

## Posterabstracts

Samenvattingen van de posterpresentaties tijdens het 70<sup>e</sup> Congres van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde op 6 en 7 april 2017 te Scheveningen

### Categorie 1 Analytisch Fotometrie, electrochemie, sensortechnologie

#### 1. Hour-to-hour reference change values for hematological parameters: from within-day biological variation data to clinical decision support using the smartphone app Labtracker+

J.M. HILDERINK<sup>1</sup>, L.J.J. KLINKENBERG<sup>1</sup>, K.M. AAKRE<sup>2</sup>, N.C.J. DE WIT<sup>1</sup>, Y.M.C. HENSKENS<sup>1</sup>, N. VAN DER LINDEN<sup>1</sup>, O. BEKERS<sup>1</sup>, R.J.M.W. RENNENBERG<sup>3</sup>, R.P. KOOPMANS<sup>3</sup>, S.J.R. MEEEX<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry, Central Diagnostic Laboratory<sup>1</sup>, Maastricht University Medical Center+, Maastricht, the Netherlands; Laboratory of Clinical Biochemistry<sup>2</sup>, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway; Department of Internal Medicine<sup>3</sup>, Maastricht University Medical Center+, Maastricht, the Netherlands*

**Introduction:** Middle and long-term biological variation data for hematological parameters have been reported in the literature. Within day 24-hour variability profiles for hematological parameters are currently lacking. However, comprehensive hour-to-hour variability data is critical to detect diurnal cyclical rhythms, and to take into account the 'time of sample-collection' as a possible determinant of natural fluctuation. In this study, we assessed 24-hour variation profiles for 20 hematological parameters.

**Methods:** Blood samples were collected under standardized conditions from 24 subjects every hour for 24 hours. At each measurement, 20 hematological parameters were determined in duplicate. Analytical variation, within-subject biological variation, between-subject biological variation, index of individuality and reference change values were calculated. For the parameters with a diurnal rhythm, hour-to-hour reference change values were determined.

**Results:** All parameters showed higher between-subject biological variation than within-subject biological variation. Highest between-subject biological variation was found for eosinophils (46.6% [95% CI 34.9-70.1%]) and the lowest value was mean corpuscular hemoglobin concentration (3.2% [95% CI 2.4-4.8%]). Within-subject biological variation varied from 0.4% [95% CI 0.32-0.42%] to 20.9% [95% CI 19.4-22.6%] for red cell distribution width and eosinophils, respectively. Six hematological parameters showed a diurnal rhythm. Diurnal variation data were integrated into the medical smartphone app Labtracker+, to allow more precise interpretation of within-day serial laboratory results.

**Conclusion:** We present complete 24 hour variability profiles for 20 hematological parameters. Hour-to-hour reference changes values may help to better discriminate between random fluctuations and true changes in parameters with rhythmic diurnal oscillations. Labtracker+ is the platform employed to translate biological variation data to clinically useful decision support.

#### 2. Evaluatie van de gelijktijdige bepaling van glucose en HbA1c uit een NaF buis op een BioMajesty BM6010 systeem

E.C.H.J. MICHIELSEN, J. DRENTHEM  
*Diagnostiek voor U, Laboratorium, Eindhoven*

**Inleiding:** Vaak worden bij diabetes glucose en HbA1c tegelijk aangevraagd. Hiervoor moeten dan twee verschillende buizen afgenomen worden, NaF en EDTA. In deze studie is gekeken naar de mogelijkheid om beide bepalingen tegelijkertijd uit één NaF buis te doen op een BioMajesty BM6010 systeem van Diasys. Plasma voor glucose wordt hierbij uit het bovenste deel van de buis gepipetteerd en erythrocyten voor de HbA1c bepaling uit het onderste deel van de buis. Het is belangrijk dat de erythrocyten niet te dicht opeengepakt onder in de buis komen. Hierdoor is het voor het systeem onmogelijk om de erythrocyten op te zuigen. Centrifugeren bij 800g/5min is maximaal.

**Methode:** NaF en EDTA buizen (BD) werden routinematig afgenomen bij ruim 3100 patiënten in onze oproepdienst voor diabetes. De reguliere bepalingen van glucose (Hexokinase ADVIA1800 Siemens) en HbA1c (HA8160 Menarini) werden uitgevoerd na centrifugeren bij 2500g/10min. Deze resultaten

werden vergeleken met de meting van beide parameters op de BioMajesty BM6010 nadat de NaF buizen opnieuw waren gemengd en vervolgens gecentrifugeerd bij 800g/5min. Tijdens de studie zijn tevens NaF buizen van Greiner vergeleken.

**Resultaat:** De methodevergelijkingen voor glucose en HbA1c laten zien dat deze goed overeenkomen met de huidige routinemethoden (r resp. 0,997 en 0,983). De reproduceerbaarheid is van vergelijkbaar met die van de routinebepalingen (CV resp. <5% en <2%). NaF buizen van beide leveranciers (BD en Greiner) laten identieke resultaten zien. Beide analyten zijn bij kamertemperatuur tot en met 14 dagen betrouwbaar te bepalen.

**Conclusie:** Glucose en HbA1c zijn zeer betrouwbaar gelijktijdig te meten in een NaF buis op een BioMajesty BM6010 systeem. Materialen zijn gedurende 14 dagen stabiel bij kamertemperatuur.

### 3. Evaluation of adapted ammonia method for use on the Roche Cobas 8000 automated platform

J. KAPLON-HOEKSTRA, J.J. DE GROOT, J.P. VAN STRAALLEN, M. HECKMAN, J.C. FISCHER  
*Department of Clinical Chemistry, Academic Medical Center Amsterdam, the Netherlands*

*Introduction:* Ammonia is a metabolite of protein catabolism that, when elevated, may be toxic for the central nervous system. Elevated ammonia is an indicator and a prognostic factor for hepatic and kidney disease or inherited metabolic disorders in nitrogen metabolism. The accuracy of ammonia determination is greatly influenced by sampling condition, handling, storage and assay itself. Currently most of the clinical laboratories measure ammonia on a chemistry analyser using an enzymatic method with glutamate dehydrogenase. Our laboratory experienced sample error flags (15,3%) using Roche default or Roche rerun method on Cobas. 11,3% of samples received error flag for exceeding the absorbance limits on the detector, 2% for icteric and 2% for too lipemic sample.

*Method:* The AMC method is the adaptation of Roche method that uses three times less sample for ammonia measurement. The AMC method was evaluated for 1. precision, 2. accuracy

(by means of comparison study between Roche rerun and AMC method), 3. occurrence of absorbance error flags and 4. interference by hemolysis, icterus and lipemia.

*Results:* The AMC method demonstrates acceptable within-run precision (control 1=116  $\mu\text{mol/L}$ , CV 4.3%, control 2=193  $\mu\text{mol/L}$ , CV 2.0%). Comparison studies show no differences between the Roche rerun and AMC method. For high ammonia concentration monsters the AMC method is less affected by interferences from icterus and hemolysis than the Roche rerun method and it suffers less from absorbance error (75% of samples with absorbance error with Roche rerun did not give error with AMC method).

*Conclusion:* The AMC method is less prone to instrument error flags and for samples with high ammonia concentration, is more robust to endogenous interferences. The AMC method is viable alternative to the Roche method for the ammonia measurement.

### 4. Stuwen tijdens bloedafname is geen oorzaak voor verhoogd kalium, spierkracht leveren wel

E.C.H.J. MICHIELESEN

*Diagnostiek voor U, Laboratorium, Eindhoven*

*Inleiding:* In de NVKC richtlijn veneuze bloedafname en vele andere richtlijnen staat vermeld dat (te lange) stuwning kan leiden tot hemolyse. Door hemolyse tijdens de bloedafname verhoogt het kalium in plasma omdat dit in de erythrocyten in vele hogere concentraties (140 mmol/L) aanwezig is dan in plasma (4,5 mmol/L).

*Methode:* Om duidelijk te krijgen wat de effecten van stuwen en spierkracht leveren zijn werden onder verschillende condities bloedafnames verricht bij vrijwilligers. Deze condities waren combinaties van met en zonder stuwband en met en zonder vuist maken (spierkracht). Deze afnames vonden steeds gepaard plaats in de linker en rechterarm. Hierdoor konden de kaliumresultaten steeds onderling vergeleken worden.

*Resultaat:* Er kon geen effect aangetoond worden van stuwen alleen. Het effect van spierkracht vergeleken met geen spierkracht tijdens de bloedafname bleek een statistisch (en klinisch) significante verhoging van gemiddeld 0,5 mmol/L op te leveren.

*Conclusie:* Het leveren van spierkracht tijdens een bloedafname heeft een statistisch en klinisch relevant effect op de kaliumconcentratie die gemiddeld 0,5 mmol/L hoger is dan wanneer de afname zonder spierkracht werd uitgevoerd. Wanneer er een onverwacht hoge kaliumconcentratie gevonden wordt kan beter geadviseerd worden om een nieuwe bloedafname te verrichten zonder dat de patiënt een vuist maakt. Het gebruik van een stuwband hierbij hoeft niet afgeraden te worden.

### 5. Het valideren van TDM bepalingen: Spiegelen aan de ISO-norm

D.S. BOSS<sup>1</sup>, L.J. STOKER<sup>2</sup>, H. HATZMANN<sup>1</sup>, T.L. NJO<sup>1</sup>

*Saltra afdeling klinische chemie Utrecht<sup>1</sup>, Altrecht, Brocacef Ziekenhuisfarmacie<sup>2</sup>*

*Inleiding:* Het analysepakket van Saltra omvat een groot aantal TDM bepalingen die worden gedraaid op HPLC en LC-MS systemen. In 2016 is Saltra gevisiteerd door de RvA, waarbij de validatierapporten van TDM parameters niet bleken te voldoen aan de ISO-15189 norm. TDM bepalingen ISO-proof krijgen kan een uitdaging zijn. Met name het in kaart brengen van juistheid/precisie en interferenties kan tot problemen leiden. We beschrijven hier hoe hier in de praktijk mee omgegaan kan worden.

*Methode:* Voor 54 bepalingen op LC-MS en 7 op HPLC zijn gegevens uit externe rondzendingen en eigen controles gebruikt om de juistheid en precisie in kaart te brengen. Additionele experimenten zijn ingezet om voor alle testen de detectielimiet, kwantificatielimiet, lineariteit en carry-over vast te stellen. Daarnaast is onderzoek naar mogelijke interferenties uitgevoerd.

*Resultaat:* Van de HPLC bepalingen voldeden alle onderzochten testen (anti-epileptica) aan de a priori gestelde eisen. Van de 54 onderzochte LC-MS bepalingen voldeden er 44 aan de gestelde criteria, 10 voldeden niet. Belangrijkste reden hiervoor was de afwezigheid van externe rondzendingen. Voor die parameters werden de interne controlemetingen uit dezelfde stockoplossing bepaald als de ijklijn voor de meting, wat als niet acceptabel werd bevonden. Voor deze parameters maken we nu onafhankelijke stock- en werkoplossingen voor de controle en het construeren van de ijklijn. Bij drie bepalingen werden interferenties gezien: Voor flupentixol en penfluridol zijn aanvullende interferentie experimenten ingezet. Voor fluspirileen waren de interferenties dusdanig dat besloten is deze test niet meer uit te voeren.

*Conclusie:* De gegevens van de uitgevoerde validatie experimenten, samen met de aanpassingen in de procedures voor het draaien van controles zijn voldoende om het volledige pakket te kunnen blijven draaien met uitzondering van fluspirileen.

## 6. Effect of anticoagulants on lupus anticoagulant assays

K. GIJZEN<sup>1</sup>, M. MERCANKAYA-UYAR<sup>1</sup>, W. VAN DAM<sup>1</sup>, M. VAN WIJNEN<sup>2</sup>, A. STURK<sup>1</sup>, A. STROOBANTS<sup>1</sup>  
*Laboratory for General Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam; Clinical chemistry<sup>2</sup>, Meander Medical Center, Amersfoort*

*Introduction:* Anticoagulant treatment may affect Lupus anticoagulant (LA) testing. Therefore, it is generally recommended not to perform LA testing in patients on anticoagulation. In this study we analysed the effect of six anticoagulants on the LA result of the dilute Russell's Viper Venom time (dRVVT) and Silica clotting time (SCT) assay.

*Methods:* Normal-pool plasma (NP) and Lupus-positive pool plasma (LP) were spiked with different concentrations of unfractionated Heparin, Nadroparin, Danaparoid, Enoxaparin, Fondaparinux, or Tinzaparin. LA testing in these samples was performed using the dRVVT and SCT assay.

*Results:* False-positive LA results in the dRVVT assay were observed when NP was spiked with 1.2 U/ml Heparin, 2 U/ml Nadroparin, 1 and 2 U/ml Danaparoid, 2 U/ml Enoxaparin, and 1 and 2 U/ml Tinzaparin. In the SCT assay no false-positive LA results were observed when NP was spiked with anticoagulants.

However, the normalized LA ratio from the SCT assay decreased substantially when NP was spiked with anticoagulants except for Fondaparinux. This decrease in normalized LA ratio was also observed with LP spiked with anticoagulants, resulting in false-negative LA results for 1.2 U/ml Heparin, 2 U/ml Nadroparin, and 2 U/ml Tinzaparin. For the dRVVT assay no false-negative LA results were observed with LP spiked with anticoagulants. *Conclusion:* The dRVVT and SCT assays were not affected by Fondaparinux, even at peak levels. This indicates LA testing can be reliably performed in material from patients receiving Fondaparinux therapy. For Heparin, Nadroparin, Danaparoid, Enoxaparin, and Tinzaparin false-positive LA results with the dRVVT assay and false-negative LA results with the SCT assay can be observed. Therefore, caution is required for LA testing in patients receiving Heparin, Nadroparin, Enoxaparin, Danaparoid or Tinzaparin.

## 7. Evaluation of the CP30000 coagulation analyzer

A.K. STROOBANTS<sup>1</sup>, B. BAKKER<sup>1</sup>, E.J. VAN DEN DOOL<sup>1</sup>, J.J.M.L. HOFFMANN<sup>2</sup>, M. HECKMAN<sup>1</sup>  
*General Laboratory for Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam; Abbott Haematology<sup>2</sup>, Hoofddorp.*

*Introduction:* The CP3000 is a coagulation analyzer for average to large sized laboratories. It is, combined with a range of reagents for clotting (PT, aPTT, fibrinogen, thrombin time), chromogenic (antithrombin) and immunoturbidimetric (D-dimer, FDP) assays, manufactured by Sekisui Medical and launched in Europe by Abbott. The aim of this study was to investigate its analytical performance.

*Methods:* The CLSI H57 protocol was used to study precision (N= 20 or higher), carry-over, reagent stability and sensitivity, reference ranges and interfering factors for all assays.

*Results:* Within-run and total CV were maximal (based on three levels) 1.1 and 2.2% for PT, 2.3 and 2.8% for aPTT, 4.2 and 4.5 for thrombin time, 4.2 and 7.1% for antithrombin, 5.2 and 7.4 for fibrinogen, 12.2 (12.6% at clinical cut-off) and 15.0% for D-Dimer and 23.8 and 26.5% (both at low level of 2.0 mg/L) for FDP. Statistically significant sample and reagent

carry-over issues were demonstrated, which were however clinically not relevant. For example aPTT before and after a fibrinogen test 31.8s and 32.0s, respectively. Reagent on-board stability was satisfactory, ranging from 30 h for antithrombin to 582 h for D-dimer. Reference ranges were for PT 10.6-13.4s (N = 191) and aPTT 25.6-38.4s (N = 177). Sensitivity of the aPTT and PT reagents to factor deficiencies was established with prolongation of the clotting time at 10-20% and 20-40% deficiency respectively.

*Conclusion:* The CP3000 and associated reagents are easy to handle. The system is small and very fast when measuring coagulation based and chromogenic assays, but slower for the immunoturbidimetric methods. Its analytical performance meets medical needs and is well suited for use in a clinical laboratory.

## 8. Inter-individual variability in phospholipid-dependent interference of C-reactive protein on activated partial thromboplastin time (aPTT)

L. ERDEM-ERASLAN<sup>1,2</sup>, J.J.H. HENS<sup>2</sup>, A.P. VAN ROSSUM<sup>3</sup>, M.A.M. FRASA<sup>4</sup>, J.F.W. KEUREN<sup>2</sup>  
*Departments of Clinical Chemistry, Erasmus MC, University Medical Center, Rotterdam<sup>1</sup>; Groene Hart Hospital, Gouda<sup>2</sup>; HMC Bronovo, Den Haag<sup>3</sup>; Langeland Ziekenhuis, Zoetermeer<sup>4</sup>*

*Introduction:* The activated partial thromboplastin time (aPTT) is determined in patients with unexplained bleeding or for estimating the bleeding risk prior to invasive procedures. In recent years, several studies have shown that C-reactive protein (CRP) in vitro interferes with commonly used aPTT assays by binding to phospholipids (PLs). As PLs act as catalytic surfaces in blood coagulation, elevated CRP could increase the aPTT, especially when the aPTT is determined with low concentrated phospholipid reagents.

*Methods:* The effect of CRP interference is evaluated on two commonly used aPTT assays: STA Cephascreen (Stago) and Actin FS (Siemens). Ten patients with elevated CRP and prolonged aPTT (Cephascreen) are included in this study. To determine dose dependency and the CRP concentration at which interference starts, serial dilutions are made with citrated

patient plasmas and normal plasma. Of each dilution, CRP and aPTT (Cephascreen and Actin FS) are measured.

*Results:* There is a dose dependent increase of CRP on the Cephascreen aPTT ( $r^2=0.6$ ), while the Actin FS aPTT remains almost unaffected ( $r^2=0.2$ ). The Cephascreen aPTT decreased after addition of phospholipids 4-7 s ( $p=0.02$ ), confirming that this phenomenon is phospholipid-dependent. In addition, there is large inter-individual variability in CRP interference. The CRP concentration, at which interference started, ranged between 11.7 mg/L and 92.9 mg/L with a maximum prolongation of 11s with a CRP level of 109 mg/L.

*Conclusion:* CRP interferes with the low-phospholipid STA Cephascreen reagent, resulting in falsely prolonged aPTT. This phenomenon is dose dependent and varies between individuals. We propose to use a CRP-independent assay when a prolonged aPTT is found in patients with CRP levels >11 mg/L.

## 9. A sensitive aPTT test as a predictor of a negative lupus anticoagulant (LAC)

T.J. SCHUIJT<sup>1</sup>, M. DE GROOT<sup>1</sup>, J. WESTERINK<sup>2</sup>, M. LIMPER<sup>3</sup>, R. URBANUS<sup>1</sup>, A. HUISMAN<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry and Hematology<sup>1</sup>; Department of Internal Medicine<sup>2</sup>; Department of Rheumatology and Clinical Immunology<sup>3</sup>, University Medical Center Utrecht, Utrecht*

**Introduction:** Ruling out Lupus Anticoagulant (LAC) with the use of a screening test could be cost-effective. We therefore evaluated the use of a sensitive aPTT reagent to establish the negative predictive value of the aPTT result within the reference range for a negative LAC result.

**Methods:** For this study data from the Utrecht Patient Oriented Database (UPOD) was used. The activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) was measured using PTT-A reagent (Diagnostica Stago, Asnieres-sur-Seine, France). For the measurement of Lupus Anticoagulant 2 different assays are used: a diluted Russel Viper Venom Time (dRVVT) and a aPTT. 4 different reagents are used: STA Staclot dRVV screen; STA Staclot dRVV confirm; STA PTT-LA (all: Diagnostica Stago, Asnieres-sur-Seine, France) and

Actin FS (Siemens, Marburg, Germany). All measured on a STA-Rack Evolution coagulation analyzer according to the instructions of the manufacturer.

**Results:** We started with a database with in total 3347 patient samples including both LAC and aPTT results. Of these samples 1536 samples had a normal aPTT result (i.e. a result within the reference range). Of these 1536 samples 29 were found to be positive for LAC and 1507 negative. Therefore the negative predictive value of a normal aPTT for LAC is 98.1%.

**Conclusion:** In this study we demonstrate a lupus sensitive activated Partial Thromboplastin Time (aPTT) test with a high negative predictive value to rule out the presence of LAC. This cost-effective screening test could result in a more rapid diagnosis.

## 10. Analytical validation of the new Hemoclot(TM)LA test in comparison with HemosIL®Silica clotting time and HemosIL®dRVVT assay on the ACL-TOP analyser

M. SCHOORL, C. DAS, M. CHEVALLIER, R.K. SCHINDHELM, M. SCHOORL

*Department of Clinical Chemistry, Hematology & Immunology, Northwest Clinics, Alkmaar*

**Introduction:** Identification of lupus anticoagulants (LA) by laboratory testing is critical for investigating unexpectedly prolonged APTT values and diagnosing antiphospholipid syndrome. In this study analytical performances of three different commercial methods for LA were evaluated.

**Methods:** Hemoclot(TM)LA test (Hyphen BioMed), HemosIL®Silica Clotting Time (SCT) and HemosIL®dRVVT assays (Instrumentation Laboratory) were evaluated on the ACL-TOP analyser. Reagents of HemoclotTMLA and HemosIL®dRVVT assays include low and high concentrations of simplified diluted Russell's Viper Venom. Reagents of the HemosIL®SCT assay have low and high concentrations of phospholipids. The study was performed in 22 citrated plasma samples of subjects suspect for LA (group 1). In order to determine the upper limit reference ranges (99th percentile; in-house cut-off), a reference group of 70 blood donors (Sanquin) was used (group 2).

**Results:** Intra-assay and day-to-day precisions of all assays were <1,5% and <2,5%, respectively. The 99th percentile cut-off values of the normalized LA ratio were all higher in comparison with the cut-off values of the manufacturer: Hemoclot(TM)LA test 1.27 vs 1.20, HemosIL®SCT 1.31 vs 1.16 and HemosIL®dRVVT 1.24 vs 1.20. Using in-house or manufacturer's cut-offs, both HemoclotTMLA and HemosIL®dRVVT assays resulted in 100% agreement for LA interpretation. With HemosIL®SCT the number of positive LA samples in group 1 and group 2 decreased from 8 to 4 and 8 to 1, respectively. In group 1 HemosIL®dRVVT assay resulted in one extra LA positive case compared to Hemoclot(TM)LA (95% agreement). Four cases of group 1 and none of the cases in group 2 were LA positive with all three assays.

**Conclusion:** The new Hemoclot(TM)LA is easy to perform on an ACL-TOP analyzer and resulted in analytically reliable results.

## 11. Point of care global hemostasis monitoring in cardiothoracic surgery using the novel TEG6s thrombelastograph

M. BOSMA<sup>1</sup>, E.A. VLOT<sup>2</sup>, D. VAN LOON<sup>1</sup>, C.M. HACKENG<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, departments of Anesthesiology, Intensive Care, and Pain Medicine<sup>2</sup>, Antonius Hospital, Nieuwegein, Utrecht*

**Introduction:** Complex cardiovascular surgery is associated with a high demand for blood transfusion products. Point-of-care assessment of hemostasis status aids in selection of the blood product and/or therapeutic of choice, hence improving cost-effectiveness and patient outcomes. The novel TEG<sup>®</sup>6s thrombelastograph<sup>®</sup>, the successor of the TEG<sup>®</sup>5000 which required manual pipetting and reagent mixing, is an easy-to-use cartridge-based system allowing four different assays to be run in parallel. Here, we present a technical and clinical verification of the TEG6s, a medical decision algorithm for blood product and procoagulant selection during cardiothoracic surgery, and a verification of the use of the pneumatic tube system for sample transport.

**Methods:** Patients eligible for the study were aged >18 years and scheduled for coronary artery bypass grafting (CABG). Either before or after protamine administration, a blood sample was drawn from an arterial line and collected in citrated tubes. For validation of the pneumatic tube system, duplicate samples

were transferred from the surgery facility to the laboratory by pneumatic tube or manually.

**Results:** The TEG6s system was technically validated following the CLSI EP15-A3 protocol, with precision and accuracy matching the acceptance criteria reported by the manufacturer. CVs ranged from 0.1% to 9.6% for the different TEG parameters. The system was further clinically verified using patient material on four TEG6s systems (n=4x10), showing no significant intra-individual differences for all parameters with a mean CV within subjects of 5.5%. Furthermore, transport of samples by the pneumatic tube system versus manual transfer revealed no significant differences (P-values>0.05 for all parameters).

**Conclusion:** The TEG6s system is an easy-to-use point-of-care hemostasis monitoring system with high analytical performance, aiding in blood product and procoagulant selection peri-cardiothoracic surgery.



## Categorie 1 Analytisch Immunoassay, (bloedgroepen-)serologie

### 12. A new assay to measure fecal Calprotectin: analytical and clinical validation in patients with inflammatory bowel disease

R. VICENTE STEIJN, R. BISHESHAR, P.H. GOEDHART, I-A. HAAGEN  
*Laboratory of Hematology and Clinical Chemistry, OLVG Oost, Amsterdam*

**Introduction:** Inflammatory Bowel Disease (IBD) comprises two major disorders: ulcerative colitis (UC) and Crohn disease (CD). These two disorders can be distinguished from irritable bowel syndrome (IBS). Fecal Calprotectin concentration is a helpful marker used to diagnose IBD. We have studied a new assay to measure fecal Calprotectin and evaluated whether it is suitable for the patient population.

**Methods:** An analytical validation was conducted using the fecal Calprotectin kit from DiaSorin with the Liaison XL. The variation of the extraction process, the stability of the extract, the inter and intra-run variability, the linearity and the carry-over were assessed, a.o. parameters. For the clinical validation, 303 samples were measured divided in 5 groups: UC, CD, IBS, other gastrointestinal problems and controls.

**Results:** The Calprotectin extract showed stability under different conditions. Other analytical parameters (i.e. extraction

process, inter- and intra-run variability, linearity, carry-over, etc) were within the predefined criteria. Patients suffering from IBD, i.e. the UC ( $710 \pm 921 \text{ mg/kg}$ ) and CD ( $967 \pm 1243 \text{ mg/kg}$ ) group showed significant elevated levels ( $>$  the cut-off value of  $50 \text{ mg/kg}$ ) of fecal Calprotectin. The other non-IBD groups all showed significantly lower levels: IBS ( $23 \pm 43 \text{ mg/kg}$ ), Other GI problems ( $53 \pm 68 \text{ mg/kg}$ ) and Controls ( $11 \pm 8 \text{ mg/kg}$ ). 9 patients were measured before and after therapy was started, showing significant lower fecal Calprotectin levels after treatment. The fecal Calprotectin assay yielded a Sensitivity of 95,6% and a Specificity of 95,1%. The ROC curve showed an area under the curve of 0,97 ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Fecal Calprotectin measured using the DiaSorin assay can be used to distinguish between IBD and non-IBD patients. It is also suitable for follow-up of diagnosed IBD patients. The new assay is quick and easy to use.

### 13. Oxidation of PTH: in vivo feature or effect of pre-analytical conditions?

S. URSEM<sup>1</sup>, M. VERVLOET<sup>2</sup>, J. HILLEBRAND<sup>3</sup>, R. DE JONGH<sup>4</sup>, A. HEIJBOER<sup>1</sup>  
*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Department of Nephrology<sup>2</sup>, Department of Internal Medicine<sup>4</sup>, VU University Medical Center, Amsterdam; Department of Clinical Chemistry<sup>3</sup>, Academic Medical Center, Amsterdam*

**Introduction:** Post-translational oxidation of PTH influences its biological activity. It is debated whether oxidation of PTH mainly occurs ex vivo, which would limit its clinical significance. The aim of this study was to investigate the influence of different pre-analytical conditions on non-oxidized PTH (n-oxPTH) measurements within a wide range of PTH concentrations and oxidation propensity.

**Methods:** N-oxPTH was separated from its oxidized form using an affinity column which captures the oxidized PTH and the eluate was used to measure n-oxPTH using commercially available PTH assays. The study included EDTA plasma samples of 17 patients undergoing hemodialysis (HD) and of 32 control subjects. The effect of storage temperature, time until centrifugation and freeze-thaw cycles was determined. PTH and n-oxPTH concentrations were measured in each sample using six different immunoassays.

**Results:** N-oxPTH concentrations were not affected up to 180 minutes until centrifugation, two freeze-thaw cycles or storage at  $-20^\circ\text{C}$  or  $-80^\circ\text{C}$  up to 79 days. Various methods for n-oxPTH and PTH measurements were highly comparable. However, standardization differences between the different PTH assays and n-oxPTH assays were unequal.

**Conclusion:** N-oxPTH is stable in plasma samples under the circumstances of our study, indicating that ex vivo oxidation of PTH is negligible. In addition, commercially available PTH immunoassays have a different sensitivity for n-oxPTH. For this reason, the ratio between the n-oxPTH and total PTH cannot be used in absence of a n-oxPTH standard. Clinical implications of determining n-oxPTH instead of PTH require additional studies.

### 14. Verificatie van de 25(OH)vitamine D bepaling op de Architect ci-16200 in verschillende patiëntengroepen

A.M. DE JONG, M.M. BUIJS  
*Atalmedial Diagnostische Centra, Hoofddorp*

**Inleiding:** De nieuwe 25(OH)vitamine D methode van Abbott wordt geverifieerd.

**Methode:** De verificatie is gedaan middels een precisieprotocol en een methodevergelijk met als referentiemethode LC-MS/MS ( $n=301$ ). De verificatiecriteria zijn een maximaal toegestane totale variatiecoëfficiënt (VC) van 15,0% (15-25 nmol/l), 10,0% (25-40 nmol/l), 8,0% (40-60 nmol/l) en 6,0% ( $>60$  nmol/l). Het methodevergelijk middels Passing-Bablok regressieanalyse is uitgevoerd in verschillende patiëntengroepen. Hiervoor zijn de verificatiecriteria een niet significant afwijkende intercept en slope t.o.v. de referentiemethode en een  $r > 0.90$ . Bij overschrijding van deze criteria geldt dat, per patiëntengroep, maximaal 20% buiten 2SD, 6% buiten 3SD en 2% buiten 4SD mag vallen, waarbij wederom een VC van 15,0% (15-25 nmol/l), 10,0% (25-40 nmol/l), 8,0% (40-60 nmol/l) en 6,0% ( $>60$  nmol/l) geldt.

**Resultaat:** De totale VCs van de 25(OH)vitamine D immunoassay op de Architect zijn 3,2% (26 nmol/l), 2,1% (58 nmol/l) en 2,3% (120 nmol/l). Het methodevergelijk met de LC-MS/MS gaf de volgende resultaten [ $n$ ; slope (95%CI); intercept (95%CI);  $r$ ]: totale patiëntengroep [301; 0,82(0,81-0,84); 1,4 (0,4-2,5); 0,98]; eerste lijns patiënten [150; 0,89(0,86-0,91); -0,4(-2,3-1,0); 0,98]; patiënten met een slechte nierfunctie (kreatinine  $585 \pm 209 \mu\text{mol/l}$ ) [50; 0,79(0,74-0,84); 0,8(-4,1-5,6); 0,98]; IC patiënten (albumine  $28,9 \pm 5 \text{ g/l}$ ) [51; 0,82(0,76-0,88); 3,0(0,8-5,2); 0,98]; zwangeren (30  $\pm$  9 weken) [50; 0,74(0,70-0,79); 2,4(0,5-4,5); 0,99]. Samenvattend wordt met deze methode de 25(OH) vitamine D concentratie in alle onderzochte patiëntengroepen onderschat. Indien echter een factor van 1,18 wordt toegepast, voldoet het methodevergelijk wel aan de criteria. Uitzondering is de patiëntengroep met een slechte nierfunctie, waarbij 25(OH) vitamine D concentraties enigszins onderschat blijven.

*Conclusie:* De 25(OH)vitamine D op de Architect voldoet, met inachtneming van een factor, aan de verificatiecriteria en

is daarmee geschikt om in een gevarieerde patiëntenpopulatie 25(OH)vitamine D voldoende betrouwbaar te kunnen bepalen.

## 15. Analytische en klinische verificatie van de DiaSorin Liaison calprotectine methode

L.P.J. PELKMANS<sup>1</sup>, M.J.M. DE GROOT<sup>1</sup>, V. VAN MOORSEL<sup>2</sup>, O. PETERS<sup>1</sup>, J. CURVERS<sup>2</sup>

*Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium en Trombosedienst<sup>1</sup>, ETZ, Tilburg; Algemeen Klinisch Laboratorium<sup>2</sup>, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven*

*Inleiding:* Calprotectine is een waardevolle niet-invasieve bepaling om onderscheid te maken tussen inflammatoire darmziekten en prikkelbaar darmsyndroom. Recentelijk is een nieuwe calprotectine methode van de firma DiaSorin (Liaison) verschenen die de concentratie calprotectine in feces bepaalt. Onze studie beschrijft de verificatie van deze methode.

*Methode:* Experimenten zijn uitgevoerd in twee centra (Catharina Ziekenhuis Eindhoven en ETZ Tilburg). Reproduceerbaarheid, stabiliteit en lineariteit van de DiaSorin methode zijn onderzocht. Er heeft een methodevergelijking plaatsgevonden tussen de DiaSorin methode versus de Thermo Scientific EliA CN methode (Phadia) en de Bühlmann methode (Cobas 8000). Tevens zijn de klinische prestaties van de methodes bekeken.

*Resultaat:* In de DiaSorin methode is waargenomen dat de pre-analyse (bemonsteren/extractie van de feces) een grote mate van variatie in resultaat veroorzaakt (gemiddelde VC=20%;

N=9). Reproduceerbaarheid varieerde tussen de centra (VC=5-17%). Het fecesextract is stabiel gedurende 6 uur wanneer bewaard bij 4°C (gemiddelde VC=8%; N=5). De DiaSorin methode meet lineair tussen 25 en 800 ug calprotectine /g feces. Uit de methodevergelijkingen blijkt dat de DiaSorin methode lager meet dan de EliA methode (bias -28%, N=102) en de Bühlmann methode (bias -101%, N=43). De DiaSorin methode heeft een vergelijkbare klinische performance ten opzichte van de EliA en de Bühlmann methode.

*Conclusie:* Uit ons onderzoek is gebleken dat de voorbereiding van de feces een zeer belangrijke rol speelt bij de analyse. De DiaSorin methode meet lager dan de EliA methode. Beide methodes maken gebruik van monoklonale antistoffen. De Bühlmann methode, die gebruik maakt van polyklonale antistoffen, meet hoger dan de andere methodes. Een voordeel van de DiaSorin en Bühlmann methodes is dat de testen continu kunnen worden aangeboden in de routine.

## 16. Analytical evaluation of two routine procalcitonin measurements on the Architect platform

B.A. WEVERS\*, H. BUI\*, M.M. BUIJS, M.H. HERRUER

*Atalmedial Medical Diagnostic Centers, Hoofddorp. Equal contribution\**

*Introduction:* Procalcitonin (PCT), a thyroid-derived prohormone, is considered a useful biomarker in the diagnosis and treatment of bacterial infection. Emerging evidence suggests that assessment of PCT might help to reduce the (duration of) use of antibiotics. In light of its promising clinical applicability, PCT should be readily available and preferably measured on random-access platforms at low costs. This study aimed to evaluate the analytical performance characteristics of two novel PCT immunoassays: the Diazyme PCT assay (latex-enhanced immunoturbidimetric assay) and the Brahms PCT assay (chemiluminescent microparticle immunoassay), both on the Abbott Architect platform.

*Methods:* Assay precision was assessed by measuring commercially available controls (BioRad) on ten consecutive days. Correlation studies with serum samples (n=40) were performed comparing both methods with the Brahms PCT assay on the miniVidas

platform as the reference method (enzyme-linked fluorescent assay).

*Results:* The precision-study of the Diazyme assay yielded a coefficient of variation of 18.6%, 9.1%, and 5.0% at levels of 0.34, 1.27, and 19.0 ng/mL, respectively. Comparison between Diazyme assay and Brahms on the miniVidas was cancelled after analysing 24 samples because of a poor correlation. PCT by Diazyme deviated -80% to +170% at levels <2 ng/mL and -60% to -25% at levels > 2ng/mL. Performance of the Brahms PCT assay for Architect is currently under investigation.

*Conclusion:* Analytical applicability of the Diazyme PCT assay on the Architect platform could not be confirmed in this study. Our data suggest that the Diazyme method is not suitable for routine diagnostic use, and emphasizes the importance of assay standardization.

## 17. Stability of ACTH: less of a problem?

L. VAN UXEM, Y. BOSSENBROEK, E. ENDERT, J. HILLEBRAND

*Department of Clinical Chemistry, Laboratory of Endocrinology, Academic Medical Center, University of Amsterdam*

*Introduction:* ACTH is a 39 amino acid containing peptide hormone which is notorious for its instability in blood samples due to proteolytic degradation. In our laboratory (and many others) we intend to prevent proteolytic degradation of ACTH by collecting blood samples on ice followed by centrifugation of blood at 4°C. Despite being current practice, the necessity and efficacy of these preanalytical procedures are currently unclear.

*Methods:* We studied the stability of ACTH in EDTA plasma following different preanalytical conditions in healthy volunteers. Blood was 1) collected by venipuncture, immediately placed on ice and centrifuged in a chilled centrifuge (4°C) after

1 h, 2) collected by venipuncture, placed at room temperature (RT) and immediately centrifuged (RT), or 3) collected by venipuncture, placed at RT and centrifuged (RT) after 1 h. After centrifugation plasma was aliquoted and stored at RT, 4°C, -20°C or -80°C during 24 h. Afterwards all samples were stored at -80°C until further processing. ACTH was determined with a chemiluminescent immunometric assay (Immulite 2000, Siemens, Los Angeles, USA, inter-assay variation (CV) 9%). All samples from a single volunteer were measured in the same run.

*Results:* ACTH levels varied little between the 3 preanalytical conditions. Variations in ACTH levels did not exceed the

inter-assay variation. Storage of EDTA samples at 4 different temperatures did also not lead to variations in ACTH levels exceeding inter-assay variation. ACTH levels ranged from 5 to 50 ng/L.

*Conclusion:* This study suggests that the current preanalytical practice for ACTH blood collection has no added value for preventing proteolytic degradation of ACTH in healthy volunteers.

## 18. Vergelijking van drie verschillende 25(OH)vitamine D bepalingen

A.M. DE JONG, M.M. BUIJS  
*Atalmedial Diagnostische Centra, Hoofddorp*

*Inleiding:* Van de 25(OH)vitamine D bepaling is bekend dat deze afhankelijk van de gebruikte methode binnen verschillende patiëntenpopulaties kwantitatieve verschillen kan laten zien (ref). De data van een vergelijking van verschillende meer en minder recent geïntroduceerde 25(OH)vitamine D methodes worden gepresenteerd.

*Methode:* De volgende 25(OH)vitamine D methoden werden vergeleken met een LC-MS/MS als referentiemethode: Modular (P)E (2011, Roche), Architect ci-16200 (2016, Abbott) en Lumipulse G1200 (2015, Fujirebio). Er werd een Passing-Bablok regressieanalyse gedaan, waarbij de Pearson's correlatiecoëfficiënt ( $r$ ) werd berekend. Patiëntengroepen die werden onderzocht waren, eerste lijns patiënten ( $n = 150$ ), patiënten met een slechte nierfunctie ( $n = 50$ ), IC-patiënten ( $n = 51$ ) en zwangeren ( $n = 50$ ).

*Resultaat:* De patiënten met een slechte nierfunctie hadden gemiddeld een kreatinine van  $585 \pm 209 \mu\text{mol/l}$  en de zwangeren waren  $30 \pm 9$  weken zwanger. Het methodevergelijk gaf de volgende resultaten [slope totale patiëntenpopulatie (range subgroepen); intercept totale patiëntenpopulatie (range

subgroepen);  $r$  totale patiëntenpopulatie (range subgroepen)]: Modular [1,03(0,78-1,10); -4,9(-12,2-3,9); 0,89(0,85-0,96)]; Architect [0,82(0,74-0,89); 1,4(-0,4-3,0); 0,98(0,98-0,98)]; Lumipulse [0,83(0,70-0,88); -4,8(-5,7;-3,0); 0,99(0,98-0,99)]. De gemiddelde concentratie 25(OH)vitamine D wordt corrigeerbaar onderschat met de Lumipulse en de Architect. Dit geldt echter niet voor de Modular, waarbij in de totale patiëntenpopulatie de gemiddelde 25(OH)vitamine D concentratie wel correct wordt bepaald, echter met een grote variatie tussen de verschillende patiëntengroepen. Alle genoemde methodes geven een onderschatting van de 25(OH)vitamine D concentratie in de groep zwangeren.

*Conclusie:* Het is, ook met de nieuwere 25(OH)vitamine D methodes, belangrijk om bij een methode verificatie, rekening te houden met verschillende patiëntenpopulaties, waarvan bekend is dat deze van invloed kunnen zijn op de analytische prestaties van de methode.

*Literatuur:* Heijboer et al. Clin Chem 2012, 58:3, 543-548

## 19. Cardiac troponin T: small fragments after endurance exercise, similar to renal patients but smaller than after onset of myocardial infarction

S.T.P. MEZGER<sup>1\*</sup>, S. MASOTTI<sup>2\*</sup>, E.P. CARDINAELS<sup>1</sup>, E.C. MICHIELSEN<sup>1</sup>, A. CLERICO<sup>2</sup>, S.J. MEEEX<sup>1</sup>, O. BEKERS<sup>1</sup>, A.M.A MINGELS<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Maastricht University Medical Center, Maastricht, the Netherlands; Scuola Superiore Sant'Anna<sup>2</sup>, Pisa, Italy. Equal contribution\**

*Introduction:* Cardiac troponin T (cTnT) is worldwide the preferred biomarker to diagnose acute myocardial infarction (AMI). We previously reported that cTnT after AMI is degraded in a time-dependent pattern (1), while only smaller cTnT fragments were found in patients with end-stage renal disease (ESRD) (2). We hypothesize that we hereby are able to differentiate the acute phase of cTnT elevation from chronically elevated cTnT.

*Methods:* Gel filtration chromatography (GFC) was applied to sera from marathon runners and cyclists (respectively  $n=10$  and  $n=4$ , before and/or after competition). Identification and quantitation of circulating cTnT molecular forms was done with purified cTnT standards (cTnT-I-C complex and intact cTnT, HyTest) and elution profiles from AMI and ESRD patients as previously reported (1,2).

*Results:* Median (IQR) cTnT increased significantly from 3.5 (3.0-5.4) ng/L at baseline to 86.2 (62.0-126.9) ng/L post-race ( $p < 0.0001$ ), reaching cTnT levels >99th percentile (14 ng/L)

in 100% of the athletes. GFC analysis of post-race serum samples showed a single peak with a retention volume of 45 mL. For comparison, purified cTnT-I-C complex (77 kDa) and intact cTnT (40 kDa) eluted at 20 and 27.5 mL, respectively. AMI patients' sera revealed cTnT peaks at 27.5 and 45 mL, where ESRD sera revealed a single peak at 45 mL, which was previously allocated to cTnT degradation fragments of  $\leq 18$  kDa (1,2).

*Conclusion:* Exercise-induced levels of cTnT were identified being only small cTnT degradation fragments ( $\leq 18$  kDa), similar to ESRD patients (2) but smaller fragments than seen in the acute phase of myocardial infarction (1). This suggests that exercise-induced cTnT elevations might not be caused by acute myocardial damage.

*Literature:* 1. Cardinaels et al. Clin Chem 2013. 2. Mingels et al. Clin Chem, accepted

## 20. Falsely elevated troponin I levels may result in overdiagnosis of myocardial infarction

I. REVET, M. VAN DEN BROEK, H. KEMPERMAN  
*Department of Clinical Chemistry and Haematology, University Medical Center Utrecht, Utrecht*

*Introduction:* Cardiac troponin measurements are routinely used as biomarkers in the diagnosis of myocardial infarction (MI). Transient false positive troponin levels have been associated with (pre)analytical factors, such as residual fibrin strands or other microparticles. Since false elevated troponin levels may initiate unnecessary clinical follow up, we investigated

the incidence of these inaccuracies by comparing troponin measurements before and after an additional centrifugation step.

*Methods:* This study included 574 troponin I measurements performed in our hospital over the course of 2 months. Blood was drawn into lithium heparin tubes and centrifuged at 2.000g

for 5 minutes. Troponin I was measured using the AccuTnI+3 assay on the Unicel DxI 800 (Beckman Coulter). A rerun was requested automatically when troponin I results exceeded the clinical decision limit of 60 ng/L. Plasma was transferred into a new vial and centrifuged at 18.626g for 7 minutes prior to reanalysis. In contrast to previous studies, samples were not frozen between analysis and reanalysis.

**Results:** 25% (n=143) of the samples exceeded the recommended coefficient of variation at the diagnostic threshold of 10%. 44% (n=63, 11% of all samples) of these initial positive results were

below the clinical decision limit of 60 ng/L troponin I after reanalysis.

**Conclusion:** We demonstrate that 11% of initial elevated troponin I results are negative after reanalysis with an additional high-speed centrifugation step. These falsely elevated troponin I results may lead to overdiagnosis of MI. Additionally blindly reporting the second troponin result is appropriate. We recommend to routinely reanalyze samples with an initial troponin I level exceeding 60 ng/L following a second high-speed centrifugation step.

## Categorie 1 Analytisch

**Chromatografie: HPLC, GC, CE**

### 21. De vergelijkbaarheid van HbA1c in vers en ingevroren volbloed van vrijwilligers met en zonder hemoglobinopathie vanuit de HELIUS en RODAM studie.

J.P. VAN STRAALEN<sup>\*1</sup>, R.C.C. HENGEVELD<sup>\*1</sup>, E.J.A.J. BEUNE<sup>2</sup>, C.O. AGYEMANG<sup>2</sup>, M.B. SNIJDER<sup>2</sup>, R.J.G. PETERS<sup>3</sup>, A. STURK<sup>1</sup>

AMC<sup>1</sup>, Laboratorium Algemene Klinische Chemie, Amsterdam, AMC<sup>2</sup>, UvA, Sociale Geneeskunde, Amsterdam, AMC<sup>3</sup>, Cardiologie, Amsterdam. \*Deze auteurs hebben gelijk bijgedragen aan deze studie.

**Inleiding:** Geglycosyleerd hemoglobine (HbA1c) is een parameter voor de glycemische index over een periode van 2-3 maanden en wordt toegepast voor het monitoren van diabetes mellitus. De consistentie van HbA1c-metingen in ingevroren volbloed t.o.v. vers volbloed is niet volledig geïnventariseerd. In deze studie hebben wij onderzocht hoe de HbA1c-concentratie zich verhoudt tussen vers en ingevroren volbloed van Ghanese vrijwilligers met en zonder hemoglobinopathie.

**Method:** Twee EDTA-volbloed monsters zijn gelijktijdig veneus afgenomen bij 1450 Ghanese vrijwilligers vanuit de HELIUS en RODAM studie, waarin zij toestemming geven voor wetenschappelijk onderzoek. Uit één monster werd binnen 24 uur de HbA1c-concentratie gemeten m.b.v. een Tosoh-G8 IC/HPLC-analyzer. Het tweede monster werd ingevroren (-80 °C), na 8-12 maanden ontdooid en daarna de HbA1c-concentratie gemeten. Aan de hand van het chromatogram is er onderscheid gemaakt tussen vrijwilligers zonder (n=1077) en met (n=363) hemoglobinopathie. HbF bevattende monsters (n=10) zijn geëxcludeerd.

**Resultaat:** Er is een sterke correlatie tussen de HbA1c-concentraties van vers en ingevroren monsternormaal (y= 0,948x - 0,820, n=1450, R=0,979). De gemiddelde HbA1c-concentratie in vers volbloed is 39,5 mmol/mol en 36,6 mmol/mol in ingevroren materiaal (-2,9 mmol/mol, p=<0,0001). De HbA1c-concentratie in vers volbloed van vrijwilligers met een hemoglobinopathie is gemiddeld 3,0 mmol/mol lager dan in vrijwilligers met wild-type hemoglobine (37,3 mmol/mol (n=363) vs. 40,3 mmol/mol (n=1077), p=<0,0001). Tot slot, invriezen leidt tot een sterkere verlaging van de gemiddelde HbA1c-concentratie in volbloed van vrijwilligers met een hemoglobinopathie t.o.v. vrijwilligers met wild-type hemoglobine (34,1 mmol/mol vs. 37,5 mmol/mol, p=<0,0001).

**Conclusie:** Invriezen leidt tot een concentratievermindering van HbA1c in EDTA-volbloed die o.a. afhankelijk is van de aanwezigheid van hemoglobinopathie. Hiermee dient rekening te worden gehouden bij de interpretatie van de HbA1c-uitslagen van ingevroren monsters.

### 22. Simultaneous measurement of whole blood vitamin B1 and vitamin B6 using LC-ESI-MS/MS

R.J.A.C. ROELOFSEN-DE BEER, B.D. VAN ZELST, P.G. KOIJ, Y.B. DE RIJKE

Department of Clinical Chemistry, Erasmus MC, University Medical Center Rotterdam

**Introduction:** Our aim was to develop a method to measure the concentration of the biologically active forms of vitamin B1 (thiamine pyrophosphate, TPP) and vitamin B6 (pyridoxal phosphate, PLP) in EDTA whole blood with LC-ESI-MS/MS and compare this new procedure with established homemade methods for total thiamine and PLP.

**Methods:** A stable isotope (TPP-d3 & PLP-d3) was added to the samples, followed by deproteinization with 10% TCA. After centrifugation, 20 µl of the supernatant was injected into the LC-ESI-MS/MS. Reversed phase chromatography was performed on a UPLC system, using a Waters Symmetry C18 column, with a gradient of 0.1% formic acid in methanol. TPP and PLP were measured on a tandem MS with respective mass transitions of 425.1>121.85 and 247.9>149.9.

**Results:** The chromatographic run lasts 2 minutes. The method is linear from 0-300 nmol/L. The intra-assay and inter-assay precision are 3.2% and 10.4% respectively for TPP and 3.8%

and 5.5% for PLP. The matrix effect (absolute: TPP 107%, PLP 101% and relative: TPP 97%, PLP 93%), recovery (TPP 99%, PLP 94%) and lower limit of quantification (TPP 12 nmol/L, PLP 6 nmol/L) are acceptable. The comparison of the new LC-ESI-MS/MS method for TPP with our current HPLC-FI method for total thiamine yields the following equation: LC-MS/MS=0.97 [0.86-1.10] x HPLC - 10.61 [-27.77-2.70] (r2=0.94). The comparison of the new LC-ESI-MS/MS method for PLP with our current LC-ESI-MS/MS method results in LC-MS/MS new=1.01 [0.98-1.04] x LC-MS/MS old - 1.58 [-4.04-0.67] (r2=0.99).

**Conclusion:** This LC-MS/MS based method is characterized by simple sample processing and a short run time. Comparison with the current methods is excellent. The new LC-MS/MS method is an appropriate method to determine TPP and PLP in whole blood.



### **23. Determination of reference intervals for urinary steroid profiling using a newly validated GC-MS/MS method**

W.H.A. DE JONG<sup>1</sup>, E. BUITENWERF<sup>2</sup>, A.T. PRANGER<sup>1</sup>, I.J. RIPHAGEN<sup>1</sup>, B.H.R. WOLFFENBUTTEL<sup>2</sup>, M.N. KERSTENS<sup>2</sup>, I.P. KEMA<sup>1</sup>

*Department of Laboratory Medicine<sup>1</sup> and Department of Endocrinology<sup>2</sup>, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen*

**Introduction:** Urinary steroid profiling (USP) is a powerful diagnostic tool to assess disorders of steroidogenesis. Pre-analytical factors such as age, sex and use of oral contraceptive pills (OCP) may affect steroid hormone synthesis and metabolism. In general, USP reference intervals are not adjusted for these variables. In this study we aimed to establish such reference intervals using a newly-developed and validated gas chromatography with tandem mass spectrometry detection method (GC-MS/MS).

**Methods:** Two-hundred-forty healthy subjects aged 20-79 years, stratified into 6 consecutive decade groups each containing 20 males and 20 females, were included. None of the subjects used medications. In addition, 40 women aged 20-39 years using OCP were selected. A GC-MS/MS assay, using hydrolysis, solid phase extraction and double derivatization, was extensively validated and applied for determining USP reference intervals.

**Results:** Androgen metabolite excretion declined with age in both men and women. Cortisol metabolite excretion remained constant during life in both sexes but increased in women 70-79 years of age. Progesterone metabolite excretion peaked in 30-39 year old women and declined afterwards. Women using OCP had lower excretions of androgen metabolites, progesterone metabolites and cortisol metabolites. Method validation results met prerequisites and revealed the robustness of the GC-MS/MS method.

**Conclusion:** We developed a new GC-MS/MS method for USP which is applicable for high throughput analysis. Widely applicable age and sex specific reference intervals for 33 metabolites and their diagnostic ratios have been defined. In addition to age and gender, USP reference intervals should be adjusted for OCP use.

### **24. Development of a mass spectrometry based method for targeted quantitation of clinically relevant proteoforms of antithrombin**

L.R. RUHAAK<sup>1</sup>, F.P.H.T.M. ROMIJN<sup>1</sup>, N.P.M. SMIT<sup>1</sup>, A. VAN DER LAARSE<sup>1</sup>, F.J.L.M. HAAS<sup>2</sup>, P. MEIJER<sup>2</sup>, C. KLUFT<sup>2</sup>, C.M. COBBAERT<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine<sup>1</sup>, Leiden University Medical Center and ECAT Foundation<sup>2</sup>, Leiden*

**Introduction:** Reduced antithrombin (AT) activity is associated with increased risk of thrombosis. Several genetic mutations as well as protein glycosylation play an important role in AT activity;  $\beta$ -AT, having only three of four glycosylation sites occupied, has higher activity compared to  $\alpha$ 1-AT. Currently, AT activity is analysed using a functional assay that measures overall activity. The compounds that contribute to total activity assays are unknown because the specific contribution of  $\alpha$ 1-AT,  $\beta$ -AT and genetic variants goes unrecognized. Better assays are required. This might be achieved using liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS).

**Methods:** AT isolated from plasma was digested using multiple proteases, and the digests were analysed using LC-QQQ-MS. Based on these results peptides and stable isotope labelled peptides were synthesized and used for further optimization of MS measurement, defining the measurement procedure with regard to retention time, collision energy, and precursor

and product ion. Transitions for glycopeptides were optimized using proteolytic digests of isolated AT.

**Results:** Peptides were observed in the digests of isolated AT and 3 peptides were selected for further optimization. Furthermore, two peptides with potential mutations as well as glycopeptides originating from all four sites were identified. Optimized transitions were used to generate calibration curves, and quantitation limits were found within the relevant range. Peptides were also observed in plasma digests, suggesting that AT quantitation is feasible directly from plasma without further protein isolation.

**Conclusion:** Using LC-MS we were able to identify proteotypic peptides, genetic variants and glycopeptides of AT, which allows identification and quantitation of clinically relevant AT-proteoforms. Further work is needed to improve quantitation of glycopeptides and to standardize the LC-MS assay to guarantee metrological traceability of test results.

### **25. Falsely elevated plasma testosterone concentrations in neonates: Importance of LC-MS/MS measurements**

H.M. HAMER<sup>1</sup>, M.J.J. FINKEN<sup>2</sup>, T. DU TOIT<sup>3</sup>, A.C. SWART<sup>3</sup>, A.C. HEIJBOER<sup>1</sup>

*Departments of Clinical Chemistry<sup>1</sup> and Pediatric endocrinology<sup>2</sup>, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands; Department of Biochemistry<sup>3</sup>, Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa*

**Introduction:** Measurement of testosterone in serum or plasma samples of newborns is used in the diagnosis of disorders of sex development. It has previously been proposed that direct immunoassays measure falsely elevated testosterone concentrations due to cross reacting steroids present in neonates. However, no information is currently available about the quality of the improved 2nd generation assay in neonatal samples. Therefore, we aimed to compare plasma testosterone concentrations of neonates measured with a 2nd generation testosterone immunoassay and LC-MS/MS.

**Methods:** Testosterone was measured in plasma of 78 neonates (33 male and 45 female) up to six months old using the Architect® 2nd generation immunoassay and LC-MS/MS.

**Results:** In boys (n=10), median (range) plasma testosterone concentrations during the first 3 days of life were 4.7 nmol/L (2.1-13.5 nmol/L) and 2.0 nmol/L (1.1-8.7 nmol/L) when measured with the 2nd generation immunoassay and LC-MS/MS, respectively. In girls of the same age (n=8), median (range) plasma testosterone concentrations were 2.3 nmol/L (0.7-5.8 nmol/L) and 0.1 nmol/L (0.1-0.3 nmol/L) when measured with the 2nd generation immunoassay and LC-MS/MS, respectively.

Testosterone concentrations measured with the 2nd generation immunoassay were significantly higher in both boys and girls younger than 30 days compared to LC-MS/MS measurements ( $p < 0.001$ ). Testosterone concentrations in neonates older than 30 days were not significantly different between these methods ( $p = 0.469$ ).

*Conclusion:* In neonates, plasma testosterone concentrations are falsely elevated when measured with a 2nd generation immunoassay. A LC-MS/MS method should be used to accurately determine testosterone concentrations in neonates in the first month of their life.

## 26. Mass spectrometric identification of cardiac troponin T in urine of patients suffering from acute myocardial infarction

A.S. STRENG<sup>1</sup>, N. VAN DER LINDEN<sup>1</sup>, J.M.M. KOCKEN<sup>1</sup>, O. BEKERS<sup>1</sup>, F.G. BOUWMAN<sup>2</sup>, E.C.M. MARIMAN<sup>2</sup>, S.J.R. MEEUX<sup>1</sup>, W.K.W.H. WODZIG<sup>1</sup>, D. DE BOER<sup>1</sup>

*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Central Diagnostic Laboratory, Maastricht University Medical Centre, Maastricht and Department of Human Biology<sup>2</sup>, Maastricht University, Maastricht*

*Introduction:* Due to its high cardiospecificity, cardiac troponin T (cTnT) is one of the biomarkers of first choice for the detection of acute myocardial infarction (AMI) and is found to be highly fragmented in the blood circulation of patients suffering from AMI. Following an initial peak concentration of cTnT in serum 24 hours after AMI, cTnT gradually disappears from the circulation. It is as of yet unknown whether all cTnT is completely degraded in the body or if some cTnT fragments can leave the body via the urine.

*Methods:* Proteins in urine samples of twenty patients were precipitated using a cTnT-specific immunoprecipitation technique and a non-specific acetonitrile protein precipitation. After in-solution digestion of the precipitated proteins, the resulting peptides were separated and analysed using high-performance liquid chromatography and mass spectrometry using a targeted selected ion monitoring assay with data-

dependent tandem-MS (t-SIM/dd-MS2) on a Q Exactive instrument [1].

*Results:* Validation of the t-SIM/dd-MS2 assay was performed with a synthetic peptide standard containing ten specific cTnT peptides of interest and with purified human intact cTnT spiked in urine from healthy individuals. Mass spectrometric analysis of urine samples from twenty different patients suffering from AMI resulted in three samples where peptides specific to cTnT were identified.

*Conclusion:* We show here for the first time that in patients suffering from AMI cTnT can be present in urine. These patients also suffered from proteinuria, providing a possible explanation for this observation. Whether or not this could also represent a more general cTnT elimination pathway still needs to be elucidated.

*Literature:* 1. Streng et al. J Proteomics 2016;136:123-132.

## 27. Development of a UPLC-MS/MS method for quantification of hepcidin in different anemic populations

E.M.H. SCHMITZ<sup>1,2,3,4</sup>, N.M. LEIJTEN<sup>1,3,4</sup>, D. VAN DE KERKHOF<sup>1,3</sup>, M.A.C. BROEREN<sup>1,2</sup>, J.L.J. VAN DONGEN<sup>1,4</sup>, L. BRUNSVELD<sup>1,4</sup>, V. SCHARNHORST<sup>1,3,4</sup>

*Expert Center Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Eindhoven; Clinical Laboratory, Máxima Medical Center<sup>2</sup>, Veldhoven; Clinical Laboratory<sup>3</sup>, Catharina Hospital, Eindhoven; Department of Biomedical Engineering, Laboratory of Chemical Biology and Institute for Complex Molecular Systems<sup>4</sup>, University of Technology, Eindhoven*

*Introduction:* Hepcidin, a cysteine-rich peptide hormone, is the key regulator of iron homeostasis. Since its discovery in 2001, it has been suggested as a promising diagnostic marker for iron-related disorders. However, accurate and reproducible quantification is challenging. Reference values for different populations and added value in diagnosis are thus still unclear. We therefore developed a UPLC-MS/MS assay for quantification of hepcidin.

*Methods:* We first synthesized hepcidin and its labeled internal standard containing two [<sup>13</sup>C<sub>9</sub>,<sup>15</sup>N]-phenylalanines. The peptides were folded using glutathione to obtain the correctly folded 3D structure. Calibrators and control samples were made by spiking rabbit serum with the synthesized hepcidin. Samples were prepared using solid phase extraction (SPE) before UPLC-MS/MS analysis. The developed method was validated and patient samples were collected to measure hepcidin levels.

*Results:* Recovery and matrix effects after sample preparation

were 61% and -16%, respectively. Linearity of the UPLC-MS/MS assay was excellent ( $R^2 = 0.9999$ ). Lower limits of detection (LLOD) and quantification (LLOQ) were 0.56 and 1.0 ng/mL, respectively. Within- and between-run imprecision were  $\leq 5.6\%$  and  $\leq 5.7\%$ . Correlation of our UPLC-MS/MS assay with DRG's Hepcidin HS ELISA was good ( $R^2 = 0.81$ ). Median hepcidin plasma concentrations of patients with iron deficiency anemia (IDA,  $n=50$ ), normal subjects ( $n=166$ ), and patients with anemia of chronic disease (ACD,  $n=48$ ) were 5.2 [2.5-9.9], 12 [7.1-21] and 47 [30-79] ng/mL, respectively ([IQR]).

*Conclusion:* We developed a robust and reproducible UPLC-MS/MS assay for quantification of hepcidin. Different hepcidin levels were found in IDA and ACD patients and normal subjects. In the near future, the diagnostic value of this hepcidin assay will be established in a clinical study that includes patients with an anemia of unknown origin.

## Categorie 1 Analytisch Moleculaire biologie

### 28. Cardiac troponin T degradation in serum is catalysed by human thrombin

A.S. STRENG, D. DE BOER, W.P.T.M. VAN DOORN, J.M.M. KOCKEN, O. BEKERS, W.K.W.H. WODZIG  
*Central Diagnostic Laboratory, Maastricht University Medical Centre, Maastricht*

*Introduction:* Cardiac troponin T (cTnT) has been shown to be present in fragmented forms in human serum after acute myocardial infarction (AMI). While  $\mu$ -calpain and caspase-3 have been identified as intracellular proteases able to cleave the N-terminus of cTnT, it is still unclear which proteases are responsible for the extensive and progressive cTnT fragmentation observed in serum of AMI-patients. In this pilot study we have investigated the possibility that human thrombin may be involved in this process.

*Methods:* Thrombin,  $\mu$ -calpain, and caspase-3 activities in serum were assessed using the SensoLyte 520 Fluorimetric Enzyme Activity Assays (AnaSpec). Purified human cTnT was then spiked in unprocessed and deproteinated serum in the presence or absence of either purified human thrombin or PPACK thrombin inhibitor and incubated for up to 48 hours at 37 °C. Differences in cTnT fragmentation were visualized

using immunoprecipitation, SDS-PAGE, and Western blotting. *Results:* When purified thrombin was added to deproteinated serum, an immediate increase in cTnT fragmentation was observed. Consequently, the addition of thrombin inhibitor to unprocessed serum resulted in a decrease (but not an elimination) of cTnT fragmentation. Fluorimetric analysis showed that the enzymatic activity of  $\mu$ -calpain and caspase-3 was negligible, while thrombin was present in high abundance. *Conclusion:* Our results suggest that multiple enzymes are involved in cTnT degradation, and that thrombin plays an important role. This may mean that cTnT might be more degraded in patient serum than in (heparin)plasma; the implications of which are currently under investigation.

*Literature:* Part of this work was published in: Streng et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 481(1-2):165-168.

## Categorie 1 Analytisch Overigen

### 29. Transitioning from serum to lithium-heparin plasma: evaluation of BD Barricor™, a new blood collection tube with a 'mechanical' separator

C. FLEMING, I. VAN GORP, C. RAMAKERS  
*Department of Clinical Chemistry, Erasmus Medical Centre, University Hospital Rotterdam*

*Introduction:* There are several blood collection tubes available with and without separator gels. Recently, BD launched a new lithium heparin tube: the BD Barricor plasma blood collection tube, containing a mechanical separator rather than the conventional gel separator. The aim of this study was to evaluate the transition from a predominant serum workflow to a lithium-heparin plasma workflow using the new BD Barricor tube for our routine chemistry and immunochemistry tests.

*Methods:* After informed consent, two additional blood specimens were collected from 40 patients visiting the outpatient clinic of our internal medicine department. Tubes were processed according to the manufacturers specifications. The lithium-heparinized plasma (BD Barricor) and serum (BD SSTII) samples were assayed simultaneously for 66 clinical chemistry and immunochemistry tests using Roche Cobas analyzers, and results were statistically analyzed using Passing-Bablok (PB) regression analysis.

*Results:* Overall, the serum vs. plasma comparison was good. The minimum and maximum relative bias observed was 0,94 (myoglobin) and 1,05 (estradiol) respectively. Of the 66 analytes, 54 were within the relative bias of the PB 95% confidence interval (95% CI). The remaining 12 analytes fell outside the 95% CI range. However, the observed relative bias was well within the total allowable error margin of those analytes. For all 66 analytes, no significant differences were found for the absolute bias.

*Conclusion:* The results of the new BD Barricor tube showed good comparison with serum from the BD SSTII. Importantly, when compared to the BD SSTII, the reference range remained the same for all analytes in the Barricor tube. We conclude that when transitioning from a serum to plasma workflow for chemistry and immunochemistry tests, the Barricor tubes can be used.

### 30. Lactate dehydrogenase and enzymatic creatinine evaluation of a blood collection tube with a mechanical separator

M.W.H.J. DEMMERS, J.D.E. VAN SUIJLEN, J.J.J. HULSTEIN  
*Clinical chemistry and hematology laboratory, Gelre Hospital, Apeldoorn*

*Introduction:* A blood collection tube with a mechanical separator was designed to reduce cellular content in plasma and to improve sample stability. In heparin gel tubes an unacceptably high frequency of duplicate errors were described for certain lactate dehydrogenase (LDH) assays. Enzymatic creatinine assay of Barricor plasma was not tested yet.

*Methods:* Blood was collected in serum gel tube, Li-heparin gel tube (Greiner) and Li-heparin with a mechanical separator (BD Barricor) from dialysis-patients (n=15) and non-dialysis patients (n=15). LDH (Abbott IFCC) and enzymatic creatinine (Abbott creatinase) were analysed in duplicate with Abbott Architect via total laboratory automation (Inpeco).

*Results:* Lactate dehydrogenase method comparison of Barricor vs serum (gel) revealed a r2 of 0,95 with an intercept of 19,5. LDH comparison of Barricor vs li-hep (gel) showed an intercept of -36,4 and correlation coefficient was 0,8015. Precision in serum was 3,24SD, precision in li-heparin gel was 17,01SD. Barricor precision was 5,65SD. Centrifugated li-hep plasma and serum stored at 4°C in the primary tube did not affect LDH results after 24 and 48hours. Centrifugated Barricor plasma stored at 4°C in the primary tube revealed an increase of 17% after 24hours and 25% after 48hours. Enzymatic creatinine method comparison of Barricor vs serum (gel) revealed a r2 of 0,99. Barricor enzymatic creatinine was linear between 73,1

and 607,5  $\mu\text{mol/l}$ . Short EP5 within-run precision was 1,02SD and total precision was 1,04SD at creatinine level of 73,9  $\mu\text{mol/l}$ . At 462,6  $\mu\text{mol/l}$  within-run precision was 2,4SD and total precision was 4,37SD.

*Conclusion:* A mechanical separator tube is a suitable alternative compared with gel tubes as less cellular content is present in Barricor tubes, this improves LDH precision. Barricor tube is a suitable tube for enzymatic creatinine analysis.

### 31. Gecombineerde meting van immuunsuppressiva, creatinine en hematocriet in een enkele bloedspot met LC-MSMS en near infrared spectroscopie

M. OOSTENDORP<sup>1,3</sup>, A.C. EGAS<sup>2</sup>, E. DIEMEL<sup>1</sup>, M. EL AMRANI<sup>2</sup>, E.M. VAN MAARSEVEEN<sup>2</sup>

Laboratorium Klinisch Chemie en Haematologie<sup>1</sup> en Ziekenhuisapotheek<sup>2</sup>, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, Klinisch laboratorium<sup>3</sup>; Máxima Medisch Centrum, Veldhoven

*Inleiding:* Het meten van de nierfunctie en spiegels van immuunsuppressiva is van belang om toxiciteit en afstoting te voorkomen bij longtransplantatiepatiënten. De 'gouden standaard' voor deze bepalingen is analyse in respectievelijk plasma en volbloed, verkregen via venapunctie. Hiervoor moeten patiënten echter vaak speciaal naar een afname locatie komen. In deze studie zijn methoden ontwikkeld om creatinine, hematocriet en spiegels van immuunsuppressiva te bepalen in bloedspots. Voordelen van bloedspots zijn het lage monstervolume, stabiliteit van analyten en de mogelijkheid tot zelfafname door patiënten thuis.

*Methode:* Bloedspots werden gemaakt uit veneuze volbloed samples van 30 patiënten die cyclosporine A, tacrolimus, sirolimus of everolimus gebruikten. Hematocriet werd bepaald middels non-destructieve near-infrared spectroscopie, zoals eerder beschreven (1). Vervolgens werden de spots 15 minuten geëxtraheerd in een ultrasoon bad. Immuunsuppressiva en

creatinine werden bepaald middels LC-MSMS. Hematocriet werd gebruikt om volbloed creatinine om te rekenen naar plasmawaarden. Resultaten werden vergeleken met de betreffende klinische referentiemethoden in volbloed of plasma middels Passing-Bablok regressie.

*Resultaat:* Alle bepalingen in bloedspots toonden in VC van <15% in het lage, middel en hoge gebied. Tevens werd voor alle componenten een goede correlatie met de referentiemethode gevonden ( $R^2 > 0.95$ ). Gemeten concentraties lagen allen binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval.

*Conclusie:* Met de combinatie van near-infrared spectroscopie en LC-MSMS is het mogelijk om hematocriet, nierfunctie en spiegels van immuunsuppressiva te bepalen in één enkele bloedspot. Dit is een belangrijke stap in de richting van thuismonitoring van transplantatiepatiënten.

*Literatuur:* 1. Oostendorp et al. Clin Chem, 2016, 62: 1534

### 32. Improving glucose measurements: validation of the new granulated citrate phlebotomy tube

E.A.E. VAN DER HAGEN, A.M.D. KLEEFMAN, M.H.M. THELEN, S.A.A. VAN DEN BERG

Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology, Amphia Hospital, Breda

*Introduction:* Current laboratory procedures for gestational diabetes screening are sub-optimal and can result in misdiagnosis as stringent cut-off values are used with a single oral glucose tolerance test (oGTT), while measurement of glucose concentrations is complicated by in-vitro glycolysis. Recently, it was recognized that glycolysis is directly and completely inhibited by citrate, as opposed to commonly used Sodium-Fluoride additives. Two types of citrated tubes are available, either with a liquid additive (e.g. Vacuette® Glucomedics) or granulate additive (exclusively Vacuette® FC-Mix).

*Methods:* Both tubes were tested in 22 healthy volunteers. Glucose concentrations were measured after different incubation times (0-48 hours) and temperatures ( $-20^\circ\text{C}$ ,  $37^\circ\text{C}$ ). FC-Mix tubes were clinically validated in 40 pregnant women undergoing oGTT. As a reference NaF-oxalate tubes handled according to the WHO recommended method (immediate cooling and centrifugation within 30 min) were used.

*Results:* Glucomedics tubes show a significant bias of 4.6% (CI 3.2-6.1). For FC-Mix tubes no significant deviation was observed (bias 0.4%; CI -1.0-1.7). Furthermore, glucose concentrations are stable for at least 48 hours at  $-20^\circ\text{C}$  and 24 hours at  $37^\circ\text{C}$ . Clinical validation of the FC-Mix tube for use in oGTT demonstrated a bias of 0.06 mmol/L at  $t=0$  before (CI 0.03-0.13) and  $t=120$  min after 75g glucose load (CI -0.02-0.21). Deming regression  $t=0$  min:  $y=1.04x+0.13$ ,  $t=120$  min:  $y=1.07x-0.39$ .

*Conclusion:* Glucose concentrations are significantly overestimated when applying the manufacturer's correction factor for dilution in Glucomedics tubes. The new FC-Mix tube handled according to normal laboratory routine performs equal to the WHO method for optimal pre- and analytical conditions, also for screening of gestational diabetes. Thus, FC-Mix appears to be a feasible alternative for reliable results for diagnoses in diabetes care.

### 33. Het schatten van kaliumconcentraties in gesimuleerde hemolytisch monsters onderschat de werkelijke kaliumconcentratie

A.J. VAN ADRICHEM, M.T.M. RAIJMAKERS

Laboratorium voor Klinische Chemie en Hematologie, Zuyderland Medisch Centrum, Heerlen

*Inleiding:* Hemolytische monsters zijn een van de meest uitdagende pre-analytische problemen in het laboratorium geneeskunde. Om de in vivo kaliumconcentraties te schatten in bloedmonsters met in vitro hemolyse zijn correctiefactoren voorgesteld. Veel correctiefactoren zijn geschat met behulp van kunstmatig verkregen hemolytische monsters en, als gevolg van verschillende technieken om hemolysaten te verkrijgen, is een grote spreiding gerapporteerd (0,2-0,5 mEq/L, per toename van 1 g/L in hemoglobinegehalte). Wij beoogden een correctiefactor voor de toegenomen kaliumconcentratie als gevolg van in vitro

hemolyse te schatten uit een serie ziekenhuispatiëntmonsters.

*Methode:* De datasets werden verkregen door retrospectief vijf opeenvolgende kaliumconcentraties en bijbehorende hemolytisch indices van ons laboratorium archief te extraheren voor twee periodes van twee maanden ( $n_1 = 18.000$  en  $n_2 = 22.000$ ). Kalium en hemoglobine concentraties werden gemeten op COBAS analyzers. Verondersteld werd dat een hemolytische monster voorafgegaan of gevolgd werd door een niet-hemolytische monster, waarbij de kaliumconcentratie van het niet-hemolytische monster diende als referentiewaarde.



Voor elk monster paar met een hemolytische monster werd de verhouding tussen de verandering in kaliumconcentratie en de verandering in hemolytische index berekend.

*Resultaat:* Volgens ons model resulteert de stijging in het hemoglobinegehalte van 1 g/L in een verhoogde kaliumconcentratie van 0,6 mEq/L.

*Conclusie:* We presenteren een alternatieve benadering voor het schatten van een correctiefactor voor in vivo kaliumconcentraties

in monsters met in vitro hemolyse. Onze resultaten suggereren een grotere toename van de kaliumconcentratie als gevolg van in vitro hemolyse dan geschat door studies die gesimuleerde hemolytisch monsters gebruikten. Dus correctiefactoren berekend met behulp van gesimuleerde hemolytisch monsters onderschatten de werkelijke kaliumconcentratie in monsters met in vitro hemolyse. Daarom wordt het gebruik van correctiefactoren afgeraden.

## **Categorie 2 Bedrijfsvoering Dienstverlening, doorlooptijden, workflowanalyse**

### **34. Temperatuurbewaking monstervervoer in de eerste lijn: een pragmatische aanpak**

D.S. BOSS, I.M. DIJKSTRA, T.L. NJO  
*Salto, afdeling klinische chemie Utrecht*

*Inleiding:* In kader van de transitie naar ISO 15189 (1) is een procedure opgezet om te borgen dat materiaal onder de juiste condities blijft tussen het moment van afname en aankomst op het laboratorium. Een voorwaarde hiervoor is dat temperatuurgevoeligheid van laboratoriumbepalingen en acceptatiecriteria zijn vastgesteld. Hiervoor hebben wij gebruik gemaakt van gegevens uit de literatuur, aangevuld met eigen onderzoek.

*Methode:* Als basis voor onze eigen experimenten hebben we de publicatie uit het JBZ (van Balveren et al) genomen (2). De ontbrekende data uit die publicatie (hoge temperaturen (37 graden), kortdurende afwijkingen (1 en 2 uur), een aantal niet bekeken testen (bijvoorbeeld medicijnspiegels)) hebben wij aangevuld met eigen experimenten: In groepen van 10 vrijwilligers is gekeken naar afwijkingen ten opzichte van de nulmeting. Hierbij is, net zoals in de eerder aangehaalde publicatie, de Total Error allowable genomen als maximaal toerekenbare afwijking.

*Resultaat:* Kortdurende afwijkingen (tot 2 uur) bij lage temperaturen (zelfs tot 4 graden) blijken niet tot relevante afwijkingen te leiden; Zelfs de gevonden verschillen voor Kalium zijn acceptabel. In het hoge temperatuurgebied (37 graden) zagen wij bij overschrijdingen langer dan een uur afwijkingen voor een aantal testen: Fosfaat, Natrium en LDH. We hebben geen relevante verschillen gevonden voor medicijnspiegels.

*Conclusie:* Middels literatuuronderzoek aangevuld met resultaten van eigen experimenten hebben wij voor ons routine pakket in kaart gebracht welke afwijkingen acceptabel zijn. Afwijkingen tot 37 graden mogen altijd door als deze niet langer dan 1 uur zijn geweest. Afwijkingen in het lage gebied, zelfs tot 4 graden, mogen altijd door als deze korter dan 2 uur zijn geweest.

*Literatuur:* (1) ISO15189 normtekst. (2) van Balveren et al. Ann Clin Biochem 2016.

### **35. Traumahelikopter neemt voortaan bloed mee**

J. DIRIS<sup>1</sup>, N. HOOGERWERF<sup>2</sup>

*Klinisch Chemisch Laboratorium<sup>1</sup>, Ziekenhuis Bernhoven, Uden; Mobiel Medisch Team Lifeliner-3, RadboudUMC<sup>2</sup>, Nijmegen*

*Inleiding:* Met enige regelmaat worden transfusielaboratoria in Nederland bevestigd door medewerkers van een hulpdienst om transfusiebloed te leveren. Aanleiding is dan een ongeval of incident in de nabijheid waarbij een slachtoffer met ernstig bloedverlies te maken heeft. Bij het Mobiel Medisch Team (MMT) Nijmegen wijst intern onderzoek uit dat er per jaar circa 50 patiënten zijn waarvoor de toediening van transfusiebloed geïndiceerd is, maar slechts enkele malen vind ook daadwerkelijk transfusie op locatie plaats. Dit wierp de vraag op of het mogelijk is om permanent transfusiebloed aan boord van de traumahelikopter beschikbaar te hebben.

*Methode:* In samenwerking met het MMT van het RadboudUMC heeft het transfusielaboratorium van Ziekenhuis Bernhoven te Uden een decentrale bloedvoorraad aangelegd bij de thuisbasis van het MMT, vliegbasis Volkel. Wekelijks rouleert een setje van twee erytrocytenconcentraten (EC's) tussen laboratorium en een temperatuurbewaakte koelkast op de vliegbasis. Iedere

dag wordt dit setje met een tweede setje gewisseld tussen koelkast en de traumahelikopter. De EC's worden buiten de koelkast en in de helikopter bewaard in gevalideerde koelboxen (Credo®, ProMed Shipping System).

*Resultaat:* Per 1 februari 2017 zijn er permanent twee EC's aan boord van de traumahelikopter Lifeliner-3. Het MMT beschikt als 1e in Nederland direct bij aankomst over deze eenheden. Door de wijze waarop de logistiek is ingericht kan indien nodig de voorraad aan boord na terugkomst op de basis meteen worden aangevuld, terwijl niet gebruikte producten tijdig (na maximaal 1 week) retour naar het transfusielaboratorium gaan om in de kliniek te worden ingezet.

*Conclusie:* Door permanent twee EC's aan boord van de traumahelikopter beschikbaar te hebben wordt een belangrijk instrument geleverd aan het Mobiel Medisch Team voor de behandeling van transfusiebehoeftige traumapatiënten.

### **36. Spiegelen van aanvraag gedrag in de chronische zorg**

T.L. NJO<sup>1</sup>, D.S. BOSS<sup>1</sup>, I.M. DIJKSTRA<sup>1</sup>, P.M. HEIJSTEE<sup>2</sup>

*Salto, afdeling klinische chemie<sup>1</sup> en afdeling diabetes en ketenzorg<sup>2</sup>, Utrecht*

*Inleiding:* Aanvragen in het kader van chronische zorg betreffen een substantieel volume van de analyses in de eerste lijn. Diagnostisch toets overleggen leren dat er een aanzienlijke variatie bestaat in aanvraag gedrag. Op zoek naar praktisch

spiegelbare parameters om dit te duiden, per individuele aanvrager, en de aanvragers verdeeld over verschillende zorggroepen, onderzochten we de aanvragen die herkenbaar waren in het kader van chronische zorg,

*Method:* Omdat we in deze macro analyse geen toegang hadden tot praktisch grootte en case-mix, hebben we gekeken naar de kwalitatieve samenstelling van de chronische zorg pakketten, en naar praktisch grootte onafhankelijk parameters zoals het aantal bepalingen per unieke patiënt, per jaar, voor diabetes mellitus, hypertensie en chronische nierfunctiestoornissen. We hebben gezocht naar heterogeniteit per individuele aanvrager, en aanvragers geaggregeerd per zorggroep.

*Resultaat:* In de samenstelling van de chronische zorg pakketten vinden we heterogeniteit in het wel of niet standaard bepalen van Natrium bij hypertensie en diabetes. Het aantal HbA1c aanvragen per unieke patiënt per jaar, laat per individuele aanvrager, en per zorggroep, een aanzienlijke

heterogeniteit zien. De range tussen verschillende zorggroepen (11 meegenomen in de analyse) voor deze parameter varieerde van 1,3 tot 2,4. Bij individuele aanvragers (binnen dezelfde zorggroep), ook nog individuele verschillen.

*Conclusie:* Verschillen in aanvraag gedrag per individuele aanvrager, en op zorggroep niveau, zijn een interessante opening om het beleid in deze, met zowel individuele aanvragers, als met de kaderartsen van de zorggroep, te bespreken. Ook als niet van elke praktijk de grootte bekend is. Met het gebruik van deze parameters kan de praktijk variatie van het aanvraag gedrag mogelijk minder gemaakt worden, door waar passend de desbetreffende richtlijnen naast de spiegel informatie te leggen.

### 37. Evaluatie van reflecterend testen voor de eerste lijn: wat levert het op?

J.A. VAN BALVEREN, N. TEL-KARTHAUS, J. LEUVENINK, R.M. HOEDEMAKERS, P. VAN 'T SANT  
*Laboratorium voor Klinische chemie en hematologie, Jeroen Bosch ziekenhuis, 's-Hertogenbosch*

*Inleiding:* Het Jeroen Bosch Ziekenhuis biedt sinds 2009 het 'reflecterend testen' aan huisartsen aan. Bij deze service worden laboratoriumrapporten met afwijkende resultaten geëvalueerd. Er worden, indien relevant, testen toegevoegd om tot een diagnose te komen en/of er wordt een interpretatieve consulttekst meegestuurd. Een gedeelte wordt automatisch toegevoegd en een gedeelte handmatig door een klinisch chemicus. Huisartsen zijn tevreden met deze service, maar de impact op de diagnostiek is nog onvoldoende onderzocht.

*Method:* Vijf klinisch chemici evalueerden dagelijks laboratoriumrapporten van huisartspatiënten. In de periode van augustus tot en met december 2016 werden toegevoegde testen in het LIS gemarkeerd en vervolgens geanalyseerd. Tevens werden de automatisch en handmatig toegevoegde commentaarteksten geanalyseerd.

*Resultaat:* Er werden ruim 8000 laboratoriumrapporten beoordeeld (43% van het totaal aantal rapporten van deelnemende huisartsen).

Bij 40% van deze rapporten is automatisch een interpretatief commentaar toegevoegd en bij 9% van deze rapporten handmatig. Bij 3,7% van de geanalyseerde rapporten is één of meer testen toegevoegd. In ongeveer 50% is de test toegevoegd in verband met een anemie, bij 24% in het kader van differentiatie van leverafwijkingen en bij 12% in verband met elektrolytstoornissen. De overige 14% testen zijn zeer divers en meestal niet vaker dan één keer toegevoegd in de hele onderzoeksperiode. Het overgrote deel (41%) betreft toevoeging van ferritine. Hierbij is bij 53% van de patiënten een ijzergebrek vastgesteld.

*Conclusie:* Uit deze eerste data-analyse blijkt dat bij 20 % van alle huisartsrapporten interpretatief commentaar is toegevoegd. Hiervan is het grootste deel geautomatiseerd. Slechts bij een klein deel van de rapporten zijn testen toegevoegd. Wanneer ferritine is toegevoegd, is bij meer dan 50 % van de patiënten een ijzergebrek gevonden.

### Categorie 2 Bedrijfsvoering Point-of-care testing

### 38. Performance vergelijking van qLabs POC INR meter ten opzichte van de Coaguchek XS en 2 veneuze bepalingen

J.K. VAN DEN HEUVEL<sup>1</sup>, N. KENA<sup>1</sup>, D. VAN DOLDER<sup>2</sup>, M. VAN WIJNEN<sup>1</sup>  
*Klinisch chemisch laboratorium<sup>1</sup>, Meander Medisch Centrum, Amersfoort; Stichting trombosedienst voor het Gooi<sup>2</sup>, Hilversum*

*Inleiding:* De nieuwe qLabs POC-INR meter (Ratiocare) heeft enkele voordelen ten opzichte van de huidige gebruikte POC-meter Coaguchek XS (Roche). In deze studie werd de performance door de qLabs meter vergeleken met de Coaguchek en de veneuze bepaling op de CS5100 van het Meander Medisch Centrum en de ACL-TOP van de Stichting Trombosedienst voor het Gooi.

*Method:* Bij 80 trombosedienst patiënten werd (na informed consent) 2 stollingsbuizen afgenomen (1 buis voor de CS5100 (Innovin), 1 buis voor ACL-TOP (RecombiPLasTin) en daarnaast een vingerprik voor 2 druppels bloed (afwisselende volgorde): 1) voor Coaguchek, 2) voor qLabs. Halverwege kwam er een derde druppel bij voor een tweede qLabs meter met een ander strip lotnummer. De resultaten zijn geanalyseerd met EP evaluator (deming regression) na uitbijter verwijdering.

*Resultaat:* De correlatie coëfficiënt (R) van de Coaguchek XS met de CS5100 is 0,96 en met de ACL TOP 0,97. R van de eerste qLabs meter is 0,83 met de CS5100 en 0,86 met de ACL-TOP. R van de tweede qLabs meter is 0,95 met de CS5100 en 0,95 met de ACL-TOP. Daarnaast is het gemiddelde percentuele verschil ten opzichte van de veneuze meting berekend. Het gemiddelde verschil (in %±SD) ten opzichte van de CS5100 is voor de Coaguchek 5,9%±5,2, voor de eerste qLabs meter 11%±9 en voor de tweede qLabs meter 7,0%±4,9. Gemiddelde verschil (in %±SD) ten opzichte van de ACL-TOP is voor de Coaguchek 8,2%±5,4, voor de eerste qLabs meter 11%±8,7 en voor de tweede qLabs meter 11%±6,3.

*Conclusie:* De Coaguchek toont de beste prestaties ten opzichte van de 2 veneuze bepalingen. De Coaguchek en beide qLabs meters voldoen aan de FNT veldnorm.

**39. Identification of steps necessary for general implementation of moving average as continuous QC instrument in clinical laboratories**

H.H. VAN ROSSUM<sup>1</sup>, H. KEMPERMAN<sup>2</sup>

*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, the Netherlands Cancer institute - Antoni van Leeuwenhoek Hospital, Amsterdam; Department of Clinical Chemistry and Haematology<sup>2</sup>, University Medical Center Utrecht, Utrecht*

*Introduction:* Moving average (MA) can be used for continuous analytical quality control. Though MA has been described decades ago, general implementation in clinical chemistry laboratories has failed. We addressed several issues that we considered to be important to support a more general implementation of MA as continuous QC instrument on medical laboratories.

*Methods:* A MA optimization method described by our group (1, 2) was used to generate optimal MA procedures that were implemented for continuous analytical quality control in daily practice (3). During the various phases of MA implementation, issues that potentially complicated the MA implementation and application were identified. Furthermore a MA-alarm case, describing a temporary sodium ion selective electrode (ISE) failure, was used to demonstrate the value of MA.

*Results:* The first step to support clinical laboratories to obtain and use optimal and validated MA for continuous QC is to make newly developed MA optimization methods commercially

available for clinical laboratories. Secondly, improvements in MA management software are required to allow optimal support of MA management on clinical laboratories. These include continuous generation of MA values, adequate continuous alarming, MA resetting, exclusion of samples and presentation of MA in an accuracy plot. Finally, laboratory management issues were identified that included development of a clear protocol how to handle MA alarms and training of technicians. *Conclusion:* The issues we encountered during implementation and application of MA illustrate the need to make newly developed MA optimization methods available for clinical laboratories and for improvements in the available MA management software. This should allow a more general implementation of continuous QC by MA on medical laboratories.

*Literature:* 1) Clin Chim Acta 2016;457:1-7. 2) CCLM 2017;55(2):218-224. 3) CCLM2017;in press.

**40. Effects of a second centrifugation cycle on the stability of routine chemistry analytes**

J.A. VAN BALVEREN<sup>1</sup>, E.F.A. GEMEN<sup>1</sup>, N.C.V. PÉQUÉRIAUX<sup>1</sup>, R. KUSTERS<sup>1,2</sup>

*Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology<sup>1</sup>, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch; Department of Health Technology and Services Research<sup>2</sup>, MIRA institute of biomedical technology and technical medicine, University of Twente*

*Introduction:* Phlebotomy for the purpose of blood analysis is often performed at remote locations and samples may locally be centrifuged to preserve the integrity of analytes. At the central laboratory these tubes may be centrifuged again for different reasons. However, several research articles show that repeated centrifugation leads to instability of some analytes, in particular of potassium (1). In this study, we examined the influence of a second centrifugation cycle before analysis on frequently requested biochemistry analytes.

*Methods:* Ten volunteers donated blood in which 30 routine chemistry analytes were tested in lithium heparin gel tubes. One tube was centrifuged and measured directly. Tubes were centrifuged directly and again after 4 or 8 hours and measured subsequently. The other tubes were kept for 4 or 8 hours before centrifugation and analysis. Half of the tubes were tested with recommended Beckton Dickinson (BD, PSTII tubes)

centrifugation settings and the remaining tubes with alternative validated settings used in our daily practice. Analytes were considered instable when the mean percentage deviation exceeded the Total allowable Error (TEa).

*Results:* All the investigated analytes remained stable up to 8 hours after a second centrifugation cycle with the local centrifugation settings. With BD settings only calcium slightly exceeded the predefined limit after the second centrifugation cycle at 8 hours after phlebotomy.

*Conclusion:* A second centrifugation cycle does not significantly influence the stability of the examined analytes with our locally used settings, including potassium. With BD centrifugation settings only calcium exceeds the limit when centrifuged again after 8 hours, but is stable after 4 hours.

*Literature:* 1. Hira K et al. N Engl J Med. 2000 13;343:153-4.

**41. NUMBER (Nederlandse UniforMe BEslisgrenzen en Referentieintervallen): national reference intervals and decision limits in the Netherlands using a big data approach**

N. BROUWER<sup>1</sup>, W.P.J. DEN ELZEN<sup>2</sup>, M.H. THELEN<sup>3,4</sup>, I.A. HAAGEN<sup>5</sup>, C.M. COBBAERT<sup>2</sup>

*Laboratory for Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Waterlandziekenhuis, Purmerend; Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine<sup>2</sup>, Leiden University Medical Center, Leiden; Laboratory for Clinical Chemistry and Haematology<sup>3</sup>, Amphia Ziekenhuis, Breda; Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek<sup>4</sup>, Nijmegen; Department of Hematology and Clinical Chemistry Laboratories<sup>5</sup>, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam*

*Introduction:* External Quality Assessment programs for general chemistry tests are evolving from peer group comparison programs to trueness verification tools. The introduction of commutable, value-assigned EQA-materials in 2005 has been very effective in reducing interlaboratory differences for electrolytes, substrates and enzymes. However, universal and metrologically traceable reference intervals are still lacking, hindering worldwide use of guidelines and interchangeability of test results. Under the umbrella of Calibration 2.000, we

initiated a national endeavour named NUMBER, to set up a sustainable system for determination and long-term monitoring of traceable reference intervals in the Netherlands.

*Method:* We adjusted the evidence-based big-data approach for deducing reference intervals from primary care data that has been successfully implemented in Australia and New Zealand to the Dutch setting. Per laboratory, per test, outliers were excluded, data were transformed to a normal distribution (if necessary), and means and standard deviations (SDs)

were calculated. Then, average means and SDs per test were calculated to generate pooled (mean $\pm$ 2SD) reference intervals. **Results:** In this stage, nine clinical laboratories across the country provided anonymous test results (19 parameters, N=3,203,950). During the first expert meeting, consensus was obtained about the approach for 6 representative tests. National reference intervals for potassium were proposed (3.5-5.0 mmol/L, n=670,807) and consensus was found for the need for age- and/or gender partitioned reference intervals for

creatinine, ALAT, ASAT and uric acid. Specificity issues were identified with contemporary albumin assays.

**Conclusion:** This approach will be applied to other SI-standardized tests from SKML Combi General Chemistry and Combi Lipids. Verification of the proposed reference intervals will be tested using flagging rates and will be discussed with participating laboratories and manufacturers before national implementation.

#### 42. Bias in glucose concentration analysis and its effect on gestational diabetes diagnosis

S.A.A. VAN DEN BERG<sup>1</sup>, M.H.M. THELEN<sup>1</sup>, W.M. TIEL GROENESTEGE<sup>2</sup>

*Department of clinical chemistry and hematology, Amphio hospital<sup>1</sup>, Breda; department of clinical chemistry, IJsselland hospital<sup>2</sup>, Capelle aan de IJssel*

**Introduction:** Many studies have focused on the effect of improper pre-analytical specimen handling on classification of gestational diabetes mellitus (GDM). However, little data is available on the effect of bias in glucose concentration analysis on classification of GDM.

**Methods:** Retrospective analysis of glucose tolerance test (GTT) data over 2014 and 2015 was performed (measured on 2 Roche C501 modules). Classification of GDM was based on the current WHO criteria (fasting plasma glucose (FPG) >5.0 and/or 2 hour plasma glucose (PLG) >8.4 mM). Bias at these concentrations were estimated from proficiency data for both years (SKML).

**Results:** Bias was lower in 2015 at 5 mM (0.3 mM (2014) and 0.0 mM (2015)), as was average FPG (4.9  $\pm$  0.5 mM (2014) and 4.8  $\pm$  0.6 mM (2015)). 223 out of 739 (30.2%) women

classified with GDM in 2014 whereas only 164 out 770 (21.3%) classified with GDM in 2015 (P<0.010). Bias was also lower at 8.5 mM (0.2 mM (2014) and -0.1 mM (2015)), as was average PLG (6.5  $\pm$  1.6 mM (2014) and 6.2  $\pm$  1.5 mM (2015)). 35 (4.7%) women classified as diabetic in 2014 whereas only 16 (2.1%) classified as diabetic in 2015 based on PLG only (P<0.010). Some patients had both disturbed FPG and PLG (2014; 54 patients (7.3%) and 2015; 33 patients (4.2%)).

**Conclusion:** Presented mean bias in 2014 (~0.3 mM at 5 mM and ~0.2 mM at 8.5 mM) was considered acceptable. However, as the prevalence of GDM was much lower in 2015 after bias correction, it is highly likely that it was overestimated in 2014. This resulted in unnecessary referral and a preventable cost of ~100k/euro/year in 1 hospital.

#### 43. Minder hemolyse op de spoedeisende hulp bij geprotocolleerde bloedafname

A. ALBERSEN<sup>1</sup>, S. VANDER LINDEN<sup>2</sup>, C. VAN DUIJN<sup>1</sup>, W.P.J. DEN ELZEN<sup>1</sup>, C. HERINGHAUS<sup>2</sup>, C.M. COBBAERT<sup>1</sup>  
*Afdeling Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde<sup>1</sup> en Spoedeisende Hulp<sup>2</sup>, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden*

**Inleiding:** Laboratoriumdiagnostiek is essentieel voor cruciale medische beslissingen op de spoedeisende hulp (SEH). In-vitro hemolyse op de SEH is een erkend probleem. In-vitro hemolyse leidt tot inaccurate testresultaten, wat kan resulteren in het niet rapporteren van uitslagen. Dit leidt tot vertraging in de behandeling van de patiënt, herhaling van bloedonderzoek en verlenging van opnametijd in het ziekenhuis. Oorzaken van hemolyse op de SEH zijn o.a. afname via intraveneuze (IV-) katheters, onvoldoende vullen van buizen en te hard zwenken. In een pilot is onderzocht of geprotocolleerde bloedafname door laboratoriummedewerkers (KCL) op de SEH het aantal hemolytische monsters reduceert.

**Methode:** Gedurende 7 weken zijn op maandag, dinsdag en woensdag tussen 15:00 en 20:00 de bloedafnames uitgevoerd door drie gecertificeerde laboratoriummedewerkers op de SEH. De bloedafname vond altijd plaats via venapunctie met rechte naald, conform procedure, ook indien een IV-katheter was geplaatst. Buiten deze tijdstippen werden de bloedafnames

door de SEH op hun standaard wijze uitgevoerd. Uit het LIS zijn de uitslagen van hemolyse (H-) index, aspartaat-aminotransferase (ASAT), kalium, kreatinine en lactaat dehydrogenase (LD) geëxtraheerd. Een H-index >30  $\mu$ mol/L wordt als hemolytisch beschouwd.

**Resultaat:** In totaal zijn 2048 bloedafnames uitgevoerd op de SEH waarvan 121 (5,8%) door het KCL. Het aantal bloedmonsters met een H-index >30  $\mu$ mol/L was: 242 (12,6%) en 2 (1,7%) wanneer uitgevoerd door respectievelijk SEH en KCL medewerkers. De gemiddelde ( $\pm$ SD) H-index was 19,2 ( $\pm$ 52,1) en 5,6 ( $\pm$ 14,4)  $\mu$ mol/L, respectievelijk. In bloedafnames door SEH medewerkers werden significant hogere uitslagen gevonden voor ASAT, LD en H-index (alle p<0.01). We vonden geen verschillen voor kalium en kreatinine.

**Conclusie:** Bloedafname door getrainde (laboratorium) medewerkers middels geprotocolleerde venapunctie met rechte naald reduceert de fractie monsters met in-vitro hemolyse tot <2%.

#### 44. Bloedstollend? Liggend of staand; that's the question!

M.W. POT, J. LAMBERS-SCHERRENBURG, M.M.G.J. VAN BORREN

*Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Rijnstate ziekenhuis, Arnhem*

**Inleiding:** De huidige richtlijn 'preanalytische voorschriften stollingsbepalingen' beperkt ons in toenemende mate; citraatbuizen voor stollingsonderzoek dienen tijdens transport rechtop te worden vervoerd [1]. We willen ons overtuigen van de noodzaak van deze onpraktische maatregel (meer koffers en onpraktisch in combinatie met bulkloaders). In deze studie is

het effect van oriëntatie van citraatbuizen tijdens transport op routine stollingsbepalingen onderzocht.

**Methode:** Na toestemming van de patiënt (n=20) zijn 3 extra citraatbuizen (Vacuette®) afgenomen. Direct na afname/centrifugatie (6 min, 3000 g) zijn stollingsbepalingen (INR, APTT, PT, fibrinogeen, D-dimeer, AT-III) uitgevoerd (STA-R



Max®). Daarnaast zijn buizen 12 uur bewaard (staand/liggend) bij kamertemperatuur. Transport is nagebootst door deze buizen 15 minuten/uur op een kantelafel (GyroMini™, 20 RPM) te bewegen, waardoor liggende buizen ±20 cm van links naar rechts rolden. Data zijn volgens twee criteria beoordeeld: 1) zoals in de richtlijn; gemiddelde relatieve verandering (RV)<10% [1,2], en 2) total change limit [3] (TCL;  $TCL = ((0.77CVa)^2 + (0.5CVb)^2)^{1/2}$ ; CVa: QC data, CVb: Westgard-waarden (INR: CVb PT). TCL criteria; INR: 10.82%, APTT: 6.13%, PT: 7.79%, AT-III: 33.04%, D-dimeer: 23.18%, fibrinogeen: 13.07%.

## Categorie 2 Bedrijfsvoering Automatisering, dataverwerking

### 45. Development of MA generator; a web-based application that supports optimization and validation of moving average procedures as continuous quality control instrument

H.H. VAN ROSSUM  
Huvaros BV

*Introduction:* Moving Average (MA) supports continuous analytical quality control on medical Laboratories. Recently, a new method for MA optimization and validation has been described that was based on allowing a manageable number of false MA alarms (1, 2). As a next step to make this method available for clinical Laboratories, a web-based application containing the MA optimization method; MA generator, was developed.

*Methods:* A web-based MA optimization application was developed as follows: The application requirements were set to be: automatic uploading of datasets of containing obtained test results, testing suitability of data and chronological ordering of test results per analyzer, support MA calculation using mean and EWMA calculations, automatic generation of optimal MA control limits, bias detection simulation procedure execution, presentation of results in bias detection curves, generating MA validation charts of optimal MA procedures and generation of a report. All application functions were tested using customized datasets. Furthermore calculations performed were controlled

*Resultaat:* RV<10%- en TCL-criteria werden niet overschreden door het gemiddeld verschil voor alle bepalingen in staande (INR: 5±3%, APTT: 5±2%, PT: 6±2%, AT-III: 4±3%, D-dimeer: 2±16%, fibrinogeen: 1±3%) en liggende (INR: 1±2%, APTT: 6±3%, PT: 1±3%, AT-III: 1±10%, D-dimeer: 1±18%, fibrinogeen: 1±3%) buizen. Ook alle individuele INR, fibrinogeen en AT-III bepalingen hadden een RV<10% en RV. *Conclusie:* Buizen ter bepaling van bloedstollingsfactoren kunnen liggend worden getransporteerd. Houdbaarheid voor APTT en D-dimeer wordt nader onderzocht.

by reproducing the results in Microsoft Excel. When tests failed software updates were generated till MA generator passed all tests.

*Results:* The final version of the MA optimization application allowed; 1) uploading of datasets for individual assays containing >101 laboratory results, multiple analyzers and numerical and non-numerical results, 2) proper calculation of mean and EWMA calculations, automatic generation of optimal control limits and the use of customized control limits. Also the MA simulation procedure was properly performed and presentation of bias detection curves and MA validation charts was made possible.

*Conclusion:* A web-based application is developed that allows clinical laboratories to generate their own optimal MA procedures and gain objective insights in their bias detection properties.

*Literature:* 1) Clin Chim Acta 2016;457:1-7. 2) CCLM 2017;55(2):218-224.

### 46. Vijf jaar Fiom-CWZ KID database, 1000 registraties, de analytische en statistische uitdagingen

J. VAN DER STAPPEN<sup>1</sup>, Y. VAN AARSEN<sup>1</sup>, D. WOLTERS<sup>1</sup>, A. PETERS<sup>1</sup>, C. PRINSEN<sup>2</sup>, H. VAN HOOFF<sup>3</sup>  
KCL<sup>1</sup> en Klinische Pathologie<sup>2</sup>, CWZ, Nijmegen en Fiom<sup>3</sup>, Den Bosch

*Inleiding:* Naar schatting zijn er tot 2004 ruim 40.000 kinderen in Nederland met anoniem donorzaad verwekt, het aantal anonieme donoren wordt geschat op 4.000. Het hier beschreven project beoogt een antwoord te geven op de vraag of DNA profielen donoren en hun afstammelingen betrouwbaar in beeld kunnen brengen.

*Methode:* DNA Matches worden vastgesteld door een eigen ontwikkeld software pakket dat elke nieuw ingevoerde deelnemer op drie niveaus (Autosomaal, X en of Y) vergelijkt met alle reeds ingevoerde profielen.

*Resultaat:* Na vijf jaar kon eind 2016 de duizendste registratie worden opgetekend en stond de score op 93 matches tussen kinderen en zaaddonoren; 1 op de 7 KID kinderen heeft reeds een match. Daarnaast kon ook bij het ontbreken van donorphielen betrouwbaar een uitspraak worden gedaan over een groot aantal halfzus-halfzus en halfbroer-halfbroer relaties.

Het project heeft aangetoond dat ook bij het ontbreken van persoonlijke gegevens DNA een krachtig middel is biologische verwantschappen aan te tonen.

*Conclusie:* Het ontbreken van regelgeving tot 2004 heeft duizenden, middels anonieme zaaddonatie verwekte, kinderen de mogelijkheid ontnomen om hun paternale wortels na te gaan. Het samenwerkingsproject tussen het KCL van het CWZ en Fiom is een wereldwijd unicum en heeft inmiddels een beschermde status gekregen door VWS. Vanwege de hoge match score is er inmiddels een grote internationale belangstelling voor dit project.

*Literatuur:* Harper JC, Kennett D, Reisel D. The end of donor anonymity: how genetic testing is likely to drive anonymous gamete donation out of business. Hum Reprod. 2016;31(6):1135-40.

## Categorie 2 Bedrijfsvoering Overigen

### 47. The cost-effectiveness of a personalized versus a standardized laboratory work-up in diagnosing the underlying cause of anemia in Dutch general practices

M.M.A. KIP<sup>1</sup>, A. SCHOP<sup>2</sup>, S. DEKKER<sup>1</sup>, K. STOUTEN<sup>3</sup>, H. KOFFIJBERG<sup>1</sup>, M.J. IJZERMAN<sup>1</sup>, G.J. DINANT<sup>4</sup>, M.D. LEVIN<sup>2</sup>, R. KUSTERS<sup>1,5</sup>

*Department of Health Technology and Services Research<sup>1</sup>, University of Twente, Enschede; Department of Internal Medicine<sup>2</sup> and Department of Clinical Chemistry<sup>3</sup>, Albert Schweitzer Hospital, Dordrecht; Department of General Practice, School of Public Health and Primary Care<sup>4</sup>, Maastricht; Department of Clinical Chemistry and Haematology<sup>5</sup>, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch.*

**Introduction:** Anemia is a common condition in general practice and often under-diagnosed. General practitioners (GPs) may decide independently which laboratory tests to request (personalized work-up). However, a standardized work-up (hemoglobin, MCV, CRP and/or ESR, vitamin B12, creatinine, ferritin, folic acid, LDH, transferrin, reticulocytes, leukocytes, thrombocytes, and serum iron), may increase the proportion of patients diagnosed with the correct underlying cause of anemia. This study investigates the cost-effectiveness of this work-up. **Methods:** A decision-analytic model was developed, incorporating all societal costs from the moment an undiagnosed anemia patient (aged <50) presents at the GP, until the patient is (correctly) diagnosed and treated in primary care, or referred to (and diagnosed in) secondary care. Model inputs were derived from an online questionnaire among GPs, expert estimates and published data. The primary outcome measure involves the incremental cost per additional patient diagnosed with the

correct underlying cause of anemia in the standardized vs. the personalized work-up.

**Results:** The probability of GPs diagnosing the right cause of anemia increased from 49.7% (95%CI 45.1%-54.2%) in the personalized work-up, to 55.9% (95%CI 51.2%-60.3%) in the standardized work-up, (i.e. +6.2% [95%CI -0.3%-12.5%]). Costs are expected to decrease from €833/patient (95%CI €694-€988) to €826/patient (95%CI €696-€973), indicating average cost savings of €7/patient (95%CI €-61-€41) in the standardized work-up. Estimated cost savings per additional patient correctly diagnosed are €109/patient.

**Conclusion:** The standardized work-up likely increases the probability that the GP diagnosis the correct underlying cause of anemia. Per patient, costs may decrease slightly, although this remains uncertain. However, as improving the diagnosis of anemia is expected to improve treatment, and thereby quality of life, the standardized work-up is likely cost-effective.

### 48. Aanvraagbeleid na het diagnostisch toetsoverleg

C. BEIJER<sup>1</sup>, A.M. DE JONG<sup>1</sup>, I. STATIUS MULLER<sup>2</sup>, J.B.E. EYSINK SMEETS<sup>3</sup>, C.J. PRONK-ADMIRAAL<sup>1</sup>  
*Atalmedial Diagnostische Centra, Hoofddorp<sup>1</sup>; Huisartsenpraktijk Ubbens en Statius Muller, Amsterdam<sup>2</sup>; Huisartsenpraktijk Prelude, Alphen aan den Rijn<sup>3</sup>*

**Inleiding:** Wanneer huisartsen standaarden toepassen en het probleemgeoriënteerde aanvraagformulier voor laboratoriumonderzoek gebruiken, leidt dat tot een gericht aanvraagbeleid. Om zinnig en zuinig onderzoek te stimuleren zijn de klinisch chemici van Atalmedial begonnen met de inzet van het diagnostisch toetsoverleg (DTO) anemie. In dit DTO wordt het aanvraaggedrag van de aanvragers besproken en onderling gespiegeld. Daarnaast krijgen de huisartsen bijscholing aan de hand van de NHG-Standaard Anemie. De onderzoeksvraag is, heeft deelname van huisartsen aan het DTO anemie effect op het aanvraagbeleid?

**Methode:** De productiecijfers van huisartsen die deelgenomen hebben aan een DTO zijn vergeleken met de productiecijfers van huisartsen die geen DTO hebben gevolgd. De statistische analyse is uitgevoerd met behulp van de non-parametrische Mann-Whitney U test.

**Resultaat:** In de regio Amsterdam heeft deelname geleid tot een significante daling in het aantal aanvragen voor foliumzuur (mediaan controle (range); mediaan DTOfgroep (range))

(-8 (-9;21);-27 (-70;-16)). In de regio Haarlem bleek deelname niet te leiden tot een significante daling in het aantal aanvragen. In de regio Leiden heeft deelname geleid tot een significante daling van het aantal aanvragen voor ijzer (-7 (-15;1);-31 (-61;-14)), transferrine (-3 (-15;-3);-31 (-61;-11)), vitamine B12 (21 (0;54);-8 (-51;0)) en foliumzuur (25 (11;33);-19 (-48;16)). Voor het totale verzorgingsgebied van Atalmedial werd een significante daling in het aantal aanvragen voor ijzer (-6 (-30;25);-28 (-69;11)), transferrine (-5 (-30;55);-22 (-69;11)), trombocyten (-8 (-114;157);-60 (-391;139)), vitamine B12 (10 (-69;54);-12 (-115;9)) en foliumzuur (9 (-24;33);-26 (-85;16)) gezien.

**Conclusie:** Deelname aan het DTO anemie door huisartsen leidt tot een zinniger en zuiniger aanvraagbeleid voor laboratoriumdiagnostiek. De wijzigingen in het aanvraagbeleid zijn mede afhankelijk van de wijze waarop de diverse klinisch chemische laboratoria in het verleden met het aanvraagbeleid zijn omgegaan.

### 49. Praktische invulling van een doelmatiger aanvraagbeleid op de Intensive Care

P. DE BIE<sup>1</sup>, R. TEPASKE<sup>2</sup>, A.M.T HOEK<sup>1</sup>, A. STURK<sup>1</sup>, E.C. VAN DONGEN-LASES<sup>1</sup>  
*Afdeling Klinische Chemie<sup>1</sup> en Intensive Care Volwassenen<sup>2</sup>, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam*

**Inleiding:** Binnen het Academisch Medisch Centrum is de Intensive Care Volwassenen (IC) een van de grootste aanvragers van laboratoriumonderzoek. Dit omvat zowel de centrale bepalingen in het Laboratorium Algemene Klinische

Chemie, als bepalingen uitgevoerd m.b.v. drie Rapidlab-1265 bloedgasanalyzers die decentraal op de IC zijn geplaatst. Tot 2013 zijn deze bloedgasanalyzers zodanig geprogrammeerd dat standaard alle beschikbare parameters bepaald werden.

De meeste centraal uitgevoerde laboratoriumbepalingen worden aangevraagd m.b.v. standaardpakketten, vastgelegd in diverse medische protocollen. Om te komen tot een doelmatiger aanvraagbeleid is een verbetertraject opgezet samen met de medische staf van de IC.

**Methodes:** Een meersporenbeleid is ingezet: 1. bloedgasanalyzers zijn voorzien van voorkeuze panels, waarmee op eenvoudige wijze selectief enkel de benodigde bepalingen kunnen worden aangevraagd; 2. medische protocollen met standaardpakketten voor laboratoriumonderzoek zijn herzien; 3. uitgebreide trainingen en klinische lessen zijn gegeven aan de medische en verpleegkundige staf van de IC.

**Resultaat:** Het instellen van voorkeuze panels hebben geleid tot een selectiever gebruik van de bloedgasanalyzers, met een reductie in het totaal gerapporteerde bloedgas uitslagen van

36%. Gekeken naar de individuele parameters is te zien dat glucose en kalium nu worden aangevraagd bij 90% van het totaal aantal keren dat de bloedgasanalyzers zijn gebruikt, voor het hemoglobine is dit 80%, bloedgassen 75%, natrium 70%, chloride en geïoniseerd calcium beiden 45%, en lactaat 35%. Het totaal aantal centrale laboratoriumbepalingen is met 24% afgenomen. Het totaal aantal is orders gelijk gebleven, wat er op wijst dat ook deze reductie het gevolg is van een selectiever aanvraag beleid.

**Conclusie:** Door middel van een meersporenbeleid, waarin nauwe samenwerking tussen het klinisch chemisch laboratorium en de medische en verpleegkundige staf van de IC een instrumentele rol speelt, is een doelmatiger aanvraagbeleid bereikt.

### Categorie 3 Klinisch Hart- en vaatziekten, atherosclerose

#### 50. Combined cardiac troponin T and I measurements quadruple the number of safe rule-outs for acute myocardial infarction with a single blood draw at presentation

N. VAN DER LINDEN<sup>1,2</sup>, K. WILDI<sup>3,4</sup>, R. TWERENBOLD<sup>3</sup>, T. NESTELBERGER<sup>3</sup>, J. BOEDDINGHAUS<sup>3</sup>, P. BADERTSCHER<sup>3</sup>, M. RUBINI GIMÉNEZ<sup>3,5</sup>, L.J.J. KLINKENBERG<sup>1,2</sup>, O. BEKERS<sup>1</sup>, A. SCHONI<sup>3,6</sup>, D. KELLER<sup>6</sup>, Z. SABTI<sup>3</sup>, C. PUELACHER<sup>3</sup>, J. ČUPA<sup>3</sup>, L. SCHUMACHER<sup>3</sup>, N. KOZHUHAROV<sup>3</sup>, K. GRIMM<sup>3</sup>, S. SHRESTHA<sup>3</sup>, D. FLORES WIDMER<sup>3</sup>, M. FREESE<sup>3</sup>, C. STELZIG<sup>3</sup>, I. STREBEL<sup>3</sup>, O. MIRO<sup>7</sup>, K. RENTSCH<sup>8</sup>, B. MORAWIEC<sup>9</sup>, D. KAWECKI<sup>9</sup>, W. KLOOS<sup>3</sup>, J. LOHRMANN<sup>3</sup>, S. OSSWALD<sup>3</sup>, M.P. VAN DIEIJEN-VISSER<sup>1,2</sup>, A.M. MINGELS<sup>1,2</sup>, T. REICHLIN<sup>3</sup>, S.J.R. MEEX<sup>1,2</sup>, C. MUELLER<sup>3</sup>

*Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Maastricht University Medical Center (MUMC), Maastricht, The Netherlands; Cardiovascular Research Institute Maastricht<sup>2</sup> (CARIM), Maastricht University Medical Center (MUMC), Maastricht, The Netherlands; Department of Cardiology and Cardiovascular Research Institute Basel<sup>3</sup> (CRIB), University Hospital Basel, Switzerland; Department of Intensive Care<sup>4</sup>, University Hospital Basel, Switzerland; Emergency Department<sup>5</sup>, CIBERES ISC III, Hospital del Mar, Barcelona, Spain; Emergency Department<sup>6</sup>, University Hospital Zürich, Switzerland; Emergency Department<sup>7</sup>, Hospital Clinic, Barcelona, Spain; Laboratory Medicine<sup>8</sup>, University Hospital Basel, Switzerland; Department of Cardiology<sup>9</sup>, Zabrze, School of Medicine with the Division of Dentistry, Zabrze, Medical University of Katowice, Poland*

**Introduction:** Rapid rule-in and rule-out will contribute to better and more efficient healthcare for patients with suspected acute myocardial infarction (AMI). However, using the current guidelines, rapid allocation after a single blood draw is only achievable in a minority of patients. We hypothesize that combining two signals of cardiomyocyte damage, cardiac troponin I (cTnI) and T (cTnT), instead of one biomarker, could increase rule-in and rule-out for AMI at presentation.

**Methods:** We evaluated diagnostic accuracy of simple mathematical combinations (sum and product of cTnT and cTnI) in a prospective international multicenter diagnostic study including patients presenting at the emergency department (ED) with suspicion of AMI (n=2225). Cardiac troponins were measured with high-sensitivity assays (hs-cTnT Roche and hs-cTnI Abbott). Optimal cut-off values for rule-in and rule-out at presentation (minimal negative predictive value of 99.6% and positive predictive value of 75.0%), were determined in a derivation n=1799 and verified in a validation cohort (n=426).

**Results:** Use of sum and product quadrupled the percentage of patients that could be safely ruled-out after a single blood draw at presentation: 40.8% for sum and 42.8% for product versus 8.2% and 12.9% for cTnI and cTnT, respectively (p<0.01). Rule-in at presentation was only marginally affected (62.6% (sum) and 65.6% (product) versus 62.8% (cTnI) and 57.8% (cTnT)). These findings were accompanied by slightly increased diagnostic accuracies ((sum AUC=0.94 (95%CI:0.93-0.95) p=0.05 (vs. cTnI) p=0.11 (vs. cTnT); product AUC=0.94 (95%CI:0.93-0.95) p=0.01 (vs. cTnI) p=0.08 (vs. cTnT)).

**Conclusion:** New rule-out strategies combining cTnI and cTnT may significantly increase the number of patients eligible for very early rule-out of AMI. This finding might have major impact on patient care and logistics in the emergency department.

## 51. High-sensitivity cardiac troponin I and T in relation to ischemic ECG abnormalities - The Maastricht Study

D.M. KIMENAI<sup>1,2</sup>, R.J.H. MARTENS<sup>3,4</sup>, J.P. KOOMAN<sup>3,4</sup>, C.D.A. STEHOUWER<sup>2,5,6</sup>, F.E.S. TAN<sup>7</sup>, N.C. SCHAPER<sup>2,5</sup>, P.C. DAGNELIE<sup>2,6,8</sup>, M.T. SCHRAM<sup>2,5,9</sup>, C.J.H. VAN DER KALLEN<sup>2,5</sup>, S.J.S. SEP<sup>2,5</sup>, J.D.E. VAN SUIJLEN<sup>10</sup>, A.A. KROON<sup>2,5</sup>, O. BEKERS<sup>1,2</sup>, M.P. VAN DIEIJEN-VISSER<sup>1,2</sup>, R.M.A. HENRY<sup>2,5,9</sup>, S.J.R. MEEEX<sup>1,2</sup>

Department of Clinical Chemistry<sup>1</sup>, Maastricht University Medical Center+ (MUMC+), Maastricht; Cardiovascular Research Institute Maastricht<sup>2</sup> (CARIM), Maastricht University, Maastricht; Department of Internal Medicine, Division of Nephrology<sup>3</sup>, MUMC+, Maastricht; NUTRIM School of Nutrition and Translational Research in Metabolism<sup>4</sup>; Maastricht University, Maastricht, Department of Internal Medicine<sup>5</sup>, MUMC+, Maastricht, the Netherlands; School for Public Health and Primary Care<sup>6</sup> (CAPHRI), Maastricht University, Maastricht; Department of Methodology and Statistics<sup>7</sup>, Maastricht University, Maastricht; Department of Epidemiology<sup>8</sup>, MUMC+, Maastricht; Heart and Vascular Centre<sup>9</sup>, MUMC+, Maastricht; Department of Clinical Chemistry<sup>10</sup>, Gelre Hospital, Apeldoorn

**Introduction:** Interest in high-sensitivity cardiac troponin I (hs-cTnI) and T (hs-cTnT) has expanded from acute cardiac care to cardiovascular disease (CVD) risk stratification. Whether hs-cTnI and hs-cTnT provide interchangeable information in the ambulant setting is largely unexplored. We directly compared associations of hs-cTnI and hs-cTnT with ischemic electrocardiographic (ECG) abnormalities and assessed the concordance between both hs-cTn assays.

**Methods:** In the population-based, diabetes-enriched Maastricht Study, we assessed the correlation between natural log-transformed (ln) hs-cTnI and ln hs-cTnT by Pearson's correlation test, and the concordance between both hs-cTn assays by Cohen's kappa ( $\kappa$ ). Multivariable logistic regression analyses were conducted to assess the association of hs-cTnI and hs-cTnT with ischemic ECG abnormalities.

**Results:** In 3016 eligible individuals (mean age, 60±8 years; 50.6%, men) we found a modest correlation between hs-cTnI and

hs-cTnT ( $r = 0.585$ ). After multiple adjustment, the association with ischemic ECG abnormalities was similar for both hs-cTn assays (OR per 1-SD higher ln hs-cTnI: 1.72, 95% CI 1.40-2.10; OR per 1-SD higher ln hs-cTnT: 1.60, 95% CI 1.22-2.11). The concordance of dichotomized hs-cTnI and hs-cTnT was  $\kappa = 0.397$  (> sex-specific 75th percentile) with 22% of hs-cTn values discordantly classified. Isolated high levels of hs-cTnI were associated with ischemic ECG abnormalities (OR: 1.93, 95% CI 1.01-3.68), whereas isolated high levels of hs-cTnT were not (OR: 1.07, 95% CI 0.49-2.31).

**Conclusion:** There is a moderate correlation and limited concordance between the hs-cTnI and hs-cTnT assays under non-acute conditions. These data suggest that the observed associations of hs-cTnI and hs-cTnT with ischemic ECG abnormalities are driven by different mechanisms. This information may benefit future development of CVD risk stratification algorithms.

## Categorie 3 Klinisch Endocrinologie en intermediaire stofwisseling

### 52. Patiëntvriendelijke en kosteneffectieve opsporing van bijnierinsufficiëntie met ochtend speekselcortisol

M.L.P. LANGELAAN<sup>1,2</sup>, J.M.H. KISTERS<sup>3</sup>, M.M. OOSTERWERFF<sup>3</sup>, A.K. BOER<sup>1</sup>

Algemeen Klinisch Laboratorium<sup>1</sup>, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven; Klinisch Chemisch & Hematologisch Laboratorium<sup>2</sup>, Zuyderland Medisch Centrum, Heerlen; Interne geneeskunde<sup>3</sup>, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven

**Inleiding:** Speekseldiagnostiek is patiëntvriendelijk, omdat speeksel op elk gekozen tijdstip en thuis kan worden verzameld, met een minimale belasting voor de patiënt. Bovendien heeft speeksel het voordeel dat hormoonbepalingen minder tot niet worden gestoord door bindende eiwitten. Binnen de endocrinologie wordt speekseldiagnostiek derhalve vaak gebruikt voor de diagnostiek van hypercortisolisme. Het gebruik van speekselcortisol voor diagnostiek van hypocortisolisme is echter nieuw. Wij onderzochten deze nieuwe rol en hebben een diagnostisch algoritme opgesteld.

**Methode:** In deze studie werden gedurende 6 jaar (2010-2016) alle patiënten geïncludeerd met een verdenking op hypocortisolisme, waarbij een Synacthen test (250 µg) werd uitgevoerd. Plasmacortisol (Elecsys, Cobas, Roche Diagnostics) en speekselcortisol (LC-MS/MS) zijn bepaald op tijdstippen  $t = 0, 30$  en 60 minuten na stimulatie. Op grond van de behaalde plasmacortisol concentraties werden 16 patiënten geclassificeerd als insufficiënt en 113 patiënten als "normaal".

**Resultaat:** Bij een adequate bijnierrespons werden na stimulatie maximale speekselcortisol concentraties van 12,6-123,4 nmol/L (95e percentiel) bereikt, terwijl bij bijnier insufficiënte patiënten speekselcortisol concentraties tussen 0,5-15,2 nmol/L werden gevonden. Op  $t = 0$  min. werd al een verschil waargenomen tussen beide patiëntengroepen. Afkapgrenzen werden gedefinieerd op basis van de minimale concentratie bij normale patiënten (1,0 nmol/L) en de maximale concentratie bij insufficiënte patiënten (5,9 nmol/L). Buiten deze afkapgrenzen kon in 34% van de gevallen de diagnose met zekerheid gesteld worden zonder een Synacthen test (28% >5,9 nmol/L en 6% <1,0 nmol/L).

**Conclusie:** Een nieuw diagnostisch algoritme waarin de analyse van speekselcortisol wordt opgenomen, kan een rol spelen in het reduceren van het aantal Synacthen testen bij patiënten verdacht voor bijnierschorsinsufficiëntie. Een ochtendspeekselcortisol is niet alleen patiëntvriendelijk, maar voorkomt ook een aanzienlijk aantal dagopnames en reduceert zo de totale zorgkosten.

### 53. Vaststellen van klinisch relevante afkapwaarden voor 'dumping' middels een retrospectieve data analyse van de liquid mixed meal test

N. GEERTS, A-K. BOER

Algemeen Klinisch Laboratorium, Catharina ziekenhuis, Eindhoven

**Inleiding:** 'Dumping' is het krijgen van klachten na een maaltijd, door een te snelle maagontlediging. Het is een veelvoorkomende complicatie na bariatrische chirurgie. Er kan sprake zijn van vroege en/of late dumping. Vroege dumping

ontstaat door het niet gedoseerd afgeven van voeding aan de dunne darm. De te snelle afgifte zorgt voor een osmotische watershift (stijging hematocriet; 10-30 min na de maaltijd). Late dumping ontstaat door het ontbreken van gedoseerde



afgifte van glucose, met als direct gevolg een te hoge insuline afgifte, resulterend in een hypoglycemie (1-3 uur na de maaltijd). Het dumpingsyndroom wordt gediagnosticeerd op basis van anamnese. Het objectiveren van deze klachten in een gecontroleerde setting is lastig. Binnen Nederland wordt vaak de liquid mixed meal test (LMMT) gebruikt, waarbij dumping wordt uitgelokt door nutridrink. Tijdens deze test worden meerdere parameters gemonitord (pols, bloeddruk, glucose, insuline, hemoglobine en hematocriet), maar betrouwbare afkappingen of een beslisalgoritme zijn niet beschikbaar. In deze studie hebben we deze voor onze patiëntenpopulatie vastgesteld.

*Methode:* Retrospectieve data analyse van LMMT gegevens (30 patiënten; biochemische en klinische parameters), waarvan

9 patiënten klinisch vroege- en 11 patiënten klinisch late dumping hebben.

*Resultaat:* Vroege dumping geeft een procentuele hematocriet stijging én een toename in de systolische bloeddruk (>5%). Voor late dumping bleken de klinische parameters niet van toegevoegde waarde te zijn. Late dumping wordt vastgesteld middels een optimale verhouding tussen glucose en insuline. Indien de insuline toename groter is dan deze verhouding, dan is er sprake van late dumping.

*Conclusie:* Op basis van dit voorgestelde algoritme worden voor vroege dumping 26 van de 30 patiënten juist gediagnosticeerd (87%), voor late dumping zijn dit er 19 (63%). De overige patiënten blijven twijfelgevallen.

#### 54. Biological variation of the DHT/T-ratio, a potential PCOS biomarker, determined in 30 healthy individuals with LC-MS/MS

A. VAN DER VEEN, H.J.R. VAN FAASSEN, W.H.A. DE JONG, D.A.J. DIJCK-BROUWER, I.P. KEMA  
*Department of Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen, University of Groningen*

*Introduction:* For correct interpretation of laboratory data, information on within-person biological variation (CV<sub>i</sub>) and analytical variation (CV<sub>a</sub>) is essential. Recently, the DHT/T-ratio was suggested as new biomarker for an adverse metabolic phenotype in women with polycystic-ovary-syndrome (PCOS). In order to accurately apply the ratio as potential new biomarker, we determined the biological variation for plasma total testosterone (T), dihydrotestosterone (DHT) and the DHT/T-ratio.

*Methods:* Plasma total T and DHT were measured as part of the androgen profile in 30 apparently healthy subjects (15 males/15 females) with online-SPE coupled to LC-MS/MS. The blood samples were collected at a standardized time over a period of 4 months, with four-week intervals from January to May. The CV<sub>a</sub>, CV<sub>i</sub>, between-person variation (CV<sub>g</sub>) and reference change value (RCV) were assessed according to the method of Fraser and Harris.

*Results:* CV<sub>i</sub>'s for T, DHT and the DHT/T-ratio were comparable in men and women, varying from 10-16%. However, CV<sub>g</sub>'s were higher in women, T-35%, DHT-45% and the DHT/T-ratio 41%, compared to 20%, 31% and 19% in men respectively. The RCVs were similar between men and women (men; T-41%, DHT-40%, DHT/T-ratio-30% and women; T-42%, DHT-37%, DHT/T-ratio-36%).

*Conclusion:* In general, these novel data on biological variation shows a high degree of individual variation, illustrating its importance and the need for careful interpretation of single measurements of T and DHT. For ratio's, as compared to single concentrations, less influence from the circadian rhythm is expected, as it reflects 5-alpha-reductase activity. However, this did not become apparent from our data. These results can be used in the further investigation of the role of the DHT/T-ratio in women with PCOS.

#### 55. Effect of antiretroviral therapy on bone turnover and bone mineral density in HIV positive men

M.C. VLOT<sup>1,2</sup>, M.L. GRIJSEN<sup>3,4</sup>, J.M. PRINS<sup>3</sup>, R. DE JONGH<sup>2</sup>, R. DE JONGE<sup>1</sup>, M. DEN HEIJER<sup>2</sup>, A.C. HEIJBOER<sup>1</sup>  
*Endocrinologisch laboratorium<sup>1</sup>, VU medisch centrum, Amsterdam; Afdeling Interne geneeskunde<sup>2</sup>, VU medisch centrum, Amsterdam; afdeling Infectieziekten<sup>3</sup>, AMC, Amsterdam; afdeling Dermatologie<sup>4</sup>, LUMC, Leiden*

*Introduction:* Previous studies indicate that HIV-infected patients have a lower bone mineral density (BMD) compared to a healthy reference population. Bone turnover seems to be affected by both HIV infection and combination-antiretroviral-therapy (cART). The goal of the study was to evaluate the longitudinal effect of HIV-infection and cART on bone turnover markers (BTMs) and BMD in men with primary HIV-infection (PHI).

*Methods:* Thirty-five PHI-infected men were divided into a group that received cART (n=26) and that did not receive cART (n=9). Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) was performed of femoral neck (FN), total hip (TH) and lumbar spine (LS) and BTMs (P1NP, ICTP, CTX, osteocalcin, alkaline phosphatase) were collected at baseline and during follow up.

*Results:* At baseline, the median CD4-count was 455\*10<sup>5</sup>/L (range 130-1090) and plasma viral load 5.36 log<sub>10</sub>copies/mL

(1.65-6.88) in the cART-group, compared to 630 (270-1340) and 4.77 (2.58-5.89) in the no-cART-group. The median cART duration was 59.4 weeks (20.6-98). All BTMs, except ICTP, increased during cART with a mean increase of P1NP 22 µg/L (95%CI 10-33), CTX 225 ng/L (114-337), osteocalcin 7 nmol/L (2-12) and alkaline phosphatase 14 U/L (5-22) versus no changes in the no-cART-group. FN and TH BMD decreased with 0.044 g/cm<sup>2</sup> (-0.067 to -0.020) and 0.042 (-0.067 to -0.020) in the cART-group and in the no-cART-group with 0.019 (-0.038 to 0.0003) and 0.039 (-0.063 to -0.014), respectively. LS BMD did not change in both groups.

*Conclusion:* In PHI-infected men treated with cART bone turnover increased, which was accompanied by a decrease in FN and TH BMD. It remains unclear whether cART and/or (primary) HIV-infection are the main causes of increased bone turnover in this small subset of patients.

### Categorie 3 Klinisch Bloedvorming, bloedstolling, transfusie

#### 56. Whole blood donation affects the interpretation of HbA1c

A. DIJKSTRA<sup>1</sup>, E. LENTERS-WESTRA<sup>2</sup>, W. DE KORT<sup>3,4</sup>, A.G. BOKHORST<sup>5</sup>, H.J.G. BILO<sup>6,7</sup>, R.J. SLINGERLAND<sup>2</sup>, M.J. VOS<sup>2</sup>

*Sanquin Blood Bank Division<sup>1</sup>, Zwolle; Department of Clinical Chemistry & European Reference Laboratory for Glycohemoglobin, Isala Hospital<sup>2</sup>, Zwolle; Department Donor Studies, Sanquin<sup>3</sup>, Amsterdam; Academic Medical Center<sup>4</sup>, University of Amsterdam, Amsterdam; Department Medical Donor Affairs, Sanquin Blood Bank Division<sup>5</sup>, Amsterdam; Department of Internal Medicine, Isala Hospital<sup>6</sup>, Zwolle; Department of Internal Medicine, Groningen, University Medical Center Groningen<sup>7</sup>*

**Introduction:** Several factors, including changed dynamics of erythrocyte formation and degradation, can influence the degree of hemoglobin A1c (HbA1c) formation thereby affecting its use in monitoring diabetes. This study determines the influence of whole blood donation on HbA1c in both non-diabetic blood donors and blood donors with type 2 diabetes.

**Methods:** In this observational study, 23 non-diabetic blood donors and 21 blood donors with type 2 diabetes donated 475 mL whole blood and were followed prospectively for nine weeks. Each week blood samples were collected and analyzed for changes in HbA1c using three secondary reference measurement procedures.

**Results:** Twelve non-diabetic blood donors (52.2%) and 10 (58.8%) blood donors with type 2 diabetes had a significant

reduction in HbA1c following blood donation (reduction > 4.28%, P < 0.05). All non-diabetic blood donors with a normal ferritin concentration predonation had a significant reduction in HbA1c. In the non-diabetic group the maximum reduction was 11.9%, in the type 2 diabetes group 12.0%. When eligible to donate again, 52.2% of the non-diabetic blood donors and 41.2% of the blood donors with type 2 diabetes had HbA1c concentrations significantly lower compared to their predonation concentration (reduction > 4.28%, P < 0.05).

**Conclusion:** Patients with type 2 diabetes contributing to whole blood donation programs can be at risk of falsely lowered HbA1c. This could lead to a wrong interpretation of their glycemic control by their general practitioner or internist.

#### 57. HbH ziekte: zeldzame oorzaken en soms moeilijk aantoonbaar

K. BROEN<sup>\*1</sup>, J.C. ZANT<sup>\*1</sup>, A.C. ENGELBERTS<sup>2</sup>, C.L. HARTEVELD<sup>3</sup>, W.P. OOSTERHUIS<sup>1</sup>

*Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium<sup>1</sup> en Afdeling Kindergeneeskunde<sup>2</sup>, Zuyderland Medisch Centrum, Sittard-Heerlen; Hemoglobinoopathieën Laboratorium Afdeling Klinische Genetica (LDGA)<sup>3</sup>, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden. \*Gedeeld eerste auteurschap*

**Inleiding:** Door wereldwijde migratie en adoptie van kinderen uit risicogebieden voor hemoglobinoopathie worden artsen en laboratoriumspecialisten regelmatig geconfronteerd met uitslagen van routineonderzoek passend bij een hemoglobinoopathie.

**Resultaat:** Bij een 5-jarig jongetje, geadopteerd uit Thailand, werd onderzoek naar een hemoglobinoopathie ingezet vanwege een microcytaire anemie, afwijkend rood bloedbeeld en hemolyse. Met capillaire elektroforese werd een verlaagd HbA2 aangetoond alsmede een extra Hb-fractie, kenmerkend voor HbH-ziekte. Met DNA-onderzoek naar de meest voorkomende deleties leidend tot alfa-thalassemie werd een --SEA deletie vastgesteld, waarmee de HbH-ziekte echter niet werd verklaard. Aanvullend onderzoek in een referentielaboratorium toonde de zeldzame Quong Sze mutatie aan. Een 5-jarig Syrisch meisje had een microcytaire anemie, met afwijkend bloedbeeld en hemolyse. Een verlaagd HbA2 werd gezien, echter was er twijfel of de extra fracties in de elektroforese geen artefacten waren. Na herhaling met vers afgenomen materiaal was

de HbH-fractie duidelijk waarneembaar. DNA-onderzoek liet een samengestelde heterozygotie voor --MED/- $\alpha$ 3.7 zien, een niet zeldzame combinatie in het Midden-Oosten. **Conclusie:** Deze casussen illustreren de complexiteit van de diagnostiek van hemoglobinoopathieën. De diagnose HbH-ziekte kan gemist worden wanneer de instabiele HbH-fractie niet opgemerkt wordt en er sprake is van een zeldzame mutatie. De etnische achtergrond van de patiënt en overige laboratoriumresultaten zijn daarom zeer belangrijk om te komen tot een juiste fenotype-genotype correlatie. Door de hielprikscreening werd een afname van de incidentie van hemoglobinoopathieën verwacht. De aanhoudende migratie zorgt echter voor nieuwe en complexe gevallen waarop men bedacht moet zijn. Het feit dat deze kinderen pas op 5-jarige leeftijd werden gediagnosticeerd met HbH-ziekte pleit voor screening voor hemoglobinoopathieën als onderdeel van de adoptieprocedure en voor kinderen van vluchtelingen en immigranten, die nu niet via de hielprikscreening worden gediagnosticeerd.

### Categorie 3 Klinisch Lever- en darmpathologie

#### 58. Loodvergiftiging na opiumgebruik

C.C. VAN 'T KLOOSTER<sup>1</sup>, J. VAN DER LEEUW<sup>1</sup>, S.C. MARCZINSKI<sup>2</sup>, J.J. UIL<sup>1</sup>, E.F. EPPENS<sup>3</sup>

*Gastro-enterologie<sup>1</sup>, Ziekenhuisapotheek<sup>2</sup> en Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium<sup>3</sup>, Ziekenhuis Gelderse Vallei, Ede*

**Inleiding:** Kort na elkaar presenteerden twee patiënten, beiden afkomstig uit Iran, zich op de SEH met ernstige buikpijn en misselijkheid. Laboratoriumonderzoek toonde een microcytaire anemie en verhoogde leverenzymen aan bij een normale serologie (CMV, EBV, Hepatitis A, B, C en E). Buikoverzichtsfoto, gastro- en colonoscopie toonden geen

pathologie. Bij patiënt A werd porfyriene onderzoek ingezet. Hierbij werd een fors verhoogd delta-aminolevulinezuur bij een normaal porfobilinogeen gevonden. Patiënt B werd ter observatie opgenomen. Na geconstateerde onrust bleek deze patiënt een opiumverslaving te hebben. Vervolgens meldde de neef van patiënt B zich met identieke klachten en

verslavingsproblematiek. Alle drie bleken opium te gebruiken afkomstig van één en dezelfde Iraanse leverancier. In de literatuur is casuïstiek over loodvergiftiging door opiumgebruik beschreven. De verdenking loodvergiftiging werd daarbij versterkt door de uitslagen van het porfyriene onderzoek. Vervolgens is lood in bloed en opium bepaald.

*Methode:*

*Resultaat:* De plasmaspiegel lood was in alle patiënten sterk verhoogd: 124, 224 en 191 microg/dL, respectievelijk (referentiewaarde < 10 microg/dL). In het opium werd een loodconcentratie van 225 microg/g gemeten. Daarnaast werd bij de patiënten een aantal specifieke kenmerken van loodvergiftiging gevonden: verkleuring van het tandvlees (Burton lijnen), verhoogd vrij erythrocytaire protoporfyrine en

basofiele stippeling van de erythrocyten. Patiënten ondergingen natriumcalciumedetaat chelatietherapie waarna de loodspiegels daalden en de leverenzymen en hemoglobinewaarden normaliseerden. Om verdere blootstelling aan lood door opiumgebruik te voorkomen werden de patiënten voorzien van methadon.

*Conclusie:* Loodvergiftiging moet overwogen worden bij patiënten die zich presenteren met ernstige buikpijn en microcytaire anemie. Daarbij is het zinvol om tijdens de anamnese naar opiumgebruik te vragen. Basofiele stippeling van de erythrocyten en eventueel ingezet porfyriene onderzoek geven eveneens aanleiding om loodspiegel in plasma te laten bepalen.

## 59. Genotyping for the diagnosis of lactose intolerance: can we definitely give up the hydrogen breath test?

H.J. VERMEER<sup>1,2</sup>, K. STOUTEN<sup>1,2</sup>, M. VAN DE WERKEN<sup>2</sup>, F.M. VERHEIJEN<sup>1,2</sup>, R. CASTEL<sup>1,2</sup>

*Albert Schweitzer Hospital<sup>1</sup>, Dordrecht and Result Laboratory<sup>2</sup>, Dordrecht*

*Introduction:* The disaccharide lactose is abundant in mammalian milk and digested by lactase present in the intestinal brush-borders. In adult-type hypolactasia degradation products of lactose (e.g. H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, volatile fatty acids) generated by colonic bacteria can result in abdominal pain, osmotic diarrhea, and bloating. Diagnosis still leans heavily on detection of H<sub>2</sub> in the expired air after oral loading of the patient with 50 g lactose. A more patient friendly and cost-effective diagnostic tool can be genotyping of relevant single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the lactase gene (LCT).

*Methods:* Extracted DNA of 779 adult patients referred to our laboratory for a routinely performed hydrogen breath test (HBT) was analysed. Abdominal complaints during the HBT were recorded and the lactase gene persistence polymorphism LCT-13910 C/T was investigated by Sanger sequencing.

*Results:* In the group of lactose intolerant patients having the -13910 C/C genotype (N = 135), 91% showed a positive HBT.

In lactose tolerant patients with -13910 T/T genotype (N = 295), 97% had a negative HBT, whereas 93% of the -13910 C/T heterozygotes were negative. Markedly, the majority of patients reported symptoms: 93% with C/C genotype, 48% with T/T and 45% with C/T. Most T/T patients did not suffer from secondary causes of lactose maldigestion.

*Conclusion:* Negative HBT results were demonstrated in > 90% of heterozygotes, indicating that HBT can be omitted in this group. Furthermore, self-reporting of symptoms is subjective and unreliable and did not predict the outcome of HBT. In conclusion, genotyping LCT as routine diagnostic tool is efficient and an optimal alternative for the time-consuming and patient unfriendly HBT.

*Literature:* Misselwitz et al. United European Gastroenterol J 2013,3:151

## 60. Lactose intolerance: lactase-persistence alleles other than LCT-13910 C>T are relevant!

H.J. VERMEER<sup>1,2</sup>, K. STOUTEN<sup>1,2</sup>, M. VAN DE WERKEN<sup>2</sup>, F.M. VERHEIJEN<sup>1,2</sup>, R. CASTEL<sup>1,2</sup>

*Albert Schweitzer Hospital<sup>1</sup>, Dordrecht and Result Laboratory<sup>2</sup>, Dordrecht*

*Introduction:* The disaccharide lactose is abundant in mammalian milk and digested by lactase present in the intestinal brush-borders, resulting in absorbable glucose and galactose. In adult-type hypolactasia degradation products of lactose (e.g. H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, volatile fatty acids) generated by colonic bacteria can result in abdominal pain, osmotic diarrhea, and bloating. In Europeans the polymorph variant LCT-13910C>T in the MCM6 gene is strongly associated with persistence of lactase activity. However, studies with Asian or African individuals have demonstrated the presence of lactase-persistence polymorphisms other than LCT-13910C>T. So, the questions arises if routinely analysis of those variants is necessary from a clinically perspective.

*Methods:* Sanger sequencing of regions around LCT-13910 C/T was performed on extracted DNA of adult patients referred (N = 779) to our laboratory for routinely performed hydrogen breath tests (HBT). Especially, the presence of the following

polymorphisms was investigated: LCT-14010 G>C, LCT-14011 C>T, LCT-14009 T>G, LCT-13915 T>G, LCT-13909 C>A, LCT-13913 T>C, LCT-13914 G>A and/or LCT 13907 C>G.

*Results:* In this population, Sanger-sequencing detected two lactase-persistence polymorphisms (LCT-13915 T>G and LCT-13909 C>A) in a total of 14 patients with genotype LCT-13910 C/C that had a negative HBT and were clinically diagnosed as lactose tolerant.

*Conclusion:* We showed that the diagnostic efficiency of solely genotyping LCT-13910 C>T, matching with lactose intolerance, is hampered due to the possible simultaneous occurrence of persistence alleles. Determination of such polymorphisms can prevent patients receiving the advise to adhere to a lactose free diet, since they are in fact capable of processing lactose.

*Literature:* Mattar et al, Clin Exp Gastroenterol 2012,5:113

## Categorie 3 Klinisch Nierziekten

### 61. Determinants of renal sulfate reabsorption in renal transplant recipients

I. MINOVIC<sup>1</sup>, A. POST<sup>1</sup>, E. VAN DEN BERG<sup>1</sup>, H. VAN GOOR<sup>2</sup>, J.M. GELEIJNSE<sup>3</sup>, M. EGGERSDORFER<sup>4</sup>, G. NAVIS<sup>1</sup>, I.P. KEMA<sup>5</sup>, S.J.L. BAKKER<sup>1</sup>

*Departments of Nephrology<sup>1</sup> and Pathology<sup>2</sup>, UMCG, Groningen, the Netherlands; Division of Human Nutrition<sup>3</sup>, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands ; DSM Nutritional Products<sup>4</sup>, Switzerland, Department of Laboratory Medicine<sup>5</sup>, UMCG, Groningen, the Netherlands*

**Introduction:** Sulfate is the fourth most abundant anion in human plasma its homeostasis is primarily regulated by the kidneys. Under normal conditions, renal sulfate reabsorption (RSR) works at near maximal rate, with up to 90% of the filtered sulfate being reabsorbed in the proximal tubule. This process might be impaired in populations with decreased kidney function, such as renal transplant recipients (RTR), but this has not been studied. Furthermore, the determinants of RTR in such populations are unknown. Hence, we aimed to assess RSR and identify determinants thereof in RTR.

**Methods:** Plasma sulfate was measured in a well-characterized prospective RTR cohort and healthy controls by a validated ion-exchange chromatography assay and RSR was defined as 1-fractional sulfate excretion. Determinants were identified by means of multivariable linear regression analysis, in which adjustments were made for potential confounders. These included age, sex, smoking, BMI, kidney function, proteinuria and primary renal disease.

**Results:** We included 707 RTR (57% male, age 53±13 y, eGFR 52±20 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, and median plasma sulfate 0.42 [IQR 0.35-0.54] mM) and 330 healthy controls (47% male, age 54±11 y, eGFR 91±14 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, and median plasma sulfate 0.27 [IQR 0.24-0.31] mM). Median RSR was 56% [IQR 48-64%] and 65% [IQR 47-76%] in RTR and controls, resp. (P<0.001). In RTR, determinants of RTR included plasma sulfate, urinary thiosulfate excretion, intake of alcohol, water, bread, sulfur-containing amino acids, vitamin D, serum potassium, and growth hormone (all P<0.05).

**Conclusion:** RSR is lower in RTR than controls. Determinants of RSR in RTR include several non-hormonal and hormonal factors. Our data warrant further research into the clinical significance of RSR and mechanisms that underlie regulation of RSR in RTR.

### 62. Overname albumine uitslagen van andere laboratoria bij patiënten met een nefrotisch syndroom een probleem? Een vergelijking van verschillende methoden in het lage gebied

S.R. RIJPMAN, A. VAN DER LOGT, C. VINK, M. VAN BERKEL, J. OOSTING

**Inleiding:** Vanwege het verhoogde risico op trombose bij patiënten met nefrotisch syndroom wordt bij een albuminewaarde <25 g/L profylactische anticoagulantia overwogen. Een juiste bepaling van albumine in het lage gebied is dus van belang. Het is bekend dat de broomcresolgroen (BCG) methode de albumineconcentratie gemiddeld 5-6 gram per liter hoger meet dan de broomcresolpaars (BCP) methode en de nefelometrische methode. Bovendien levert een meting in serum een lagere waarde op dan in plasma. In de klinische praktijk worden nog grotere discrepanties tussen de meetmethoden gevonden bij patiënten met nefrotisch syndroom, waarbij uitslagen aan weerszijde van de klinische beslisingrens kunnen vallen. Afgelopen jaar was in het Radboudumc een casus van een patient die een CVA doormaakte waarbij er in ons laboratorium een albumine van 15 gr/L werd gemeten, welke elders boven de afkappingrens was gerapporteerd. In deze studie brengen wij de discrepantie van de verschillende meetmethodes specifiek voor nefrotische patiënten met lage albumineconcentraties in kaart.

**Methode:** Zestig patiënten met albumineconcentraties <25 g/L zijn geïnccludeerd; 20 patiënten met nefrotisch syndroom en 20 controlepatiënten vanuit de intensive care en 20 controlepatiënten met levercirrhose. Van deze patiënten is serum en plasma afgenomen, waarbij in verschillende laboratoria de albumineconcentratie is bepaald met de reguliere methodes voor die locaties. De gebruikte methodes omvatten BCG, BCP en nefelometrie als gouden standaard.

**Resultaat:** In de praktijk vinden we relevante verschillen in albumineconcentraties tussen BCP en BCG bij nefrotische patiënten.

**Conclusie:** Er is behoefte aan harmonisering van de albumineconcentratie tussen verschillende meetmethodes. Door middel van deze studie brengen wij de afwijking tussen methodes specifiek voor nefrotische patiënten in kaart, om zo overdracht tussen gezondheidscentra te bevorderen en patiënten met risico op trombose beter te kunnen identificeren.

### 63. Validity of the P30 eGFR criterion evaluated

J.P.H.M. VAN DEN WIJNGAARD, C.M. COBBAERT

*Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden*

**Introduction:** Following the KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) guidelines (KDIGO 2013) to assess Glomerular Filtration Rate (GFR), the use of the P30 criterion was proposed. Following this criterion, GFR estimates within 30% of the measured GFR are considered accurate. Since current creatinine assays have substantially improved analytical performance, exhibiting an error of approximately 4%, we evaluated the validity of the P30 criterion for classification of kidney function.

**Methods:** 57.120 eGFR estimates were calculated from serum creatinine in our academic hospital during 2015. A random

Gaussian distributed error was simulated with zero bias and the extend of misclassification following the P30 criterion was assessed.

**Results:** CKD-EPI derived eGFR values indicated 1,8% of patients with eGFR<15 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, and 2,4% of patients with eGFR 15-29 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; the remainder of the patients had higher eGFR. Applying a simulated 4% SD error resulted in 1995 patients to change one class of kidney function, with overestimation of kidney function in 434 patients. Increasing the simulated error up to 17% allowed 95% of the cases to pass the P30 criterion, but indicated that approximately 14% of



patients changed class and 0,5% changed at least two classes, with overestimation of kidney function in approximately 2% of patients.

*Conclusion:* Based on error simulation studies, we demonstrated that the P30 criterion allows huge random errors, leading to significant misclassification. If allowable patient

misclassification rate should be less than 1:10.000, a P22 instead of P30 criterion should be aimed at. Since current creatinine assays exhibit errors of approximately 4%, our simulations indicate that the P30 criterion should be revisited for the sake of better patient care.

### **Categorie 3 Klinisch Gynaecologie/obstetrie**

#### **64. Low number of hypochromic erythrocytes during pregnancy despite low iron stores**

M.W.H.J. DEMMERS<sup>1</sup>, M. NIENS<sup>2</sup>, G. VAN DER HAAR<sup>3</sup>, H.J. ADRIAANSEN<sup>1</sup>

*KCHL<sup>1</sup>, Gelre Ziekenhuizen Apeldoorn; CKCH<sup>2</sup>, Laurentius Ziekenhuis Roermond; Gelre Verloskundig Centrum Apeldoorn<sup>3</sup>*

*Introduction:* Anemia diagnosis during pregnancy is a commonly encountered problem. The Dutch guideline for midwives uses hemoglobin and MCV to determine iron deficiency anemia. Ferritin and hypochromic erythrocytes are regarded as sensitive markers of iron deficiency. We assessed red blood cell parameters and biochemical parameters to diagnose iron deficiency anemia during pregnancy.

*Methods:* Pregnant women (n=825) were included during the Netherlands Prenatal Screening Program at week 12 and 27. Non-pregnant women (n=489) were included from our local anemia screening program. The following parameters were analyzed on a Abbott Sapphire: hemoglobin, red blood cell indices, and reticulocyte indices. Abbott Architect: ferritin, iron, transferrin, and CRP. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved as being minimal or no risk.

*Results:* Corrected for the reference values for hemoglobin during pregnancy, 19 pregnant women (2.3%) were diagnosed as anemic. Low ferritin (<20ug/l) was found in 298 pregnant women (36%). Increased hypochromic erythrocytes (>10%) were found in 10 pregnant women (1.2%). In only 2.7% (8/298) of the pregnant women with a low ferritin increased hypochromic erythrocytes were found. In contrast, 58% (242/420) of the non-pregnant women with a low ferritin had increased hypochromic erythrocytes.

*Conclusion:* Hypochromic erythrocytes are seen less frequently in pregnant women. During pregnancy iron metabolism might be differentially regulated compared with non-pregnant women despite low iron stores. Alternatively, during pregnancy ferritin levels might not reflect iron storage capacity and red blood cell parameters are needed to diagnose iron deficiency.

### **Categorie 3 Klinisch Neurologie, psychiatrie, KNO en oogheelkunde**

#### **65. Associatie eosinopenie en clozapine gebruik**

T.L. NJO<sup>1</sup>, A.H.M. WINTERS<sup>2</sup>, I.M. DIJKSTRA<sup>1</sup>, D.S. BOSS<sup>1</sup>, L.J. STOKER<sup>3</sup>

*Salto afdeling klinische chemie<sup>1</sup> Utrecht; Altrecht FACT team<sup>2</sup>, Zeist; Brocacef Ziekenhuisfarmacie Midden-Nederland<sup>3</sup>, Maarsen*

*Inleiding:* Clozapine is vaak de hoeksteen in de behandeling van patiënten met therapie resistente schizofrenie. Aangezien dit geneesmiddel enkele ernstige bijwerkingen kent, zoals het ontstaan van een neutrofile agranulocytose, is clozapine ondanks zijn effectiviteit niet de eerste keus. Ten bate van de veiligheid en effectiviteit wordt de behandeling vaak door specialisten, en volgens de geldende richtlijn, uitgevoerd. Een belangrijke parameter die periodiek moet worden gecontroleerd is de leukocyten differentiatie.

*Methode:* Naar aanleiding van een aantal patiënten die clozapine gebruikten met als onverwachte bevinding een eosinopenie, hebben we gekeken naar de verdeling van de concentraties van eosinofielen bij patiënten in een clozapine protocol, versus de verdeling van deze concentraties in een ongeselecteerde populatie van een eerstelijns laboratorium.

*Resultaat:* In de ongeselecteerde uitslagen, (inclusief clozapine protocollen) viel 28% van de uitslagen onder de ondergrens van de referentiewaarde (<0,1/nl). De uitslagen van de clozapine

protocollen waren in 44% lager dan de ondergrens van de referentiewaarde. Daarnaast was opvallend dat 36% van de uitslagen in de clozapine protocollen onder de 0,05/nl lagen (modus in histogram). Dit was voor de ongeselecteerde uitslagen 10%.

*Conclusie:* Eosinopenie bij clozapinegebruik blijkt een frequent voorkomende associatie. Dit is naar ons weten niet eerder beschreven. Naast het voorkomen van neutropenie wordt in de literatuur, en in de behandelingsrichtlijn, het voorkomen van eosinofilie wel beschreven. Nader onderzoek naar de dynamiek, zoals daling in de tijd na starten clozapine, associatie met andere parameters zoals bloedbeeld of de clozapine concentratie inclusief metabolieten, levert mogelijk inzicht op in de oorzaak en de mogelijke consequenties.

*Literatuur:* J. Aneha et al. J Family Med Prim Care. 2015 4(1):127-9. Richtlijn voor het gebruik van Clozapine van de clozapineplus werkgroep:<http://www.clozapinepluswerkgroep.nl/publicaties/richtlijn-voor-het-gebruik-van-clozapine/>

### Categorie 3 Klinisch Oncologie

#### 66. Voorkómen van ernstige toxiciteit bij het gebruik van fluoropyrimidines middels screening op DPD deficiëntie: op naar een optimale strategie

S.M.I. GOORDEN<sup>1</sup>, M. VAN DER REIJDEN<sup>2</sup>, D. TEN OEVER<sup>3</sup>, M.P. HENDRIKS<sup>3</sup>, A.B.P. VAN KUILENBURG<sup>1</sup>  
*Laboratorium Genetische Metabole Ziekten<sup>1</sup>, AMC, Amsterdam; Oncologiecentrum<sup>2</sup>, Spaarne Gasthuis, Hoofddorp; Oncologisch Centrum<sup>3</sup>, Noordwest Ziekenhuisgroep, Alkmaar*

*Inleiding:* Fluoropyrimidines behoren tot de meest gebruikte chemotherapeutica bij solide tumoren. Deze middelen kunnen gepaard gaan met ernstige, soms zelfs levensbedreigende toxische bijwerkingen. De meest voorkomende oorzaak van deze toxiciteit is een gedeeltelijke of volledige deficiëntie van het enzym dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD). Screening op een DPD deficiëntie is vaak al gangbaar. Echter, de te volgen strategie behoeft nog verdere optimalisatie, zoals geïllustreerd wordt aan de hand van twee casus.

*Methode:* Casus 1 betreft een 65-jarige patiënt met een peritoneaal gemetastaseerd coloncarcinoom. Voorafgaand aan de behandeling met Capecitabine vond screening op een mogelijke DPD deficiëntie plaats door bepaling van de DPD enzymactiviteit. De tweede casus betreft een 51-jarige vrouw met een mammacarcinoom, welke behandeld werd met adjuvante chemotherapie in de vorm van een FEC (Fluorouracil, Epirubicine en Cyclofosfamide). In verband met de relatief lage dosis Fluorouracil werd screening op een DPD deficiëntie protocollair niet uitgevoerd.

*Resultaat:* Bij de eerste casus werd een verlaagde DPD activiteit gevonden [3,3 nmol/(uur.mg eiwit); ref: 5,9-14], waarop werd besloten tot een preëemptieve dosisreductie (50%). Uitgebreide sequentieanalyse van het DPYD gen liet de volgende heterozygote mutatie zien: c.299\_302delTCAT, welke niet wordt opgepikt middels de standaard DPD genotypering. De tweede patiënte meldde zich 9 dagen na start van de kuur met keelpijn, misselijkheid, diarree, buikpijn en leukopenie ( $0,3 \times 10^9/l$ ) op de SEH. Gezien deze combinatie van klinische verschijnselen werd een DPD deficiëntie vermoed. DPD enzymactiviteitsonderzoek liet vrijwel complete afwezigheid van activiteit zien (0,02 nmol/(uur.mg eiwit)).

*Conclusie:* Casus 1 laat zien dat met de standaard genotypering minder voorkomende mutaties gemist kunnen worden die wel aanleiding zouden zijn voor dosisreductie. Casus 2 illustreert het belang van screenen op DPD deficiëntie bij combinatiekuren die Fluorouracil bevatten.

#### 67. Clinical validation and comparison of serotonin analysis in various blood fractions for the follow-up of neuroendocrine tumor patients

C.M. KORSE<sup>1</sup>, A.C. HEIJBOER<sup>3</sup>, D. VAN DEN BROEK<sup>1</sup>, M.E.T. TESSELAAR<sup>2</sup>, O. VAN TELLINGEN<sup>1</sup>, H.H. VAN ROSSUM<sup>1</sup>

*Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology<sup>1</sup> and Medical Oncology<sup>2</sup>, The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands; Endocrine Laboratory<sup>3</sup>, Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands*

*Introduction:* Serotonin, an endogenous neurotransmitter and paracrine agent, is used in the diagnosis and follow-up of neuroendocrine tumors (NET). We recently developed a LC-MSMS based method for serotonin analysis in serum and platelet-rich plasma (PRP). Here, we study the clinical application of various blood fractions for serotonin analysis used for the follow-up of NET patients.

*Methods:* 94 patient samples obtained from 78 patients visiting our NET outpatient clinic were collected. Furthermore blood samples of 112 healthy volunteers were used for determination of the upper limits of normal for serum and PRP serotonin. Serum and PRP serotonin concentrations were determined using the LC-MSMS method and whole blood serotonin analysis was performed using the Chromsystems HPLC-ECD method. Method comparisons were performed using Passing-Bablok regression and Spearman's correlation analysis. Furthermore

serotonin concentrations of the healthy volunteers, 14 NET patients without evidence of disease and 51 NET patients with evidence of disease were compared.

*Results:* All obtained correlation coefficients were 0.98 and the slope of the whole blood versus serum regression was not significantly different from 1. The slopes obtained when comparing whole blood and serum serotonin with PRP serotonin were 0.74 and 0.71 respectively. NET patients with confirmed evidence of disease had significantly higher whole blood, serum and PRP serotonin concentrations when compared to NET patients without evidence of disease and healthy volunteers.

*Conclusion:* Our results suggest that as long as serotonin is expressed per platelet, serotonin results obtained from whole blood, serum and PRP seem to be interchangeable and a similar clinical performance can be expected.

### Categorie 3 Klinisch Erfelijke stofwisselingsziekten

#### 68. Opsporen van erfelijke metabole ziekten in de periferie: twee casus

K. VAN DEN HURK<sup>1\*</sup>, S.M.I. GOORDEN<sup>2\*</sup>, M.E. OP DE COUL<sup>3</sup>, C.M.A. LUBOUT<sup>4</sup>, H.A. HENDRIKS<sup>1</sup>, F.M. VAZ<sup>2</sup>  
*Klinisch Laboratorium<sup>1</sup>, OLVG locatie west, Amsterdam; Laboratorium Genetische Metabole Ziekten<sup>2</sup>, AMC, Amsterdam; Afdeling Kindergeneeskunde<sup>3</sup>, OLVG locatie west, Amsterdam; Afdeling Kindergeneeskunde Metabole Ziekten<sup>4</sup>, AMC, Amsterdam. \*Gedeeld eerste auteurs*

*Inleiding:* In Nederland worden ~800 kinderen per jaar geboren met een erfelijke metabole ziekte. Een gedeelte van deze kinderen wordt opgespoord middels de neonatale hielprikscreening. Echter, er is nog steeds een groot aantal

behandelbare stofwisselingsziekten waarop niet wordt gescreend. Het vroeg diagnosticeren hiervan is van cruciaal belang; hoe eerder de behandeling wordt gestart, des te beter de uitkomst. Hier beschrijven we 2 casus die aan het licht kwamen

door sterk afwijkende laboratoriumuitslagen in het perifere ziekenhuis.

**Methode:** Casus 1 betreft een 7 maanden oud jongetje dat zich presenteerde met een failure-to-thrive. Later ontwikkelde hij ook epilepsie en een stomatitis. Laboratoriumonderzoek liet een megaloblastaire anemie zien en een folaatwaarde <1,5 nmol/l. De tweede casus betreft een 11 maanden oud meisje met een trage psychomotorische ontwikkeling en verminderde spierkracht. Laboratoriumonderzoek toonde een kreatinineconcentratie <5 µmol/l.

**Resultaat:** Bij de eerste casus is de extreem lage folaatwaarde aanleiding geweest voor de klinisch chemicus i.o. om te denken aan een stofwisselingsziekte en vindt verwijzing naar de academie plaats. Bij verdere analyse bleek er sprake te zijn van hereditaire folaatmalabsorptie welke te behandelen is met

hoge doses folinezuur. Bij casus 2 liet aanvullend metabool onderzoek een verhoogd guanidoazijnzuur en sterk verlaagde kreatine waarde zien, passend bij een guanidinoazijnzuur methyltransferase (GAMT) deficiëntie. Dit is een kreatine biosynthese stoornis, waarbij vroegtijdige behandeling met kreatine een gunstige prognose geeft.

**Conclusie:** Stofwisselingsziekten kunnen zich presenteren met opvallende afwijkingen in het routine klinisch chemisch onderzoek, zoals hier de extreem verlaagde folaat- en kreatinine waarden. Oplettendheid hiervoor en voor klinisch verdachte kenmerken zoals failure-to-thrive, epilepsie, ontwikkelingsachterstand en consanguïteit zorgt ervoor dat een stofwisselingsziekte in het perifere ziekenhuis snel wordt opgemerkt waardoor vroegtijdig met behandeling gestart kan worden.

### Categorie 3 Klinisch Overigen

#### 69. Changes in hemoglobin and iron status parameters after repeated exercise

R. TERINK<sup>1</sup>, D.S. TEN HAAF<sup>2</sup>, T.M. EIJSVOGELS<sup>2</sup>, M. MENSINK<sup>1</sup>, M.T. HOPMAN<sup>2</sup>, M.G.J. BALVERS<sup>3,1</sup>, J.M.T. KLEIN GUNNEWIEK<sup>3</sup>

*Division of Human Nutrition, Wageningen University<sup>1</sup>, Wageningen, Department of Physiology, Radboud University Medical Center<sup>2</sup>, Nijmegen, Clinical Chemistry and Haematology Laboratory, Gelderse Vallei Hospital<sup>3</sup>, Ede*

**Introduction:** Iron is an essential micronutrient that is required for the synthesis of blood hemoglobin (Hb). Concentrations of iron storage- and transport proteins or Hb are affected by pathological conditions such as inflammation. Recently, it has been shown that intense physical exercise may alter the apparent iron status in athletes. It is however not known how a less intense and repeated type of exercise may affect iron status parameters. In the current study we evaluated the dynamics of several iron status parameters during a 4-day walking event.

**Methods:** Blood was collected from 98 volunteers that participated in the Nijmegen Four Days Marches 2015. Samples were collected at baseline before the start of the marches, and every day (day 1 to day 4) directly after finishing. Volunteers gave written informed consent. Analyses of iron status were performed using standard laboratory procedures in the Clinical

Chemistry and Haematology Laboratory of ZGV, and included the measurement of Hb, free iron (Fe<sup>2+</sup>), transferrin, transferrin saturation, and ferritin. Statistical analyses were performed using SPSS software (v22.0).

**Results:** Hb increased from 9.4 mmol/L (baseline) to 9.5 mmol/L (day 1; P < 0.001), and subsequently decreased to 9.0 mmol/L (day 4; P < 0.001). Fe<sup>2+</sup> levels decreased from 17.4 µmol/L (baseline) to 11.7 µmol/L (day 3; P < 0.001) and remained decreased on day 4. A similar decreasing pattern was observed for transferrin and transferrin saturation. Ferritin levels increased from 102.4 µg/L to 115.6 µg/L at day 2 (P < 0.001) and remained elevated on the following days.

**Conclusion:** Iron status parameters are significantly changed following repeated exercise. Except for transferrin, the results are comparable to what is observed after intense exercise.

#### 70. Fish oil supplemental dose needed to reach 1 g% DHA+EPA in mature milk

E. STOUTJESDIJK<sup>1</sup>, A. SCHAAFSMA<sup>2</sup>, D.A.J. DIJCK-BROUWER<sup>1</sup>, F.A.J. MUSKIET<sup>1</sup>

*Laboratory Medicine<sup>1</sup>, University Medical Center Groningen and University of Groningen; Friesland Campina<sup>2</sup>, Leeuwarden*

**Introduction:** Erythrocyte (RBC) DHA+EPA content of 8 g/100 g fatty acids (g%) confers optimal cardiovascular and mental health in adults. Mothers with lifetime high fish intake exhibiting this status produce breast milk with DHA+EPA contents of about 1 g%. We investigated what DHA+EPA supplemental dose augments RBC DHA+EPA to 8 g% and breast milk DHA to 1 g%.

**Methods:** Pregnant women in gestational week (GA) 20 were randomly allocated to groups A (n=9; DHA+EPA =315 mg/day), B (n=9; 630 mg/day), C (n=11; 945 mg/day) and D (n=7; 1,260 mg/day). All mothers received a multivitamin and vitamin D supplement. Blood samples were collected at 20 weeks GA, 36 weeks GA and 4 weeks postpartum (PP). A milk sample was collected at 4 weeks PP. RBC and milk fatty acids were measured with GC-FID.

**Results:** Median (range) RBC DHA+EPA at enrollment was 5.5 (3.3-8.5) g%. RBC DHA+EPA increased from 5.5 (3.9-8.5) to 6.5 (6.0-7.6) in week 36 GA in group A. For group D these data were: 6.2 (3.3-7.2) and 9.4 (6.7-11.3). At 36 weeks, median RBC DHA+EPA 8 g% was reached by groups C and D and remained stable at 4 weeks PP. Median (range) breast milk DHA+EPA contents in groups A,B, C and D were: 0.36 (0.27-0.75) g%, 0.81 (0.56-1.06) g%, 1.01 (0.71-1.31) g% and 1.08 (0.68-1.68) g%, respectively.

**Conclusion:** Women with about 5 g% RBC DHA+EPA in early pregnancy need >630 mg DHA+EPA/day to reach RBC DHA+EPA 8 g% at pregnancy end and 945mg DHA+EPA/day to reach milk DHA+EPA ≥ 1 g% at 4 weeks postpartum.

### 71. A daily 85 µg vitamin D supplement during pregnancy and lactation is unable to increase the mature milk anti-rachitic activity to infant requirements

E. STOUTJESDIJK<sup>1</sup>, A. SCHAAFSMA<sup>2</sup>, I.P. KEMA<sup>1</sup>, D.A.J. DIJCK-BROUWER<sup>1</sup>, F.A.J. MUSKIET<sup>1</sup>  
*Laboratory Medicine<sup>1</sup>, University Medical Center Groningen and University of Groningen; Friesland Campina<sup>2</sup>, Leeuwarden*

**Introduction:** Exclusively breastfed infants are at risk of vitamin D deficiency-rickets. The Dutch Health Council advises a 10 µg/day vitamin D supplement for 0-4 years old infants, 4-50 years old women with light skin and insufficient sunlight exposure and counterparts with dark skin, and all pregnant women. A 10 µg vitamin D/day intake from human milk corresponds with a milk anti-rachitic activity (ARA) of 513 IU/L. We showed that lactating women with lifetime abundant sunlight exposure are unable to reach this output. In the present study we investigated what vitamin D dose augments mature breast milk ARA to 513 IU/L.

**Methods:** Twenty weeks pregnant women were randomly allocated to groups A (n=7; 10 µg vitamin D/day), B (n=8; 35 µg/day), C (n=11; 60 µg/day) and D (n=7; 85 µg/day). Milk samples were collected at 4 weeks postpartum. Milk 25(OH)

D and vitamin D were analyzed by LC-MS/MS and converted to milk ARA.

**Results:** Median (range) breast milk ARA content (in IU/L) in groups A,B, C and D were: 33 (20-67), 83 (48-145), 150 (45-1089) and 156 (26-309), respectively. There was a significant relation between the vitamin D supplemental dose and the mature breast milk ARA (R=0.629; p<0.01).

**Conclusion:** The currently employed highest dosage of 85 µg vitamin D/day was unable to increase milk ARA to the infant requirement of 513 IU/L. It is unlikely that this requirement will be reached by increasing the supplemental dose to the upper limit of 100 µg vitamin D/day. The present data underline our previous suggestion that the infant should acquire adequate vitamin D stores during pregnancy.

### 72. Improving home hemodialysis: stability evaluation of routine clinical chemistry analytes in blood samples of hemodialysis patients

L.J.P. NONKES<sup>1</sup>, M. VAN GELDER<sup>2</sup>, H. KEMPERMAN<sup>1</sup>, M.J. TEN BERG<sup>1</sup>, K.G.F. GERRITSEN<sup>2</sup>  
*Department of Clinical Chemistry and Hematology<sup>1</sup> and Department of Nephrology and Hypertension<sup>2</sup>, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands*

**Introduction:** A growing number of dialysis patients is eligible for hemodialysis at home. Routine clinical chemistry testing is crucial for monitoring the effect of dialysis. Current pre-analytical protocols prescribe spinning and transfer of plasma in a new tube for blood samples collected at home. This is prone to errors and precludes bicarbonate measurement. We evaluated whether overnight storage of gel separated plasma is an acceptable alternative.

**Methods:** Thirty-four chronic kidney disease patients from the UMCU dialysis clinic were recruited and venous blood was collected in two lithium heparin blood collection tubes with gel separator. After centrifugation, one tube was directly analyzed as part of routine analyses whereas the other was spun and without opening stored at 4 degrees Celsius and analyzed 24 hours later. Potassium, bicarbonate, calcium, phosphate, glucose, urea nitrogen, lactate, aspartate transaminase, lactate dehydrogenase and transferrin were analyzed on an

AU5811 routine chemistry analyzer (Beckman Coulter, Brea, California). Mean percentage deviation was compared to total allowable error (TEa), which was used as acceptance limit.

**Results:** Potassium, phosphate and lactate levels were significantly increased after 24h storage, whereas glucose, lactate dehydrogenase and transferrin showed a reduction. No changes were observed for bicarbonate, calcium, urea nitrogen and aspartate transaminase. Stability was acceptable for all investigated analytes, with deviations smaller than TEa.

**Conclusion:** Centrifuged lithium heparin blood collection tubes with gel separator can be stored unopened at 4 degrees Celsius for at least 24 hours without compromising analyte stability. These findings allow the collection, centrifugation and storage of blood samples at a patient's home without the need of transferring plasma to a new tube. Furthermore shipment and analysis can be performed the next day.

### 73. A prospective cohort study of renal dysfunction using urine biomarkers in recreational long-distance runners

R.H.A. VAN DER DOELEN<sup>1</sup>, D.M. VAN DER LUGT<sup>2</sup>, D. VAN DAM<sup>3</sup>, J. REIMER<sup>4</sup>, F.R.M. STASSEN<sup>5</sup>, L. JANSSEN<sup>6</sup>, P. JANSSEN<sup>7</sup>, M.J.W. JANSSEN<sup>1</sup>, J.L.M.L. LE NOBLE<sup>3,8</sup>  
*Department of Clinical Chemistry and Hematology<sup>1</sup>, Department of Emergency Medicine<sup>2</sup>, Department of Intensive Care<sup>3</sup>, VieCuri Medical Centre Noord-Limburg; Infusion Technology<sup>4</sup>, Grave; Department of Medical Microbiology<sup>5</sup>, Maastricht University Medical Centre; Department of Clinical Epidemiology<sup>6</sup>, VieCuri Medical Centre Noord-Limburg; Department of Pharmacy<sup>7</sup>, VieCuri Medical Centre Noord-Limburg; Department of Pharmacology and Toxicology<sup>8</sup>, Maastricht University Medical Centre*

**Introduction:** Running an (ultra)marathon has been associated with renal dysfunction and acute kidney injury (AKI) in the presence of risk factors as use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). This study had the objective to assess the effects of gender, distance and use of NSAIDs on urine biomarkers of renal function among recreational long-distance runners.

**Methods:** We collected urine samples from 35 participants (18 male, 17 female) in the 10 km "Weir Venloop 2015" competition and from 45 participants (21 male, 24 female) in the 21.1 km competition, an hour before the start and immediately after the finish. The levels of albumin, creatinine, sodium, uric acid, and the AKI biomarker neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) were measured on the Architect® c8000 and i2000 analyzers. In addition, we objectified the use of ibuprofen, diclofenac, naproxen

and/or paracetamol with a LC-MS/MS method.

**Results:** We found increased urine NGAL levels, resembling mild renal injury, that were most pronounced in subjects whose urine samples demonstrated the use of NSAIDs. In contrast, subjects that had used paracetamol showed no increase in urine NGAL levels. Furthermore, the 21.1 km participants showed greater increases of urinary albumin and creatinine levels than the 10 km participants.

**Conclusion:** Our results suggest that the use of NSAIDs by recreational long-distance runners is associated with increased risk of development of AKI. The significance of the rise in urinary NGAL could be elucidated by studying its dynamics during recovery and by follow-up of long-term renal function.