

## Jaarverslag 2007, SKML Stuurgroep Kalibratie 2000

### Missie:

De stuurgroep Kalibratie 2000 heeft zich ten doel gesteld bepalingen te kalibreren dan wel te harmoniseren door middel van het ontwikkelen van commuteerbare materialen waaraan, indien haalbaar, targetwaarden worden toegekend voor juistheidsverificatie.

### Kalibratie 2000 en de SKML:

In 2007 heeft Kalibratie 2000 een formele status binnen de SKML gekregen met de daarbij horende financiële middelen. Kalibratie 2000 is sectie overschrijdend en het is daarom wenselijk en essentieel dat een vertegenwoordiging van alle secties plaats neemt in de Kalibratie 2000 stuurgroep.

### Samenstelling stuurgroep:

In 2007 zijn geen nieuwe secties toegetreden tot de stuurgroep Kalibratie 2000. Dr. H. Baadenhuijsen heeft tijdens de bijeenkomst in maart 2007 afscheid genomen van de Stuurgroep Kalibratie 2000.

De stuurgroep Kalibratie 2000 bestond in 2007 uit de volgende leden:

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

### Vergaderfrequentie:

In 2007 is de stuurgroep van Kalibratie 2000 2 x bij elkaar geweest: in maart en november.

### Publicaties:

1. Cobbaert C, Michielsens E, Weykamp CW, Baadenhuijsen H and van Dieijen-Visser. Do NIST SRM 2921 and recombinant cTnI-based serum pools have potential to harmonize cTnI results? Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 175-178.
2. Van den Besselaar AMHP, Haas FJLM, Van der Graaf F, Kuypers AWHM. Harmonization of fibrinogen assay results: study within the framework of the Dutch

project 'Calibration 2000'. Int Jnl Lab Hem 2008; doi:10.1111/j.1751-553X.2008.01070.x

3. Jansen RTP, Baadenhuijsen H and Willems J. External Quality Assessment in the Netherlands: past, present and future. On the way to trueness assessment. Clinical chemistry behind the Dykes 2007 ISBN-nr: 978-90-76014-16-6
4. Jansen RTP. EC4: Clinical laboratory globalisation; the EU directives. Ned. Tijdschr Chem Labgeneesk 2007;32:186-188

#### **Abstracts:**

1. Delanghe J, Cobbaert C, Galteau MM, Harmoinen A, Jansen R, Kruse R et al. Trueness verification of the current creatinine assays demonstrates a disappointing variability which insufficiently meets changing clinical needs. Clin Chem Clin Lab Med 2007; 45 (special suppl.): S 59 (symposium abstract).
2. Cobbaert C, Michielsen E, Weykamp CW, Baadenhuijsen H and van Dieijen-Visser. Do NIST SRM 2921 and recombinant cTnI-based serum pools have potential to harmonize cTnI results? Clin Chem Clin Lab Med 2007; 45 (special suppl.): S18 (symposium abstract).
3. Cobbaert C, van Haperen C, Bastijns C and Demacker P. HDL-cholesterol: what's in a measure? Clin Chem Clin Lab Med 2007; 45 (special suppl.): W 271.
4. Jansen RTP. Clinical laboratory globalisation: The EU directives. Clin Chem Lab Med 2007, 45 Special supplement S1-S473 (Abstract)

#### **Presentaties:**

1. Dr. N. Boone: Verloop en resultaten x-lingstudie. KKGt discussiedag, Ede, 30 mei 2007
2. Dr. C. Cobbaert: Standaardisatie van lipidenmetingen. PAOKC cursus voor klinisch chemici, Noordbrabants Museum, 's Hertogenbosch, 26 april 2007.
3. Dr. C. Cobbaert: Nieuwe serum kreatinine standaardisatie – implicaties voor TDM. 10<sup>de</sup> KKGt discussiedag voor apothekers. De Reehorst, Ede. 30 mei 2007.
5. Dr. C. Cobbaert: Do NIST SRM 2921 and recombinant cTnI-based serum pools have potential to harmonize cTnI results? Euromedlab congress, Amsterdam, 3-7 juni 2007.
4. Ayse Demir (ex-kcio in het UMCU): Harmonisation of CEA CA125, CA15.3 and CA199 assay results: a pilot study within the framework of the Dutch project "calibration 2000". Euromedlab congress, Amsterdam, 3-7 juni 2007.
5. Dr. RTP Jansen: Grenzen aan de Kwaliteit is de Graal gevonden? Afscheidssymposium Henk Baadenhuijsen, 26 maart 2007
6. Dr. RTP Jansen: EC4 Clinical Laboratory Globaliation: The EU Directives. Euromedlab 2007, Amsterdam 6 juni 2007

#### **Voortgang:**

##### *Algemene chemie*

De sectie algemene chemie heeft in 2007 diverse pogingen ondernomen om commuteerbare controlematerialen te ontwikkelen voor cardiale merkers in zijn algemeenheid en voor cTnI/T in het bijzonder. Aan de hand van de bevindingen uit diverse proefopzetten is uiteindelijk gebleken dat NIST SRM 2921 gespiked in humane heparine pools niet het beoogde commuteerbare materiaal oplevert. Problemen van fragmentatie en veranderende immunoreactiviteit treden op bij bewaren van het materiaal.

Voor het nader uitzoeken is samenwerking gezocht met Prof M van Dieijen (AZ Maastricht). De bevindingen zijn gecommuniceerd gedurende Euromedlab 2007 te Amsterdam. Daarnaast zijn de gegevens gepubliceerd in het NTKCL.

Er is verder gewerkt aan het concept Combi Nieuwe Stijl. Introductie van gelaagde rapportages (dag-, kwartaal-, en jaarrapporten) werd voorbereid, en het begrip toetsniveau t.b.v. adequate scoreberekeningen werd geïntroduceerd. Een publicatie over het nieuwe scoresysteem werd voorbereid.

In 2007 zijn wezenlijke wijzigingen in de samenstelling van de sectie algemene chemie opgetreden: Op 26 maart 2007 is officieel afscheid genomen van Dr Henk Baadenhuijsen die 40 jaar verbonden was als klinisch chemicus aan het UMC St-Radboud, Nijmegen. Zijn 33-jarige zoektocht naar de Heilige Graal, aanvankelijk in SKZL- en later in SKML-verband, werd bekroond met een mini-symposium. Collega Baadenhuijsen blijft voorlopig als deeltijd adviseur aan de sectie verbonden. Waarneming van zijn taken wordt geborgd in een tandemconstructie met Cas Weykamp. In november werd afscheid genomen van collega Thelen, die uittrad als secretaris van de sectie. Robert de Jonge van het ERMC Rotterdam is toegetreden als nieuw lid.

#### *Serum eiwitten*

De trueness verifcator als afgeleide van de internationale standaard CRM470 is nu een aantal jaren verkrijgbaar (bij Dr. C. Weykamp, Winterswijk). Ten gevolge van de harmonisatie van serum eiwitten via de CRM470 waren de landelijke VC's beduidend gedaald. In 2007 bleken deze VC's weer toe te nemen, de oorzaak hiervan is vooralsnog onduidelijk. Of door een breder gebruik van de trueness verifcator dit effect weer teniet gedaan kan worden zal moeten worden onderzocht.

#### *Tumormerkers*

Uit een rondzending van ingevroren harmonisatiemateriaal bleek dat voor de bepalingen CEA, CA 125, CA 15.3, en CA 19.9 bij sommige combinaties van methodes het harmonisatiemateriaal zich niet gedraagt als patiëntenmateriaal. Mogelijk ligt de oorzaak hiervan in het pre-analytische traject. Een nieuwe studie met opnieuw rondgezonden harmonisatiemateriaal en duidelijke instructies over bewaar- en meetcondities moet uitwijzen of het niet commuteerbaar zijn van de harmonisatiemonsters aan de pre-analyse ligt.

#### *Endocrinologie*

Voor vrij T4 is een referentiemethode ontwikkeld (samenwerking Thienpont/Ross) die inmiddels ook gepubliceerd is. Als eerste stap op het gebied van de FT4 kalibratie zal de IFCC Working Group on Standardization of Thyroid Function Tests (WG-STFT) fondsen werven om een testpanel te creëren dat primair door fabrikanten moet worden gemeten. Dr. A. Ross heeft zitting genomen in de IFCC werkgroep voor standaardisatie van TSH en heeft hierover verslag gedaan aan de Kalibratie 2000 stuurgroep.

N.a.v. een presentatie over groeihormoonstandaardisatie eind 2006 voor Duitse kinderartsen is een artikel geschreven en gepubliceerd over reductie van de CV door het gebruik van een harmonisatiemonster.

#### *Stolling*

In de afgelopen twee jaren heeft de sectie stolling onderzoek gedaan naar de bruikbaarheid van diepgevroren en gevriesdroogde plasma's als mogelijke fibrinogeen kalibrator. Eén van deze gevriesdroogde plasma's werd bereid uit CPD-bloed van gezonde donoren. Er werden tweelingstudies uitgevoerd waarbij de Clauss-methode werd gekoppeld aan de zogenaamde PT-afgeleide fibrinogeenbepaling. Vervolgens werd een fibrinogeenconcentratie bepaald in

het bovengenoemde gevriesdroogde plasma, met de Clauss-methode en de internationale standaard voor fibrinogeen. Tenslotte werd een effect-studie uitgevoerd waarbij het gevriesdroogde plasma als gemeenschappelijke kalibrator werd gebruikt.

De resultaten van de effectstudie waren positief. Vóór harmonisatie werd er een verschil waargenomen tussen de Clauss methode met Dade Behring reagentia en de Clauss methode met Roche Diagnostics: in de eerstgenoemde groep waren de gemiddelde fibrinogeengehaltes 4-10% lager dan in de tweede groep. Na harmonisatie met de gemeenschappelijke calibrator werd het gemiddelde verschil tussen de twee genoemde groepen gereduceerd tot 0-5%.

Ondanks de reductie van de tussen-laboratoriumvariatie bleven er verschillen bestaan tussen Clauss en PT-afgeleide fibrinogeenbepaling.

De oorzaak van de discrepanties is niet bekend. Waren de gevriesdroogde materialen toch niet commuteerbaar? Is CPD-bloed wel het goede uitgangsmateriaal voor een calibrator? De testplasma's zijn meestal niet uit CPD-bloed verkregen, maar uit citraatbloed.

In 2008 wordt met een studieplan geprobeerd antwoord te krijgen op de volgende vragen: kunnen de verschillen tussen Clauss-methode en PT-afgeleide methode gecorrigeerd worden met een gevriesdroogd kalibrator plasma bereid uit citraatbloed? Een tweede vraag is of harmonisatie kan worden verbeterd door meerdere calibratoren (bijv. drie of vier) met een breed bereik van fibrinogeengehaltes toe te passen in plaats van slechts één materiaal.

#### *Autoimmuunserologie*

Hierin is de werkgroep standaardisatie autoimmuunserologie (WGSAS) actief. Deze werkgroep rapporteert zowel aan de stuurgroep Kalibratie 2000 als aan de sectie HIM van de SKML.

Inmiddels zijn de RELARES standaarden formeel overgedragen aan de sectie HIM en beschikbaar voor standaardisatie werkzaamheden (verkrijgbaar bij Dr. C. Weykamp, Winterswijk). Tevens is een inventarisatie gemaakt of, en zo ja welke, commercieel verkrijgbare standaard- of controlematerialen verkrijgbaar zijn voor dit doel. Een prioriteitenlijst werd opgesteld voor welke autoimmuunparameters standaardisatie het meest wenselijk en haalbaar werd geacht. Gestart werd met het rondzenden van het Reuma RELARES serum voor de parameters Reumafactor en anti-CCP in de Reumarondzending van de SKML.

#### *Infectieziekten serologie*

De sectie Infectieziekten serologie is in 2007 gestart met het maken van standaarden/referentie materialen voor harmonisatie van serologische bepalingen. Er werd gestart met een protocol voor Rubella IgG antistoffen en Pertussis toxine IgG antistoffen. De verwachting is dat in de loop van 2008 voldoende sera verzameld zijn om analyses te gaan starten.

#### *Toxicologie*

De sectie KKGTT voert het commuteerbaarheidsonderzoek uit volgens het volgende concept:

- Patientmateriaal wordt verzameld en gepooled zodanig dat een uit 5 punten bestaande ijklijn kan worden geconstrueerd. Deze ijklijn beslaat de gehele therapeutische range.
- Kandidaatmaterialen worden bereid door blanco materiaal te spiken met 3 concentratieniveaus van de te onderzoeken stof. De concentraties zijn respectievelijk laag, middel en hoog in de als normaal beschouwde range.
- Iedere deelnemer van de KKGTT wordt benaderd of hij wil participeren waarbij erop wordt gelet dat alle analytische technieken zijn vertegenwoordigd.

- Indien mogelijk worden de gemiddelde waarden gemeten met HPLC of GC methoden als referentiemethode gebruikt; indien geen HPLC of GC methode beschikbaar is, wordt de consensuswaarde van alle deelnemers als referentiewaarde gezien.

In 2007 zijn de volgende experimenten uitgevoerd:

Tweeling studies voor valproïnezuur, carbamazepine en tobramycine met als kandidaatmaterialen humaan ingevroren, kalfsserum ingevroren en kalfsserum drooggevroren. De resultaten waren als volgt: valproïnezuur is in alle kandidaat materialen commuteerbaar, carbamazepine ook, met uitzondering van de lage concentratie, waar alleen humaan ingevroren commuteerbaar was en voor tobramycine was de uitkomst dat alleen de humane diepgevroren monsters commuteerbaar waren. Het experiment is deels herhaald, waarbij tobramycine drooggevroren humaan materiaal is vergeleken met diepgevroren. Ook het drooggevroren humane materiaal bleek commuteerbaar.

Vervolgens is de commuteerbaarheid van digoxine onderzocht. Kandidaatmaterialen waren humaan serum diepgevroren, kalfsserum diepgevroren en kalfsserum drooggevroren. Voor alle onderzochte concentraties bleek drooggevroren kalfsserum de beste resultaten te geven. De experimenten werden ondersteund en statistisch uitgewerkt door drs. N. Boone onder supervisie van dr. D.J. Touw. Vanwege het aanvaarden van een functie elders door dhr. Boone, loopt het project nu enige vertraging op. Naar verwachting zal na de zomer van 2008 het project worden gecontinueerd met onderzoek naar een aantal psychofarmaca.

#### *Flowcytometrie*

Voor flowcytometrische screening van HLA-B27 op lymfocyten in perifere bloed wordt het gebruik van HLA-B27 positieve en HLA-B27 negatieve controlecellen 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 is 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 2008.