Jaarverslag 2006, SKML Stuurgroep Kalibratie 2000

Missie:
De stuurgroep Kalibratie 2000 heeft zich ten doel gesteld commuteerbare kwaliteitscontrolematerialen te ontwikkelen waaraan, indien haalbaar, targetwaarden worden toegekend voor juistheidsverificatie.

Kalibratie 2000 en de SKML:
In 2006 zijn de eerste stappen gezet om de missie van Kalibratie 2000 een gemeenschappelijk streven van alle secties binnen de SKML te maken. Daartoe is bij de SKML een officieel verzoek ingediend om Kalibratie 2000 een formele status binnen SKML te geven met bijbehorende financiële middelen. Het is wenselijk en essentieel dat een vertegenwoordiging van alle secties plaats neemt in de Kalibratie 2000 stuurgroep.

Samenstelling stuurgroep:
In 2006 zijn geen nieuwe secties toegetreden tot de stuurgroep Kalibratie 2000
De stuurgroep Kalibratie 2000 bestaat uit de volgende leden:

Dr. H. Baadenhuijsen	Algemene chemie
Mevr. Dr. C. Cobbaert	Lipiden
Mevr. Dr. I. Klasen	Serum eiwitten
Dr. A. Ross	Bindingsanalyse
Dr. E. Lentjes	Bindingsanalyse
Dr. T. van den Besselaar	Stolling
Dr. H. Hooijkaas	Reuma serologie
Mevr. Dr. A. Claessen	Infectie serologie
Dr. D. Touw	Toxicologie
Dr. N. Boone	Toxicologie
Dr. F. Preijers	Flowcytometrie
Dr. J. Gratama	Flowcytometrie
Dr. C.W.Weykamp	Monsterbereiding en studieondersteuning
Dr. R. Jansen	Voorzitter
Mevr. Dr. Ir. A. Kuypers	Secretaris

Vergaderfrequentie:
In 2006 is de stuurgroep van Kalibratie 2000 2x bij elkaar geweest: in april en oktober.

Publicaties:

1. Jansen R, Schumann G, Baadenhuijsen H, Franck P, Franzini C, Kruse R, Kuypers A, Weykamp C, Panteghini M. Trueness verification and traceability assessment of results from commercial systems for measurement of six enzyme activities in serum. An international study in the EC4 framework of the Calibration 2000 project. Clinica Chimica Acta 368 (2006) 160-167.
2. Baadenhuijsen H, Cobbaert CM, Jansen RTP. Kalibratie 2000 en de weerbarstige praktijk aan de hand van de LD-bepaling. Ned.Tijdschr.Klin.Chem.Labgeneesk. 2006; 31:178-179.
3. Van den Besselaar AMHP, Haas FJLM, Kuypers AWHM. Harmonisation of factor VIII:C assay results: study within the framework of the Dutch project ‘Calibration 2000’. Br J Haematol 2006; 132:75-9.

Voortgang:

Algemene chemie en lipiden

In 2006 werd het kreatinine referentiesysteem compleet door het beschikbaar komen van NIST SRM 967 materiaal waarmee diagnostica fabrikanten hun kreatinine assays kunnen standaardiseren en traceerbaar maken naar "een standaard van hogere orde". In SKML verband beoogde de sectie algemene chemie om het proces van standaardisatie en traceerbaarheid naar "een standaard van hogere orde" te onderzoeken. Enerzijds werd een NIST SRM 967 - like juistheidverificatiemateriaal aangemaakt dat in EC4 verband gebruikt werd in een internationaal juistheidonderzoek (publicatie volgt). Anderzijds werd met commuteerbaar kwaliteitscontrolemateriaal in de Combi Nieuwe Stijl landelijk getoetst wat de bias was anno 2006. Het symposium "Kreatinine Verklaard" werd georganiseerd (14 september 2006 te Nijmegen) wat vrijwel geheel gewijd was aan kreatinine standaardisatie en aan de selectie van passende eGFR formules die toelaten om de GFR urinevrij te schatten, louter en alleen op basis van een serum kreatinine spiegel. Eind 2006 werden de voorbereidingen getroffen voor een landelijke eGFR enquête aan de hand van een casusmodel gekoppeld aan waarden gemeten in een eerdere rondzending. De uitkomsten van de landelijke enquete zullen als basis dienen om nadere aanbevelingen te formuleren t.a.v. selectie van kreatinine assays, kreatinine standaardisatie en eGFR (MDRD) implementatie.

De sectie algemene chemie streeft er ook naar om op termijn het pakket cardiale merkers c.q. cardiovasculaire risicofactoren (Hcy, apo A-I en apo B, CRP, myoglobine, c troponine I en T) en hartfalenmerkers (BNP, NT-proBNP) landelijk te harmoniseren. Een integraal plan van aanpak is ontwikkeld waarbij de Kalibratie 2000 uitgangspunten worden gehanteerd. Een eerste rondzending met acht kandidaat harmonisatoren –zijnde serum- of plasmapools van acute coronair syndroom patiënten, serumpools van gezonde patiënten gespiked met NIST SRM 2921 of recombinant materiaal- werd uitgezet eind 2006. De landelijke data zijn in bewerking. Aan de hand van de rondzendresultaten worden keuzes gemaakt t.a.v. de kandidaat harmonisatoren en wordt vervolgonderzoek gepland.

Serum eiwitten

Een 'trueness verificator' is de afgelopen jaren op de markt gebracht onder code IMM-02. Deze is verkrijgbaar bij het MCA van het SKML. Waardentoekenning tov de internationale standaard CRM470 heeft plaats gevonden voor: Albumine, Pre-albumine, IgG, IgM, IgA, Haptoglobine, Ceruloplasmine, A1AT, Transferine, C3 en C4.
Verdere promotie voor het gebruik van dit materiaal moet in de komende periode plaatsvinden.

Bindingsanalyse

Eind 2006 zijn de voorbereidingen gestart voor een twinstudie die begin 2007 uitgevoerd gaat worden voor de tumormerkers CEA, CA125, CA15.3 en CA19.9.
Verder zijn de resultaten van de rondzending van thyreoglobuline in 2005 verder uitgewerkt en zijn ook hier voorbereidingen bezig voor een vervolg twinstudie begin 2007.

Speciale bindingsanalyse

Op 24 juli werd tijdens het AACC congres in Chicago de IFCC Working Group on Standardization of Thyroid Function Tests (WG-STFT) opgericht. Deze groep gaat verder met de initiatieven die in een langer bestaand EU-project waren genomen, m.n. het ontwikkelen van referentiemethoden voor T4, T3, FT4 en TSH, hetgeen voor de drie

eerstgenoemden inmiddels is gerealiseerd. De referentiemethode voor FT4 bestaat uit een combinatie van evenwichtsdialyse en LC/MS, die aan de Universiteit van Gent is ontwikkeld i.s.m. de vertegenwoordiger van de speciale bindingsanalyse. Als eerste stap op het gebied van de FT4 kalibratie zal de WG-STFT fondsen werven om een testpanel te creëren dat primair door fabrikanten moet worden gemeten.
Op 18 november is op uitnodiging van de Duitse vereniging voor Kinderendocrinologie in Dresden een voordracht over de harmonisatie van groeihormoon in Nederland gehouden.

Stolling
In het jaar 2006 is er een effectstudie gedaan met een kandidaat kalibrator voor de fibrinogeen bepaling. De kandidaat kalibrator was een gevriesdroogd plasma waaraan een gehalte van 2,55 g/L was toegekend na kalibratie met de internationale standaard voor fibrinogeen. Vier gevriesdroogde test plasma's werden samen met de kandidaat kalibrator naar 69 deelnemende Nederlandse laboratoria gezonden. Twee test plasma's waren gepoolde plasma's afkomstig van patiënten die met vitamine K-antagonisten werden behandeld. Een ander test plasma was een gepoold plasma afkomstig van gezonde donoren, en het vierde test plasma was afkomstig van een patiënt met milde hemofilie A. Iedere deelnemer analyseerde de vier test plasma's met de routine ijklijn voor de fibrinogeen bepaling en ook met een ijklijn geconstrueerd met behulp van de meegezonden kandidaat kalibrator. Er werden resultaten ontvangen van 60 deelnemers. De meeste deelnemers gebruikten de methode volgens Clauss voor de fibrinogeen bepaling (n= 52). Vrijwel alle overige deelnemers gebruikten een PT bepaling waarvan het fibrinogeengehalte werd afgeleid (PT-afgeleide methode). De tussen-lab variatiecoëfficiënt (VC) met de routine ijklijn varieerde van 8,4% tot 11,4% (alle methoden, n=60). De VC's van de uitslagen verkregen met de ijklijn van de meegestuurde kandidaat kalibrator waren lager (6,0% - 9,2%). Het gebruik van een gemeenschappelijke kalibrator had dus een gunstig effect op de harmonisatie van de fibrinogeen bepaling. Toch bleef er nog een aanzienlijk verschil bestaan tussen de (gemiddelde) uitslagen met de Clauss methode en die met de PT-afgeleide methode, met name bij de hogere fibrinogeengehalten (> 3 g/L). Dit suggereerde dat de test plasma's en/of de kandidaat kalibrator niet volledig commuteerbaar waren. De werkgroep maakte plannen om een nieuw kandidaat kalibrator materiaal te bereiden voor verder onderzoek.

Reumaserologie
Een fusie tussen de SKML en de stichting Relares heeft plaats gevonden. De Relares gelden zijn bedoeld voor het maken van nieuwe referentiematerialen tbv autoimmuunserologie. Onder de vlag van de sectie humorale immunologie is de werkgroep standaardisatie autoimmuun serologie opgericht (WG-SAS). De WG-SAS stelt zich ten doel referentie materialen te produceren ten behoeve van de autoimmuunserologie. Ten eerste wordt gestreefd commuteerbaar referentiemateriaal te ontwikkelen voor de bepaling van reumafactoren en voor anti-CCP. Daarna zullen referentie materialen volgen voor anti-dsDNA, anti-TTG en –endomysium, anti-cardiolipine, anti-TPO/TG, ANA. Dit in een nog nader te bepalen volgorde en met nog nader te bepalen specificaties.
Deze werkgroep onderhoudt het contact met het kalibratie 2000 project. De reeds beschikbare Relares materialen zijn overgedragen aan de MCA te Winterswijk.

Infectieziekten serologie
De sectie Infectieziekten serologie heeft in 2006 besloten te starten met het maken van standaarden / referentie materialen voor harmonisatie van serologische bepalingen. In eerste

instantie wordt gestart met het ontwikkelen van referentiematerialen voor Rubella IgG antistoffen en Pertussis toxine IgG antistoffen.

Toxicologie
De KKGT is in september 2006 begonnen met een studie naar de commuteerbaarheid van haar testmonster materiaal. Op basis van retrospectieve validatie van het KKGT rondzendprogramma in de periode tussen 1996 en 2006, immuno-assay als analyse techniek en klachten van deelnemers zijn drie geneesmiddelen geselecteerd.
Met retrospectieve validatie werd gekeken of de variabiliteit van analyseproces karakteristieken binnen de gestelde specificatie limieten met 95% betrouwbaarheid kon voldoen. Tobramycine (aminoglycoside antibioticum) en carbamazepine (anti-epilepticum) scoorden slecht op basis van de variabiliteit in het analyse proces. Valproinezuur is gekozen als geneesmiddel waarvan de analyse als een robuust proces uit de retrospectieve validatie naar voren kwam.
KKGT rondzendprogramma testmonsters voor tobramycine, carbamazepine en valproinezuur worden vooralsnog bereid in gevriesdroogd kalfsserum.
De houdbaarheid van kandidaatmateriaal en de verzamel- en bewaarcondities van patiëntenmateriaal werden voor de uitvoer van de studie in een validatietraject onderzocht. Drie matrices; vloeibaar kalfsserum, vloeibaar humaan serum (beiden ongeconserveerd) en gevriesdroogd kalfsserum zijn als kandidaatmaterialen in drie concentraties bereid.
De mate van beschikbaarheid van humaan serum is voor uitvoer van de studie onderzocht. Samen met het centraal verzameld en gepoold patiëntenmateriaal zijn deze monsters geanalyseerd in de deelnemende laboratoria. Hierbij werd een zo groot mogelijke diversiteit aan analyse methoden nagestreefd. Tobramycine werd door 7 deelnemende labs, allen met een verschillende immuno-assay analyse methode, onderzocht. Valproinezuur en carbamazepine werden door respectievelijk 12 en 9 laboratoria met een verschillende immuno-assay techniek onderzocht. De resultaten voor valproinezuur en carbamazepine werden met matrix-effect vrije referentie technieken vergeleken. Voor tobramycine bestaat geen matrix-effect vrije methode, deze resultaten zijn dan ook statistisch geanalyseerd met behulp van de “State of the Art” veldmethode. De resultaten voor tobramycine worden hierbij berekend en weergegeven als het best haalbaar met de huidige immuno-assay technieken.
Tijdens de KKGT discussiedag op 30 mei 2007 te Ede, worden de resultaten van deze studie gepresenteerd.

Flowcytometrie
Voor flowcytometrische screening van HLA-B27 op lymfocyten in perifeer bloed wordt het gebruik van HLA-B27 positieve en HLA-B27 negatieve controle cellen noodzakelijk geacht voor een juiste data-interpretatie.
Het gebruik van controlemonsters dient meerdere doelen:

- de kwaliteit van de bepaling op zich wordt gecontroleerd,
- de interpretatie van de listmode data wordt vereenvoudigd,
- er kan, mits de controlemonsters beschikken over de relevante HLA-typeringen, meer inzicht worden verkregen in de kruisreactiviteit van de assay zoals deze door de gebruiker wordt toegepast, en
- indien van toepassing, het titreren van antistoffen wordt vereenvoudigd.

Het doel van dit project is om volbloedmonsters of buffycoats te stabiliseren voor minimaal 3 maanden zodat zij als kalibratoren gebruikt kunnen worden voor flowcytometrische HLA-B27 screening.
Inmiddels zijn diverse bloedbankdonoren geselecteerd met HLA-B27 typeringen en niet kruisreagerende HLA-B antigenen.

Er gestart met het testen van donoren op vers materiaal, na korte termijn stabilisatie en na lange termijn stabilisatie op 1 week, 2 weken, 1 maand, 2 maanden, 3 maanden, 6 maanden en 12 maanden. Datacollectie vindt plaats in 2007.