

## ‘Validation-at-the-point-of-care’ bij vier hematologische POCT-methoden

J.H. HOOIJBERG<sup>1</sup>, F.P.W. TEGELAERS<sup>1</sup>, T. van IJZENDOORN-BORST<sup>1</sup>, M. SCHOORL<sup>1</sup>,  
J. GOUDRIAAN-BARENDRECHT<sup>2</sup>, I. SLAMAN-SCHILDERS<sup>2</sup> en P.C.M. BARTELS<sup>1</sup>

POCT wordt in ziekenhuizen en in de eerste lijn gebruikt onder diverse klinische omstandigheden. Naast de algemeen gebruikte POCT-methoden voor glucose en bloedgassen doen steeds meer hematologische methoden hun intrede. Een nadeel van POCT is dat gebruikers vaak niet bekend zijn met laboratoriumbegrippen zoals ‘juistheid’, ‘precisie’ en ‘preanalytische fouten’. Daarnaast kunnen onvoldoende praktische vaardigheden resulteren in onjuiste resultaten.

Hier zijn vier hematologische voorbeelden gegeven waarbij foutieve handelingen of verkeerde interpretatie van resultaten ernstige consequenties kunnen hebben. Bij de beschreven hematologische methoden bleken een technische validatie en korte training van de gebruikers niet genoeg om de kwaliteit te waarborgen. Een gewenningsperiode voor de gebruikers en een klinische evaluatie met de behandelaars vormden een essentieel onderdeel van de implementatie.

### D-dimeer-meting in de huisartsenpraktijk

In de NHG-Standaard voor Diepe Veneuze Trombose (DVT) (1) uit 2008 worden eerstelijns beslisregels gegeven, gericht op het veilig uitsluiten van DVT in het been. De beslisregels zijn gebaseerd op een combinatie van anamnese, lichamelijk onderzoek en het D-dimeertestresultaat. In een grootschalige studie naar DVT in de huisartsenpraktijk (AMUSE studie) (2, 3) bleek de Clearview Simplify D-dimer® test eenvoudig in gebruik en betrouwbaar, mits gecombineerd met een interpretatie van de klinische a-priorikans op DVT. Bij de POCT-D-dimeertest wordt door middel van een vingerprik bloed verzameld in een capillair, dat daarna op een testkaart wordt aangebracht. Na ongeveer 10 minuten is het resultaat beschikbaar.

Een belangrijk aandachtspunt is, dat de test alleen waarde heeft na een inschatting van de a-priorikans op DVT aan de hand van klinische symptomen. De a-priorikans wordt bepaald aan de hand van een scoretabel gebaseerd op de Wells-regels (4) met aanpassingen (5, 6). Alleen bij een lage klinische a-priorikans is het veilig om DVT uit te sluiten op basis van een negatief D-dimeertestresultaat.

In een pilotstudie onder 12 huisartsen werd door Starlet DC en het laboratoriumonderzoek gedaan naar het faciliteren van huisartsen in het gebruik van de Clearview Simplify D-dimer® test. Er werd nagegaan hoe

de huisarts ondersteund kan worden in kwaliteitsborging en bevoorrading d.m.v. een logistiek beheerssysteem. Bij aanvang van de studie werd een korte praktische training op locatie bij de deelnemende huisartsen en praktijkondersteuners gegeven. De gebruikers ontvingen een handleiding en uitslagformulier met scoretabel. Gebruikte testen werden samen met het uitslagformulier geretourneerd naar Starlet DC, waar een extra interpretatie van de testuitslag plaatsvond. De op het uitslagformulier vermelde gegevens over gebruiker, resultaat en lotnummer werden gearhiveerd door Starlet DC.

Gedurende een periode van 4 maanden werden door 12 gebruikers in totaal 50 testen gebruikt. Dit kwam overeen met het door de deelnemende huisartsen verwachte aantal van 1 test per praktijk per maand. De gebruikers gaven aan positief te zijn over de methode. Desondanks bleek dat men soms moeite had met het aflezen van de strip en de interpretatie van de testuitslag. Bij 2 van de 50 testen werd zelfs een dubieus-negatief resultaat gevonden, terwijl het laboratoriumonderzoek naar D-dimeren een verhoogde waarde opleverde. Navraag leerde dat het vullen van de teststrip met bloed hier niet goed was uitgevoerd.

Omdat de grip van het laboratorium op kwaliteit in de eerste lijn moeilijk is, kan het niet garant staan voor testuitslagen. De rol van het laboratorium beperkt zich tot een adviserende en ondersteunende. Hierbij dient het laboratorium de huisarts op de hoogte te stellen van de mogelijkheid van fout-negatieve diagnostische resultaten. Ook behoort benadrukt te worden dat de bepaling dient te worden uitgevoerd door adequaat opgeleide gebruikers. Het verdient aanbeveling om in een leverings-serviceovereenkomst samen met de huisarts de klinische indicaties en gebruikscondities expliciet vast te leggen (een nadere toelichting wordt in de ‘Discussie en conclusies’ gegeven). Aldus kan de D-dimeersneltest in de eerste lijn bijdragen aan het uitsluiten van de diagnose DVT.

### PT-INR bij acute behandeling herseninfarct

Bij de behandeling van een acuut herseninfarct is intraveneuze trombolysie onderdeel van de procedure. De behandeling wordt binnen drie uur na het ontstaan van de verschijnselen gestart. De CBO-richtlijn voor ‘Diagnostiek, behandeling en zorg voor patiënten met een beroerte’ (7) stelt een PT-INR hoger dan 1,5 als exclusiecriteria voor trombolysie.

Om de snelheid van diagnostiek te bevorderen, werd op verzoek van de neurologen een POCT-methode voor bepaling van de INR-waarde geïmplementeerd op de Brain Care Unit (BCU). Een al gevalideerde methode

Laboratorium voor Klinische Chemie, Hematologie & Immunologie, Medisch Centrum Alkmaar<sup>1</sup> en Starlet Diagnostisch Centrum, Alkmaar<sup>2</sup>

E-Mail: jhooijberg@tergooziekenhuizen.nl

(CoaguChek XS Plus) werd door het laboratorium nog eens extra onderzocht in het relevante INR-gebied rond de klinische beslisgrens. Hiervoor werd van 40 trombosedienstpatiënten met een lage INR (onder 2,0) een dubbele meting gedaan met POCT en de laboratoriummethode. Passing & Bablok-analyse toonde een acceptabele overeenkomst tussen beide methoden ( $y = 0,97x + 0,07$  met 95% CI voor de helling: 0,83 - 1,11) (figuur 1A). De POCT-methode had een bias ten opzichte van de laboratoriummethode van 0,07 (95% CI: - 0,19 - 0,34).

Na deze technische validatie werd de POCT-apparaatuur geplaatst op de afdeling. De methode werd gekoppeld aan het LIS voor overdracht en archivering van data door het laboratorium. Afspraken over het gebruik werden vastgelegd in een leverings-service-overeenkomst. Hierin werden de klinische indicaties, bevoegdheden/verantwoordelijkheden, financiële afspraken en afspraken over scholing en (her)certificering opgenomen (zie ook: 'Discussie en conclusies'). Tevens werd hierin vastgelegd dat INR-waarden > 1,5 altijd bevestigd dienden te worden met een meting in het laboratorium.

Een kritisch punt bij de POCT-INR-bepaling is de afname m.b.v. een vingerprik. In tegenstelling tot b.v. de glucosebepaling is het belangrijk om de eerste druppel uit de vingerprik binnen 15 seconden aan te brengen op de meetstrip. Het niet goed uitvoeren van de preanalytische handeling kan het INR-resultaat sterk beïnvloeden. Bovendien kunnen, zoals eerder beschreven werd (8), verschillen in afnamecondities tussen diverse POCT-methoden leiden tot verwarring onder gebruikers. De BCU-medewerkers maakten al geruime tijd zonder problemen gebruik van POCT-glucosemetingen. Aangenomen werd dat een korte training in de POCT-INR-methode met uitleg over de kritische preanalyse voldoende was voor bekwaamheid. Alleen de verpleegkundigen die deze training hadden gevolgd ontvingen een bekwaamheidsverklaring en toegangscode voor inlogging op de apparatuur.

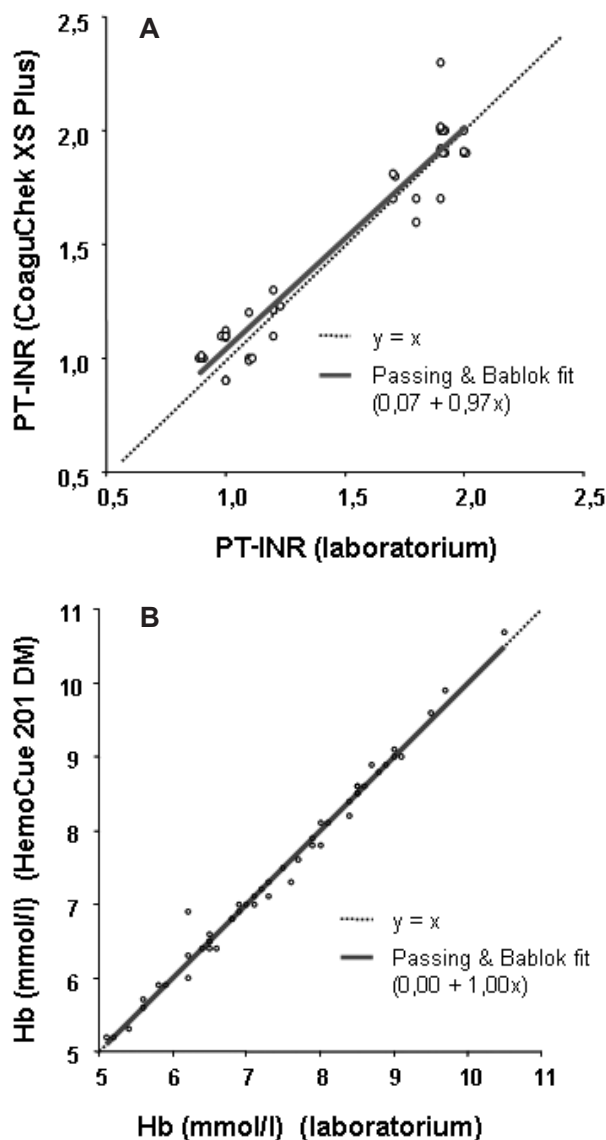
Gedurende 7 maanden werd het gebruik van de INR-methode op afstand gevolgd. Het door de afdeling verwachte aantal metingen per half jaar bedroeg 25-50, waarbij door 10 gebruikers de INR zou worden gemeten. Tijdens de eerste maand na implementatie gebruikte de afdeling de meter 8 keer. Daarna nam het gebruik af tot een totaal van 4 keer per half jaar. Bij 32 patiënten die in die periode waren opgenomen met een CVA was alleen de laboratoriummethode uitgevoerd. De gebruikers gaven aan in de praktijk moeite te hebben met kritische preanalytische handeling bij de POCT-methode en daardoor weinig te meten. Omdat een dergelijk laag gebruik van POCT niet ten goede komt aan de kwaliteit, werd na een gezamenlijke evaluatie besloten de POCT-INR-apparatuur te verwijderen van de BCU.

Wat in de bovenstaande casus duidelijk werd, is dat een validatie van POCT zich niet dient te beperken tot een technische validatie op het laboratorium en een korte training van de gebruikers. Het intensief begeleiden van de gebruikers en het systematisch toepassen van accountmanagement behoort een wezenlijk onderdeel te zijn van het POCT-beheersysteem.

### Hemoglobine bij Eprex-protocol

Ter beperking van perioperatieve bloedtransfusies bij orthopedische patiënten die een heupprothese krijgen, wordt door de afdeling anaesthesiologie gebruik gemaakt van toediening van Eprex (recombinant-Epo) (9). Eprex wordt enkele weken voor de operatie verstrekt aan patiënten met een hemoglobineconcentratie tussen 6,0 en 8,2 mmol/l. In het kader van een efficiënte logistiek had de poli anaesthesiologie behoefte aan een POCT-methode voor hemoglobinemetingen bij ongeveer 500 patiënten per jaar. Deze zouden worden uitgevoerd door 4 verpleegkundigen.

Een HemoCue 201 DM hemoglobinemeter werd technisch gevalideerd m.b.v. Passing & Bablok en bias-analyse. Geconcludeerd werd dat er geen significante verschillen waren tussen de resultaten van de laboratoriummethode (Sysmex XE2100) en de POCT-methode (figuur 1B:  $y = 1,00x + 0,00$  met 95% CI voor de helling: 1,00-1,03).



**Figuur 1.** Methodevergelijkingen voor POCT-INR (A) en POCT-Hb (B) met laboratoriummethoden. Gegeven zijn Passing & Bablok-analyses van de (A) CoaguChek XS Plus versus de laboratoriummethode voor PT-INR en (B) HemoCue 201 DM versus de laboratoriummethode voor hemoglobine.

Ook hier bleek een kritische factor de preanalytische handeling te zijn. De firma adviseert om de eerste drie druppels niet te gebruiken voor de analyse. Vanwege de ervaringen bij de implementatie van POCT-INR op de BCU werd besloten om de hemoglobinemeter pas vrij te geven na een gewenningsperiode op de afdeling. De apparatuur werd gekoppeld aan het LIS voor dataoverdracht. Na een training van de gebruikers ontvingen zij een toegangscode voor inlogging op de apparatuur. Gedurende enkele weken werd bij patiënten naast een POCT-meting een gelijktijdige laboratoriummeting verricht. Indien simultane metingen tussen POCT en laboratorium meer dan ongeveer 10% verschilden, werd direct contact opgenomen met de gebruiker. De gebruikers namen contact op met het laboratorium indien zij een discrepantie meenden te observeren tussen POCT- en laboratoriumresultaat. De gebruikers raakten op deze manier vertrouwd met de interpretatie van uitslagen en het laboratorium kreeg aldus een beeld van de competenties van de gebruikers. Nadat iedere gebruiker tenminste 5 metingen correct achter elkaar had uitgevoerd, werd de POCT-methode vrijgegeven voor gebruik. Ook nu werden afspraken over het gebruik en verantwoordelijkheden vastgelegd in een leverings-serviceovereenkomst. Hierin werd opgenomen dat de gebruikers een minimum aantal van 50 metingen (inclusief controles) per jaar dienden te verrichten voor behoud van de bevoegdheid.

Dankzij de intensieve begeleiding van de gebruikers verliep de implementatie van de POCT-methode zonder grote problemen.

#### **‘Activated clotting time’ bij hartkatheterisaties**

De ‘activated clotting time’ (ACT) is een belangrijke parameter bij de monitoring van het effect van toediening van hoge doses heparine tijdens invasieve intravasculaire ingrepen, zoals percutane coronaire interventies (PCI) (10). De ACT is voor dit soort doeleinden geschikter dan de APTT.

In overleg met de cardiologen werd een POCT-ACT geïmplementeerd op de hartkatheterisatie-unit (HemoChron Signature Elite). Het door de afdeling ingeschatte aantal testen bedroeg 100 tijdens een eerste studiefase van een jaar, uitgroeiend naar ongeveer 200 per jaar (inclusief wetenschappelijk onderzoek) in een later stadium. De testen zouden door 12 medewerkers worden uitgevoerd.

Het laboratorium beschikte niet over een eigen ACT-methode waarmee de POCT-ACT kon worden vergeleken volgens CSLI-EP-09-protocol. De validatie van de ACT-meter werd daarom verricht met een beperkt EP-05-protocol, waarbij gedurende 5 dagen controlemonsters (normaal en gehepariniseerd) twee keer per dag in duplo werden gemeten. Daarnaast werd de ACT in 20 monsters (citraatbuizen) van patiënten met een normale APTT gemeten. Een titratie met heparine werd uitgevoerd met 5 patiëntenmonsters ter analyse van de lineariteit van de ACT. Uit de technische validatie bleek dat de apparatuur voldeed aan de specificaties van de firma. De apparatuur werd gekoppeld aan het LIS en toegangsrecht werd verleend aan de gebruikers via inlogging. Gedurende een gewenningsperiode van drie maanden werd het gehele proces van afname tot en met

rapportage kritisch gevolgd op de hartkatheterisatie-unit. De verpleegkundigen waren weliswaar bekwaam in het meten van de ACT in patiëntenmonsters, maar men was niet in staat om controlematerialen naar behoren te meten. Dit had te maken met de lastig uit te voeren praktische behandeling van het controlemateriaal. Besloten werd om de kwaliteitscontrole aan het laboratorium over te laten en de verpleegkundigen uitsluitend patiëntenmonsters te laten meten. Met de behandelaars werd een klinische evaluatie verricht van de technische validatie en de gewenningsperiode op de afdeling. Een belangrijke vraag daarbij was of de precisie van de methode klinisch acceptabel was. Afspraken rond taken en bevoegdheden werden ook nu vastgelegd in een leverings-serviceovereenkomst. De gehele combinatie van klinische evaluatie, gewenningsperiode en overeenkomst, resulteerde in wederzijds begrip en in een betere borging van de kwaliteit ten opzichte van alleen een technische validatie met eenmalige training.

#### **Discussie en conclusies**

POCT impliceert een gezamenlijke verantwoordelijkheid voor analyse, interpretatie van uitslagen, opleiding en (her)certificering. Gebruikers van POCT dienen op de hoogte te worden gesteld van de consequenties van (preanalytische) fouten. Vooral in situaties waarin diagnoses worden gesteld op basis van een analyse-resultaat, of wanneer resultaten worden gebruikt in het kader van klinische beslissingen, is expertise onder de gebruikers van POCT essentieel.

Belangrijke onderdelen van de implementatie van POCT bleken hier een gewenningsperiode voor de gebruikers en een gezamenlijke klinische evaluatie van de validatie met de behandelaars. Deze bevorderden het inzicht in de (on)mogelijkheden van POCT onder alle partijen.

In leverings-serviceovereenkomsten werd vastgelegd wat gebruikers kunnen verwachten van het laboratorium en omgekeerd. Per situatie werden afspraken gemaakt over de klinische indicaties voor een test, taken en bevoegdheden van gebruikers en laboratorium, de locatie van de apparatuur, een tijdsplan voor nascholing en hercertificering, onderhoud en kwaliteitscontroles, financiën, en archivering van data. Het verdient aanbeveling om een minimum vereist aantal testen per gebruiker per jaar te stellen, teneinde voldoende praktijkervaring te garanderen. Dit aantal is arbitrair en kan per situatie verschillen.

Het stappenplan van de validatie en implementatie van de methoden die hier beschreven zijn, kan worden samengevat zoals gegeven in tabel 1. Een aldus verrichte ‘validation-at-the-point-of-care’ creëert inzicht inzake risicoreductie en draagt bij aan een betere kwaliteitsborging.

**Tabel 1.** Stappenplan validatie en implementatie POCT

1. Technische validatie door laboratorium
2. Training gebruikers en plaatsing apparatuur
3. Gewenningsperiode op locatie en evaluaties met gebruikers
4. Klinische evaluatie met behandelaars
5. Leverings-serviceovereenkomst, incl. tijdsplan nascholing en hercertificering
6. Vrijgifte POCT

## Referenties

1. NHG-standaard *Diep Veneuze Trombose*. 2008, M86.
2. ten Cate-Hoek AJ, Toll DB, Büller HR, Hoes AW, Moons KG, Oudega R, Stoffers HE, van der Velde EF, van Weert HC, Prins MH, Joore MA. Cost-effectiveness of ruling out deep venous thrombosis in primary care versus care as usual. *J Thromb Haemost*. 2009; 12: 2042-9.
3. Büller HR, ten Cate-Hoek AJ, Hoes AW, Joore MA, Moons KG, Oudega R, Prins MH, Stoffers HE, Toll DB, van der Velde EF, van Weert HC. Safely ruling out deep venous thrombosis in primary care. *Ann Intern Med*. 2009; 150: 229-35.
4. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Stiell I, Dreyer JF, Barnes D, et al. Excluding pulmonary embolism at the bedside without diagnostic imaging: management of patients with suspected pulmonary embolism presenting to the emergency department by using a simple clinical model and d-dimer. *Ann Intern Med*. 2001; 135: 98-107.
5. Oudega R, Hoes AW, Moons KG. The Wells rule does not adequately rule out deep venous thrombosis in primary care patients. *Ann Intern Med*. 2005; 143: 100-7.
6. Toll DB, Oudega R, Bulten RJ, Hoes AW, Moons KG. Excluding deep vein thrombosis safely in primary care. *J Fam Pract*. 2006; 55: 613-8.
7. CBO-richtlijn Diagnostiek, behandeling en zorg voor patiënten met een beroerte. 2008.
8. Janssens PMW, Schipper MH. Is het een goede keus om met 'point of care testing' plus transport van monsters het laboratorium van een klein algemeen ziekenhuis te vervangen? *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk*. 2010; 35: 54-9.
9. Moonen AF, Thomassen BJ, Knoors NT, van Os JJ, Verburg AD, Pilot P. Pre-operative injections of epoetin-alpha versus post-operative retransfusion of autologous shed blood in total hip and knee replacement: a prospective randomised clinical trial. *J Bone Joint Surg Br*. 2008; 90: 1079-83.
10. Chew DP, Bhatt DL, Lincoff AM, et al. Defining the optimal activated clotting time during percutaneous coronary intervention: aggregate results from 6 randomized, controlled trials. *Circulation*. 2001; 103: 961-6.

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011; 36: 35-36

## Evaluation of the HemoCue WBC analyzer to count leucocytes in body fluids

R. de JONGE

Hemocytometric analysis of body fluids aids in the management and diagnosis of several diseases. Counting of white blood cells (WBC) in synovial fluid discriminates between inflammatory and non-inflammatory forms of joint swelling (1). Differential counting of WBC and erythrocytes (RBC) in cerebrospinal fluid (CSF) forms important and rapid available information in the diagnosis of meningitis, encephalitis and neuroinflammatory diseases like multiple sclerosis. Bacterial peritonitis is suspected when a large number of polymorph nucleated cells (PMN  $>250 \times 10^6/L$ ) (2) or WBC (WBC  $>100 \times 10^6/L$  with  $\geq 50\%$  PMN) (3) are present in ascites and in continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD) fluid, respectively. Microscopic analysis has been the gold standard for determination of the (differential) WBC and RBC counts in fluids but suffers from high imprecision (4), long turnaround times, and requirement of skilled personnel and mostly is not available 24 hours a day. Automated hemocytometric analysis may be the answer to these problems. Dedicated body-fluid modules have been developed by some manufacturers and are available on two commercial hemocytometers (5, 6). However,

these machines are relatively costly and are mostly only available in central laboratory facilities. Moreover, the aspirated volume is relatively large (ca. 130  $\mu L$ ) and the matrix of some fluids such as drain fluids, synovial fluids, and broncho alveolar lavage (BAL) fluids mostly is complex and not always suitable for automated hemocytometric analysis. Furthermore, no POC-instrument is on the market today to count WBC in body fluids. HemoCue recently launched a very small POC-instrument to count WBC in blood. We investigated whether this POC-analyzer also can be used to count WBC in body fluids.

### Methods

The following body fluids were prospectively studied: CSF, pleural fluid, ascites, CAPD fluid, and synovial fluid. CSF was delivered in plain tubes, synovial fluid in heparin-anticoagulated tubes and the other fluids in EDTA-anticoagulated tubes. Because only material was used that was leftover from routine analysis, informed patient consent was not required. Routine body fluids were mixed and first counted using the Sysmex XE-5000 Body-Fluid (BF) Module (Sysmex, Etten-Leur, The Netherlands) in the open-manual mode. Directly after, fluids were measured on the HemoCue WBC analyzer (HemoCue Diagnostics B.V., Waalre, The Netherlands). After mixing, fluid was pipetted on parafilm and ca. 10  $\mu L$  of fluid was drawn into a single-use microcuvette by capillary action. In the microcuvette, red blood cells were lysed (saponin) and WBC stained (methylene blue). An image of the stained WBC was

---

*Clinical Chemistry, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, Netherlands*

Correspondence: dr. R. de Jonge, Department of Clinical Chemistry, L-137, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam, 's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam  
E-mail: r.dejonge@erasmusmc.nl