen dan patiëntenmonsters en daarbij kan het onderscheid worden gemaakt in een tweetal mogelijkheden, en daarmee samenhangend de statistische protocollen: de oorzaak is bekend, dan spreekt men over interferentie, en is EP7-P (2) het aanbevolen protocol, of de oorzaak is onbekend, ook wel matrix effect genoemd, en dient het EP14-P protocol te worden gebruikt (1, 3).

Bij het matrixeffect is er mogelijk een wisselwerking tussen een aantal karakteristieken van de gebruikte meetmethode, zoals het ontwerp van het meetinstrument, de samenstelling van de gebruikte reagentia, het principe van de meetmethode en de gebruikte kalibratie- of controlematerialen.

Doordat commerciële materialen zich anders gedragen dan patiëntenmaterialen kunnen de volgende drie situaties zich voordoen:

- de resultaten lijken goed, maar zijn foutief
- de resultaten lijken foutief, maar zijn goed
- de resultaten zijn goed

Klinisch Chemisch Laboratorium, St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein

Correspondentie: F.J.L.M. Haas, St. Antonius Ziekenhuis, Postbus 2500, 3430 EM Nieuwegein. E-mail: F.Haas@kcl-azn.demon.nl

Het moge duidelijk zijn dat het van groot belang is te weten hoe commerciële plasma's zich gedragen in vergelijking met patiëntenplasma's, omdat dit bijvoorbeeld consequenties kan hebben voor externe audits.

Indien een (commercieel) kalibratie- of controle materiaal inter-assay eigenschappen presenteert die gelijk zijn aan het gebruikte patiëntenmateriaal, dan noemt men dat materiaal commuteerbaar.

Een probleem bij strikte toepassing van het EP14-P protocol is dat een onderscheid tussen (natieve) patiëntenmonsters en "processed" samples wordt gemaakt. Door het invriezen van de patiëntenplasma's beschikken we niet meer over natieve monsters maar alleen over processed samples, de ingevroren en patiëntenplasma's en de commerciële plasma's. Voor stollingsonderzoek is het, in tegenstelling tot de Kalibratie 2000 projecten in de klinische chemie, praktisch niet mogelijk op één dag met het tweelinglaboratorium de vereiste 15 monsters gespreid over het gehele meetbereik te verzamelen en uit te wisselen. In de maanden september en oktober dienen de deel-

nemers de monsters uit te wisselen en de drie series te bepalen, waarna de resultaten moeten worden ingestuurd. Na uitwerking van de meetgegevens kan hopelijk een keuze van commuteerbare plasma's plaatsvinden. Deze commuteerbare plasma's kunnen dan als kalibrator in de vervolgstudie worden gebruikt. Evaluatie van de resultaten van de vervolgstudie zal moeten uitwijzen of het gebruik van commuteerbare kalibratoren leidt tot harmonisatie.

Literatuur

1. Jansen RTP, Kuypers AWHM, Baadenhuijsen H, Besselaar AMHP van den, Cobbaert CM, Gratema JW, Klasen IS, Lentjes EGWH, Metz M de, Preijers FWMB, Ross HA, Steigstra H, Weykamp CW. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 153-158.
2. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline (1986), NCCLS document EP7-P, ISBN 1-56238-020-6.
3. Evaluation of Matrix Effects; Proposed Guideline (1998), NCCLS document EP14-P, ISBN 1-56238-345-0.

Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 300-305

Laboratoriumdiagnostiek van heparine-geïnduceerde trombocytopenie

É. BIRÓ¹, R. NIEUWLAND¹, J.P.J. WESTER², F.J.L.M. HAAS³ en A. STURK¹

De laboratoriumdiagnostiek van heparine-geïnduceerde trombocytopenie (HIT) is gebaseerd op de pathogenese van dit ziektebeeld. In het algemeen ontstaat HIT door een IgG antistof tegen het complex van heparine en plaatjesfactor 4 (PF4), gevolgd door binding van het ternaire complex van de antistof met heparine en PF4 aan bloedplaatjes via het Fc-deel van de antistof aan FcγRIIa-receptoren op het bloedplaatje. Het bloedplaatje wordt daardoor geactiveerd en stoot PF4 uit dat opnieuw met heparine een complex kan vormen. Echter, ook IgA- en IgM-antistoffen tegen het heparine-PF4-complex kunnen HIT veroorzaken en ook kunnen antistoffen HIT veroorzaken die tegen op PF4 gelijkende eiwitten zijn gericht, waaronder NAP-2 en IL-8.

De uit te voeren testen kunnen in twee categorieën worden ingedeeld:

- meting van de antistoffen in het serum van de HIT-patiënt

- meting van het vermogen van het serum van de patiënt om bloedplaatjes van gezonde vrijwilligers te activeren.

Beide typen metingen hebben hun voor- en nadelen. Er zijn commerciële ELISA's beschikbaar voor de meting van de antistoffen. De ELISA's meten alleen de antistoffen tegen het heparine-PF4-complex, maar zowel IgG als IgA en IgM. De activatiemetingen aan bloedplaatjes betreffen zowel plaatjesaggregatie- als serotoninesecretiemetingen. Die testen zijn minder gevoelig voor IgA- en IgM-antistoffen en, door het bestaan van isovormen van de Fc-receptor op het bloedplaatje, sterk donorafhankelijk. Ook is recent een commercieel verkrijgbare agglutinatie techniek beschreven, de "particle gel immuno assay", die de antistoffen tegen het heparine-PF4-complex detecteert.

In een recente aanbeveling wordt aangeraden om bij een negatieve of twijfelachtige uitslag van een plaatjestest een ELISA te doen, en vice versa. Tevens dient een laboratorium dat HIT-diagnostiek uitvoert zich er daarbij van te vergewissen dat de methodologie juist wordt uitgevoerd en geïnterpreteerd.

In dit artikel wordt de laboratoriumdiagnostiek van heparine-geïnduceerde trombocytopenie (HIT) beschreven. Daarbij zal het ontstaansmechanisme in detail worden besproken, omdat dat ten grondslag ligt aan deze diagnostiek. In de bijdrage van dr. Wester in

Afdeling Klinische Chemie (CKCL), Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden¹, Intensive Care Heelkunde, Academisch Ziekenhuis van de Vrije Universiteit, Amsterdam² en Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein³.

Correspondentie: A. Sturk, Leids Universitair Medisch Centrum, Afdeling Klinische Chemie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden. E-mail: asturk@lumc.nl