

~~IgM,~~

# The long and winding road naar harmonisatie

Combi immunochemie:

Inez-Anne Haagen

Cas Weykamp

Eline van der Hagen

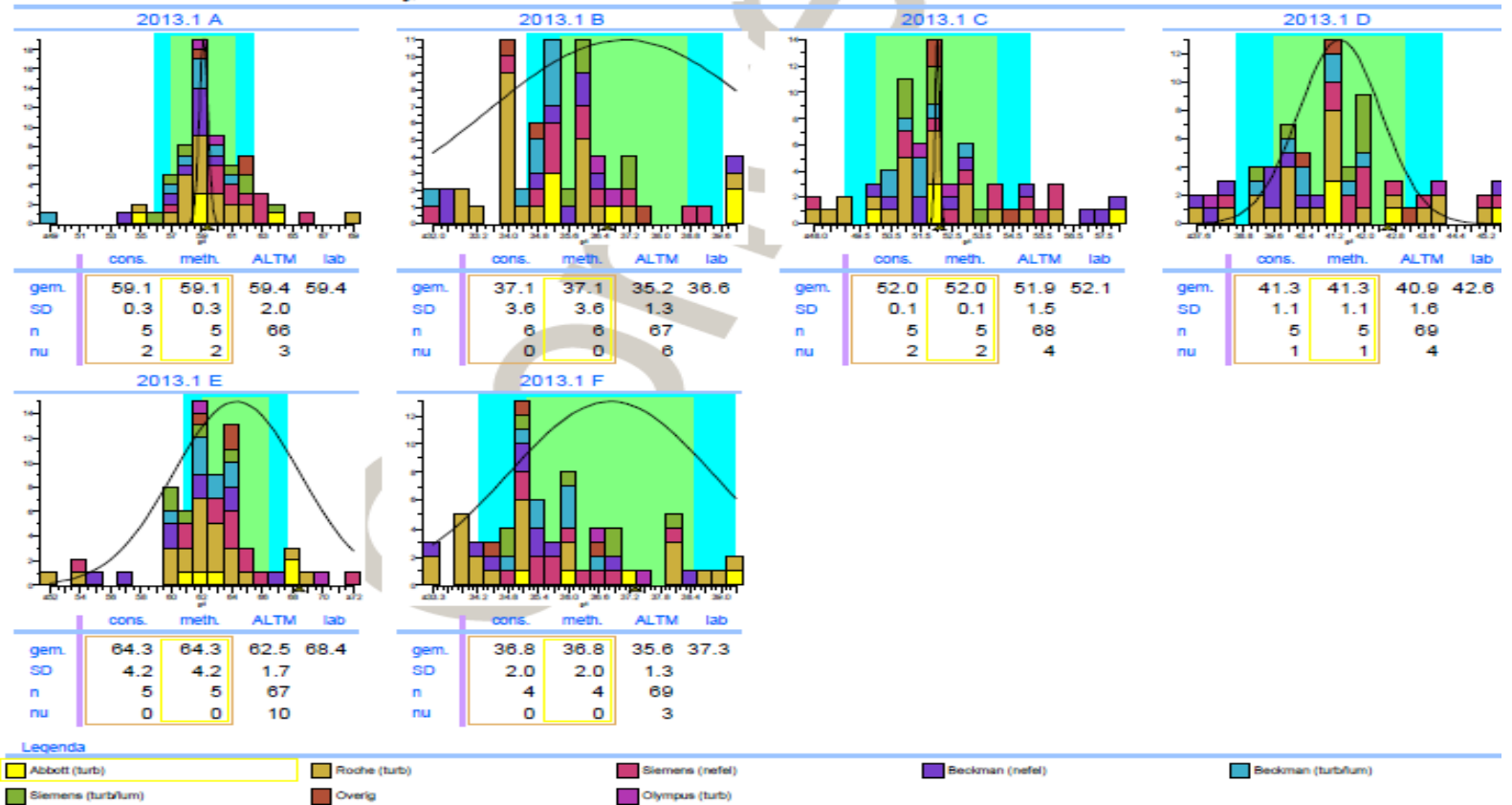


# Albumine 2013

Legenda:

- Abbott
- Roche
- Siemens
- Siemens
- Beckman
- Beckman

**ACTIE?**  
**Ja/Nee?**  
**Hoe dan?**

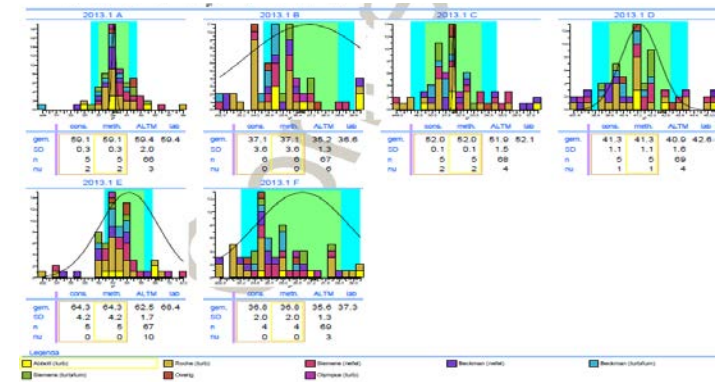


# ACTIE? Ja/Nee?

- Ja

Hoe dan?

- Gebruik van referentie materiaal  
ondersteund met een doorloper



# CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM<sup>®</sup> - DA470k/IFCC

*Nr. 10 296*

HUMAN SERUM		
Proteins in the reconstituted material <sup>1)</sup>	Mass concentration	
	Certified value <sup>2)</sup> [g/L]	Uncertainty <sup>3)</sup> [g/L]
α <sub>2</sub> macroglobulin (A2M)	1.43 <sup>4)</sup>	0.06
α <sub>1</sub> acid glycoprotein (AAG)	0.617 <sup>5)</sup>	0.013
α <sub>1</sub> antitrypsin (AAT)	1.12 <sup>5)</sup>	0.03
albumin (ALB)	37.2 <sup>4)</sup>	1.2
complement 3c (C3c)	1.00 <sup>4)</sup>	0.04
complement 4 (C4)	0.162 <sup>4)</sup>	0.007
haptoglobin (HPT)	0.889 <sup>4)</sup>	0.021
immunoglobulin A (IgA)	1.80 <sup>4)</sup>	0.05
immunoglobulin G (IgG)	9.17 <sup>4)</sup>	0.18
immunoglobulin M (IgM)	0.723 <sup>4)</sup>	0.027
transferrin (TRF)	2.36 <sup>5)</sup>	0.08
transthyretin (TTR)	0.220 <sup>5)</sup>	0.018

## ANALYTICAL METHOD USED FOR CERTIFICATION

1. Turbidimetry
2. Nephelometry
3. Visual spectrometry

## Summary

The production and certification of ERM-DA470k/IFCC, a new serum protein reference material intended to replace ERM-DA470, is described.

Serum was produced from blood collected in 6 blood collection centres according to a procedure ensuring that it was obtained from healthy donors, and that the lipid content of the serum was low.

The serum was processed in 5 batches, and then pooled, spiked with B2M and CRP and filled into vials (1 mL serum per vial). The serum was lyophilised in the vials, afterwards closed with rubber stoppers and screw caps and stored at -70 °C. The stability and homogeneity of the material were assessed for 14 proteins, including CER and B2M.

ERM-DA470k/IFCC was characterised for 12 proteins using the reference material ERM-DA470 as calibrant. This was achieved using a value transfer protocol that can be considered as reference procedure.

The results show that open and closed value transfer procedures give very similar results, and lead to robust values for A2M, AAG, AAT, ALB, C3c, C4, HPT, IgA, IgG, IgM, TRF, and TTR.

2015

## CERTIFICATION REPORT

### The Certification of the Mass Concentration of C-Reactive Protein in Human Serum

#### Certified Reference Material ERM<sup>®</sup>-DA474/IFCC

The CRM has been accepted as European Reference Material (ERM<sup>®</sup>) after peer evaluation by the partners of the European Reference Materials consortium.

The following value was assigned:

	Mass concentration	
	Certified value <sup>2)</sup> [mg/L]	Uncertainty <sup>3)</sup> [mg/L]
C-reactive protein (CRP) <sup>1)</sup>	41.2	2.5

1) CRP as measured by immunonephelometry and immunoturbidimetry using ERM-DA470 as calibrant (Baudner et al., EUR reports 15423 and 16882 European Communities, Luxembourg (1993)), applying the procedures described for the certification of ERM-DA472/IFCC, ERM-DA470 and 1<sup>st</sup> Int. St. for CRP Code 85/506.

JCTLM 2015  
ERM-DA470k/IFCC, human serum

albumin (ALB)  
alpha1 acidglycoprotein (AAG)  
alpha1 antitrypsin (AAT)  
alpha2macroglobulin (A2M)  
complement 3c (C3c)  
complement 4 (C4)  
haptoglobin (HPT)  
immunoglobulin A (IgA)  
immunoglobulin G (IgG)  
immunoglobulin M (IgM)  
**C-reactive protein (CRP)**  
transferrin (TRF)  
transthyretin (TTR)

Greyed out rows indicate the (Certified) Reference Materials reviewed for compliance with ISO 15194:2003 but not reviewed against ISO 15194:2009

beta-2-microglobulin in processed human serum

**European Commission, Joint Research Centre (JRC), European Union**

Phone : +32 (0) 14 571 705

Email : [jrc-rm-distribution@ec.europa.eu](mailto:jrc-rm-distribution@ec.europa.eu)

Fax : +32 (0) 14 590 406

Web : <https://crm.jrc.ec.europa.eu/>

Name of the reference material	ERM-DA470k/IFCC, human serum
Quantity	Mass concentration
Analyte certified/assigned value	2.17 mg/L
Expanded uncertainty (level of confidence 95 %)	0.07 mg/L
Reference(s) on commutability	Information available in the Certification Report of the certification of the material in human serum : EF
Other relevant publication(s)	Development and production of reference material: for Zegers et al., <i>Clin. C</i>
Comment(s)	Each sample consists of human serum. It contains (4-(2-hydroxyethyl)-1-sodium azide, because the material is kept under
Traceability	traceable to SI
CRM listing	List I

JOINT RESEARCH CENTRE  
Institute for Reference Materials and Measurements

# CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM<sup>®</sup> - DA470k/IFCC

N° 17662, 17663, 17664

## HUMAN SERUM

Proteins in the reconstituted material <sup>1)</sup>	Mass concentration	
	Certified value <sup>2)</sup> [g/L]	Uncertainty <sup>3)</sup> [g/L]
α <sub>2</sub> macroglobulin (A2M)	1.43 <sup>4)</sup>	0.06
α <sub>1</sub> acid glycoprotein (AAG)	0.617 <sup>5)</sup>	0.013
α <sub>1</sub> antitrypsin (AAT)	1.12 <sup>5)</sup>	0.03
albumin (ALB)	37.2 <sup>4)</sup>	1.2
β-2-microglobulin (B2M)	0.00217 <sup>6)</sup>	0.00007
complement 3c (C3c)	1.00 <sup>4)</sup>	0.04
complement 4 (C4)	0.162 <sup>4)</sup>	0.007
haptoglobin (HPT)	0.889 <sup>4)</sup>	0.021
immunoglobulin A (IgA)	1.80 <sup>4)</sup>	0.05
immunoglobulin G (IgG)	9.17 <sup>4)</sup>	0.18
immunoglobulin M (IgM)	0.723 <sup>4)</sup>	0.027
transferrin (TRF)	2.36 <sup>5)</sup>	0.08
transthyretin (TTR)	0.220 <sup>5)</sup>	0.018

Aug 2018



Stichting Kwaliteitsbewaking  
Medische Laboratoriumdiagnostiek

**Combi immunochemie**  
**Sectie humorale immunologie**

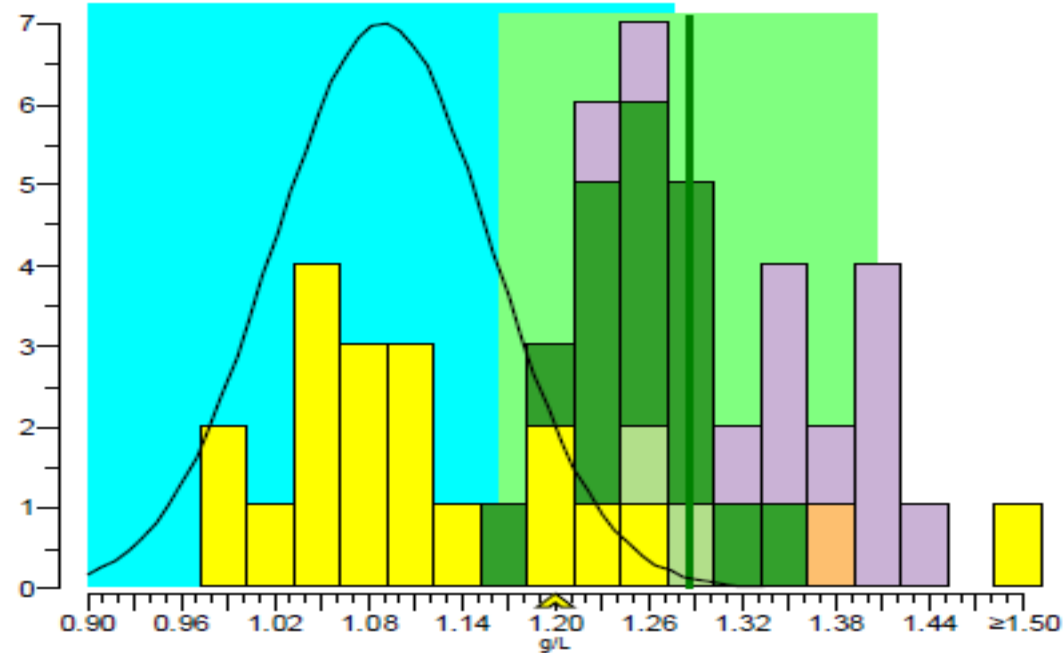
# A1AT

EQA February 2014

Mean Roche (n=14)  
Overall 1.07  
Suggests Factor 20%

Target: 1.286 g/L

2014.1 D



gem.	cons.	meth.	ref.	lab
1.09	1.09	1.286	1.2	

Abbott (2): 1.29  
Beckman (12): 1.36  
Siemens (16): 1.26

Legenda

- Roche (turb)
- Beckman (turb/lum)
- Abbott (turb)
- Siemens (nefel)
- Siemens (turb/lum)
- Olympus (turb)
- Overig
- Ortho Diagnostics (turb)
- Beckman (nefel)



# A1AT

EQA February 2014

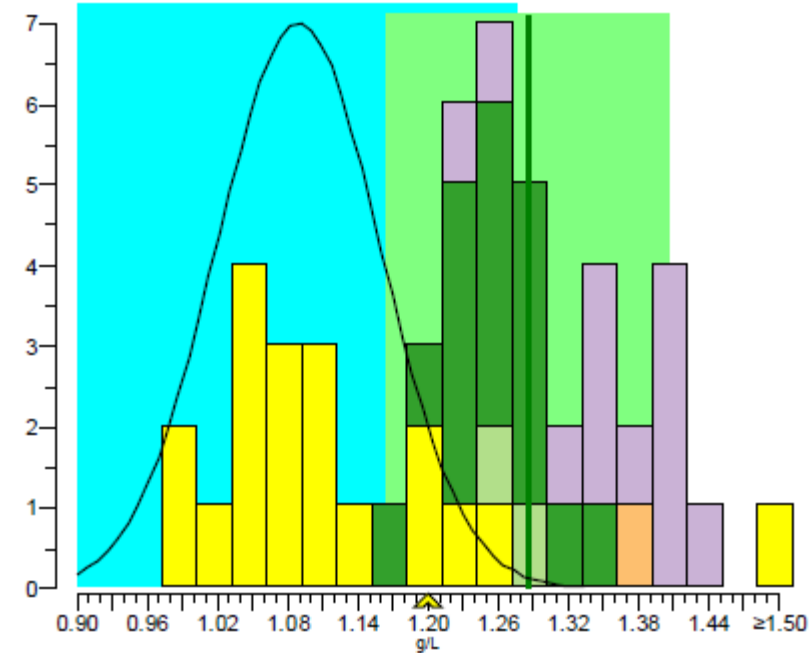
Mean Roche (n=14)  
Overall 1.07  
Suggests Factor 20%

Abbott (2):	1.29
Beckman (12):	1.36
Siemens (16):	1.26

- A. Niets
- B. Factor invoeren
- C. Kalibreren
- D. Bij leverancier klagen

Target: 1.286 g/L

2014.1 D



	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.09	1.09	1.286	1.2

A B C D 0

Legenda

- Roche (turb)
- Beckman (turb/lum)
- Abbott (turb)
- Siemens (nefel)
- Siemens (turb/lum)
- Olympus (turb)
- Overig
- Ortho Diagnostics (turb)
- Beckman (nefel)

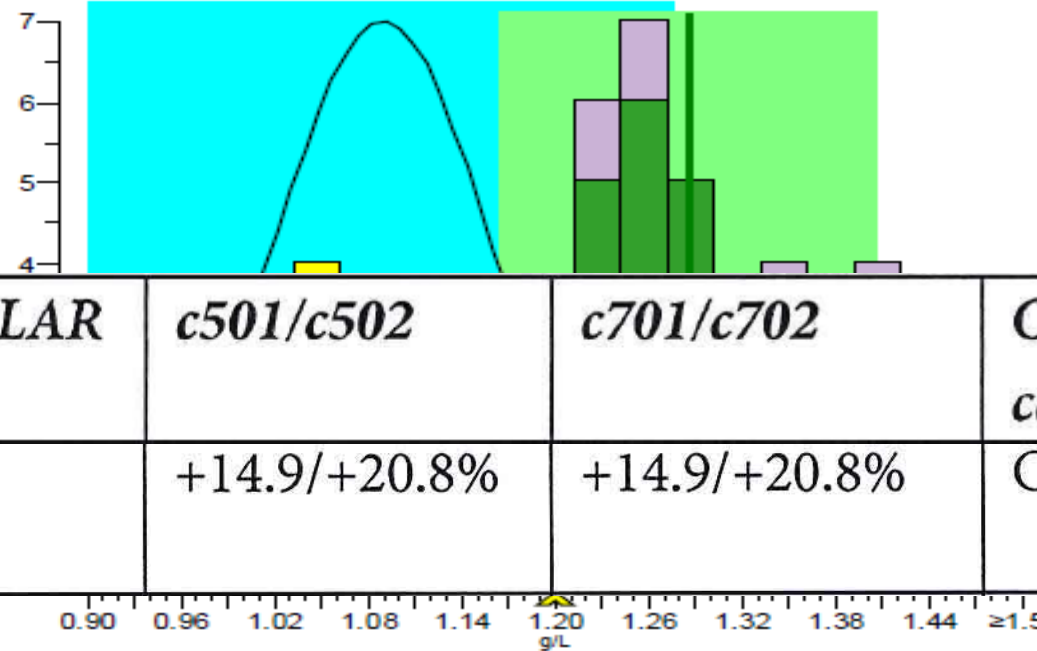


# A1AT

Target: 1.286 g/L

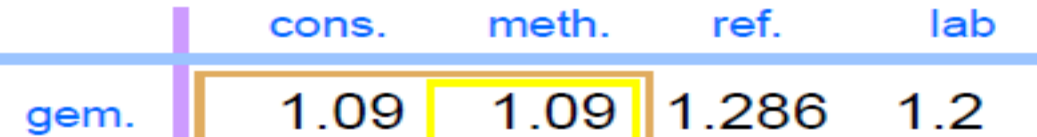
EQA February 2014

2014.1 D



Mean Roche (n=14)  
Overall 1.07  
Suggests Factor 20%

<i>Bepaling</i>	<i>INTEGRA</i>	<i>MODULAR</i> <P>	<i>c501/c502</i>	<i>c701/c702</i>	<i>C.f.a.s</i> <i>calibrator</i>
Tina-quant α-1 Antitrypsine	+21.1/+26.1%	None	+14.9/+20.8%	+14.9/+20.8%	C.f.a.s Protein



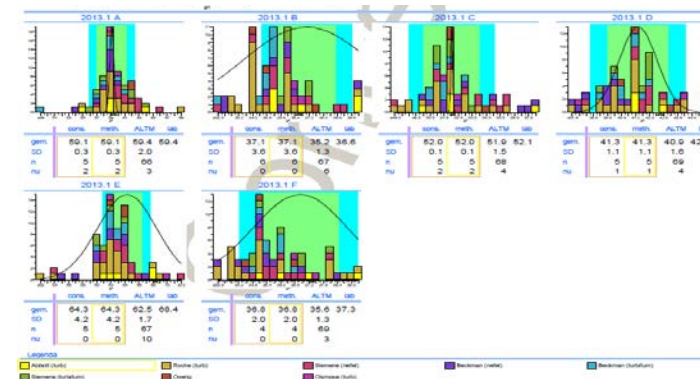
Abbott (2):	1.29
Beckman (12):	1.36
Siemens (16):	1.26

Legenda

- Roche (turb)
- Beckman (turb/lum)
- Abbott (turb)
- Siemens (nefel)
- Siemens (turb/lum)
- Olympus (turb)
- Overig
- Ortho Diagnostics (turb)
- Beckman (nefel)

# ACTIE? Ja/Nee? Hoe dan?

- Gebruik van referentie materiaal ondersteund met een doorloper
- Herstandaardisatie door firma

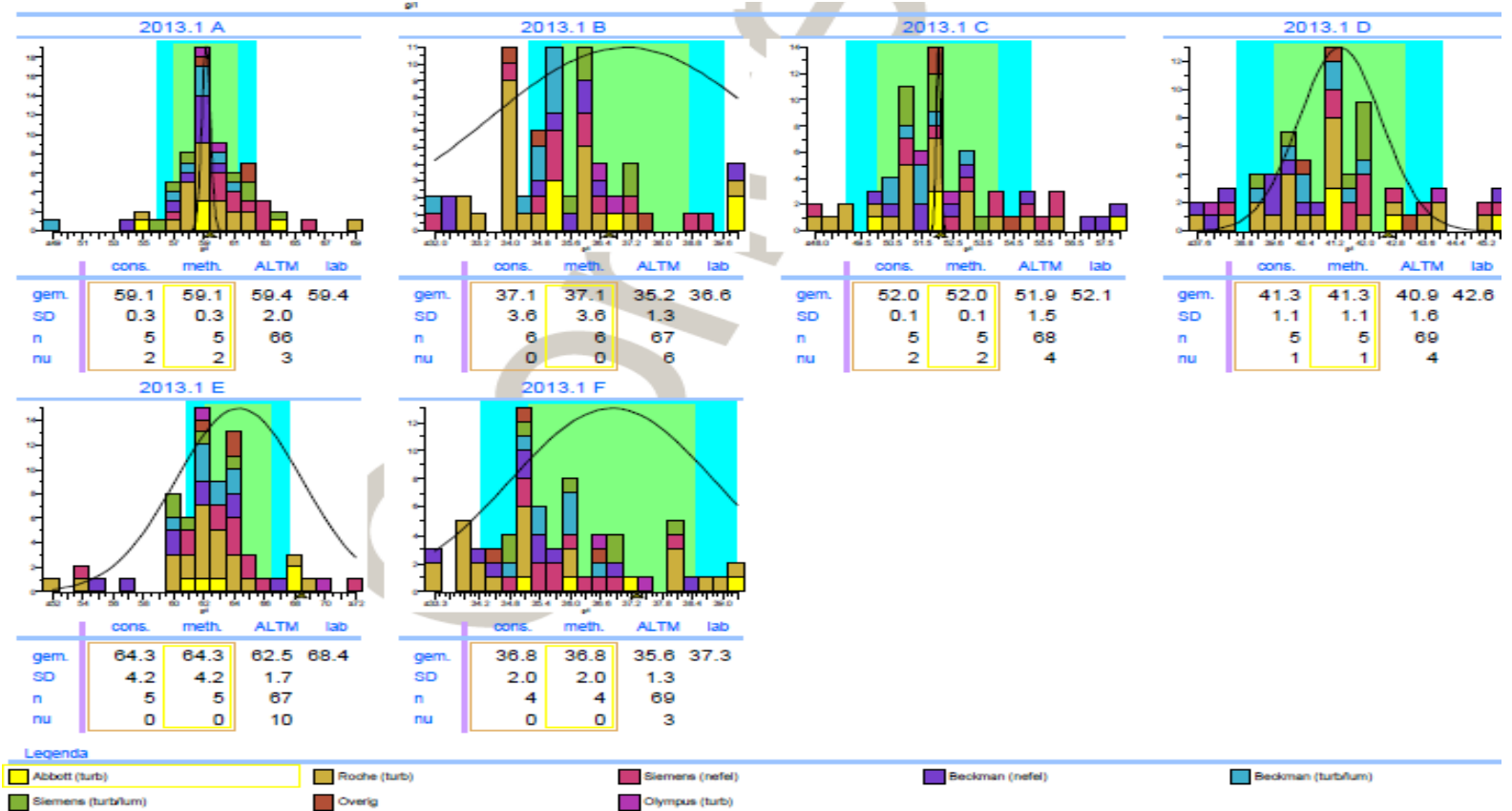


# Albumine 2013

Legenda:

- Roche
- Siemens
- Siemens
- Beckman
- Beckman

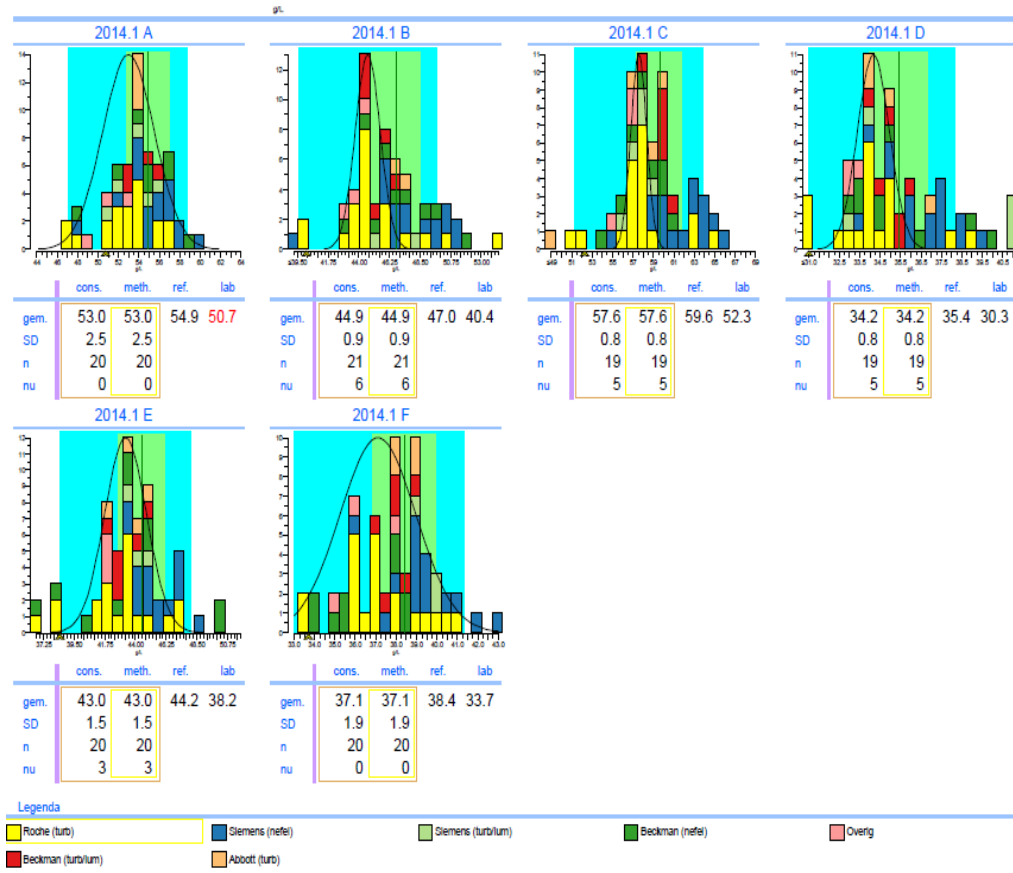
**ACTIE?**  
**Ja/Nee?**  
**Hoe dan?**



Jan 2014 Bij parameters zoals C3, IgG, IgA, IgM, a1-antitrypsine, CRP en ferritine zijn duidelijk gebruikers van verschillende firma's te onderscheiden: er ontstaan 'groepen'. Indien men eigen referentie intervallen heeft vastgesteld is dit te verklaren. Enige jaren geleden is de discussie voor standaardisatie en harmonisatie opgestart welke van groot belang zijn. Voor de standaardisatie van eiwitten kunt u gebruik maken van het SKML Truiness Verificator monster (albumine, prealbumine, IgG, IgA, IgM, haptoglobine, AAT, transferrine, C3, C4, te bestellen via de SKML) en/of het ERM-DA470k/IFCC materiaal (a2 macroglobuline, a1 acid glycoprotein, a1 anti-trypsine, albumine, C3, C4, haptoglobine, IgA, IgG, IgM, transferrine, transthyretine). Het ERM is te bestellen via de IRMM-site maar ook andere firma's verkopen dit materiaal.

Alb –TQ  
Na invoeren ERM-DA470k

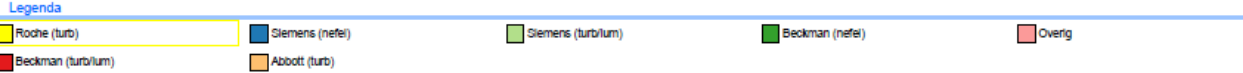
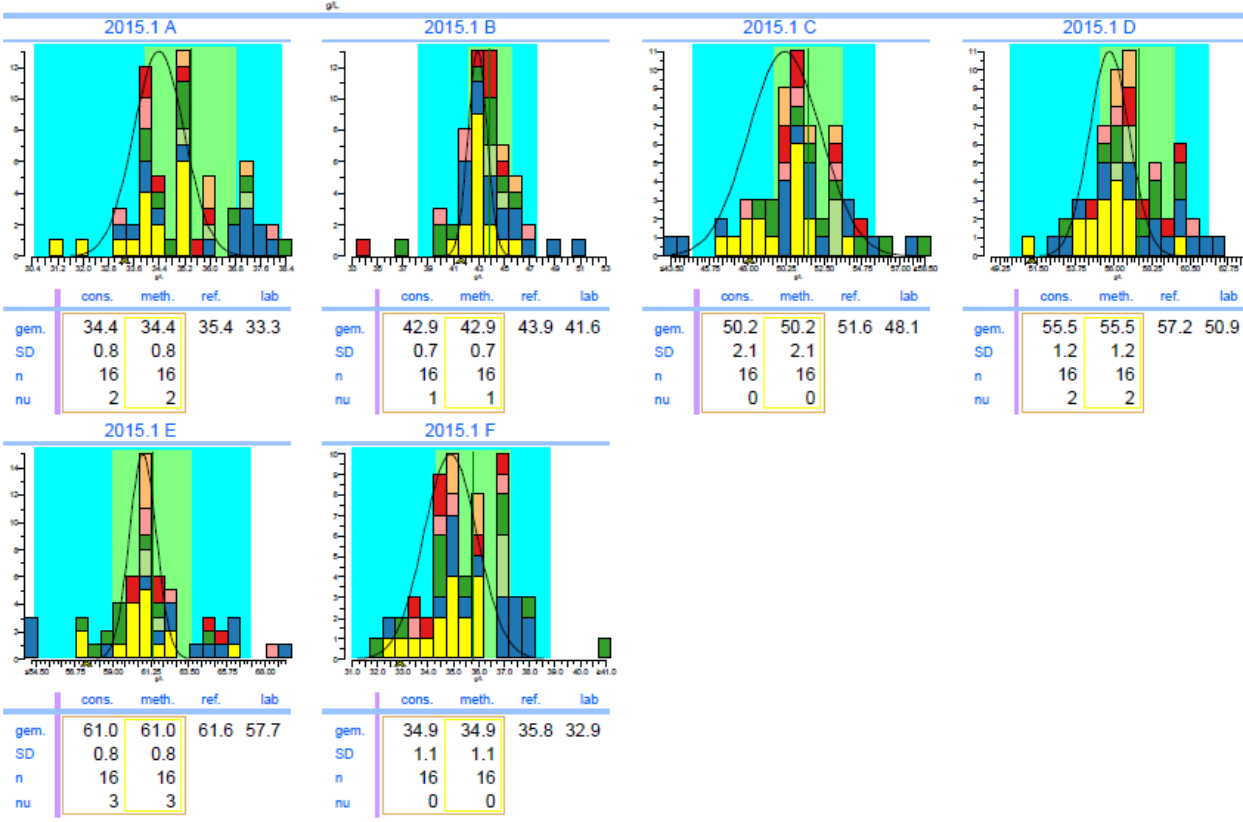
- A. Niets**
- B. Factor invoeren**
- C. Kalibreren**
- D. Bij leverancier klagen**



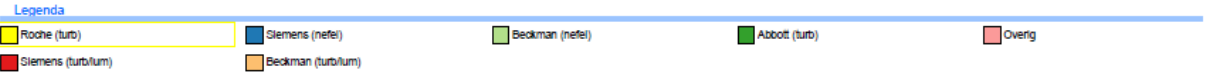
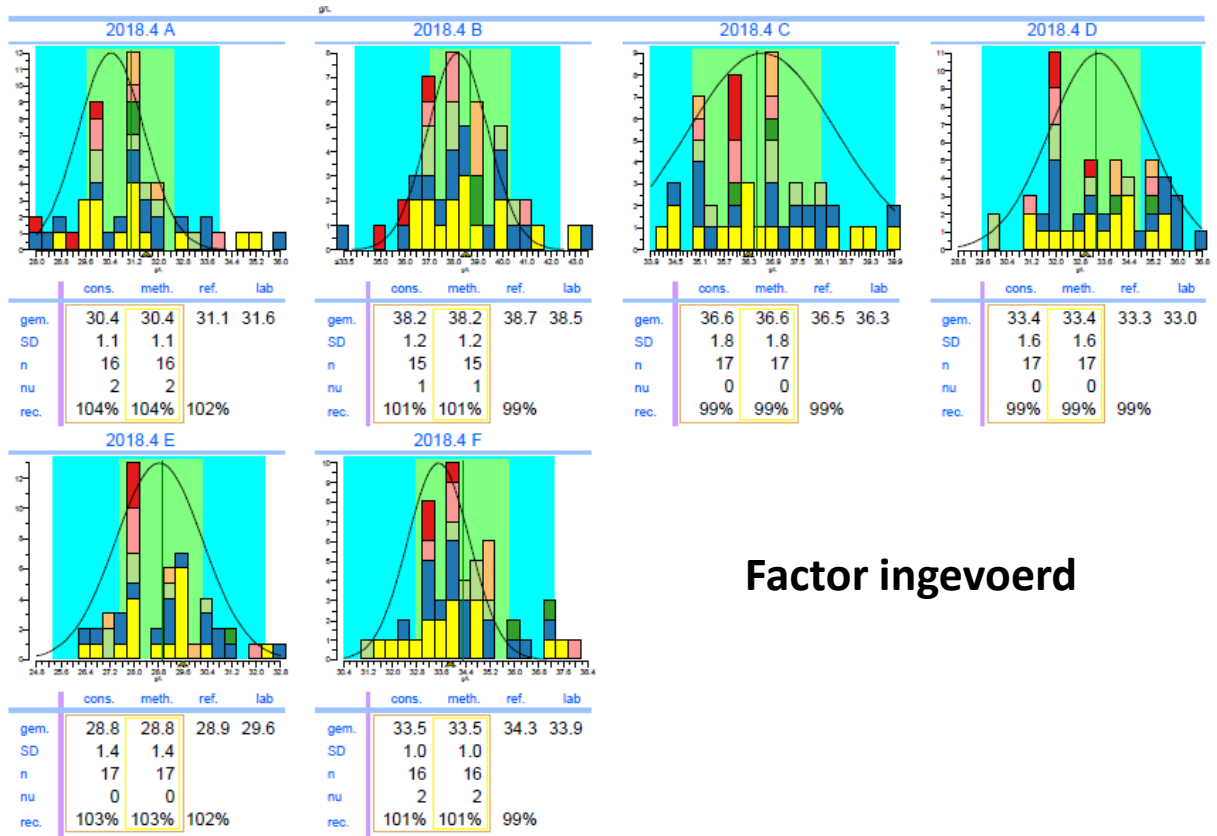
Combi immunochemie  
Sectie humorale immunologie

SKML congres 4 juni  
2019  
De expert zegt "Tijd voor Actie!"

# Alb TQ 2015



# Alb TQ 2018



Factor ingevoerd



Combi immunochemie  
Sectie humorale immunologie

SKML congres 4 juni 2019  
De expert zegt "Tijd voor Actie!"

## Aanbeveling

De Albumine BCG test is al vele decennia in gebruik. Het criterium van deze colorimetrische test voor albumine in humane serum- en plasmamonsters op de **cobas c** en de COBAS INTEGRA® 400 plus analyzers is een recovery binnen  $\pm 10\%$  van de initiële waarden bij een albumine-concentratie van 35 g/l (532  $\mu\text{mol/l}$ ). Voor diagnostische doeleinden moeten de testresultaten altijd worden beoordeeld samen met de medische geschiedenis van de patiënt, klinisch onderzoek en andere bevindingen.

Colorimetrische methoden die worden gebruikt voor het bepalen van albumine kunnen leiden tot vals verhoogde testresultaten bij patiënten die lijden aan nierfalen of insufficiëntie als gevolg van interferentie met andere eiwitten. Immunoturbidimetrische methoden worden minder beïnvloed.

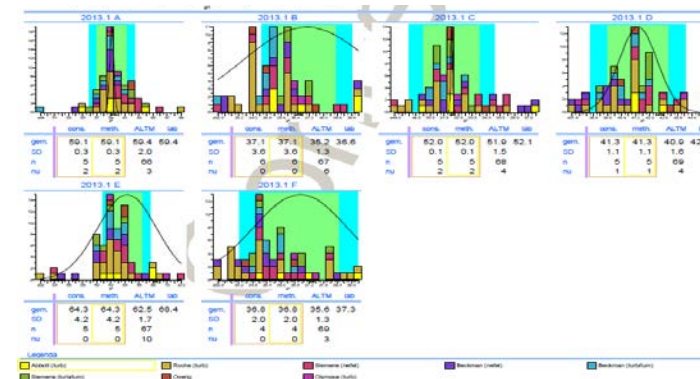
Voorheen bestond er geen referentiemethode voor de albumine test, maar inmiddels wees de JCTLM (Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine) de immuno-assay aan als referentiemethode van keuze<sup>1</sup>.

In Nederland hebben vrijwel alle gebruikers van de **cobas c** en/of COBAS INTEGRA® 400 plus analyzers de 'Tina-quant Albumine Gen.2' immunoturbidimetrische test al in gebruik voor het bepalen van (micro)albumine in urine en liquor, terwijl voor het testen op albumine in serum of plasma nog gebruik wordt gemaakt van de oudere colometrische testen Albumine BCG (broomcresol green) en/of Albumine BCP (broomcresol purple).

Nu het JCTLM de immuno-assay als referentiemethode heeft aangewezen adviseert Roche vanuit het oogpunt van kwaliteitsverbetering en standaardisatie om ook voor uw serum of plasma albumine testen over te stappen op de Tina-quant Albumin Gen.2 test. Deze immunoturbidimetrische in-vitro test is ontwikkeld voor de kwantitatieve bepaling van albumine in menselijke urine, serum, plasma en liquor.

# ACTIE? Ja/Nee? Hoe dan?

- **Gebruik van referentie materiaal ondersteund met een doorloper**
- **Herstandaardisatie door firma**
- **Factor door laboratorium ingevoerd**
- **Aanbeveling door firma**



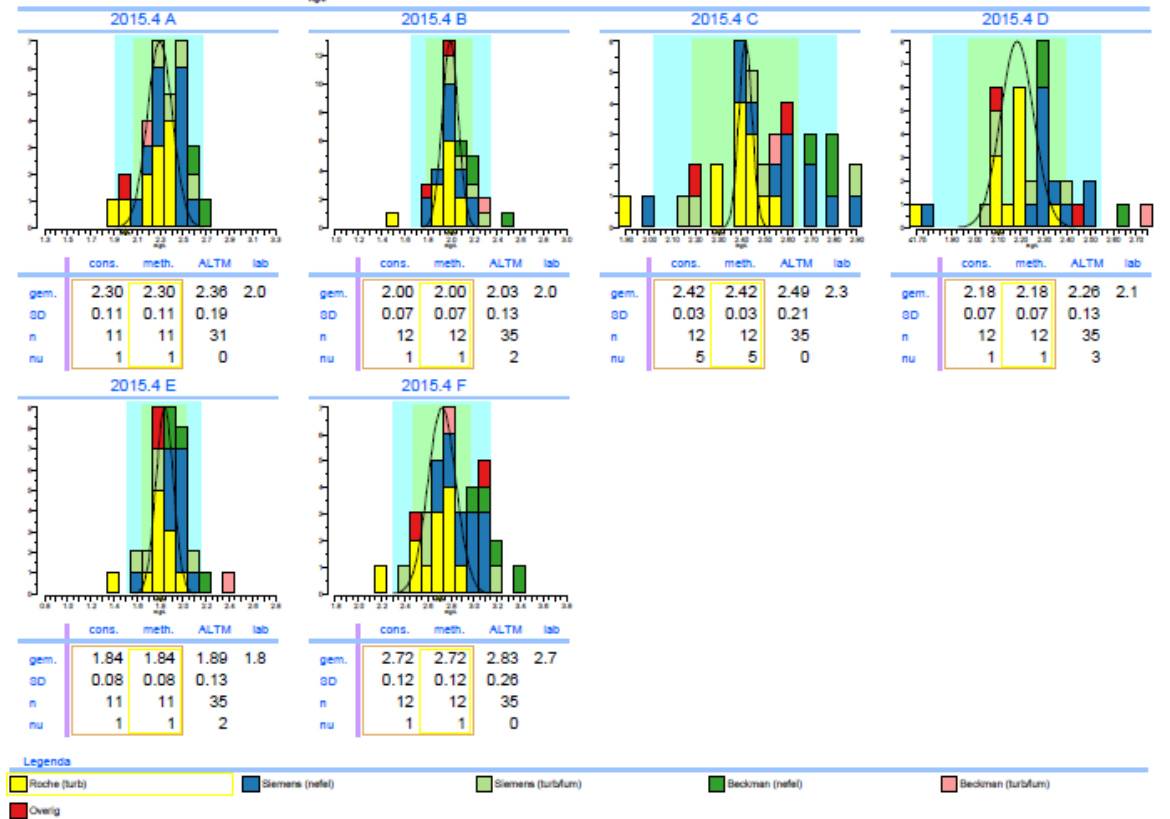


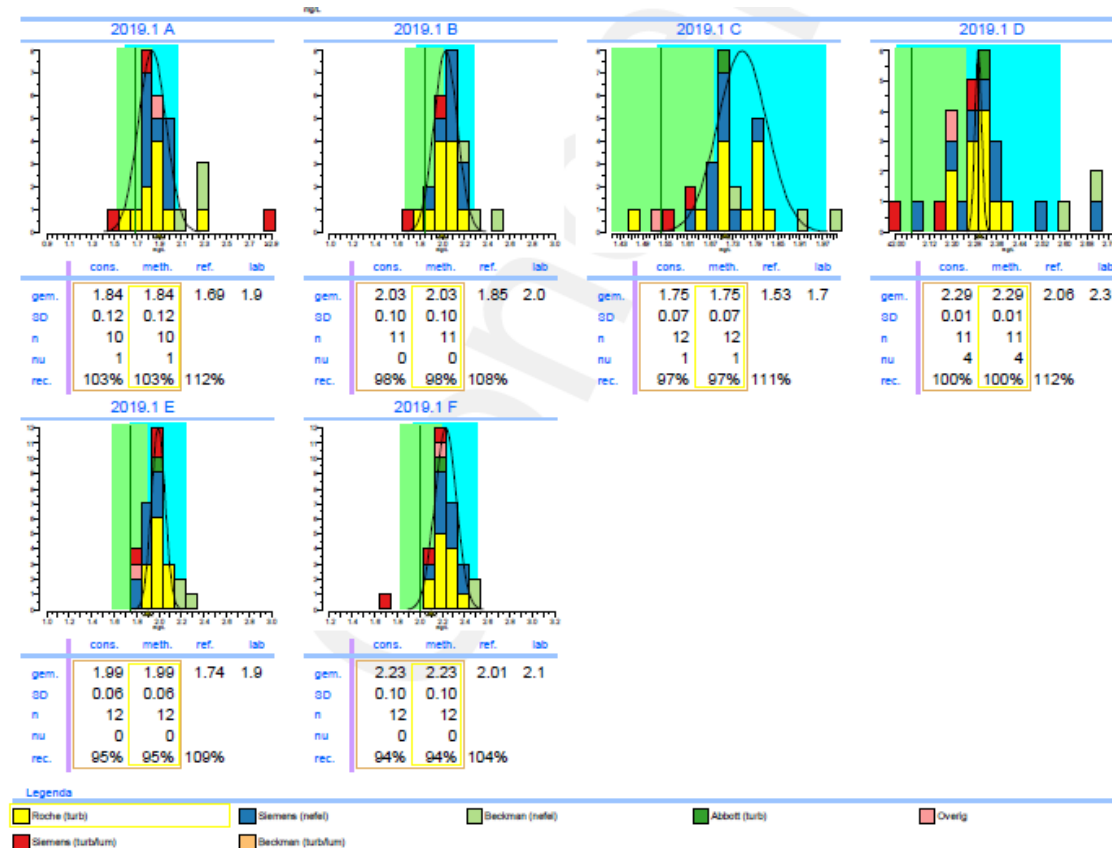
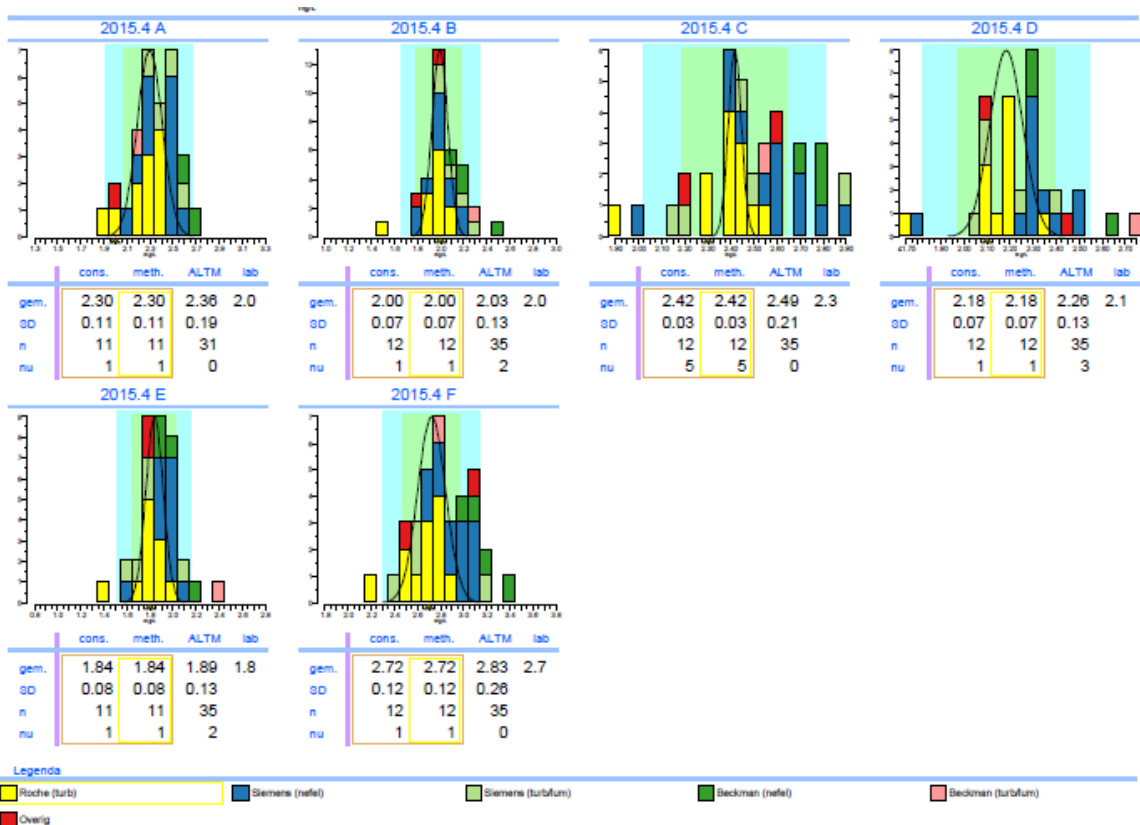
# B2-microglobuline in 2015

## ACTIE?

## Ja/Nee?

## Hoe dan?





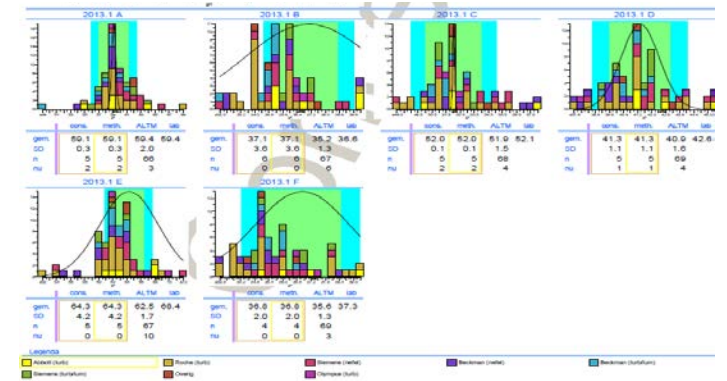
**B2-microglobuline in 2015 en 2019**  
 Waar wordt tegen gestandaardiseerd?  
 ERM470k (SKML) of WHO 1987 (firma)

# ACTIE?

## Ja/Nee?

## Hoe dan?

- Gebruik van referentie materiaal ondersteund met een doorloper
- Herstandaardisatie door firma
- Factor door laboratorium ingevoerd
- Aanbeveling door firma
- Gebruik van dezelfde standaard? Invloed op ref waarden?



Aan de deelnemers aan de  
Rondzending Combi Immunochemie  
Van de Sectie Humorale Immunologie van de SKML.

Amsterdam, XX september 2017

**Betreft: score IgM en verandering monsters per 2018**

Geachte Collega,

Naar aanleiding van een klachten van Siemens (-gebruikers) hebben wij de commuteerbaarheid van de monsters in de rondzending Combi Immunochemie onderzocht. Daarbij is gebleken dat de monsters voor Siemens instrumenten niet commuteerbaar zijn voor IgM in het hoge concentratiegebied. Als gevolg daarvan hebben de gebruikers voor dit analiet ten onrechte een slechte score gekregen.

Verder onderzoek aan monsters, gemaakt volgens een aangepast vriesdroogrecept heeft niet geleid tot een voor alle methoden commuteerbaar materiaal. Daarom heeft het bestuur van de sectie humorale immunologie besloten om met ingang van 2018 ingevroren humaan serum te gaan inzetten in de rondzending.

De set jaarmonsters wordt éénmaal per jaar in november verzonden en de monsters dienen tot analyse bij  $<-70^{\circ}\text{C}$  opgeslagen te worden. De referentiewaarden zullen worden vastgesteld door afijking op het referentiemateriaal ERM-DA470k/IFCC.

Wij betreuren dat een aantal gebruikers ten onrechte een lage score heeft gekregen maar vragen ook begrip voor het feit dat in een markt waar instrumenten en reagentia voortdurend veranderen het soms voor kan komen dat een bepaald type rondzendmonster niet meer commuteerbaar is. Als SKML zullen wij in voorkomende gevallen daar zo snel mogelijk op anticiperen.

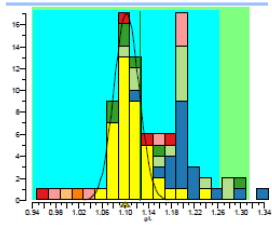
Met vriendelijke groeten,

Dr. Inez-Anne Haagen  
Voorzitter sectie humorale immunologie van de SKML  
Coördinator rondzending Combi Immunochemie

Dr. Cas Weykamp  
Monsterbereidingscentrum

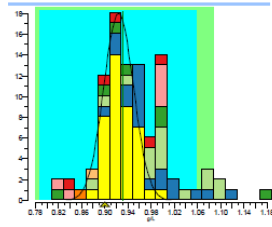
**SKML congres 4 juni 2019**  
**De expert zegt “Tijd voor Actie!”**

2015.4 A



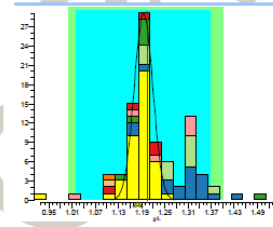
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.10	1.10	1.125	1.1
SD	0.02	0.02		
n	40	40		
nu	3	3		

2015.4 B



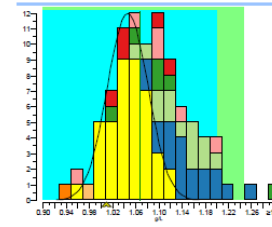
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	0.92	0.92	0.932	0.9
SD	0.03	0.03		
n	41	41		
nu	0	0		

2015.4 C



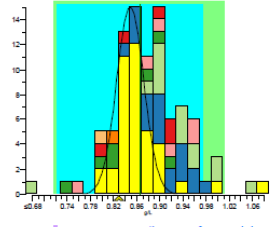
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.19	1.19	1.193	1.17
SD	0.02	0.02		
n	42	42		
nu	2	2		

2015.4 D



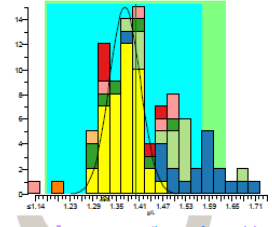
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.05	1.05	1.068	1.01
SD	0.04	0.04		
n	41	41		
nu	0	0		

2015.4 E



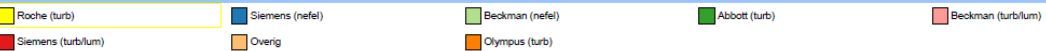
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	0.85	0.85	0.865	0.83
SD	0.02	0.02		
n	39	39		
nu	3	3		

2015.4 F

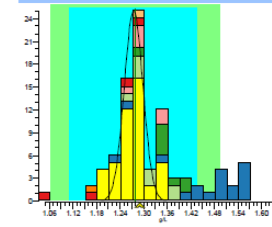


	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.37	1.37	1.400	1.32
SD	0.04	0.04		
n	42	42		
nu	0	0		

## Legenda

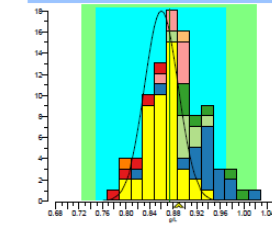


2017.4 A



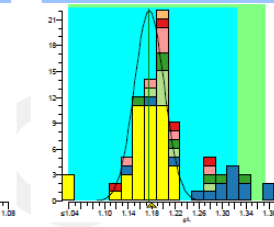
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.285	1.285	1.290	1.3
SD	0.024	0.024		
n	44	44		
nu	7	7		

2017.4 B



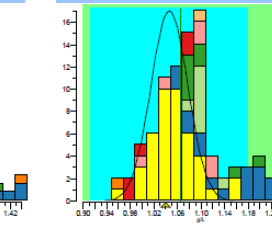
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	0.860	0.860	0.874	0.89
SD	0.028	0.028		
n	44	44		
nu	0	0		

2017.4 C



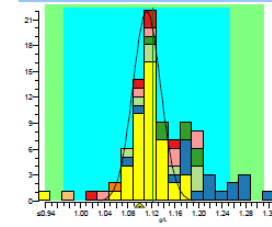
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.176	1.176	1.176	1.18
SD	0.025	0.025		
n	44	44		
nu	3	3		

2017.4 D



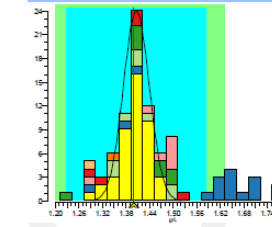
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.047	1.047	1.065	1.04
SD	0.031	0.031		
n	43	43		
nu	2	2		

2017.4 E



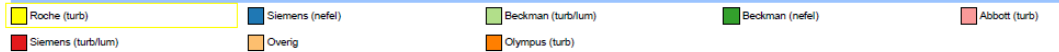
	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.112	1.112	1.123	1.1
SD	0.024	0.024		
n	44	44		
nu	1	1		

2017.4 F



	cons.	meth.	ref.	lab
gem.	1.406	1.406	1.399	1.4
SD	0.033	0.033		
n	44	44		
nu	1	1		

## Legenda



IgM in 2015 en 2017

Geachte deelnemer,

In 2010 heeft er door de sectie HIM voor de combi immunochemie rondzending onderzoek plaats gevonden naar de commuteerbaarheid van gevriesdroogd materiaal, met als conclusie: De gevriesdroogde monsters in de rondzending Combi Immunochemie zijn commuteerbaar.

Naar aanleiding van opmerkingen van enkele deelnemers is deze conclusie in twijfel getrokken, met name voor de resultaten van de IgM.

Wij hebben deze bevindingen in de rondzending van 2018.1 nader onderzocht. Zo was het materiaal niet meer gevriesdroogd, maar vers ingevroren serum.

De resultaten uit deze rondzending geeft ons vertrouwen dat de combi immunochemie rondzending met commuteerbaar materiaal werkt. Daarom zullen we de resultaten weergeven t.o.v. referentiewaardes voor de daarvoor geteste eiwitten.

Opmerkelijk is dat de verschijnselen die de klacht veroorzaakten nog niet weggenomen zijn.

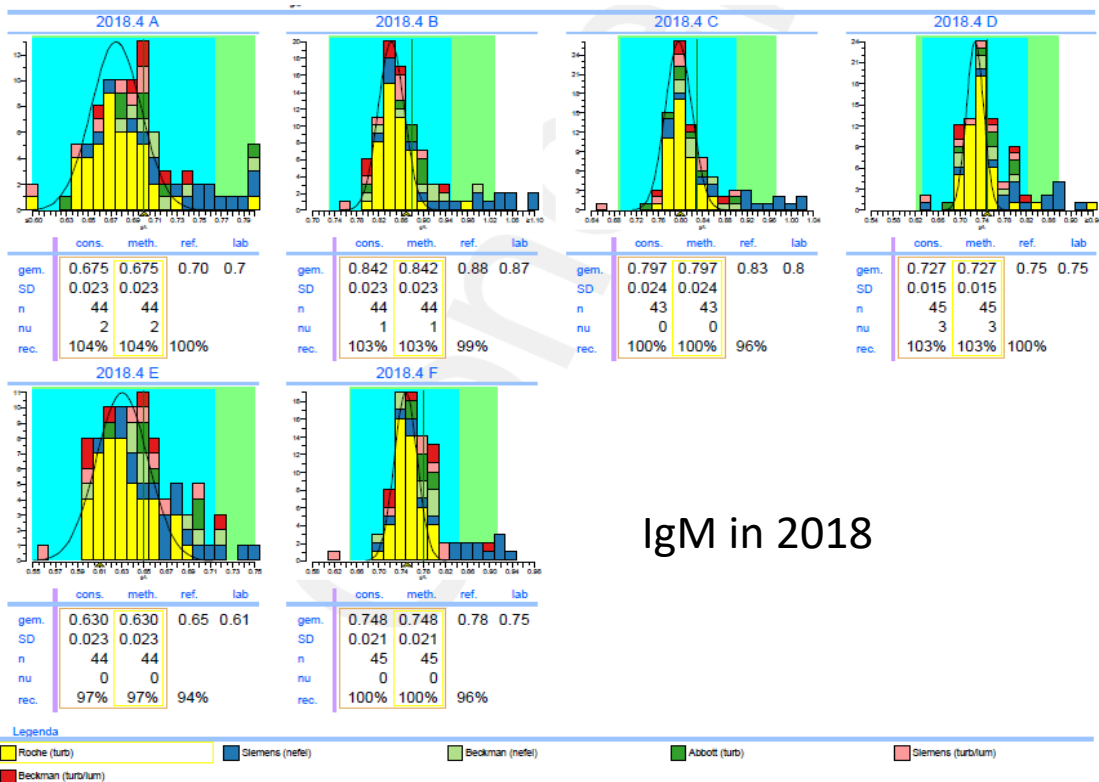
Inmiddels zijn wij in gesprek met de leverancier en zijn diverse onderzoeken ingezet.

Tot duidelijk wordt wat de oorzaak van de afwijking is zullen we geen score geven bij de IgM

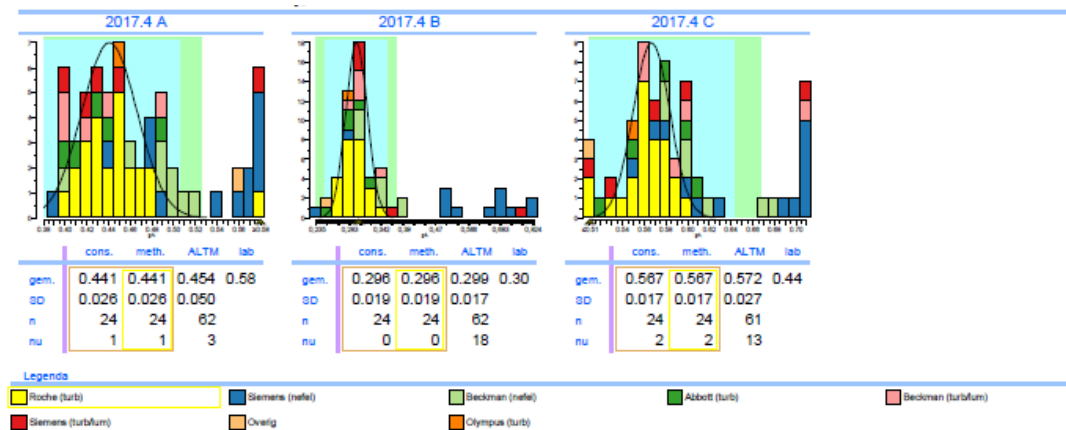
Met vriendelijke groet,

Inez-Anne Haagen, coördinator combi immunochemie

Cas Weykamp



IgM in 2018



IgM in de M-prot SKML rondzending 2017.4

# IgM, Wat is er gedaan:

## In samenwerking met Firma:

Probleem: voor **gevriesdroogde monsters** is er een matrix effect voor Siemens IgM (BNII en ProSpec) in de SKML rondzending.

Probleem wordt niet gezien in de Instand (D'land)rondzending met plasma en/of serum, lyophilised.

### Acties SKML:

- a. **ingevroren serum** geprobeerd: is beter maar nog steeds matrix effect
- b. **gefiltreerd serum** en serum uit andere bron dat ingevroren is geprobeerd: probleem blijft

Opmerkelijk is dat de ProSpec een lab geen matrix probleem heeft als met "eigen protocol" gewerkt wordt. Dit wekt de suggestie dat er iets subtiels is met de meting/reagens van Siemens. Bij patiënten ook grote kans op problemen?

### f. **gedelipideerd serum**, waarneming met IgM ontvet:

1. *geeft verhoogde waardes op Roche-TQ, turbidimetrie.*
2. Atellica Solution-turbidimetrie: ingevroren poolserum en gedelipideerd gemeten waardes overeenkomend met ref materiaal (delipideren heeft geen effect, gemeten waardes waren goed en blijven goed.)
3. gemeten op BNII, Atellica-nefelometrie (afh van protocol, zie eigen protocol) waardes overeenkomend met ref materiaal

### Voorstel:

Scoren op methodegroep

### Conclusie:

**Wat is er aan de hand?**



Stichting Kwaliteitsbewaking  
Medische Laboratoriumdiagnostiek

**Combi immunochemie**  
**Sectie humorale immunologie**

**SKML congres 4 juni 2019**

**De expert zegt:**  
**“Tijd voor Actie!”**

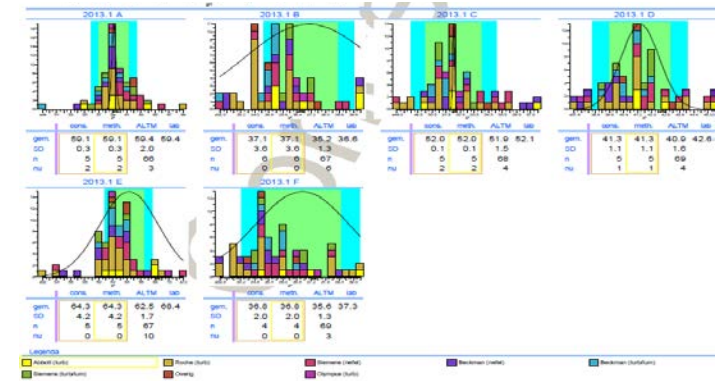


# ACTIE?

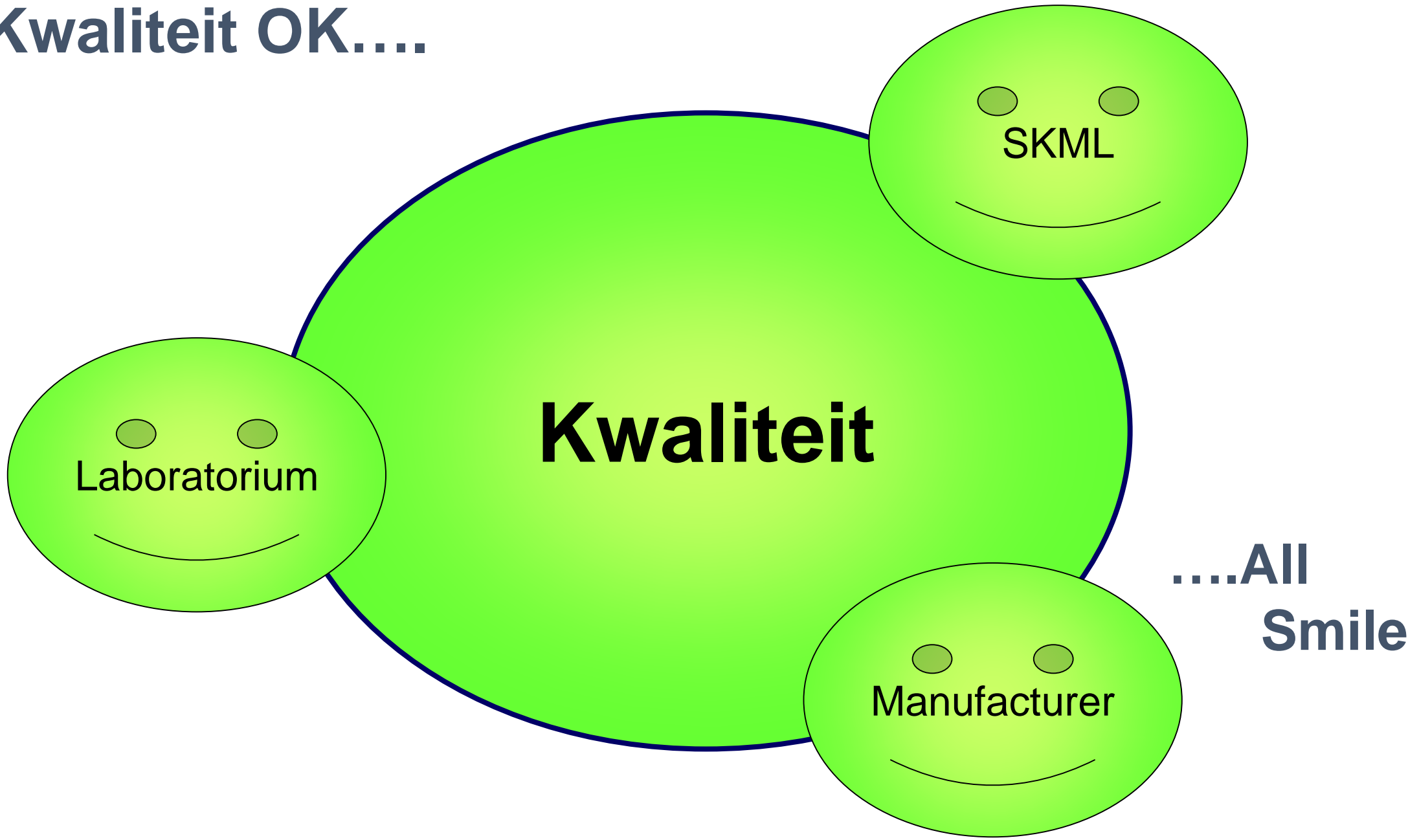
## Ja/Nee?

## Hoe dan?

- **Gebruik van referentie materiaal ondersteund met een doorloper**
- **Herstandaardisatie door firma**
- **Factor door laboratorium ingevoerd**
- **Aanbeveling door firma**
- **Gebruik van dezelfde standaard?**
- **Blijf communiceren**



**Kwaliteit OK....**



**....All  
Smile**