

Het effect van buizenpost op stolling- en hemolyseparameters: “To walk or not to walk”

D.S. BOSS¹, C.M. HACKENG¹, E.A. VLOT² en D. van LOON¹

De buizenpost is een geaccepteerd transportmiddel voor bloedbuizen ten behoeve van laboratoriumonderzoek. De SKML adviseert echter om buizen voor stollingsonderzoek in verticale positie te vervoeren: een eis waar een buizenpostsysteem niet aan kan voldoen. In dit onderzoek is gekeken naar het effect van het versturen van deze materialen middels de buizenpost op de uitkomst van diverse stollingstesten en hemolysegevoelige bepalingen. We vinden slechts kleine verschillen tussen buizen die lopend vervoerd zijn en buizen die met de buizenpost verstuurd zijn. Bovendien zijn de gevonden verschillen op 1 uitzondering na niet klinisch relevant. Concluderend zien wij op basis van de gevonden resultaten geen aanleiding om buizen voor stollingstesten en hemolysegevoelige bepalingen niet met de buizenpost te versturen.

Veel ziekenhuizen maken gebruik van een buizenpostsysteem om biologische materialen snel van plaats van afname naar plaats van analyse (laboratorium) te transporteren. Het gebruik van een buizenpostsysteem verkort de doorlooptijd en is daarmee met name van belang in spoedeisende situaties of op afdelingen waar frequent laboratoriumonderzoek wordt aangevraagd (1). Nadeel van het gebruik van een buizenpostsysteem is dat de materialen gedurende het transport worden blootgesteld aan trillingen en bewegingen die mogelijk tot onjuiste uitslagen leiden. Dit is met name relevant voor bepalingen die gevoelig zijn voor hemolyse en/of activatie van de stollingscascade. Materiaal ten behoeve van bepalingen waarvan de uitslagen door hemolyse beïnvloed worden zoals kalium, LDH en ASAT wordt in de regel met de buizenpost verstuurd. Voor stollingsparameters is dat anders: de SKML adviseert, op basis van wetenschappelijk onderzoek, dat buizen voor stollingsonderzoek in verticale positie vervoerd dienen te worden (2). Dit is een eis waaraan een buizenpost systeem niet kan voldoen. Echter, in het onderzoek waarnaar gerefereerd wordt is niet onderzocht wat de effecten van het sturen met de buizenpost zijn op deze bepalingen. Er is slechts een effect aangetoond van langdurige (24 uur roller-mixing) mechanische agitatie op de uitkomst van de PT-INR bepaling (3). Volgens de CLSI richtlijn H21A5 dienen buizen

voor stollingsonderzoek vrij van vibraties en schokken te worden getransporteerd. Ook dit maakt de buizenpost een niet geaccepteerd transportmiddel (4). In de studie waarop deze richtlijn is gebaseerd is echter alleen gekeken naar het effect van buizenpost op trombocytenuitstroom (de PFA-100) en niet naar stollingstesten als de PT en aPTT (5). Doel van dit onderzoek is om aan te tonen of transport middels buizenpost effect heeft op uitslagen van hemolyse gevoelige testen en stollingsonderzoek.

Materiaal en Methoden

Bij 20 vrijwilligers zijn de volgende buizen bloed in duplo afgenomen (allen Greiner Bio One Vacuette®): 4 ml lithiumheparine, 4 ml K3EDTA, 3 ml natriumcitraat 3,2%. Vervolgens zijn de 6 buizen lopend van de poli bloedafname naar de spoedeisende hulp gebracht en is van ieder type buis één exemplaar via de buizenpost (circa 250 meter bij een gemiddelde verzendsnelheid van circa 4 meter/seconde) naar het laboratorium verzonden. De andere buizen zijn lopend naar het laboratorium gebracht. Bij 10 intensive-care patiënten voor wie al stollingsonderzoek was aangevraagd is een extra 3 ml natriumcitraat buis afgenomen. Een van de buizen is met de buizenpost verstuurd; de andere is lopend naar het laboratorium gebracht. Op het laboratorium zijn de volgende parameters bepaald: uit de EDTA buizen een trombocytentelling op een Sysmex XN-9000 hematologie analyzer; uit de natriumcitraat buizen de aPTT, PT, fibrinogeen en factor VIII activiteit op de STA compact van de firma STAGO; uit de lithiumheparine LDH, kalium en de hemolyse index op de Roche Cobas 6000. Van de intensive-care patiënten zijn de trombocyten bepaald uit natriumcitraatbuizen. De uitkomsten (lopend versus buizenpost) zijn middels een gepaarde t-toets met elkaar vergeleken en er is sprake van een significant verschil bij een p-waarde <0,05. Middels een regressie analyse is gekeken naar lineaire verbanden tussen samples gemeten na lopend respectievelijk buizenpost transport. Klinisch relevante verschilwaarden zijn berekend met de volgende formule: $2\sqrt{2}\sqrt{(CV_a^2 + CV_i^2)}$, met CV_a als analytische variatie en CV_i als intra-individuele biologische variatie. Naast de RCV waarde is ook gekeken naar verschillen in het analytische traject door de CV_i waarde op 0 te stellen. De gevonden relatieve verschilwaarden ten opzichte van het lopend transport zijn uitgezet in Bland Altman plots, waar ook de klinisch relevante verschilwaarden in uitgezet zijn. Eventuele uitbijters werden geïdentificeerd middels de Tukey outlier test.

Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Anesthesiologie², St Antonius ziekenhuis, Nieuwegein en Utrecht

E-mail: d.boss@antoniuziekenhuis.nl

Tabel 1. Resultaten van hemolyse-gevoelige en stollingsparameters in vrijwilligers (n=20) en patiënten (n=10).

		N	Gemiddelden (SD)		Gem Abs % Verschil (SD)*	p-waarden	RCV (%)
			Lopend	Buizenpost			
LDH (U/l)	Vrijwilligers	20	183,1 (23,6)	192,8 (26,5)	6,5 (4,7)	0,002	24,5
Kalium (mmol/l)	Vrijwilligers	20	4,11 (0,26)	4,13 (0,26)	1,4 (1,5)	0,37	13,6
Trombocyten (*10 ⁹ /l)	Vrijwilligers	20	219,2 (32,4)	217,7 (33,9)	2,0 (1,6)	0,26	26,3
	Patiënten	9	112,4 (58,9)	113,3(58,6)	6,8 (9,6)	0,75	26,3
	Totaal	29	186,0 (65,0)	185,3 (64,6)	5,9 (5,8)	0,53	26,3
Fibrinogeen (g/l)	Vrijwilligers	20	3,3 (1,1)	3,3 (1,2)	2,2 (2,6)	0,48	31,1
	Patiënten	10	3,5 (2,3)	3,6 (2,3)	1,0 (4,6)	0,46	31,1
	Totaal	30	3,4 (1,6)	3,4 (1,6)	2,7 (2,7)	0,29	31,1
PT (sec)	Vrijwilligers	20	12,6 (0,6)	12,6 (0,6)	1,1 (0,8)	0,17	13,6
	Patiënten	10	16,8 (2,1)	16,9 (2,2)	0,9 (0,7)	0,27	13,6
	Totaal	30	14,0 (2,4)	14,1 (2,4)	1,1 (0,8)	0,07	13,6
aPTT (sec)	Vrijwilligers	20	34,6 (3,2)	34,7 (3,2)	1,0 (0,9)	0,51	12,5
	Patiënten	10	38,4 (5,8)	38,0 (5,4)	2,1 (1,8)	0,34	12,5
	Totaal	30	35,9 (4,5)	35,8 (4,3)	1,4 (1,3)	0,64	12,5
Factor VIII	Vrijwilligers	10	169,4 (129,4)	167,7 (120,7)	3,5 (2,0)	0,58	13,8
	Patiënten	10	260,8 (184,8)	268,6 (191,7)	5,0 (2,8)	0,18	13,8
	Totaal	20	215,1 (162,1)	218,2 (164,3)	4,2 (2,5)	0,36	13,8

* Deze waarden zijn berekend door per samplepaar het procentuele verschil te berekenen, deze absoluut te nemen, en vervolgens de gemiddelden van deze waarden over de hele populatie te berekenen.

Resultaten

Van 20 gezonde vrijwilligers zijn de volgende parameters bepaald: LDH, kalium, fibrinogeen, trombocyten, PT en aPTT. De hemolyse index is van 15 vrijwilligers bepaald, de factor VIII activiteit van 10 vrijwilligers. Omdat de laatste twee parameters pas later zijn toegevoegd aan het studieplan zijn zij niet bij alle vrijwilligers bepaald. Van 10 intensive-care (ICU) patiënten zijn de volgende parameters bepaald: fibrinogeen, aPTT, PT en de factor VIII activiteit. Van 1 patiënt kon geen trombocytentelling meer worden uitgevoerd omdat de buis al was gecentrifugeerd. De gemiddelde laboratoriumuitslagen in beide populaties staan weergegeven in tabel 1. LDH is de enige parameter waar een statistisch significant verschil gevonden is tussen lopend transport en transport met de buizenpost ($p=0,002$). Dit is na het verwijderen van 2 uitbijters (141 U/l na lopend transport versus 204 U/l met buizenpost en 178 U/l na lopend transport versus 118 U/l met buizenpost). Wanneer deze uitbijters zouden worden meegenomen in de analyse zou het verschil niet significant zijn ($p=0,10$, data niet weergegeven). Bij 2 vrijwilligers werden verschillende hemolyse indexen (geen hemolyse na lopend transport, matige hemolyse na transport met de buizenpost) gemeten. Hierbij is een hemolyse index van 10 genomen als grenswaarde, gebaseerd op eigen onderzoek waarin is gekeken naar de correlatie tussen de gemeten hemolyse index en de hemolyse beoordeling met het oog (niet gepubliceerde data). Echter, dit leidt niet tot klinisch relevante verschillen in uitkomst van LD en/of kalium (index 6 na lopend transport en 21 na transport met de buizenpost:

Kalium van 4,3 mmol/l naar 4,4 mmol/l en LD van 186 U/l naar 208 U/l; index 2 na lopend transport en 12 na transport met de buizenpost: Kalium van 4,0 mmol/l naar 4,1 mmol/l, LD van 206 U/l naar 243 U/l). In tabel 2 staan de resultaten van de regressie analyses weergegeven. Voor de aPTT werd in de totale populatie een helling die significant afweek van 1 gevonden (0,94; 95% betrouwbaarheidsinterval 0,88 – 1,00), en ook een as-afsnede die significant afweek van 0 (2,20; 95% betrouwbaarheidsinterval 0,01 – 4,39). In de subpopulaties werden geen afwijkende hellingen en/of as-afsnedes gevonden. Voor de factor VIII activiteit werden in de populatie vrijwilligers een afwijkende helling (0,93; 95% betrouwbaarheidsinterval 0,91 – 0,96) en as-afsnede (9,7; 95% betrouwbaarheidsinterval 4,42 – 15,0) gevonden. In de patiëntengroep en totale populatie waren deze niet significant afwijkend. Figuur 2 toont Bland-Altman plots waarin de relatieve verschilwaarden ten opzichte van het lopend transport zijn uitgezet. Voor geen van de parameters werden in de populatie vrijwilligers klinisch relevante verschillen gevonden (alle uitslagen na buizenpost transport vallen binnen de waarde na lopend transport \pm RCV). In de patiënten populatie zijn op één uitzondering na ook geen klinisch relevante verschillen gevonden. Deze uitzondering betrof een trombocytentelling van $55 \cdot 10^9/l$ na lopend transport en $72 \cdot 10^9/l$ na transport met de buizenpost. Wanneer de CVi waarde op 0 gesteld werd vonden we voor de meeste parameters wel een aantal afwijkingen: Kalium (6 van de 20), LD (16 van de 18 na verwijderen van de 2 uitbijters), trombocyten (2 van de 29), fibrinogeen (3 van de 30), factor

Tabel 2. Resultaten van de regressie analyse. CI = confidence interval.

		N	Helling	95% CI	As afsnede	95% CI	r ² waarden
LDH (U/l)	Vrijwilligers	20	1,02	0,77 - 1,27	6,02	-40,0 - 52,1	0,824
Kalium (mmol/l)	Vrijwilligers	20	0,93	0,77 - 1,09	0,29	-0,37 - 0,95	0,894
Trombocyten (*10 ⁹ /l)	Vrijwilligers	20	1,03	0,95 - 1,12	-8,53	-27,5 - 10,5	0,973
	Patiënten	9	0,99	0,87 - 1,11	2,47	-12,7 - 17,6	0,982
	Totaal	29	0,99	0,95 - 1,03	1,33	-6,3 - 9,0	0,990
Fibrinogeen (g/l)	Vrijwilligers	20	1,01	0,97 - 1,06	-0,02	-0,18 - 0,14	0,992
	Patiënten	10	1,0	0,94 - 1,05	0,05	-0,18 - 0,28	0,995
	Totaal	30	1,0	0,97 - 1,03	0,02	-0,10 - 0,13	0,994
PT (sec)	Vrijwilligers	20	0,97	0,83 - 1,11	0,44	-1,35 - 2,23	0,919
	Patiënten	10	1,05	0,98 - 1,11	-0,73	-1,78 - 0,33	0,995
	Totaal	30	1,01	0,98 - 1,04	-0,12	-0,51 - 0,28	0,995
aPTT (sec)	Vrijwilligers	20	1,00	0,92 - 1,08	0,16	-2,55 - 2,88	0,976
	Patiënten	10	0,91	0,78 - 1,05	2,95	-2,36 - 8,26	0,967
	Totaal	30	0,94#	0,88 - 1,00	2,20*	0,01 - 4,39	0,973
Factor VIII	Vrijwilligers	10	0,93#	0,91 - 0,96	9,7*	4,42 - 15,0	0,999
	Patiënten	10	1,03	0,96 - 1,10	-1,07	-23,0 - 20,9	0,993
	Totaal	20	1,01	0,97 - 1,05	1,05	-10,6 - 12,7	0,993

helling wijkt significant af van 1

* As afsnede wijkt significant af van 0

VIII activiteit (15 van de 20). Alleen voor de PT en aPTT werden met dit strenger gestelde criterium na transport met de buizenpost geen waarden gevonden die buiten het gestelde interval vielen.

Discussie

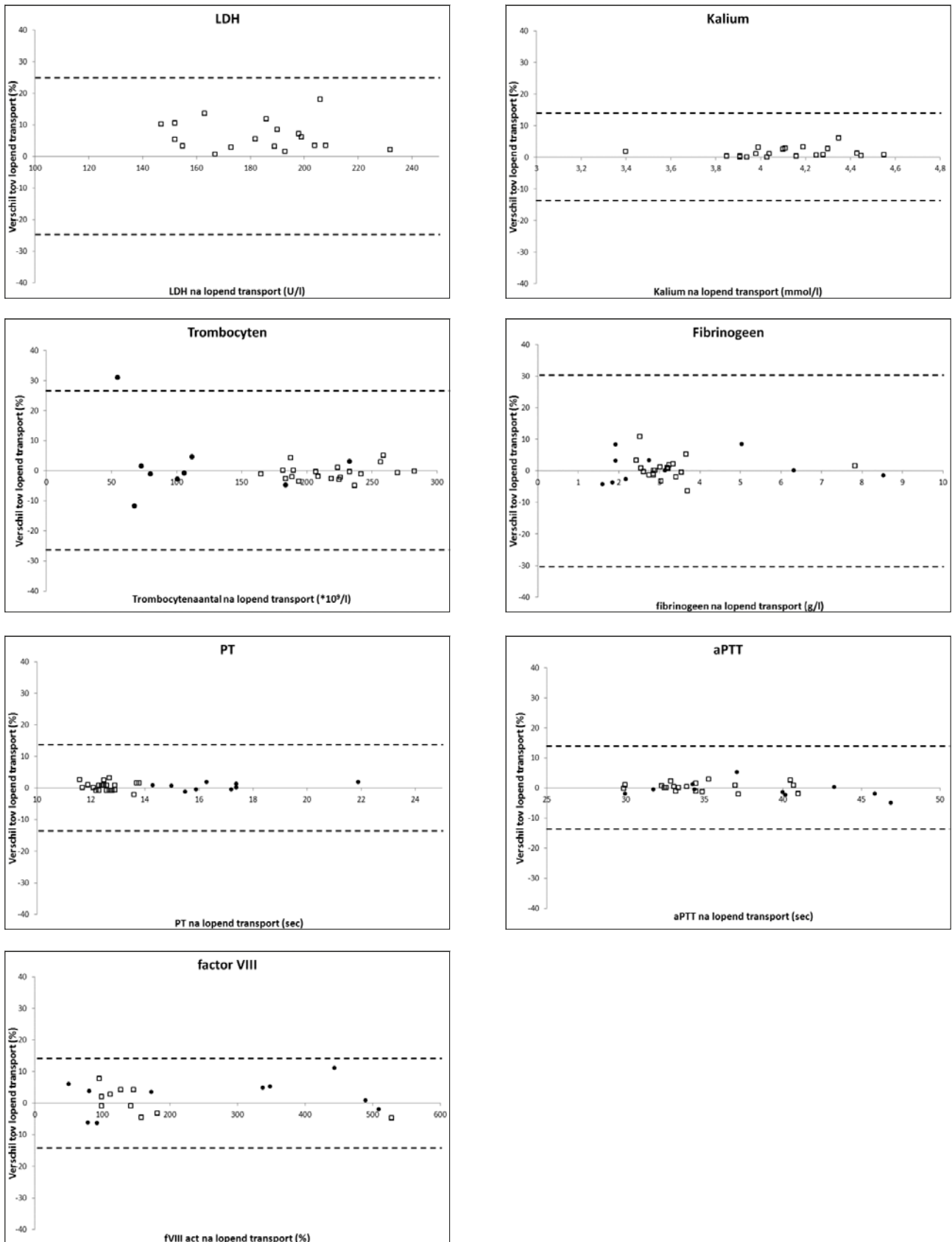
In dit onderzoek is gekeken naar het effect van het versturen van samples met de buizenpost op de uitslagen van een aantal veel aangevraagde laboratoriumtesten. Daarbij vinden we slechts kleine verschillen tussen buizen die lopend vervoerd zijn en buizen die met de buizenpost verstuurd zijn. Kijkend naar de populatiegemiddelden is de enige parameter die significant verschillende uitslagen geeft na versturen met de buizenpost de hemolyse gevoelige parameter LDH. De verschillen in LDH concentraties zijn in individuele gevallen echter zonder uitzondering niet klinisch relevant, al liggen wel alle individuele waarden hoger na transport met de buizenpost (dit geldt ook voor kalium). Alleen in de patiënten populatie vinden wij bij 1 patiënt een klinisch relevant verschillend trombocytenaantal. De gevonden resultaten zijn interessant, omdat zowel de SKML als het CSLI adviseert om buizen ten behoeve van stollingsonderzoek niet met de buizenpost te versturen (2, 4). Materialen voor onderzoek op hemolyse gevoelige parameters als kalium en LDH worden in de regel wel met de buizenpost verstuurd. Zoals eerder aangehaald is in de onderzoeken waar de SKML en het CLSI hun richtlijnen op gebaseerd hebben niet gekeken naar het effect van de buizenpost op stollingstesten (3, 4).

Recentelijk is een validatieprocedure van het buizenpoststelsel waar wij ook gebruik van maken gepubliceerd. Naast een technische validatie is er ook een biochemische validatie uitgevoerd waarbij gekeken is

naar diverse parameters. De grootste verschillen werden gevonden voor LDH, analoog aan hier door ons gepresenteerde data (6).

Kocak et al toonde al eerder aan dat het versturen van samples middels een buizenpost systeem geen invloed heeft op de uitslagen van diverse laboratoriumparameters. Echter in die studie, waar is gekeken naar het rode bloedbeeld, bezinking, PT en aPTT, zijn alleen de populatiegemiddelden vergeleken middels een gepaarde t-toets. Bovendien bestond de studiepopulatie slechts uit gezonde vrijwilligers (7). In de door ons gepresenteerde studie zijn ook samples van ICU patiënten voor stollingsonderzoek geïncludeerd. Het stollingsonderzoek is met name relevant omdat dit dagelijks wordt gedaan bij ICU patiënten. Het vervoer per buizenpost draagt positief bij aan efficiency, door de personele inzet te reduceren en de doorlooptijden te verkorten, zonder dat het ten koste gaat van de kwaliteit.

In deze studie is voornamelijk gekeken naar het effect op stollingsparameters, waarbij we geen effect vinden op de PT, aPTT en fibrinogeen. Daarnaast vinden wij ook geen effect op factor VIII activiteit. Factor V en VIII worden beschouwd als relatief instabiele stollingsfactoren, in tegenstelling tot bijvoorbeeld factor VII, IX, X en XI (8, 9). Aangenomen zou kunnen worden dat op basis van de hier gepresenteerde data buizen ten behoeve van onderzoek naar stollingsfactoren ook met de buizenpost verstuurd kunnen worden. Wij kiezen er voor om dit niet te doen. Deze onderzoeken worden minder frequent aangevraagd dan 'screenend' onderzoek waardoor de behaalde efficiencywinst relatief gering is. Ook buizen ten behoeve van plaatjesaggregatietesten zullen we niet met het buizenpoststelsel laten versturen. Meerdere studies hebben



Figuur 1. Bland-Altman plots van hemolyse-gevoelige- en stollings-parameters verstuurd met lopend transport dan wel met de buizenpost in een populatie gezonde vrijwilligers (open vierkanten; n=20 met uitzondering van factor VIII activiteit, n=10) en intensive-care patiënten (gesloten cirkels; n=10 met uitzondering van trombocyten, n=9). De onderbroken lijnen geven de klinisch relevante verschilwaarden (RCV) weer ten opzichte van lopend transport.

aangetoond dat buizenpost transport effect heeft op trombocyt aggregatietesten, zoals de PFA test (5, 10) en de multiplate analyse (11, 12). Studies waarin gekeken is naar tromboelastografie (ROTEM) lieten wisselende resultaten zien (13-15).

Concluderend zien wij op basis van de gevonden resultaten geen aanleiding om buizen voor screenende stollingstesten en hemolysegevoelige bepalingen in ons instituut niet met de buizenpost te versturen. De resultaten van deze studie zijn niet per definitie extrapolerebaar richting andere ziekenhuizen/laboratoria. Er bestaan grote verschillen tussen buizenposten van verschillende ziekenhuizen, en het is dan ook raadzaam om buizenpostsystemen te valideren voor ingebruikname (6). Ons advies zou zijn om in dit validatieproces ook het effect op de stolttesten te onderzoeken (in zowel gezonde vrijwilligers als) in patiënten.

Referenties

1. Fernandes CM, Worster A, Eva K, Hill S, McCallum C. Pneumatic tube delivery system for blood samples reduces turnaround times without affecting sample quality. *J Emerg Nurs.* 2006; 32: 139-143.
2. SKML: Preanalytische voorschriften voor stollingsbepalingen.
3. Van Geest-Daelderop JH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJ, Hoekstra MM, van den Besselaar AM. Preanalytical variables and off-site blood collection: Influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anticoagulant therapy. *Clin Chem.* 2005; 51: 561-568.
4. CLSI H21-A5. Vol 28 No 5: Collection, transport and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline – fifth edition.
5. Dyszkiewicz-Korpanty A, Quinton R, Yassine J, Sarode R. The effect of a pneumatic tube transport system on PFA-100 trade mark closure time and whole blood platelet aggregation. *J Thromb Haemost.* 2004; 2: 354-356.
6. Jellema LC, Luijt A, Puts H, Calcoen D, van Suijlen JDE. Nieuwe methode voor de validatie van buizenpostsystemen gebruikt voor het versturen van bloedmonsters. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk.* 2011; 36: 139-144.
7. Koçak FE, Yöntem M, Yücel O, Cilo M, Genç O, Meral A. The effects of transport by pneumatic tube system on blood cell count, erythrocyte sedimentation and coagulation tests. *Biochem Med (Zagreb).* 2013; 23: 206-210.
8. Alhumaidan H, Cheves T, Holme S, Sweeney J. Stability of coagulation factors in plasma prepared after a 24-hour room temperature hold. *Transfusion.* 2010; 50: 1934-1942.
9. Hondow JA, Russell WJ, Duncan BM, Lloyd JV. The stability of coagulation factors in stored blood. *Aust N Z J Surg.* 1982; 52: 265-269.
10. Hübner U, Böckel-Frohnhofer N, Hummel B, Geisel J. The effect of a pneumatic tube transport system on platelet aggregation using optical aggregometry and the PFA-100. *Clin Lab.* 2010; 56: 59-64.
11. Thalén S, Forsling I, Eintrei J, Söderblom L, Antovic JP. Pneumatic tube transport affects platelet function measured by multiplate electrode aggregometry. *Thromb Res.* 2013; 132: 77-80.
12. Glas M, Mauer D, Kassas H, Volk T, Kreuer S. Sample transport by pneumatic tube system alters results of multiple electrode aggregometry but not rotational thromboelastometry. *Platelets.* 2013; 24: 454-461.
13. Colucci G, Giabbani E, Barizzi G, Urwyler N, Alberio L. Laboratory-based ROTEM® analysis: implementing pneumatic tube transport and real-time graphic transmission. *Int J Lab Hematol.* 2011; 33: 441-446.
14. Amann G, Zehntner C, Marti F, Colucci G. Effect of acceleration forces during transport through a pneumatic tube system on ROTEM® analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50: 1335-1342.
15. Rotteveel - de Groot DM, Frenzel T, Noorland J, Kulk J, Loof AH, van Pampus ECM, Horn NAP, van Zwam M, Oosting JD. Validatie buizenpost voor ROTEM analyses. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk.* 2014; 39: 76.