

Analys

Vakblad voor
biomedisch laboratoriummedewerkers



Uit de praktijk:

Erythema migrans

Kinderwens bij transgenders?

Wetenschap biedt nieuwe mogelijkheden!

Ongecontroleerde verspreiding
van de parasitaire ziekte **Leishmaniasis**

Analist & Onderzoek

Chinese metabole puzzel

2^e generatie Serion Borrelia burgdorferi IgG / IgM ELISA



virion\sersion

- ✓ Volgens actuele CBO-Richtlijn Lymeziekte: Lysaat + Vlse recombinant → hoge sensitiviteit
- ✓ Gebruik 4-PL methode: zeer betrouwbare kwantificering en reproduceerbare resultaten
- ✓ Optimale specificiteit door pre-absorptie van kruis reagerende antistoffen
- ✓ Betrouwbare detectie van intrathecale antistoffen in liquor (Reiber methode)



Hepatitis E – ELISA Mikrogen verder geoptimaliseerd

- ✓ Sensitiviteit verhoogd
- ✓ Behoud van de al hoge specificiteit
- ✓ Breekbare strips
- ✓ Gebruik van recombinante antigenen
- ✓ Uitstekende vergelijking met WHO standaard
- ✓ Infecties met alle HEV genotypes aantoonbaar



Voor betrouwbare HEV diagnostiek én seroprevalentie onderzoek.

MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Diverse bepalingen voor schildklier en type I Diabetes mellitus aandoeningen

- ✓ Medizym antistoffen TSH receptor (T.R.A.)
- ✓ Medizym anti-TPO
- ✓ Glutamic acid decarboxylase GAD
- ✓ Protein tyrosine phosphatase IA2
- ✓ Insulin autoantibodies IAA



QuikRead go[®]



Resultaat in 3 minuten

- ✓ Compacte automatische POCT multi analyte analyser
- ✓ Snelle en betrouwbare resultaten met laboratorium nauwkeurigheid vanuit een vingerprik

Nieuwe kit leverbaar:
wrCRP en wrCRP + Hb

- ✓ Kleiner bloed volume nodig
- ✓ Houdbaar bij kamertemperatuur
- ✓ Breder meetbereik



wrCRP

QuikRead go connectiviteit
upgrade beschikbaar

- ✓ Bi-directioneel via POCT1-A2
- ✓ Koppeling mogelijk aan alle middleware, HIS/LIS
- ✓ Uni-directioneel via ASTM

ORION
DIAGNOSTICA

Distributie in Nederland:

 **MEDIPHOS**
MEDICAL SUPPLIES

Mediphos Medical Supplies BV • Industrieweg 12B 6871 KA Renkum
• tel.: 0317-351838 • e-mail: info@mediphos.com

als kwaliteit en service tellen....

132

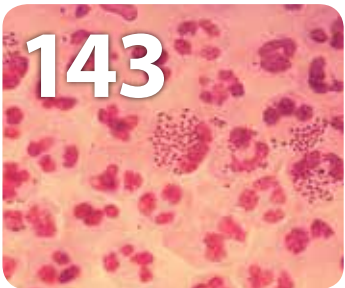


132 Ongecontroleerde verspreiding van de parasitaire ziekte Leishmaniasis

M. Rooker

De parasitaire infectieziekte Leishmaniasis verspreidt zich steeds verder, ook richting Nederland. KIT Biomedical Research houdt zich al meer dan twintig jaar bezig met de diagnostiek en behandeling van leishmaniasis. Hun onderzoek in onder andere Suriname wees uit dat meer informatie en voorlichting dringend nodig is om de ziekte terug te dringen. Daar, maar ook zeker hier.

143



134 Uit de praktijk: Erythema migrans

M. Berth

Een rode kring of vlek na een tekenbeet is vaak het eerste signaal van de ziekte van Lyme. De ziekte van Lyme wordt veroorzaakt door de Borrelia bacterie die wordt overgebracht door de teek. Erythema migrans is een vroegtijdige manifestatie van een Borrelia infectie en kan met het blote oog kan worden vastgesteld. In deze casus wordt besproken hoe een recente Borrelia infectie in de praktijk wordt vastgesteld.

154



135 Casus: Leerzame kennismaking met een Chinese metabole puzzel

N. Abeling

Een Chinees jongetje werd na een zwangerschapsduur van 37 weken geboren met een te laag geboortegewicht. De moeder had tijdens de zwangerschap dermatomyositis (een zeldzame auto-immuun aandoening, die gekenmerkt wordt door ontsteking van de huid en spieren). Het jongetje zag na de geboorte te lang geel, had milde cholestase en algehele spiërsapte. Wat is er aan de hand?

139 Kinderwens bij transgenders? Wetenschap biedt nieuwe mogelijkheden

143 Gonorrroe veroorzaakt door meningokokken?

145 Keuze combinatie factordeficiënte plasma's en APTT reagens voor bepaling van intrinsieke stollingsfactoren

149 Jaaroverzicht

150 Programma Congres Pre-Analyse

151 De zomervakantie is weer voorbij

153 Succesvol pionieren: Starten vanaf het nulpunt

154 Analist & Onderzoek

157 Programma Congres Focus op de Alvleesklier

157 Gezamenlijk nummer VAPvisie en Analyse

157 Wat is het?

158 Opleidingen

159 Agenda

159 In memoriam

Uitgave

Nederlandse vereniging van
bioMedisch laboratoriummedewerkers
NVML-leden ontvangen Analyse gratis.

Voor vragen over contributie, adreswijzigingen
of andere administratieve zaken rond Analyse
kunt u contact opnemen met het bureau van
de NVML.

Redactiecoördinatie en eindredactie

Annerieke Nieuwenhuijse
E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. M. de Bie, Pathologie,
St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg
mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML
mw. I. Linde, Infectieziekten, GGD, Amsterdam
dhr. R. Lindenbergh, Algemeen Medisch
Laboratorium (AML), Antwerpen
mw. dr. W.W.J. van de Sande, Medische Microbio-
logie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam

Vormgeving en opmaak

Celina Koekenbier | www.insight-design.nl

Coverfoto

Erik Karits

Druk

BDU

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre
Mw. M. van der Vegt
Tel.: 0572 - 820995 / 0572-348200
e-mail: info@mirandavanderveegt.nl

Oplage

2500 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2015

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 6: 20 november 2015

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld
over opleidingen) voor Analyse 6 graag uiterlijk
10 november 2015 tegemoet. Analyse 6 verschijnt
op dinsdag 1 december 2015 en Analyse 1 op
dinsdag 26 januari 2016.

Copyright

Het overnemen van artikelen is alleen toegestaan
na toestemming van de redactiecoördinator.

De NVML aanvaardt geen enkele
aansprakelijkheid voor de gepubliceerde
advertenties; evenmin houdt het opnemen
van advertenties en industriële informatie een
aanbeveling van de NVML in.

ISSN 0166-7688

Ongecontroleerde verspreiding van de parasitaire ziekte Leishmaniasis

M. Rooker, KIT Biomedical Research

Leishmaniasis, een relatief onbekende, maar in bepaalde gevallen dodelijke ziekte rukt op. Door globalisering en klimaatsverandering komt deze parasitaire infectie ook richting Nederland. KIT Biomedical Research houdt zich al meer dan twintig jaar bezig met de diagnostiek en behandeling van leishmaniasis. Hun onderzoek in onder andere Suriname wees uit dat meer informatie en voorlichting dringend nodig is om de ziekte terug te dringen. Daar, maar ook zeker hier.

Na malaria is leishmaniasis een van de belangrijkste parasitaire ziektes ter wereld. Volgens schattingen van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) zijn er wereldwijd ongeveer 12 miljoen mensen besmet met leishmaniasis. Elk jaar komen er 1,3 miljoen nieuwe gevallen bij en sterven twintig tot dertig duizend mensen aan de gevolgen van deze ziekte. Dr. Henk Schallig, onderzoekscoördinator Parasitologie van KIT Biomedical Research in Amsterdam: "De WHO deelt de ziekte in bij de hoogste categorie: een 'emerging uncontrolled infectious disease'. Dat betekent dat er sprake is van een ongecontroleerde verspreiding, er geen vaccin is en geneesmiddelen hun werkzaamheid verliezen door toenemende resistentie."

Drie vormen van leishmaniasis

Besmetting met de *Leishmania* parasiet vindt plaats door de beet van geïnfecteerde zandvliegen (zeer kleine mugjes). De overdracht vindt plaats van mens op mens, maar kan ook van dier (vooral honden) op mens zijn. De

parasiet nestelt zich in gespecialiseerde cellen van het immuunsysteem (de macrofagen) waar ze zich kunnen vermenigvuldigen. Afhankelijk van de soort *Leishmania*, er zijn er wel twintig soorten die de mens ziek kunnen maken, zijn er drie mogelijke ziektebeelden:

- Viscerale leishmaniasis (VL): een infectie van de inwendige organen (met name milt, lever en beenmerg), welke zonder goede behandeling dodelijk is. VL komt met name voor op het Indiase subcontinent, Oost-Afrika en Brazilië en kent jaarlijks tweehonderdduizend tot vierhonderdduizend nieuwe gevallen. Hiervan sterft 10%.
- Cutane leishmaniasis (CL): een infectie van de huid en de meest voorkomende variant. CL doet zich voor in Midden- en Zuid-Amerika, het Midden-Oosten, Centraal-Azië en het Middellandse Zeegebied. Elk jaar komen er wereldwijd zevenhonderdduizend tot 1,3 miljoen slachtoffers bij.

- Mucocutane leishmaniasis: een parasitaire infectie van de huid en slijmvliezen. Deze variant is vooral te vinden in Zuid-Amerika en komt het minst vaak voor (1).

Economische en sociale gevolgen zijn groot

In het geval van cutane leishmaniasis ontstaat op de plaats van de muggenbeeten zweer, die naarmate de tijd verstrijkt steeds groter kan worden en zich zelfs kan uitbreiden tot grote open wonden verspreid over het gehele lichaam. Met alle pijnlijke, emotionele en zelfs stigmatiserende gevolgen van dien. Henry de Vries, (infectie) dermatoloog van het AMC en de UvA: "De wonden kunnen lelijk genezen. Zeker wanneer het gezicht is aangetast, betekent dit dat patiënten stigma vanuit de omgeving ondervinden en de sociale acceptatie drastisch naar beneden gaat. In veel landen in het Midden-Oosten kunnen vrouwelijke leishmaniasispatiënten geen huwelijkspartner meer vinden, en daarmee geen inkomen of bescherming."

Door verslechterende sociaaleconomische condities, klimaatverandering, milieuvervuiling en migratie verspreidt de ziekte zich steeds meer en komen mensen er sneller mee in contact. Naast de inwoners van de gebieden waar de ziekte voorkomt, zijn migranten en (onbeschermd) reizigers in deze gebieden de belangrijkste risicogroepen. Volgens het RIVM zijn er nu geen exacte gegevens beschikbaar over het aantal leishmaniasis gevallen bij mens en dier in Nederland. Er is namelijk geen meldingsplicht en patiënten worden in diverse centra gediagnosticeerd en behandeld.



Figuur 1 Zandvlieg

Baanbrekende onderzoeksresultaten van KIT Biomedical Research

KIT Biomedical Research is na twintig jaar onderzoek het Nederlandse expertisecentrum op het gebied van diagnostiek en preventie van leishmaniasis. Zo heeft KIT de laatste tien jaar succes geboekt in het toegankelijker maken en versimpelen van moleculaire diagnostische tests. In de periode 2008-2014 coördineerde KIT het multidisciplinaire onderzoeksprogramma naar cutane leishmaniasis in Suriname onder leiding van Dr. Henk Schallig. Biologen, medici en antropologen werkten hierin samen. Naast een klinisch onderzoek naar verschillende behandelingsregimes, een biologisch onderzoek naar de *Leishmania* parasiet vond ook antropologisch onderzoek plaats bij risicogroepen over hoe zij de ziekte ervaren en behandelen. Dit programma zorgde voor opmerkelijke resultaten. Schallig: "We weten nu niet alleen veel meer over de ziekte en de context waarin deze ontstaat. Ook is nu bekend dat er meerdere soorten parasieten leishmaniasis kunnen veroorzaken in Suriname. Nu snappen we waarom sommige patiënten niet op reguliere medicijnen reageerden." Ook is er meer inzicht waarom patiënten vaak een voorkeur hebben voor zelfmedicatie. Een gebrek aan medische faciliteiten, een tekort aan medicijnen en de afstand van het binnenland naar de Dermatologische Dienst in Paramaribo plus de hoge reis- en verblijfskosten, zijn van grote invloed.

De angst voor injecties (de reguliere biomedische behandeling) zorgt voor een extra drempel. Bovendien gelooft men in Suriname - met name in het binnenland - eerder in de werking van natuurlijke medicatie, bijvoorbeeld van een sjamaan; 'iets dat uit het bos komt moet met iets uit het bos bestrijden'. Daarnaast vindt zelfbehandeling met uiteenlopende middelen plaats, zoals batterijzuur en insecticiden. Met een ineffectief en zeer pijnlijk resultaat. Het onderzoek van KIT Biomedical Research bracht tevens naar voren dat het kennis- en informatieniveau over leishmaniasis onder de lokale bevolking en medici omhoog moet om verkeerde diagnoses en onjuiste behandelingen zo veel mogelijk te voorkomen. Voorlichting is cruciaal. Schallig: "Dankzij aandacht vanuit de lokale media hebben we meer leishmaniasis patiënten kunnen bereiken en voorlichten."

Meer aandacht en betere voorlichting is cruciaal

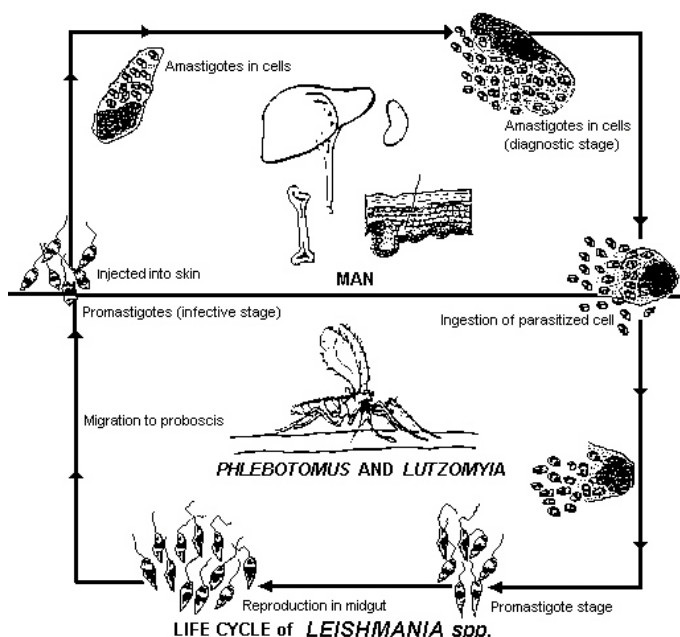
Net als Henk Schallig, hamert ook Henry de Vries - als medicus zeer nauw betrokken bij het onderzoek en de behandeling van leishmaniasis patiënten - erop dat er veel meer aandacht moet komen voor deze ziekte. Ook in Nederland. Henry de Vries: "Leishmaniasis komt absoluut steeds dichterbij. Men loopt niet alleen risico in tropische landen, ook rond de Middellandse Zee kun je geïnfecteerd



Figuur 3 Zweer vanwege Leishmaniasis op de hand van iemand uit Centraal Amerika. Bron: Center for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library

raken. De meeste vakantiegangers, en hun huisartsen, zijn hier niet van op de hoogte." De laatste jaren is er een toename van het aantal cutane leishmaniasis patiënten. Dit zijn vooral reizigers uit Spanje, Marokko, Turkije, Midden- en Zuid-Amerika en militairen uit Afghanistan. Er zijn nog geen aanwijzingen zijn dat de zandvliegsoorten die de *Leishmania* parasieten kunnen overdragen ook hier in Nederland voorkomen. Maar de insecten verspreiden zich wel steeds verder richting het noorden, en worden al sporadisch aangetroffen in Midden-Frankrijk en Zuid-Duitsland.

Reizigers moeten dus veel beter worden voorgelicht. Maar volgens De Vries zijn huisartsen nog onvoldoende op de hoogte van deze ziekte. Zo moet leishmaniasis worden toegevoegd aan het standaard rijtje mogelijke ziektes die men in het buitenland kan oplopen, met vermelding van de symptomen van leishmaniasis en welke gezondheidsrisico's er zijn. Uiteraard moet men op de hoogte worden gebracht van preventieve maatregelen zoals het gebruik van DEET en het impregneren van kleding en muskietennetten met permethrine, vooral tijdens de schemering. Voorlichtingscampagnes voor zowel medici als reizigers zijn hoogst noodzakelijk om deze 'emerging infectious disease' van de hoogste categorie de kop in te kunnen drukken.



Figuur 2 Levenscyclus van *Leishmania* parasiet

Literatuur

- 1 WHO <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>

Uit de praktijk: Erythema migrans

M. Berth, Klinisch Bioloog, Algemeen Medisch Laboratorium (AML), Antwerpen

Een rode kring of vlek na een tekenbeet is vaak het eerste signaal van de ziekte van Lyme. De medische term hiervoor is erythema migrans. De ziekte van Lyme wordt veroorzaakt door de *Borrelia* bacterie die wordt overgebracht door de teek. Erythema migrans is een vroegtijdige manifestatie van een *Borrelia* infectie en kan met het blote oog kan worden vastgesteld. In deze casus wordt besproken hoe een recente *Borrelia* infectie in de praktijk wordt vastgesteld.

Casus

Een man van 74 jaar komt op 14 april 2015 op consultatie bij een huisarts met algemene klachten, "ik voel me niet lekker". De patiënt heeft lichte koorts (38.1°C) en vertoont op de linker schouder een rode, ovale, pijnloze en niet-jeukende vlek van 12 centimeter diameter (breedste van de vlek). Centraal is de vlek wat intenser rood ten opzichte van de rand van de vlek. De patiënt vertelt dat hij sinds een week met zijn kleinkinderen op vakantie is aan de Belgische kust. Vanwege het goede weer hebben ze zelfs een dag kunnen zonnen! Hij herinnert zich geen insectenbeet op de plaats van



Figuur 2 Door André Karwath aka Aka (eigen werk)

de roodheid en ook geen contact met irriterende of stekelige planten. De huisarts in de vakantieplaats denkt aan erythema migrans en beslist om een bloedafname uit te voeren voor opsporing van antistoffen ten opzichte van *Borrelia*. Zowel de IgG als de IgM antistoffen, opgespoord door middel van een indirecte immunoassay (Liason, DiaSorin) blijken negatief. De huisarts beslist daarop om geen therapie te starten. De rode vlek wordt de dagen daaropvolgend nog groter (tot 18 cm). Na de vakantie gaat de patiënt op 24 april 2015 op consultatie bij zijn vaste huisarts. Deze arts stelt de diagnose erythema migrans zonder enig laboratoriumonderzoek en schrijft onmiddellijk antibiotische therapie voor. Uit academische nieuwsgierigheid doet deze vaste huisarts ook een bloedafname en vraagt aan hetzelfde laboratorium om *Borrelia* antistoffen op te sporen. Deze blijken positief te zijn: *Borrelia* IgM is > 190 U/ml (cut-off: 18 U/ml) en *Borrelia* IgG bedraagt 221 U/ml (cut-off 10 U/ml). Omwille van het overtuigende klinisch beeld wordt er geen *Borrelia* (immuno)blot uitgevoerd.

Beschouwing

De diagnose erythema migrans wordt volgens de CBO richtlijn 'Lymeziekte 2013' gesteld indien een "centrifugaal zich uitbreidende rode tot blauwrode macula of ring > 5 cm ontstaat zonder vesiculae, papulae, schilfering of infiltratie en ongeacht of een tekenbeet is bemerkt" (1). In dit geval hoeft er geen serologische diagnostiek uitgevoerd te worden. De hierboven beschreven patiënt voldeed duidelijk aan deze criteria en serologische diagnostiek was dan ook bij deze patiënt niet nodig geweest. De bepaling van *Borrelia* antistoffen heeft zelfs geleid tot een verkeerde conclusie: op basis

van de negatieve laboratoriumresultaten heeft de eerste arts de diagnose verworpen, wat onjuist was.

De klinische gevoeligheid van *Borrelia* antistoffen voor de diagnose van erythema migrans bedraagt slechts 50% à 73% met de gebruikte methode (2-3). Dat betekent dat bij 27% tot 50% van de mensen met erythema migrans er geen antistoffen zullen worden aangetroffen! Gezien de lage gevoeligheid van de serologische testen en het feit dat de rode vlek zo typisch is voor de diagnose van een vroege fase van de ziekte van Lyme, betekent dit dat de bepaling van *Borrelia* antistoffen bij een duidelijk erythema migrans nutteloos is.

Conclusie

De diagnose van erythema migrans is een klinische diagnose en behoeft, indien het beeld duidelijk is, geen laboratoriumdiagnostiek.

Literatuur

- 1 Richtlijn Lymeziekte 2013. CBO. <http://www.diliguide.nl/document/1314>
- 2 Marangoni A, Sambri V, Accardo S, Cavini F, Mondardini V, Moroni A, et al. A decrease in the immunoglobulin G antibody response against the VlsE protein of *Borrelia burgdorferi* sensu lato correlates with the resolution of clinical signs in antibiotic-treated patients with early Lyme disease. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13(4):525-9.
- 3 Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R. *Borrelia burgdorferi* VlsE antigen for the serological diagnosis of Lyme borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(5):349-54.

Dr. M. Berth
Klinisch Bioloog
Algemeen Medisch Laboratorium
Emiel Vloorsstraat 9
2020 Antwerpen, België

Casus: Leerzame kennismaking met een Chinese metabole puzzel

N. Abeling, Klinisch Chemicus, laboratorium Genetische Metabole Ziekten, AMC

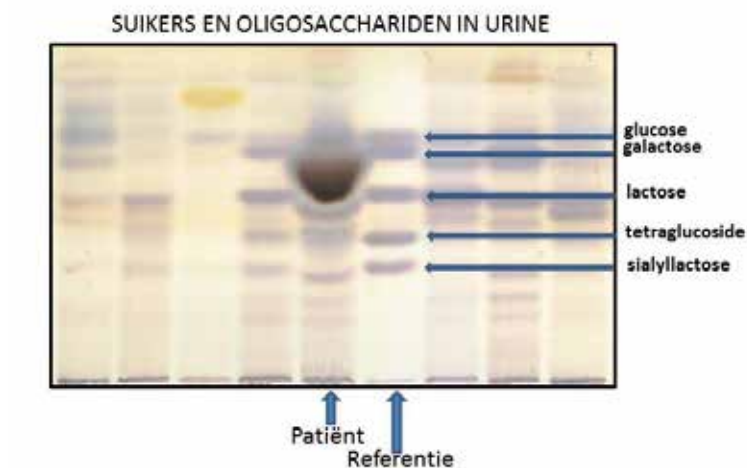
Een Chinees jongetje werd na een zwangerschapsduur van 37 weken geboren en had een (laag) geboortegewicht van 2265g (P5). De moeder had tijdens de zwangerschap dermatomyositis (een zeldzame auto-immuun aandoening die gekenmerkt wordt door ontsteking van de huid en spieren) doorgemaakt met positieve ANA (Antinucleaire antistoffen), anti DSDNA (antistoffen tegen dubbelstrengs DNA), anticardiolipine antistoffen en anti SSA (antistoffen tegen systemische sclerose). Het jongetje zag na de geboorte te lang geel (icterus prolongatus) en had een milde cholestase (galstuwang in de lever). Ook had het jongetje algehele spierslakte (hypotonie) met een milde parese (gedeeltelijke verlamming van de spieren). Zijn motorische ontwikkeling was vertraagd.

Diagnostiek

De symptomen konden niet door een bekende aandoening worden verklaard. Daarom werd drie maanden na de geboorte urine en bloed afgenomen en opgestuurd naar het laboratorium Genetische Metabole Ziekten van het AMC voor diagnostiek van een mogelijke erfelijke stofwisselingsziekte. Zoals gebruikelijk werd op grond van de kliniek een aantal onderzoeken ingezet in urine en plasma. Gezien de complexiteit van de symptomen werden veel verschillende testen uitgevoerd: aminozuren in plasma met een aminozuuranalysator, organische zuren (metaboliëten van aminozuren en vetzuren) in urine met behulp van GC-MS, galzuren in plasma en urine met behulp van LC-tandem MS, suikers en suikeralcoholen (polyolen) met GC-MS, sterolen (cholesterol, cholestanol, 7- en 8-dehydrocholesterol en andere cholesterolprecursors) met GC-MS, oligosachariden met dunne-laagchromatografie en de sialotransferrines (voor het opsporen van een N-glycosyleringsstoornis ofwel een CDG syndroom) met iso-elektrische focusering (IEF).

Forse afwijkingen in de analyses

Tot onze verbazing werden er al snel niet in één, maar in verschillende analyses forse afwijkingen gevonden. Soms wel het tienvoudige van wat het normaal moet zijn. Zo bleken de galzuurconcentraties in plasma extreem hoog te zijn (tabel 1), hetgeen verwonderlijk was, omdat in de aanvraag sprake was van slechts milde cho-



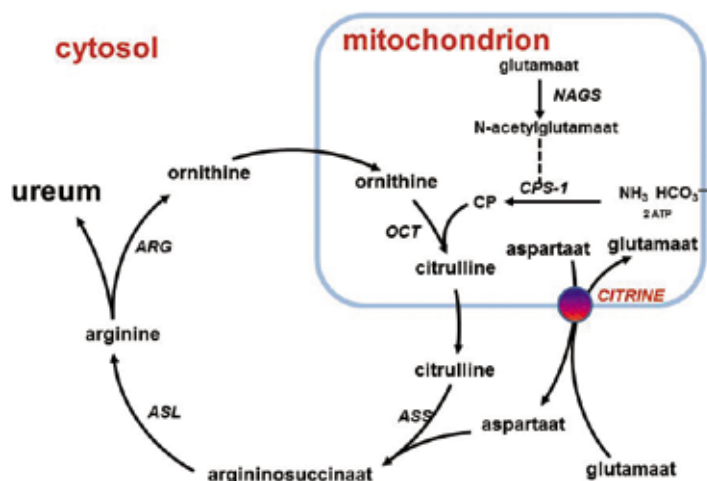
Figuur 1 Dunne-laagchromatogram van suikers en oligosachariden in de urine, met een zeer intense band in de positie van galactose.

lestase. In de sterolen-analyse (tabel 2) was cholestanol verhoogd, eveneens passend bij de cholestase. In de oligosachariden-analyse werd een enorme hoeveelheid galactose gezien (figuur 1). In de kwantitatieve analyse (met behulp van GC-MS) van suikers en suikeralcoholen (tabel 3) bleek de galactose-excretie inderdaad zeer sterk verhoogd te zijn, op een niveau dat men zou verwachten bij klassieke galactosemie. Bovendien waren galactitol en galactonzuur zeer hoog, wat in de urine de biomarkers zijn voor galactosemie. Daarnaast waren nog andere suikeralcoholen (arabitol, ribitol en erythritol) verhoogd, zoals men ziet bij transaldolase (TALDO) deficiëntie, een defect in de pentose fosfaat route, dat gepaard gaat met ernstig leverlijden (cirrose). De combinatie van het galactosemie- en TAL-

DO-patroon wordt ook wel vaker als secundair fenomeen gezien bij ernstig leverlijden, hoewel het galactosemiepatroon normaliter nooit in zo'n ernstige mate wordt gezien bij patiënten zonder galactosemie. Het organische zuren-excretiepatroon van de urine liet vooral een forse tyrosylurie zien, dat wil zeggen een hoge excretie van tyrosinemetaboliëten, als een marker voor leverlijden.

De galactosurie was in eerste instantie een raadsel, omdat het niet om 'klassieke' galactosemie (galactose-1-fosfaat uridyltransferase) kon gaan, aangezien dit in de neonatale hieprikscreening niet was opgespoord. Daarom werd enzymdiagnostiek van alle drie galactosemie-enzymen verricht. Echter de activiteiten van galactose-1-fosfaat: uridyltransferase (GALT), galactokinase en uridine-difosfaat galactose epime-

vervolg op volgende pagina >



Figuur 2 De rol van citrine bij het functioneren van de ureumcyclus. ASS argininosuccinaat synthase; ASL argininosuccinaat lyase; ARG arginase; OCT ornithine carbamyltransferase; CPS-1 carbamylfosfaat synthetase; CP carbamylfosfaat.

Galzuur	Concentratie (µmol/l)	Referentierange (µmol/l)
Chenodeoxycholzuur	244	0.7-10.0
Cholzuur	33	0.1-4.7
Ursodeoxycholzuur	1.3	0.0-1.6
Dihydroxycholestaanzuur	0.5	n.d.
Trihydroxycholestaanzuur	1.1	0.0-0.1
C29-galldicarbonzuur	n.d.	n.d.

n.d. = niet detecteerbaar

Tabel 1 Galzuren in plasma

rase (GALE) in erythrocyten van de patiënt waren allemaal normaal. Deze resultaten gaven dus geen aanwijzing voor een primair defect van één van deze enzymen.

Sleutel tot diagnose

De oplossing voor dit raadsel kwam uit de analyse van de aminozuren. Het aminozurenpatroon van het plasma was sterk afwijkend. Zoals te zien is in tabel 4 waren de concentraties van meerdere aminozuren sterk verhoogd, in het bijzonder van citrulline, threonine, methionine en lysine en in mindere mate van arginine. Serine was normaal. Het aminozurenpatroon van de urine was vergelijkbaar met dat in plasma.

Een dergelijk patroon wordt wel vaker gezien bij ernstig leverlijden, maar ongewoon in dit opzicht was wel dat

tyrosine slechts licht verhoogd was en fenylalanine zelfs normaal. Het meest opvallende was het relatief zeer hoge citrulline, zodat gedacht kon worden aan citrullinemie type 1, een defect van de ureumcyclus ten gevolge van een deficiëntie van het enzym argininosuccinaat synthase (ASS). Echter, hiervoor was de citrullineconcentratie toch nog niet hoog genoeg, en was het verdere patroon atypisch. Men zou onder andere ook een hoog glutamine (was normaal) en alanine (was slechts licht verhoogd) verwachten, en ook een andere kliniek met hyperammonie en sufheid. Opvallend was ook de hoge threonine/serine ratio.

Toch was juist deze afwijking in het aminozurenpatroon de sleutel tot de werkelijke diagnose. De combinatie van de Chinese herkomst van patiëntje en het citrullinemie-patroon, de

neonatale cholestase en de galactosemie kon alleen passen bij een andere vorm van citrullinemie, namelijk citrullinemie type 2, ofwel citrine deficiëntie. Bij deze aandoening functioneert de lever niet goed. De afbraak van bepaalde stoffen in de lever vindt onvoldoende plaats.

Citrine is geen enzym, maar een lever-specifieke mitochondriale aspartaat-glutamaat carrier, gecodeerd door het SLC25A13 gen. Door een defect in deze carrier is er onvoldoende aspartaat beschikbaar als co-substraat voor de argininosuccinaat synthase reactie en is er dus sprake van een secundaire ASS-deficiëntie (figuur 2). De ernstige cholestase en de forse galactosurie, vermoedelijk secundair ten gevolge van de remming van het uridine-difosfaat-galactose epimerase, passen hierbij.

Citrinedeficiëntie

In Nederland is weinig ervaring met citrullinemie type 2. Een citrinedeficiëntie is uiterst zeldzaam in de Kaukasische bevolking, maar komt relatief vaker voor bij Oost-Aziatische Mongoolse populaties. Het was dus niet verrassend dat deze diagnose werd gesteld bij juist een Chinees patiëntje. Er blijken erg veel mutaties van het SLC25A13 gen voor te komen, wat tot grote heterogeniteit van klinische en metabole fenotypes leidt. Drie (leeftijd gerelateerde) klinische fenotypen worden onderscheiden:

- Eerste levensjaar: het neonatale type met neonatale intra-hepatische cholestase, icterus prolongatus, typisch aminozuurpatroon, galactosemie, hypoproteïnemie, stollingsstoornissen, hoog alfa-foetoproteïne, leververvetting, hemolytische anemie, onvoldoende gewichtstoename.
- Oudere kinderen (1-11 jaar): ogenschijnlijk gezond, wel afkeer van suiker, maar voorkeur voor eiwit en vetten.
- Volwassenen (11-79 jaar): desoriëntatie, gedragsstoornissen, hyperammonie, leververvetting, hepatoom, slechte prognose.

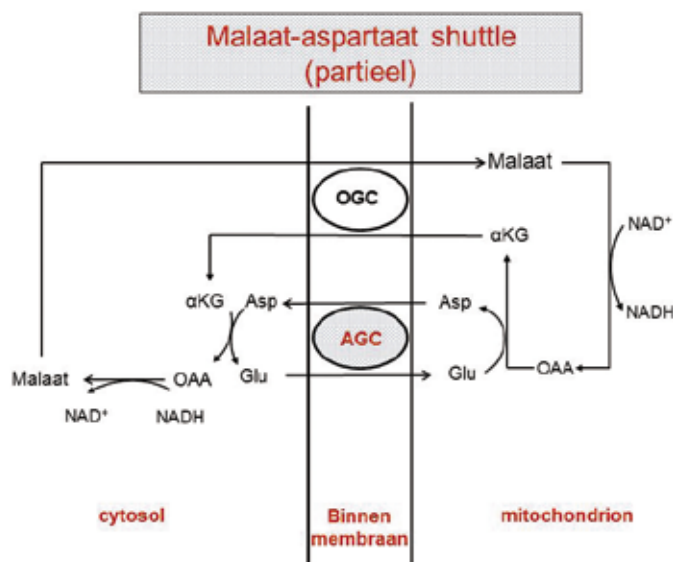
Behandeling: eiwitrijk dieet

Een deficiëntie van deze mitochondriale carrier heeft een groot aantal metabole consequenties, omdat citrine een belangrijke en complexe rol speelt bij veel metabole paden. Tot nu toe

Sterol	Concentratie (μmol/l)	Referentierange (μmol/l)
Cholesterol	4068	1881-4887
Cholestanol	16.4	3.5-10.0
7-dehydrocholesterol	n.d.	n.d.
8-dehydrocholesterol	n.d.	n.d.
7-Lathosterol	n.d.	0.0-12.0
Campesterol	1.8	0.0-23.0
Sitosterol	4.7	0.0-16.0

n.d. = niet detecteerbaar

Tabel 2 Sterolen in plasma



Figuur 3 De plaats van de aspartaat/glutamaat carrier (AGC) citrine in de malaat-aspartaat shuttle. OGC = oxoglutaraat carrier; αKG = alfa-ketoglutaraat; OAA = oxaloacetaat

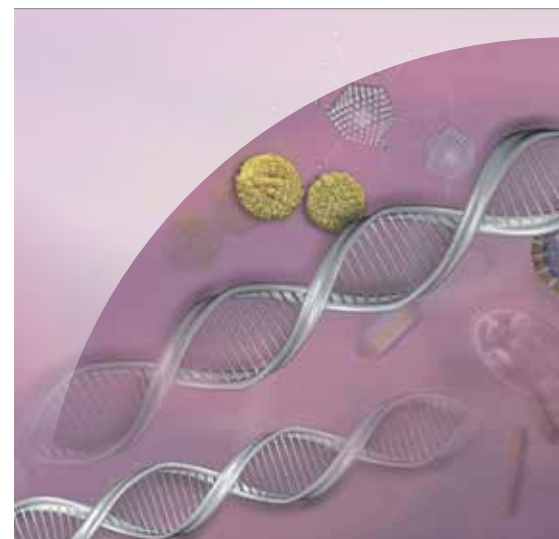
zijn nog altijd niet alle details van de metabole functies van citrine in kaart gebracht en verklaard, zodat nog steeds kan worden gesproken van een metabool raadsel.

De aspartaat-glutamaat carrier citrine is een component van de malaat-aspartaat shuttle, het voornaamste transportsysteem voor NADH in de lever (figuur 3). Een deficiëntie van citrine leidt tot verstoring van de glycolyse door een verhoging van de NADH/NAD⁺ ratio in het cytosol. Daardoor ontstaat een energietekort in de lever en wordt ook de lipogenese gestoord. De metabole en klinische consequenties die kunnen optreden zijn zeer divers en worden weergegeven in tabel 5.

Hoewel de metabole afwijkingen erg suggestief zijn voor ernstig leverlijden

is het klinische beeld meestal relatief mild, en zijn de patiëntjes in de regel niet echt ziek. Echter, mede bij het ontbreken van een vroegtijdige diagnose en het optreden van complicaties zoals infecties, kan de leverproblematiek toch ernstig worden en kan in uitzonderlijke gevallen zelfs een levertransplantatie noodzakelijk zijn. In principe is de behandeling, mits tijdig ingesteld, relatief eenvoudig. Patiënten mogen geen galactose meer (een suiker die uit voeding worden opgenomen) en dus moet het dieet aangepast worden. Dit betekent in grote lijnen meer eiwitrijke, maar lactosevrije en koolhydraatarme voeding, met als lipidencomponent Medium Chain Triglyceriden (MCT). Dus meer middellangeketenvetzuren in plaats van langeketenvetzuren. In de meeste

vervolg op volgende pagina >



Complete Multiplex real-time PCR Kits

Gastro-intestinale infecties

Salmonella	Enterovirus
Campylobacter	Norovirus
Yersinia	Rotavirus
Shigella	Adenovirus
STEC	Astrovirus
EHEC	Giardia
EPEC	Cryptosporidium
EAEC	Dientamoeba fragilis
EPEC	Entamoeba histolytica
Sapovirus	

Hospital Acquired infecties

MRSA	Clostridium difficile
PVL	Toxin A/B
Clostridium difficile	Norovirus
	Rotavirus

Luchtweg infecties

Influenza A, B, H1N1v	Adenovirus
Parainfluenza 1, 2, 3	Legionella
RSV	Pneumocystis jirovecii
Bordetella	Mycoplasma pneumoniae
Adenovirus	

- Geschikt i.c.m. verschillende extractiemethoden en PCR cyclers
- Inclusief: Interne amplificatie- en extractie controle, Taqman Hotstart Polymerase en Positieve Controle
- Uniform PCR profile voor alle DNA en RNA kits
- Zeer gunstig prijs, competitief met home-made

	Excretie (mmol/mol kreatinine)	Referentierange (mmol/mol kreatinine)
Arabitol	128	51-99
Ribitol	120	10-17
Erythritol	273	89-158
Galactose	61527	0-358
Galactitol	3565	10-63
Fructose	52	3-154
Glucose	372	4-92

Tabel 3 Suikers en suikeralcoholen in urine

Aminozuur	Concentratie (µmol/l)	Referentierange
Threonine	546	66-182
Serine	183	85-221
Glutamine	230	368-652
Alanine	437	182-378
Citrulline	273	16-32
Methionine	240	19-51
Arginine	207	38-102
Fenylalanine	59	29-85
Tyrosine	197	31-115
Lysine	647	56-172

Threonine/serine ratio : 3.0 (ref < 1.1)

Tabel 4 Amino-zuren in plasma

Citrullinemie

Neonatale intrahepatische cholestase

Icterus prolongatus

Groeistoornis

Galactosemie

Dyslipidemie

Hyperammonie

Tabel 5 Metabole en klinische afwijkingen bij het neonatale type van citrine-deficiëntie

gevallen verdwijnen de meeste afwijkingen min of meer spontaan binnen het eerste levensjaar.

Conclusie

Citrinedeficiëntie is een uiterst complexe metabole stoornis met een groot aantal zeer verschillende metabole

consequenties. Dit komt doordat het gaat om een defect van een mitochondriële transporter die op zijn beurt gekoppeld is aan andere mitochondriële transportsystemen, waardoor vele complexe mitochondriële en metabole interacties verstoord worden. De pathofysiologische oorzaken

van de diverse metabole afwijkingen zijn nog steeds slechts gedeeltelijk bekend.

De aandoening komt vooral en relatief frequent voor in de Oost-Aziatische populaties (China, Japan, Korea etc.) . In de Kaukasische populatie is citrinedeficiëntie uiterst zeldzaam. In Nederland was tot dusver slechts één patiënt bekend. Omdat het toch van groot belang is om citrinedeficiëntie snel op te sporen om vroegtijdig een behandeling te kunnen instellen is het zaak dat de combinatie van symptomen ook spoedig wordt herkend door de kinderarts, te meer omdat citrinedeficiëntie niet kan worden opgespoord in de neonatale hieprikscreening.

In het algemeen, maar zeker bij patiëntjes met een Oost-Aziatische etnische achtergrond, moet scherp gelet worden op de combinatie van neonatale cholestase, icterus prolongatus, stollingsstoornissen, 'failure to thrive', hypoproteïnemie en een permanent positieve reductie bij een negatieve glucosesticktest. Dit laatste zal in de tegenwoordige tijd mogelijk niet meer worden opgemerkt, omdat in de meeste klinisch-chemische laboratoria de reductietest niet meer wordt uitgevoerd sinds de invoering van de neonatale hieprikscreening in 2007. De test werd voornamelijk gebruikt om galactosemie op te sporen. Een positieve reductietest en een normaal glucose in de urine was immers een sterke aanwijzing voor galactosurie/galactosemie. De beschreven casus heeft ons geleerd dat bij goede observatie van de kliniek en het verrichten van het juiste onderzoek het opsporen van citrinedeficiëntie geen raadsel meer hoeft te zijn.

Aanbevolen literatuur

- 1 Saheki T, Kobayashi K, Iijima M, Moriyama M, Yazaki M, Takei Y, Ikeda S. Metabolic derangements in deficiency of citrin, a liver-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier. *Hepatology*. 2005;33(2):181-4.
- 2 Kobayashi K, Saheki T, Song YZ. Citrin Deficiency. 2005 Sep16 [Updated 2012 Jan 5]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong C-T, Smith RJH, Stephens K (Eds.). *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993-2014. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1181/>, last access: June 2014.

Kinderwens bij transgenders?

Wetenschap biedt nieuwe mogelijkheden!

In vitro uitgerijpte eicellen vanuit eierstokweefsel bij transgendermannen, vertonen normale morfologische kenmerken

S. Lierman¹, K. Tilleman² en P. de Sutter³, Centrum voor Reproductieve Geneeskunde, UZ Gent

1. Laborante

2. Post-doctorale medewerker

3. Afdelingshoofd Reproductieve Geneeskunde

Een geslachtsidentiteitsstoornis of genderdysforie is een aandoening waarbij iemand zich enerzijds ongemakkelijk voelt bij de geldende normen voor zijn of haar geslacht en zich anderzijds aanhoudend identificeert met het andere geslacht. Dit andere gender wordt het "transgender" genoemd en patiënten worden dan ook transgender patiënten of personen genoemd. De symptomen van een gender identiteitsstoornis zijn vaak al op jonge leeftijd waar te nemen en in het Universitair Ziekenhuis te Gent kunnen vrouwen en mannen met genderdysforie behandeld worden in een multidisciplinaire groep van psychologen, endocrinologen, artsen en chirurgen.

Transgender personen kunnen in het Universitair Ziekenhuis te Gent onder begeleiding starten met cross-geslachtshormoon therapie. Dat wil zeggen dat vrouwen die man worden; een transman, anti-oestrogenen en androgenen toegediend krijgen en mannen die zich identificeren met een vrouw; een transvrouw, anti-androgenen en oestrogenen toegediend krijgen. Op deze manier wordt het transgender via hormonetherapie tot stand gebracht. Indien gewenst kan iemand overgaan tot een ingreep waarbij ook het geslachtsorgaan gewijzigd wordt. Deze ingrijpende chirurgie wordt in de regel pas uitgevoerd na minstens één jaar hormonetherapie en wanneer de persoon meerderjarig is.

Bij de keuze van een geslachtsoperatie is er wel een onomkeerbaar verlies van de natuurlijke reproductieve mogelijkheden doordat ook de gonaden weggenomen worden. Deze verplichte sterilisatie is niet in alle landen een voorwaarde om officieel als het transgender door het leven te gaan, echter wel in België (sinds de wetgeving betreffende transsexualisme van 10 mei 2007, die op heden trouwens fel ter discussie staat). Bij een transvrouw houdt dit het verwijderen van de testikels in; de bron van zaadcellen en bij een transman, de eierstokken; bron van de eicellen.

Keuze voor eierstokweefsel

Uit onderzoek en eigen ervaring is gebleken dat transgender personen, die de stap zetten naar een geslachtsoperatie, dit doen op een steeds jongere leeftijd (1). Op dat moment hebben zij dikwijls nog geen kinderwens, noch een stabiele relatie met een partner of zijn alleenstaand. En daarom is het belangrijk en noodzakelijk om deze personen voldoende in te lichten omtrent het effect op hun vruchtbaarheid en de mogelijkheid tot het verwezenlijken van een toekomstige kinderwens, voordat iemand start met de hormonale behandeling. Wanneer een transman een toekomstige kinderwens heeft, dan zijn er drie mogelijkheden om zijn vruchtbaarheid te vrijwaren of te bewaren. Iemand kan kiezen voor het invriezen van:

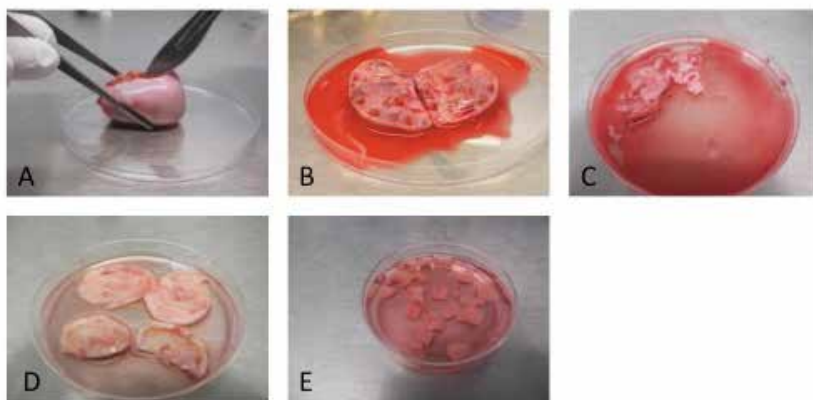
- eicellen
- embryo's (indien deze persoon een partner of een stabiele relatie heeft)
- de eierstokken

De bovenstaande opties zijn vergelijkbaar voor jonge vrouwen die chemo- of radiotherapie ondergaan voor maligniteiten. Alhoewel deze opties in theorie mogelijk zijn, kiezen veel transmannen voor het invriezen van eierstok weefsel om verschillende redenen. Bij het invriezen van eicellen is een hormonale stimulatie met

vrouwelijke hormonen nodig om tot een groot aantal eicellen te komen. Deze hormonale stimulatie gaat gepaard met een opvolging via vaginale echomonitoring. Deze manier van monitoring is voor vele transmannen emotioneel zwaar.

Bij het invriezen van embryo's heeft men een mannelijke partner nodig om de eicellen te bevruchten. Aan gezien heel wat personen op jonge leeftijd hun transitie ondergaan, is er dikwijls nog geen sprake van een partner of stabiele relatie met een concrete kinderwens. Bovendien is het noodzakelijk dat de therapie met mannelijke hormonen stop gezet wordt en de meeste personen wensen een snelle transitie naar het transgender en verkiezen deze optie dus niet. De optie waar de meeste transmannen voor kiezen is het invriezen van eierstokweefsel. Dit weefsel wordt tijdens de geslachtsoperatie weggenomen en er is dus geen extra ingreep of behandeling nodig die de transitie vertraagt.

Als eierstokweefsel wordt ingevroren, dan wordt de cortex, de schil van de eierstokken ingevroren. Deze schil bevat een zeer grote aantallen primordiale en primaire follikels (honderden tot duizenden) waar de eicellen in een heel immatuur stadium aanwezig zijn. Tijdens het invriesproces wordt de



Figuur 1 (A) Ovarium verkregen via laparoscopie. (B) Ovarium in twee helften gesneden, in de binnenkant zijn de blaasjes duidelijk te zien (= de preantrale follikels) waarin onrijpe eicellen zich bevinden. (C) Resterend weefsel (= medulla) met suspensie van mogelijke immature eicellen. (D) Cortex helften van twee ovaria om versneden te worden tot kleinere stukjes van 5x5mm (E). Cortex fragmenten. (Bron: ARG UZ-Gent)

medulla, het midden weefsel, verwijderd omdat dit geen bron is van primordiale en primaire follikels. In de literatuur is echter aangetoond (2,3,4) dat er in dit medulla weefsel ook een aantal preantrale follikels (tientallen) aanwezig zijn. Deze preantrale follikels bevatten ook onrijpe eicellen, maar studies tonen aan dat de onrijpe eicellen op dit stadium wel verder uitgerijpt kunnen worden tot rijpe eicellen. Deze studies zijn uitgevoerd bij vrouwelijke fertiliteitspatiënten waarbij gebruik is gemaakt van niet-gestimuleerde eierstokken (2,3,4). Met deze optie kan men naast het invriezen van eierstokweefsel ook nog eventueel een paar *in vitro* gerijpte eicellen invriezen voor later gebruik in een IVF behandeling. Er is reeds aangetoond bij vrouwelijke vruchtbaarheidspatiënten dat uit hormonaal gestimuleerde eierstokken, rijpe eicellen verkregen kunnen worden na *in vitro* maturatie. Deze eicellen kunnen worden bevrucht door *in vitro* fertilisatie (IVF) en kunnen teruggeplaatst worden met het oog op een mogelijke zwangerschap en waaruit gezonde baby's geboren zijn (5,6).

Alhoewel deze manier van fertiliteitsbewaring theoretisch mogelijk is bij transmannen, is het eierstokweefsel wel gedurende een heel lange tijd (gemiddeld meer dan één jaar) aan hoge doses androgenen blootgesteld. Dit zou potentieel een negatieve invloed kunnen hebben op de follikels en eicellen in dit weefsel.

Hormoonbehandeling geen

invloed op eierstokweefsel

Onze onderzoeksgroep heeft aangetoond dat de androgeen behandeling geen invloed had op de aanwezigheid van de primordiale follikels in het weefsel, noch op de ontwikkelingscompetentie van deze follikels bij transplantatie van het weefsel in een muismodel (7). In andere woorden, als je dit weefsel zou transplanteren, dan kunnen de follikels uitgroeien tot rijpe eicellen. Echter transplantatie van het ingevroren eierstokweefsel bij transmannen is geen optie aangezien zij opnieuw vrouwelijke hormonen zouden moeten innemen om voldoende rijpe eicellen te verkrijgen. Een andere mogelijkheid is een *in vitro* rijping van de primordiale en primaire follikels uit de cortex tot een rijpe eicel. Deze eicel zou dan ook via een *in vitro* fertilisatie techniek bevrucht kunnen worden in het laboratorium. Echter, deze techniek waarbij de maturatie van primordiale follikel tot rijpe eicel volledig in het laboratorium gebeurt, staat helemaal nog niet op punt (8,9,10) en meer onderzoek is nodig om dit toe te passen in een klinische setting.

Als transplantatie geen optie is voor transmannen en *in vitro* maturatie van follikels uit de cortex evenmin, dan bieden de kleine aantallen preantrale follikels in de medulla van de eierstokken misschien een mogelijkheid tot het verkrijgen van rijpe eicellen. Het is echter niet bekend of de hoge hoeveelheden androgenen een effect zouden kunnen hebben op

het uitrijpen van deze eicellen of op de kwaliteit van deze uitgerijpte eicellen. In deze studie werd nagegaan of onrijpe eicellen gevonden in de medulla van het eierstokweefsel van transmannen *in vitro* kunnen uitrijpen tot een rijpe eicel en wat hun kwaliteit is. De kwaliteit van de eicellen werd nagegaan door het bekijken van de spoelfiguur van de eicel na *in vitro* maturatie. Bovendien werden de rijpe eicellen ingevroren en gedood en werd het effect op de spoelfiguur opnieuw geanalyseerd.

Bron van humane eierstokweefsel en collectie van onrijpe eicellen

De studie werd door een ethische commissie goedgekeurd (UZ Gent referentie: 2012/780, Belgische Registratie nummer B670201215468) en alle patiënten die deelgenomen hebben aan deze studie werden geïnformeerd en ondertekenden een toestemmingsformulier.

Tijdens de bewerking van het eierstok weefsel (figuur 1A) werd de ovariële cortex (de schil), vrijgemaakt van de medulla door het zorgvuldig uit te schrapen met een scalpel mes (figuur 1B, 1C). Wanneer de cortex een dikte heeft van 1 mm (figuur 1D), werd de cortex in stukjes gesneden met een afmeting van 5x5 mm² (Figuur 1E). De stukjes werden blootgesteld aan een invriesmedium met als cryoprotectant dimethyl sulfoxide (DMSO) dat ervoor zorgt dat de follikels in het cortex stukje bewaard worden voor later gebruik. Na blootstelling aan het invriesmedium werden de stukjes in cryo ampullen gebracht en daarna met een computer gestuurd invriestoestel afgekoeld tot -140°C. Uiteindelijk werden stalen opgeslagen in vloeibaar stikstof (-196°C). Naast de cortex werd de medulla suspensie onderzocht op de aanwezigheid van immature eicellen uit de preantrale follikels door middel van een stereomicroscop. Indien onrijpe eicellen omgeven door hun cumulus cellen (voedingscellen) aanwezig zijn, dan werden deze opgepikt en overgebracht in een manipulatie medium. Uiteindelijk werden alle onrijpe eicellen overgebracht naar een *in vitro* maturatie medium welke de nodige componenten bevat om het rijpingsproces te volbrengen.

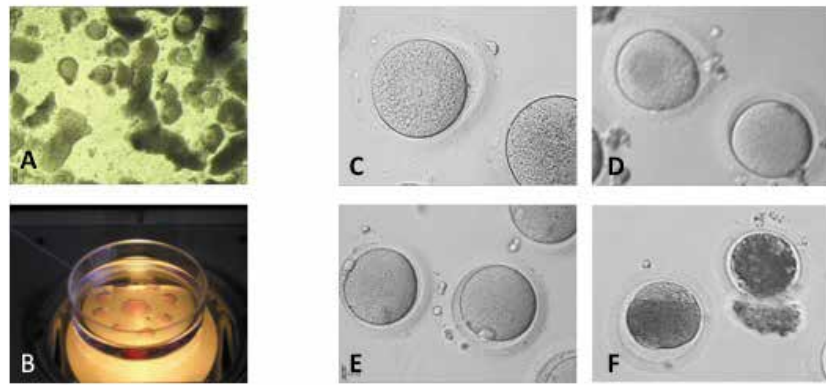
In vitro maturatie van onrijpe humane eicellen

In vitro maturatie is een kunstmatige rijping van onrijpe eicellen in een aangepast cultuur medium in het laboratorium. Ons laboratorium maakt gebruik van een maturatie medium die samengesteld is uit diverse componenten die een positieve invloed hebben op het rijpingsproces van deze onrijpe eicellen. Uit literatuur is bekend dat onrijpe eicellen uit gestimuleerde eierstokken van vrouwelijke fertiliteitspatiënten kunnen uitrijpen tot rijpe eicellen na 24 uur in cultuur. Over onrijpe eicellen uit niet-gestimuleerde eierstokken is nog weinig bekend en er zijn helemaal geen gegevens beschikbaar over de resultaten wanneer androgen therapie is toegediend, zoals dit bij transmannen gebeurt.

In deze studie werden 16 transmannen geïncubeerd met een gemiddelde leeftijd van 24.13 ± 6.18 jaar. Allen waren reeds onder testosteron behandeling gedurende 53.6 ± 21 weken wanneer beide eierstokken chirurgisch verwijderd werden. In totaal werden 680 onrijpe eicellen verzameld (figuur 2A). Na 48 uur *in vitro* rijping bereikte 38.1% (259/680) van de eicellen het metafase II stadium wat een rijpe eicel aanduidt (figuur 2E). Van de resterende onrijpe eicellen waren er 27.1% (184/680) metafase I (figuur 2D) en 18.1% (123/680) germinaal vesikel (figuur 2C). Ook werden er na 48 uur cultuur gedegenererde eicellen waargenomen (16.8% (11/680)) (figuur 2F). Deze resultaten tonen aan dat het dus mogelijk is om onrijpe eicellen, bekomen uit de medulla van de eierstokken van transmannen, in het laboratorium uit te rijpen. Omdat er weinig bekend is over *in vitro* rijping van onrijpe eicellen die verkregen worden tijdens androgeen behandeling, is het moeilijk na te gaan of dit percentage een aanvaardbaar percentage is. De literatuur toont aan dat bij *in vitro* rijping van onrijpe eicellen uit niet-gestimuleerde eierstokken van vrouwelijke patiënten, het rijpingspercentage hoger ligt (40-70%) (11,12,13,14).

Het vitrificeren en opwarmen van *in vitro* gerijpte eicellen

Naast de eicelrijping werd ook onderzocht of deze rijpe eicellen een



Figuur 2 (A) Microscopisch beeld van onrijpe eicellen in de medulla suspensie. (B) Cultuur schaal met maturatie medium waarin onrijpe eicellen in cultuur gebracht worden. (C) Onrijpe eicel: germinaal vesikel (GV) stadium. (D) Onrijpe eicel: metafase I (MI) stadium. (E) Mature eicel: metafase II (MII) stadium met een zichtbaar poollichaam. (F) Gedegenererde eicellen. (Bron: ARG UZ-Gent)

invries- en ontdooiprocedure konden doorstaan. De techniek die nu wordt gebruikt in de reproductieve geneeskunde voor invriezen van eicellen is vitrificatie. Vitrificatie betekent de complete verglazing van een oplossing zonder ijskristallen, bij snel afkoelen tot -196°C . Deze verglaasde toestand wordt verkregen dankzij de combinatie van hoge concentraties cryoprotectant in combinatie met uiterst hoge afkoelingsnelheden en dit om ijskristallisatie te vermijden die de eicel kunnen beschadigen. Er kan gebruik gemaakt worden van een cryoprotectant met een binnendringende en niet-binnendringende eigenschappen. Binnendringende cryoprotectantia (zoals dimethylsulphoxide (DMSO), propyleen glycol (PG), ethyleen glycol (EG)) beschermen de cel intra- en extracellulair, niet-binnendringende cryoprotectantia (zoals sucrose of galactose) beschermen de cel door osmotische ontwatering te bewerkstelligen. In ons centrum wordt een commerciële vitrificatie- en opwarmingskit gebruikt op basis van EG en DMSO als binnendringende cryoprotectant en sucrose als niet-binnendringende cryoprotectant. Het opslaan van eicellen zelf gebeurt op een zogenaamde invriesstro (cryo top) waarop de eicel met een zo klein mogelijk volume met een micropipet de drager wordt aangebracht. Na het laden van de eicel op het invriesstro wordt deze direct in vloeibaar stikstof ondergedompeld. De verdere opslag vindt eveneens in vloeibaar stikstof plaats. Bij het opwarmen van de eicellen is het noodzakelijk

dat de eicel de tijd krijgt om zijn oorspronkelijke volume aan te nemen zodat er een reorganisatie van alle celorganellen (bijvoorbeeld de spoelfiguur) kan plaatsvinden. Studies hebben echter aangetoond dat vitrificatie geen invloed had op de meiotische spoelfiguur en chromosomale ligging op het equatoriaal vlak (15). Deze ligging van de chromosomen is van groot belang om een goede bevruchting en embryo ontwikkeling te verkrijgen. Om de invriesbaarheid van de eicellen na te gaan, werden 133 *in vitro* gerijpte eicellen gevitriciseerd en opgewarmd. Onmiddellijk na het opwarmen overleefden 73.7% (98/133) van de eicellen de opwarmingsprocedure. Na een tijdstip van 1 en 2 uur na de vitrificatie van deze eicellen werden zij opnieuw geëvalueerd. Na 1 uur waren er 68.4% (91/133) van de opgewarmde eicellen nog steeds intact. Na 2 uur waren 67.7% van de opgewarmde eicellen intact. Deze tijdstippen zijn van belang omdat maximaal 2 uur na het opwarmen, de fertilisatie door middel van ICSI moet plaatsgrijpen. Op dat ogenblik heeft de spoelfiguur in de eicel zich structureel volledig hersteld van de opwarmingsprocedure.

Globaal gezien is het overlevingspercentage van *in vitro* rijpe eicellen van transmannen (67.7%) onder androgen behandeling vergelijkbaar met wat er in de literatuur bekend is over gevitriciseerde *in vitro* gerijpte eicellen afkomstig van niet-gestimuleerde eierstokken (67.5%) (13) en dus tonen de resultaten aan

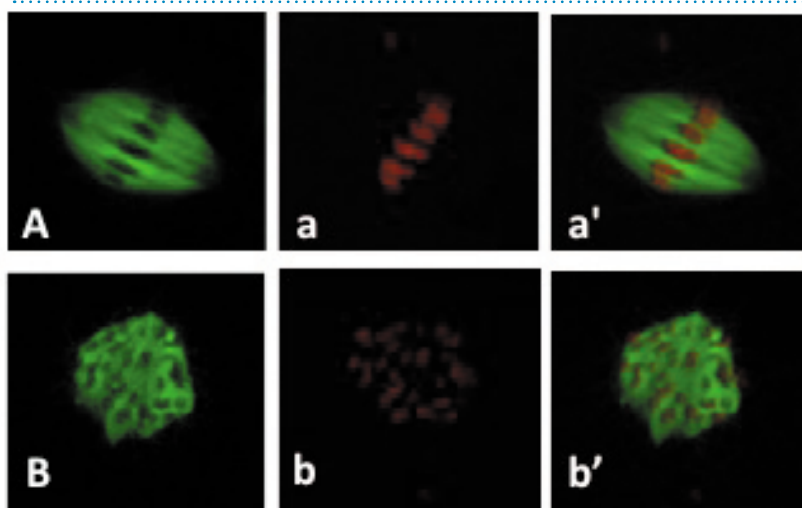
vervolg op volgende pagina >

dat *in vitro* gerijpte eicellen van transmannen ingevroren kunnen worden met behulp van vitrificatie met een zelfde overlevingskans als bij eicellen van vrouwelijke vruchtbaarheidspatiënten.

De kwaliteit van de spoelfiguur van de *in vitro* gevitricificeerde en opgewarmde mature eicellen

Meiotische spoelfiguren zijn samengesteld uit microtubuli, die belangrijk zijn voor de chromosoom uitlijning op het equatoriaal vlak en de scheiding van de chromosomen gedurende de bevruchting. Spoelfiguren zijn zeer gevoelig voor temperatuurschommelingen (16,17) en dit kan zelfs leiden tot een abnormale chromosoom distributie (17,18). Een abnormale chromosoom distributie kan leiden tot een mislukte of abnormale bevruchting.

Door immunofluorescentie kleuring en confocale microscopie kan men spoelfiguren 3-dimensionaal bestuderen. De chromosomen en microtubuli worden gelabeld met specifieke antilichamen die de structuren met behulp van fluorescentie kunnen visualiseren. Diverse spoelfiguur configuraties kunnen worden waargenomen (figuur 3) en ingedeeld volgens spoelfiguur en chromosomen spreiding. Bij een normaal spoelfiguur (figuur 3a') vormt de microtubuli twee tegenovergestelde gerichte polen, ook bipolair genaamd (figuur 3A); microtubuli kunnen ook afwijkende vormen vertonen met onregelmatigheden ter hoogte van het equatoriaal vlak of ter hoogte van de polen (figuur 3B). Ook gebeurt het soms dat de microtubuli niet bipolair zijn maar mono- of multipolair. Op basis van de chromosomale verspreiding op het equatoriaal vlak, werden de eicellen als volgt ingedeeld: Normaal, indien alle chromosomen op het equatoriaal vlak liggen (figuur 3a) of wanneer er ≤ 6 chromosomen niet op het equatoriaal vlak gelegen zijn. Abnormaal, indien > 6 chromosomen verspreid liggen van het equatoriaal vlak of wanneer alle chromosomen verspreid liggen op de spoelfiguur (Figuur 3b). In deze studie onderscheiden we twee groepen voor de spoelfiguur formatie: (i) Normaal: wanneer normaal gevormde microtubuli met



Figuur 3 Spoelfiguur configuratie van de eicellen. De chromosomen kleuren rood en de microtubuli groen. (a') Normaal gevormd spoelfiguur. (A) Microtubules zijn normaal gevormd tot twee tegengestelde gerichte polen, bipolair. (a) Normaal gelijnde chromosomen op het equatoriaal vlak. (b') Abnormaal gevormd spoelfiguur. (B) Microtubules vertonen een abnormale vorm ter hoogte van het equatoriaal vlak alsook ter hoogte van de polen. (b) Abnormaal chromosomale ligging, namelijk verspreid over de ganze spoelfiguur. (Bron: ARG UZ-Gent)

uitgelijnde chromosomen op equatoriaal vlak liggen en (ii) Abnormaal: wanneer de microtubuli en/of chromosomen abnormale structuur vertonen.

De studie heeft aangetoond dat bij *in vitro* gerijpte eicellen 92.2% (83/90) van de eicellen na vitrificatie en opwarming terug een normale spoelfiguur vertonen welke vergelijkbaar was met de spoelfiguren van de niet-ingevroren eicellen (87.1% (108/124)).

Conclusies en toekomstperspectieven

Onze onderzoeksgroep heeft kunnen aantonen dat in transmannen naast de ovariële cortex, die de primordiale en primaire follikels bevat, de medulla een belangrijke bron is van onrijpe eicellen. Deze onrijpe eicellen omgeven met hun cumuluscellen kunnen *in vitro* uitgerijpt worden tot een rijpe eicel. De meerderheid van de rijpe eicellen vertonen een normaal spoelfiguur met chromosomen op het equatoriaal vlak, zowel vóór als na vitrificatie. Deze studie toont aan dat *in vitro* uitgerijpte eicellen afkomstig uit eierstokken van transmannen, normale morfologische kenmerken bevatten en dat de androgeen behandeling geen effect heeft op de morfologische kwaliteit van deze eicellen. Verder onderzoek zal moeten aantonen of deze eicellen hetzelfde bevruchtigspotentieel bevatten en in staat zijn zich te ont-

wikkelen tot een normaal embryo. Deze bevindingen zijn belangrijk voor transmannen omdat zij dankzij deze bevindingen mogelijk een extra optie zouden kunnen hebben om hun eigen eicellen te gebruiken voor het vervullen van een toekomstige kinderwens.

Literatuur

1. De Sutter P, Kira K, Verschoor A, Hotimsky A. The desire to have children and the 101 preservation of fertility in transsexual women: A survey. *International Journal of Transgenderism* 2002;6(3).
2. Huang JY, Tulandi T, Holzer H, Tan SL, Chian RC. Combining ovarian tissue cryobanking with retrieval of immature oocytes followed by *in vitro* maturation and vitrification: an additional strategy of fertility preservation. *Fertil Steril* 2008;89:567-572.
3. Fasano G, Moffa F, Dechène J, Englert Y, Demeestere I. Vitrification of *in vitro* matured oocytes collected from antral follicles at the time of ovarian tissue cryopreservation. *Reprod Biol and endocrinology* 2011;9: 150.
4. Wilken-Jensen HN, Kristensen SG, Jepsen JV, Andersen CY. Developmental competence of oocytes isolated from surplus medulla tissue in connection with cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation. *ACTA Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2013;93: 32-37.
5. Jurema MW, Nogueira D. *In vitro* maturation of human oocytes or assisted reproduction. *Fertil Steril* 2006;86: 1277-1291.
6. Edwards RG. IVF, IVM, natural cycle IVF, minimal stimulation IVF-time for a rethink. *Reprod Biomed Online* 2007;15: 106-119.

7. Van den Broecke R, Van der Elst J, Liu J, Hovatta O, Dhont M. The female-to-male transsexual patient: a source of human ovarian cortical tissue for experimental use. *Hum Reprod* 2001;16: 45-147.
8. Telfer EE, McLaughlin M. In vitro development of ovarian follicles. *Semin Reprod Med*. 2011;29:15-23.
9. Telfer EE, McLaughlin M. Strategies to support human oocyte development in vitro. *Int J Dev Biol* 2012;56:901-907.
10. Telfer EE, McLaughlin M, Ding C, Thong KJ. A two-step serum-free culture system supports development of human oocytes from primordial follicles in the presence of activin. *Hum Reprod* 2008;23:1151-1158.
11. Child TJ, Phillips SJ, Abdul-Jalil AK, Gulekli B, Tan SL. A comparison of in vitro maturation and in vitro fertilization for women with polycystic ovaries. *Obstet Gynecol*. 2002;100: 665-670.
12. Holzer H, Scharf E, Chian RC, Demirtas E, Buckett W, Tan SL. In vitro maturation of oocytes collected from unstimulated ovaries for oocyte donation. *Fertil Steril*. 2007;88: 62-67.
13. Shalom-Paz E, Almog B, Shehata F, Huang J, Holzer H, Chian RC, Son WY, Tan SL. Fertility preservation for breast-cancer patients using IVM followed by oocyte or embryo vitrification. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:566-571.
14. Segers I, Mateizel I, Van Moer E, Smits J, Tournaye H, Verheyen C, De Vos M. In vitro maturation (IVM) of oocytes recovered from ovariectomy specimens in the laboratory: a promising "ex vivo" method of oocytes cryopreservation resulting in the first report of an ongoing pregnancy in Europe. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:1221-1231.
15. Ciotti PM, Porcu E, Notarangelo L, Margrini O, Bazzocchi A, Venturoli S. Meiotic spindle recovery is faster in vitrification of human oocytes compared to slow freezing. *Fertil Steril*. 2009;91(6):2399-407.
16. Pickering SJ, Braude PR, Johnson MH, Cant A, Currie J. Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of the meiotic spindle in the human oocyte. *Fertil Steril* 1990;54:102-108.
17. Almeida PA & Bolton VN. The effect of temperature fluctuations on the cytoskeletal organisation and chromosomal constitution of the human oocyte. *Zygote* 1995;3:357-365.
18. Aman RR & Parks JE. Effects of cooling and rewarming on the meiotic spindle and chromosomes of in vitro-matured bovine oocytes. *Biol Reprod*. 1994;50:103-110.

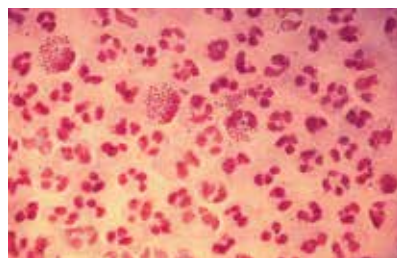
Gonorroë veroorzaakt door meningokokken?

I. Linde, hoofdanalist GGD Amsterdam

Bij het point of care laboratorium van de SOA polikliniek van de GGD in Amsterdam kwam in 2013 een monster binnen van een man met urethritis, die onlangs onbeschermd oraal seksueel contact had gehad met andere mannen (MSM). Bij cliënten met klachten passend bij gonorroë wordt, naast moleculair onderzoek op Soa's, ook een kweek afgenomen op *Neisseria gonorrhoeae* (NG) en een preparaat gemaakt voor microscopisch onderzoek op gonokokken. De preparaten worden direct beoordeeld op het point of care laboratorium. Bij een positief preparaat wordt direct therapie ingesteld. De analisten werkzaam op het Streeklaboratorium van de GGD rouleren met de analisten van het point of care laboratorium. Het kan dus voorkomen dat dezelfde analist zowel het preparaat als de kweek beoordeelt.

Onverwachte oorzaak

De betreffende analist constateerde bij het beoordelen van de NG kweken dat de kweek van een door haar zelf positief afgegeven NG preparaat, negatief bleef in de kweek en in de NG - PCR. Na verder onderzoek bleek dat er wel een *Neisseria meningitidis* groeide op de platen. Het verschil tussen *Neisseria meningitidis* en *Neisseria gonorrhoeae* is in een grampreparaat niet te zien, het zijn namelijk beide gramnegatieve kokken. Aannemelijk was dus dat de intracellulaire gramnegatieve kokken die de analist in het grampreparaat zag, geen gonokokken waren maar meningokokken. De urethritis werd in dit geval veroorzaakt door een meningokok, een bacterie die doorgaans meningitis of sepsis veroorzaakt.



De meningokok is vervolgens getypeerd en bleek een *Neisseria meningitidis* serogroep C te zijn. In september 2014 werd bij het Streeklaboratorium opnieuw een meningokok gekweekt in combinatie met een positief NG preparaat, ditmaal bij een man die in de voorafgaande periode van zes maanden meerdere MSM-contacten had gehad en die de SOA poli bezocht met urethritisklachten. De stam bleek



een *N. meningitidis* serogroep C type P1.5-1,10-8:F3-6:cc11 te zijn. Er zijn aanwijzingen dat er binnen dit type een klein moleculair verschil is waardoor het ene soort invasieve infecties en het andere soort urethritis veroorzaakt. Clusters van invasieve meningokokken-ziekte onder MSM in Frankrijk, Duitsland en New-York in 2012 en 2013 werden ook veroorzaakt door dit type.



Being in Process

Eppendorf - Uw workflow-georiënteerde leverancier

Eppendorf is een workflow-georiënteerde leverancier van laboratorium apparatuur en biedt u apparatuur, consumables en accessoires die perfect passen bij uw processen in het laboratorium.

Met slimme innovaties heeft Eppendorf uitgebreide oplossingen ontworpen om uw laboratorium werk te vereenvoudigen of zelfs omslachtig laboratorium werk te elimineren.

- > Flexibele oplossingen voor het bereiden, verwerken en analyseren van samples en cellen
- > Een uitgebreid product portfolio voor een breed scala aan verschillende toepassingen
- > Uitgebreide mogelijkheden voor onderhouds- en servicecontracten

Keuze combinatie factordeficiënte plasma's en APTT reagens voor bepaling van intrinsieke stollingsfactoren op de STA-R Evolution

dr. ir. F. Helmich, M. van Wershoven - Passier, dr. F. van der Graaf, Klinisch Laboratorium Máxima Medisch Centrum Veldhoven

Op het klinisch laboratorium van het Máxima Medisch Centrum worden de intrinsieke stollingsfactoren tweewekelijks bepaald door middel van een verdunde APTT; gebruik makend van een APTT-reagens en een specifiek factordeficiënt plasma. Elke meetserie begint met een nieuwe kalibratielijijn waarop patiëntenmonsters en controles worden gekwantificeerd. We zijn niet tevreden over de reproduceerbaarheid van ijklijnen en controlemonsters en naast precisie zitten we niet altijd juist in de externe rondzending. Zodoende zijn we tot het besluit gekomen om deze bepalingen volledig te herzien; zeker in het kader van onze rol in het 'Hemofilie Behandel Centrum'. In dit artikel beschrijven we hoe we deze herziening hebben aangepakt met diverse combinaties factordeficiënte plasma's en APTT reagentia. Bovendien presenteren we onze eisen die vooraf gesteld zijn aan een complex- en multifactorieel proces en hoe we dit hebben beoordeeld.

Jaarlijks worden ± 300 Factor VIII en ± 50 Factor IX bepalingen uitgevoerd die grotendeels worden verricht voor patiënten met de ziekte van Von Willebrand en hemofilie. Bij de laatste patiëntengroep die profylactisch factorconcentraten krijgen toegediend, worden volgens hetzelfde meetprincipe antistoffen tegen Factor VIII/IX bepaald. Gezien de relevantie van adequate dalspiegels bij deze patiënten, stellen we hoge eisen aan deze bepalingen. Om juiste en reproduceerbare uitslagen met zekerheid te rapporteren, werd besloten om de test voor iedere meetserie opnieuw te kalibreren en controleren. Een tijdrovende en prijzige werkwijze gezien het reagentia-verbruik ten behoeve van kalibratie.

Voor de overgang naar een nieuwe werkwijze werd gebruik gemaakt van een oude generatie STA Factor Deficient VIII/IX/XI/XII factordeficiënt plasma (FDP) in combinatie met STA-APTT reagens (firma Stago) die gebaseerd is op een cefaline/silica activator. Voor Factor VIII en

IX werd één ijklijn gemaakt bij vijf concentraties tussen 0 en 100%. Op een dubbellogplot werd een rechtlijnig verband gevonden tussen de factorconcentratie en stoltijd waarbij afwijkingen van lineariteit werden gezien bij lage concentraties. Uit analyse van eerdere ijklijnen constateerden we dat ze matig reproduceerbaar waren. Enerzijds rechtvaardigde dit onze intensieve werkwijze, anderzijds was dit een teken aan de wand dat deze bepalingen niet stabiel waren. Gezien de klinische relevantie was het noodzakelijk deze te herzien en daarmee testkarakteristieken die tot mogelijke hiaten leiden, aan de kaart te stellen.

Methode

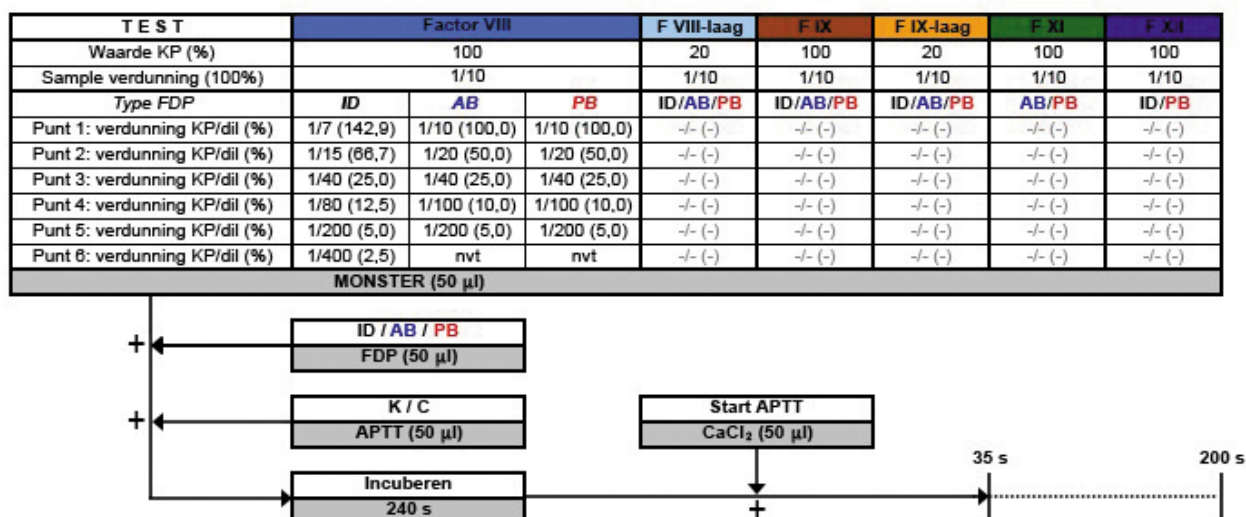
Dit onderzoeksproject kent drie verschillende fases. In fase 1 worden voor alle intrinsieke stollingsfactoren (VIII, IX, XI en XII) verschillende FDP's geanalyseerd in combinatie met verschillende APTT reagentia. In fase 2 is gekeken naar de reproduceerbaarheid en houdbaarheid van

de Factor VIII ijklijn. Een patiëntenvergelijk tussen de oude- en nieuwe Factor VIII methode is uitgevoerd in fase 3. In deze analyses zijn alle meetparameters identiek en constant gehouden voor zowel kalibratie als het meten van controle- en patiëntmonsters. Volgens vaste acquisitie wordt (in tegenstelling tot de routinematig onverdunde APTT) de APTT test uitgevoerd in een 1/10-verdunning van het monster. Hierin wordt 50 μ l van dit verdunde monster met 50 μ l FDP en 50 μ l APTT reagens geïncubeerd voor 240 s. Daarna wordt 50 μ l CaCl_2 oplossing toegevoegd waarop de stoltijd start en de APTT tussen 35 en 200 s wordt gemeten (figuur 1).

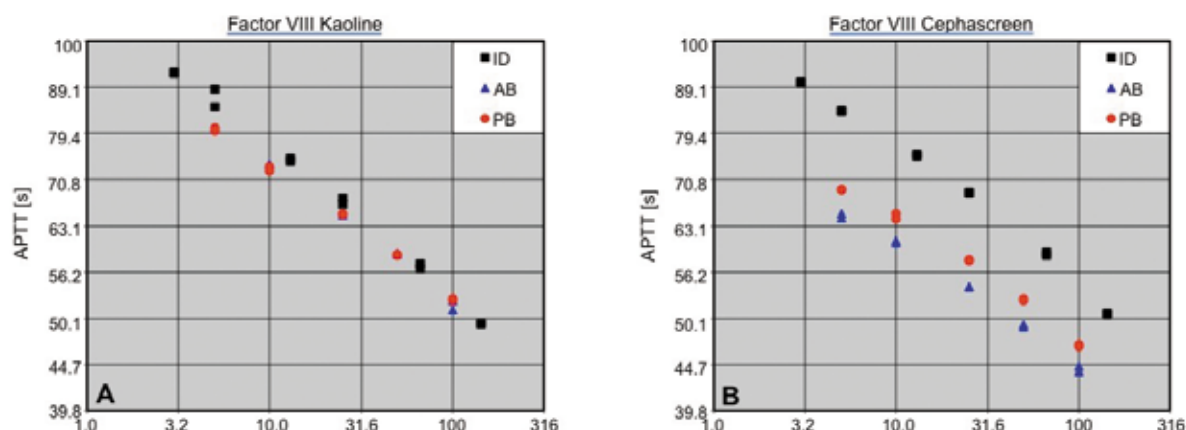
Fase I: Factordeficiënte plasma's en APTT reagentia

Drie soorten immuun gedepleteerde FDP's zijn onderzocht; een gelyofiliseerde nieuwe generatie STA-Immunodef ('ID', firma Stago) en twee vers bevroren plasma's Visudep-F (firma Affinity Biologicals, 'AB') en Cryocheck (firma Precision Biologic,

vervolg op volgende pagina >



Figuur 1 Schematisch overzicht van de studieopzet en de test configuratie voor het opstellen van ijklijnen van de intrinsieke stollingsfactoren met 1/10-verdunde APTT stoltest. Elke kalibratie is met zowel Kaoline ('K') als met Cephascreeen ('C') uitgevoerd. Alleen de verdunningen ten behoeve van de kalibratie van Factor VIII zijn gedetailleerd weergegeven. 'KP' = kalibratie plasma, 'FDP' = factordeficient plasma (van Immune Depleted 'ID', Affinity Biologicals 'AB' of Precision Biologic 'PB'), 'dil' = STA diluent.



Figuur 2 Factor VIII ijklijnen voor ID, AB, PB met K (A) en C (B) inclusief bijbehorende curvefits in onderstaande tabel.

F VIII	K			C		
	ID	AB	PB	ID	AB	PB
Respons	-0.182	-0.145	-0.140	-0.148	-0.128	-0.130
R ² (lin)	0.998	0.994	0.997	0.992	0.992	0.991
R ² (2 nd)	0.998	0.998	0.999	0.999	0.999	1.000
Blanco [s]	>200	99	79	>200	75	100

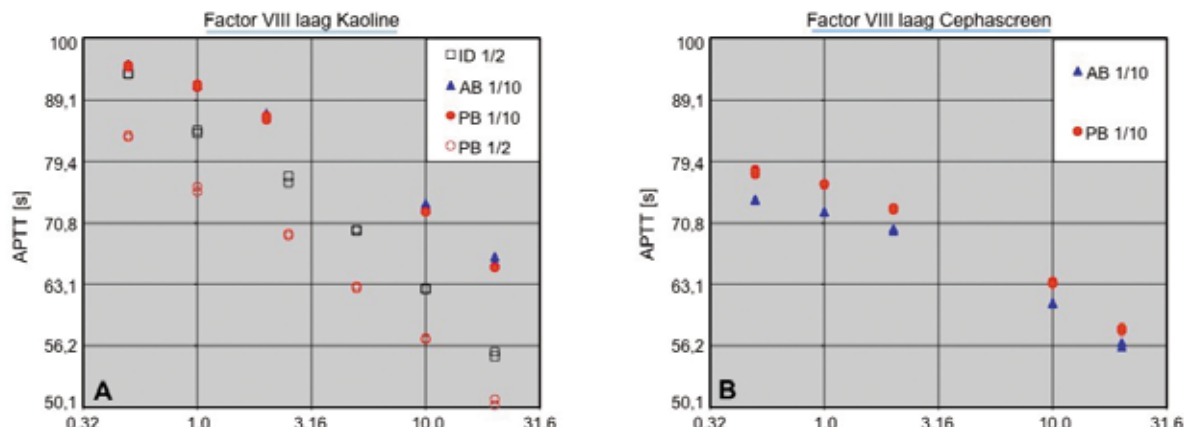
'PB'). Door middel van een kalibratieplasma ('KP', Visucal-F, firma Affinity Biologicals) zijn ijklijnen opgesteld met APTT reagentia gebaseerd op een cefaline/kaoline activator ('K', CK-Prest, firma Stago) en een cefaline/polyphenol activator (Cephascreeen, 'C', firma Stago). Het FDP-XI van ID en het FDP-XII van AB waren ten tijde van het onderzoek nog niet CE-gemarkeerd en niet onderzocht.

Op geleide van de bijsluiter, zijn op de STA-R Evolution verdunningen geselecteerd voor het opstellen van ijklijnen. Bij een monsterverdunning

van 1/10 wordt altijd 45 µl diluent ("dil") toegevoegd aan 5 µl monster. In het kalibratieproces bestaat dit monster uit een mengsel van KP en dil; zo correspondeert het 100%-punt met 5.0 µl KP ('1/10'), 50% met 2.5 µl KP + 2.5 µl dil ('1/20'), 10% met 0.5 µl KP + 4.5 µl dil ('1/100'), enzovoort (figuur 1). Voor Factor VIII en IX zijn tevens ijklijnen in het lage gebied (0 - 20%) opgesteld waarvoor twee verschillende configuraties zijn onderzocht: (1) De 'standaard' APTT in 1/10-monsterverdunning waarbij het KP handmatig is verdund met FDP tot 20% en

(2) De APTT in een 1/2-monsterverdunning waarbij het KP onverdund wordt aangeboden.

Voor keuze van de beste combinatie APTT reagens en FDP zijn de ijklijnen beoordeeld op verschillende criteria. Allereerst is gekeken naar de respons van de stoltijd op verandering van de concentratie. Een sterke respons is gewenst waarbij de stoltijd sterk verlengt als de concentratie van de stollingsfactor daalt en vice versa. De negatieve hellingshoek van een lineaire fit door de data (gebaseerd op duplomeringen op een dubbellogplot) is een maat voor de respons. Hoewel een dergelijk lineair verband volgens dit meetprincipe in geen enkele fysische context te plaatsten valt, is lineariteit als criterium meegenomen. Afwijkingen hiervan, met name bij lage concentraties, worden als on-



Figuur 3 Factor VIII ijklijnen in het lage gebied voor ID en PB (1/2-verdunning) en AB en PB (1/10-verdunning) met K (A) en voor AB en PB met C in 1/10-verdunning (B) inclusief bijbehorende curvefits in onderstaande tabel.

F VIII laag	K				C	
	ID 1/2	AB 1/10	PB 1/10	PB 1/2	AB 1/10	PB 1/10
Respons	-0.138	-0.099	-0.103	-0.131	-0.075	-0.081
R ² (lin)	0.991	0.982	0.983	0.992	0.972	0.976
R ² (2 nd)	0.996	1.000	1.000	0.997	0.999	0.999
Blanco [s]	-	-	101	-	-	79

gunstig verondersteld. Daarnaast is gekeken naar de kwaliteit van duplometingen en zijn blanco monsters (dil) gemeten ter indicatiestelling voor de mate van factordeficiëntie van het FDP. Volledige depletie van een stollingsfactor is gewenst wat resulteert in langere stoltijden en een sterkere respons.

Fase II: Reproduceerbaarheid en precisie

Van de beste twee combinaties uit fase I is een stabiliteitsanalyse verricht voor Factor VIII. Er is gekeken naar de reproduceerbaarheid van ijklijnen door in een tijdsbestek van één maand tien ijklijnen op te stellen en met elkaar te vergelijken. Bovendien zijn op alle ijklijnen twee controlemonsters gemeten en door vergelijking met de eerste 'vaste ijklijn op het apparaat' is gekeken naar de houdbaarheid ervan; dit in het kader van het geclaimde voordeel dat het FDP van ID alleen een LOTkalibratie behoeft. Als laatste is gekeken naar de precisie van de ijkpunten en of veelvuldig kalibreren de precisie van de controlemonsters ten goede komt.

Fase III: Patiëntenvergelijk

Van de beste combinatie uit Fase II is een patiëntenvergelijk met de oude Factor VIII methode uitgevoerd waarin identieke monsters op twee verschillende dagen gemeten zijn.

Ingevroren duplomonsters van elf patiënten met Factor VIII concentraties tussen <1 en 200% zijn gemeten en de correlaties op beide dagen zijn gefit volgens een Passing & Bablok regressieanalyse. Afwijkingen van de identiteitslijn zijn in het kader van juistheid geïnterpreteerd met de trend in de externe QC.

Resultaten en discussie Factordeficiënte plasma's en APTT reagentia

Hoewel alle intrinsieke stollingsfactoren zijn onderzocht, worden in dit artikel alleen de resultaten voor Factor VIII gepresenteerd. De ijklijnen voor K en C (figuur 2A en 2B, respectievelijk) laten beide een verlenging van de APTT zien bij dalende concentraties Factor VIII. De respons ($\Delta\text{APTT}/\Delta\text{conc}$) van de lineaire trend is sterker bij K dan bij C. Het beeld bij C is sterk heterogeen en opvallend zijn de kortere stoltijden bij AB en PB, die tevens de zwakste respons laten zien. Alle ijklijnen verlopen lineair, hoewel hogere R²-waarden worden gevonden wanneer ze met een tweede orde polynoom gefit worden (vooral bij C is dit verschil evident). De verklaring hiervoor is dat de ijklijn in het lage gebied afvlakt. De respons bij lage concentraties Factor VIII is zwakker wat pleit voor een aparte ijklijn hiervoor. Hoewel de duplometingen

voor ID iets minder fraai zijn, wordt bij dit FDP een APTT >200 s gemeten met het blanco monster. Vergeleken met kortere blanco stoltijden behaald met AB en PB (bij zowel K als C), impliceert dit dat ID het meest factordepleet is wat wordt onderbouwd door de sterkste respons voor ID (bij zowel K als C).

Gezien het afvlakken bij lage concentraties Factor VIII (evident bij AB en PB; in mindere mate bij ID waarbij de leverancier ook claimt dat het gehele concentratiedomein voor Factor VIII en IX op dezelfde ijklijn meetbaar is), zijn ijklijnen gemaakt voor concentraties van <20%. In de vergelijking tussen K en C (figuur 3A en 3B, respectievelijk) vallen kortere stoltijden en lagere responsfactoren op bij C wat overeenkomt met de ijklijnen in het normale gebied. De standaard 1/10-verdunningen sluiten ook bij deze ijklijnen aan en het afvlakken van de curve is duidelijk zichtbaar. Bij de 1/2-verdunning is er daarentegen behoud van lineariteit (alleen bepaald met K) en is er sprake van een sterkere respons dan bij de 1/10-verdunning. Opvallend is echter het verschil tussen ID en PB wat zou kunnen worden toegeschreven aan het verschil in factordepletie dat sterker tot expressie komt in het lage gebied.

Metten van lage concentraties

Uit de bovenstaande analyse voor Factor VIII lijkt de combinatie van ID als FDP met K als APTT reagens het beste te presteren.¹ Voor het lage gebied bestaat de voorkeur om de APTT in een 1/2-verdunning in te zetten, waarop lage monsters goed kunnen

Monster	Samenstelling [μ l]			APTT (ID/ K) [s, (%)]	
	KP	FDP	dil	1/10	1/2
A	5.0	495.0	0.0	>200	78.4 (2)
B	5.0	247.5	247.5	>200	80.0 (2)
C	5.0	0.0	495.0	>200	84.8 (1)

Tabel 1 Bereiding van 1% Factor VIII monsters en gemeten APTT's in de standaard 1/10-verdunning en de 1/2-verdunning.

A	ijklijnen	ID			PB		
		Mean	SD	VC	Mean	SD	VC
	100	52.20	0.79	1.51	50.80	0.68	1.34
	50	59.04	0.98	1.66	58.99	1.06	1.86
	25	66.04	1.24	1.88	63.10	1.19	1.88
	13	73.23	1.67	2.28	69.42	1.47	2.11
	6	80.42	1.95	2.43	75.78	1.56	2.06
	Respons	-0.155	3.21E-03	2.07	-0.143	2.47E-03	1.73

B	Controlemonsters	ID			PB		
		Mean	SD	VC	Mean	SD	VC
Variabel	Norm.	97.90	4.30	4.40	105.30	5.04	4.78
	Abnorm.	40.25	1.41	3.50	38.15	1.87	4.91
Vast	Norm.	98.72	4.97	5.03	102.78	5.57	5.42
	Abnorm.	40.17	1.58	3.94	37.78	2.56	6.77

Tabel 2 Bereiding van 1% Factor VIII monsters en gemeten APTT's in de standaard 1/10-verdunning en de 1/2-verdunning.

worden gemeten. De STA-R Evolution beschikt derhalve over een 'rerun mode' waarin monsters met lage concentraties opnieuw worden gemeten in een lagere verdunning. Volgens huidige werkwijze wordt een 1/5-verdunde APTT ingezet bij Factor VIII concentraties <6%. Echter, bij dergelijk lage verdunningen kan de stoltijd worden beïnvloed door de concentratie van de overige stollingsfactoren, waardoor kwantificering via de 1/10-gebaseerde ijklijn resulteert in onjuiste uitslagen. Dit wordt geïllustreerd door bereiding van verschillende 1% Factor VIII monsters die worden gemeten met de 1/2-verdunde APTT (tabel 1).

Onafhankelijk van de concentratie overige stollingsfactoren (monster A>B>C) is een 1% Factor VIII monster niet te bepalen in de 1/10-verdunning. Hoewel monster A, uitgaande van extrapolatie van figuur 2A, meetbaar zou moeten zijn. In de 1/2-verdunning zijn alle monsters te meten en blijkt duidelijk dat monster C een significant langere stoltijd behoeft (84,8s) dan monster B (80,0 s) en monster A (78,4). Dit verschil van 10 seconde heeft op de ijklijn consequenties voor de te rapporteren concentratie. Hiermee moet rekening worden gehouden bij het opstellen van de ijklijn.²

Reproduceerbaarheid en precisie

Van zowel ID als PB zijn binnen een

tijsdbestek van een maand tien ijklijnen opgesteld met K, waarbij is gekeken naar de precisie/reproduceerbaarheid van de ijkpunten en de verandering van de respons over tijd. Ieder ijkpunt is in duplo gemeten en de precisie over deze twintig ijkpunten bij vijf verschillende concentraties Factor VIII is bepaald (tabel 2A). In overeenstemming met figuur 2A worden langere stoltijden met ID gemeten en laat ID een sterkere respons zien dan PB. De SD's lopen sterk op als de concentratie Factor VIII daalt, echter lijken beide FDP's hierin gelijk te presteren. Alle VC's zijn <5% wat erg goed is voor deze test. Geen tijdsafhankelijk trends worden gezien in de stoltijden en respons, wat een verloop van relevante procesparameters uitsluit.

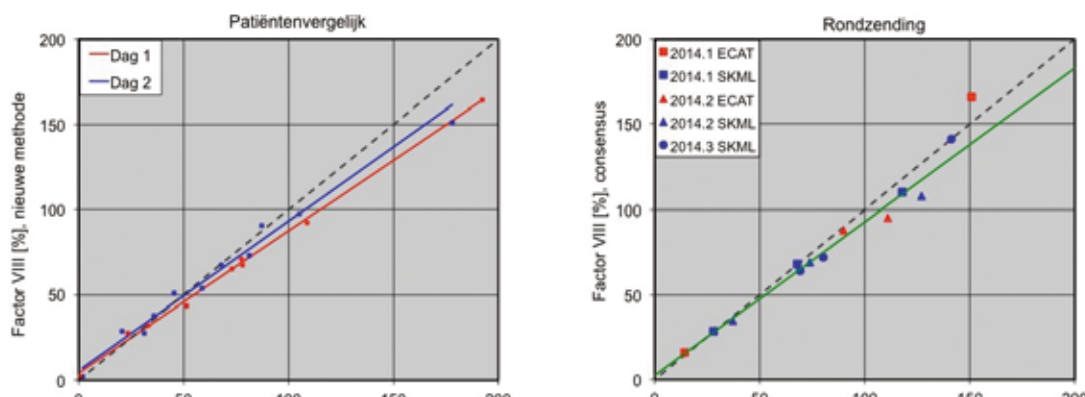
Naast reproduceerbaarheid van ijklijnen is gekeken naar de precisie van duplo controlemonsters. Hierbij zijn de resultaten verkregen van een vaste ijklijn vergeleken met de resultaten van een vers bepaalde ijklijn (tabel 2B). Voor ID worden lagere VC's gemeten bij zowel het normale- als het abnormale controlelevel én op zowel de vaste als variabele ijklijn. Bij ID wordt een marginale verbetering in precisie behaald om voor elke meting een nieuwe ijklijn op te stellen terwijl bij PB dit verschil prominenter aanwezig is; met name bij het abnormale controlelevel.

Patiëntenvergelijk

Gezien de sterke respons en goede reproduceerbaarheid/precisie voor ID met K is met deze combinatie een patiëntenvergelijk ingezet. Er is besloten om het patiëntenvergelijk uit te voeren met een beperkt cohort over twee dagen waarin het gehele concentratiedomein Factor VIII wordt bestreken (Figuur 4A). Op beide dagen wordt een soortgelijke regressie gemeten alwaar er een juistheidsverschil op beide dagen aanwezig is gezien het verschil in correlatiecoëfficiënt op dag 1 (0.83) en 2 (0.88). Gezien de offset en hellingshoek wordt met de nieuwe methode lager gemeten in het hoge gebied en iets hoger gemeten in het lage gebied. De gevonden correlatie heeft uiteraard invloed op de juistheid die wordt getoetst door middel van externe QC. Het overzicht van ECAT en SKML rondzendingen uit 2014 wijst erop dat we in het normale gebied hoger meten dan de consensus terwijl we in het lage gebied precies op target liggen (figuur 4B). Gezien de correlaties in figuur 4A gaan we daadwerkelijk lager meten met de nieuwe methode wat de juistheid in de externe QC ten goede zal komen.

Conclusie

Uit dit project is gebleken dat de intrinsieke stollingsfactoren accuraat en reproduceerbaar kunnen worden bepaald op de STA-R Evolution met het FDP van ID gecombineerd met K. In dit complexe meetprincipe, waarbij de vertragingstijd van een oscillerend bewegend kogeltje als maat voor een stollingsfactorconcentratie dient, zijn toepasbare criteria gesteld en navenante resultaten gevonden om het proces te optimaliseren. Bij de gekozen parameters en reagentia lijken tegelijkertijd geen interferenties op te treden die het resultaat negatief beïnvloeden. Desalniettemin worden soms onverklaarbare verschillen gevonden, zoals slechte duplometingen en aanzienlijke dag-tot-dag verschillen in het patiëntenvergelijk welke inherent aan dit meetprincipe verbonden blijven. Met de overgang van nieuwe reagentia wordt ook de werkwijze op het laboratorium aangepast. Zo zullen de testen louter op geleide van LOTnummerwisseling gekalibreerd gaan worden en worden de patiënten met lage Factor VIII spiegels op de 1/2-verdunde ijklijn gemeten.



Figuur 4 Patiëntvergelijk gemeten op 2 verschillende dagen voor Factor VIII volgens oude- en nieuwe methode (A) en resultaten voor Factor VIII (oude methode) in de externe rondzending (B).

1 Voor de overige factoren kwam ID ook als beste uit de bus en waren we erg tevreden over PB. Echter, naast analytisch-technische redenen hebben andere aspecten de doorslag gegeven zoals service en bekendheid van de

leverancier. Het handmatig oplossen van FDP van ID blijft een praktisch nadeel; PB en AB hoeven alleen ontdooid te worden.

2 Het opstellen van een lage ijklijn in een 1/2-verdunde APTT behoeft een handmatige

verdunding van de kalibratiemonsters om een juiste kalibratiecurve te verkrijgen. De werkwijze wordt in een toekomstig artikel uiteengezet.

Jaaroverzicht

Jaaroverzicht NVML 2016

NVML-congressen, -symposia en besloten groepen 2016

1e week februari	WHAPA	Amersfoort
31 maart	Congres Medische Microbiologie	Amersfoort
24 mei	Congres Kwaliteit	Nog onbekend
24 mei	ALV	Nog onbekend
September of oktober	LFN	Amersfoort
Oktober	Congres Focus op ??	Amersfoort
Najaar	LKN	Amersfoort
Najaar	WHAMM	Nog onbekend

NVML-cursussen 2016

12 januari	Start Stagebegeleiding (A)	Utrecht
14 januari	Start Theorie en kliniek van immuno-assays blok 2	Utrecht
8 maart	Start Fertilititeit en zwangerschap	Utrecht
29 maart	Start Meewerkend Leidinggevende, vernieuwd (A)	Utrecht
7 april	Start Stagebegeleiding (B)	Utrecht
28 april	Start Meewerkend Leidinggeven, vernieuwd (B)	Utrecht
26 mei	Start Malariadiagnostiek	Rotterdam
15 september	Start Meewerkend Leidinggeven, vernieuwd (C)	Utrecht
29 september	Start Stagebegeleiding (C)	Utrecht
8 december	Start Invloedrijk communiceren	Utrecht

NVML-cursussen 2016 (datum nog onbekend)

Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk	Utrecht
Flowcytometrie van van lymfoproliferatieve aandoeningen	Utrecht
Hemoglobinoopathiën	Utrecht
Stolling	Utrecht
Dermatofieten	Utrecht
Moleculair biologische technieken	Utrecht
SAFER	Utrecht
Incidentanalyse	Utrecht

In Analyse nummer 6 volgt een update van dit overzicht.

Om op de hoogte te blijven, kijk regelmatig op de website: www.nvml.nl

Bij de cursussen
Invloedrijk communiceren;
Beenmergdiagnostiek
in de dagelijkse praktijk;
Moleculair biologische
technieken en SAFER van
2015 zijn nog plaatsen
over!

Congres PRE-ANALYSE; een belangrijke schakel in de zorg!

Op donderdag 10 december 2015 organiseert de NVML het congres 'Pre-Analyse' in congrescentrum 'de Eenhoorn' in Amersfoort.

Programma		Dagvoorzitter		
10.15 - 10.45	Opening NVML en dagvoorzitter <i>M. Pospiech</i> <i>Dr. M.H. Herruer, klinisch chemicus, Atalmedial Hoofddorp</i>	<i>Dr. M.H. Herruer</i>	12.45 - 13.15	Afnamecondities; bloedafnameverwerking en invloed op het onderzoek <i>Dr. L.D. Dikkeschei, klinisch chemicus, Isala klinieken, Zwolle</i>
10.45 - 11.15	Communicatie op de werkvloer als schakel in de pre-analyse <i>Dhr. E.J. van Brussel, trainer/coach Effectief Veranderen, Groningen</i>		13.15-14.15	Lunch
11.15 - 11.45	Omgang met patiënten <i>Mw. M. Gobel, eerstegraads dramadocent, trainingsacteur voor Zorg en Welzijn</i>		14.15 - 14.45	Buizenpost betrouwbaar? <i>Dhr. E. Schuiling, technisch beheer transportinstallaties, UMCG</i>
11.45 - 12.15	Pauze (koffie en thee)		14.45 - 15.15	Een casusbespreking Nog te bepalen
12.15 - 12.45	De problematiek van 24 uren urine <i>Dr. J. Doorn, KC in opleiding, UMC Groningen</i>		15:15 - 15:45	Pauze (koffie en thee)
			15.45 - 16.30	Vernieuwing van de prikpoli AZU-UMCU <i>Mw. P. van Dijk, hoofdanalist klinische en bloedafname-poli AZU, Utrecht</i>
			16.30 - 17.00	Afsluiting met borrel en hapjes

U kunt zich aanmelden via de website!

Nascholing

Nieuwe inschrijfprocedure nascholing uit de kinderziekten!

In Analyse nummer 4 stond het bericht dat het inschrijven voor een NVML cursus, nascholing of congres gaat veranderen. Het eenmalig aanmaken van een account vóórdat u zich kunt inschrijven, is inmiddels een feit. Gedurende de eerste twee weken zijn er verschillende problemen geweest die nu allemaal zijn opgelost. Meer informatie hierover vindt u op onze website in de rubriek 'Nieuws'.

Het aanmaken van een account duurt maximaal vijf minuten en is eenmalig. Dit account gebruikt u daarna altijd weer bij uw volgende inschrijvingen. Dit heeft als voordeel dat de informatie, die wij van u nodig hebben voor de inschrijving, automatisch op uw scherm verschijnt. Dit scheelt u dus werk.

Account aanmaken

NVML-leden maken hun account aan met behulp van het lidmaatschapsnummer en geboortedatum. Het lidmaatschapsnummer vindt u op het adresetiket van Analyse. Gaat u voor het eerst een cursus, congres, symposium of nascholing bij de NVML volgen dan maakt u uw account aan met behulp van uw e-mail adres.

Heeft u al eens een cursus, congres, symposium of nascholing bij de NVML gevolgd? Dan zijn uw gegevens bekend bij de NVML. Het aanmaken van uw account is dan net zo snel gedaan als voor NVML-leden. Vraag uw relatienummer bij ons op. Op de pagina 'account aanmaken' maakt u gebruik van het aanmelden met bestaande gegevens. Het relatienummer vult u in bij het lidmaatschapsnummer. Dit tezamen met uw geboortedatum zorgt er voor dat uw gegevens automatisch worden ingevuld. U hoeft alleen nog een e-mail adres en wachtwoord in te vullen waarmee u zowel het account aanmaakt als in het vervolg het account opent. Bewaar deze dus goed.

De zomervakantie is weer voorbij

De komende maanden staan er allerlei soorten activiteiten op het NVML programma. Dit jaar worden maar liefst nog 10 cursussen, 2 symposia en 3 congressen georganiseerd! Ook de themadagen van diverse leidinggevende werkgroepen staan op de agenda.



Op 8 oktober organiseert de Werkgroep HoofdAnalisten Klinische Chemie (WHAKC) haar 5e lustrumthemapag met als onderwerp ISO15189. Hiervoor worden leidinggevendenden die lid zijn van de WHAKC uitgenodigd om met elkaar over dit onderwerp van gedachten te wisselen. Het wordt een afwisselend programma, vooral ingevuld door sprekers van laboratoria die de overgang van CCKL naar ISO15189 achter de rug hebben en tips kunnen geven voor degene die druk hiermee aan de slag zijn of gaan.

Vlak na de WHAKC themapag volgt het NVML-congres Allergie. In november is het weer tijd voor het jaarlijks terugkomende thema 'Focus op'. Dit keer staat deze dag in het teken van de Alvleesklier. Daarnaast organiseert de NVML de komende maanden diverse cursussen over allerlei onderwerpen. Van een cursus 'Stagebegeleiding' en 'Meewerkend Leidinggevende' tot 'Invloedrijk Communiceren'. Voor een overzicht van alles wat de NVML de komende maanden nog organiseert zie de agenda achterin de Analyse of kijk op de website www.nvml.nl.

Op 10 december 2015 staat voor het eerst een NVML-congres voor Pre-analytische medewerkers gepland. De NVML wil ook voor deze belangrijke groep medewerkers scholing organiseren. Ook in de ISO15189 is scholing en aantonen daarvan een belangrijk onderdeel. Het laboratorium dient te registreren hoeveel scholing een medewerker heeft gevolgd. De NVML houdt voor alle leden een persoonlijke registratie bij van het aantal behaalde UEC punten.

Wat zijn nu eigenlijk UEC's? Hieronder staat een korte beschrijving die uitgebreider te vinden is op de website: Sinds 2000 heeft de NVML in samenwerking met een aantal Europese landen het Europees Professioneel Dossier (EPD) ontwikkeld. In verschillende Europese landen is de wetgeving voor biomedisch laboratoriummedewerkers dusdanig, dat alleen het beroep uitgeoefend mag worden als men officieel kan aantonen een bepaald aantal uren (uitgedrukt in UEC = Unité Euro Crédits) per jaar heeft behaald. Het EPD kan een goed hulpmiddel vormen voor laboratoria bij het opstellen van een kwaliteitssysteem; goed opgeleid en gekwalificeerd personeel is hierbij een voorwaarde.

Via de website is de elektronische versie beschikbaar voor leden. Wilt u hierover meer informatie? Neem contact op met de NVML!

Eline Liesting
Bestuurslid NVML

NVML

Wilhelminapark 52, 3581 NM Utrecht. Telefoon: 030-2523792.
Telefonisch bereikbaar: maandag tot en met donderdag van 9:00 tot 14:00. Fax: 030-2541814. E-mail: nvml@nvml.nl.
Website: www.nvml.nl

Bereikbaarheid bureaumedewerkers

- Ria Blom (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Marja Pospiech (beroepsinhoudelijke belangenbehartiging en algemene zaken): maandag tot en met donderdag.
- Alice Gosselt-Imming (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Jenny Schoemaker (voorlichting en sociale belangenbehartiging): dinsdag t/m donderdag.

Lidmaatschap

Voor informatie en ledenadministratie kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Contributie

Lees het aanmeldingsformulier op de website: www.nvml.nl.

Opzegging

Schriftelijk vóór 1 november van het lopende jaar per post, fax of e-mail. U ontvangt hiervan een bevestiging binnen 10 werkdagen. Omdat niet al het communicatieverkeer probleemloos verloopt, adviseren wij u bij het uitblijven van de bevestiging telefonisch contact op te nemen met het bureau van de NVML.

Bestuur

Voorzitter

mw. M.J. Egbers, afdeling Medische Microbiologie, Isala Klinieken Zwolle

Penningmeester

mw. S. Versluis-van den Born, Medisch Centrum Kinderwens, Leiderdorp

Secretaris/vicevoorzitter

mw. N. IJzerman, hoofd KAM-dienst, Medial, Hoofddorp

Leden

mw. E.C. Liesting, afdeling Specieële Klinische Chemie en Hematologie, UMC Utrecht
dhr. A.J. van der Kolk, operationeel manager KCI Deventer ziekenhuis
dhr. B. klein Brink, Manager Histopathologie, Symbiant
mw. H. Duijn, Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis Amsterdam

Adviseurs

- prof. dr. M.A. Blankenstein, Amsterdam, klinisch chemicus
- dr. H. Hazelbag, Den Haag, patholoog
- mw. E.C. de Jong PhD, cellulair immunoloog
- dr. C.H.E. Boel, Utrecht, arts-microbioloog

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit

Contactpersoon: Petra Selsen

Commissie Nascholing

Contactpersoon: Alice Gosselt-Imming en Ria Blom, bureau NVML.

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Redactiecommissie

Contactpersoon Annerieke Nieuwenhuijs

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML.

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon Sandra Versluis

Landelijk kwaliteitnetwerk (LKN)

Contactpersoon Elly Bom

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: John van Marsdijk

Congres



PRE-ANALYSE

een belangrijke **schakel** in de zorg!

*Speciaal
voor alle
pre-analytische
medewerkers!*

PATHOLOGIE
KLINISCHE CHEMIE
MEDISCHE MICROBIOLOGIE
IMMUNOLOGIE
HEMATOLOGIE

donderdag 10 december 2015
congrescentrum De Eenhoorn Amersfoort

www.nvml.nl

Succesvol pionieren: Starten vanaf het nulpunt

In 2009 besloot het NVML-bestuur dat het ontwikkelen van e-learning voor de beroepsgroep een goede zaak zou zijn. Maar waar te beginnen? Er was nog helemaal niets voor de sector. De werkgroep E-learning ging aan de slag: nog zonder enige kennis van zaken, maar met veel enthousiasme. En ook met weinig geld, want de NVML is een vereniging met leden en heeft geen geldpotjes achter de hand. De ontwikkeling van de e-learning moest dus low-budget. Naast het technische vraagstuk, het vinden van een goed softwarepakket en deskundigen die daar ervaring mee hadden, was er het inhoudelijke verhaal. De NVML heeft een naam hoog te houden als het gaat om de inhoud van haar congressen en nascholingen, dus de inhoudelijke kwaliteit van de modules moest uitstekend zijn. We zijn dan ook heel blij dat velen deskundige laboratoriummedewerkers en –specialisten hun expertise hebben ingezet om de e-learningmodules inhoudelijk vorm te geven.

Als eerste werd in 2011 de module Bloedafname geopend, een mooi startpunt. In de tijd daarna kwamen er steeds meer modules, tot tien stuks eind 2013. Tegelijkertijd ging de werkgroep aan de slag om deelnemers, individuen, maar vooral laboratoria te werven om hierop in te schrijven. Laboratoria krijgen bij afname van een 'staffel' toegang tot alle e-learning modules voor alle medewerkers. Pioniers hiervan zijn Atalmedial in Hoofddorp, het Laurentius ziekenhuis in Roermond en het Ikazia ziekenhuis in Rotterdam. Later komt daar ook het Isala-KCL bij. Zij hebben de NVML geholpen om de kinderziekten van het systeem op te lossen. En dan, in 2014, gaat het lopen: 16 laboratoria met in totaal zo'n 1100 deelnemers schrijven meerdere jaren in voor een abonnement op de NVML-e-learning. Natuurlijk is de NVML hier erg blij mee! Anno 2015 zijn er vijftien modules gereed, op gebied van de klinische chemie, medische microbiologie en pathologie.

Toekomst

De ontwikkeling van de nieuwe modules is nog in volle gang. Van alle gewenste onderwerpen kan een e-learning module worden gemaakt, en er staat nog heel wat op de wensenlijst. Tegelijkertijd kan met de inkomsten van de staffels in de toekomst het softwarepakket worden vernieuwd en geavanceerder gemaakt, waarmee de deelnemers nog sneller en beter worden bediend. Door steeds te blijven vernieuwen, blijft de NVML-e-learning aantrekkelijk voor alle laboratoria, groot en klein! Terugkijkend kunnen we vooral zeggen dat de enorme inzet van alle vrijwilligers, de werkgroep-leden en de module-

ontwikkelaars ervoor gezorgd heeft dat dit project een groot succes is! Onderstaand willen we hen allen dan ook hartelijk bedanken voor hun inzet.

Auteurs modules

Dr. P. Bartels, Medisch Centrum Alkmaar
Dr. R.W. Bosboom, Rijnstate ziekenhuis, Arnhem
M.J. Bruins, Isala klinieken, Zwolle
S.M. Elshof, UMC Utrecht
B. Grijsen, Medlon, Enschede
Dr. J.J. van Hellemond, Erasmus MC, Rotterdam
Dr. J.A. Kaan
Dr. J. Klein Gunnewiek, ziekenhuis Gelderse Vallei, Ede
R. Koelewijn, Havenziekenhuis, Rotterdam
Dr. E. Kramer, Isalaklinieken, Zwolle
Prof. Dr. E. J. Kuiper, LUMC, Leiden
Leica
J. van Lissum, Canisius Wilhelmina ziekenhuis, Nijmegen
Dr. T. Mank, Stichting streeklaboratorium voor de volksgezondheid Kennemerland
Dr. W. van der Meer, UMC St. Radboud Nijmegen
Dr. R. Maatman, Medlon, Enschede
Dr. M. Schoorl, Medisch Centrum Alkmaar
M. van Zanten, Greiner Bio-One

Werkgroep e-learning

N. IJzerman, Atalmedial, Hoofddorp
J. Oomes, Medisch Centrum Alkmaar
I.M.C.E. Roelands, St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg
M.A.M. Verdaasdonk, UMC Utrecht

NVML-ledenenquête over kosten contributie en nascholing

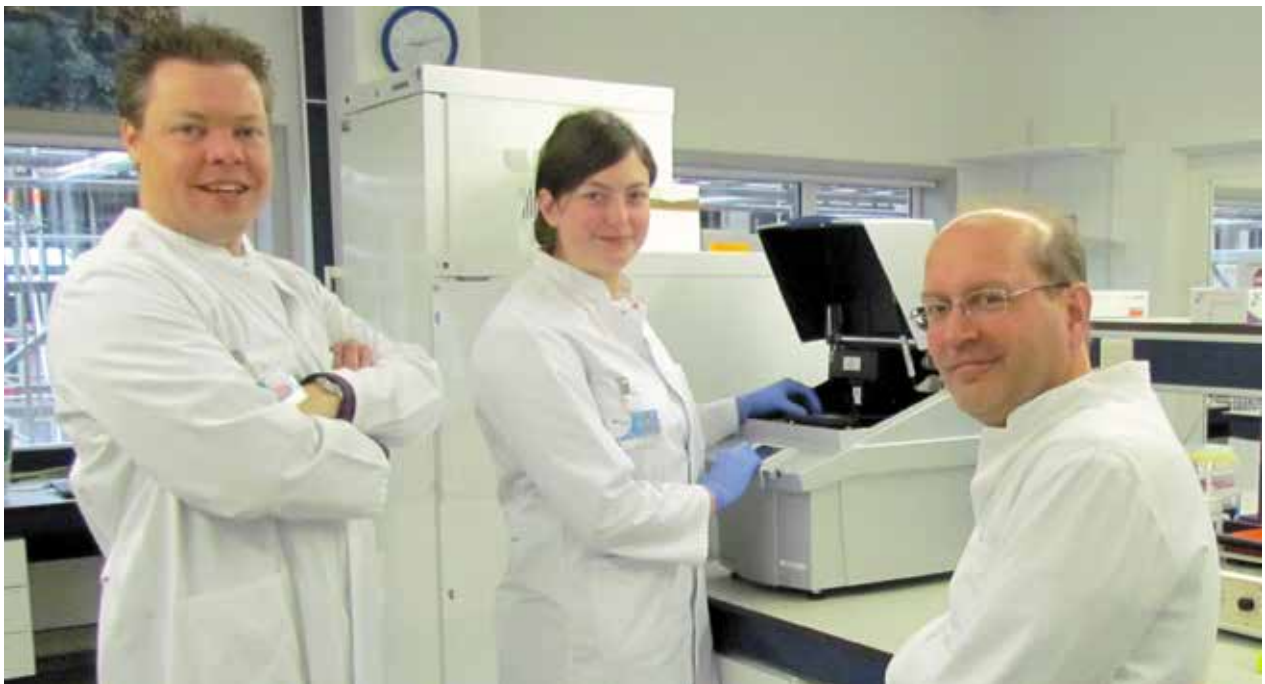
De NVML stelt het zeer op prijs als u een korte enquête wilt invullen met daarin drie vragen over de contributie en nascholing. Het invullen duurt slechts enkele minuten. U kunt de enquête vinden via een link op de homepage van onze website www.nvml.nl

De enquête staat online tot 2 november 2015.

Ontwikkeling en implementatie van IDH1/2 genmutatie analyse voor de moleculaire diagnostiek van hersentumoren

Sommige analisten voeren een speciaal onderzoek uit in het lab. Waar doen ze precies onderzoek naar en wat komt hier allemaal bij kijken? Daar proberen wij achter te komen in deze nieuwe rubriek. Dit keer een kijkje achter de schermen bij de stage van Anne Lucassen.

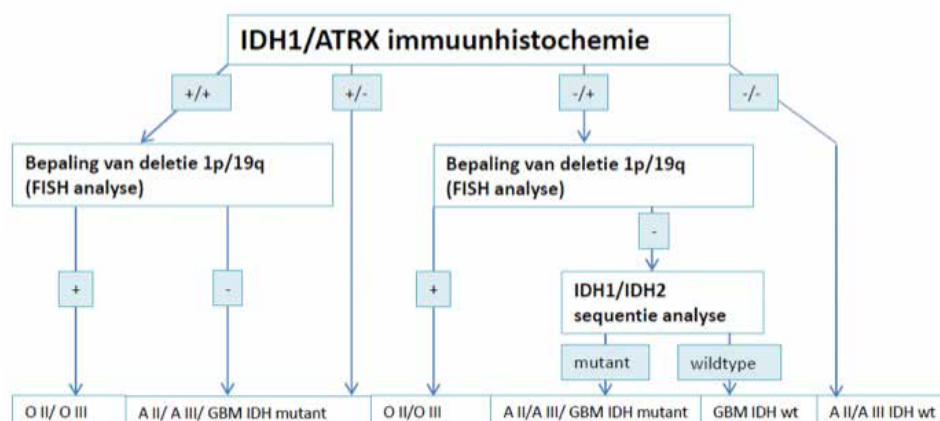
Analist:	Anne Lucassen (begeleiding door klinisch moleculair bioloog professor Dr. Ernst-Jan Speel en leidinggevend analist Ing. Guido Roemen)
Instelling:	Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC), afdeling Pathologie
Functie:	HLO stagiaire moleculair biologische technieken van de HAN leerjaar 4
Onderzoek:	Ontwikkeling, validatie en implementatie van IDH1/2 genmutatie analyse door middel van pyrosequencing als onderdeel van de moleculaire diagnostiek van gliomen en glioblastomen.



Stel jezelf even voor

Mijn naam is Anne Lucassen, ik ben 22 jaar en ik voer momenteel mijn afstudeerstage uit op de afdeling Pathologie van het UMC. Voorafgaand hieraan heb ik mijn research-stage op deze afdeling uitgevoerd. Gedurende deze research-stage heb ik me verdiept in de moleculaire diagnostiek en mij basale moleculaire technieken eigen gemaakt, als afsluiting hiervan heb ik de EuroClonality/BIOMED-2 T-cel receptor Bèta bepaling gevalideerd voor de identificatie van clonale celpopulaties bij lymfoproliferatieve aandoeningen. Voor mijn afstudeerstage ben

ik gestart met de ontwikkeling en validatie van IDH1/2 genmutatie analyse door middel van pyrosequencing. Na implementatie van deze test in de kliniek, ben ik me bezig gaan houden met het testen en valideren van de TruSight tumor kit van Illumina voor de MiSeq Massive Parallel Sequencer. Hiermee kunnen 26 relevante genen die een rol spelen bij verschillende typen kanker simultaan worden geanalyseerd. Het is de bedoeling dat de IDH1/2 genen aan dit panel worden toegevoegd. In juli verwacht ik mijn HLO diploma te kunnen ontvangen en hierna ga ik op zoek naar een interessante baan.



Figuur 1 Algoritme voor efficiënt gebruik van IDH1/ATRX immunohistochemie, 1p/19q analyse en IDH1/2 sequentie analyse voor het diagnosticeren van hersentumoren. IHC: – geen expressie, + expressie, FISH :- geen deletie, + 1p/9q deletie; sequentie analyse: wt wild-type; O II/ O III oligodendroglioom graad II/III, A II diffuus astrocytoma graad II, A III anaplastisch astrocytoma, GBM glioblastoom.

Wat houdt het onderzoek in?

De recente ontwikkelingen in de moleculaire diagnostiek van glio(blasto)men hebben ertoe geleid dat de klinische laboratoria nieuwe moleculaire bepalingen zijn gaan ontwikkelen en implementeren voor glio(m)diagnostiek. Er is een algoritme voorgesteld zoals weergegeven in figuur 1. Mijn onderzoek richtte zich op de ontwikkeling en validatie van de mutatie analyse van de isocitraat dehydrogenase genen (IDH1 en IDH2) door middel van pyrosequencing. Pyrosequencing is een techniek die gebruik maakt van luciferase lichtsignalen die vrijkomen bij de incorporatie van een specifieke nucleotide(A,T,C of G), hiermee kunnen DNA sequenties worden vastgesteld en mutaties worden opgespoord.

Het voordeel van pyrosequencing is dat het een relatief snelle methode is voor sequentie analyse en dat specifieke hot-spot genmutaties al bij een tumorpercentage van 10% in het te onderzoeken sample kunnen worden gedetecteerd. De primers voor deze analyse zijn gekozen op basis van de literatuur en de PCR-reactie werd geoptimaliseerd door middel van Real-Time PCR, vervolgens werden bekende DNA monsters getest op aanwezigheid (of afwezigheid) van de IDH1 of IDH2 mutatie. De meest voorkomende mutatie bleek de c.394 C>T mutatie in het IDH1 gen te zijn, in overeenstemming met de literatuur. Uiteindelijk is een protocol opgesteld, getest en gevalideerd. Deze mutatie analyse is nu geïmplementeerd in de routine diagnostiek van de afdeling Pathologie. De volgende stap is de implementatie van IDH1/2 gen mutatie analyse door middel van Massive parallel Sequencing (Next Generation Sequencing).

Wat is de zin van dit onderzoek?

IDH1/2 genmutaties worden voornamelijk gevonden in WHO graad II en graad III gliomen en glioblastomen en zijn geassocieerd met een langere overleving (ongeveer twee jaar in vergelijking met één jaar bij afwezigheid van de mutatie). Er wordt momenteel ook onderzoek gedaan naar therapeutische toepassingen voor tumoren met IDH genmutaties. Omdat beoordeling van de mutatie status

van het IDH1/2 gen een belangrijk onderdeel van de diagnostiek van hersentumoren is, dient dit nauwkeurig te worden uitgevoerd. Voorheen werd de mutatiestatus van IDH1 alleen bepaald door middel van immunohistochemie. Aangezien deze techniek niet altijd goed te interpreteren is en slechts mutaties in IDH1 kan identificeren, is de IDH1/2 pyrosequencing analyse een belangrijke aanvulling in de diagnostiek.

Hoe lang duurt/duurde het onderzoek?

Ik ben in september 2014 begonnen met de research-stage en in januari ben ik gestart met de afstudeer stage, ik verwacht in juli mijn diploma te behalen. De validatie van IDH1/2 mutatie analyse is momenteel afgerond en de analyse is geïmplementeerd in de routine diagnostiek. Er zijn al verschillende aanvragen geweest voor deze analyse en het is leuk om te zien dat mijn werk wordt toegepast in de diagnostiek.

Wat is jouw bijdrage en wat vind je er leuk aan?

Ik heb onder begeleiding de IDH1/2 genmutatie analyse ontwikkeld en gevalideerd als basis voor implementatie. Ik vond het een erg leuk onderzoek om uit te voeren omdat ik zoveel praktische handelingen zelf mocht doen. Bovendien waren pyrosequencing en Next Generation Sequencing geheel nieuwe technieken voor mij, die ik nu heb kunnen leren.

In het kader van mijn opleiding vind ik het belangrijk dat ik met zoveel mogelijk verschillende technieken kennis kan maken, zodat ik zo breed mogelijk wordt opgeleid en de kansen op het vinden van een baan kan vergroten. Ook de samenwerking met collega's vind ik erg belangrijk. Ik ben erg blij met alle kansen de afdeling Pathologie in het MUMC mij biedt en ik kan nu al terugkijken op een geslaagde, gezellige en leerzame stage.

Ook jouw onderzoek in de schijnwerper?

Stuur dan een e-mail naar nvml.redactie@nvml.nl onder vermelding van 'Analist en Onderzoek'.



CRP POC Controles



CRP Point Of Care

LEVEL 1, CONC.: 20 mg/l
LEVEL 2, CONC.: 100 mg/l

Onafhankelijke vloeibare controles

Specifiek voor POC analyzers

6 weken stabiel na opening van een flacon

Speciale flacons voor capillairen

**Nu ook gekleurde
CRP POC controles!**

Urine Controles



Urine Controles voor Strips & Analyzers

Onafhankelijke vloeibare controles

Tevens geschikt voor:
Siemens ® Clinitek Status PLUS

Ook voor Urine Sedimenten onderzoek

2 jaar houdbaar bij 2 – 8°C

30 dagen stabiel na opening van een flacon

**www.cliniqa.com
Controls program**

Humaan Occult Bloed in Faeces



Hexagon OBTi of Innovacon

Patiënt hoeft geen dieet te volgen

Gevoeligheid:
< 50 ng Hb /ml
< 6 µg Hb / gram faeces

Werkt zeer hygiënisch en geurloos

Resultaten binnen enkele minuten



Nu ook externe kwaliteitsborging mogelijk via SKML

Contact gegevens:

INstru**chemie** BV
Zwet 26, 9932 AB Delfzijl

Tel: 0596 – 634 831
E-mail: info@instruchemie.nl

Focus op de Alvleesklier

Op dinsdag 24 november 2015 organiseert de NVML het congres 'Focus op de Alvleesklier' in congrescentrum 'de Eenhoorn' in Amersfoort.

Programma	Dagvoorzitter			
10:00-10:15	Opening NVML en dagvoorzitter <i>M. Pospiech, NVML</i> <i>Prof. Dr. M.A. Blankenstein, klinisch chemicus, VUmc Amsterdam</i>	12:35-13:30	Lunch	
10:15-10:50	Anatomie en pathologie van de Alvleesklier <i>Mw. Drs. M.A.J. van Zanten, patholoog i.o., RadboudUMC Nijmegen</i>	13:30-14:05	Pancreaskopcarcinoom <i>Mw. Dr. S.J. Lekkerkerker, Arts-onderzoeker MDL, afd. Gastro-enterologie en Hepatologie, AMC Amsterdam</i>	
10:50-11:25	Exocriene functies van de pancreas <i>Dr. R.L.J.M. Herpers, Klinisch Chemicus, Bernhoven Ziekenhuis Uden</i>	14:05-14:40	Post-hepatische icterus bij galwegafsluiting door tumor <i>Dr. F. J. Loupatty, Klinisch Chemicus, RDGG, Diagnostisch Centrum, SSDZ Delft</i>	
11:25-12:00	Koffie/ thee	14:40-15:10	Koffie/thee	
12:00-12:35	Diabetes Mellitus, HbA1c als diagnostisch middel <i>Dr. C.W. Weykamp, Chemicus, SKB Winterswijk</i>	15:10-15:45	Transplantatie van alvleesklier of eilandjes als behandeling voor diabetes <i>Drs. M.F. Nijhoff, fellow endocrinologie, PhD researcher in het klinische eilandjestransplantatieproject, LUMC Leiden</i>	
		15.45	Afsluiting en borrel	

Gezamenlijk nummer VAPvisie en Analyse

Het aftasten is begonnen en de eerste gesprekken zijn geweest: de NVML en de VAP (Vereniging Analisten Pathologie) brengen in 2016 een gezamenlijk nummer uit! Deze gezamenlijke editie die wordt gevuld door zowel de redactie van de VAP als van de NVML. Twee keer zoveel redactieleiden en twee keer zoveel ideeën, dat wordt dus sowieso een goed gevuld, bruisend en vakinhoudelijk dubbel zo interessant nummer!

Tipje van de sluier

In de gezamenlijke editie worden artikelen vanuit beide verenigingen geïntegreerd. Waarschijnlijk wordt dit een speciaal thema nummer, waarin zowel artikelen vanuit de pathologische hoek als artikelen vanuit de klinisch-chemische, microbiologische en andere vakgebieden van

de NVML zijn opgenomen. Maar de precieze inhoud blijft natuurlijk nog een verrassing. Ook de vertrouwde rubrieken van beide bladen zullen uiteraard terugkomen, maar dan nét in een ander jasje.

Wat is het?

Vorige keer stond de rubriek 'Wat is het?' weer in de Analyse. De oplossing was: de deksel van een (autoclaveerbare) afvalbak (zoals rechts hieronder te zien). De gelukkige winnaar is Elise Knetemann! Zij krijgt binnenkort een VVV-bon ter waarde van €10,00 thuisgestuurd.

Dit keer hebben we weer een nieuw raadsel. Wat staat hiernaast op de foto? Het antwoord kun je sturen naar nvml@nvml.nl onder vermelding van 'Wat is het?'. Oplossingen kunnen ingestuurd worden tot 10 november 2015. De winnaar ontvangt een VVV-bon ter waarde van €10,00. De winnaar en de oplossing worden bekend gemaakt in Analyse nummer 6.



Hogeschool van Arnhem en Nijmegen

Cursussen, post-hbo en maatwerkopleidingen Life Sciences

Titel: **Basiskennis Chemie**
Datum: **e-learning (vrije keus startdatum)**
Omvang: **2,5 maand**
Kosten: **€ 595,00**
Locatie: **n.v.t.**

Titel: **Labmanagement: Communicatie**
Start: **8 september 2015 (4 dagen 9.00-13.00 uur)**
Kosten: **€ 795,00**
Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Labmanagement: Projectmanagement**
Start: **3 november 2015 (3 dagen 14.00-18.00 uur)**
Kosten: **€ 825,00**
Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Advanced Imaging Technieken met CLSM**
Start: **17 en 24 november 2015**
(2 dagen van 9.00-16.30 uur)
Kosten: **€ 795,00**
Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Immunologie**
Start: **24 november 2015**
(5 dagen van 18.00-21.00 uur)
Kosten: **€ 552,00**
Locatie: **Amsterdam**

Titel: **Morfologie van het Urinesediment**
Datum: **26 november 2015**
Kosten: **€ 392,00**
Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Labmanagement: Kwaliteitszorg**
Start: **15 december 2015 (4 dagen 14.00-17.00 uur)**
Kosten: **€ 795,00**
Locatie: **Nijmegen**

Voor aanmelding en aanvullende informatie over onze opleidingen kunt u terecht op onze website www.hanlifesciences.nl of mailen naar info.lifesciences@han.nl.

Avans Hogeschool Breda

Het lectoraat Analysetechnieken in de Life Sciences van Avans Hogeschool ontwikkelt en geeft cursussen op het gebied van biomedische laboratoriumtechnieken voor bedrijven, universiteiten en instellingen. In 2014 worden de volgende internationale cursussen georganiseerd:

Titel: **Flowcytometrie, van kalibratie tot applicatie**
Datum: **10, 17 en 24 november 2015**
Omvang: **3 middagen**
Locatie: **Rotterdam (Erasmus MC)**
Kosten: **€ 600,-**

Voor meer informatie over deze cursus verwijst ik u graag naar onze website: www.alsavans.nl. Voor vragen, neem contact op met: Secretariaat Lectoraat Analysetechnieken in de Life Science, Avans Hogeschool, Mevr. Sari van Heel-Vauhkala, Tel: +31 (0)88 525 7728; e-mail: si.vanheel-vauhkala@avans.nl

Institute for Life Sciences & Chemistry

Cursussen met een efficiënt studieprogramma en een erkend certificaat.

Cursus: **Antibiotica en resistentie**
Startdatum: **15, 29 oktober en 5 november 2015.**
Omvang: **3 bijeenkomsten van 9.30 tot 17.00 uur**
Kosten: **€ 1.275,-**

Cursus: **Introductie PCR**
Startdatum: **28 oktober, 4 en 11 november 2015.**
Omvang: **3 bijeenkomsten van 9.30 tot 17.00 uur**
Kosten: **€ 1.500,-**

Kijk op onze website www.cvnt.nl voor het volledige cursusaanbod of kies voor keuzemodules uit het bachelor onderwijs. U kunt denken aan cursussen als Moleculaire biologie, Immunologie, Humane Fysiologie, Virologie en Microbiologie. Een groot aantal van de cursussen start in de eerste week van februari. Prijs is 700 euro voor een cursus van 5 EC. Wilt u de opleidingsbehoefte binnen uw organisatie in huis en op maat invullen, dan kunt u contact opnemen met de studieadviseur Life Sciences via 088-481 8888 of info@cvnt.nl.

Hogeschool Leiden

Centrum Bioscience en Diagnostiek

Incompany maatwerk

Het CBD heeft al meer dan twintig jaar ervaring met het verzorgen van scholing op maat en is voor veel bedrijven en instellingen uitgegroeid tot een betrouwbare partner. De kracht van de CBD-aanpak is dat we specifiek trainen op wat in de werksituatie van belang is. Wij kunnen dit organiseren door middel van een individueel traject of een groepsgewijze aanpak. Zo garanderen we maximale effectiviteit.

Titel: **ELISA/IHC voor beginners**
Data: **3, 10 en 11 november 2015**
Inschrijven: **vóór 5 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 1060,-**

Titel: **Urineonderzoek: achtergronden en interpretatie van de teststrip en het sediment**
Data: **5 november 2015**
Inschrijven: **vóór 8 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 390,-**

Titel: **Diagnostiek van veel voorkomende schimmelinfecties**
Data: **19, 24 en 26 november, 1, 3 en 8 december 2015**
Inschrijven: **vóór 8 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 1.520,-**

Titel: **Workshop Primer en probes**
Data: **23 en 24 november 2015**
Inschrijven: **vóór 12 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 740,-**

Titel: **Workshop metaGENOMICS**
Data: **30 november 2015**
Inschrijven: **vóór 19 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 480,-**

Titel: **Workshop sequencing technieken en data-analyse**
Data: **1 en 8 december 2015**
Inschrijven: **vóór 19 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 850,-**

Titel: **Basic principles of GMP**
Data: **7 en 8 december 2015**
Inschrijven: **vóór 26 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 525,-**

Titel: **Parasitologie**
Data: **2, 3, 4, 11, 12 en 13 november 2015**
Inschrijven: **vóór 7 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 1.810,-**

Titel: **Malaria**
Data: **9 en 10 november 2015**
Inschrijven: **vóór 7 oktober 2015**
Cursusprijs: **€ 935,-**

Indien u zich minimaal vier weken voor de uiterste inschrijfdatum inschrijft, ontvangt u korting. Raadpleeg onze website voor meer informatie en inschrijfformulieren. U kunt hier tevens informatie over onze maatwerk-trajecten vinden. Website: cbd.hsleiden.nl, tel: 071-518 87 53, fax: 071-518 84 15, e-mail: cbd@hsleiden.nl.

Oktober	1	NVML-cursus Hemoglobinopathieën	Utrecht
	1	Hematologie scholingsdag door Hovon	Ede
	3	Meet the VSO – werken in een ontwikkelingsland	Utrecht
	6-8	Labvolution – World of Lab Technology	Hannover, Duitsland
	7-8	Labtechnology 2015	Utrecht
	8	NVML-bijeenkomst WHAKC (besloten)	Hilversum
	8	EPBS-congres: Point of Care Testing	Zagreb, Kroatië
	15	NVML-congres Allergie	Amersfoort
	27	Start NVML-cursus Stagebegeleiding (verplaatst van 03-09-15)	Utrecht
	29	Start NVML-cursus Theorie en kliniek van Immuno-assays	Utrecht

November	5	Start NVML-cursus Meewerkend Leidinggevende	Utrecht
	5	NVML-bijeenkomst WHAMM (besloten)	Utrecht
	6	Landelijke Analistendag Genoomdiagnostiek	Utrecht
	11	NVML-cursus Bloedcelmorfologie in de dagelijkse praktijk	Utrecht
	17	NVML-Bijeenkomst LKN (besloten)	Amersfoort
	18	NVML-cursus Flowcytometrie van lymfoproliferatieve aandoeningen	Utrecht
	24	NVML-congres: Focus op de alveesklier	Amersfoort
	26-27	Jaarcongres Nederlandse Vereniging voor Cytometrie en SKML	Zwolle

December	1	Start NVML-cursus Moleculair Biologische Technieken	Utrecht
	1	NVML- nascholing Prothese infecties	Rotterdam
	3	NVML- nascholing Prothese infecties	Nijmegen
	3	Start NVML-cursus Invloedrijk Communiceren	Utrecht
	9	NVML-cursus SAFER in het laboratorium	Utrecht
	10	NVML-Symposium voor Pre-analytische medewerkers	Amersfoort
	16	NVML-cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk	Utrecht



* De lettertoevoeging geeft aan dat de cursus meerdere keren wordt gegeven; de inhoud is echter identiek.

Voor meer informatie over de NVML-nascholingen kunt u terecht bij het bureau van de NVML, tel: 030-252 37 92;

fax: 030-254 18 14; e-mail: nvml@nvml.nl. Ga via uw mobiel naar de agendapagina op de website middels de QR-code hiernaast.

* Nadere informatie via LinkedIn

In memoriam

In memoriam Elida (Lied) Wolffensperger



Op 17 juli 2015 is mevr. Wolffensperger overleden, het oudste nog levende NVML (VvMA)-lid. Zij is al in het eerste jaar na de oprichting van de VvMA lid geworden en dus bijna

70 jaar lid geweest! Mevr. Wolffensperger werkte vanaf 1940 als medisch analiste, waarvan 16 jaar bij UMC Utrecht (toen AZU, Academisch Ziekenhuis Utrecht). Zij werkte daar op de afdeling Gynaecologie. Vanaf 1948 is zij enkele jaren VvMA-penningmeester (of zoals vermeld staat in het 'Tijdschrift voor de Medisch Analist' uit die

tijd: 'penningmeesteresse') van de afdeling Utrecht. Enkele jaren daarna wordt zij genoemd als lid van de Verenigingsraad, die in die tijd het beleid uitzette; het hoofdbestuur voerde dit beleid uit.

Begin 1958 kwam ze voor enkele jaren in het hoofdbestuur van de NVML. Zij heeft haar hele leven in Utrecht gewoond. Begin jaren zestig heeft zij naast haar werk een opleiding tot beroepskeuze-adviseur gevolgd, en van 1965 tot 1985 bij het Gewestelijk ArbeidsBureau gewerkt.

Op het NVML Jubileumcongres van 2006 ter ere van het zestigjarig bestaan van de NVML, ontving zij van de voorzitter Marianne Schoorl het erelidmaatschap. Voortaan hoefde ze geen contributie meer te betalen. Mevr. Wolffensperger heeft op drie dagen na de leeftijd van 95 jaar mogen bereiken.



Faeces hygiënisch opvangen? Fe-Col® !

Kwaliteit in pre-analyse



- Hygiënisch
- Voorkomt contaminatie met toiletwater en reinigingsmiddelen
- Eenvoudig in gebruik
- Doorspoelbaar en 100% afbreekbaar
- In GBO Faeces container naar Lab

