

Gekalibreerde, geautomatiseerde trombinegeneratiecurve

Citation for published version (APA):

Keularts, I. M. L. W., Beguin, S., & Hemker, H. C. (2004). Gekalibreerde, geautomatiseerde trombinegeneratiecurve: Een nieuwe klinische functie-/screeningstest voor het integrale stollingssysteem. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, 148(47), 2364-. <https://www.ntvg.nl/artikelen/nederlandse-vereniging-voor-klinische-chemie-en-laboratoriumgeneeskunde-0/volledig>

Document status and date:

Published: 20/11/2004

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

I.M.L.W.Keularts, S.Beguin en H.C.Hemker (Rotterdam), *Gekalibreerde, geautomatiseerde trombinegeneratiecurve; een nieuwe klinische functie-/screeningstest voor het integrale stollingssysteem*

Het stollingssysteem in vivo is zo complex dat zijn functie niet goed wordt weerspiegeld door een of meer stollingsfactorconcentraties of bloedplaatjeseigenschappen.

Methoden. De trombinegeneratiecurve (het 'trombogram') werd vanouds gebruikt om de stolbaarheid van bloed als geïntegreerd systeem te bestuderen. Verhoging van trombinegeneratie (TG) met > 10% duidt op een verhoging van het tromboserisico, verlaging ervan met > 70% wijst op een verhoging van het bloedingsrisico. De klassieke TG-bepaling is echter te arbeidsintensief voor routinegebruik. Met de 'calibrated automated thrombin generation' kunnen zowel in plaatjesarm als plaatjesrijk plasma 48 curven gelijktijdig bepaald worden, hetgeen toepassing in het klinisch-hematologisch laboratorium mogelijk maakt. Door variatie van de weefselfactor(TF)- en de trombomoduline(TM)-concentratie kunnen afwijkingen nader gelokaliseerd worden.

Resultaten. Hyperprotrombinemie (G20210A), remmerdeficiënties (antitrombinen, proteïne-S, -C) en geactiveerd-proteïne-C(APC)-resistentie verhogen TG. Lupusanticoagulans veroorzaakt een late start (stollingsremming) en verhoogde trombinevorming (tromboseneiging). Deficiënties van alle stollingsfactoren (inclusief Von Willebrandfactor en fibrinogeen), trombocytopenie, trombocytopathie (Glanzmann, Bernard-Soulier) zowel als antistollingsbehandeling (heparinen (ook laagmoleculairgewichtheparinen), orale antistolling, directe trombineremmers) en plaatjesremmers (abciximab, clopidogrel) verlagen het trombogram. Effectieve orale antistollings-therapie remt het trombogram 60-80%. Ook combinatietherapie kan gevolgd worden (bijvoorbeeld heparine plus orale anticoagulantia (OAC), OAC en antiplaatjesmedicatie).

Conclusies. Met het trombogram kan men dus: (a) hyper- en hypocoagulabiliteit opsporen, onafhankelijk van de oorzaak en (b) bepalen in welk areaal van het stollingsproces een gevonden afwijking gelokaliseerd moet worden. Dit vermindert de noodzaak om een groot aantal specifieke bepalingen uit te voeren.

H.Baadenhuijsen, A.Kuypers, C.Weykamp, C.Cobbaert en R.Jansen (Nijmegen), *Selectie, bereiding en karakterisering van commuteerbaar referentiemateriaal voor kalibratie van enzymbepalingen. Studie in het kader van het project 'Kalibratie 2000'*

In het project 'Kalibratie 2000' wordt gestreefd naar het harmoniseren van laboratoriumresultaten via kalibratie door middel van het ontwikkelen van commuteerbare, matrixgebaseerde secundaire referentiematerialen. De selectie, bereiding en karakterisering van geschikt referentiemateriaal voor de kalibratie van de 6 routinematig gemeten enzymen wordt beschreven.

Methoden. Poolsera afkomstig van patiënten en verschillende kandidaatmaterialen werden door 37 deelnemende laboratoria geanalyseerd. De resultaten van ieder laboratorium werden geëvalueerd in het licht van de resultaten van een referentiemethode door middel van regressieanalyse. Het materiaal met de meest geschikte eigenschappen, bestaande uit gevriesdroogd poolserum met toegevoegde recombinante humane enzymen, werd verkozten tot nationale enzymkalibrator. De bevroren versie van dit materiaal (zonder sucrose als cryoprotector) werd tevens ingezet als extern controleserum in rond-

zendingen van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek. De resultaten van 'gekalibreerde' en 'niet-gekalibreerde' laboratoria werden vergeleken met de percentuele tussenlaboratoriumspreiding (variatioecoëfficiënt, VC) als maat.

Resultaten. De resultaten uit de meest recente rondzendingen met gegevens van toegestuurd regulier serum (met toegevoegde enzymen van niet-humane oorsprong) en van het speciaal bereide natieve serum (met toegevoegde recombinant-enzymen van humane oorsprong) van zowel gekalibreerde als niet-gekalibreerde laboratoria waren als volgt: de reguliere monsters vertoonden een gemiddelde tussenlaboratorium-VC voor alle 6 enzymen (laag-hoog) van 5,4%-10,9% voor de niet-gekalibreerde laboratoria versus 3,9%-9,1% voor de 44 gekalibreerde laboratoria. Voor de speciaal bereide serummonsters was deze spreiding respectievelijk 5,3%-9,0% en 2,7%-4,7%, waarbij de laatstgenoemde spreiding zowel het gunstige effect van kalibreren aangeeft als tevens het belang benadrukt van het gebruik van de juiste monsters om dit effect te illustreren.

Conclusies. Wij zijn in staat geweest potentieel secundair referentiemateriaal met goede commuteerbaarheid voor de 6 betrokken enzymen te ontwikkelen. Duidelijk bleek dat de reguliere monsters zich beduidend slechter gedragen dan de meer natieve monsters en daardoor niet geschikt zijn voor controle van de juistheid van de laboratoriumuitslagen.

C.Klomp, A.P.Abbes en H.Engel (Zwolle), *De cel-I-mutatie-detectietechniek: 100% sensitiviteit in het detecteren van puntmutaties in genomisch DNA*

In het verleden zijn vele enzymen en technieken beschreven die werden aangewend voor het opsporen van mutaties in genomisch DNA. Ondanks deze vele pogingen is er geen enzym of techniek voorhanden die een hoge sensitiviteit toont in het screenen op het voorkomen van mutaties. Recent is een nieuw enzym, het endonuclease cel I, dat geëxtraheerd wordt uit selderij, beschreven voor het detecteren van mutaties. Het cel I is uniek omdat het DNA kan knippen bij voorkeur op de plaats van een mismatch in heteroduplexen. Het cel I detecteert 100% van de aanwezige sequentievarianten inclusief deleties, inserties en basesubstituties.

Methoden. In de cel-I-mutatedetectieassay wordt de eerste PCR van het target-DNA gevolgd door een tweede PCR met primers die gelabeld zijn met een fluorescerende kleurstof. Na heteroduplexvorming waarbij vooraf het DNA wordt gemengd met 'normaal' DNA worden de PCR-producten geïncubeerd met cel-I-endonuclease, dat een speciale voorkeur heeft voor het knippen van de mismatches. De splitsingsproducten (mutaties of polymorfismen) worden daarna gedetecteerd met behulp van elektroforese op een DNA-sequencer. De mutatie wordt gedetecteerd als een verdikte of extra band op de gel.

Resultaten. Meer dan 20 verschillende mutaties in enkele honderden PCR-producten zijn getest. Bovendien zijn vele exonen gescreend op het voorkomen van mutaties bij patiënten met erfelijke ziekten zoals de ziekte van Wilson, familiale mediterrane koorts en familiale neurohypofysaire diabetes insipidus. Reeds vooraf bekende mutaties werden allemaal gedetecteerd. Ook werden nieuwe mutaties geïdentificeerd door het sequencen van verdachte DNA-producten. De cel-I-mutatedetectietechniek spoort de mutaties op met 100% sensitiviteit en 100% specificiteit.

Conclusies. De resultaten demonstreren dat de cel-I-mutatedetectietechniek een zeer gevoelige techniek is voor het opsporen van puntmutaties in genomisch DNA.