

Posterabstracts

Samenvattingen van de posterpresentaties tijdens het 69e Congres van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde op 14 en 15 april te Arnhem

Categorie 1 Analytisch

Fotometrie, elektrochemie, sensortechnologie

1. Liposomal interference on Sysmex XN-Series Body Fluid mode

C. FLEMING, M. de BRUIN, H. RUSSCHER, J. LINDEMANS, R. de JONGE

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

Introduction: In recent years, a vast majority of laboratories have transitioned from traditional manual microscopy to automated counting of blood cells in body fluids (BFs) for first line screening. Although it is generally accepted that automated analyzers have improved the quality and turn-around-times of BFs analysis, difficulties that include interfering factors from non-cellular particles remain. DepoCyt is a chemotherapeutic drug used in the treatment for neoplastic meningitis (NM). It is composed of cytarabine suspended in aqueous chambers and encapsulated in lipid bi-layers. Interferences of DepoCyt particles are of concern because reporting false elevated WBC counts can have potential adverse clinical consequences in patients with NM.

Methods: In this study, we evaluated the interference of DepoCyt on the XN-1000 BF mode using 'current software' and 'evaluation software' developed by Sysmex for the detection/flagging of liposomal particles.

Results: In samples containing only DepoCyt, the current software reported falsely elevated WBCs with a higher accent on the PMNs, and a distinct 'banana-like' pattern in the scattergram was observed. The 'WBC abnormal' flag was triggered only when undiluted DepoCyt was measured, and displayed a grey 'cloud'. The same phenomenon (banana-like pattern) was observed during the second experiment using 'evaluation software'. By using serially diluted DepoCyt samples, the 'evaluation software' triggered the following series of events in 56% of the cases: 1) presence of the WBC abnormal flag, 2) 'grey cloud' in the WDF scattergram, 3) asterisk marks next to the WBC results, and 4) a 'corrected' WBC count for DepoCyt interference.

Conclusion: Samples containing DepoCyt should not be analysed using current Sysmex analysers, but analysed manually until new software is released to alert users of their presence.

2. Between analyser differences in chloride measurements and thus anion gap cause different interpretations of the acid-base balance

N. GEERTS¹, N. WLAZLO², V. SCHARNHORST^{1,3}

Department of Clinical Chemistry, Catharina Hospital¹; Department of Internal Medicine, Catharina Hospital²; Department of Chemical Biology, Faculty of Biomedical Technology³, Eindhoven University of Technology, Eindhoven, The Netherlands

Introduction: For interpretation of acid-base disorders, the anion gap can be helpful in narrowing the differential diagnosis of metabolic acidosis. Traditionally, the anion gap has been calculated from plasma values obtained on routine chemistry analysers. With the availability of electrolyte measurement in arterial blood gases (ABG), clinicians can calculate the anion gap from the ABG sample. Recently, we noticed that there were substantial differences between the anion gap obtained by ABG (ABL835, Radiometer), compared to the laboratory anion gap, calculated with concentrations obtained in plasma (Cobas C-modules, Roche DX).

Methods: To assess the extent of the observed differences, electrolyte measurements and resulting anion gaps were compared in simultaneously drawn arterial blood and venous plasma samples of 529 patients that had visited the emergency department during the last 3 years.

Results: The anion gap was on average -3.47 mmol/L lower

(95% LoA: -11.2; 4.1) when calculated from ABG values compared to venous measurements. Especially the chloride concentrations are significantly lower when measured in venous plasma samples. The differences in anion gap were large enough to be clinically relevant. Twenty-five patients with a metabolic acidosis (9%) had a normal anion gap according to ABG measurements, but an increased anion gap with plasma electrolytes. External quality controls indicate that Cobas (Roche) measures significantly lower chloride concentrations than assigned (-1.5 mmol/L). A comparison with 20 patient samples between Cobas and other platforms makes the difference more pronounced (-3.5 mmol/L).

Conclusion: The anion gaps, and thus clinical conclusions, depend on the analyser used. In this study, the observed difference could be traced back to consistently lower chloride concentrations in venous plasma samples compared to ABG and external quality control reference concentrations.

3. Analytical performance of multiple colorimetric assays for serum copper and zinc on the Architect® c8000 analyzer

T.G.J. JANSSEN, S.J.C. JANSEN, M.J.W. JANSSEN

Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology, VieCuri Medical Center, Venlo, The Netherlands

Introduction: One of the most accurate but more laborious methods for determination of copper and zinc in serum is considered to be atomic absorption spectrometry (AAS). Automated colorimetric assays, however, are simple high-throughput methods suitable for consolidated chemistry platforms. We examined the analytical performance of the Dialab® and Randox® copper assays, and the INstruchemie® (with and without deproteinization) and Randox® zinc assays on the Architect® c8000 analyzer.

Methods: Assay imprecision was studied using 3 human serum pools with various copper and zinc concentrations. Limit of quantification (LOQ) was determined by generating a precision profile at low concentrations. For assay accuracy, copper and zinc concentrations were measured in serum samples on the Architect analyser and the results compared with those from a Varian SpectrAA® 240FS atomic absorption spectrometer.

Results: Dialab and Randox copper assay imprecision varied from 0.6 to 1.2, and 3.1 to 8.7% CV, respectively, in the concentration range 16-44 µmol/L. LOQs were 0.4 and 4.0 µmol/L. For INstruchemie (with and without deproteinization) and Randox zinc assays, the imprecision results were 3.3 to 9.1, 2.4 to 5.4, and 4.0 to 11 %CV, respectively, in the range 9.6-31 µmol/L. LOQs were 1.2, 0.2 and 1.0 µmol/L. Flame AAS comparison studies revealed no significant bias with the Architect copper assays but significant bias with Architect INstruchemie with deproteinization (slope 1.18, intercept 2.5 µmol/L, R=0.983), INstruchemie without deproteinization (intercept 2.3 µmol/L, R=0.971) and Randox (slope 1.32, intercept 2.4 µmol/L, R=0.957) zinc assays.

Conclusion: In this study the Dialab copper assay and the INstruchemie without deproteinization zinc assay show the best analytical performance on the Architect analyzer.

4. Minder invloed van hemolyse op de bepaling van direct bilirubine met vanadaat reagens

M.J.C. DANE, J. van de VEN, M. VEUGER

LabWest, Den Haag

Inleiding: Voor de diagnose van de oorzaak van hyperbilirubinemie bij pasgeborenen wordt de bepaling van direct (dbil) en totaal bilirubine (tbil) gebruikt. De huidige dbil bepaling van Roche gebruikt diazo-reagens. Hierbij veroorzaakt lichte hemolyse een onderschatting van 10% (Hemolytische index (HI) = 23, ofwel 23 µmol/L hb), toenemend tot wel 80% bij een HI van 100. Omdat in vitro hemolyse regelmatig voorkomt bij neonaten, wordt een groot percentage van de dbil-bepalingen afgekeurd. Daarom is nu een alternatieve methode geëvalueerd.

Methode: Op de Roche cobas c501 werd een open-kanaal reagens (Wako) gevalideerd voor analyse van dbil. Dit reagens werkt via oxidatie van bilirubine door vanadaat. De invloed van hemolyse werd voor beide reagentia geanalyseerd door middel van het spiken van plasma met hemolytisch materiaal. Ook werd de precisie geanalyseerd en werd vanadaat-reagens vergeleken met diazo-reagens voor materiaal van zowel neonaten als volwassenen.

Resultaat: Met vanadaat-reagens is er een onderschatting van 10% bij een HI van 450 (n=15). Zowel precisie als correlatie met de diazo-methode waren acceptabel. Opvallend was echter het verschil bij het patiënten-vergelijk: ten opzichte van het diazo-reagens had materiaal van volwassenen een bias van -10% terwijl neonataal materiaal een bias van +50% liet zien.

Conclusie: De vanadaat-methode is een bruikbaar alternatief voor bepaling van dbil in hemolytische monsters bij volwassenen. Voor neonataal dbil ligt dit complexer. Een verschil in compositie van bilirubinefracties en in reagerende fracties met beide reagens lijkt de meest logische verklaring voor de afwijkende bias. Aangezien dbil geen definieerbare stof is, is het vaststellen van (on)juistheid van een van beide methodes lastig. Na overleg met de neonatologen is besloten het reagens voor kinderen onder de 3 jaar in gebruik te nemen.

5. De invloed van icterie op de ammoniakmeting

L. ERASLAN - ERDEM, C. RAMAKERS, Y.B. de RIJKE

Afdeling Klinische Chemie, Erasmus MC, Rotterdam

Inleiding: Bij verdenking op ernstige leverfalen en ureumcyclusdefecten wordt ammoniak aangevraagd in bloed. Bij deze patiënten gaat de hyperammoniëmie vaak gepaard met geconjugeerde hyperbilirubinemie. De enzymatische methode voor bepaling van ammoniak heeft al bij een matige hyperbilirubinemie last van icterische interferentie en vormt met name voor de bovengenoemde patientenpopulatie een serieus probleem.

Methode: In deze studie is de mate van interferentie door geconjugeerde bilirubine onderzocht door in 14 bloedmonsters met een icterische index tussen de 234 en 666 van 8 klinische patiënten de ammoniakconcentraties te bepalen middels drie verschillende meetmethoden: enzymatisch (Cobas 8000, Roche Diagn.), enzymatisch automatisch 2x verdund en reflectometrisch (Point-of-care test, PocketChemBA, Menarini Diagn.). In de controlegroep zijn 6 bloedmonsters met een icterische index tussen de 9 en 85 geïncludeerd. Aangezien er geen referentiemethode voor ammoniak bestaat, zijn alleen de uitkomsten van de drie methoden met elkaar vergeleken.

Voor de analyse is een icterie afkapping >300 aangenomen.

Resultaat: Vergeleken met de enzymatische methode resulteerden de verdunde enzymatische en de reflectometrische methoden in respectievelijk 20 µmol/L (helling: 1,09, 95%CI: 0,88-1,39; intercept: -20,0, 95%CI: -40,33- -4,17) en 17 µmol/L (helling: 1,24, 95%CI: 1,06-1,51; intercept: -17,21, 95%CI: -38,84- -4,87) lagere ammoniakconcentraties. De ammoniakconcentraties gemeten met de verdunde enzymatische en de reflectometrische methoden verschilden niet van elkaar. Geen methodeafhankelijke verschillen werden gemeten in de controlegroep.

Conclusie: De verdunde enzymatische ammoniakbepaling op de Cobas 8000 en de point-of-care test van Menarini vertonen bij een hoge icterie index (>300) een vergelijkbaar lagere ammoniakconcentratie vergeleken met de (foutief verhoogde) concentratie gemeten met de onverdunde enzymatische methode op de Cobas 8000. Beide methoden bieden een uitkomst voor patiënten met geconjugeerde hyperbilirubinemie bij het rapporteren van een juiste ammoniakuitslag.

6. Pseudo-hypernatriëmie - een kwestie van analyse platform?

N. TEL - KARTHAUS¹, G.A.M. SALET², L.H. JACOBS¹, K.C.A.M. NABBE³, C.H.H. SCHOENMAKERS⁴, M.H.J. VOGT⁵, N. GEERTS⁶, R.M.J. HOEDEMAKERS¹

Laboratorium voor Klinische Chemie en Hematologie¹, Intensive Care², Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's Hertogenbosch; Diagnostiek voor U Laboratorium³, Eindhoven; Algemeen Klinisch Laboratorium⁴, Elkerliek Ziekenhuis, Helmond, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium⁵, Viecuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg, Venlo; Algemeen Klinisch Laboratorium⁶, Catharina Ziekenhuis, Eindhoven

Inleiding: Pseudohyponatriëmie ten gevolge van hoge eiwit- en lipideconcentraties in bloedmonsters is een bekend analytisch fenomeen dat aandacht vindt binnen richtlijnen en bij de interpretatie van laboratoriumuitslagen. Pseudohypernatriëmie ten gevolge van lage eiwitconcentraties daarentegen komt regelmatig voor in de praktijk, maar wordt vaak minder herkend. In deze studie hebben wij de omvang van pseudohypernatriëmie ten gevolge van hypoproteïnemie bij IC patiënten onderzocht. Tevens hebben wij de mate van pseudohypernatriëmie op 5 verschillende analyse platforms vergeleken.

Methode: De natriummetingen van 382 IC patiënten zijn tussen januari en juni 2015 geanalyseerd. Het verschil tussen de directe natriummeting op de bloedgasmeter (Rapidlab, Siemens) werd vergeleken met de indirecte meting op de chemie analyzer (Dimension Vista 1500, Siemens) ten opzichte van de totaal eiwit concentratie. De natriumconcentraties van 36 monsters met verschillende eiwitconcentraties zijn bovendien gemeten op 4 andere chemie analyzers (Advia1800, Siemens; Abbott c8000; Beckman DXC800; Cobas8000, Roche).

Resultaat: Het natrium verschil tussen de directe- en indirecte meting correleert rechtvaardig met de concentratie van het totaal eiwit. Lage (40-50 g/l) en zeer lage (30-40 g/l) eiwitconcentraties resulteren in een gemiddelde verhoogde natriumafwijking van respectievelijk 4,8 mmol/l en 6,5mmol/l. Het vergelijk tussen de 5 verschillende analyse platforms toont een platform afhankelijk effect met de hoogste natrium afwijking bij de Dimension Vista1500 (7,2 mmol/l bij TE 30-50 g/l).

Conclusie: Lage eiwitconcentraties kunnen resulteren in foutief te hoog gemeten natriumwaarden tot wel 6,5mmol/l op diverse chemie analyzers. Bij risico patientenpopulaties zoals op de IC kunnen deze metingen ten onrechte tot overmatige behandeling lijden. De hoogte van de natrium afwijking verschilt per analyse platform maar lijkt niet rechtvaardig aan de analyzer specifieke verdunningsfactor. Voor IC patiënten zou overwogen moeten worden alleen een directe meetmethode te gebruiken voor natriumbepalingen.

7. Validation of ionized magnesium using the pHox Stat Profile analyser

R. TERINK¹, M.G.J. BALVERS¹, J.M.T. KLEIN GUNNEWIEK²

Division of Human Nutrition, Wageningen University¹, Wageningen, the Netherlands, Clinical Chemistry and Haematology Laboratory, Gelderse Vallei Hospital², Ede, the Netherlands

Introduction: Awareness of the range of biological functions of magnesium (Mg) is growing. The benefits of Mg testing on critically ill patients have been recognized. Most laboratories measure only total serum Mg concentrations while the ionized form (iMg) is believed to be the physiologically active component. By using an ion-selective electrode iMg can be measured. In this study we validate the precision of the pHox analyzer (Nova Biomedical) for iMg measurement, test different vacutainers, and stability at different temperatures.

Methods: Blood samples were taken from 3 healthy volunteers after written informed consent. Blood was collected in different vacutainers (lithium heparin (Li-hep) 17 IU/mL, serum glass, serum with clot activator) and stored at room temperature, 4°C and -20°C. Precision was tested by 15 successive measurements. Stability was tested at different temperatures at different time

points (0, 2, 4, 6, 24 and 48 hours; 1, 2, 4 and 8 weeks). Statistical analysis was performed using SPSS software (vs22).

Results: Precision testing showed an SD of 0.011 mmol/L and a CV of 1.80%. There was a significant difference in measured values between the recommended Li-hep vacutainer and the serum vacutainer with clot activator and serum glass vacutainer (both $p < 0.01$). Measured iMg values were stable when whole blood samples were kept up to 4 hours at room temperature and 2 hours at 4°C. Stored at -20°C, serum iMg concentrations were stable up to 4 weeks.

Conclusion: The pHox analyzer measures ionized magnesium with high precision. Blood samples should be preferably collected in a Li-hep vacutainer and can be stored for 4 hours at room temperature prior to analysis.

Hemocytometrie, flowcytometrie, hemostase

8. Circulating endothelial cells in diabetes mellitus type II patients

M. TON¹, M. van der HORST¹, M. DRIES², E. van BLOOIS², J.G.J. POUWELS¹

Laboratory for Clinical Chemistry, Treant Zorggroep¹, location Schepers Hospital, Emmen, The Netherlands, Department of Product Development², IQ Products BV, Groningen, The Netherlands.

Introduction: Patients with diabetes mellitus (DM) are at high risk for vascular disease. Increased numbers of circulating endothelial cells (CECs) are typically observed in different pathologies associated with vascular disease. The aim of this study was to enumerate the amount of CECs in DM-II out-patients versus healthy controls and to investigate the correlation of these CECs with HbA1c, age, Body Mass Index (BMI), smoking and medication.

Methods: EDTA-anticoagulated peripheral blood of 16 healthy volunteers and 29 DM-II out-patients was collected for CECs and HbA1c analysis. CECs were analysed by flow cytometry

and CEC Count™ Kit (IQProducts). CECs were identified as CD34+/CD45neg/CD146+/DNA+ (I). HbA1c was analysed immunoturbidimetric (Roche-Cobas501).

Results: Patients with DM-II showed significantly elevated numbers of CECs (mean 52 ± 36 cells/mL) compared to healthy controls (10 ± 7 cells/mL). The diabetic patients used different medications with the majority on diabetes medication. There was no significant difference in number of CECs due to diabetes medications and smoking/non-smoking. This is possibly due to the small number of participants in some of the individual groups. No correlation was observed between HbA1c, BMI, age

and smoking/non-smoking and CECs/mL in patients with DM-II. *Conclusion:* This limited study shows an increased number of CECs in blood of DM-II patients compared to healthy controls. This increase can be an expression of the development of vascular pathology of the disease. Whether the determination of CECs can help prevent, or at least can lead to the early detection of vascular

disease in DM-II patients will require more extensive (longitudinal) studies. Given the epidemic of DM-II in the western world, research into the prevention of complications is warranted.

Literature: 1. Kraan et al. J Tromb Haemost 2012;10:931-9.

9. Sikkcelvlag op ADVIA 2120i

L. IJSSELSTIJN¹, J. de JONG - de NOOIJER¹, P.H. TAAL², R.W. WULKAN¹, F. WEERKAMP¹
Laboratory for Clinical Chemistry, Maastricht Ziekenhuis¹, Rotterdam, Siemens Healthcare Nederland²

Inleiding: Het herkennen van onbekende sikkcelpatiënten buiten kantoor tijden kan leiden tot een vroegtijdige verklaring voor onbegrepen symptomen, adequatere behandeling van de sikkcelziekte en preventie van sikkelen tijdens een ingreep of narcose. Om deze reden wilden we een vlag ontwikkelen voor de routine hematologie apparatuur, in ons geval de ADVIA 2120i, die laagdrempelig de mogelijke aanwezigheid van sikkcelcellen aangeeft.

Methode: De ontwikkelde sikkcelvlag werd gegenereerd aan de hand van de uitslagen van de reticulocytenbepaling. De criteria hiervoor waren leeftijd >1jaar, #RETI >180 en %hyper_r >0,5. In het geval er geen reticulocytenbepaling aangevraagd was, werd er een eerste selectie gedaan middels de CBC-bepaling. Een reticulocytenbepaling werd aan het monster toegevoegd wanneer de CBC-bepaling aan de volgende criteria voldeed: leeftijd >1 jaar, RDW >18, RBC <4, HGB <6,5, %micro+%macro+%hypo+%hyper >13, %hypo

<20, PLT >190 en Covar <17. Een sikkcelvlag bij dezelfde patiënt binnen een periode van 100 dagen werd genegeerd. De werking van de sikkcelvlag werd na één jaar geëvalueerd.

Resultaat: Over de periode van één jaar werd er 109 keer een sikkcelvlag gegenereerd bij 82 personen. Onder deze 82 personen waren 24 sikkcelpatiënten (30%), welke allen reeds bekend waren. Naast de sikkcelpatiënten detecteerde de sikkcelvlag personen met onder andere sikkceltrait, hereditaire sferocytose, AIHA/hemolyse, beta-thalassemie en andere hematologische aandoeningen. Analyse van de hemoglobinoopathie-onderzoeken over dezelfde periode liet geen gemiste sikkcelpatiënten zien.

Conclusie: De ontwikkelde sikkcelvlag op de ADVIA 2120i was in staat om sikkcelpatiënten te identificeren. De vlag had een sensitiviteit van 100% en een specificiteit van 30%. Er werden echter geen nieuwe sikkcelpatiënten geïdentificeerd middels de sikkcelvlag.

10. ACT: een bloedstollend vergelijk

E.W.M. KEMNA^{1,2}, C. KUIPERS³, H. KRABBE¹
Medisch Laboratoria Oost-Nederland¹, Medlon, Enschede; Klinisch chemisch laboratorium², Medisch Spectrum Twente, Enschede, Saxion³, Enschede

Inleiding: Het doel van dit onderzoek is een analytische vergelijking van de Activated clotting time (ACT) tussen twee Point-of-Care meters, de i-STAT en de huidige Hemochron Signature Elite. De meters worden gebruikt om de ACT te monitoren tijdens thorax en vaat OK's.

Methode: Er zijn 59 monsters in duplo op beide apparaten gemeten. Deze samples zijn afgenomen tijdens thorax (n=43) en vaat OK's (n=16). De resultaten zijn met elkaar vergeleken over het gehele bereik en rondom de medical decision points (MDP). *Resultaat:* Resultaten laten zien dat de Hemochron een hogere mate van afwijkingen in duplo's geeft. 1,7% en 8,5% van de uitslagen vallen buiten de gestelde TEa van 15%, bij respectievelijk i-STAT en Hemochron. Het gemiddelde verschil bij de i-STAT duplo's ligt op 14,4s en bij Hemochron op 41,8s. Verder valt bij 3,4% (n=2/59) een duplo van de Hemochron

buiten de meetrange (>1000s), terwijl dit bij de i-STAT niet voor kwam. De Hemochron waarden variëren, zonder outliers, van 107-667s en i-STAT van 107-765s. Methode vergelijk geeft een R van 0,88, een gemiddelde bias van -36s (-10%) en een slope van 1,18. Bij de duplo's, zou in twee gevallen de Hemochron verschillende klinische beslissingen geven, bij de i-STAT in één geval. Daarnaast zou bij MDP 440s, in 32% van de gevallen een andere klinische beslissing worden genomen met de i-STAT ten opzichte van de Hemochron, bij MDP 250 sec is dit 6,3%.

Conclusie: Hemochron heeft een lagere reproduceerbaarheid en het gemiddelde verschil is drie keer zo groot als bij de i-STAT. Rondom de MDP zijn echter geen significante verschillen in de duplo's. Er is een sterke correlatie tussen beide meters, daarnaast is er een bias van -10%.

11. Dilute Russell Viper Venom time, a partial solution for screening and concentration determination of direct oral anticoagulants

A.K. STROOBANTS¹, E.J. van den DOOL¹, M. HECKMAN¹, M. COPPENS², A. STURK¹
Laboratory for General Clinical Chemistry¹ and Department of Vascular Medicine², Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: The introduction of direct oral anticoagulants (DOACs) in clinical practice led to the need of reliable screening and concentration determining tools of these anticoagulants. The aim of this study is to determine whether the dilute Russell Viper Venom time (dRVVT) is suitable for DOAC screening and concentration determination.

Methods: The effect of the DOACs dabigatran, rivaroxaban and apixaban was tested on four commercial dRVVT assays using spiked normal pooled plasma. Also, dRVVT was measured in samples from patients receiving one of the DOACs to study the usability of this assay in patient care.

Results: All four dRVVT assays showed linear dose-response curves for all tested NOACs and with sufficient prolongation in the therapeutic range. Prolongation at the upper limit of the therapeutic range was for dabigatran 80 - 150 s, rivaroxaban 70 - 120 s and apixaban 17 - 38 s. In patient samples containing dabigatran (n=31), the dRVVT proved to be suitable for screening and concentration determination (Y = 0.9X - 4.3 comparison with LC-MS/MS). With rivaroxaban (n = 21), screening with dRVVT is possible, but concentration determination is too variable (Y = 0.9X + 61 compared to LC-MS/MS). With apixaban (n = 5) sometimes no prolongation of dRVVT was observed.

Conclusion: Based on in vitro studies dRVVT seems a good screening and concentration determination assay for all three tested DOACs. However, in vivo results show only promising results as a screening assay for dabigatran and rivaroxaban, and

concentration determination tool for dabigatran in the therapeutic range. The dRVVT test is likely to demonstrate the presence of supratherapeutic concentrations with all three DOACs.

12. Interference study of direct thrombin inhibitors and anti-Xa inhibitors on hemostasis assays on a cobas t 411 system

A.K. STROOBANTS, W. van DAM, B. BAKKER, E.J. van den DOOL, M. HECKMAN
Laboratory for General Clinical Chemistry, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: Direct thrombin inhibitors bivalirudin, argatroban and dabigatran and factor-Xa inhibitors rivaroxaban, apixaban and fondaparinux are known to impact some routine coagulation parameters. The influence of these drugs on assays with the cobas t 411 system and the possibility to use aPTT/PT for screening was investigated.

Methods: Pooled plasma from healthy donors was spiked with one of the anticoagulants in 6 concentrations up to the maximum of its therapeutic range. Measurements of aPTT (3 reagents), PT, antithrombin (AT) and fibrinogen were performed on 6 days with single measurements or, if no influence was expected, with 1 triplicate measurement on a cobas t 411 platform (Roche Diagnostics) using reagents and control material according to the manufacturer's instructions. Deviations were compared to within run CVs.

Results: The CVs of the assays for repeatability were (max.

values): aPTT 1.6%, PT 1.1%, AT 5.4%, fibrinogen 13%. Increases at the upper limit of the therapeutic range compared to normal were with bivalirudin for aPTT 145-199%, PT 62%; argatroban aPTT 187-255%, PT 121%; dabigatran aPTT 152-205%, PT 61%; rivaroxaban aPTT 60-70%, PT 34%; apixaban aPTT 18-31%, PT 14%; fondaparinux aPTT 14-25%, PT 8.3%.

Conclusion: All aPTT reagents were very sensitive to the presence of thrombin inhibitors, less to rivaroxaban and least to apixaban and fondaparinux. PT was sensitive to thrombin inhibitors, less to Xa inhibitors. The curvilinear dose response curves complicated concentration determination. Thrombin inhibitors impacted AT and fibrinogen as expected, except for no increase with bivalirudin on AT. These effects must be taken into consideration when interpreting coagulation results of patients receiving these anticoagulants. aPTT and PT can be considered to screen for the presence of these drugs.

13. An automated method for unfractionated heparin neutralisation in aPTT measurements on a coagulation analyser

R.H. STOKWIELDER, A. HUISMAN
Department of Clinical Chemistry and Hematology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands

Introduction: Unintended contamination of unfractionated heparin (UFH) may occur during blood draw and may cause (unexpected) prolongation of clotting times like the aPTT. This may result in diagnostic misinterpretations and diagnostic delay. Therefore we developed an automated aPTT method based on hexadimethrine bromide (polybrene) neutralisation of UFH.

Methods: This method was developed on a STA-Rack-Evolution automated coagulation analyzer using STA-PTT-A reagent (both Diagnostica Stago, Asnieres-sur-Seine, France). We used plasma samples from healthy donors which were spiked with UFH and samples from patients treated with UFH. Several polybrene (obtained from Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) concentrations (dissolved in 0.9% NaCl) were tested and a final concentration in the sample cup of 5.6 µg/ml proved to be the most efficient. This method is partly based on a previously

published method (1).

Results: aPTT results were reported with turn-around-times equal to the standard aPTT with the use of a modified aPTT test configuration using the coagulation analyser. In a patient series of 15 patients treated with UFH automated neutralisation with a polybrene solution resulted in a normalisation of the aPTT. Subsequently, in a series of 20 plasma samples spiked with UFH the polybrene neutralisation also resulted in a normalisation of the aPTT.

Conclusion: Automated neutralisation using polybrene on an automated coagulation analyser is a reliable and fast method to neutralize the effect of UFH on the aPTT.

Literature: 1. Tientadukul et al. Arch Pathol Lab Med 2013;137: 1641-7.

14. Vierdaagse studie. Hemoglobine in reticulocyten (CHR) in relatie tot conventionele markers van de ijzerstatus

C. van KAMPEN¹, M. BALVERS¹, D. ten HAAF², T. EIJSVOGELS², M. HOPMAN¹, J. KLEIN GUNNEWIEK¹
Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹, Ziekenhuis Gelderse Vallei, Ede; Afdeling Fysiologie², Radboudumc, Nijmegen.

Inleiding: In de initiële fase van ijzergebrek, voordat er werkelijk een anemie is ontwikkeld, leidt een wisselende hoeveelheid ijzer in het beenmerg tot reticulocyten die minder hemoglobine bevatten. Het meten van hemoglobine in reticulocyten (CHR) lijkt daarmee een gevoelige marker voor de vroege detectie van ijzergebrek. Doel van de studie is het vaststellen van de CHR waarden binnen een populatie gezonde vrijwilligers en de relatie binnen deze groep met de conventionele testen (serum ijzer, transferrine, TYBC, transferrineverzadiging en ferritine).
Methoden: De ADVIA2120i celteller detecteert reticulocyten op basis van RNA aankleuring. De CHR is het gemiddelde cellulair hemoglobine gemeten in de reticulocytenpopulatie. In een groep gezonde vrijwilligers (n=1105) werden Hb, CHR, reticulocyten en ferritine waarden gemeten. Statistische analyses: SPSS (v22.0).

Resultaat: De gemiddelde CHR waarde binnen deze groep is 31,56

pg en vertoont een normale verdeling. Mannen hebben gemiddeld een CHR waarde van 31,75 pg en vrouwen een CHR waarden van 31,30 pg. Dit verschil is significant (P<0,001). Individuen met een Hb waarde boven de 7,5 mmol/l hebben significant hogere CHR waarden ten opzichte van individuen met een Hb lager dan 7,5 mmol/l. (31,60 vs 27,68 pg; P<0,001). Er is geen correlatie tussen de CHR en het aantal reticulocyten. Individuen met een ferritine waarde > 15 µg/l hebben significant hogere CHR waarden dan individuen met een ferritine waarde < 15 µg/l (31,71 pg vs 29,92 pg; P<0,001).

Conclusie: In deze groep gezonde vrijwilligers hebben mannen gemiddeld een hogere CHR waarde in vergelijking met vrouwen. De CHR waarden correleren met de Hb waarden, met name indien er onderscheid gemaakt wordt in Hb boven en onder de 7,5 mmol/l. Individuen met lage ferritine waarden hebben lagere CHR waarden.

15. Evaluatie van de iQ200 (Beckman Coulter) Body Fluids Module

M.H.M.T. de KONING, W. van den ANCKER, I-A. HAAGEN
Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, OLVG Oost, Amsterdam

Inleiding: De iQ200 urine analyser, Beckman Coulter, kan naast de beoordeling van het urine sediment ook gebruikt worden voor het beoordelen van lichaamsvochten. Aanvullende software, de Body Fluids Module, maakt het mogelijk vochten te beoordelen op de aanwezigheid van cellen en kristallen.

Methode: Vochten (ascites-, pleura-, synoviaal vocht en dialysaat), routine matig aangeboden voor analyse aan het laboratorium, zijn beoordeeld op aanwezigheid van cellen, gedifferentieerd naar rode bloedcellen en kern houdende cellen en aanwezige partikels zoals kristallen. De Celtelling met de iQ200 vindt plaats door eerst het totaal aantal cellen te tellen, vervolgens worden de rode bloedcellen gelyseerd en worden de over gebleven cellen geteld, de nucleated cells. De rode bloed cellen is het totaal aantal cellen min de nucleated cells. Kristallen worden door de iQ200 onder Total Cells geclassificeerd en moeten geherclassificeerd worden.

Resultaat: Cellen: 40 vochten zijn beoordeeld. Correlatie met de Sysmex XN-9000, Sysmex, voldoet aan de gestelde eisen (de richtingscoëfficiënt en de constante moeten in de 95% betrouwbaarheidsinterval van 1 en 0 liggen met de Passing & Bablok regressie). Kristallen: 24 synoviaal vochten, na voorbehandeling met hyaluronidase, zijn zowel manueel microscopisch als met de iQ200 beoordeeld. Alle microscopisch waargenomen (uraat) kristallen zijn door de iQ200 opgemerkt. Precisie: De inter-run %CV is met de Body Fluids controle I en II bepaald en voldoet. De intra-run %CV is bepaald met cellen in lichaamsvochten en voldoet niet voor rode bloedcellen in het lage gebied.

Conclusie: De iQ200 urine analyser kan door aanpassing van de software ook gebruikt worden voor het beoordelen van cellen en kristallen in lichaamsvochten. Al hoe wel het meetbereik voor cellen tot nul gaat, is de intra-run %CV voor rode bloedcellen in het lage gebied slecht.

16. Validation of a flow cytometry based platelet function test compared with light transmission aggregometry

I. van ASTEN¹, M. BAAIJ¹, J. ZANDSTRA¹, T.H. MERKX¹, A. HUISMAN¹, G. PASTERKAMP¹, S.J.A. KORPORAAL¹, R.E.G. SCHUTGENS², R.T. URBANUS¹
Department of Clinical Chemistry and Haematology¹ en Van Creveldkliniek², University Medical Centre Utrecht, the Netherlands

Introduction: Light transmission aggregometry (LTA) is the long-established gold standard test for the diagnosis of platelet function disorders. However, LTA is highly variable, is laborintensive, requires a large blood volume and has moderate sensitivity for mild platelet function disorders. Therefore, we have developed a flow cytometry based platelet activation test (PACT) that measures fibrinogen binding to integrin $\alpha IIb\beta 3$ and P-selectin expression as markers of platelet activation in response to agonist stimulation.

Methods: Proof of principle of the PACT was tested in 10 patients with known platelet function disorders, including Glanzmann Thrombasthenia (GT), Storage Pool Disease (SPD) and Bernard Soulier Syndrome (BSS). Besides, we aimed to compare the diagnostic value of the PACT with LTA and included patients (n=113) with a positive bleeding anamnesis (ISTH BAT > 4) and suspicion of a primary hemostasis defect in the

study. Agonist-induced platelet reactivity was determined by both PACT and LTA and compared with the platelet function of healthy controls (n=60). Finally, the reproducibility of the PACT and LTA was determined in good and bad responding platelets.

Results: With PACT, GT and BSS can be identified, whereas patients with SPD showed abnormal platelet function in PACT, but needs to be confirmed with low platelet ADP content. Subsequently, the discriminative value between patients and healthy control of the PACT (area under the ROC curve of 0.738 ± 0.038), is superior to LTA (0.624 ± 0.043 ; $p=0.048$), but also the reproducibility of the PACT is higher than LTA.

Conclusion: Concluding, the PACT has shown superiority over LTA in discriminating between platelet function disorders and healthy controls, but also in test reproducibility, making PACT a promising tool in platelet function diagnostics.

Immunoassay, (bloedgroepen)serologie

17. Een simpele methode voor detectie van interferentie door heterofiele antistoffen in de fT4 assay

M. OOSTENDORP, E.W.G.M. LENTJES
Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht

Inleiding: Interferentie door heterofiele antistoffen is een bekend probleem bij immunoassays. Er zijn verschillende technieken om dit nader te onderzoeken: verdunningsreeks, PEG-precipitatie, blocking tubes en bepaling middels een andere methode. Vanwege hun eenvoud worden de eerste twee methoden in de praktijk het meest toegepast. Bij verdenking op interferentie in de fT4-assay, worden een verdunningsreeks en PEG-precipitatie echter als ongeschikt beschouwd, vanwege de verstoring van het evenwicht tussen gebonden en vrij T4. In deze studie laten wij zien dat een simpele verdunningsreeks wel succesvol kan worden ingezet bij het vermoeden op interferentie door heterofiele antistoffen in de fT4-assay.

Methode: Alle metingen werden uitgevoerd op de Beckman-Coulter UniCel DxI800 analyzer. Tien patiënten werden verdacht van interferentie in de fT4-assay obv een discrepant hoog fT4 bij een normaal tot hoog-normaal TSH.

Er was geen klinische verklaring voor de uitslagen en het TSH werd als niet afwijkend beschouwd obv eerdere uitslagen, kliniek en/of verdunningsexperimenten. Het fT4 werd herhaald in 5x en 10x verdund serum in 0,9% NaCl. Tien random samples met een hoog fT4 die niet verdacht waren voor interferentie werden meegenomen ter controle. Alle fT4 resultaten werden genormaliseerd naar de fT4 uitslag in het onverdunde sample.

Resultaat: Bij de controles gaf verdunning van het sample geen significante verandering in het fT4, genormaliseerde waarden waren allen >80%. Bij de verdachte samples was het genormaliseerde fT4 in de 10x verdunning bij allen <70% en vaak nog lager, passend bij interferentie. Dit werd bevestigd door bepaling van totaal T4, fT3 of fT4 middels een andere methode.

Conclusie: Een verdunningsreeks is een geschikte, eenvoudige methode om interferentie door heterofiele antistoffen in de fT4-assay te onderzoeken.

18. Evaluatie procedure voor het signaleren van foutief verlaagde fT4 bij TBG deficiëntie

H.N. BUI¹, E. ENDERT², M.M. BUIJS¹

Atalmedial Diagnostische centra¹, Afdeling Klinische Chemie, Hoofddorp; Laboratorium Endocrinologie², Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Inleiding: Atalmedial verzorgt eerste- en tweede lijns laboratoriumdiagnostiek in de regio's Amsterdam, Kennemerland en Leiden. Dagelijks worden ca. 900 TSH en 460 fT4 bepalingen uitgevoerd op een Architect (Abbott). Deze methode geeft (enigszins) foutief verlaagde fT4 waarden bij lage TBG concentraties. Een verlaagd fT4 in combinatie met een TSH concentratie binnen het referentiewaardengebied past echter ook bij een centrale hypothyreoïdie. Atalmedial heeft een procedure opgesteld om een TBG deficiëntie uit te sluiten, voordat een patiënt mogelijk een (uitgebreid) diagnostisch traject in gaat. **Methode:** Indien fT4 7,5-9,0 pmol/l en TSH <10,00 mU/l of fT4 <7,5 pmol/l en TSH <20,00 mU/l (referentiewaarden fT4 10,0-19,0 pmol/l; TSH 0,28-4,20 mU/l) wordt een fT4 Delfia (AMC Amsterdam; referentiewaarden 10,0-23,0 pmol/l) toegevoegd, tenzij aanvullende gegevens de TSH/fT4 combinatie reeds

kunnen verklaren. Wanneer het verschil tussen fT4 Architect en Delfia groter dan 5 pmol/l is, worden tevens TBG (referentiewaarden 200-650 nmol/l) en fT4 middels dialyse (referentiewaarden 10,0-23,0 pmol/l) toegevoegd.

Resultaat: In 15 maanden zijn 97 fT4 Delfia bepalingen toegevoegd. Bij 58% werd geen aanwijzing gevonden voor een foutief verlaagde fT4. Bij 29% lag de fT4 Delfia wel binnen de referentiewaarden. Bij 13% was het verschil tussen fT4 Architect en Delfia groter dan 5 pmol/L. Van deze 13 patiënten bleken 10 patiënten TBG-deficiënt te zijn. Bij de overige 3 patiënten berustte de discrepantie op een ander analytisch probleem.

Conclusie: Deze procedure lijkt geschikt om een diagnostisch traject te voorkomen bij TSH/fT4 combinaties passend bij een centrale hypothyreoïdie die berusten op een analytische probleem, waaronder een TBG deficiëntie.

19. Evaluatie van de 25-hydroxy vitamine D immunoassays op de Lumipulse G1200 en Modular E170 in vergelijking met LC-MS/MS

R. BROUWER, L. REIJNDERS, H. KRABBE

Medlon BV, Enschede

Inleiding: Vitamine D is een belangrijke regulator in de calciumhuishouding. Mede gezien associaties van vitamine D deficiëntie met diverse ziektebeelden, zien wij in de laatste jaren een sterke stijging van het aantal vitamine D aanvragen, hoewel ongebreideld meten van vitamine D niet wordt geadviseerd. Deze stijging vraagt om een niet-arbeidsintensieve meetmethode welke kosteneffectief doch consistente resultaten oplevert in verschillende patiëntengroepen. Het definiëren van de optimale klinische beslisgrens gaat met nodige discussie gepaard. Het hanteren van een 'harde' grens, welke dan ook, vraagt om methoden met lage analytische variatie en bias. Hier presenteren wij resultaten van een studie waarin twee relatief eenvoudig te implementeren immunoassays zijn vergeleken met een routine LC-MS/MS methode voor diverse patiëntengroepen.

Methode: In deze studie is gebruik gemaakt van de 25-hydroxy vitamine D immunoassays op de Modular Analytics E170 (Roche Diagnostics) en Lumipulse G1200 (FujiRebio Diagnostics) met LC-MS/MS als referentiemethode. Overgebleven serummonsters

van geselecteerde patiëntengroepen (n=139 van 1e lijn, Intensive Care, Hemodialyse, zwangere patiënten) zijn voor deze studie gebruikt. Methodevergelijking en verificatie is uitgevoerd volgens EP-9 en EP-15.

Resultaat: Conform de EP-15 presteren beide methoden op het geteste hoge (~100-130 nmol/L) en lage niveau (~20-30 nmol/L) voldoende. Uit de EP-9 methodevergelijking blijkt dat de 25-hydroxy vitamine D methode op de Lumipulse G1200 voor alle onderzochte patiëntengroepen zeer goed correleert met de LC-MS/MS methode. De 25-hydroxy vitamine D methode op de Modular E170 heeft een positieve bias ten opzichte van de LC-MS/MS methode met bovendien een minder goede correlatie coëfficiënt.

Conclusie: De 25-hydroxy vitamine D methode op Lumipulse G1200 biedt, ook in specifieke patiëntpopulaties, een mogelijk alternatief voor meer bewerkelijke LC-MS/MS methoden.

Literatuur: 1. Heijboer et al. Clin Chem 2012, 58:543. 2. Denimal et al. Clin Chem Lab Med 2014, 52:511.

20. Expanding the autoantibody testing profile in systemic sclerosis: results from the Leiden Systemic Sclerosis cohort

J.A. BAKKER¹, P. SCHIPPERS¹, I. MARKUSSE², J. de VRIES - BOUWSTRA²,

Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine¹, Department of Rheumatology², Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands

Introduction: Systemic sclerosis (SSc) is a heterogeneous autoimmune disease, ranging from limited cutaneous forms to diffuse disease affecting vital visceral organs. Classification is based on pattern of skin involvement, and the presence of specific autoantibodies, enabling a more precise prognosis on risk of organ involvement. Driven by the increasing number of autoantibodies associated with SSc, sera from patients for the Leiden Systemic Sclerosis Cohort with a positive ANA IIFT and so far negative for autoantibodies, were retested for identification of the associated autoantibody. **Methods:** Sera from SSc patients (n=328) were tested for antibodies against SS-A/Ro-52, Pm/Scl, Fibrillarin and RNA-polymerase III using a Phadia[®] 250 EliA fluorescence enzyme immunoassay (FEIA) (Thermo Scientific, Freiburg, Germany) and anti-KU and anti-Th/To antibodies were identified using QUANTA Flash[®] chemiluminescence immunoassay (CLIA) on the BIO-FLASH[®] instrument (research use only);

ANA result autoantibody	number	%Positive ANA
CENP	120	36,6%
Scl70	80	24,4%
RNP	40	12,2%
Sm	4	1,2%
Fibrillarin	10	3,0%
PmScl	12	3,7%
RNA-polymerase III	19	5,8%
Ku	8	2,4%
Th/To	10	3,0%
SS-A/Ro-52	47	14,3%
No autoantibody detected	30	9,1%
Negative ANA	25	7,6%

Inova Diagnostics, San Diego, USA). *Results:* Retesting of the patients with the panel above identified specific autoantibodies in 60 patients. Combining these results with the earlier detected antibodies SSc specific autoantibodies were detected in 300 out of 328 patients. SS-A/Ro-52 antibodies were in most cases combined with one of the other autoantibodies. In 6 patients

with anti-RNP antibodies and 3 cases with anti-Ku antibodies there was a combination with a second antibody.

Conclusion: Using an expanded autoantibody panel to detect SSc associated autoantibodies we were able to identify autoantibodies in 60 more SSc patients. Introducing these autoantibodies in a test algorithm can be used for better classification of SSc patients.

21. Calprotectine 2 (TFS) in feces: een nieuwe test

M.H.M.T. de KONING, P.H. GOEDHART, I-A. HAAGEN
Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium, OLVG Oost, Amsterdam

Inleiding: De Calprotectine bepaling in feces is een zeer waardevolle niet-invasieve bepaling voor de differentiatie tussen IBD en IBS. Geautomatiseerde, snellere en betere testmethoden en feces-opwerk materialen zijn de laatste tijd op de markt verschenen. Deze studie beschrijft de validatie van de nieuwe Calprotectine 2 op de Phadia250, ThermoFisher Scientific, met een eigen opwerk-buis. De Calprotectine 2 test heeft een groter meetbereik en de stabiliteit van het fecesextract zou beduidend beter zijn.

Methode: Methodevergelijk, precisie, lineairiteit en gevoeligheid zijn beoordeeld. Extra aandacht is geschonken aan de houdbaarheid van vers en opgewerkt fecesmateriaal. Vergeleken is het effect op de Calprotectine uitslag bij direct bewerkt of voor bewerking ingevroren feces en na opwerken direct gemeten of na invriezen van het extract. De aanwezigheid van bloed kan de uitslag beïnvloeden: het effect van (niet-)zichtbaar volbloed en erythrocyten is bestudeerd.

Resultaat: Methodevergelijk: In het gebied <600 mg/kg feces is er een lineair verband tussen de Calprotectine en Calprotectine 2 methode (P&B: 1,09x -7,49, ook in het kritische gebied tussen de 50-200 mg/kg. Analytische nauwkeurigheid (%CV) bij 60mg/kg feces is 2,5% en bij 23 mg/kg feces 7,3%. Effect van bloedbijmenging:(niet-) zichtbaar bloed verhoogde de Calprotectine uitslag. Zuivere erythrocyten verlagen de uitslag. Monsternemen en voorbereiden: invriezen voor opwerken geeft de laagste CV en heeft onze (logistieke) voorkeur. Cruciaal is de manier van monsternemen: zeer goed mengen geeft de beste resultaten. Eenmalig steken in een fecesmonster laat zien dat Calprotectine zeer divers in het monster aanwezig is.

Conclusie: De Calprotectine 2, TFS, bepaling in feces in combinatie met het nieuwe opwerkmateriaal kan de oude methode vervangen. Extra aandacht moet gegeven worden aan hoe het materiaal voor extractie uit het fecesmonster genomen wordt!

22. Cardiac troponin T: smaller molecules in patients with end-stage renal disease than after onset of acute myocardial infarction

A. MINGELS¹, E. CARDINAELS¹, N. BROERS², M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, J. KOOMAN², O. BEKERS¹
Department of Clinical Chemistry¹; Department of Nephrology², Maastricht University Medical Center

Introduction: Cardiac troponin T (cTnT) is the preferred biomarker to diagnose acute myocardial infarction (AMI) but is also known to be elevated in patients with renal dysfunction, especially in patients with end-stage renal disease (ESRD). We expect that these chronically elevated cTnT molecules are different from the molecular forms seen in the acute phase of myocardial infarction.

Methods: Gel filtration chromatography (GFC) was applied to sera from AMI and ESRD (n=16) patients. Also purified cTnT standards (cTnT-I-C complex and intact cTnT) and the clinical cTnT assay's quality control materials (Roche) were analyzed. Further validation was established subjecting GFC fractions to immunoprecipitation and Western blotting, employing antibodies from the clinical cTnT assay plus other antibodies.

Results: Retention volumes of cTnT-I-C complex and purified

cTnT were at 20 and 27.5 mL, respectively. Also in quality control materials, cTnT eluted at 27.5 mL. AMI patients' sera revealed cTnT peaks at 27.5 and 45 mL, respectively, and Western blotting illustrated that these peaks corresponded to N-terminal truncated cTnT fragments of 29 and <18 kDa, respectively. In contrast, sera from ESRD patients demonstrated only one cTnT-peak at 45 mL. This was obtained for all patients before as well as after hemodialysis and remained stable following 2 months in time. This cTnT-peak could be allocated to cTnT fragments of <18 kDa and in which the N-terminal end was found to be absent.

Conclusion: This is the first study to demonstrate that cTnT forms in ESRD patients are small (<18 kD) and deviate from molecular forms seen after AMI. These insights will give input for the development of a better cTnT immunoassay that is more specific to detect the onset of a myocardial infarction.

23. Case report: een streptavidine-interfererende factor in de Roche TSH en vrijT4 bepalingen

I. KUIPERS, R.J. VERHEUL, G.A.E. PONJEE, J. van de VEN

Afdeling Klinisch Chemisch Laboratorium, Medisch Centrum Haaglanden, Den Haag

Inleiding: Een 23-jarige, zwangere vrouw (33wk) meldde zich op de spoedeisende hulp met palpitations. Er werd atriumfibrilleren en een hyperthyreoïdie vastgesteld (TSH 0,54 mU/l, vrijT4 37,9 pmol/l), waarop de patiënte werd opgenomen. Naast behandeling van het atriumfibrilleren werd er gestart met thyreostatica. Na 3 dagen behandeling was er geen effect zichtbaar op de TSH en het vrijT4, terwijl de kliniek geen aanwijzingen voor hyperthyreoïdie liet zien. De bepaling werd herhaald in LabWest bv en in 3 nabijgelegen laboratoria (Bronovo Ziekenhuis (BRO), IJsselland Ziekenhuis (YSL), Erasmus MC (EMC)). Tevens werd er materiaal verzonden naar het Roche Diagnostics Laboratory (Penzberg, Duitsland).

Methode: De TSH en vrijT4 bepalingen werden in het Medisch Centrum Haaglanden (MCH) en in het YSL verricht op de Roche Cobas (Roche, Mannheim, Germany), in het BRO op de Beckman Coulter DxI (Beckman Coulter, Brea, CA, USA) en in het EMC op de Vitros ICIQ (Ortho Clinical Diagnostics, Rochester, USA).

Resultaat: In hetzelfde monster werden in de diverse laboratoria de volgende uitslagen gemeten: MCH: TSH 0,61 mU/l, vrijT4 29,7 pmol/l; YSL: TSH 0,60 mU/l, vrijT4 29,3 pmol/l; BRO: TSH 1,39 mU/l, vrijT4 14,80 pmol/l; EMC: TSH 0,76 mU/l, vrijT4 18,8 pmol/l. Uit het onderzoek van Roche Diagnostics bleek dat het monstermateriaal een streptavidine-interfererende factor bevatte.

Conclusie: De factor in het monster lijkt specifiek te interfereren in de bepalingen van Roche, terwijl Beckman Coulter en Ortho ook gebruik maken van een streptavidine-biotine interactie. Een vergelijkbaar fenomeen is slechts éénmaal eerder beschreven in literatuur (1). Een maand later (3 weken voor partus) is nogmaals materiaal afgenomen van de patiënte, waarbij geen aanwijzingen gevonden zijn voor een interfererende factor (TSH 0,70 mU/l, vrijT4 16,9 pmol/l). Het fenomeen lijkt hiermee van tijdelijke aard te zijn.

Literatuur: 1. Rulander et al. Arch Pathol Lab Med 2013;137:1141

24. Serum vrije lichte keten assay: vergelijking Freelite en N Latex op verschillende nefelometers

M. de LEEUW - TERWIJN, J. NIJHOF, R. de JONGE, E. ROELANDSE - KOOP

Afdeling Klinische Chemie, Klinisch Chemisch Laboratorium, VUMC, Amsterdam

Inleiding: De serum vrije lichte keten (SVLK) bepaling is van groot diagnostisch belang, aangezien een ratio van > 100 bij een minimale concentratie van 100 mg/L sinds de nieuwe richtlijn van 2014 een van de myeloma definiërende events is (1). Momenteel zijn de polyclonale Freelite assay (Binding Site) en de monoclonale N Latex assay (Siemens) beschikbaar.

Methode: Wegens het vervangen van de Immage (Beckman) nefelometer voor een ProSpec (Siemens), is de SVLK van 54 patiënten bepaald op de Immage met de Freelite assay, en vergeleken met beide SVLK assays gemeten op de ProSpec. Tevens is de Freelite assay op de ProSpec vergeleken met de N Latex assay op de ProSpec.

Resultaat: In de Passing en Bablok regressie liet de vergelijking van Freelite Immage met Freelite ProSpec een slope van 2,0 zien voor de kappa en 0,85 voor de lambda. De Freelite Immage

vergelijking met de N Latex ProSpec liet een slope zien van 1 voor de kappa en 1,25 voor de lambda. De vergelijking van de Freelite met de N Latex op dezelfde nefelometer had een slope voor de kappa 0,6 en voor de lambda 1,4.

Conclusie: De grote afwijkingen die zijn gevonden tussen de Freelite Immage en ProSpec dwingt het laboratorium om langere tijd op twee nefelometers patiënten te vervolgen. Aangezien de huidige klinische beslissinggrens is gebaseerd op de Freelite assay, en ook de Freelite en de N Latex assay matig met elkaar correleren, is een klinische validatie van de N Latex assay voor eventuele implementatie in de kliniek wenselijk.

Literatuur: 1. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Rajkumar et al. The Lancet Oncology, 2014.

25. Therapeutic drug monitoring of infliximab: performance evaluation of three commercial ELISA kits

E.M.H. SCHMITZ^{1,2,3,4}, D. van de KERKHOF^{1,3}, D. HAMANN⁵, J.L.J. van DONGEN^{1,4}, P.H.M. KUIJPER^{1,2}, L. BRUNSVELD^{1,4}, V. SCHARNHORST^{1,3,4}, M.A.C. BROEREN^{1,2}

Expert Center Clinical Chemistry Eindhoven¹, The Netherlands, Clinical Laboratory, Máxima Medical Center Veldhoven², The Netherlands, Clinical Laboratory, Catharina Hospital Eindhoven³, The Netherlands, Department of Biomedical Engineering, Laboratory of Chemical Biology and Institute for Complex Molecular Systems, Eindhoven University of Technology⁴, The Netherlands, Laboratory for Monoclonal Therapeutics⁵, Sanquin Diagnostics, Amsterdam, the Netherlands

Introduction: Therapeutic drug monitoring (TDM) of infliximab (IFX, Remicade®) can aid to optimize therapy efficacy. Many assays are available for this purpose. However, a reference standard is lacking. Therefore, we evaluated the analytical performance, agreement and clinically relevant differences of three commercially available IFX ELISA kits on an automated processing system.

Methods: The kits of Theradiag (Lisa Tracker Infliximab), Progenika (Promonitor IFX) and apDia (Infliximab ELISA) were implemented on an automated processing system. Imprecision was determined by triplicate measurements of patient samples on five days. Agreement was evaluated by analysis of 30 patient samples and four spiked samples by the selected ELISA kits and the in-house IFX ELISA of Sanquin Diagnostics (Amsterdam, The Netherlands). Therapeutic consequences were evaluated by dividing patients into four

treatment groups using cut-off levels of 1, 3 and 7 µg/mL and determining assay concordance.

Results: Within-run and between-run imprecision were acceptable (≤12% and ≤17%, respectively) within the quantification range of the selected ELISA kits. The apDia assay had the best precision and agreement to target values. Statistically significant differences were found between all assays except between Sanquin Diagnostics and the Lisa Tracker assay. The Promonitor assay measured the lowest IFX concentrations, the apDia assay the highest. When patients were classified in four treatment categories, 70% concordance was achieved.

Conclusion: Although all assays are suitable for TDM, significant differences were observed in both imprecision and agreement. Therapeutic consequences were acceptable when patients were divided in treatment categories, but this could be improved by assay standardization.

26. Comparison of the automated Roche Elecsys Cobas Anti Mullerian Hormone (AMH) assay with the Beckman AMH Gen II ELISA

J.J. van ZANDEN¹, L. WAGENMAKERS-HUIZINGA², L. INIA², A.C. MULLER KOBOLD²
Department of Clinical Chemistry¹, Certe, Groningen, The Netherlands. Department of Laboratory Medicine², University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands

Introduction: Anti Mullerian Hormone (AMH) is increasingly being used as a biochemical marker for the assessment of the growing ovarian pool and thus a surrogate marker for the ovarian reserve and female fertility. In this study we tested the newly introduced fully automated AMH assay from Roche diagnostics and compared the outcome with the Beckman AMH Gen II assay, currently used in het University Medical Center Groningen.

Methods: Precision analysis (according to EP5 protocol), linearity, analytical sensitivity, Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ) were determined for both assays. Eventually, both methods were compared since independent quality control samples were not available at the time of analysis.

Results: The within run and between run precision results of both methods were similar or better than manufacturers claims.

Both the intra-assay variation as the inter-assay variation, measured at 3 serum levels, of the Roche assay were smaller than the Beckman assay. Both assays showed good linearity in the physiological range and the overall comparison of the two assays resulted in the following equation: Cobas = 0.82 * Beckman + 0.05 (ng/mL).

Conclusion: In this method comparison study both the new Roche assay as the current Beckman Gen II ELISA met our criteria for clinical application. Overall, the Roche values were approximately 20% lower than the Gen II assay. Using the method specific reference ranges both assays seem well suited for estimation of the ovarian reserve. Eventually, the fully automated Roche assay allows access to in house AMH measurement for more centers.

27. Stabiliteit van calprotectine in feces

A.E. LOOT¹, C.J.M. ELDERMAN - van de WERF², V.R.V. de VRIJ², R.H.M. PETERS²
Certe Stichting Medisch Laboratorium Noord¹, Groningen, Certe Stichting KCL², Leeuwarden

Inleiding: De meting van calprotectine in feces is een non-invasieve test voor het uitsluiten van inflammatoire darmziekten (IBS). Een belangrijk pre-analytisch aspect is de tijdsspanne tussen monsterverzameling en verwerking in het laboratorium. Literatuur over de stabiliteit is schaars, maar suggereert dat calprotectine in feces bij kamertemperatuur gedurende tenminste drie dagen stabiel is (1).

Methode: Voor het vaststellen van de voorwaarden voor monstertransport hebben wij de stabiliteit van calprotectine in feces vastgesteld bij kamertemperatuur en bij 4°C. Hiertoe werden extracten gemaakt (ThermoFisher EliA Stool Extraction Kit 2) van 10 monsters op de dag van productie en na 2, 3 en 7 dagen bewaren bij kamertemperatuur of bij 4°C. Calprotectine werd gemeten met de EliA Calprotectin 2 assay op de Phadia 250 analyzer. Alleen monsters met een uitgangconcentratie boven

de afkapgrens (50 mg/kg feces) werden geïncubeerd.

Resultaat: De uitgangconcentratie lag tussen 61 en 928 mg/kg. Bij kamertemperatuur was de gemiddelde recovery na 2, 3 en 7 dagen respectievelijk 80%, 71% en 40%, met uitschieters naar respectievelijk 33%, 22% en 13%. De recovery bij 4°C was beter met gemiddeld respectievelijk 81%, 78% en 74%, maar ook hier was een aanzienlijke spreiding en lag de laagste recovery op 43%, 45% en 37% na 2, 3, en 7 dagen.

Conclusie: Hoewel de aanzienlijke spreiding in recovery deels te verklaren is door de inhomogeniteit van het monstermateriaal, is er een duidelijke afname in calprotectineconcentratie, die zelfs in monsters bewaard bij 4°C al binnen 3 dagen leidt tot fout-negatieve uitslagen.

Literatuur: 1. Roseth et al. Scand J Gastroenterol 1992, 27:793.

28. Analytische en klinische validatie van POC troponine I op de AQT90 Flex

N. TEL - KARTHAUS, P.E.A. van BAAL, P. van 't SANT, G.C.M. KUSTERS
Laboratorium voor Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's Hertogenbosch

Inleiding: Snelle interventie bij patiënten met acuut coronair syndroom vermindert zowel morbiditeit als mortaliteit in grote mate. Troponine I (TnI) is een hoog sensitieve marker voor myocardi necrose en derhalve voor myocardinfarct. Wij hebben de bepaling van TnI op het POC apparaat 'AQT90 Flex' (Radiometer) in deze studie analytisch en klinisch gevalideerd.

Methode: De validatie van de TnI meting op de AQT90 is middels een methodevergelijking uitgevoerd (EP9-A2 protocol). Bij 65 patiëntenmonsters (15% huisartsen- en 85% ziekenhuispopulatie) is de troponine I gemeten in heparine-plasma alleen (Dimension Vista 1500, Siemens) of in heparine-plasma en het corresponderende EDTA-volbloed (AQT90, Radiometer). Bij afwijkende monsters die volgens onze huidige methode (Vista) boven de afkapwaarde van 0,045ng/ml lagen maar welke volgens de AQT90 negatief beschouwd werden (afkapwaarde 0,023ng/ml) is de patiëntenstatus onderzocht.

Resultaat: De Deming regressies van de methodevergelijking gaven respectievelijk de volgende waarden voor plasma-plasma en plasma-EDTA: Vista (x) vs AQT90 (y): $y=0,204x + 0,0211$, $r^2=0,99$ en $y=0,195x + 0,0173$, $r^2=0,99$. De klinische validatie van 16 patiënten op basis van een positieve uitslag volgens de Vista met corresponderend negatieve uitslag op de AQT90 wees uit dat 15 van de 16 patiënten geen myocardinfarct doorgemaakt hadden. Een patiënt (negatieve TnI op de AQT90) had de diagnose non-ST-myocardinfarct. Deze patiënt had bij de Vista meting een marginaal verhoogd TnI van 0,049ng/ml.

Conclusie: De TnI test van de AQT90 produceert lagere uitslagen dan de Vista. Echter, de correlaties zowel tussen plasma/plasma als ook plasma/EDTA zijn met 0,99 ruim voldoende. De AQT90 geeft 24% meer negatieve uitslagen waarbij de klinische validatie aantoont dat deze patiënten, op een uitzondering na, geen myocardinfarct hebben doorgemaakt. Verder onderzoek specifiek binnen de huisartsenpopulatie is noodzakelijk voor de inzet als POCT.

29. Patiëntenvergelijking van vitamine B6 met nieuwe HPLC en UPLC kits van Chromsystems versus LC-MS/MS

R.J.A.C. ROELOFSEN - de BEER¹, B.D. van ZELST¹, M. NEELE², R. MAATMAN³, R. de JONGE¹, Y.B. de RIJKE¹ AKC, ErasmusMC¹, Rotterdam, Maasstad Ziekenhuis², KCL, Rotterdam, Medlon³, Enschede

Inleiding: Vitamine B6 is een cofactor in vele biologische processen. Zowel een tekort als een teveel van dit molecuul kan leiden tot gezondheidsklachten (o.a. polyneuropathie). Recent is een multicenter vergelijkingsonderzoek uitgevoerd van verschillende vitamine B6 bepalingen.

Daaruit bleek dat er een groot verschil is tussen de waarde die wordt gevonden door Chromsystems gebruikers (~30% hoger) en de overige gebruikers (waaronder een LC-MS/MS methode) wanneer de bepaling plaatsvindt in vers of ingevroren bloed. Ook de variatie tussen Chromsystems gebruikers was erg groot (15-27%). Als reactie op deze bevindingen heeft Chromsystems zowel hun HPLC als UPLC kits voor de vitamine B6 bepaling in volbloed aangepast en een drietal centra benaderd om het effect van deze aanpassing vast te stellen.

Methode: 100 patiëntenmonsters met een relevant concentratiebereik (40-285 nmol/L) zijn verzameld, ingevroren en rondgestuurd voor meting met de aangepaste HPLC en UPLC

kits van Chromsystems en een eigen ontwikkelde LC-MS/MS methode. De resultaten zijn geanalyseerd met de Passing-Bablok methode, de totale bias is vastgesteld m.b.v. een difference plot.

Resultaat: T.o.v. de LC-MS/MS meet de HPLCkit 11,4% lager en de UPLCkit 19,5% lager. Het onderlinge verschil tussen beide Chromsystems kits bedraagt 9,1%, waarbij de UPLC lager meet dan de HPLC.

Conclusie: De resultaten met de nieuwe kits van Chromsystems lijken verbeterd te zijn wanneer vergeleken met de LC-MS/MS methode, maar een aanzienlijke bias wordt nog steeds gevonden, met name voor de UPLC methode. Het is opvallend dat twee kits van één firma niet op dezelfde waarde uitkomen voor vitamine B6. Mogelijk hangt dit samen met het gebrek aan een referentiemethode en referentiepreparaat voor vitamine B6 in volbloed. De toekomst moet uitwijzen of de robuustheid van de aangepaste Chromsystems kits is toegenomen.

30. Simultaneous determination of underivatized vitamin B1 and B6 in whole blood by reversed phase ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry

J. PUTS, M. de GROOT, M. HAEX, B. JAKOBS
Clinical Laboratory, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, The Netherlands

Introduction: Vitamin B1 (thiamine-diphosphate) and B6 (pyridoxal-5'phosphate) are micronutrients. Analysis of these micronutrients is important to diagnose potential deficiency which often occurs in elderly people due to malnutrition, in severe alcoholism and in gastrointestinal compromise due to bypass surgery or disease. Existing High Performance Liquid Chromatography (HPLC) based methods include the need for derivatization and long analysis time. We developed an Ultra High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) assay with internal standards for simultaneous measurement of underivatized thiamine-diphosphate and pyridoxal-5'phosphate without use of ion pairing reagent.

Methods: Whole blood, deproteinized with perchloric acid, containing deuterium labelled internal standards thiamine-diphosphate(thiazole-methyl-D3) and pyridoxal-5'phosphate(methyl-D3), was analyzed by UHPLC-MS/MS. The method was validated for imprecision, linearity, recovery and limit of quantification. Alternate (quantitative) method comparisons of the new versus currently used routine HPLC methods were established with Deming regression.

Results: Thiamine-diphosphate and pyridoxal-5'phosphate were measured within 2.5 minutes instrumental run time. Limits of detection were 2.8 nmol/L and 7.8 nmol/L for thiamine-diphosphate and pyridoxal-5'phosphate respectively. Limit of quantification was 9.4 nmol/L for thiamine-diphosphate and 25.9 nmol/L for pyridoxal-5'phosphate. The total imprecision ranged from 3.5-7.7% for thiamine-diphosphate (44-157 nmol/L) and 6.0-10.4% for pyridoxal-5'phosphate (30-130 nmol/L). Extraction recoveries were 101-102% ± 2.5% (thiamine-diphosphate) and 98-100% ± 5% (pyridoxal-5'phosphate). Deming regression yielded slopes of 0.926 and 0.990 in patient samples (n = 282) and national proficiency testing samples (n = 12) respectively, intercepts of +3.5 and +3 for thiamine-diphosphate (n = 282 and n = 12) and slopes of 1.04 and 0.84, intercepts of -2.9 and +20 for pyridoxal-5'phosphate (n = 376 and n = 12).

Conclusion: The described UHPLC-MS/MS method allows simultaneous determination of underivatized thiamine-diphosphate and pyridoxal-5'phosphate in whole blood without intensive sample preparation.

31. Evaluatie van de Helena Biosciences V8 Haemoglobin IEF Assay in de diagnostiek van hemoglobine-varianten en beta-thalassemiën

E.H.A.M. ELSEMBERG, J. MEIJER, M. VESTERING, J. BLONDEL, R.K. SCHINDHELM
Laboratorium voor KCHI, Noordwest Ziekenhuisgroep, Alkmaar/Den Helder

Inleiding: Capillaire elektroforese (CE) is een techniek welke toegepast wordt in de diagnostiek van hemoglobinevarianten en beta-thalassemiën. Door gebruik te maken van iso-elektrisch focuseren (CIEF) worden de hemoglobinefracties gescheiden op basis van het iso-elektrisch punt.

Methode: In deze evaluatie is de recent beschikbare Haemoglobin IEF Assay[®] op de Helena Biosciences V8[®] analytisch geëvalueerd met een normale en verhoogde HbA2 controle. Dit controle materiaal werd gedurende 20 dagen 2 maal daags op alle 8 capillairen gemeten. Tevens is de methode met een aantal normale en afwijkende monsters vergeleken (CLSI-EP9-protocol)

met de reeds in gebruik zijnde HPLC-methode (Menarini[®] HA-8160 TP-mode).

Resultaat: De normale HbA2 controle (gemiddelde waarde 3,1%) liet voor zowel de inter-capillaire als intra-capillaire variatie een CV van 4,1% zien. Voor de verhoogde controle (gemiddelde HbA2 waarde 8,2%) waren deze waarden respectievelijk 2,3% en 2,5%. Er was geen significant verschil tussen de waarden gemeten in de ochtend versus de middag run (3,1% vs 3,1%; p=0,92 en 8,2% vs 8,3%; p=0,92, voor de lage resp. hoge HbA2 controle). De Passing-Bablok regressielijn van het percentage HbA2 in normale monsters (n=38) en monsters met

een verhoogd HbA2 (n=6) was als volgt: CIEF=0,01 + 1,05 * HPLC (r=0,98). Bij de CIEF-methode was in tegenstelling tot de HPLC-methode discriminatie tussen de HbS en HbC, én identificatie van andere veel voorkomende varianten mogelijk. *Conclusie:* De Helena Biosciences V8 Haemoglobin IEF Assay is een betrouwbare methode met CVs vergelijkbaar met

de HPLC-methode. Deze eerste analyse laat zien dat de performance met betrekking tot de diagnostiek van beta-thalassaëmiën vergelijkbaar is met de HPLC-methode. Een groot voordeel van de CEIF methode is dat deze in staat de meest gangbare hemoglobinevarianten te determineren.

32. Comparison of eight routine unpublished LC-MS/MS methods for the simultaneous measurement of testosterone and androstenedione in serum

R.M. BÜTTLER¹, F. MARTENS¹, M.T. ACKERMANS², A.S. DAVISON³, A.E. VAN HERWAARDEN⁴, L. KORTZ⁵, J.G. KRABBE⁶, E.G.W. LENTJES⁷, C. SYME⁸, R. WEBSTER⁹, M.A. BLANKENSTEIN¹, A.C. HEIJBOER¹
Department of Clinical Chemistry¹, Endocrine Laboratory, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands. Department of Clinical Chemistry², Laboratory of Endocrinology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands. Department of Clinical Biochemistry and Metabolic Medicine³, Liverpool Clinical Laboratories, Royal Liverpool and Broadgreen University Hospitals Trust, Liverpool, United Kingdom. Department of Laboratory Medicine⁴, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands. MVZ wagnerstibbe für Laboratoriumsmedizin⁵, Gynaekologie, Humangenetik und Pathologie GmbH, Goettingen, Germany. Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine⁶, Medical Spectrum Twente, Medlon BV, the Netherlands. Department of Clinical Chemistry & Haematology, University Medical Center⁷, Utrecht, the Netherlands. Department of Clinical Biochemistry⁸, Glasgow Royal Infirmary, Glasgow, United Kingdom. Department of Clinical Biochemistry⁹ - University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trust Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK

Introduction: Liquid-chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has become the method of choice in steroid hormone measurement. However, little information on the mutual agreement of LC-MS/MS methods is available. We compared eight routine unpublished LC-MS/MS methods for the simultaneous measurement of testosterone and androstenedione. *Methods:* Sixty random serum samples from male and female volunteers were analyzed in duplicate by eight routine LC-MS/MS methods. We performed Passing-Bablok regression analyses and calculated Pearson's correlation coefficients to assess the agreement of the methods investigated with one published method known to be accurate. Intra-assay CV of each method was calculated from duplicate results, recoveries for each method were calculated from six spiked samples. Furthermore, a CV between the investigated methods was calculated.

Results: The concentrations ranged from 0.05-1.26 nmol/L, 6.15-24.44 nmol/L and 0.15-4.78 nmol/L for testosterone in females, testosterone in males and androstenedione, respectively. The intra-assay CVs were between 3.7-16.0%, 0.9-5.2% and 1.2-9.5% for testosterone in females, testosterone in males and androstenedione, respectively. The slopes of the regression lines ranged between 0.90-1.25, 0.87-1.24 and 0.94-1.31 for testosterone concentrations in females, all testosterone values and androstenedione, respectively. Inter-method CVs were 24%, 14% and 29% for testosterone for concentrations in females and males and androstenedione, respectively. These compare unfavourably to the variation found earlier in published methods. *Conclusion:* Although most routine LC-MS/MS methods investigated here showed a reasonable agreement, some of the assays showed a high variation. The observed differences in standardization should be taken into account when applying reference values, or should, preferably, be solved.

33. Development and validation of an automated multiplex assay for quantification of six serum apolipoproteins and qualitative apolipoprotein E phenotyping by mass spectrometry

I. van den BROEK¹, F.P.H.T.M. ROMIJN¹, J. NOUTA¹, A. van der LAARSE^{1,2}, J-W. DRIJFHOUT³, Y.E.M. vander BURGT^{1,4}, N.P.M. SMIT¹, C.M. COBBAERT¹
Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine¹, Department of Cardiology², Department of Immunohematology and Blood Transfusion³, Centre for Proteomics and Metabolomics⁴, Leiden, the Netherlands

Introduction: Direct low- and high-density lipoprotein cholesterol tests are routinely used in medical laboratories for cardiovascular disease (CVD) risk assessment, yet suffer from non-selectivity in hypertriglyceridemic patients. LC-MS/MS has proven suitable for multiplexed quantification and phenotyping of apolipoproteins. For translation into clinical laboratories and application to clinical cohorts, an easy-to-use workflow with analytical performance fulfilling medical needs and allowing longitudinal accuracy is required. *Methods:* We have developed an LC-MS/MS assay for quantification of six serum apolipoproteins (apoA-I, B, C-I, C-II, C-III, and E) and for assessment of apoE phenotypes. Automation of the microliter-scale serum sample preparation was performed using a liquid handling pipetting robot. Five value-assigned human serum pools were used for external calibration. The method was provisionally validated using CLSI EP15-A2 and EP09-A3 protocols.

Results: For quantification of six apolipoproteins, the within-run CV varied from 2.3-5.5% and total CV from 2.5-5.9%. ApoE phenotypes were simultaneously detected in a qualitative way. The LC-MRM-MS assay correlated well with immunoturbidimetric assays with CE marking for apoA-I, apoB, apoC-II, apoC-III, and apoE in normotriglyceridemic (n=54) and hypertriglyceridemic (n=46) sera (R between 0.975-0.995). Results were interchangeable for apoA-I up to 3.0 g/L (Deming slope = 1.014) and for apoB-100 up to 1.8 g/L (Deming slope = 1.016). *Conclusion:* A robust and accurate LC-MS/MS assay was developed for quantification of six clinically relevant serum apolipoproteins involved in lipid metabolism. Traceability to higher order standards is guaranteed for apo A-I and apo B but not yet for the other apolipoproteins. The proteomics-based approach provides pathophysiological insight into the type of dyslipidemia and has potential to allow a more personalized approach for diagnosis and treatment of patient's lipid abnormalities and cardiovascular disease burden.

34. Serum serotonin measured by liquid chromatography tandem mass spectrometry as alternative for whole blood and platelet-rich plasma serotonin

C.M. KORSE¹, J.G.M. BUNING - KAGER¹, T.C. LINDERS¹, A.C. HEIJBOER³, D. van den BROEK¹, M.E.T. TESSELAAR², O. van TELLINGEN¹, H. van ROSSUM¹
Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology¹, Medical Oncology², The Netherlands Cancer Institute, The Netherlands, Endocrine Laboratory³, Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

Introduction: Serotonin is used for the diagnosis and follow-up of neuroendocrine tumors (NET). Although various blood fractions, such as whole blood, platelet-rich plasma (PRP) and serum are used for serotonin analysis, the analytical associations and interchangeability regarding clinical performance between these matrices are largely unknown. Therefore, this study validated an LC-MS/MS based serotonin assay and compared the diagnostic performance of serum and PRP serotonin for diagnosis of NET.

Methods: An LC-MS/MS based method for serum and PRP serotonin was validated by determination of assay imprecision, carry-over, linearity, interference and sample stability. Matrix comparisons were performed between whole blood, serum and PRP serotonin using 94 NET patient samples and, for serum and PRP, another 112 healthy volunteers. For serum and PRP serotonin, upper limits of normal were

determined and ROC analysis was performed for comparison of the diagnostic accuracy.

Results: For serum and PRP fractions, total assay imprecision was <5% for all concentrations tested, there was no significant carry-over and an adequate linearity was observed. Severe ion suppression was caused by hemolysis which hampered whole blood serotonin analysis by LC-MS/MS. When expressed per platelet, excellent correlations were found between whole blood, serum and PRP serotonin, with a minimal rho of 0.96. No significant differences were found between the AUC of the ROC curves of serum and PRP serotonin.

Conclusion: A serum and PRP serotonin assay was developed with suitable analytical characteristics and, when expressed per platelet, interchangeable results were observed for whole blood, PRP and serum serotonin.

35. Rapid quantification of total urinary cortisol and its major metabolites by uplc tandem mass spectrometry

I. MINOVIC^{1,2}, M. van FAASSEN¹, S.J.L. BAKKER², I.P. KEMA¹
Departments of Laboratory Medicine¹ and Nephrology², University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands

Introduction: Clinical assessment of daily cortisol production is conventionally done by measuring urinary free cortisol, thus ignoring the fact that approximately only 1% of total endogenous cortisol production appears in urine. Additional measurements of cortisol metabolites is likely to provide a more reliable estimation of total daily cortisol production. Methods for quantification of cortisol metabolites in urine currently involve cumbersome sample preparation steps and long GC run times, making them unsuitable for high-throughput research. We therefore developed and validated a rapid LC-MS/MS method for simultaneous assessment of total cortisol, cortisone, tetrahydrocortisol (THF), allo-tetrahydrocortisol (a-THF) and tetrahydrocortisone (THE) in urine.

Methods: Internal standards for each of the five components (all deuterated, except cortisol(13-C)), buffer and enzyme solution were added to 100 µL of urine 96-well plates. The mixture was incubated for 4 h at 46°C to achieve optimal

hydrolytic efficiency. Analytes were extracted using a 96-well Supported Liquid Extraction plate (Phenomenex) and were chromatographically separated with a UPLC phenyl-hexyl column (Waters). Mass spectrometric detection was performed in selective reaction monitoring mode, using a quadrupole tandem mass spectrometer in negative mode (Xevo TQ-S, Waters). To investigate accuracy, 40 patient samples were analyzed and results were compared with routine LC-MS/MS and GC-MS/MS methods.

Results: Total run-time was 5.5 minutes and intra- and inter-assay coefficients of variation were <10% for all components. Linearity in the calibration range (r²) was consistently >0.99 for each component and the results were in agreement with those obtained from routine analyses.

Conclusion: We have successfully developed a sensitive, selective and rapid mass spectrometric method, suitable for quantification of total urinary cortisol, cortisone, THF, a-THF and THE in high-throughput research.

36. Amino acid sequence determination of the 16 kDa fragment band of cardiac troponin T in STEMI-patients

A.S. STRENG¹, D. de BOER¹, W.P.T.M. van DOORN¹, F.G. BOUWMAN², E.C.M. MARIMAN², M.P. van DIEIJEN-VISSER¹, W.K.W.H. WODZIG¹
Central Diagnostic Laboratory¹, Maastricht University Medical Centre and Department of Human Biology², Maastricht University, Maastricht, the Netherlands

Introduction: Cardiac troponin T (cTnT) is an important biomarker for the diagnosis of acute coronary syndromes like acute myocardial infarctions (AMI) and myocardial ischemia. It is strongly believed that cTnT is present predominantly in fragmented forms in human serum following AMI. Using a targeted mass spectrometry assay we have identified the complete amino acid sequence of one of the most common cTnT fragments.

Methods: Routinely collected serum samples of twelve patients diagnosed with ST-elevated myocardial infarction (STEMI) were collected and aliquoted. cTnT was captured from the serum using an immunoprecipitation technique employing the M11.7 catcher antibody by Roche Diagnostics

and fractionated with SDS-PAGE. Coomassie stained bands at 37 and 16 kDa were carefully excised from the gel and digested with trypsin. The digests were subsequently analysed on a QExact instrument (Thermo Scientific) set on targeted Selected Ion Monitoring (t-SIM) mode with data dependent tandem-MS (dd-MS²) for identification. Results were analysed with Skyline. Western blotting of the gels was performed with multiple antibodies.

Results: Eleven cTnT peptides, spanning the entire length of the protein, were selected and targeted. All eleven peptides were identified in the 37 kDa, intact, cTnT band. Four central cTnT peptides were identified in the 16 kDa fragment band. The N-terminal cleavage site of this fragment band was pinpointed

with western blotting and determined to lie between Arg78-Ser79. The C-terminal cleavage site of this fragment was pinpointed by the identification of a fifth, semi-tryptic, cTnT peptide and determined to lie between Gln199-Lys200.

Conclusion: The cTnT fragment at 16 kDa has been characterised using a newly developed targeted mass spectrometry assay. The complete amino acid sequence of this fragment has been determined to be: Ser79-Gln199.

Moleculaire biologie

37. Detectie van relevante single-nucleotide polymorfismen C-13907>G, T-13913>C, G-13914>A en T-13915>G in het lactase-phlorizin hydrolasegen bij analyse van het lactasegen persistentie polymorfisme C-13910>T

J.J.H. HENS, K. HAANAPPEL

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Groene Hart Ziekenhuis, Gouda

Inleiding: Analyse van het lactasegen persistentie polymorfisme C-13910>T verdringt in toenemende mate de lactose waterstofademtest als diagnosticum bij verdenking op primaire lactose malabsorptie. Upstream van het lactase-phlorizin hydrolase (LPH)-gen zijn echter diverse single-nucleotide polymorfismen (SNPs) beschreven. In deze studie evalueren we de RT-PCR-smeltcurve analyse van de SNPs C-13907>G, C-13910>T, T-13913>C, G-13914->A en T-13915>G.

Methodes: Lactasegen persistentie polymorfisme C-13910>T werd uitgevoerd bij 8 patiënten (1 - 46 jaar) met RT-PCR amplificatie en smeltcurve analyse (LightCycler, Roche) gebruikmakend van primers en probes gericht op het gebied rond nucleotide -13910 upstream van het LPH-gen (1).

Resultaat: Naast smeltpieken op 55,6 oC en 64,3 oC voor het T- en C-nucleotide op -13910 respectievelijk, bevond zich bij patiënt 4 een smeltpiek op 53,7 oC afkomstig van SNP C-13907. Bij patiënten 2 en 5 bleek een smeltpiek op 61,6 oC afkomstig van SNP T-13913>C (overgaand in de C-13910 piek). Bij patiënt

8 verscheen een smeltpiek bij 56,3 oC afkomstig van SNP G-13914>A (overgaand in de T-13910 piek). Bij patiënten 1, 3 en 6 verscheen een smeltpiek tussen 59,2 en 59,8 oC afkomstig van SNP T-13915>G (heterozygoot) en bij patiënt 7 bij 58,6 oC van SNP T-13915>G (homozygoot). Alle SNPs werden bevestigd met DNA-sequencing.

Conclusie: De RT-PCR-smeltcurve analyse van het lactasegen persistentie polymorfisme C-13910>T toont tevens unieke smeltcurve profielen voor de nabijgelegen SNPs C-13907>G, T-13913>C, G-13914>A en T-13915>G upstream van het LPH-gen. Deze unieke smeltcurve profielen zijn met DNA-sequencing bevestigd en vormen daarmee een aanvulling in de diagnostiek van primaire lactose malabsorptie. Mutaties C-13907>G, C-13910>T, en T-13915>G zijn geassocieerd met lactase persistentie, voor T-13913>C en G-13914->A is dit onduidelijk.

Literatuur: 1. Bodlaj et al. Clin Chem 2006; 52: 148.

38. Compound heterozygous C282Y/Q283P and Q283P/H63D mutations in hemochromatosis

L. SCHRAUWEN¹, E. de BAAR¹, P. van WIJNGAARDEN², A.J. van GAMMEREN¹

Department of Clinical Chemistry and Hematology¹ and Department of Internal Medicine², Amphia Hospital Breda, The Netherlands

Introduction: In most patients with haemochromatosis, a homozygous C282Y mutation or compound heterozygous C282Y/H63D is present. Other mutations in the HFE gene are very rare, but can be of importance to explain iron overload in patients. We describe a very rare Q283P missense mutation with iron overload and how our DNA analysis method can detect this variant together with the C282Y and H63D variants in a single PCR reaction.

Methods: Extracted DNA was used for a rapid multiplex PCR with special fluorescent labelled hybridization probes on the LightCycler™ Instrument (Roche Diagnostics). Detection of the mutation is based on hybridization probes using fluorescent resonance transfer (FRET) technique and melting curve analysis. Sanger sequencing was performed to identify the Q283P mutation.

Results: An elevated transferrin saturation of 89% (ref. value: <50%) and serum ferritin of 1747 ug/L (ref. value: 20-250 ug/L) was observed in the proband. Melting curves show specific melting temperatures for identification of HFE wild-type C282C & H63H variants and the C282Y, Q283P, H63D mutations respectively. A Q283P missense mutation in compound heterozygosity with C282Y was observed in the proband. The Q283P mutation was also found in one family member in compound heterozygosity with H63D.

Conclusion: A rare Q283P mutation was found in a family in compound heterozygosity with both the C282Y and H63D mutation. The DNA analysis used is able to detect simultaneously the HFE-gene mutations H63D, S65C, C282Y and Q283P in one single PCR reaction.

Overigen

39. Foutief verlaagde kreatinine uitslag door interferentie van dobutamine

K. van den HURK¹, G.H.M. PONJEE², N.F. SCHROTEN³, M. TRESKES¹, M.M.L. DECKERS¹

Klinisch Laboratorium¹, Ziekenhuisfarmacie² en Interne Geneeskunde³, OLVG locatie west, Amsterdam

Inleiding: Op de CCU en IC wordt dobutamine, een antihypotensivum, frequent toegediend via een (meerlumen) centraal veneuze katheter. Hier beschrijven wij een interferentie met dobutamine die niet in de bijsluiting stond benoemd, maar wel eerder is beschreven in de literatuur (Saenger et al. 2009). De patiënt in kwestie vertoonde twee dagen na starten van dobutamine infusie een niet bij de kliniek passende halvering van de kreatinine concentratie. Het monster was

afgenomen uit de centrale lijn. De kreatinine concentratie uit een perifere veneuze afname was onveranderd. Op basis van overige uitslagen kon significante verdunning als oorzaak worden uitgesloten.

Methodes: De mate van dobutamine interferentie werd bestudeerd door plasma monsters te spijken met 0-2% infuusvloeistof; eindconcentratie 0-100 mg/l dobutamine. De kreatinine concentratie werd enzymatisch bepaald op de Cobas 6000 (Roche) op

tijdstip 0, 4, 24 en 48 uur. Tevens werd de interferentie in andere peroxidase-gemedieerde (Trinder) reacties onderzocht; te weten, cholesterol, urinezuur, triglyceriden en lactaat.

Resultaat: Aanwezigheid van dobutamine in het plasma interfereerde in alle Trinder-reacties. Een eindconcentratie van 50 mg/l dobutamine resulteerde in een 53% verlaagde kreatinine concentratie. Overige Trinder-reacties lieten een afname van 10% (cholesterol), 31% (urinezuur), 38% (triglyceriden) en 32% (lactaat) zien. De interferentie was in-vitro nagenoeg stabiel in de tijd.

Conclusie: Een eindconcentratie van 50 mg/l dobutamine (1% infuusvloeistof) in plasma resulteert in een ~50% afname in kreatinine concentratie en 10-38% verlaging in overige Trinder-reacties. De omvang van deze problematiek wordt nader onderzocht. Bij patiënten met intraveneuze dobutamine therapie dient bloed bij voorkeur veneus afgenomen te worden uit de contra-laterale arm. Een goed omschreven protocol, signalering via het EPD en een waarschuwing in de bijsluiters van bovenstaande testen kan dit probleem voorkomen.

40. Evaluation of the performance of a point-of-care method for total and differential white cell count in Clozapine-using patients

H.N. BUI¹, J.P.A.M. BOGERS², D. COHEN³, M.H. HERRUER¹

Atalmedial Medical diagnostic centers¹, Hoofddorp, The Netherlands; Psychiatric Centre Rivierduinen², Oegstgeest, the Netherlands; Department of Community Mental Health³, Mental Health Service North-Holland North, Heerhugowaard, The Netherlands.

Introduction: Clozapine is an antipsychotic drug that is primarily used in the treatment of therapy refractory schizophrenia. Close monitoring of white blood-cell counts is mandatory with clozapine-use because of the risk of acute agranulocytosis. Intrinsic to the psychosis is that the patient may be paranoid for vena puncture. Therefore, capillary sampling and near patient-testing is often desired. In this study we evaluated the performance of the HemoCue WBC DIFF system which is a point-of-care device that has the potential to fulfill this need.

Methods: Twenty venous EDTA-blood samples were collected from Clozapine-users, twenty samples from random patients with neutropenia, and twenty samples from healthy volunteers. Also a capillary samples was drawn from the healthy volunteers. Leukocyte count and 5 part-differentiation was performed by the point-of-care device and by routine laboratory method (Cell-dyn Sapphire, Abbott). Reproducibility was tested using commercial control samples.

Results: There was a good correlation between both methods for leukocyte, neutrophil, and lymphocyte count in venous samples ($r > 0.988$). There was an acceptable correlation between capillary and venous samples using the Sapphire. However, there was a poor correlation between the point-of-care device (capillary sample) and the routine laboratory method (venous sample): $n=20$; leukocytes: $r=0.77$, range $5.5-10.0 \cdot 10^9/L$; neutrophil: $r=0.82$, range $3.0-6.5 \cdot 10^9/L$; lymphocytes: $r=0.80$, range $1.3-4.1 \cdot 10^9/L$. Reproducibility of the point-of-care device did not meet the criteria of the manufacturer, but was within biological acceptance criteria.

Conclusion: The HemoCue WBC DIFF could be used to screen for leukocytopenia and neutropenia. However, we strongly recommend to repeat the measurement by a routine laboratory method when leukocytes and neutrophils are in the lower normal range. Our recommendation is to refrain from using the point-of-care device for general diagnostic purposes.

41. RBC morfologie met digitale microscopie

J. LEUVENINK¹, M-L. van GERVEN¹, J. RIEDL², A. EGELE²,

LKCH¹, *Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch; ResultBV², Albert Schweitzer ziekenhuis, Dordrecht*

Inleiding: Digitale microscopie voor de preclassificatie van afwijkende erythrocyten is beschikbaar voor de routine hematologische laboratoria. In dit onderzoek is de RBC module van de DM (cellavision) vergeleken met de morfologie uitslagen van de celteller ADVIA 2120i. Daarnaast is gekeken naar de sensitiviteit en specificiteit van de preclassificatie van de DM voor afwijkende RBC morfologie. De referentiewaarden van recent uitgebracht difboekje werden gehanteerd. Hierbij is het van klinisch belang wat de PPV en NPV is van de preclassificatie bij afwijkende RBC morfologie bij verdenking van o.a. TTP, HUS, MPN. **Methode:** Patient monsters met afwijkende RBC morfologie (+, ++, +++ % microcytes, % macrocytes en % hypochromic cells) werden verzameld ($n=270$), bepaald op de ADVIA 2120i. Normale patienten monsters ($n=125$) werden verzameld op basis van MCV 85-95 fl zonder aantoonbare pathologie. Na uitstrijken en kleuren met de Sysmex SP10 werden de uitstrijken gescand op de DM uitgerust met de RBC module. De preclassificatie van de erythrocyten werd vervolgens door 5 verschillende ervaren analisten beoordeeld.

Resultaat: Er is geen correlatie van de RBC morfologie parameters tussen DM en ADVIA 2120i ($r^2 < 0,5$) (Verschillende meetmethoden is een mogelijke oorzaak). De correlatie van % anisocytosis met RDW is goed ($r^2=0,7$). Referentie waarden van de normale monsters bleken na verwijderen van de uitbijters vergelijkbaar met die van het difboekje. Lineariteit van de pre- en postclassificatie bleek redelijk voor alle typen afwijkende RBC met name elliptocyten en fragmentocyten.

Conclusie: In dit onderzoek werd geen correlatie van de RBC morfologie parameters tussen DM en ADVIA aangetoond. DM preclassification van de RBC morfologie kan betrouwbaar in de routine gebruikt worden als screening voor aanwezige pathologie, o.a. fragmentocyten. De sensitiviteit en specificiteit behoeft verbetering.

Literatuur: 1. Palmer et al. Int J Lab Haematology 2015;37:287. 2. Difboekje VHL 2013.

42. Conserveren van urines: valideren van de CCM-buis voor algemeen urineonderzoek, kweek, kweekscreening en chemiebepalingen

E. KALKMAN¹, G. D. MITHOE², R.F.M. OUDE ELFERINK¹

Certe Medisch Laboratorium Noord¹ en Certe Laboratorium voor Infectieziekten² (MMB), Groningen

Inleiding: In de 1^e-lijn zijn urines 24 uur of langer onderweg voordat onderzoek mogelijk is. Kan de Vacuette CCM urine buis (Greiner) deze urines conserveren en blijft meting op de Sysmex UF500i voor algemeen urineonderzoek, kweken en kweekscreening mogelijk?

Methode: Bij het onderzoek zijn 129 2e-lijns urines, aangeboden voor kweek, betrokken, waarvan uiteindelijk 13 % positief zijn bevonden. Getoetst werd of de Vacuette CCM urine buis (Greiner) invloed heeft, na 0, 24 en 48 uur op metingen met de UF500i, kweken, kweekscreening, chemiebepalingen (Modular) en het versturen per post.

Resultaat: Resultaten: CCM- buis is na 0, 24 en 48 uur geschikt bevonden voor: 1) de UF500i omdat voor erythrocyten, leukocyten en bacteriën geen significante afwijkende helling en as-afsnede werden gevonden van de lijn $y=x$ tov de directe meting in native urine. Alleen voor de research parameter gisten gold

dat deze na 48 uur significant lager uitkwam. 2) kweken, omdat op alle tijdstippen gekweekt in de CCM buis de sensitiviteit 95% was met negatief voorspellende waarde van (NVW) 99%, berustend op 1 gemiste positieve originele kweek, behalve na 48 uur (resp. 100%, 100%). 3) kweekscreening met de eerder vastgestelde criteria; 175 bacteriën/microl of 200 leukocyten/microl (sensitiviteit 100%; NVW 100%). 4) chemie: amylase, kreatinine, ureum, urinezuur, magnesium, calcium, fosfaat, microalbumine, totaal eiwit gemeten op de Modular, omdat helling en as-afsnede niet significant afweken van de lijn $y=x$. 5) verzenden per post: de betreffende monsters scoorden vergelijkbaar met de bovengenoemde onderzoeken.

Conclusie: De CCM urinebuis is geschikt voor algemeen urine onderzoek met UF500i, kweken, kweekscreening, urinebepalingen op Modular en versturen per post.

43. Effects of repeated freeze-thaw cycles on hormone levels in plasma: a myth?

J.J.G. HILLEBRAND¹, A.C. HEIJBOER², E. ENDERT¹

Laboratory of Endocrinology and Radiochemistry¹, Academic Medical Centre Amsterdam. Endocrine Laboratory², VU University Medical Center Amsterdam

Introduction: Repeated freezing and thawing of patient samples may be necessary in a laboratory when analyses have to be repeated or when additional tests are requested. Despite the common notion that freeze-thaw cycles affect the stability of hormones in plasma/serum, surprisingly little, consistent information about this concept is available in literature.

Methods: Blood was collected by venipuncture. After centrifugation and aliquoting all samples were frozen at -20°C. One aliquot from each volunteer for each test remained frozen until analysis (=baseline condition). The remaining aliquots were

thawed at room temperature during 1 h and afterwards frozen at -20°C until analysis. This was done once, twice or three times. All aliquots from one volunteer were measured in the same assay run. Changes in hormone levels following 2, 3 or 4 freeze-thaw cycles were compared to baseline condition using repeated measures ANOVA following posthoc Bonferroni testing.

Results: Repeated freeze-thawing did not result in significant changes in hormone levels except for ACTH (after 4 cycles only).

Conclusion: We conclude that repeated freeze/thaw cycles only have minor effects on levels of the abovementioned hormones.

44. Discrepancies tussen bezinkingssnelheden verkregen met de Westergren- en de Alifax-methode voor specifieke reumatologische aandoeningen

A.J. de GRAAF¹, D. BOUMANS², H.J. BERNELOT MOENS², H.B. BROUWER¹

Medlon B.V.¹, Enschede, Ziekenhuisgroep Twente², Afdeling reumatologie, Almelo/Hengelo

Inleiding: De Test 1-methode van Alifax wordt in veel laboratoria gebruikt voor de bepaling van de bezinkingssnelheid van erythrocyten (BSE). De correlatie tussen de Alifax- en Westergren-methode is doorgaans vrij goed, mits adequaat gekalibreerd tegen de laatstgenoemde methode. Recent beschreven wij al een casus van een patiënt met arteriitis temporalis (AT) bij wie er desondanks een grote discrepantie was tussen de BSE waarden bepaald met beide methoden (1). Wij hadden het vermoeden dat dit behalve bij patiënten met AT ook zou kunnen spelen bij andere inflammatoire reumatologische aandoeningen zoals polymyalgia rheumatica (PMR). Zowel voor de diagnostiek als de follow-up van PMR kan dit van belang zijn aangezien de BSE een belangrijke plaats inneemt in de 'NHG standaard PMR en AT' (2).

Methode: In dit prospectieve onderzoek wordt sinds april 2015 van nieuwe patiënten met de diagnose PMR of AT de BSE zowel met de Westergren- als de Alifax-methode bepaald. Beide BSE

metingen worden dezelfde dag in ons laboratorium uitgevoerd.

Resultaat: Tot en met eind 2015 zijn in totaal bij 76 individuele patiënten dubbele BSE metingen verricht. Hoewel voor een groot aantal hiervan de correlatie tussen beide methoden goed is, geeft voor enkele monsters de Alifax-methode veel lagere waarden. Deze vallen niet binnen de spreiding die op grond van vergelijkingsstudies tussen de methoden in een algemene patiëntenpopulatie verwacht mag worden.

Conclusie: Specifiek bij patiënten met PMR of AT geeft de Alifax-methode incidenteel een lagere BSE waarde dan de Westergren-methode. Mogelijk is er bij PMR en AT een niet geïdentificeerde ziektespecifieke component van de BSE waar de Alifax-methode minder gevoelig voor is dan de Westergren-methode.

Literatuur: 1. Bernelot Moens. Ned Tijdschr Geneesk 2015;159: A9196. 2. Hakvoort et al. Huisarts Wet 2010;53:88-98.

45. Evaluation of the Stabilur urine vacuum tube for microscopic analysis of dysmorphic erythrocytes and erythrocyte casts

S.E. VERBRUGGE, H. KEMPERMAN

Department of Clinical Chemistry and Haematology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Netherlands

Introduction: The presence of dysmorphic erythrocytes and erythrocyte casts in urinary samples is considered an important manifestation in the examination of renal pathology. Microscopic evaluation of these particles provides a tool for distinguishing glomerular from non-glomerular haematuria. Proper handling and preservation of urinary specimens is imminent given the fragility of these components. The Stabilur tube, part of the urine vacuum collection system of Greiner, was evaluated for this purpose.

Methods: Urinary specimens for these analyses were selected based on specific requests for the presence of dysmorphic erythrocytes and/or based on a positive protein/erythrocytes dipstick test. Microscopic examination was done on specimens after fixation with our current formaldehyde method (Cellfix) and fixation with the mercuric salt-based preservative present

in the Stabilur tube. Evaluations were done on the same day that specimens were collected and also 72 hours thereafter.

Results: The percentage of dysmorphic erythrocytes seen with both methods over a broad range was compared and the difference was within Allowable Total Error (15%) for 28 of 28 specimens (100 %). In addition, these urinary particles (n=12) were stable for 72 hours. Furthermore, no significant differences were observed in the amount of erythrocyte casts (n=7) counted with both methods.

Conclusion: The Stabilur vacuum tube of Greiner can be used for the examination of dysmorphic erythrocytes and erythrocyte casts in urinary samples. Samples are stable for at least 72 hours.

Literature: Huussen et al. Neth J Med. 2004;62(1):4-9.

46. Multicenter evaluation of the new IMMULITE 2000 XPi TSI assay for the diagnosis of Grave's disease

M. HERON¹, R. HOEDEMAKERS², M. BATSTRA³

Laboratorium Medische Microbiologie en Immunologie, Sint Elisabeth Ziekenhuis¹, Tilburg; Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie, Jeroen Bosch Ziekenhuis², 's-Hertogenbosch; Laboratorium Medische Immunologie, Reinier de Graaf Groep³, Delft

Introduction: In Grave's disease, thyroid-stimulating immunoglobulins (TSI) bind to the TSH receptor (TSHR) and mimic TSH stimulation, leading to hyperthyroidism. The large extracellular domain of the TSHR presents epitopes for a variety of autoantibodies, including thyroid-blocking immunoglobulins (TBI). Binding of TBI inhibits TSH stimulation, leading to hypothyroidism. TSHR autoantibody (TRAb) assays do not distinguish between TSI and TBI. The IMMULITE 2000 XPi TSI assay utilizes recombinant human TSH receptors (hTSHR) for the specific detection of thyroid-stimulating autoantibodies. Our study objective was to evaluate the analytical and clinical performance of the fully automated TSI assay.

Methods: A multicenter validation of the IMMULITE 2000

XPi TSI assay was performed, measuring sera from healthy controls (n = 40) and untreated GD patients (n = 54). Analytical and clinical performance was evaluated.

Results: The analytical performance showed a high inter-laboratory correlation ($r_2 > 0.98$, n = 40), a within run %CV of 3.9% and 3.3% for serum samples with 1.1 IU/L and 25.4 IU/L respectively and a repeatability %CV during an on-board reagents period of ninety days which varied from 3.9 to 6.1% across the assay range. Analysis of the clinical performance at 0.55 IU/L cutoff showed a sensitivity of 94% and 100% specificity.

Conclusion: The IMMULITE 2000 XPi TSI assay is a sensitive quantitative immunoassay for the specific detection of TSI in the routine diagnosis and assessment of Grave's disease patients.

47. Vitamine B12 combinatiescreening: actief of totaal vitamine B12 als ingangstest?

P.J. GEUTJES¹, E.W.M. KEMNA², J.M.W. van den OUWELAND¹, C.J.A. DOELMAN²

Klinisch Chemisch Laboratorium, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Nijmegen¹, Klinisch Chemisch Laboratorium, Medlon BV, Enschede²

Inleiding: Voor het vaststellen van de vitamine B12-status is het meten van totaal vitamine B12 veelal niet afdoende, gegeven diens beperkte sensitiviteit en specificiteit. Dientengevolge zijn er verschillende combinatiebepalingen geïntroduceerd, waaronder combinatie van totaal vitamine B12 met methylmalonzuur (MMA) (1). Eerder onderzoek toont aan dat de bepaling van actief vitamine B12 (actief-B12) sensitiever en specifiek is dan de bepaling van totaal vitamine B12 (2). In deze studie beoordelen we de diagnostische opbrengst van de actief-B12 en MMA combinatiebepaling.

Methode: Alle 1e-lijns actief-B12 uitslagen geproduceerd door Medlon BV in de periode september 2013 tot september 2015 zijn geanalyseerd. Bij een actief-B12 tussen 20-35 pmol/l (het grijze gebied) volgde automatisch een advies om MMA na te bepalen, mits actief-B12 werd getriggerd in het kader van anemie-cascade-onderzoek. Een actief-B12 <20 pmol/l of een MMA-concentratie van >0,34 µmol/l werden in deze studie als deficiënt beschouwd. Actief-B12 en MMA werden respectievelijk

met CMIA (Abbott) en LC-MS/MS (Sciex) bepaald.

Resultaat: Bij 10% (3273) van alle 34229 aanvragen werd een actief-B12 van 20-35 pmol/l gemeten. Bij 20% (554) van deze patiënten werd MMA nabepaald en bleek ruim de helft hiervan (56%) een normale MMA-concentratie te hebben. In totaal kon er bij 89% van de patiënten een vitamine B12 deficiëntie worden uitgesloten. Met een automatische MMA-nabepaling zou dit theoretisch kunnen oplopen naar 94%.

Conclusie: Het stroomschema met actief-B12 als ingangstest kent een kleiner grijs gebied (10%) ten opzichte van het stroomschema met totaal vitamine B12 (21%) (1), wat impliceert dat er minder MMA-nabepalingen nodig zijn en dus lagere kosten. Met deze data is echter niet te herleiden hoeveel patiënten met actief-B12 >35 pmol/l een verhoogde MMA-concentratie hebben. Nader onderzoek is hiervoor gewenst.

Literatuur: 1. Geutjes et al. Huisarts Wet. 2015;58:234-7. 2. Heil et al. Ann Clin Biochem. 2012;49:184-9.

48. Nabepalen; een patiëntvriendelijke wens of een analytische nachtmerrie

M.W.H.J. DEMMERS^{1,3}, R. SMEETS¹, M. ADOLFSEN², P.L.M. de GROUW¹, S. ENDENBURG³, E. PIEK², J.D. OOSTING¹
*Laboratorium Klinische chemie¹, Afdeling Laboratoriumgeneeskunde, Radboudumc St.; Maartenskliniek², Nijmegen
Laboratorium; Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Ziekenhuis Gelderse Vallei³ Ede*

Inleiding: Uit logistieke overwegingen kunnen aanvullende analyses aangevraagd worden bij reeds afgenomen bloed. Nabepalingen zijn onderhevig aan pre-analytische factoren zoals bewaar- en tijdscondities. Hierbij is de vraag hoe stabiel analyten zijn na afdraaien in een primaire buis en een secundaire buis. Het doel van dit onderzoek is om vast te stellen of en in welke mate, veelvuldig aangevraagde klinisch chemische nabepalingen onderhevig zijn aan bias na centrifugatie.

Methode: Van 20 patiënten werd in duplo bloed afgenomen in lithium-heparine gelbuisen (BD-PSTTMI), waarbij één van de twee buizen werd gealiquoteerd in een secundaire buis. Op tijdstip 0, 1, 4, 6, 8 en 24 uur zijn ALAT, ASAT, LDH, CRP, kreatinine, ureum en GGT geanalyseerd uit de primaire buis en secundaire buis. Verschillen zijn geanalyseerd op basis van kritisch verschil, gedefinieerd als $2,8 \times (\text{analytischVC2} + \text{biologischVC2})^{0,5}$.

Resultaat: De resultaten van de bepalingen van ALAT, ASAT, CRP, kreatinine, ureum en GGT overschreden gedurende de totale 24 uur niet het kritische verschil, noch in de primaire noch in de secundaire buis. Het LDH resultaat bepaald in de primaire buis op t=0, bedroeg 185U/L en overschreed na 4 uur met een uitslag van 235U/L het kritische verschil van 26,8%. Na 24 uur bedroeg de LDH uitslag 356U/L in de primaire buis. Er is geen toename gevonden van LDH resultaten in de secundaire buis.

Conclusie: De resultaten laten zien dat er voor nabepalingen van LDH een verschil is tussen uitslagen uit de primaire buis ten opzichte van bepalingen uit de secundaire buis. Dit betekent dat LDH nabepalingen onderhevig zijn aan 'preanalytische' factoren en dat de nabepalingstermijn apart gedefinieerd moet worden op basis van het gebruik van een primaire of secundaire buis.

Categorie 2 Bedrijfsvoering

Dienstverlening, doorlooptijden, workflowanalyse

49. Diagnostische bloedafnames tijdens ziekenhuisopname dragen bij aan het ontwikkelen van bloedarmoede

E. HENS¹, M. CEVAAL¹, W. van den BROM², J.J.H. HENS²

Revius Lyceum¹, Doorn, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Groene Hart Ziekenhuis², Gouda

Inleiding: Diagnostische bloedafnames vormen een routine onderdeel van de behandeling van patiënten gedurende ziekenhuisopname. Eerder onderzoek toont aan dat bloedafnames bij 17.676 patiënten met myocardinfarct tijdens opname in 57 Amerikaanse ziekenhuizen leidt tot klinisch relevante bloedarmoede (1). Hier onderzoeken wij in hoeverre bloedarmoede optreedt als gevolg van diagnostische bloedafnames bij klinisch opgenomen patiënten in het Groene Hart ziekenhuis te Gouda.

Methode: Geanonimiseerde laboratoriumdata van 1.182 klinische patiënten verkregen gedurende de periode november 2014 - juni 2015 werden geanalyseerd op totale hoeveelheid diagnostische bloedafnames, opnameduur en hemoglobineconcentraties bij opname en bij ontslag. Bloedarmoede werd gedefinieerd als een hemoglobineconcentratie onder de 7,5 mmol/l.

Resultaat: Gedurende ziekenhuisopname nam het percentage patiënten met bloedarmoede toe van 29,1 naar 39,2. In de groep met bloedarmoede (n=464) was gemiddeld de ligduur 9,1 dagen, de hoeveelheid dagelijks afgenomen bloed 10,67 ml (SEM=0,41) en de daling in hemoglobineconcentratie

0,46 mmol/l (SEM=0,05). In de groep die zonder bloedarmoede het ziekenhuis verliet (n=718) was gemiddeld de ligduur 5,1 dagen, de hoeveelheid dagelijks afgenomen bloed 8,12 ml (SEM=0,32) en de daling in hemoglobineconcentratie 0,18 mmol/l (SEM=0,02). In de patiëntengroep die zonder bloedarmoede werd opgenomen maar met bloedarmoede werd ontslagen werd 142,10 ml bloed (n=136) afgenomen tegenover 41,14 ml bloed (n=702) bij de groep die zonder bloedarmoede werd ontslagen.

Conclusie: Dit onderzoek toont aan dat diagnostische bloedafnames tijdens ziekenhuisopname kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van bloedarmoede. Bij klinische patiënten die bloedarmoede ontwikkelen worden grotere hoeveelheden bloed afgenomen en is de klinische opnameduur langer. Het verdient daarom (nog steeds) aanbeveling om het nut en de noodzaak van frequentie maar ook de hoeveelheid klinische bloedafnames kritisch te blijven bezien.

Literatuur: 1. Salisbury et al. Arch Int Med 2011, 171: 1646.

50. De afgenomen hoeveelheid diagnostisch bloed per klinische patiënt is een bruikbare kwaliteitsindicator voor het efficiënt inrichten van laboratoriuminformatiesysteem, logistiek en klinische uitkomstmaat van patiëntenzorg

J.J.H. HENS, M. STREEFLAND, J.F.W. KEUREN, W. van den BROM

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Groene Hart Ziekenhuis, Gouda

Inleiding: Diagnostische bloedafnames vormen een onafhankelijke risicofactor voor het ontwikkelen van bloedarmoede tijdens ziekenhuisopname. Het verdient daarom aanbeveling om het nut en de noodzaak van frequentie maar ook de hoeveelheid klinische bloedafnames kritisch te blijven bezien. Hier onderzoeken wij in hoeverre de afgenomen hoeveelheid diagnostisch bloed bij klinische patiënten te gebruiken is als kwaliteitsindicator voor het adequaat inrichten van het diagnostische patiëntenzorgproces.

Methode: Gedurende een halfjaar werd in het Groene Hart ziekenhuis in Gouda van alle klinische patiënten bekend in het laboratoriuminformatiesysteem geanonimiseerd de totale hoeveelheid afgenomen bloed verzameld. In de periode 2014 werd gewerkt met een op analysestation-gebaseerd laboratorium-

informatiesysteem, waarbij per werkplek een separate bloedbuis werd afgenomen, en in de periode 2015 met een op minimale analysehoeveelheden ingericht laboratoriuminformatiesysteem.

Resultaat: In 2014 werden 38.994 orders, samen 100.506 buizen en 521,7 liter bloed bij 10.454 patiënten afgenomen. In 2015 werden 40.472 orders, samen 86.544 buizen en 480,5 liter bloed bij 11.294 patiënten afgenomen. Het aantal orders per patiënt was met respectievelijk 3,73 (SEM = 0,07) en 3,58 (SEM = 0,06) niet significant verschillend tussen beide laboratoriuminformatiesystemen. In het op minimale hoeveelheden ingerichte laboratoriuminformatiesysteem werd 14,7% minder bloed en 17,0% minder buisjes bloed afgenomen dan in het op analysestation-gebaseerde laboratoriuminformatiesysteem. Per

10.000 klinische patiënten zijn dit 73,5 liter bloed en 19.500 bloedbuisjes minder.

Conclusie: Dit onderzoek toont aan dat de inrichting van het laboratoriuminformatiesysteem bijdraagt aan de efficiëntie van

laboratoriumlogistiek en de klinische uitkomstmaat van patiëntenzorg. De afgenomen hoeveelheid diagnostisch bloed per klinische patiënt vormt hierbij een bruikbare kwaliteitsindicator.

51. Implementatie IFCC prestatie-indicatoren preanalyse

E.A.E. van der HAGEN, M.J.K.A. van LOON, M. de GRAAF, F.J.M. van de WATER, R.N. IDEMA
Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Amphia Ziekenhuis, Breda.

Inleiding: Het gebruik van prestatie-indicatoren (PI) is een hoeksteen van kwaliteitsborging. De IFCC heeft universele prestatie-indicatoren vastgesteld voor de pre-, post- en analytische fase passend bij ISO15189. Het implementatietraject is echter verre van triviaal en toepassing voor procesverbetering vraagt om nadere detaillering. We beschrijven onze implementatie tot nu toe en eerste resultaten.

Methode: We formuleerden aanvullende criteria voor prioritering van de implementatie (huidige knelpunten in en geplande veranderingen van onze workflow), voor kwaliteit van de implementatie (beter en transparantere workflow) en voor rapportage (fractie fouten per afnemende afdeling of per betrokken laboratoriummedewerker om gericht aanspreken mogelijk te maken). Op basis van de prioriteringscriteria startten we met preanalytische PI. We besteedden veel aandacht aan uitleg van de medewerkers en aan correcte toepassing. We voerden 19 PI in voor afname en logistiek, zoals onjuiste orderbrief, patiëntverwisseling, contaminatie, te weinig materiaal, of onjuist

bewaarde monsters. Bij fouten rapporteerden we bij de betreffende analyses een gestandaardiseerde resultaatvervangende tekst. Waar nodig voor registratie voegden we een extra testcode toe, bijvoorbeeld 'Kwaliteit order'.

Resultaat: Blijkens de eerste weken registratie zijn de grootste onvolkomenheden de kwaliteit van de aanvraag (0,7% geen orderbrief), niet-afgenomen buizen en gestold materiaal (0,17% resp. 0,9% van de buizen, waarvan 80% resp. 96% door zelf-afnemende afdelingen). Spin-offs van de implementatie waren gedeeltelijke automatisering van het heroproepen van getroffen patiënten en van interne kwaliteitsmeldingen. Het draagvlak onder de medewerkers was goed doordat de PI's de knelpunten die zij ervaren inzichtelijk maken.

Conclusie: De IFCC PI's preanalyse zijn met enige aanpassing bruikbaar als interne en externe prestatie-indicator.

Literatuur: Plebani et. al., Clin Chem Lab Med., 2014, 52:951

Point-of-care testing

52. Personalized health care: POCT Natrium meting thuis bij een kind met diabetes insipidus

A.E. van HERWAARDEN, A.A.A. van der LINDE, H.L. CLAAHSEN, J.D. OOSTING, E.P.L.M. de GROUW
Klinisch Chemisch Laboratorium, Radboudumc, Nijmegen

Inleiding: Deze casus betreft een 5-jarige jongen met een hersentumor met als complicatie van de tumor en behandeling een diabetes insipidus. Hij is niet altijd in staat adequaat dorstgevoel aan te geven en het is voor de ouders moeilijk inschatten wanneer er een aanpassing aan de medicatie nodig is o.b.v. dorstgevoel en diurese; met een hoog risico op het ontstaan van hypo- of hypernatriemie. Deze jongen moest vaak naar een SEH voor natrium meting en is meermalen opgenomen in het ziekenhuis met een ernstige ontregeling van de natrium/waterhuishouding. Natrium POCT in de thuissituatie maakt een directe aanpassing in de behandeling mogelijk.

Methode: De natrium bepaling van de iSTAT POCT meter is gevalideerd en voor 2 maanden beschikbaar gesteld voor thuismeting. Voor het uitvoeren van de meting zijn de ouders getraind en bevoegd verklaard. De ouders kunnen een natrium meting uitvoeren op het moment dat zij dit voor hun kind

nodig achten; interpretatie en medisch handelen op basis van de uitslag dient te gebeuren door de behandelend arts. In een logboek houden ouders het moment van meten, het meetresultaat en eventuele klinische interventies bij.

Resultaat: Dit project is naar tevredenheid van ouders en kind, behandelaar en laboratorium verlopen. In deze periode waren er geen ziekenhuisopnames en SEH bezoeken nodig. Adequate interventies konden via telefonisch overleg met de behandelend arts worden gerealiseerd met hulp van natrium controle in de thuissituatie.

Conclusie: Met adequate validatie, scholing en afspraken over verantwoordelijkheden is een natrium POCT thuismeting gerealiseerd. Deze is door betrokkenen positief ervaren met reductie in ziekenhuisbezoek en -opname. Een tweede periode voor thuismetingen is momenteel in gang gezet.

53. Procalcitonine Point of Care FIA8000. Geschikt voor de kliniek?

M. van KOGELBERG¹, R. ZAKARIA^{1,3}, M. REUVER¹, B. BEISHUIZEN², J.G. KRABBE¹
Klinisch Chemisch Laboratorium Medisch Spectrum Twente/Medlon¹, Enschede; Intensive Care², Medisch Spectrum Twente, Enschede; ROC van Twente³, Enschede

Inleiding: Procalcitonine (PCT) wordt gebruikt om een inschatting te maken van de mate van septische processen en het behandelingseffect van de (septische) patient, met name op de intensive care. Een point of care (POC) apparaat om deze bepaling direct aan het bed van de patiënt uit te voeren, kan van toegevoegde waarde zijn voor de kliniek i.v.m. een snelle beschikbaarheid van het resultaat. Hier beschrijven wij de nauwkeurigheid en de precisie van de POC procalcitonine bepaling op de FIA8000 Quantitative Immunoassay analyser in vergelijking met de laboratorium methode op de Modular (Roche).

Methode: De FIA8000 wordt getest op precisie (EP-5) en lineariteit. Daarnaast wordt een methodevergelijk met de Modular (Roche) uitgevoerd. Deze metingen worden uitgevoerd op de FIA8000 met 2 verschillende lotnummers. Voor de methode vergelijking wordt zowel gekeken naar de FIA8000 en de Modular als wel de resultaten verkregen op de FIA8000 met 2 verschillende lotnummers. De fabrikant claimt een VC van <15% en een correlatie t.o.v. de Roche Modular van 0,983.

Resultaat: De precisie bij een lage concentratie (1,3 ug/l) geeft een VC van 13% en 14% en voor de hoge concentratie (12,7ug/l)

een VC van 41% en 25% met lotnummers 1 en 2. De twee verschillende lotnummers geven onderling een correlatie van 0,85 terwijl de correlatie met de Roche Modular een correlatie van 0,85 en 0,99 geeft, met lotnummer 2 en 1, respectievelijk.
Conclusie: De FIA8000 Quantitative Immunoassay bepaling

54. Evaluatie van drie POCT D-dimeren meters

J. WESSELING, J. van PELT
NWZ, Laboratorium KCHI, Alkmaar

Inleiding: Volgens de NHG-standaard diep veneuze trombose (DVT) kan de huisarts een DVT bij een bepaalde patiëntenpopulatie uitsluiten door gebruik te maken van een eerstelijnsbepaling. Deze berust op gegevens uit de anamnese, het lichamenlijk onderzoek én de uitslag van een D-dimeren bepaling. Belangrijk hiervoor is een snelle en betrouwbare D-Dimeren bepaling. De kwalitatieve teststrip methodes blijken meestal niet te voldoen. Er komen steeds meer POC methodes beschikbaar, waarvan in er deze studie drie geëvalueerd zijn.

Methode: De geteste POC apparaten zijn de AQT90 Flex van Radiometer, de Nano-Check van Nano-Ditech Corporation en de Labgeo IB10 van Samsung. Voor de reproduceerbaarheid zijn plasmamonsters in twee concentraties gedurende 5 dagen 2x per dag in duplo geanalyseerd (EP5). Hierbij is als eis de door de firma's opgegeven VC gesteld. Voor het methodevergelijk met de

voor PCT voldoet niet aan de claim van de fabrikant en aan de door ons gestelde criteria. De onacceptabele imprecisie, de grote lot-to-lot variatie en discrepantie met de laboratoriummethode maakt deze POCT PCT bepaling niet geschikt en gebruik kan schadelijk zijn voor de (ernstig zieke) patiënt.

laboratoriummethode zijn volgens EP9 zijn ongeveer 25 EDTA monsters en 25 citraat monsters in de relevante range in duplo bepaald met de drie POC instrumenten en de ACL-TOP (IL).

Resultaat: Zowel de AQT90 (CV: 5,0% en 6,5%; eis <10%) als de Labgeo IB10 (CV: 5,6% en 7,7%; eis <10%) voldoen aan de vooraf gestelde eis voor de reproduceerbaarheid, maar de Nano-Check zeker niet (CV: 35% en 34%). De AQT90 en de Labgeo IB10 voldoen ook aan de eis van de methodevergelijking. De correlatie coëfficiënten waren resp. 0,96 en 0,92. Het aantal uitkomsten met een verschil >20% tov de labmethode was 17/48 (AQT90), 7/19 (Labgeo) en 27/42 (Nano-check).

Conclusie: De AQT en de Samsung zijn bruikbaar als POCT methode maar de Nano-Check niet. Wel kunnen de resultaten behoorlijk van de labmethode afwijken, wat vals-negatieve en vals-positieve uitslagen tov de beslisingrens kan opleveren.

55. Evaluatie van vijf POCT HbA1c meters

S. KOSE, W. WILBIE, J. van PELT
NWZ, Laboratorium KCHI, Alkmaar

Inleiding: Er komen de laatste tijd veel POCT methoden voor de bepaling van HbA1c op de markt. Voor diagnostiek en monitoring zijn robuuste en betrouwbare bepalingmethoden voor HbA1c nodig en de vraagstelling is of de aangeboden POC methoden daaraan voldoen.

Methode: De vijf geteste POCT apparaten waren de SD A1cCare van SD Biosensor, de Afinion AS100 van Alere, de HbA1c 501 analyzer van Hemocue, de Quo-test van EKF Diagnostics en de Innovastar van Diasys. Reproduceerbaarheid is getest met behulp van een aangepast EP5 protocol (4x per dag een laag en hoog monster in duplo) vanwege de beperkte houdbaarheid van volbloed (n=60). De juistheid is getest met een EP9 protocol in vergelijking met de Menarini HA-8180 lab-methode (n=80).

Resultaat: Aan de eis voor de totale CV van <3,0% bij lage en hoge concentratie bij meting in % en <4,8% resp. <4,0% bij

meting in mmol/mol werd door alle vijf methodes voldaan. Aan de eis m.b.t. methodevergelijk (helling gelijk aan 1,0 (binnen 95% BI) en intercept gelijk aan 0,0 (binnen 95% BI)) werd door geen enkele methode voldaan. De correlatiecoëfficiënt was bij alle methodes >0,98. Tevens werden de procentuele verschillen met de lab-methode berekend. De eis is minder dan 10% verschil indien uitgedrukt in mmol/mol. Hieraan werd niet voldaan door 14/60 (SD Biosensor), 7/80 (Afinion), 10/80 (Hemocue), 10/80 (Quo-test) en 11/80 (Innovastar) geteste patiënten monsters.

Conclusie: De geteste POCT methodes voor de bepaling van HbA1c ontkopen elkaar niet veel en voldoen alle aan de reproduceerbaarheids-eis. Geen van de methodes voldoet met lineaire regressie berekening aan de eis voor de juistheid. Het aantal monsters met meer dan 10% verschil tov de lab-methode varieert van 9% tot 23%.

56. Het gebruik van point-of-care CRP meters in de huisartspraktijk: worden NHG richtlijnen gevolgd?

D.S. BOSS, R. MUSSON, A.Y. DEMIR
Klinisch Chemisch Laboratorium, Meander Medisch Centrum, Amersfoort

Inleiding: De POC-CRP test is van grote waarde gebleken om onnodig antibioticagebruik in de huisartspraktijk terug te dringen. Wij hebben gekeken naar de toepassing van NHG richtlijnen voor het uitvoeren van de test, en het voorschrijfgedrag van antibiotica op geleide van CRP uitslagen.

Methode: Aan gebruikers van CRP-meters is gevraagd om voorafgaand de indicatie aan te geven en nadien of er is overgegaan tot het voorschrijven van een antibioticum. Per indicatie is bekeken of deze zeker, mogelijk, of niet valt onder de NHG richtlijnen waarin de gebruik POC-CRP test vermeld wordt (acute hoest of diverticulitis). Daarnaast is voor de indicatie hoest gekeken naar het aantal malen dat een antibioticum is voorgeschreven na CRP uitslagen kleiner dan 20 mg/l, 20-100 mg/l of groter dan 100 mg/l.

Resultaat: Tussen november 2013 en oktober 2015 zijn op 16

huisartspraktijken gegevens verzameld. Van de 1908 metingen zijn er 1293 (68%) zeker en 461 (24%) mogelijk uitgevoerd i.k.v. bovengenoemde NHG-richtlijnen. In 154 gevallen was er sprake van een indicatie waar POC-CRP geen plaats heeft in het diagnostisch traject. Wanneer de meting een uitslag kleiner dan 20 mg/l opleverde, werd er in 32 van de 724 gevallen (4%) bij patiënten met hoest overgegaan tot het voorschrijven van een antibioticum. Bij een uitslag tussen 20 en 100 mg/l was dit in 219 van de 311 (70%) metingen het geval. Wanneer de CRP uitslag groter dan 100 mg/l was werd er in 66 van de 70 (94%) van de gevallen een antibioticum voorgeschreven.

Conclusie: Onze studie laat zien dat de NHG richtlijnen goed worden gevolgd bij het uitvoeren van POC-CRP-testen. Het doelmatig voorschrijven van antibiotica zal vermoedelijk leiden tot minder resistentie.

57. Evaluatie van vier point-of-care INR meters

E.H.A.M. ELSEMBERG¹, N. PLOMP², J. van PELT¹

Laboratorium KCHI¹, Noordwest Ziekenhuisgroep, locatie Alkmaar; Starlet Diagnostisch Centrum², Alkmaar

Inleiding: Behandeling met vitamine K antagonisten wordt gecontroleerd door de INR te meten. Deze controle verschuift steeds meer van het laboratorium naar point-of-care metingen, al dan niet door de patiënt zelf. Verschillende nieuwe INR meters zijn de afgelopen jaren ontwikkeld. In deze studie evalueren we de analytische performance van een 4-tal POCT INR meters.

Methode: De volgende INR meters werden geëvalueerd: qLabs, Iline, Coagmax en Xprecia. Per meter werden 40 patiënten geïncludeerd waarbij iedere patiënt twee capillaire en een veneuze bloedafname kreeg. Beide capillaire INR waarden werden gebruikt voor de berekening van de reproduceerbaarheid. Voor de methodevergelijking werden de resultaten van de eerste capillaire afname vergeleken met de laboratoriumwaarde uit de veneuze bloedafname door middel van een Passing-Bablok- en een Bland-Altman analyse. Daarnaast werd extern controle materiaal (ECAT) getest op alle meters.

Resultaat: De volgende CVs werden gevonden voor de verschillende meters: qLabs: 6,2%, Iline: 8,4%, Coagmax: 6,2%, Xprecia 3,4%. Alle apparaten maten gemiddeld lagere INR waarden dan de laboratoriummethode met een bias van respectievelijk -11,5%, -14,5%, -18,5% en -17,5%. De minste afwijkingen werden gezien bij de meter van qLabs waarbij 16% van de POCT metingen >20% afweken van de veneuze meting. De meeste afwijkingen werden gevonden voor de Coagmax meter (56% >20% afwijking). Daarnaast kan ECAT controle materiaal niet gebruikt worden op alle meters.

Conclusie: Hoewel de variatiecoëfficiënten van alle meters voldoen aan de eisen van de FNT, laten deze meters te veel resultaten zien met een grote afwijking ten opzichte van de laboratoriummethode. Daarnaast is het huidige externe controle materiaal niet geschikt voor een aantal nieuwe INR meters wat kwaliteitswaarborging bij eventuele implementatie van deze methoden bemoeilijkt.

58. Point-of-care troponine testen in de Nederlandse huisartsenpraktijk: voorkeuren en verwijfsbeslissingen van huisartsen

M.M.A. KIP¹, A.M. NOLTES¹, H. KOFFIJBERG¹, R. KUSTERS^{1,2}

afd. Health Technology and Services Research,¹MIRA Institute for Biomedical Technology and Technical Medicine, Universiteit Twente, Enschede; Laboratorium voor klinische chemie en hematologie², Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch

Inleiding: Bepalen van de verwachte toegevoegde waarde van POC troponine in de eerste lijn, de subgroep van patiënten waarin de test toegepast kan worden, evenals het verwachte effect op verwijfsbeslissingen, door middel van een enquête.

Methode: Een online enquête bestaande uit 42 vragen is verstuurd naar 837 Nederlandse huisartsen, in juni 2015. De enquête bestond uit drie onderdelen: 1) huidige werkwijze bij verdenking ACS en toegevoegde waarde van POC troponine, 2) effect van POC troponine op verwijfsbeslissingen in twee casussen (één laag en één gemiddeld risico op ACS), en 3) eisen van huisartsen met betrekking tot POC troponine.

Resultaat: 169 (20%) huisartsen hebben deelgenomen (complete respons: 123 (15%)). Huisartsen verwachten 27% (SD 2%) van alle patiënten met pijn op de borst direct in te sturen, waarvan 33% (SD 2%) vanwege lichte verdenking op ACS en

13% (SD 2%) ter geruststelling. Bij laag risico op ACS werd een initiële verwijfsbeslissing die niet werd ondersteund door de troponine uitslag aangepast door 85% van de huisartsen, bij hoog risico werd de verwijfsbeslissing aangepast door 82% van de huisartsen. 78% van de huisartsen wil de testuitslag binnen 10 minuten beschikbaar hebben, 69% vindt uitvoering door middel van een vingerprik noodzakelijk, en 78% vindt bekostiging van het POC apparaat door de zorgverzekeraar of medisch laboratorium essentieel.

Conclusie: De POC troponine test kan volgens huisartsen van meerwaarde zijn ter geruststelling en voor uitsluiten van ACS bij patiënten met een lichte verdenking. Implementatie in de praktijk zal mede afhankelijk zijn van de test karakteristieken zoals, snelheid, wijze van afname, en mogelijke regelingen voor vergoeding.

Kwaliteit, referentiewaarden

59. Multi Instrument Comparison op basis van patiënten uitslagen

A.J. PLATENKAMP, A.H.L. MULDER, R.G.H.J. MAATMAN

Medlon B.V. Enschede

Inleiding: Patiënten uitslagen verkregen met soortgelijke/identieke apparatuur dienen vergelijkbaar te zijn. Analyse van een poolmonster verkregen met behulp van patiënten monsters voor alle bepalingen op de diverse locaties is zeer bewerkelijk qua bereiding en analyse. Binnen Medlon is een procedure ontwikkeld waarbij de vergelijkbaarheid van apparatuur wordt geanalyseerd met behulp van patiënten uitslagen.

Methode: Op basis van de resultaten van de interne kwaliteitscontroles voor elke bepaling zijn de analytische variaties vastgesteld. Deze analytische variaties zijn gebruikt om het maximaal toelaatbare verschil te berekenen, waarbij het Toegestane verschil = $TEa - 1,65 * VCa$. Door patiënten resultaten in nauwkeurig gedefinieerde meetbereiken te vergelijken wordt inzichtelijk wat de gemiddelde waarde en de daarbij behorende SD is per apparaat voor de patiënten uitslagen. Door vergelijking van deze resultaten per apparaat is inzichtelijk of een bepaald apparaat een groter verschil dan het toegestane verschil vertoont, ook is het mogelijk om te zien of er sprake is van een drift van

de patiënten resultaten.

Resultaat: Inmiddels is er meer dan een jaar ervaring met de huidige werkwijze. Dit heeft inzichtelijk gemaakt dat kleine verschillen ontstaan, onder andere door de introductie van nieuwe (lotnummers) reagentia, goed waarneembaar zijn. De resultaten van de externe kwaliteitscontroles verkregen met elk apparaat bevestigen de resultaten. Gezien de delay in tijd tussen de analyse en de evaluatie van de resultaten van de externe kwaliteitscontrole geeft monitoring op grond van patiënt gemiddelden sneller inzicht in de afwijkingen.

Conclusie: Vergelijkbaarheid van apparatuur is goed uitvoerbaar met behulp van patiënten uitslagen in combinatie met de SKML externe kwaliteitsbewakingen en maken efficiënt inzichtelijk wanneer bepaalde testen bias/drift vertonen.

Literatuur: Kazmierczak S.C. Laboratory Quality Control: Using patient data to assess analytical performance. CCLM 2003; 41(5):617-627.

60. Nieuwe methode voor het optimaliseren en valideren van lopende patiëntengemiddelden / moving average

H.H. van ROSSUM^{1,2}, H. KEMPERMAN¹

Laboratorium Klinische Chemie en Hematologie¹, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht; Algemeen Klinisch laboratorium², Nederlands Kanker Instituut, Antoni van Leeuwenhoek ziekenhuis, Amsterdam

Inleiding: Tot op heden is er geen praktische methode beschikbaar voor het genereren van de meest optimale instellingen van lopende patiëntengemiddelden / moving average (MA) als continu analytisch kwaliteitscontrole instrument. Daarnaast is er geen objectief inzicht in de fout-detectie eigenschappen van toegepaste MA. Wij beschrijven een nieuwe methode voor het optimaliseren van valideren van MA als continu kwaliteitscontrole instrument.

Methode: MA optimalisatie werd uitgevoerd op een dataset van in het verleden verkregen testresultaten. Bias introductie en MA bias detectie werden gesimuleerd voor meerdere MA procedures (combinatie van inclusie criteria, bereken algoritme en controlegrenzen) en meerdere bias. Bias detection curves werden gegenereerd door het mediane aantal test resultaten nodig voor bias detectie te plotten tegen de gesimuleerde bias. In MA validation charts werd voor geselecteerde MA naast de mediaan ook het minimale en maximale aantal metingen dat

nodig was voor MA bias-detectie, weergegeven. Optimalisatie en validatie van MA werd gedemonstreerd voor natrium, kalium en albumine.

Resultaat: Met behulp van bias detection curves kon grafisch de bias detectie eigenschappen van meerdere MA worden vergeleken. De meest optimale MA werden geselecteerd op basis van het gehele bias detectie profiel. Van de geselecteerde optimale MA werd vervolgens een MA validation chart gegenereerd waarmee inzicht werd verkregen in de variatie van het aantal test resultaten dat nodig was voor MA bias detectie.

Conclusie: Met behulp van de MA simulatie methode en de presentatie van deze resultaten in bias detection curves en MA validation charts kunnen MA worden geoptimaliseerd en gevalideerd. Met deze eenvoudig verkregen optimale instellingen is een continu analytisch kwaliteitscontrole instrument beschikbaar waarbij inzichtelijk is wat de werkelijke bias detectie eigenschappen van de geselecteerde MA methode zijn.

61. How to define reference intervals to rule in healthy individuals for clinical trials?

W.P.J. den ELZEN¹, J. van GERVEN², P.W. SCHENK¹, A. uit den BOGAARD², R. KROON², E. KLAASSEN², B.E.P.B. BALLIEUX¹, C.M. COBBAERT¹

Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Centre¹, Leiden, Centre for Human Drug Research², Leiden, the Netherlands

Introduction: The majority of reference intervals are defined as the mean ± 2 standard deviations (SDs) from a population free from disease. By definition, 5% will fall outside the reference interval. This may become a substantial problem when selecting healthy volunteers for clinical trials. Therefore, we illustrate the consequences of applying wider reference intervals in a practical example.

Methods: Between January 1997 and December 2012, 2789 healthy volunteers, mainly students, underwent a medical and physical examination at the Centre for Human Drug Research. Fasting blood samples were drawn. Serum alanine aminotransferase, albumin, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, total and conjugated bilirubin, calcium, total cholesterol, creatinine, gamma-glutamyl transpeptidase, glucose, phosphate, total protein, urea, uric acid (photometric assays, Roche Diagnostics, Modular P800) and potassium and sodium (Ion-Selective Electrode assays, Roche Diagnostics, Modular P800) were measured at the clinical laboratory of the Leiden University Medical Center.

Results: Highest flagging rates were observed for alanine aminotransferase (males: 6% vs. females: 3%), albumin (49%, 15%), aspartate aminotransferase (7%, 4%), total bilirubin (20%, 7%), sodium (10%, 8%) and uric acid (8%, 4%) when we applied the LUMC reference intervals. These high flagging rates are unsurprising, since, conceptually, the chance of finding one abnormal result will be at least 40% ($1 - 0.95^{10} \times 100\%$) when 10 or more analytes are measured. When ± 3 SD reference intervals are constructed, only 3% ($1 - 0.997^{10} \times 100\%$) of the volunteers will have to be excluded.

Conclusion: We recommend applying wider reference intervals for the purposes of screening healthy volunteers for clinical trials. This will not only avoid a loss of resources, time and money but also prevent difficult discussions when having to explain abnormal laboratory findings to apparently healthy persons.

62. Standardization of Vitamin D assays: how successful is it?

E.H.A.M. ELSEMBERG¹, E. ten BOEKEL¹, H.J. HUIJGEN², A.C. HEIJBOER³

Department of Clinical Chemistry¹, Noordwest Ziekenhuisgroep, Alkmaar, the Netherlands; Department of Clinical Chemistry², Rode Kruis Ziekenhuis, Beverwijk, the Netherlands; Department of Clinical Chemistry³, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

Introduction: Requests for 25(OH)D measurements in clinical laboratories has increased excessively. To assure reliable 25(OH)D results the Vitamin D Standardization Certification Program (VDSCP) has been developed. Multiple assays have been aligned to this program. In this study we investigated the performance of various currently used 25(OH)D methods in both native single-donor sera with target values certified by a reference method as well as single donor sera from a heterogeneous patient population.

Methods: 25(OH)D levels were measured in twenty reference samples (25OHD; Labquality, Finland) using 5 automated methods (Lumipulse, Liaison, Cobas, iSYS and Access) and

one aligned ID-XLC-MS/MS method (slope: 1.00; intercept: 0.00; $R=0.996$). Furthermore, 25(OH)D measured in 50 pregnant women and 52 random patients using the 5 automated analyzers were compared to the ID-XLC-MS/MS. In addition, Vitamin D binding protein (DBP) was measured.

Results: Most automated assays showed significant differences in 25(OH)D levels measured in reference samples. Slopes varied from 1.00 to 1.33, intercepts from -5.48 to -15.81 nmol/L and the R from 0.971 to 0.997. This inaccuracy was even more prominent in a heterogeneous patient population (slopes: 0.75 to 1.35, intercepts: -9.02 to 11.51 nmol/L, $R: 0.840$ to 0.949). For most assays the deviation in 25(OH)D concentration

increases with elevating DBP concentrations suggesting that DBP might be one of the factors contributing to the inaccuracy in currently used automated 25(OH)D methods.

Conclusion: Despite participation of several methods in VDSCP, we observed significant differences in 25(OH)D in

reference material using some of these methods. In patient sera this inaccuracy was even worse which is highly concerning as these are the samples that are being investigated in clinical laboratories.

63. Effects of time and temperature on 48 routine analytes in lithium-heparin, sodium-fluoride, EDTA and citrate

J. van BALVEREN¹, E. GEMEN¹, N. PÉQUÉRIAUX¹, R. KUSTERS^{1,2}

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, the Netherlands
Jeroen Bosch Hospital; MIRA institute for Biomedical Technology and Technical Medicine², dpt of Health Technology and Services Research(HTSR), University of Twente, the Netherlands.

Introduction: When phlebotomy is performed at remote locations, blood samples usually have to be stored and transported to a central laboratory for analysis. The circumstances during storage and shipment may not meet the necessary requirements for pre-analytical conditions. If these blood samples are analyzed anyway, false results may be generated. We therefore examined the influence of temperature and time between venapuncture and analysis of the most requested tests.

Methods: 48 analytes were tested. Routine chemistry was tested in lithium heparin tubes, hematology in EDTA tubes, coagulation in citrate and glucose in sodium-fluoride. Fifty volunteers were requested to donate 17 tubes of blood each. One tube was measured directly and the others were kept at different temperatures (4, 8, 20, 30°C) and stored for 4, 6, 8 and 24 hours before analysis. Potassium, sodium, LD and calcium were additionally examined at 12, 16, 24 and 28°C. The mean percentage deviation was compared to the total allowable error (TEa) derived from the inter-

and the intra-individual biological variation.

Results: When using the TEa as an acceptable limit, most of the analytes investigated remained stable up to 24 hours under all storage conditions prior to centrifugation. Bicarbonate is unstable at all temperatures. Calcium, LD, potassium, and sodium are particularly affected at lower temperatures, while phosphate is mainly affected at room temperature and higher temperatures after 8 hours.

Conclusion: We showed the influence on a broad range of analytes which may be applied to set the limits of temperature and shipping time in order to guarantee quality of analysis.

Literature: Oddezo C et al, Clin Biochem. 2012;45(6):464-9. Zwart SR et al., Clin Biochem. 2009;42(9):907-10. W.G. Guder G.M.F. et al., 2015, Medicine GUSfCCaL (4th edition) de Jonge et al., 2015 march, NVKC leidraad

Automatisering, dataverwerking

64. NutriProfiel[®], voedingsadvies op maat

M. BALVERS^{1,2}, J. de VRIES², M. de RIJK², P. HOLLMAN², F. PIJPER¹, M. RENKEMA³, F. KOK², J. KLEIN GUNNEWIEK¹

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Ziekenhuis Gelderse Vallei (ZGV)¹, Ede, Afdeling Humane Voeding, Wageningen, Wageningen University (WU)², Topshare International B.V.³, Wageningen

Inleiding: Bij goede voeding, essentieel voor gezondheid en herstel, gaat de aandacht vooral uit naar macronutriënten en calorische inname en veel minder naar micronutriënten. Elk laboratorium rapporteert dagelijks uitslagen van micronutriëntenonderzoek. Voor een goede interpretatie hiervan dient de aanvrager het voedingspatroon van de patiënt te kennen. Vaak heeft de aanvrager hier onvolledig zicht op. Om aanvragers te helpen bij de interpretatie hebben ZGV en WU NutriProfiel[®] ontwikkeld. NutriProfiel[®] combineert uitslagen van micronutriënten onderzoek (vitamines D, B6, B12 en foliumzuur) met het voedingspatroon van de patiënt en geeft op basis hiervan persoonlijke voedingsadviezen.

Methode: De arts vraagt vitamine D, B6, B12 en/of foliumzuur aan waarna de analyses worden uitgevoerd. Zodra de uitslagen gerapporteerd zijn krijgt de patiënt een automatische mail met een link naar een persoonlijke, digitale voedingsvragenlijst (EetScore[®]). Nadat de EetScore[®] online is ingevuld worden de resultaten hiervan gecombineerd met de laboratoriumuitslagen.

Op basis hiervan wordt automatisch een voedingsadvies gegenereerd dat elektronisch aan de arts wordt gerapporteerd. Het voedingsadvies is gebaseerd op de Richtlijn Goede Voeding. De arts heeft de mogelijkheid een uitgebreide uitleg van het advies te printen en mee te geven aan de patiënt.

Resultaat: NutriProfiel[®] is succesvol geïmplementeerd voor specialisten en huisartsen. Het gehele proces van aanvraag tot terugkoppeling van het voedingsadvies bij laboratoriumuitslagen is gedigitaliseerd. Hierbij is voldaan aan de eisen ten aanzien van privacybescherming. Aanvragers zijn tevreden over NutriProfiel[®]. Het stelt hen in staat voeding als oorzaak van deficiënties mee te nemen in hun overwegingen en de patiënt gerichte voedingsadviezen mee te geven.

Conclusie: NutriProfiel[®] helpt de arts bij het vaststellen van de oorzaak van een micronutriëntentekort en geeft arts en patiënt handvatten om met voeding de micronutriëntenstatus te verbeteren.

65. Embedding diagnostic decision support tools into Electronic Medical Record Systems: an evaluation of impact and feasibility

J.Y. VIS¹, J.A.H. de GROOT^{1,2}, P. MEINDERTSMA³, A.D. van ZUILEN⁴, C.J. KALKMAN⁵, W.W. van SOLINGE¹, M.J. ten BERG¹

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹, Department of Clinical Epidemiology², Directorate of Information Technology³, Department of Nephrology⁴, Department of Anaesthesiology⁵, University Medical Center, Utrecht, The Netherlands

Introduction: UpToDate is a well-known web-based clinical decision support system containing evidence-based medical knowledge. Embedding UpToDate into Electronic Medical Record Systems might improve clinicians' access to this evidence based information, bringing it more into the workflow of daily practice and ultimately improving diagnostic decisions and patient care. The purpose of this study was to embed an UpToDate search tool into the Electronic Medical Record System and evaluate its impact and feasibility.

Methods: The UpToDate search tool was embedded into the Electronic Medical Record System of the neurology, nephrology and orthopedics departments of the University Medical Center Utrecht. For a total period of four months (i.e. two months before and two months after embedding the UpToDate search tool into the Electronic Medical Record System) total usage of the tool at these departments and the rest of the hospital

was registered to evaluate its impact. Afterwards, the feasibility of embedding the tool was assessed using questionnaires. *Results:* Embedding the UpToDate search tool into the Electronic Medical Record System did not lead to an increase in UpToDate usage. The feasibility assessment among involved health care professionals revealed that the added value of embedding such tools directly into the hospital Electronic Medical Record System is questionable.

Conclusion: Although UpToDate is a highly appreciated web-based clinical support system, this evaluation study shows that embedding a UpToDate search tool directly into the hospital Electronic Medical Record System does not necessarily lead to increased usage of the tool. The success of embedding such decision support tools fully depends on whether the end-users (i.e. the health care professionals) find it feasible and whether it fits into their clinical work-flow.

66. De kosten van klinisch-chemische laboratoriumdiagnostiek bedragen gemiddeld 4% van de verrichtingen van een poliklinische internistische DOT

K. RIETJENS¹, A. WILBIK¹, U. KAYMAK¹, V. SCHARNHORST^{1,2}, A-K. BOER²
Technische Universiteit Eindhoven¹, Catharina Ziekenhuis Eindhoven²

Inleiding: Bij het stellen van een diagnose spelen verschillende vormen van diagnostiek een belangrijke rol. Deze soorten 'verrichtingen' worden op verschillende plaatsen geregistreerd in het ziekenhuis informatie systeem (ZIS). Momenteel is het niet eenvoudig om de kosten van bijvoorbeeld laboratoriumdiagnostiek vast te stellen ten opzichte van overige ziekenhuisverrichtingen. *Methode:* Middels GASTON hebben we de verschillende informatiebronnen in ons ZIS ontsloten. Vervolgens hebben we met MatLab deze data geanalyseerd. Voor deze studie hebben we alle patiënten geïncludeerd die gedurende een half jaar een diagnose (DBC-registratie) hadden van een internist (n=9843). Als uitgangspunt voor de economische waarde werd de NZA-tarief tabel dan wel de door het ziekenhuis gehanteerde economische waarde gehanteerd. In de analyse zijn alleen 'poliklinische' verrichtingen meegenomen.

Resultaat: Van de patiënten heeft 64% één, 26% twee en 10% drie of meer geregistreerde diagnoses. Gemiddeld bestaat 51% van de verrichtingen uit laboratorium diagnostiek, 8% uit overige diagnostiek en 41% uit behandeling-gerelateerde

verrichtingen. Daarentegen wordt gemiddeld slechts 4% van de kosten 'veroorzaakt' door laboratoriumdiagnostiek. Tien procent is gerelateerd aan overige diagnostiek (o.a. med. microbiologie, pathologie, radiologie, nucl.geneeskunde en functie-onderzoeken) en 86% aan behandeling-gerelateerde verrichtingen. Dus, ruwweg een derde van de diagnostische kosten wordt veroorzaakt door laboratoriumdiagnostiek. De verschillen in absolute verrichtingskosten tussen binnen DOTs zijn groot.

Conclusie: Met de door ons ontwikkelde tool (GASTON+MatLab) kunnen de totale kosten van verrichtingen worden bepaald. Bovendien kunnen subanalyses worden gemaakt op aanvrager-niveau en naar doorlooptijden van diagnostische trajecten. De kosten van klinisch-chemische diagnostiek zijn laag t.o.v. de overig diagnostische- en behandelingskosten. In potentie kan door inzet van betere, en dus mogelijk duurdere klinisch-chemische diagnostiek, op overige verrichtingskosten worden bespaard. Met deze business intelligence tool kan het financiële gevolg van zo'n interventie worden geobjectiveerd.

Overigen

67. Franchiseformule voor laboratoria

C.J.A. DOELMAN¹, C. van LUIK¹, H. van der VUURST²
Medlon b.v. Ariënsplein¹, Enschede; Steekziekenhuis Kon. Beatrix Winterswijk²

Inleiding: Door toenemende prijsdruk en concurrentie zijn diverse Nederlandse laboratoria op zoek naar samenwerkingsverbanden of fusies. De inrichting van een fusie neemt veel tijd in beslag, daadwerkelijke integratie kan nog jaren in beslag nemen. Een franchiseformule kan een alternatief zijn.

Methode: Medlon en het SKB hebben een franchiseformule ontwikkeld die de onderdelen ICT, kwaliteit en inkoop omvat. De klinisch chemici delen kennis en kunde waarvan beide organisaties profiteren. Middels een franchiseovereenkomst worden de diensten en prestatie-indicatoren vastgelegd.

Resultaat: De franchiseformule omvat het laboratoriuminformatiesysteem, het documentbeheersysteem en systemen ter borging van kwaliteit, kantoorautomatisering, inkoop en ondersteuning van kwaliteitszorg. Werkwijzen en methoden worden zoveel mogelijk geharmoniseerd, waarbij beide partijen

elkaar ondersteunen bij de invoering. Zeldzame, technisch gecompliceerde en kennisintensieve bepalingen worden zoveel mogelijk centraal gemeten. De medewerkers van het laboratorium zijn in dienst van het SKB; de apparatuur is eigendom van het SKB. De testen, die niet in SKB worden uitgevoerd, worden dagelijks naar Medlon verzonden.

Conclusie: De ontwikkelde franchiseformule biedt aan zowel de franchisenemer als de franchisegever voordelen. De franchisenemer wordt ondersteund door uitgebreide ICT faciliteiten, die moeilijk door een individueel lab zijn te financieren. Door gebruik te maken van de inkoop van de franchisegever worden kosten bespaard, wordt kennis en kunde gedeeld en kunnen beide partijen hun kwaliteit verbeteren. De franchisegever kan zijn kosten van ICT verlagen en is in staat meer inkoopkracht te ontwikkelen.

Hart- en vaatziekten, atherosclerose

68. Systematische review: pericardiaal vocht heeft de eigenschappen van een exsudaat

T.C. van HOLTEN, F.A.L. van der HORST

Reinier Haga Medisch Diagnostisch Centrum, Klinische Chemie, Delft

Inleiding: Pericardiaal vocht wordt gezien als een filtraat van plasma, maar de normale samenstelling is niet geheel duidelijk. Wij voerden een systematische review van de literatuur uit om vast te stellen wat de normale samenstelling van pericardiaal vocht is en of de Light's criteria geschikt zijn om transudatieve van exsudatieve pericardiale effusies te onderscheiden.

Methode: Medline werd doorzocht met de Advanced Search Builder in Pubmed. De zoekterm was: ('pericardial' or 'pericardium' or 'pericard') and ('fluid') and ('composition' or 'biochemical' or 'biochemistry' or 'analysis' or 'laboratory'). Dit resulteerde in 863 artikelen. 831 artikelen waren op basis van de titel niet relevant. Op basis van abstracts bleven 14 relevante artikelen over. Na het lezen van deze artikelen bleven 4 artikelen over. Via kruisreferentie vonden we nog 2 artikelen. In deze artikelen werden 13 verschillende subgroepen beschreven, onderverdeeld in 'normaal pericardiaal vocht', 'pericardiale effusie met transudatieve oorzaak', 'pericardiale effusie

met exsudatieve oorzaak', en 'pericardiale effusies met onduidelijke oorzaak'.

Resultaat: In 3 subgroepen met normaal pericardiaal vocht pasten de resultaten van de ratio tussen pericardvocht en serum van totaal eiwit (TE_PCV/SE) en van lactaatdehydrogenase (LDH_PCV/SE) bij een exsudaat. In 1 normale subgroep paste het LDH in het pericardvocht ten opzichte van de 'upper reference limit' ook bij een exsudaat. Pericardiale effusie met transudatieve oorzaak werd in 2 subgroepen beschreven. De resultaten van beide groepen voor TE_PCV/SE en LDH_PCV/SE passen bij een exsudatieve oorzaak van de effusie. In 4 artikelen scoorde de Light's criteria positief bij pericardiale effusies met exsudatieve oorzaak.

Conclusie: Normaal pericardiaal vocht lijkt sterk op een exsudaat. De Light's criteria zijn niet geschikt om bij een pericardiale effusie een transudatieve van een exsudatieve oorzaak te onderscheiden.

69. The pitfall of cardiac troponin T in the diagnosis of acute myocardial infarction: a case report

N. van der LINDEN¹, L.J. KLINKENBERG¹, D.M. KIMENAI¹, J.M. HILDERINK¹, T. CORNELIS², J.P. KOOMAN², O. BEKERS¹, M.P. van DIEIJEN - VISSER¹, S.J. MEEX¹

Department of Clinical Chemistry¹, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht University Medical Center (MUMC), Maastricht, the Netherlands, Department of Nephrology², Maastricht University Medical Center (MUMC), Maastricht, the Netherlands

Introduction: Cardiac troponin T (cTnT) and I (cTnI) are the preferred biomarkers for the diagnosis of acute myocardial infarction (AMI). Recently, we showed that cTnT, but not cTnI, exhibits a diurnal rhythm. (Klinkenberg, J Am Coll Cardiol 2014). Fortunately, the physiological rise and fall does affect the diagnostic accuracy of the troponin T assay in subjects from the general population. However, the magnitude of the rhythm in, and the consequences for the diagnostic accuracy in subjects with chronically elevated cardiac troponin concentrations, such as end-stage-renal-disease patients is unknown. We studied the diurnal troponin rhythm in a subject with strongly decreased renal function.

Methods: We monitored cTnT and cTnI concentrations in a symptomless 63-year old female subject with chronically elevated troponin levels in the presence of severely diminished kidney function (eGFR 14 ml/min/1.73m²). Hourly blood samples were drawn over a period of 25 hours. cTnT (Roche)

and cTnI (Abbott) were measured with high-sensitive assays in duplicate.

Results: cTnT concentrations showed a diurnal rhythm (cosine fit $r^2=0.90$) with a baseline cTnT concentration of 119ng/L and physiological fluctuations over the day from 99ng/L (23:30pm) to 150ng/L (9:30am). In contrast, cTnI levels remained unchanged over the day with no evidence of a circadian pattern (baseline concentration: 8.6ng/L; range between 7.7ng/L (8:30pm) and 10.3ng/L (1:30am)).

Conclusion: cTnT but not cTnI showed a diurnal rhythm in a female subject with diminished kidney function. Physiological 1-hour and 3-hour delta-changes of cTnT exceeded diagnostic rule-in criteria for myocardial infarction, especially in the time window 11.30am-2.30pm and 2.30am-7.30am. Validation of this finding in an additional series of patients with chronic kidney disease is required to assess its generalizability.

70. Hematological parameters outperform plasma markers in predicting long-term mortality after coronary angiography

C.M. GIJSBERTS^{1,2}, H.M. den RUIJTER¹, D.P.V. de KLEIJN^{1,2,3,4}, A. HUISMAN⁵, M. ten BERG⁵, M. de GROOT⁵, R.H.A. van WIJK⁵, F.T. W. ASSELBERGS^{6,7,8}, M. VOSKUIL⁶, G. PASTERKAMP^{1,5}, W.W. van SOLINGE⁵, I.E. HOEFER^{1,5}

Experimental Cardiology Laboratory, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands¹, ICIN-Netherlands Heart Institute, Utrecht, the Netherlands², Department of Surgery, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore, Singapore³, Cardiovascular Research Institute (CVRI), National University Heart Centre (NUHCS), National University Health System, Singapore⁴, Department of Clinical Chemistry and Hematology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands⁵, Cardiology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands⁶, Durrer Center for Cardiogenetic Research, ICIN-Netherlands Heart Institute, Utrecht, The Netherlands⁷. Institute of Cardiovascular Science, faculty of Population Health Sciences, University College London, London, United Kingdom⁸

Introduction: High-sensitivity Troponin I (hsTnI) and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT pro-BNP) constitute the current clinical standard for risk prediction in coronary artery disease patients. Recently, routine hematological parameters have emerged as mortality predictors in several medical disciplines. In the current study we examined the predictive value of hematological parameters and plasma biomarkers hsTnI and NT pro-BNP for mortality during follow-up in a coronary angiography population.

Methods: Coronary angiography patients (n=1,913) from the UCORBIO cohort were included in this study. Hematological parameters - routinely measured in clinical care - were extracted from the Utrecht Patient Oriented Database (UPOD). HsTnI and NT pro-BNP were measured upon inclusion in UCORBIO. Using Cox regression, receiver operating characteristics, integrated discrimination improvement (IDI) and continuous net

reclassification improvement (cNRI) analysis, we compared their predictive properties for mortality during follow-up.

Results: During a median follow-up duration of 1.8 years, 77 deaths occurred. A panel of seven hematological parameters was highly predictive of mortality. In addition to clinical characteristics, hematological parameters (AUC 0.856, $p < 0.001$, IDI 0.07, $p < 0.001$, cNRI 0.37, $p < 0.001$) were significantly better mortality predictors than hsTnI (AUC 0.818) or NT pro-BNP (AUC 0.834) alone or in combination (AUC 0.834). hsTnI and NT pro-BNP marginally increased the AUC of hematological parameters (AUC 0.865, $p = 0.049$) but did not improve prediction (IDI and cNRI non-significant).

Conclusion: Readily available hematological parameters may provide important information on mortality risk following coronary angiography. This information proved to be superior to hsTnI and/or NT pro-BNP in this population.

Endocrinologie en intermediaire stofwisseling

71. The prevalence of gestational diabetes largely increases if the WHO-1999 cut-off values of the 75-gram oral glucose tolerance test are replaced with the WHO-2013 criteria

J.J. van ZANDEN¹, B.J. SCHERING², S.H. KONING², K. HOOGENBERG³, B.H.R. WOLFFENBUTTEL², H.L. LUTGERS²

Laboratory of Clinical Chemistry¹, Certe, Medical Laboratory North, Groningen, the Netherlands, Endocrinology and Metabolism², University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands, Internal Medicine³, Martini Hospital Groningen, Groningen, the Netherlands.

Introduction: The prevalence of gestational diabetes (GDM) is rising and contributes to a growing burden to global obstetric health care. In 2013, the WHO adopted the stricter cut-off glucose values for diagnosis of GDM of the IADPSG-2010 criteria. In the Netherlands, we have used the WHO-1999 criteria for GDM so far. In this study, we evaluated the prevalence of GDM applying the currently used WHO-1999 criteria compared to the new WHO-2013 criteria.

Methods: Retrospective evaluation of blinded laboratory results of 6130 75-gram OGTTs performed between January 2011 and August 2014. Women could be referred by their midwife or gynecologist to perform an outpatient OGTT if they had risk factors for GDM or symptoms suggestive of GDM. From this database, GDM prevalence based on both WHO-1999 and WHO-2013 criteria was determined.

Results: The prevalence of GDM in this cohort was 19% using the WHO-1999 cut-off values and 30% using the WHO-2013 cut-off values (+ 58%). GDM was diagnosed solely on fasting glucose in 64% by WHO-2013 criteria contrasting to 1% by WHO-1999 cut-off values where the 2-h glucose value was the major determinant of GDM-diagnosis. Nevertheless, the raised 2-h glucose criterion in the WHO-2013 criteria results in 5% less positive tests compared to WHO-1999. Prevalence of GDM increased with maternal age.

Conclusion: Adjusting our national guideline to the new WHO-2013 criteria will result in an 1.5 fold increase in the prevalence of GDM. This will lead to a higher referral rate to secondary obstetric care, necessitating a shared-care model for obstetric and diabetes care between primary and secondary obstetric care facilities.

72. Antihypertensiva hebben geen analytische of fysiologische invloed op plasma vrije metanefrinen concentratie bepaald met LC-MS/MS

T.E. OSINGA¹, W.H.A. de JONG², I.P. KEMA², M.N. KERSTENS¹, M. van FAASSEN², R.P.F. DULLAART¹, T.P. LINKS¹, A.A. van der HORST - SCHRIVERS¹

Afdeling Endocrinologie en Metabole Ziekten¹, Afdeling laboratoriumgeneeskunde², University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands

Inleiding: De aanwezigheid van hypertensie kan het belangrijkste symptoom zijn van een feochromocytoom (PCC) of een sympathisch paraganglioom (sPGL). Patienten die al worden behandeld met antihypertensiva zijn daarom veel voorkomend bij de screening op een PCC/sPGL. Er is echter zeer weinig informatie bekend over de fysiologische invloed van antihypertensiva op de plasma metanefrinen uitslagen. Het doel van deze studie is om vast te stellen of de veel voorgeschreven antihypertensieve middelen als β -blokkers, thiazide diuretica en ACE-inhibitoren foutief verhoogde plasma vrije metanefrinen concentraties veroorzaken, wanneer gemeten met LC-MS/MS. **Methode:** Patienten met nieuw gediagnosticeerde hypertensie, bij wie monotherapie van een antihypertensiva (i.e. β -blokker, thiazide diureticum of ACE inhibitor) wordt voorgeschreven, zijn geïncludeerd bij huisartsenpraktijken en bij de polikliniek endocrinologie. Plasma vrije metanefrine (MN) en normmetane frine (NMN) concentraties zijn bepaald voorafgaand aan de medicatie en een maand na behandeling.

Resultaat: Tussen 2009-2014 zijn 39 patienten geïncludeerd (β -blokker n=13, thiazide diureticum n=14 and ACE inhibitor n=12). In de gehele groep waren basislijn mediane plasma vrije MN en NMN concentraties resp. 0.19 [0.17-0.26] nmol/L en 0.56 [0.38-0.95] nmol/L. Na een maand behandeling met een antihypertensivum waren mediane plasma vrije MN en NMN concentraties resp. 0.20 [0.16-0.20] nmol/L en 0.63 [0.39-0.63] nmol/L. Er was geen significant verschil tussen deze twee tijdstippen. Ook was er geen significant verschil in de mediane plasma vrije MN en NMN concentraties voor en na behandeling met de afzonderlijke medicatie.

Conclusie: Onthouding van antihypertensieve medicatie (β -blokkers, thiazide diuretica of ACE inhibitors) voorafgaand aan bloedafname voor de bepaling van plasma vrije MN en NMN is niet nodig wanneer gebruik wordt gemaakt van LC-MS/MS. Er is geen analytische of fysiologisch interferentie van deze medicatie.

73. How to perform pregnancy diabetes screening correctly

S.A.A. van den BERG¹, M.J.M. de GROOT², L.P.W. SALDEN¹, P.J.G.J. DRAAD¹, I.M. DIJKSTRA³, S. LUNSHOF⁴, S.W. van THIEL⁵, K.J.M. BOONEN¹, M.H.M. THELEN¹

Department of clinical chemistry and hematology, Amphia ziekenhuis¹, Breda, The Netherlands, Department of clinical chemistry and hematology, Elisabeth-TweeSteden ziekenhuis², Tilburg, The Netherlands, Department of clinical chemistry, Sint Antonius ziekenhuis³, Nieuwegein, The Netherlands, Department of gynaecology, Amphia ziekenhuis⁴, Breda, The Netherlands, department of internal medicine, Amphia ziekenhuis⁵, Breda, The Netherlands

Introduction: Pregnancy diabetes (GDM) is diagnosed in thousands of women yearly, and is associated with increased morbidity/mortality. The update of GDM guidelines has sparked debate due to the prescribed laboratory protocol (1), demanding a TAT of less than 5 minutes, cooling of tubes in ice and immediate freezing or measurement of plasma after centrifugation to minimize glycolysis. Deviation from these procedures likely results in underdiagnosis.

Methods: We present a validation track comprising inventarisation of current Dutch laboratory procedures (2), subsequent technical (3) and finally, clinical validation (4) of a valid method for GDM screening.

Results: All participating laboratories (n=25) used the cut-off values of the NIV/NVOG guidelines but <5% followed the correct protocol (2). The average protocol results in an underestimation of glucose by ~0.3-0.4 mM, mostly due to inadequate phlebotomy material and/or long TAT. We first perfor-

med a technical validation of phlebotomy material containing buffered citrate. Glucose levels were stable, and did not deviate from results obtained using the prescribed procedures, even with a TAT of two hours (2). Clinical validation performed in 50 pregnant women, revealed 100% identical laboratory and clinical outcome (4).

Conclusion: Dutch laboratories commonly employ GDM screening cut-off values without following the prescribed or compatible procedures, resulting in false negative diagnoses. A protocol based on buffered citrate tubes results in 100% identical diagnoses, without the need to adapt current procedure characteristics such as TAT.

Literature: 1. van den Berg S et al. Clin Chem Lab Med. 2016; ahead-of-print. 2. van den Berg S et al. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk. 2015;40:68. 3. van den Berg S et al. Sci Rep. 2015;5:8875. 4. van den Berg S et al. Sci Rep. 2015;5:16302.

74. Chronic Sheehan syndrome: havoc in disguise

R.E.A. MUSSON, A. van de WIEL, A.Y. DEMIR
Meander Medisch Centrum, Amersfoort, The Netherlands

Introduction: In contrast to acute Sheehan syndrome, which may manifest with sudden circulatory failure, hyponatremia, and hypoglycemia, chronic Sheehan syndrome is characterized by pituitary inadequacy resulting in a broad range of vague and aspecific clinical symptoms that may gradually progress for decades until a diagnosis is established, although it is in essence a potentially dangerous condition.

Methods: We describe a female 53-year old patient, monitored by her GP because of combined dyslipidemia that proved difficult to manage with statins, and unexplained CK levels invariably around 700 IU/L (30-170), even before statin therapy. Clinical complaints were limited to increased leg fatigability. Apart from a slightly reduced eGFR no other lab abnormalities were present. After referral to an internal medicine consultant, it was found that, although TSH was again well within reference range, FT4 was <6 pM. Analytical interference in the TSH assay was excluded; FT4 values were confirmed by dialysis.

When the patient mentioned having received massive transfusion after postpartum hemorrhagic shock 20 years earlier, her pituitary functions were tested. Cortisol concentration was <0.02 uM, LH 2 IU/L, FSH 8 IU/L, E2 <0.04 nM, IGF-1 10 ng/mL (74-242), PRL 0.1 U/L, which all points at panhypopituitarism, likely due to pituitary ischemia. Diagnosis was confirmed by MRI, revealing a virtually empty sella turcica.

Results: After treatment with hydrocortisone, followed by thyroxine supplementation, the patient experienced a spectacular boost in energy levels, and her CK-value and lipid profile returned to normal.

Conclusion: An ill-understood constellation of seemingly unrelated aberrant lab values in the context of a relevant patient history should prompt for closer inspection of pituitary axes, even if screening TSH-values are within reference range and clinical symptoms are very mild.

75. Plausibility check for thyroid function test results

M.M.G.J. van BORREN^{1*}, N. TEL - KARTHAUS^{2*}, R.W. WULKAN⁵, M. van der HORST⁴, P. van 't SANT³, S.C. ENDENBURG⁷, R. VANDERLOO², L. KEMINK², H. de BOER⁴, G.C.M. KUSTERS³

Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology¹ and Department of Internal Medicine², Rijnstate Hospital, Arnhem, The Netherlands. Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology³ and Department of Internal Medicine⁴, Jeroen Bosch Hospital, 's Hertogenbosch, The Netherlands. Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology⁵, Maastad Hospital, Rotterdam, The Netherlands. Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology⁶, Scheper Hospital, Emmen, The Netherlands. Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology⁷, Hospital Gelderse Vallei, Ede, The Netherlands.

* equally contributed first author

Introduction: To date the plausibility check for thyroid function tests still depends on expertise of individuals. In this study we examined the concordance of this plausibility check for thyrotropin (TSH) and free thyroxine (fT4) combinations among internists and clinical chemists and compared the results with our newly developed plausibility algorithm in recovering known and new discordant TSH-fT4 samples.

Methods: An anonymous questioner was used to examine con-

cordance, in judging plausibility of 18 TSH-fT4 combinations, among internists (n=34) and clinical chemists (n=46). A combination was considered plausible (concordant) if our plausibility algorithm, based on >10.000 (patho)physiological TSH-fT4 combinations (CobasE170 (Roche) or Dimension Vista (Siemens)), indicated that the product of TSH times fT4 was within the 99th percentile for the associated TSH. The plausibility algorithm, describing the 99th percentile of the TSH/

TSH*fT4 relation, was used to recover known or identify new discordant samples. Discordant samples were re-examined on another platform.

Results: According to the anonymous questioner internists and clinical chemists were able to correctly classify 77% concordant and only 55% discordant TSH-fT4 combinations. In contrast, using our plausibility algorithms we recovered 100% of 40 published discordant TSH-fT4 combinations, caused by e.g. Human-anti-mouse antibodies (n=7), ruthenium antibodies (n=1), T4 antibodies (n=1), heparin (n=4), amiodarone (n=3),

and lithium (n=2), and 100% of our own collected discordant samples (n=3 Roche; n=28 Siemens). Moreover, when this algorithm was used prospectively for one month on TSH-fT4 combinations (Roche), we identified 4 new patients with platform specific interference.

Conclusion: The proposed objective plausibility check based on the 99th percentile of TSH/TSH*fT4 relation offers a robust method to identify discordant samples and is superior to a subjective expert panel of internists and clinical chemists.

76. Reference values for plasma aldosterone and aldosterone-renin ratios in normotensive individuals using LC-MS/MS

M. van FAASSEN¹, M.N. KERSTENS², W.H.A. de JONG¹, A.C. MULLER - KOBOLD¹, I.P. KEMA¹
Departments of Laboratory Medicine¹ and Endocrinology², University of Groningen, University Medical Center Groningen, the Netherlands.

Introduction: Determination of plasma aldosterone and especially of the aldosterone-renin ratio in blood (ARR) are widely used as a screening test for primary aldosteronism, hence accurate measurement is of importance. We therefore developed and validated an isotope dilution liquid chromatography mass spectrometric (LC-MS/MS) assay for aldosterone in plasma. New reference values for plasma aldosterone were established in a normotensive population

Methods: Participants were normotensive healthy controls (blood pressure <140/90 mmHg) aged 20-70 years. Subjects were stratified according to gender and age into five consecutive decade groups with 10 males and 10 females per decade group. Blood samples were drawn between 0900 and 1100 AM with the participant in the sitting position after 10 min of rest. Plasma renin concentration (PRC) was measured with an immunoradiometric renin assay (Renin III Generation[®];Cisbio). Interassay imprecision was < 14 % and

limit of quantitation (LOQ) was 1.0 ng/L. Aldosterone was analyzed by an in-house developed assay using Supported Liquid Extraction in combination with online SPE and LC-MS/MS. Interassay imprecision was < 6% and LOQ 20 pmol/L. Total run time was 6.0 minutes. Reference intervals were defined as the central 95% of the population.

Results: 97 normotensive participants were included with a median age of 45 years (IQR, 31-57 years). Median urinary sodium excretion was 164 mmol/24h (124-208). This resulted in the following reference intervals: plasma aldosterone, 45-859 pmol/L, and ARR, 3.65-80.6 pmol/ng.

Conclusion: The presented reference values for plasma aldosterone and ARR will replace values obtained with the immunochemical method. The newly developed LC-MS/MS method for aldosterone enables automated high throughput sample handling thus ensuring efficient, accurate and reproducible measurement.

77. Plasma total testosterone, dihydrotestosterone and DHT/T ratio in healthy individuals from the Lifelines cohort study population

M. van FAASSEN¹, A. van der VEEN¹, W.H.A. de JONG¹, M.N. KERSTENS², I.P. KEMA¹
Departments of Laboratory Medicine¹ and Endocrinology², University of Groningen, University Medical Center Groningen, the Netherlands.

Introduction: Isotope dilution mass spectrometry has established itself as the technique of choice for hormone measurement. Recently, in our laboratory an isotope dilution mass spectrometric method was developed and validated for the simultaneous analysis of six steroids: progesterone, 17-OH-progesterone, dehydroepiandrosterone, androstenedione, testosterone (T) and dihydrotestosterone (DHT). Here we present the results from an age- and gender-specific reference interval study for plasma total T, DHT and the DHT/T ratio.

Methods: Apparently healthy individuals (n=240; male-to-female ratio 1:1) from the Lifelines cohort aged 20-80 years were included, stratified with 10 males and 10 females per age decade group. Plasma samples were analyzed by online SPE coupled to LC-MS/MS. Interassay CVs were <3.2%, 9.2% for T and DHT, respectively. The limit of quantification (LOQ) for total T and DHT was 0.04 and 0.1 nmol/L, respectively.

Reference intervals were defined as the central 95% of the population. Differences in T, DHT and DHT/T ratio levels between the age decades were compared using the Kruskal-Wallis test (Bonferroni corrected).

Results: The 2.5-97.5th percentiles for T were 11-35 nmol/L in men, 0.32-2.0 nmol/L in women. For DHT, the 2.5-97.5th percentiles were 0.94-3.4 nmol/L in men, and 0.1-0.80 nmol/L in women. The 2.5-97.5th percentiles for the DHT/T ratio in men were 0.06-0.14 and in women 0.03-0.79. Only in women significant differences between age decades were found for DHT and DHT/T ratio.

Conclusion: We here report reference intervals for plasma total T, DHT and the DHT/T ratio, determined using an extensively validated LC-MS/MS procedure. We found a significant difference between age decades for DHT and DHT/T ratio in women, but not in men.

78. Effect of postponing puberty and cross-sex hormone therapy on bone turnover markers and BMAD in transgender adolescents

M.C. VLO^{1,2,3}, D.T. KLINK^{3,4}, M. den HEIJER^{2,3}, M.A. BLANKENSTEIN¹, J. ROTTEVEEL^{3,4}, A.C. HEIJBOER¹
Department of Clinical Chemistry¹, Endocrine Laboratory, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands. Department of Internal Medicine², section Endocrinology, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands. Center of Expertise on Gender Dysphoria³, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands. Department of Pediatric Endocrinology⁴, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: Puberty is important for the accumulation of bone mass. Postponing puberty by gonadotrophin-releasing hormone analogues (GnRHa), followed by treatment with cross-sex hormone therapy (CSHT) in transgender adolescents can therefore affect bone turnover markers (BTMs) and bone mineral apparent density (BMAD). Our goal was to investigate the effect of GnRHa and CSHT on BTMs and BMAD during puberty in transgender adolescents.

Methods: 34 Female-to-males (FtMs) and 22 male-to-females (MtFs) were divided into a young and old pubertal group, based on the bone age of 14 years in FtMs and 15 years in MtFs. All patients received the GnRHa triptorelin 3.75 mg every 4 weeks (D0). CSHT was prescribed in incremental doses from the age of 16 years (C0). FtMs received testosterone ester mixture and MtFs were treated with 17- estradiol. Bone formation markers PINP and osteocalcin and bone resorption marker ICTP were

measured at D0, C0 and C24 (24 months after C0). Also, BMD of lumbar spine and hip were measured by DEXA and BMAD and Z-scores were calculated according to natal sex.

Results: PINP and ICTP decreased during GnRHa treatment (D0-C0), indicating decreased bone turnover and remained low during CSHT (C0-C24). The highest levels of BTMs were observed in the groups of young patients and in general the MtFs. During GnRHa treatment (D0-C0) BMAD Z-scores of spine and hip either did not change or decreased. During CSHT (C0-C24) BMAD Z-scores increased especially in the spine region. Low BMAD Z-score was more often observed in the MtFs.

Conclusion: Changes in BMAD and Z-scores as a result of treatment with GnRHa and CSHT are not reflected by BTMs. Therefore, DEXA scans remain important in follow-up of transgender adolescents.

79. Subclinical hypothyroidism: a 'laboratory-induced' condition?

K.L.M. COENE¹, A.Y. DEMIR², M.A.C. BROEREN³, P. VERSCHUURE⁴, E.G.W.M. LENTJES⁵, A.K. BOER¹
Clinical Laboratory, Catharina Hospital¹, Eindhoven, The Netherlands, Clinical Laboratory, Meander Medical Centre², Amersfoort, The Netherlands, Clinical Laboratory, Maxima Medical Centre³, Veldhoven, The Netherlands, Clinical Laboratory, Sint Anna Hospital⁴, Geldrop, The Netherlands, Clinical Laboratory, University Medical Centre Utrecht⁵, Utrecht, The Netherlands

Introduction: In current literature and guidelines there is a tendency to define absolute thyroid stimulating hormone (TSH) concentrations at which patient follow-up or even pharmaceutical intervention should be initiated. As TSH concentrations depend on the analytical method/platform used for TSH quantification, absolute cut-off values may pose threats for uniform clinical decision making. In this study we therefore set out to clarify to what extent the method/platform and the reference values applied for TSH influence the clinical interpretation of thyroid parameters.

Methods: We retrospectively analyzed anonymous TSH results from the Dutch external quality assessment program in relation to reference values advised by different manufacturers. We also examined TSH/free thyroxin (fT4) reference ranges and prevalence of thyroid pathology among different Dutch laboratories, including four cases in which a switch in measuring platform was made.

Results: Our data show that interpretation of thyroid parameters is not only influenced by between-method/platform variation, but is also substantially affected by the variation in TSH/fT4 reference intervals applied by individual laboratories. Additionally, we show that the transition to a novel analytical method/platform can result in a shift in the prevalence of thyroid pathology. Especially subclinical hypothyroidism stands out as a potentially 'laboratory-induced' condition. This is an undesirable situation, regarding the clinical implications such a diagnosis can have for patients.

Conclusion: In conclusion, our study emphasizes the need for (inter)national harmonization/standardization programs for correct clinical interpretation of the thyroid biomarkers TSH and fT4. Before the standardization of clinical management of subclinical thyroid disorders can be successful, harmonization on a laboratory level is required first.

80. Cortisol in speeksel uitgevoerd met de nieuwe generatie Elecsys Cortisol II assay van Roche: vergelijking met een LC-MS/MS methode

M.A.C. BROEREN¹, K.Y. DORST - LAGENWERF², Y.B. de RIJKE^{2,3}
Laboratorium voor klinische chemie en hematologie¹, Máxima Medisch Centrum, Veldhoven; Afdeling Inwendige Geneeskunde², Diagnostisch Laboratorium Endocrinologie, Erasmus MC, Rotterdam; Afdeling Klinische Chemie³, Erasmus MC, Rotterdam

Inleiding: De analyse van midnight cortisol in speeksel is een belangrijke test in de diagnostiek van hypercortisolisme. Cortisol in speeksel kan worden bepaald met immunoassays of LC-MS/MS. Immunoassays zijn eenvoudig uitvoerbaar maar kennen kruisreactiviteit. LC-MS/MS kent dit probleem niet maar is niet beschikbaar in elk laboratorium. Roche heeft een 2e generatie cortisol assay geïntroduceerd voor serum en speeksel. In deze studie is onderzocht welke cutoff toepasbaar is voor het vaststellen van hypercortisolisme in speeksel met de Roche Elecsys cortisol II assay door uitslagen te vergelijken met LC-MS/MS.

Methode: Bij 25 midnight speekselmonsters van gezonde vrijwilligers en 36 midnight speekselmonsters van patiënten met verdenking op hypercortisolisme is cortisol in speeksel bepaald met de Roche assay en LC-MS/MS (Waters, Xevo TQ-S). Alle speekselmonsters zijn afgenomen tussen 22.00 uur en 02.00 uur m.b.v. het Salivette afnamesysteem.

Resultaat: Passing&Bablok regressie analyse gaf $y=1,33*x+0,62$ (y =Roche, x =LC-MS/MS; 95% C.I.: asafsnede 0,53 - 0,70 nmol/l, richtingscoëfficiënt 1,21 - 1,47, $R_s=0,94$). Van 27 samples was de cortisolconcentratie lager dan de detectielimiet van beide analysetechnieken (LLoD: Roche: 1,5 nmol/l, LC-MS/MS: 0,66 nmol/l). Op basis van een cutoff van 2.8 nmol/l met LC-MS/MS waarbij alle patiënten correct werden geïdentificeerd wordt een cutoff van 4.3 nmol/l (95% C.I. 4,0 - 4,7 nmol/l) vastgesteld voor de Roche assay.

Conclusie: Er wordt een goede correlatie gevonden tussen midnight speekselcortisol bepaald met de Roche Elecsys cortisol II assay en LC-MS/MS. De cutoff voor diagnostiek naar hypercortisolisme wordt vastgesteld op 4,3 nmol/l, hetgeen lager ligt dan het door Roche vastgestelde 95ste percentiel van normaal (7,6 nmol/l).

81. Vierdaagse studie: vitamine D status van de wandelaars

M. BALVERS¹, D. ten HAAF², I. VELDHUIZEN², T. EIJSVOGELS², M. HOPMAN², J. KLEIN GUNNEWIEK¹
Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Ziekenhuis Gelderse Vallei¹, Ede; afdeling Fysiologie Radboudumc², Nijmegen

Inleiding: Diverse studies geven aan dat in de verschillende leeftijdsgroepen sprake is van een tekort aan vitamine D (1, 2). Dit wordt mede veroorzaakt door verminderde blootstelling aan zonlicht, veroudering van de huid en verminderde inname via voeding (o.a. vette vis). Het doel van deze studie is het in kaart brengen van de vitamine D waarden bij actieve gezonde vrijwilligers die zich hebben voorbereid op de Nijmeegse Vierdaagse 2015.

Methode: Bij 1061 deelnemers aan de Nijmeegse Vierdaagse is bloed (serum) afgenomen voor analyse van de vitamine 25(OH)D₃ concentratie met HPLC (Chromsystems Instruments & Chemicals, Gräfelfing, Duitsland). Daarnaast hebben de vrijwilligers een vragenlijst ingevuld waarin trainingsuren en gebruik van supplementen zijn uitgevraagd. Statistische analyses zijn uitgevoerd met SPSS (v22.0).

Resultaat: De gemiddelde vitamine D concentratie is 90,8 nmol/L (bereik 20-218 nmol/L). 78,9% heeft waarden boven 75 nmol/L en 3,1% onder 50 nmol/L. De gemiddelde concentratie bij vrouwen is hoger dan bij mannen: 93 nmol/L vs. 89 nmol/L (p=0,009). Statistisch significante correlaties (p<0,05) worden gevonden tussen de vitamine D concentratie en 1) leeftijd bij mannen; 2) aantal trainingsuren bij vrouwen. Een significante omgekeerde correlatie (p<0,05) wordt gevonden tussen vitamine D en body mass index (BMI). Echter, de correlatie coëfficiënten zijn laag.

Conclusie: Deelnemers aan de Vierdaagse hebben gemiddeld hoge vitamine D concentraties. Er bestaat een zwakke correlatie tussen vitamine D waarden en leeftijd, trainingsuren en BMI.

Literatuur: 1. Ahmed SF et al. Arch Dis Child 2011; 96, 694. 2. Boonman-de Winter LJ et al. Ned Tijdschr Geneesk 2015; 159: A8167.

Bloedvorming, bloedstolling, transfusie

82. Fluctuerende trombocytopenie bij koorts

K. van den HURK¹, J. VEENSTRA², H.A. HENDRIKS¹
Klinisch Laboratorium¹ en Interne Geneeskunde², OLVG locatie west, Amsterdam

Inleiding: Een 80-jarige man werd opgenomen op de afdeling interne geneeskunde van ons ziekenhuis in verband met gramnegatieve urosepsis waarvoor gestart werd met intraveneus ceftriaxon. Gedurende de opname ontwikkelde de patiënt een fluctuerende diepe trombocytopenie (variërend van 5-40 E09/l) waarvan de etiologie verder werd onderzocht.

Methode: Trombocyten werden bepaald in EDTA-volbloed en citraat op een hematologie-analyzer (XE-5000, Sysmex) met zowel de impedantie als optische methode. Stollingsparameters (aPTT, PT, D-dimeer, fibrinogeen) werden bepaald op de CA-1500 (Sysmex).

Resultaat: De uitslagen uit EDTA en citraat waren vergelijkbaar en sloten een pseudotrombocytopenie uit. De trombocytopenie werd in eerste instantie geduid bij diffuse intravasale stolling (DIS) bij urosepsis. Een verlengde aPTT (35 sec) en PT (37,3 sec) gecombineerd met een verhoogd D-dimeer (1729 µg/l) onderschreven deze diagnose. Echter, een verhoogd fibrinogeen (4,2 g/l) en het niet herstellen van het trombocytenaan-

tal bij het verbeteren van de sepsis maakte de diagnose DIS onwaarschijnlijk. Een tijdlijn met de verschillende trombocyten uitslagen in relatie tot therapeutische details indiceerde dat de trombocytopenie altijd het diepst was na toediening van ceftriaxon en licht herstelde gedurende de rest van de dag. Omzetten van ceftriaxon naar orale ciprofloxacine leidde tot snel herstel van het trombocytenaantal, bewijzend voor een ceftriaxon-geïnduceerde trombocytopenie.

Conclusie: Bij een onverwachte, ernstige trombocytopenie dient een medicijn-geïnduceerde trombocytopenie overwogen te worden. Hierbij binden medicatie-geïnduceerde antilichamen aan trombocyt antigenen waardoor deze versneld worden afgebroken. In veel gevallen wordt de etiologie van een medicatie-geïnduceerde trombocytopenie echter niet meteen herkend en wordt de trombocytopenie toegeschreven aan andere complicaties zoals sepsis. Daarom is het belangrijk dat het klinische beeld herkend wordt en bekend is welke medicatie geassocieerd is met trombocytopenie.

83. Prospective comparison of age adjusted and conventional D-dimer values to predict the need for further thrombosis diagnostics in suspected DVT

K. BROEN¹, B. SCHOLTES², R. VOSSEN¹
Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology¹, Department of Internal Medicine², Zuyderland Medical Center, Sittard-Geleen, The Netherlands

Introduction: Negative D-dimer values combined with clinical decision rules by Wells can help in excluding the diagnosis deep vein thrombosis (DVT). However, with increasing age D-dimer levels increase, possibly leading to false positive results.

Methods: In this prospective study we compared the specificity and sensitivity of conventional D-dimer levels and age adjusted D-dimer levels in the diagnosis of DVT. We included 528 patients, all over 50 years of age, of whom 117 had a DVT confirmed by duplex ultrasound.

Results: Age adjusted D-dimer values have a higher specificity (24.6% vs. 8.5%) as well as a higher negative predictive value (91.8% vs. 89.7%) making it more suitable to rule out DVT

when using D-dimer as a primary diagnostic tool. In our cohort 4.3 conventional D-dimer positive patients had to undergo duplex ultrasound to find 1 patient that suffered from DVT. The use of duplex ultrasound as a secondary diagnostic tool could improve when using an age adjusted D-dimer in this patient cohort over 50 years of age. In the age adjusted D-dimer positive group 3.9 patients would have to undergo duplex ultrasound to find 1 patient that suffers from DVT.

Conclusion: We conclude that age adjusted D-dimer levels could be used to exclude the diagnosis of DVT. Ultimately this could lead to the performance of less duplex ultrasounds reducing health care costs and discomfort for the patient.

84. Gevoeligheid van discriminante formules voor thalassemie type in patienten met microcytaire anemie

J.J.M.L. HOFFMANN¹, E. URRECHAGA²

Medical and Scientific Affairs Hematology¹, Abbott Diagnostics, Wiesbaden-Delkenheim, Duitsland; Hematologie Laboratorium², Hospital de Galdakao-Usansolo, Galdakao, Spanje

Inleiding: Gepubliceerde discriminante formules (DF) om bij patienten met microcytaire anemie thalassemie trait te onderscheiden van ijzergebrek lijken beter bruikbaar voor beta- dan for alpha-thalassemie. Echter, hier is geen systematisch onderzoek naar gedaan. Derhalve hebben wij een groot aantal eenvoudige DF onderzocht in een grote populatie patienten met alpha-, dan wel beta-thalassemie.

Methode: De onderzoekspopulatie bestond uit 1269 patienten met thalassemie trait: 361 hadden alpha-thalassemie en 908 beta-thalassemie. Daarnaast waren er 1259 patienten met ijzergebrek, 53 met andere microcytaire aandoeningen. Wij onderzochten 25 DF die alleen gebruik maken van simpele hematologische parameters die in alle apparatuur beschikbaar is; DF met bijzondere parameters bleven buiten beschouwing. De diagnostische prestaties werden met ROC analyse onderzocht.

Resultaat: Alle DF konden beta-thalassemie significant beter van ijzergebrek onderscheiden dan alpha-thalassemie. De 5

beste DF (Nishad, Sehgal, Kerman-1 en Kerman-2, Ehsani) hadden een AUC 0,932-0,942 voor beta-thalassemie en slechts 0,698-0,717 voor alpha-thalassemie (Makris, Bessman, Huber & Herklotz, Sirachainan, Ricerca). Wanneer de DF werden toegepast op uitsluitend thalassemie patienten om te differentiëren naar type, kwam een zeer gevarieerd beeld naar voren. De hoogste AUC (rond 0,89) werd gezien bij de Nishad, Bordbar en Shine & Lal DF. Sommige DF (Huber & Herklotz, Green & King, Ricerca) hadden een zeer hoge sensitiviteit, terwijl andere DF (MCHC en MCHD) juist een hoge specificiteit lieten zien.

Conclusie: Onze resultaten tonen aan dat alle DF zonder uitzondering minder gevoelig zijn om het onderscheid tussen alpha-thalassemie en ijzergebrek te maken dan tussen beta-thalassemie en ijzergebrek. Dit kan verklaard worden doordat sommige patienten met alpha-thalassemie slechts milde of helemaal geen afwijkende erythrocytenparameters hebben.

85. Evaluatie van discriminante formules om thalassemie te onderscheiden van ijzergebrek bij patienten met microcytaire anemie

J.J.M.L. HOFFMANN¹, E. URRECHAGA²

Medical and Scientific Affairs Hematology¹, Abbott Diagnostics, Wiesbaden-Delkenheim, Duitsland; Hematologie Laboratorium², Hospital de Galdakao-Usansolo, Galdakao, Spanje

Inleiding: Er bestaan meer dan 40 discriminante formules (DF) om bij patienten met microcytaire anemie thalassemie trait te onderscheiden van ijzergebrek. Van diverse DF is nooit een onafhankelijke verificatie beschreven. Daarom hebben wij alle eenvoudige DF onderzocht in een grote populatie patienten met microcytaire anemie.

Methode: De onderzoekspopulatie bestond uit 2581 patienten met microcytaire anemie: 1259 hadden ijzergebrek, 1269 thalassemie trait (908 beta en 361 alpha) en 53 andere aandoeningen. Wij onderzochten 25 DF die alleen gebruik maken van hematologische parameters die in alle apparatuur beschikbaar is; DF met bijzondere parameters bleven buiten beschouwing. De diagnostische prestaties werden met ROC analyse onderzocht

Resultaat: De twee best presterende DF waren de Green & King en de Keikhaei formules (AUC 0,958 en 0,954 en Youden index 0,810 en 0,806 respectievelijk). De sensitiviteit en specificiteit voor detectie van thalassemie waren ongeveer 90%.

Het verschil tussen deze twee DF was statistisch niet significant ($P=0,094$). Ook de DF van Wongprachum, Sehgal, Ehasani, Mentzer, Sirdah, DasGupta en Kerman presteerden redelijk goed, maar statistisch significant minder dan de Green & King en Keikhaei formules. De verschillen tussen al deze DF waren klein. De bekende DF van Srivastava, England & Fraser en Shine & Lal vertoonden duidelijk minder diagnostische bruikbaarheid. In alle gevallen vonden wij een andere optimale afkapwaarde dan in de oorspronkelijke publicatie.

Conclusie: De verschillen in diagnostische prestatie tussen de 9 beste DF waren gering. Ondanks dat de Green & King en Keikhaei DF als beste scoorden, zijn hun sensitiviteit en specificiteit niet hoog genoeg voor een definitieve thalassemie diagnose. Maar in landen met beperkte middelen zijn deze DF wel geschikt om patienten te identificeren die vrijwel zeker baat hebben bij behandeling met ijzer.

86. Survival protein anoctamin-6 controls multiple platelet responses including phospholipid scrambling, swelling, and protein cleavage

N.J.A. MATTHEIJ¹, A. BRAUN², R. van KRUCHTEN¹, E. CASTOLDI¹, J. PIRCHER³, C.C.F.M.J. BAATEN¹, M. WÜLLING⁴, M.J.E. KUIJPERS¹, R. KÖHLER⁵, A.W. POOLE⁶, R. SCHREIBER⁷, A. VORTKAMP⁴, P.W. COLLINS⁸, B. NIESWANDT², K. KUNZELMANN⁷, J.M.E.M. COSEMANS¹, J.W.M. HEEMSKERK¹

Department of Cell Biochemistry of Thrombosis and Haemostasis Biochemistry¹, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), University of Maastricht, Maastricht, The Netherlands; Department of Experimental Biomedicine², University Hospital and Rudolf Virchow Center, University of Würzburg, Würzburg, Germany Walter Brendel Centre of Experimental Medicine and German Centre of Cardiovascular Research³, Munich Heart Alliance, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Germany; Department of Developmental Biology, Centre for Medical Biotechnology⁴, University of Duisburg-Essen, Duisburg-Essen, Germany; Aragon Institute of Health Sciences I+CS/IIS and ARAID⁵, Zaragoza, Spain; School of Physiology and Pharmacology⁶, University of Bristol, Bristol, United Kingdom; Institute of Physiology⁷, University of Regensburg, Regensburg, Germany; Arthur Bloom Haemophilia Centre⁸, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom

Introduction: Scott syndrome is a rare bleeding disorder, characterized by altered Ca²⁺-dependent platelet signaling with defective phosphatidylserine (PS) exposure and microparticle formation, and is linked to mutations in the ANO6 gene, encoding anoctamin (Ano)6. We investigated how

the complex platelet phenotype of this syndrome is linked to defective expression of Anos or other ion channels.

Methods: Mice were generated with heterozygous or homozygous deficiency in Ano6, Ano1, or Ca²⁺-dependent KCa3.1 Gardos channel. Platelets from these mice were

extensively analyzed on molecular functions and compared with platelets from a patient with Scott syndrome.

Results: Deficiency in Anol or Gardos channel did not reduce platelet responses compared with control mice ($P > 0.1$). In 2 mouse strains, deficiency in Ano6 resulted in reduced viability with increased bleeding time to 28.6 min (control 6.4 min, $P < 0.05$). Platelets from the surviving Ano6-deficient mice resembled platelets from patients with Scott syndrome in:

1) normal collagen-induced aggregate formation ($P > 0.05$) with reduced PS exposure (± 65 to 90%); 2) lowered Ca²⁺-dependent swelling ($\pm 80\%$) and membrane blebbing ($\pm 90\%$); 3) reduced calpain-dependent protein cleavage ($\pm 60\%$); and 4) moderately affected apoptosis-dependent PS exposure.

Conclusion: In conclusion, mouse deficiency of Ano6 but not of other channels affects viability and phenocopies the complex changes in platelets from hemostatically impaired patients with Scott syndrome.

87. Scott syndrome platelets show alterations in protein expression levels, calcium-dependent phosphorylation and cleavage as revealed by proteomics

N.J.A. MATTHEIJ¹, F. SOLARI², J. BURKHART², F. SWIERINGA¹, P.W. COLLINS³, J.M.E.M. COSEMANS¹, A. SICKMANN², R. ZAHEDI², J.W.M. HEEMSKERK¹

Department of Biochemistry¹, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht University, Maastricht, The Netherlands; Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften-ISAS-e.V.², Dortmund, Germany; Arthur Bloom Haemophilia Centre³, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom

Introduction: The Scott syndrome is a rare bleeding disorder with a mutation in the transmembrane protein, anoctamin-6. Blood cells from Scott patients are impaired in Ca²⁺-dependent phosphatidylserine exposure, ion conductance, membrane blebbing and microparticle formation. We hypothesized that altered post-translational protein modifications are responsible for this complex phenotype.

Methods: Platelets from healthy control donors and a Scott patient were activated with the Ca²⁺-mobilizing agents, convulxin/thrombin or ionomycin. Samples were used for advanced quantitative (phospho)proteomics and determination of neo-N-terminal protein cleavage sites.

Results: Quantitative proteomics analysis indicated 109 upregulated and 78 down regulated proteins in Scott platelets when compared to controls. Increased in the patient platelets were transcription factors; decreased were anoctamin-6, metabolic enzymes, Ca²⁺-dependent proteases (calpain-2, presequence protease) and Ca²⁺-binding proteins (S100-A9, grancalcin).

Phosphorylation analysis indicated >2200 different phospho-sites which after thrombin stimulation overlapped (99.3%) between patient and control platelets. With Ca²⁺-mobilizing agonists, the overlap reduced to 81%. Strongly activated Scott platelets displayed more frequently increased than decreased phosphorylation sites. The most altered phosphorylated proteins of Scott platelets were assigned to actin/tubulin cytoskeleton (28%), adhesion (22%), signaling/adaptor proteins (24%) and receptor-linked cytoskeleton (8%). Cleavage sites were detected of 818 proteins. Diminished in Scott platelets were the calpain substrates, caldesmon, calpain-1, talin-1, Src and VASP. Western blotting confirmed reduced calpain-mediated cleavage in the activated Scott platelets.

Conclusion: Advanced proteomic profiling provides novel insight into the altered protein machinery responsible for the major Ca²⁺- and cytoskeleton-dependent membrane defects in Scott syndrome.

88. Overgang van Q-plasma naar Omniplasma: effectiviteit van een pragmatische klinische strategie

A.J. de GRAAF, R.W.L.M. NIESSEN

Medlon B.V., Klinisch Chemisch Laboratorium (locaties ZGT-Almelo, ZGT-Hengelo en MST-Enschede)

Inleiding: In 2015 is landelijk Omniplasma (OP) ingevoerd als opvolger van quarantaineplasma (FFP). Een eenheid OP bevat minder plasma en bevat absoluut gezien minder stoffactoren. In de Ziekenhuisgroep Twente (ZGT) werd als beleid afgesproken om initieel hiervoor niet te corrigeren, maar evenveel eenheden OP toe te dienen als voorheen eenheden FFP. Op geleide van de APTT en/of PT werden eventueel meer eenheden toegediend. Wij onderzochten de effectiviteit van deze strategie op basis van de APTT- en/of PT transfusie-náwaarden.

Methode: Alle plasmatransfusies (OP en FFP) in ZGT in de periode 1 januari 2014 t/m 27 oktober 2015 werden onderzocht. Geïnccludeerd werden transfusies welke in totaal niet langer dan 24h duurden en waarvan binnen 3d na afloop een APTT en/of PT bekend was.

Resultaat: In de onderzochte periode werden in ZGT 297 eenheden OP en 172 eenheden FFP getransfundeerd, variërend van 1 tot 8 eenheden per transfusie. Opvallend was dat het gemiddeld aantal getransfundeerde eenheden per transfusie niet significant veranderde na de overgang van FFP naar OP (van 2,2 naar 2,5). Er was ook geen significante toename in de gemiddelde stollingstijden na transfusie (APTT van 34,4s naar 34,6s; PT van 15,9s naar 17,0s).

Conclusie: Op basis van deze resultaten lijkt een pragmatisch beleid (eenheid-voor-eenheid substitutie) voor de overgang van FFP naar OP gerechtvaardigd aangezien het niet leidt tot een klinisch relevante verslechtering van stollingstijden na transfusie.

89. Trombin generation in kidney dialysis patients

R. van HORSSSEN^{1*}, D.L. ADAMS^{2*}, R. KREMERS³, H.C. HEMKER³, E.M. van WIJK¹, B. de LAAT³, P.L. RENSMAN²
*Department of Clinical Chemistry¹, Laboratory for Clinical Chemistry and Hematology and Department of Interne Medicine², Elisabeth-TweeSteden Hospital, Tilburg, The Netherlands. Synapse Research Institute³, CARIM, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands.*equally contributing authors*

Introduction: Patients suffering from end stage renal disease (ESRD) undergo kidney dialysis three times a week. During each dialysis a single dose of low molecular weight heparin (LMWH) is given to prevent coagulation in the extracorporeal

circuit. To monitor LMWH administration, Anti-Xa testing still is the golden standard. However, next to the APTT, these tests weakly correlate with coagulation and bleeding events. To monitor coagulation in ESRD patients, a more sensitive

test is required. Therefore we studied whether the calibrated automated thrombin generation assay (TG) is more suitable to monitor effects of LMWH.

Methods: Blood samples were taken from ESRD patients (n=13) before dialysis, 30 minutes after the start of dialysis and gift of LMWH, after 4 hours (end of dialysis), after 24 hours and after 48 hours. APTT and PT were measured in whole blood and platelet-poor plasma was prepared to measure Anti-Xa and TG. **Results:** In all patients we observed an increased APTT directly after LMWH administration (29.6 versus 57.6 seconds) and normalization between 4 - 48 hours. For the PT,

there was no increase. The average Anti-Xa levels 30 minutes after LMWH administration were 0.63 U/mL (range: 0.08 - 1.53). Immediately after LMWH dosing TG was not measurable in any of the patients. After 4 hours, 9 out of 13 patients still showed no TG, while after 24 hours TG was normalized in all patients. **Conclusion:** TG is an adequate coagulation parameter in ESRD patients. However, it is unclear whether an unmeasurable TG is required to prevent coagulation during dialysis. For further analysis and conclusions, we plan to include control patients (pre-dialysis kidney patients) and healthy controls receiving a single dose of LMWH.

90. Diagnostic value of a flow cytometry based platelet function test compared with light transmission aggregometry in patients with unknown bleeding disorders

I. van ASTEN¹, M. BAAIJ¹, J. ZANDSTRA¹, T.H. MERKX¹, A. HUISMAN¹, G. PASTERKAMP¹, S.J.A. KORPORAAL¹, R.T. URBANUS¹, R.E.G. SCHUTGENS²

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹, University Medical Center Utrecht, Van Creveldkliniek², University Medical Centre Utrecht, the Netherlands

Introduction: Light transmission aggregometry (LTA) is the gold standard test for the diagnosis of platelet function disorders. Nevertheless, LTA is labor-intensive, requires a large blood volume, has moderate sensitivity for mild platelet function disorders, and cannot be performed in thrombocytopenic blood samples. Therefore, we have developed a flow cytometry based platelet activation test (PACT) that measures fibrinogen binding to integrin α IIb β 3 and P-selectin expression as markers of platelet activation in response to agonist stimulation.

Methods: We aimed to compare the diagnostic value of the PACT with LTA and included patients (n=113) with a positive bleeding anamnesis (ISTH BAT score > 4) and suspicion of a primary hemostasis defect in the study. Agonist-induced platelet reactivity was determined by both PACT and LTA and compared with the platelet function of healthy controls (n=60).

Results: With an area under the ROC curve of 0.738 ± 0.038 , PACT is superior to LTA (0.624 ± 0.043 ; $p = 0.048$) in the discrimination between patients and healthy controls. In this patient population, the PACT showed 100% sensitivity for patients with suspected Storage Pool Disease (n=12) compared to 75% sensitivity with LTA. Furthermore, 3 patients with Bernard Soulier syndrome were identified with PACT, but missed with LTA due to low platelet number. Additionally, there were 5 more patients with severe thrombocytopenia in which platelet function could not be determined with LTA, but in PACT we found abnormal agonist-induced platelet reactivity in 4 out of 5 patients. **Conclusion:** Taken together, the PACT has shown superiority over LTA in discriminating platelet function disorders from healthy controls, making it a promising new diagnostic tool in the diagnosis of platelet function disorders.

91. Een post-transfusie-purpura casus

M. van KOGELBERG¹, N. WIETSMA², M.R. SCHAAFSMA³, J.G.J. POWELS⁴, A. BRAND⁵, L. PORCELIJN⁶, J. SLOMP¹

Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Medisch Spectrum Twente/Medlon, Enschede; Anesthesie², Medisch Spectrum Twente, Enschede, Interne Geneeskunde³, Medisch Spectrum Twente, Enschede⁴; Klinisch Chemisch Laboratorium, Treant Zorggroep, Locatie Emmen⁵; Afdeling Immunohematologie, Leids Universitair Medisch Centrum/ Sanquin, Leiden; Afdeling Trombocyten en Leukocyten serologie⁶, Sanquin Diagnostiek Amsterdam

Inleiding: Post-transfusie-purpura (PTP) is een zeldzame immunologisch gemedieerde aandoening die wordt gekarakteriseerd door een ernstige trombopenie die zich ontwikkelt na transfusie met trombocyten bevattende producten. Hier beschrijven wij een casus inclusief de klinische presentatie, diagnose en behandeling.

Methode: Een 57-jarige hemodynamische instabiele patiënt wordt naar ons ziekenhuis overgeplaatst vanwege een tamponade beeld en een onverklaarde refractaire trombopenie ($<5 \times 10^9/l$). Er wordt een spoed sternotomie uitgevoerd en er wordt een pericard tamponade en tijdelijke pacemaker geplaatst. Twee weken eerder heeft de patiënt een succesvolle aorta resectie ondergaan waarbij meerdere bloedproducten, inclusief trombocytenconcentraten zijn toegediend.

Resultaat: Onder de verdenking PTP worden HPA 1a/5b negatieve eenheden toegediend, echter zonder opbrengst. Behandeling met intraveneuze immunoglobulinen (IVIG) en prednison wordt gestart. Daarnaast wordt onderzoek naar HLA en HPA

antistoffen ingezet. Geleidelijk komen de resultaten binnen, die telkens resulteren in een andere keuze van donoren. Uiteindelijk worden 3 HPA antistoffen en 9 HLA antistoffen aangetoond. Er zijn geen donoren compatibel voor zowel de HPA- als HLA-antistoffen. In de tussentijd wordt in samenspraak met de kliniek besloten geen preventieve trombocyten transfusies uit te voeren maar een afwachtend beleid te handhaven ten aanzien van het verwijderen van de pacemaker en de pericard-drain. Wel zijn er 3 HPA compatibele trombocyte-eenheden op voorraad aanwezig voor toediening bij complicaties. Tevens wordt een Hb boven de 6,5 mmol/l gewaarborgd. De behandeling is succesvol en patiënt wordt na 6 dagen overgeplaatst naar het verwijzende ziekenhuis met $95 \times 10^9/l$ trombocyten.

Conclusie: PTP is potentieel een levensbedreigende transfusie-reactie. De diagnostiek is vaak lastig en tijdrovend en daarbij kan ook de keuze van donoren beperkt zijn. In deze situatie kan het verhogen van het hematocriet bijdragen aan het voorkomen van bloedingen.

92. Case report: vals verhoogde kaliumuitslagen bij een CLL patiënt

D.M. ROTTEVEEL - de GROOT^{*1}, P.J. GEUTJES^{*2}, J.M.W. van den OUWELAND², P.L.M. de GROUW¹, J.D. OOSTING¹
Afdeling laboratoriumgeneeskunde, Radboudumc, Nijmegen¹; Klinisch Chemisch Laboratorium Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, Klinisch Chemisch Laboratorium, Nijmegen²

Inleiding: Een aanzienlijk deel van de chronische lymfatische leukemie (CLL) patiënten heeft hyperleukocytose. In deze patiëntengroep worden echter maar weinig symptomen van leukostase gezien, tenzij het leukocytengetal zeer hoog is ($>400 \times 10^9/L$). Deze casus beschrijft een CLL patiënt met hyperleukocytose en (vals) verhoogde kaliumuitslagen.

Methode: Een 65-jarige man meldde zich op de spoedeisende hulp van het Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis vanwege diarree, braken en neiging tot collaps. De patiënt had geen last van dyspnoe of hoofdpijn. Na laboratoriumonderzoek bleek er sprake van een ernstige leukocytose ($619 \times 10^9/L$, waarvan $610 \times 10^9/L$ lymfocyten; Hb 4,0 mmol/L; trombocyten $65 \times 10^9/L$), een morfologisch beeld passend bij CLL en een verhoogd kalium van 6,4 mmol/L (COBAS 8000, Roche Diagnostics). Gezien het hoge aantal leukocyten werd de patiënt direct overgeplaatst naar het Radboudumc voor leukoferese.

Resultaat: Na leukoferese (leukocytenaantal $240 \times 10^9/L$) werd met beenmergonderzoek en cytogenetica de diagnose

CLL bevestigd en direct chemotherapie gestart. In de veneuze bloedmonsters werden ook in het Radboudumc opvallend hoge kaliumuitslagen tot 9,4 mmol/L (Architect, Abbott) gemeten, terwijl de kaliumconcentraties in arteriële bloedgasmonsters met $\pm 4,2$ mmol/L normaal waren (Rapidlab 500, Siemens), ook na een extra centrifugatiestap en op vrijwel hetzelfde afname-tijdstip. De overige elektrolytuitslagen waren niet verschillend. Drie maanden later was de patiënt volledig in remissie (Hb 8,0 mmol/L, leukocyten $4,0 \times 10^9/L$, trombocyten $130 \times 10^9/L$) en klinisch goed vooruit gegaan. De eerdere klachten van diarree en braken werden geduid bij een gastroenteritis.

Conclusie: De discrepantie tussen de veneuze en arteriële kaliumuitslagen bij deze patiënt impliceert dat mogelijk door verschillende afname technieken de (hoge aantallen) lymfocyten bij veneuze afname gemakkelijk lyseren en vals verhoogde kalium uitslagen veroorzaken. Daarnaast toonde deze CLL patiënt, ondanks de ernstige leukocytose, weinig klachten passend bij leukostase.

93. Ruling out von Willebrand Disease in preoperative patients with bleeding symptoms

M.J.A. VRIES¹, M.D. LANCE², C.G.M. van OERLE¹, R.J.H. WETZELS³, E.A.M. BECKERS⁴, P.J. NELEMANS⁵, H. ten CATE¹, Y.M.C. HENSKENS³

Departments of Biochemistry¹, Anesthesiology², Central Diagnostic Laboratory³, Hematology⁴, Clinical Epidemiology⁵, MUMC+, Maastricht University, The Netherlands

Introduction: Von Willebrand disease (vWD) is the most common congenital bleeding disorder. Because of the risk of major hemorrhage, timely detection of patients with vWD prior to surgery is imperative. We aimed to determine the sensitivity of PFA-100 to detect low von Willebrand factor antigen (vWF:Ag) and activity (vWF:RCo) in preoperative patients with bleeding symptoms.

Methods: Consecutive preoperative patients reporting ≥ 1 bleeding symptom(s) were included from August 2013 to November 2014. Exclusion criteria were: referral to the hematologist, antihemostatic drugs, known bleeding disorder, thrombocytopenia or anemia. Citrated blood was obtained before surgery. PFA-100 closure times (CTs) were measured with collagen-adenosine diphosphate (C-ADP) and collagen-epinephrine (C-epi) cartridges, 1 hour after blood withdrawal. vWF:Ag, vWF:RCo (Siemens, Marburg), factor VIII and platelet count

were measured once. C-ADP > 118 and C-epi > 160 seconds were considered prolonged. Low vWF:Ag and vWF:RCo were defined as $< 50\%$. Informed consent was obtained and the local medical ethics committee approved the study.

Results: Blood samples were obtained in 146 patients. In 3 patients both vWF:Ag and vWF:RCo were $< 50\%$ and in 1 patient vWF:RCo was $< 50\%$ and vWF:Ag 52%. Two of these patients had prolonged CT(s). In 13 patients with normal vWF:Ag and vWF:RCo one or both CTs were prolonged. No patients had factor VIII $< 60\%$ or platelet count $< 150 \times 10^9/L$. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the PFA-100 for low vWF:Ag and/or vWF:RCo were 50%, 90.8%, 13.3% and 98.5%, respectively.

Conclusion: In preoperative patients with low suspicion of vWD, the PFA-100 is not a reliable test to rule out (mild) vWD as the sensitivity for detecting low vWF:Ag and vWF:RCo is low.

94. Platelet reactivity based risk assessment for patients with coronary artery disease on P2Y12 inhibitors is not consistent between different platelet function tests

M.J.A. VRIES¹, R.H. OLIE², L.F. VEENSTRA³, J.C.A. HOORNTJE³, A.J. ten CATE-HOEK¹, H.M.H. SPRONK¹, P.E.J. van der MEIJDEN¹, Y.M.C. HENSKENS⁴, H. ten CATE¹

Dept. Biochemistry¹, Maastricht University; Internal Medicine², Maastricht University Medical Centre+; Cardiology³; Central Diagnostic Laboratory⁴, MUMC+, Maastricht, The Netherlands

Introduction: Patients with coronary artery disease (CAD) requiring P2Y12 inhibitors are at risk of bleeding and ischemia. On-treatment platelet reactivity (PR) is related to the risk of events. For several platelet function tests (PFTs) therapeutic windows were proposed. We aimed to determine the consistency in PFT outcomes in frail CAD patients.

Methods: PFTs were performed 1-2 months after percutaneous intervention in frail CAD patients on P2Y12 inhibitors. Frailty was defined as having >3 risk factors for adverse events. Therapeutic windows of the VerifyNow P2Y12, Multiple electrode aggregometry (Multiplate) 6.5M ADP1, and the light transmission aggregometry (LTA) 20M ADP2 were used to classify patients as low/optimal/high PR. Inter-test reliability analysis using the quadratic weighted Kappa method was calculated to determine consistency in PR classification by PFTs.

Results: Classifying 145 patients in PR categories resulted in consistent classification in 37 patients; 102 patients were clas-

sified in 2 categories and 6 patients in 3 categories. Agreement was slight-moderate. LTA vs. Multiplate had a Kappa of 0.20; 44% were classified in the same category and 54% were classified in a higher category by Multiplate. VerifyNow vs. LTA had a Kappa of 0.36; 52% were classified in the same category and in 45%, LTA found optimal PR but VerifyNow high or low PR. VerifyNow vs. Multiplate had a Kappa of 0.41; 50% were classified in the same category and 44% were classified in a higher category by Multiplate.

Conclusion: Classifying CAD patients on P2Y12 inhibitors in predefined PR groups showed slight-moderate agreement between PFTs. PFTs with current therapeutic windows are not interchangeable.

Literature: 1. Tantry et al. J Am Coll Cardiol. 2013;24: 2261. 2. Kerneis et al. JACC Cardiovasc Interv. 2013;2:158.

95. Immunological characterization of Dutch sesame seed allergic patients with standard and new immunological assays

M. TEODOROWICZ¹, R.J. TERLOUW¹, A. JANSEN², H.F.J. SAVELKOUL¹, J. RUINEMANS - KOERTS³

Department of Cell Biology and Immunology¹, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands; Department of Otorhinolaryngology², Radboud University Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands; Department of Clinical Chemistry and Haematology³, Rijnstate Hospital, Arnhem, The Netherlands

Introduction: Sesame seed is an allergen of growing importance worldwide. Knowledge of the clinically relevant allergens and its cross-reactivity with homologous allergens is essential for proper diagnosis. The aim of this study was to characterize immunologically Dutch sesame seed allergic patients with standard and new (functional) immunological assays.

Methods: Six patients with a medical history of sesame seed allergy were included: 5 patients with an anaphylactic reaction and one with an oral allergy syndrome. Tree nut, peanut and pollen allergies were recorded as well. The immunological background and relevancy of the sesame seed, tree nut and peanut IgE sensitization was characterized with Western blotting and Basophil Activation Test (BAT). The major allergen was identified by nanoLC-MS/MS. Cross-reactivity between sesame seed, tree nut, peanut and pollen allergens was also investigated using immunoinhibition with the Phadia ImmunoCAP system.

Results: Sesame seed oleosin was identified as the major allergen for the five patients with an anaphylactic reaction to sesame seed, and cross-reactivity between sesame and tree nut proteins was not observed. For the patient with an oral allergy syndrome, sIgE to oleosin was not detected but cross-reactivity between sesame seed, almond, hazelnut and cashew nut was observed. The BAT results supported the clinical relevancy of the sesame seed, tree nut and peanut sensitizations. Results of the immunological tests were dependent on the protein source. **Conclusion:** The BAT and ImmunoCAP inhibition test, in addition to classical immunological tests, showed added value to the clinical and immunological characterisation of sesame seed sensitized patients, distinguishing relevant and non-relevant sensitizations.

96. Inosine triphosphate pyrophosphohydrolase (ITPase) expression is decreased in leucocytes of HIV seropositive patients using combination antiretroviral therapy

N.C. PELTENBURG^{1,*}, M.P.G. LEERS², J.A. BAKKER³, S.H. LOWE⁴, W.H.M. VROEMEN², A.D.C. PAULUSSEN⁵, B.J.C. van den BOSCH⁵, J. BIRAU⁵, A. VERBON¹

¹Department of Internal Medicine, Division Infectious Diseases, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands²; Department of Clinical Chemistry & Hematology, Zuyderland Medical Center, Heerlen, The Netherlands³; Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands⁴; Department of Medical Microbiology and Department of Internal Medicine, Division Infectious Diseases, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands. Research school CAPHRF⁵; Department of Clinical Genetics, Maastricht University Medical Centre, Maastricht, The Netherlands

Introduction: The human immunodeficiency retrovirus (HIV) copies its single-stranded RNA into double-stranded DNA, to incorporate it into the host DNA. This makes nucleotide metabolism both a target and vehicle for anti-viral therapy. Since purine analogues are pivotal in the treatment of HIV-infection, a better understanding of ITPase expression in CD4+ lymphocytes may lead to further understanding of nucleotide metabolism and (adverse) effects of HIV treatment.

Methods: HIV-seropositive patients, aged > 18 years were included. Anonymous samples from general hospital patients were used as controls. DNA samples were genotyped for the two most common functional ITPA SNPs. ITPase expression was determined by flow cytometry in all leukocyte subsets and determined by measurement of the Median fluorescent intensity (MFI).

Results: 59 HIV-infected patients and 50 controls were included. Lymphocytes were higher in HIV-infected patients (P < 0.001). However, in HIV-infected patients, the percentage of ITPase

positive cells was less in all leukocyte subsets compared to control patients (p < 0.01). In HIV-infected patients 97.4% of CD4+ lymphocytes were ITPase positive (Controls 99.9%, p = 0.002) and 85.9% versus 99.6% of CD8+ lymphocytes (p < 0.0001). ITPase expression was highest in activated monocytes and lowest in lymphocytes, both HIV-infected and controls. In all lymphocyte subsets, ITPase expression was significantly lower in HIV-infected patients (P < 0.0001). Stratification according to genotype revealed no significant differences in ITPase expression between HIV-infected and control patients.

Conclusion: HIV-infection seems to interfere with the purine metabolism in leukocytes by decreasing ITPase expression, independently of ITPA genotype. Given that active metabolites of purine-analogue reverse transcriptase inhibitors are potential substrates for ITPase, further research is warranted towards effectiveness and adverse events of purine analogues and ITPase activity.

97. A new biomarker in combination anti-retroviral treatment for Human immunodeficiency virus infection: association of adverse events with Inosine triphosphate pyrophosphohydrolase activity

N.C. PELTENBURG^{1,2}, J. BIERAU³, J. BAKKER⁴, J.A. SCHIPPERS⁵, S.H. LOWE¹, A.C. PAULUSSEN³, B.J.C. van den BOSCH³, M.P.G. LEERS⁶, B.E. HANSEN⁷, A. VERBON⁸

Department of Internal medicine, Division Infectious Diseases, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands²; Department of internal medicine, Division Infectious Diseases, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands³; Laboratory of Biochemical Genetics, Department of Clinical Genetics, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands⁴; Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands⁵; Department of Integrated Care, Maastricht University Medical Center, Maastricht, The Netherlands⁶; Department of Clinical Chemistry & Hematology, Atrium Medical Center Parkstad, Heerlen, The Netherlands⁷; Department of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands⁸; Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

Introduction: Predicting whether adverse events (AEs) in combination anti-retroviral therapy (cART) for HIV patients would be a valuable tool in the choice of cART regimens. The purine analogues abacavir and tenofovir that are part of the backbone in most cART regimens, are a potential substrate for ITPase. The aim of this study was to determine whether ITPase activity may be used as biomarker for occurrence of AEs.

Methods: HIV-seropositive patients, >18 years were included. Clinical and demographic data were retrieved from the Dutch HIV monitoring foundation. AEs that led to stop or change of cART regimen were used as definition for AEs. Logistic regression analysis with repeated statement and weighted by total duration of cART therapy and cumulative duration of purine analogue therapy was used to determine odds ratios (OR) for developing AEs.

Results: 409 patients (1480 cART regimens) were included, 213 (52.1%) had an decreased ITPase activity. In patients with decreased ITPase activity using tenofovir we found a reduction in all AEs ($p=0.01$; OR 0.64), a longer mean regimen duration ($p<0.0001$) and significantly less switching of medication secondary to AEs ($p=0.018$). Of all the renal AEs in patients using tenofovir 63.6% were associated with normal ITPase activity ($p=0.04$). In contrast, in patients using abacavir a decreased ITPase activity was associated with increased switching of medication due to AEs ($p=0.022$) and significantly more AEs occurred ($p=0.008$; OR 1.93).

Conclusion: ITPase activity is a biomarker for AEs in patients using tenofovir and abacavir in their cART regimen. Decreased ITPase activity seems to be protective against occurrence of AEs in cART regimens containing tenofovir, while it leads to an increase in AEs in cART regimens containing abacavir.

Nierziekten

98. Urinary excretion of the main metabolite of melatonin relates to all-cause mortality in renal transplant recipients

A. van der VEEN¹, M. van FAASSEN¹, I. MINOVIC², E. van den BERG², C.A.J.M. GAILLARD², S.J.L. BAKKER², I.P. KEMA¹

Department of Laboratory Medicine, University Medical Center and University of Groningen¹ en Department of Nephrology, University Medical Centre², Groningen, Netherlands

Introduction: 6-sulfatoxymelatonin (6-SM) is the major urinary metabolite of melatonin, a multifaceted hormone that rises during the onset of darkness. Melatonin is rapidly hydroxylated in the liver and conjugated to 6-SM prior to excretion in urine. 24-hour 6-SM excretion is a valuable measurement of total melatonin production over a day, compared to single sampling of melatonin in plasma or saliva influenced by the circadian rhythm. In patients with chronic kidney disease sleep is often disturbed. This could represent a risk factor for poor long-term outcome. In line with this, we hypothesized that low 6-SM is associated with excess mortality in renal transplant recipients (RTR). **Methods:** The study population consisted of 699 RTR with a functioning graft for at least one year. 24-hour urine samples were collected and measured for 6-SM using a newly developed isotope dilution LC-MS/MS method. Kaplan-Meier and

Cox regression analyses were performed to investigate the associations of 6-SM with all-cause mortality and graft-failure.

Results: Mean(\pm SD) age of RTR was 53(\pm 13) years, with 57% males and a mean(\pm SD) eGFR of 49(\pm 18) ml/min/1.73m². 6-SM was associated with age and eGFR (standardized β -0.31, $p<0.001$ and 0.11, $p=0.005$ resp.). After median 38[32-46] months follow-up, 81(12%) RTR died and 45(6%) developed graft failure. 6-SM was significantly associated with mortality (HR[95%CI]=0.79 [0.65-0.95], $p=0.014$), independent of conventional risk factors and kidney function. There was no significant independent association with graft failure (HR[95%CI]= 0.83 [0.62-1.10], $p=0.19$).

Conclusion: In this study, we found that 6-SM, as a measure of total melatonin production, is inversely associated with all-cause mortality in RTR. Based on these results, evaluation and management of melatonin metabolism could be considered for improvement of long-term outcomes in RTR.

99. Leeftijds- en geslachtsafhankelijke referentiewaarden voor de CKD-EPI eGFR

J. van de VEN

LabWest, locatie Medisch Centrum Haaglanden, Den Haag

Inleiding: Om nierfunctieverslechtering vroegtijdig te herkennen wordt aanbevolen om standaard een geschatte nierfunctie (eGFR) te rapporteren. Voor nierfunctieverlies bestaat de K/DOQI classificatie, maar deze is niet leeftijdsafhankelijk en minder geschikt als normaalwaarde. Tot voor kort gebruikten wij als eGFR de MDRD-formule met bijbehorende leeftijdsafhankelijke referentiewaarden (1). De laboratoria in de regio Den Haag/Leiden zijn in 2015 overgestapt naar de nieuwere CKD-EPI berekening, welke de GFR beter inschat, met name bij GFR's >60 ml/min (2). Voor de CKD-EPI eGFR zijn echter nog geen referentiewaarden gepubliceerd. Middels Bhattacharya analyse hebben wij deze nu vastgesteld.

Methode: Uit het LIS werden verkregen: leeftijd, geslacht en plasma creatinine uitslagen (CREP2 enzymatisch, Roche), gemeten tussen 2011 en 2015. Geselecteerd werd op 1e lijnspatiënten die op het moment van dataverzameling in leven waren. eGFR werd berekend volgens CKD-EPI (2), waarbij alleen het formuledeel voor hoge creatinine uitslagen is gebruikt om een binomiale dataverdeling te krijgen. Per geslacht en leeftijdscategorie (n=870 tot n=3370) werden onderste normaal waardegrenzen berekend met Bhattacharya analyse met 'gamma' curvefitting (3).

Resultaat: De Bhattacharya methode leverde goed passende curves op. Subgroepanalyse tussen twee ziekenhuislocaties met verschillen in patiënten etniciteit gaf geen wezenlijke verschillen aan. Normaalwaarden (ml/min) werden vastgesteld op: Mannen: 20-29 jr: >88, 30-39j: >79, 40-49j: >75, 50-59j: >66, 60-69j: >56, 70-79j: >43, 80+j: >34. Vrouwen: 20-29 jr: >86, 30-39j: >83, 40-49j: >73, 50-59j: >65, 60-69j: >56, 70-79j: >46, 80+j: >34.

Conclusie: De gevonden normaalwaarden zijn sterk leeftijdsafhankelijk, maar weinig geslachtsafhankelijk. De invloed van etniciteit lijkt beperkt. Deze normaalwaarden gebruiken wij nu in de uitslagrapportage.

Literatuur: 1. Engbers-Buijtenhuijs et al, Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2008;33:48. 2. Levey et al, Ann Intern Med. 2009, 150: 604. 3. Naus, <https://www.nvkc.nl/sites/default/files/leden/winkel/-Bhattacharya-.xls>

100. Changes in urine markers of renal function among recreational long-distance runners

R.H.A. van der DOELEN¹, D.M. van der LUGT², L. JANSSEN³, J. REIMER⁵, M.J.W. JANSSEN¹, J. le NOBLE⁴
*Departments of Clinical Chemistry and Hematology¹, Emergency Unit², Clinical Epidemiology³ and Intensive Care⁴,
VieCuri Medical Center, Venlo, The Netherlands; Infusion Technology⁵, Grave, The Netherlands*

Introduction: Running and exercise in general are considered to be an important component of a healthy lifestyle. Studies with (ultra)marathon participants have however shown that long-distance running can be associated with impaired renal function and ischaemic acute kidney injury (AKI). The level of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in urine has shown potential for use as an early biomarker of AKI. The aim of this observational study was to investigate renal dysfunction and AKI among recreational long-distance runners by analyzing urinary biomarkers, and how these would relate to performance.

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-km competition, an hour before and immediately after the finish. From all participants informed consent was obtained. In the

urine samples we measured the levels of albumin, creatinine, uric acid, sodium and NGAL on the Architect[®] c8000 and i2000 analyzers.

Results: Urinary albumin significantly increased in samples of all participants, and urinary creatinine only for the 21-km participants. Urinary creatinine furthermore showed a negative correlation with performance. For uric acid and sodium, we found gender-dependent decreases in urine levels. Urinary NGAL levels showed a significant increase as well as a negative correlation with performance, only in the male participants.

Conclusion: Long-distance (10/21-km) running was found to be associated with microalbuminuria among both male and female participants. Only male participants showed increases of urinary levels of NGAL, a tubular biomarker of AKI, after finishing the 'Weir Venloop 2015'.

Gynaecologie/obstetrie

101. Minimale kwaliteitscriteria te stellen aan de fertiliteitsparameters van semen bij het opwerken ten behoeve van intra-uteriene inseminatie

J.J.H. HENS, J.L.M. SCHEEFHALS - PIETERS, J. van den BOSCH, L. VERSTEEGH, G.W.A. LANSBERGEN
*Fertiliteitslaboratorium Klinisch Chemisch Laboratorium, Zuwe Hofpoort Ziekenhuis (thans St Antonius Ziekenhuis),
Woerden*

Inleiding: De kwaliteitscriteria bij de keuze en de evaluatie van de meest optimale opwerkmethode van semen voor inseminatie dient elk fertiliteitslaboratorium zelf te stellen (1). In deze studie evalueren we een set minimale kwaliteitscriteria te stellen aan de fertiliteitsparameters van semen bij het opwerken via gradiëntcentrifugatie ten behoeve van intra-uteriene inseminatie (IUI).

Methode: Fertiliteitsparameters van semen voor en na opwerken ten behoeve van IUI werden verzameld en vergeleken met degene waaruit aantoonbare zwangerschappen waren voortgekomen. Semen werd opgewerkt met gradiëntcentrifugatie (Sil-Select Plus). **Resultaat:** De VCM van 34 semina waaruit aantoonbare zwangerschap voortkwamen was gemiddeld $43,5 \times 10^6$ (SEM=6,8) voor opwerken en $6,6 \times 10^6$ (SEM=1,5) na opwerken voor IUI. De gemiddelde recovery was 17,5% (SEM=3,1). Wanneer hiervan de minimaal waargenomen VCM $5,0 \times 10^6$ voor opwerken, minimale VCM $0,2 \times 10^6$ na opwerken en minimale recovery 2,2% als minimale kwaliteitscriteria werden gehanteerd voldeden hier respectievelijk 20, 13 en 7 van de 157

voor IUI aangeboden semina niet aan. Samen betrof dit 14,7% van de aangeboden semina die voor IUI werden opgewerkt en 12 van de 70 fertiliteitskoppels.

Conclusie: Door analyse van de fertiliteitsparameters van semina, waaruit na opwerken voor IUI aantoonbare zwangerschappen waren voortgekomen, konden minimale kwaliteitscriteria worden vastgesteld. Deze minimale kwaliteitscriteria betroffen de minimale waargenomen VCM voor opwerken, na opwerken en recovery. Als fertiliteitslaboratorium zijn deze minimale kwaliteitscriteria te gebruiken om voor IUI aangeboden semina te duiden waarbij de gebruikte gradiëntcentrifugatie als opwerkmethode suboptimaal is. Hiermee kon bij 14,7% van de voor IUI aangeboden semina in de laboratoriumrapportage een begeleidende advies worden opgenomen om de opwerkmethode aan te passen bij een volgende IUI-poging dan wel een alternatief fertiliteitsvervolgtraject te kiezen.

Literatuur: 1. WHO-laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010.

Neurologie, psychiatrie, KNO en oogheelkunde

102. Stability of procalcitonin in cerebrospinal fluid

K.R.I.S. DORRESTEIJN¹, K. JELLEMA¹, G.A.E. PONJEE², R.J. VERHEUL²
Dept. of Neurology¹ en LabWest², location MC Haaglanden, The Hague, The Netherlands

Introduction: Recently procalcitonin (PCT) levels in cerebrospinal fluid (CSF) have become of interest in the diagnosis of bacterial meningitis. However, currently no data is available on the stability of PCT in CSF, nor is known whether the stability depends on patient- or sample characteristics.

Methods: Fresh remnants of CSF samples from patients with signs of an infection were assessed for PCT concentration directly after the CSF reached the laboratory. If the pre-set threshold concentration of >0.15 ng/mL PCT in CSF was met, the CSF sample and a recent coherent plasma sample were aliquoted, stored at $+20^\circ\text{C}$ and $+4^\circ\text{C}$ and analysed after 8h, 24h and 72h. Routine CSF sample characteristics (e.g. cell counts,

protein- and glucose concentration) were registered. PCT was measured on a Cobas e immunoassay analyzer using Elecsys BRAHMS PCT reagent kit.

Results: CSF and plasma samples of 10 patients were included. PCT concentration in CSF at $t=0\text{h}$ varied from 0.185 ng/mL to 2.70 ng/mL. Leukocyte count varied from $1 \times 10^6/\text{L}$ to $12 \times 10^6/\text{L}$ and protein concentrations varied from 0.2 to 14.75 g/L. In plasma PCT concentration at $t=0\text{h}$ varied from 0.038 ng/mL to 15.2 ng/mL. The mean recovery percentage after 72 hours in CSF that was stored at 20°C was 94.6% (CI 88-101.3); at 4°C this was 91.8% (CI 84,5-99,1). There was no difference in decline in PCT-concentration in plasma and in CSF.

Conclusion: PCT in CSF stored at 20°C and 4°C shows a decrease in concentration of respectively 5 and 8% over 72h. Because a strong increase in PCT levels is seen in patients with

bacterial meningitis, this marginal degradation in vitro over the first 72 hours seems acceptable for clinical practice.

Oncologie

103. 'Personalized treatment' bij patiënten met niet-kleincellige longtumoren (NSCLC) op basis van circulerend tumor DNA in plasma

D. van den BROEK¹, D. LINDERS¹, M.M. van den HEUVEL², J.A. BURGERS²
Algemeen klinisch laboratorium¹ en Afdeling thorax oncologie², NKI-AVL, Amsterdam

Inleiding: Behandeling van solide tumoren is gebaseerd op de inhibitie van genetische aberraties die ten grondslag liggen aan de tumorgroei. Een van de nadelen van behandeling met deze tyrosine kinase inhibitoren (TKI) is het optreden van resistentie mechanismen leidend tot progressieve ziekte. Voor een groeiend aantal van deze resistenties zijn alternatieve middelen beschikbaar. Een vroege detectie van resistentie in bloed maakt tijdig wisselen van medicatie mogelijk. Wij presenteren hier de resultaten van analyse van plasma voor EGFR T790M in 18 patiënten met progressieve ziekte onder TKI behandeling. *Methode:* Droplet digital PCR (ddPCR) (BioRad, QX200) EGFR T790M mutatie assay uitgevoerd op plasma van 18 patiënten met longtumoren en progressie onder erlotinib

of gefitinib. ctDNA is geïsoleerd met de Roche Magna pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I large volume.

Resultaat: In totaal zijn 18 patiënten met progressie geanalyseerd voor de aanwezigheid van EGFR T790M in plasma. In 7 patiënten werd een EGFR T790M mutatie gevonden. De eerste resultaten van behandeling op basis van deze bevinding met AZD9291 leidde tot een radiologische remissie en een sterke afname van de EGFR T790M in bloed.

Conclusie: Analyse van resistentie mechanismen in plasma m.b.v. ddPCR is een gevoelige en patiëntvriendelijke methode om EGFR T790M gemedieerde resistentie te detecteren en de optimale behandeling te selecteren.

104. Serum HE4 is correlated to prognostic factors and survival in patients with endometrial cancer

C.M. KORSE¹, A. STIEKEMA², C.A.R. LOK², V. van NOORT³, W.J. van DRIEL², G.G. KENTER², K.K. van de VIJVER⁴
Department of Clinical Chemistry¹; Department of Gynecologic Oncology²; Department of Biometrics³; Department of Pathology⁴, Netherlands Cancer Institute - Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam, The Netherlands

Introduction: The extent of surgery and the decision for adjuvant treatment in patients with endometrial cancer (EC) depend on the presence of risk factors for disease recurrence and lymph node metastases. A biomarker stratifying patients into low-risk and high-risk groups, would be helpful for surgical planning. Therefore, we evaluated the correlation of serum biomarker HE4 with clinical and pathological variables and survival.

Methods: Patients treated in the NKI-AVL between 1994-2014 for endometrial cancer were included. Serum HE4 concentration was measured in preoperatively obtained serum samples.

Results: A total of 88 patients were eligible for analysis. The majority (64%) was diagnosed with endometrioid type adenocarcinoma. Serum HE4 concentration was significantly associated to stage of disease ($p=0.001$), deep myometrial

invasion ($p<0.001$), depth of myometrial invasion $<4\text{mm}$ ($p=0.01$), tumor free distance to serosa $<7\text{mm}$ ($p<0.001$), extensive lymph vascular space invasion ($p=0.04$) and cervical involvement ($p=0.001$). A trend was seen between serum HE4 concentration and nodal involvement ($p=0.09$). Serum HE4 was an independent prognostic factor for recurrence free survival (HR 13.7, 95% CI 2.66-70.7) and overall survival (HR 6.90, 95%CI 1.59-29.9).

Conclusion: HE4 has prognostic value as biomarker in endometrial cancer and is applicable in preoperative risk stratification of patients with endometrial cancer

Literature: 1. Stiekema A et al. Gynecol Oncol 2015;136:562-6. 2. Stiekema A et al. Gynecol Oncol 2014;132:573-7. 3. Moore RG et al. Int J Gynecol Cancer. 2011;21:1185-90.

105. Pseudohyperkaliëmie bij CLL: een venijnig pre-analytisch probleem

M.L.P. LANGELAAN¹, J.M. de FEIJTER², V.H.M. WANROOIJ², M.P.G. LEERS¹, M.T.M. RAIJMAKERS¹, F. WARMERDAM²

Laboratorium voor Klinische Chemie en Hematologie¹, Interne Geneeskunde², Zuyderland Medisch Centrum, Heerlen

Inleiding: Pseudohyperkaliëmie als gevolg van hemolyse is een bekend fenomeen en wordt opgemerkt door verhoogde waarden voor de hemolyse index. Lysis van leukocyten leidt echter niet tot een verhoging van de hemolyse index, maar kan wel degelijk onopgemerkt bijdragen aan een pseudohyperkaliëmie. Dit verschijnsel presenteerde zich onlangs in ons ziekenhuis bij twee patiënten, beiden bekend met een CLL. Bij hen werd onverwacht een hyperkaliëmie gemeten zonder afwijkingen op het ECG. De oorzaak van dit fenomeen is onderzocht om tot een betrouwbare rapportage van de kaliumconcentratie te komen.

Methode: Routine chemie en hematologie bepalingen zijn uitgevoerd bij beide patiënten. Verschillende bloedafname buizen en meetmethoden werden vergeleken. Kaliumconcentraties werden gemeten (indirecte en directe ISE) in zowel lithium-heparine plasma als serum.

Daarnaast werden bloedgas analyses uitgevoerd in arterieel volbloed. Materiaal werd niet per buizenpost naar het laboratorium verstuurd. Bloedafname condities zijn nader bekeken.

Resultaat: Beide patiënten presenteerden zich met een forse leukocytose (respectievelijk 260 en 350 x 10⁹ /l) passend bij een CLL. Herhaalde metingen in lithium-heparine plasma resulteerden in kaliumconcentraties tussen 8-11 en 6-9 mmol/l voor beide patiënten, zonder aanwezigheid van hemolyse. Het eventueel overschenken van EDTA plasma in een lithium-heparine buis werd uitgesloten door een meetbare calcium concentratie. Tumor lysis syndroom werd uitgesloten door licht-verhoogde tot normale waarden voor LDH. Bloedgas analyses resulteerden in kaliumconcentraties van 3,1 en 4,2 mmol/l respectievelijk. In serum werden waarden gevonden van 3,5 en 4,4 mmol/l.

Conclusie: Bij CLL patiënten kan een forse leukocytose leiden tot een pseudohyperkaliëmie op basis van lysis van fragiele lymfocyten, veroorzaakt door bloedafname met een dunne

naald (22G) en de aanwezigheid van heparine. Een arteriële afname en analyse op een bloedgasmeter genieten de voorkeur bij deze patiëntengroep.

106. Risico stratificatie bij volwassen patiënten met (neutropene) koorts na chemotherapie op basis van verschillende biomarkers

E.W.M. KEMNA¹, N. TIBBEN², A.N.M. WYMENGA², J. SLOMP¹

Laboratorium Medisch Spectrum Twente/Medlon¹ en Interne Geneeskunde², Medisch Spectrum Twente, Enschede

Inleiding: Patiënten met (neutropene) koorts na chemotherapie worden standaard behandeld met intraveneuze antibiotica, terwijl de helft geen infectie heeft (1). In deze studie is gekeken of biomarkers als CRP, IL-6, IL-8, procalcitonine en CD64 expressie op neutrofielen, laag risico patiënten kunnen onderscheiden zodat de behandeling hierop aangepast kan worden.

Methode: Patiënten met koorts na chemotherapie werden geïncludeerd als ze een lichaamstemperatuur hadden >38,5 graden of langer dan 6 uur een temperatuur >38 graden. Exclusiecriteria waren antibioticabehandeling <2 weken of stamceltransplantatie <4 weken. Patiënten werden gecategoriseerd als neutropeen bij een absolute neutrofielenaantal <0,5×10⁹/L. Patiënten werden behandeld volgens protocol en biomarkers werden bepaald. Primaire eindpunt was infectie. Secundaire eindpunten waren opnameduur, koortsduur, neutropenieduur en duur van intraveneuze antibiotica.

Resultaat: 32 Patiënten werden geïncludeerd, waarvan 14 neutropeen. 20 patiënten (9 neutropeen) hadden een infectie en 12 (5 neutropeen) koorts eci. CD64 expressie op neutrofielen

heeft de hoogste sensitiviteit (76,5%) en procalcitonine (30,0%) de laagste. IL-6 heeft de hoogste specificiteit (91,7%) en CRP de laagste (16,7%). IL-6 en IL-8 zijn significant hoger in de infectiegroep (p-waarde: 0,01 en 0,023). Daarnaast correleren ze sterk met opnameduur, koortsduur en duur van intraveneuze antibiotica. De positief voorspellende waarde voor infectie is het hoogst bij IL-6(90%). IL-8 heeft de hoogste negatief voorspellende waarde (62,5%).

Conclusie: IL-6 en IL-8 zijn potentiële biomarkers voor aantonen/uitsluiten van infectie en correleren met de klinische uitkomst bij patiënten met koorts na chemotherapie (2, 3). CRP, procalcitonine en CD64 expressie, hebben geen significante bijdrage in risicostratificatie. Vervolgonderzoek, waarbij een klinische score wordt toegevoegd, moet aantonen of een minder stringent klinisch beleid mogelijk is.

Literatuur: 1. Toussaint et al. Support Care Cancer 2006;14(7):763-769. 2. De Bont et al. Br J Haematol 1999;107(2):375-380. 3. Persson et al. Scand J Infect Dis 2004;36(5):365-371.

Acute zorg, IC, toxicologie

107. Osteoprotegerin (OPG) predicts 28 day mortality of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) patients at the intensive care

H. KEMPERMAN¹, M. ROEST³, J. KESECIOGLU², W.W. van SOLINGE¹, D.W. de LANGE²

Department of Clinical Chemistry and Haematology¹ en Intensive Care Center², University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands; Synaps BV^{2,3}, Maastricht, The Netherlands

Introduction: Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) is a complex disease involving multiple pathways and organs. Biomarkers reflecting these pathways and organ function could correlate with the severity of the disease. Osteoprotegerin (OPG) was mainly known for its role in bone metabolism but is also involved in the immune and vascular system and therefore an interesting biomarker to study in patients with SIRS. In this prospective observational study we investigated the correlation of plasma OPG levels and 28 day mortality of SIRS patients at the ICU.

Methods: This observational single center cohort study included 275 consecutive patients admitted to the intensive care unit (ICU) aged >18 years, an anticipated stay of more than 48 hours and SIRS on admission. Data from included patients were collected

daily until discharge or death during a maximum period of ten days. OPG plasma levels were measured on admission. Cox proportional hazards regression analysis was used to study the relation between OPG levels and 28 day mortality.

Results: Patients with OPG levels in the highest tertile at admission at the ICU have an increased risk to die within 28 days when compared to patients with plasma OPG concentrations in the lowest and middle tertiles. The same was seen for the APACHE score. Patients with both OPG concentrations and APACHE scores in the highest tertiles have the highest 28 day mortality, which is higher than patients in the highest OPG or APACHE tertiles alone.

Conclusion: OPG levels at admission at the intensive care are associated, independently of the APACHE score, with 28 day mortality of patients with SIRS

108. Evaluatie point-of-care INR meter op de SEH: “Haastige spoed is meestal goed”

R. VERHEUL¹, M. VEEN²

LabWest¹ en Spoedeisende hulp², MC Haaglanden, Den Haag

Inleiding: In acute situaties kan bij ‘coumarine-verdachte’ patiënten een point-of-care (POCT) INR meter worden ingezet op de SEH van het Westeindeziekenhuis. Vanuit zowel de SEH als het KCHL bestaat de behoefte het gebruik te evalueren en zo mogelijk onderbouwd beleid te formuleren voor de POCT-INR op de SEH, mede gezien de recente discussie (1).

Methode: Het laboratoriuminformatiesysteem en HIX werden retrospectief geraadpleegd van juni t/m augustus 2015. Bij alle POCT-INR (CoaguChek XS) metingen werd nagegaan of een reguliere INR op het KCHL (Sysmex CS2100) was uitgevoerd ter

bevestiging (<1 uur na POCT-INR, geen antistolling interventie). Van patiënten met een aanzienlijk verschil tussen de twee INR-metingen (>15%) en van patiënten met alleen een POCT-INR meting werden de mogelijke klinische consequenties beoordeeld.

Resultaat: In drie maanden is bij 92 patiënten een POCT-INR gemeten, merendeels met indicatie trauma capitis en/of ter uitsluiting van coumarinegebruik. 69 (75%) metingen zijn bevestigd via een reguliere INR. Acht POCT-INR metingen (13%) hadden >15% afwijking t.o.v. de reguliere INR, dit waren alle verhoogde INR waarden. Deze discrepanties zouden

geen verschil in beleid hebben veroorzaakt. Bij 23 patiënten met alleen een POCT-INR waren enkele interventies gedaan direct herleidbaar aan de INR (Cofact® en vit K toediening), echter, dit waren bekende trombosedienst-patiënten. *Conclusie:* In het algemeen is er goede overeenkomst tussen POCT-INR en de reguliere lab-bepaling; de discrepanties hadden in deze steekproef geen effect op het klinisch beleid. Echter, bij

verhoogde POCT-INR waarden (>1,5) heeft bevestiging middels een reguliere INR meting de voorkeur, zeker bij interventies als trombolysie, Cofact® dosering of lumbaalpunctie.

Literatuur: 1. Vlodrop et al. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2015;40:205-208

Erfelijke stofwisselingsziekten

109. Mutations in TKT gene are a novel cause of short stature, developmental delay, and congenital heart defects

M.M.C. WAMELINK¹, A. BEGRUP², L. BOYLE², G.S. SALOMONS¹, B. ROOS¹, A. POP¹, M. T. CHO³, A. DAUBER⁴, V. HWA⁴, M. ANDREW⁴, J. DOUGLAS⁵, M. FEINGOLD⁵, N. KRAMER⁶, S. SAIITA⁶, K.G. MONAGHAN³, J. WYNN⁷, W.K. CHUNG^{7,8}

Metabolic Unit, Department of Clinical Chemistry¹, VU University Medical Center Amsterdam, The Netherlands; Physicians and Surgeons², Columbia University; GeneDx³, Gaithersburg, Maryland USA; Cincinnati Center for Growth Disorders⁴, Division of Endocrinology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio, USA; Division of Genetics⁵, Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, USA; Department of Medical Genetics⁶, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, California, USA; Department of Pediatrics⁷, Columbia

Introduction: We describe the identification of a novel syndrome due to an autosomal recessively inherited deficiency of transketolase (TKT) encoded by TKT on chromosome 3p21.

Methods: In three families with five affected individuals, ranging in age from 5 to 25 years, whole exome sequencing (WES) was performed and presumed pathogenic mutations in TKT were identified. Sugars and polyols in urine and plasma were measured and enzymatic activity of TKT in patients cell lines.

Results: All patients were small for gestational age, had short stature, and were developmentally delayed. Congenital heart defects were noted in 4/5 patients, and a history of chronic diarrhea and cataracts were noted in the older individuals. Two novel compound heterozygous variants in TKT were detected in family 1. Family 2 and 3 sharing Ashkenazi Jewish ancestry

were both homozygous for an 18 base pair in frame insertion in TKT. All parents were carrier of one of the variants indicating autosomal recessive inheritance. Enzymatic testing confirmed significantly reduced TKT activity in all cases. Elevated urinary excretion of erythritol, arabitol, ribitol, and pent(ul)ose-5-phosphates were detected as well as elevated erythritol, arabitol and ribitol in plasma in these patients. Transfection studies proved the pathogenicity of all mutations.

Conclusion: TKT is a reversible, thiamine-dependent enzyme in the pentose phosphate pathway (PPP) necessary for NADPH synthesis, nucleic acid synthesis, and cell division and this may explain the growth retardation and developmental delay in our patients. TKT deficiency is one of a growing list of IEM in the non-oxidative part of the PPP and polyol testing in urine is warranted in patients with short stature, developmental delay, and congenital heart disease of unknown etiology.

Overigen

110. Het effect van vacuümbuis bemonstering op urine sediment analyse

D. MEIJER¹, K. GIJZEN¹, L. VOGT², A. STURK¹, I.A. HAAGEN³, J.C. FISCHER¹

Afdeling Klinisch Chemie, Laboratorium voor Algemene Klinische Chemie¹, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam; Afdeling Interne Geneeskunde, Sectie Nefrologie², Academisch Medisch Centrum, Amsterdam; Afdeling Klinische Chemie, Hematologisch Klinisch Chemisch Laboratorium³, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Inleiding: Het gebruik van vacuümbuizen bij bemonstering voor urine sediment analyse heeft duidelijke praktische en hygiënische voordelen boven het gebruik van standaard open buizen. Omdat de literatuur niet eenduidig is over de mogelijke gevolgen van het gebruik van vacuümbuizen, zoals het mogelijk beschadigen en verdwijnen van cilinders (1, 2), hebben wij in deze studie het effect van bemonsteren met vacuümbuizen op de beoordeling van het urinesediment getest.

Methode: Er zijn 20 urinemonsters in niet-vacuümcontainers verzameld in het OLVG en 65 in het AMC. De monsters zijn geselecteerd tijdens hun microscopische beoordeling met de Iris iQ200ELITE (Beckman Coulter, Woerden), aan de hand van de aanwezigheid van erythrocyten, leukocyten en/of cilinders. Binnen 1 uur na de selectie werd de oorspronkelijke urinecontainer opgehaald en de urine in gelijk volume verdeeld over 1 vacuümbuis en 1 open sedimentbuis. In elk sediment werden erythrocyten, leukocyten, leukocyten-

klontjes, plaveiselepitheel en cilinders geteld, waarbij de vacuümen de niet-vacuümbuizen met elkaar werden vergeleken.

Resultaat: Tussen de aantallen leukocyten, plaveiselepitheelcellen en cilinders werden geen substantiële verschillen gezien. Het aantal leukocytenklontjes was lager bij gebruik van de vacuümbuizen, wat suggereert dat deze worden gedissocieerd. Dit heeft echter geen effect op de klinische beslissingen. In overeenstemming met de literatuur (2) werd bij bemonstering met vacuümbuizen een hoger aantal erythrocyten waargenomen.

Conclusie: Deze studie laat zien dat vacuümbuizen gebruikt kunnen worden voor de bemonstering van urine ter beoordeling van het sediment. Er zijn geen nadelige gevolgen met betrekking tot de analyse van de cilinders.

Literatuur: 1. Bruijns et al. NTKCL 2003;28:159-60. 2. Langlois et al. Clin Chem 1999;45:118-22.

111. Preparing children for phlebotomy using a serious gaming app (Prik!) decreases perceived burden

A.M. de JONG¹, A. van ROYEN - KERHOF¹, M.C.M. SCHOUTEN¹, K.M.K. de VOOGHT²

Department of Pediatric Immunology and Rheumatology¹, Wilhelmina Children's Hospital, University Medical Center Utrecht; Department of Clinical Chemistry and Haematology², University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands

Introduction: Blood withdrawal is a major source of pain and distress in pediatric healthcare. We developed a serious gaming app 'Prik!' familiarizing children with all aspects of blood withdrawal, including strategies for reducing procedural distress. The aim of this interventional study was to evaluate the effect of Prik! in reducing pain and distress.

Methods: 120 children aged 6-11 years attending the phlebotomy unit of our hospital for routine blood withdrawal were asked to participate. Children were allocated alternately to use Prik!(group A, n=62) or another gaming app (Angrybirds, group B, n=55) before withdrawal. The control group (group C, n=66) comprised children participating in an observational study performed earlier in our institution. Main outcome was the children's Visual Analog Scale (VAS), ranging from 0 (no pain/distress) to 10 cm (very severe pain/distress).

Results: In Group A the mean VAS score was 2.3, vs 3.0 in group B and 4.1 in the controls. The percentage of patients experiencing a high burden (VAS>4) was 23% in group A, compared to 31% in group B and 44% in the controls. In Group A RR for a high VAS was 0.72 (0.56-0.93) compared to group C (p=0.01). The RR of group B was 0.81 (0.62-1.07) (p=0.14). The combination of providing procedural information and distraction (Prik!) was more efficient in reducing burden than distraction alone.

Conclusion: Medical apps are increasingly developed and used. Often apps are implemented without evaluating their effectivity. To our knowledge, we are the first to objectively evaluate an app specifically designed to decrease phlebotomy burden. Playing a serious gaming app such as Prik! prior to blood withdrawal can help to decrease perceived burden of this procedure in children.

112. Milk vitamin D of unsupplemented mothers can never reach the adequate intake for 0-6 months infants

E. STOUTJESDIJK¹, A. SCHAAFSMA², N.V. NHIEN³, G.L. KHOR⁴, I.P. KEMA¹, D.A.J. DIJCK - BROUWER¹, F.A.J. MUSKIET¹

Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen and University of Groningen, The Netherlands¹; Friesland Campina, Amersfoort, The Netherlands²; National Institute of Food Control, Hanoi, Vietnam³; International Medical University, Kuala Lumpur, Malaysia⁴

Introduction: Breastfed infants are susceptible to vitamin D deficiency-rickets. Sunlight exposure is usually minimal. Reportedly, breast milk harbors insufficient vitamin D, because many Western mothers are prone to vitamin D deficiency. The current vitamin D 'adequate intake' (AI) for 0-6 months infants is 10 µg/day, corresponding to 33 nmol/L in mature milk. We evaluated milk vitamin D concentrations of lactating mothers with different lifestyles, living in countries at different latitudes. We were particularly interested to see whether milk vitamin D of mothers with lifetime abundant sunlight exposure reaches the current AI for 0-6 months infants.

Methods: Milk and plasma were derived from 6 (2-22) weeks lactating women in Europe (Netherlands), Caribbean (Curaçao), Africa (Tanzania) and Asia (Vietnam, Malaysia). Milk vitamin D₃ was analyzed by LC-MS/MS following saponification, liquid-liquid extraction and derivatization with DMEQ-TAD. Plasma 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] was analyzed using LC-MS/MS.

Results: Median milk vitamin D₃ of the entire study population was 0.35 nmol/L. Large differences between populations were found. Specified data (n; median in nmol/L; range) were: Netherlands (n=6; n.d.; n.d.-0.4), Curaçao (n=10; 0.7; n.d.-5.5), Vietnam: HaLong-Bay (n=20; 0.6; n.d.-3.8), Phu-Tho (n=22; 0.21; n.d.-1.5), Tien-Giang (n=20; 1.7; n.d.-10.7), Ho-Chi-Minh-City (n=18; 0.8; n.d.-3.8), Hanoi (n=21; 0.18; n.d.-2.9), Malaysia-Kuala-Lumpur (n=20; n.d.; n.d.-0.6), Tanzania: Ukerewe (n=8; 2.9; 0.44.-6.7) and Maasai (n=18; 1.8; n.d.-7.8). Milk vitamin D₃ correlated with maternal plasma 25(OH)D (range 19-132 nmol/L).

Conclusion: Latitude and lifestyle are among the determinants of milk vitamin D₃. Vitamin D₃ in milk of mothers with lifetime abundant sunlight exposure is not even close to the infant AI. Together with higher maternal 25(OH)D during pregnancy in Tanzania, this finding underlines the importance of adequate fetal vitamin D stores.

113. Formula-fed healthy late preterm infants receiving recommended amounts of DHA do not reach optimal dha status within 8 postnatal weeks

E. STOUTJESDIJK¹, A. SCHAAFSMA², D.A.J. DIJCK - BROUWER¹, F.A.J. MUSKIET¹, R.A. GEORGIEVA³

Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen and University of Groningen, The Netherlands¹; Friesland Campina, Amersfoort, The Netherlands²; Specialized Hospital for Active Treatment of Children's Disease, Sofia, Bulgaria³

Introduction: Erythrocyte (RBC) DHA content of 8 g% confers optimal cardiovascular health in adults. Mothers exhibiting this status produce breast milk with DHA contents close to 1 g%, while their breastfed infants reach RBC-DHA contents of 7-8 g% within 3 months. We studied whether the maximum recommendation for preterm infant formulae of 27 mg/100 kcal DHA, issued by the 'European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition' [ESPGHAN], increases RBC-DHA to 7-8 g% in formula-fed healthy preterm infants and whether this was influenced by the formula arachidonic acid (AA) content (ESPGHAN recommendation 16-39 mg/100 kcal). **Methods:** 14±2 days old late preterm (32-34 weeks) infants were randomly allocated to formulas A (n=15) and B (n=14), providing similar amounts of DHA (25 vs. 26.5 mg/100 kcal), and two amounts of AA (25 vs. 18 mg/100 kcal). Blood samples were collected at 14±2 and 75±2 postnatal days. RBC fatty acids were measured with GC-FID.

Results: Median (range) RBC-DHA increased from 3.72 (2.57-6.08) to 5.26 (4.02-6.57) g% in group A and from 3.55 (2.64-4.89) to 5.04 (3.57-6.14) g% in group B. Mean±SD RBC-AA in group A decreased from 16.41±0.83 to 14.37±0.70 g% in group A and from 16.50±1.27 to 14.77±0.99 g% in group B. There were no between-group differences. None of the infants reached an RBC-DHA of 7-8 g% while RBC-AA was close to the 14.5-15.0 g% target at the study end.

Conclusion: The recommended maximum preterm formula DHA content is unable to increase RBC-DHA to 7-8% in preterms during the first 10 weeks of life. We hypothesize that preterm formulae (and breast milk) DHA contents should be at least 0.7 g%. The ESPGHAN AA recommendation seems appropriate.

114. Therapeutic drug monitoring of infliximab in rheumatic patients: a prospective cohort study

E.M.H. SCHMITZ^{1,2,3,4}, M.A.C. BROEREN^{1,2}, L. MERRY-MEIER⁵, S. BENOY - de KEUSTER⁵, J.F. BLOKPOEL⁵, R.A.M. TRAKSEL⁵, V. SCHARNHORST^{2,3,4}, L.J.J. DERIJKS⁶

Clinical Laboratory, Máxima Medical Center¹, Veldhoven; Expert Center Clinical Chemistry², Eindhoven; Clinical Laboratory, Catharina Hospital³, Eindhoven; Department of Biomedical Engineering, Eindhoven University of Technology⁴, Laboratory of Chemical Biology and Institute for Complex Molecular Systems, Eindhoven; Department of Rheumatology, Máxima Medical Center⁵, Veldhoven; Department of Clinical Pharmacy, Máxima Medical Center⁶, Veldhoven, The Netherlands

Introduction: Therapeutic drug monitoring (TDM) of infliximab (IFX) has been advocated in recent literature. However, this is not yet routinely implemented in clinical practice. We therefore conducted a prospective cohort study to determine IFX levels and disease activity in our rheumatic population.

Methods: All patients from the Department of Rheumatology of the Máxima Medical Center on IFX treatment were included. Blood was drawn just before IFX infusion for measurement of CRP, ESR, IFX trough levels and antibodies to IFX (ATI's; only if IFX <1 µg/mL). For rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients the Disease Activity Score (DAS28) and Ankylosing Spondylitis DAS (ASDAS) were calculated, respectively. IFX levels were measured using the apDia Infliximab ELISA kit, ATI's were measured by Sanquin Diagnostics (Amsterdam).

Results: Twenty-seven patients were included. IFX levels varied widely: the median IFX level was 1.9 µg/mL [IQR: 1.0-4.7], while five patients (19%) had undetectable IFX levels and three patients (11%) had IFX levels >12 µg/mL. ATI's were determined in six patients: one had very high levels (>880 a.u.), one had low levels (29 a.u.) and four patients had undetectable ATI's (<12 a.u.). CRP levels were associated with IFX trough levels: 47% of patients with an IFX level <2 µg/mL had elevated CRP (>6), while only 8% of patients with IFX >2 µg/mL had elevated CRP values. Neither ESR nor disease activity scores correlated to IFX trough levels.

Conclusion: TDM of IFX in rheumatic patients revealed large interindividual differences in IFX trough levels, with a significant part of patients having very low or high levels. TDM is useful to reveal this group of patients and to further optimize IFX treatment.

115. Comparison of infliximab innovator (Remicade®) and biosimilar (Inflectra®) in rheumatic patients: an interim analysis of a switch-study

E.M.H. SCHMITZ^{1,2,3,4}, M.A.C. BROEREN^{1,2}, L. MERRY-MEIER⁵, S. BENOY - de KEUSTER⁵, J.F. BLOKPOEL⁵, R.A.M. TRAKSEL⁵, V. SCHARNHORST^{2,3,4}, L.J.J. DERIJKS⁶

Clinical Laboratory, Máxima Medical Center¹, Veldhoven; Expert Center Clinical Chemistry², Eindhoven; Clinical Laboratory, Catharina Hospital³, Eindhoven; Department of Biomedical Engineering, Eindhoven University of Technology⁴, Laboratory of Chemical Biology and Institute for Complex Molecular Systems, Eindhoven; Department of Rheumatology, Máxima Medical Center⁵, Veldhoven; Department of Clinical Pharmacy, Máxima Medical Center⁶, Veldhoven, The Netherlands

Introduction: Infliximab (IFX) has been successfully used to treat inflammatory disease for many years. Since 2015, much cheaper IFX biosimilars (Inflectra® and Remsima®) have entered the market. Registration studies in rheumatic populations have demonstrated comparable pharmacokinetics, efficacy, safety and immunogenicity for the IFX biosimilars and the IFX innovator (Remicade®). To determine equivalence and interchangeability in clinical practice, we switched all rheumatic patients using Remicade to Inflectra in a controlled setting.

Methods: All rheumatic patients on Remicade of the Department of Rheumatology of the Máxima Medical Center were included. IFX trough levels, antibodies to IFX (ATI's; only if IFX<1), CRP, ESR and disease activity scores were determined just before the first, second, fourth and seventh infusion of Inflectra. IFX levels were measured using the apDia Infliximab ELISA kit, ATI levels were measured by Sanquin Diagnostics (Amsterdam). Datasets were compared using the Wilcoxon signed rank test, correlation using the spearman test.

Results: Firstly, we showed that the apDia infliximab ELISA kit yielded similar results for spiked samples containing Remicade or Inflectra. Twenty-seven patients were included. At the moment of this interim-analysis, the second trough level was determined in sixteen patients. Median IFX levels were 3.1 [95% CI 1.8-8.0] and 3.4 [95% CI 1.5-10.8] µg/mL for Remicade and Inflectra, respectively. IFX ($r_2=0.846$, $p=0.3757$), CRP ($r_2=0.774$, $p=1.000$) and ESR ($r_2=0.865$, $p=1.000$) levels of patients on Remicade and Inflectra correlated well and no significant differences could be observed. Disease activity scores were determined for twelve patients. The majority of patients had changing disease activity ($r_2=0.073$), but on average no significant differences could be found ($p=0.2334$).

Conclusion: No significant clinical or pharmacokinetic changes are observed after switching from Remicade to Inflectra during this interim analysis.

116. Vitamin status in COPD patients

M.G.J. BALVERS^{1,2}, M. PLAS³, E. SCHOUTEN⁴, J. VERHEUL⁵, J.J.M. VINCENT⁶, G. van de HAAR⁷, P.J.M. HULSHOF², J.M.T. KLEIN GUNNEWIEK¹

Clinical Chemistry and Haematology Laboratory¹, Gelderse Vallei Hospital (ZGV), Ede; Division of Human Nutrition², Wageningen University (WU), Wageningen; Nutrition Alliance Gelderse Vallei Office³, ZGV, Ede; General Practitioners Oldenbeuwing & Schouten⁴, Bennekom; Department of Pulmonary Medicine⁵, ZGV, Ede; General Practitioners Klaar & Vincent⁶, Ede; General Practitioners De Zwaai⁷, Veenendaal, the Netherlands.

Introduction: Chronically ill patients are at risk for malnutrition due to increased (energy) requirements or decreased food intake. Reduced food intake may result in micronutrient deficiencies. Micronutrients are critical for e.g. the formation of red blood cells (B-vitamins) and bone (vitamin D), or neutralization of

radicals (vitamin C, E). Adequate diagnosis and treatment of micronutrient deficiencies may improve patient wellbeing. At present, the prevalence of micronutrient deficiencies in patients suffering from specific diseases is largely unknown. In this study, we explore the micronutrient status in patients

with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Methods: COPD patients (stable disease, GOLD I-IV) aged <65 years were eligible. Exclusion criteria were use of medical nutrition, dietary counseling, renal insufficiency, oncologic disease, or chronic corticosteroids use. Patients were recruited from the Pulmonary Medicine ward of ZGV and general practitioners. Written informed consent was obtained. Micronutrient status was studied using standard laboratory procedures in the Clinical Chemistry and Haematology Laboratory of ZGV (folate, vitamin B1, B6, B12, D) or the Division of Human Nutrition of WU (vitamin A, C, E). Statistical analyses were performed using SPSS (v22.0).

Results: Datasets were completed for 41 patients. Vitamins with the highest rates of deficiency were vitamin D (56.1%), B6 (19.5%) and folate (12.2%). Alpha-tocopherol levels (vitamin E) were significantly higher in females than males. Vitamin B6 levels were inversely correlated with age. B/g tocopherol levels were negatively correlated with lung function parameters. No relation was found between vitamin status and body mass index (BMI), COPD stadium, or quality of life (QoL).

Conclusion: Deficiencies for vitamin B6, D and folate are present in COPD patients. No correlations between vitamin status and COPD stadium, BMI or QoL were observed.

117. Suboptimal monitoring of electrolytes and creatinine in pharmacotherapy

E.V. UIJTENDAAL¹, J.E.F. ZWART - van RIJKOM¹, W.W. van SOLINGE², T.C.G. EGBERTS^{1,3}, M.J. ten BERG²
Department of Clinical Pharmacy¹, Department of Clinical Chemistry and Hematology², Utrecht University Hospital, Department of Pharmacoepidemiology³, Faculty of Science, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands³

Introduction: Laboratory monitoring is important in prevention of adverse drug events (ADEs) and in medication reconciliation at discharge. This study aimed to estimate the frequency and timing of measurement of serum creatinine, potassium and sodium in hospitalized patients and determinants thereof, with special interest in the use of potassium- and sodium-influencing medications and renal function dependent (DRF) drugs.

Methods: A retrospective observational database-study was conducted within the Utrecht Patient Oriented Database. Patients >18yrs hospitalized for >24hrs were selected. The proportion of patients with at least one test of potassium, sodium or creatinine was determined. Proportions were stratified for patient-, disease-related factors and use of potassium- and sodium influencing medications and renal function dependent drugs (DRF drugs). In addition, the time between the last measurement and time of discharge was investigated for these determinants.

Results: Potassium and sodium was measured in 48%, creatinine in 49%. Measurement was associated with age, length of stay, IC-admission, treatment specialism. Potassium was monitored in 99% of patients receiving potassium-suppletion. Potassium was measured in 81% of patients with any potassium-influencing drug. Sodium was measured in 79% of patients with a sodium-influencing drug. Creatinine was measured in 54% of patients with a DRF drug. Potassium and sodium were not measured in 75% of the patients with an electrolyte-influencing drug in 24hrs before discharge. Creatinine was not measured in 88% of patients with a DRF drug in 24hrs before discharge.

Conclusion: The results suggest that required laboratory monitoring for managing ADE is suboptimal at our institution. Effort should be made to improve monitoring for ADEs.g in 24hrs before discharge.