

---

# **Klinische chemie en hematologie voor analisten**

## **Deel 1**

Dr. E. ten Boekel  
Dr. B.A. de Boer

**Tweede herziene druk**  
**Tweede verbeterde oplage, 2017**

Syntax Media – Utrecht

---

---

# Voorwoord

De eerste druk van de twee delen ‘Klinische chemie en hematologie voor analisten’ bleek duidelijk in een behoefte te voorzien. Na zes jaar is het echter nodig om herzieningen aan te brengen: vrijwel alle hoofdstukken zijn aangepast en/of geactualiseerd. Ook is een groot deel van de afbeeldingen vernieuwd.

Aan deel 1 zijn vijf nieuwe hoofdstukken toegevoegd: een hoofdstuk over de algemene eigenschappen en functies van bloed, een hoofdstuk over vloeistofchromatografie en (eiwit)elektroforese, een hoofdstuk over atomaire emissie- en absorptiespectrometrie, een hoofdstuk over hemocytometrie en flowcytometrie en tenslotte een algemeen hoofdstuk over endocrinologie. Het hoofdstuk over plasma-eiwitten is opgeheven, de inhoud ervan is verdeeld over de desbetreffende hoofdstukken. Verder staat het hoofdstuk over bloedstolling nu in deel 2.

De oorspronkelijke opzet van de hoofdstukken is niet fundamenteel gewijzigd. De hoofdstukken zijn op elkaar afgestemd, maar je kunt ze ook afzonderlijk lezen. Het boek bevat naast basiskennis tevens verdiepingsstof, aangegeven in aparte, blauwe kaders. Deze verdiepingsmaterie is met name geschreven voor het HBO-onderwijs.

Naast gebruik in het onderwijs, is het boek een uitstekend naslagwerk voor analisten die werkzaam zijn in de gezondheidszorg. Met de aanpassingen hopen we een completer boek te hebben gemaakt. Wij danken van harte de vele klinisch chemici die ons met hulp en advies bij het schrijfwerk hebben bijgestaan.

We hopen dat dit boek een waardevolle bijdrage levert aan de scholing en nascholing van analisten. Voor op- en aanmerkingen houden wij ons aanbevolen (e-mail: [info@syntaxmedia.nl](mailto:info@syntaxmedia.nl)).

De redactie,  
Edwin ten Boekel en Bauke de Boer

mei 2015

De uitwerkingen van de opgaven vind je op [www.syntaxmedia.nl](http://www.syntaxmedia.nl), zoek op ‘klinische chemie’.

---

# Inhoud

<b>1</b>	<b>De laboratoria in ziekenhuizen</b>	<b>1</b>
1.1	Inleiding	1
1.2	Ziekenhuizen	1
1.3	Ziekenhuisafdelingen	2
1.4	De ziekenhuislaboratoria	3
1.5	De medisch analist	4
1.6	Van laboratoriumaanvraag tot rapportage van uitslagen	5
1.6.1	De aanvraag van laboratoriumonderzoek	5
1.6.2	Bloedafname en verwerking	7
1.6.3	Analyse	10
1.6.4	Rapportage en interpretatie	10
1.7	Cito-onderzoek	11
	Opgaven	12
<b>2</b>	<b>Bloed: algemene eigenschappen en functies</b>	<b>13</b>
2.1	Het bloedvatstelsel: de bouw en functie van slagaders, haarvaten en aders	13
2.2	Eigenschappen van bloed	14
2.3	Functies van het bloed	16
2.4	Bestanddelen van het bloed	17
2.4.1	Serum en plasma	17
2.4.2	Bloedcellen	19
2.5	De bezinking	19
2.5.1	Interpretatie van BSE-uitslagen	21
2.5.2	Uitvoering van de BSE-bepaling	22
2.5.3	Aspect van het plasma	23
	Opgaven	23
<b>3</b>	<b>Bloedafname en verwerking</b>	<b>25</b>
3.1	Bloedafname	25
3.2	Volbloed, plasma, serum en hemolysaat	26
3.3	Antistolling	28
3.3.1	Kalium-EDTA	28
3.3.2	Citraat	29
3.3.3	Natriumfluoride en natriumoxalaat	29
3.3.4	Heparine	30
3.3.5	Typen buizen voor bloedafname	30
3.3.6	‘Nagestold’ serum of plasma	31
3.4	De preanalytische fase	32
3.4.1	Patiëntidentificatie	32

---

3.4.2	Tijdstip van bloedafname	32
3.4.3	Bloedafname uit een 'infuus-arm' of uit een 'lijn'	33
3.4.4	Capillaire bloedafname	34
3.4.5	Buisvolgorde tijdens bloedafname	34
3.4.6	Bloedafnamecondities	35
3.4.7	Bewaarcondities patiëntmateriaal	36
3.5	Integriteit van het onderzoeksmonster	36
3.5.1	Hemolyse	37
3.6	Veiligheid en hygiëne	38
	Opgaven	40

## **4 Fotometrie 43**

4.1	Inleiding	43
4.2	Licht	43
4.3	Emissie en absorptie	44
4.4	De wet van Lambert-Beer	47
4.5	Bepalen van de concentratie van een stof m.b.v. de molaire extinctiecoëfficiënt	49
4.6	Bepalen van de concentratie van een stof m.b.v. een ijklijn	49
4.7	Het absorptiespectrum	51
4.8	Problemen bij fotometrische bepalingen	52
	Opgaven	56

## **5 Enzymen 59**

5.1	Inleiding	59
5.2	Het verloop van enzymreacties	60
5.2.1	Invloed van de temperatuur op de reactiesnelheid	61
5.2.2	Invloed van de pH op de reactiesnelheid	62
5.2.3	Invloed van de hoeveelheid substraat op de reactiesnelheid	63
5.2.4	Invloed van de enzymconcentratie op de reactiesnelheid	63
5.2.5	Enzym-cofactoren	64
5.3	Het bepalen van de enzymactiviteit in een monster	65
5.3.1	Bepaling van de enzymactiviteit met behulp van een tweepuntsmeting	66
5.3.2	Bepaling van de enzymactiviteit met behulp van een kinetische meting	68
5.4	Gekoppelde reacties	70
5.4.1	Reactie met behulp van co-enzymen	71
5.4.2	Indicatorreacties en hulpreacties	72
5.5	Stabiliteit van enzymen	74
5.6	Metten van stoffen met behulp van enzymen	74
5.6.1	Eindpuntbepalingen	74
	Opgaven	76

<b>6</b>	<b>Immunologie en immunochemie</b>	<b>79</b>
6.1	Inleiding tot de immunologie	80
6.1.1	Componenten van het immuunsysteem	81
6.1.2	Immunoglobulinen	82
6.1.3	Complement	83
6.1.4	De immuunrespons	85
6.1.5	De acute-fasereactie	88
6.2	Immunochemie	91
6.2.1	Inleiding	91
6.2.2	De Heidelberger-curve	95
6.2.3	Immuno-turbidimetrische bepalingen	95
6.2.4	Immuno-nefelometrische bepalingen	97
6.2.5	Agglutinatiereacties	99
6.2.6	De sandwich-methode, methode met behulp van gemerkte antistoffen	99
6.2.7	Competitieve immunoassay	102
6.2.8	Labels gebruikt in immunoassays	104
6.2.9	Problemen bij de sandwich-assay	106
6.3	Allergie	108
6.3.1	De allergiemars	109
6.3.2	De allergietest	111
	Opgaven	112
<b>7</b>	<b>Vloeistofchromatografie en elektroforese</b>	<b>113</b>
7.1	Vloeistofchromatografie	113
7.1.1	Inleiding chromatografie	113
7.1.2	Scheiden op basis van oplosbaarheid	115
7.1.3	Scheiden op basis van lading: ionenwisseling	119
7.1.4	Massaspectrometrie	122
7.1.5	Kwantitatieve analyse: berekening van de concentratie van een component	126
7.2	Elektroforese	127
7.2.1	Inleiding	127
7.2.2	De drager	129
7.2.3	Fixatie van gescheiden eiwitten	130
7.2.4	Eiwitkleuring	130
7.2.5	Enzymkleuringen	131
7.2.6	Het eiwitspectrum	132
	Opgaven	138
<b>8</b>	<b>Atomaire emissie- en absorptie- spectrometrie</b>	<b>139</b>
8.1	Inleiding	139
8.2	Atomaire emissiespectrometrie (AES)	139
8.3	Atomaire absorptiespectrometrie	141
8.3.1	Vlam-AAS	142
8.3.2	Holle kathodelamp	143
8.3.3	Monochromator	144

8.3.4	De verstuiver en brander	144
8.4	Graffietoven	145
8.5	Deuterium-achtergrondcorrectie	145
8.6	Zeeman-achtergrondcorrectie	146
8.7	Chemische interferentie	147
8.8	Interferentie ten gevolge van ionisatie	148

## **9 Hemocytometrie en flowcytometrie 149**

9.1	Hemocytometrie	150
9.1.1	Algemene opbouw van een hemocytometrie-analyser	150
9.1.2	Cilinder met meetkanalen	151
9.1.3	Hydrodynamische focussing	152
9.1.4	Impedantie: tellen van cellen	153
9.1.5	Radiogolven: meten van kernstructuur	153
9.1.6	Optische metingen	154
9.1.7	Bepalen van leukocyten-subpopulaties en reticulocyten d.m.v. kleuringen	155
9.2	Flowcytometrie	157
9.2.1	CD-merkers	157
9.2.2	Het principe van de flowcytometer	159
9.2.3	Fluorescentie-activatie	160
9.2.4	Filters en detectors	160

## **10 Nieren 163**

10.1	Inleiding	163
10.2	Fysiologie en pathologie van de nier	164
10.2.1	Bouw en functie van de nier	164
10.2.2	Verandering in bloed bij nierziekten	165
10.2.3	Filtratie van bloed en vorming van urine	170
10.2.4	Filtratie en terugresorptie van eiwitten	171
10.2.5	Eiwuitscheiding via de urine	171
10.2.6	Filtratie en terugresorptie van glucose en elektrolyten	173
10.2.7	De nieren als endocrien orgaan	177
10.3	Bloed- en urineonderzoek bij nierfalen	179
10.3.1	Plasma-kreatinineconcentratie	179
10.3.2	De glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) en kreatinineklaring	181
10.3.3	De bepaling van kreatinine	183
10.3.4	Plasma-ureumconcentratie	183
10.3.5	De bepaling van ureum	184
10.4	Urineonderzoek	185
10.4.1	Macroscopisch urineonderzoek	185
10.4.2	Semi-kwantitatief urineonderzoek	185
10.4.3	Sedimentsonderzoek (microscopie)	189
10.4.4	Concentrerend vermogen van de nier	195
10.4.5	Totaal eiwit, micro-albumine en albumine-kreatinineratio in urine	196

10.5	Foutenbronnen bij urinediagnostiek	197
	Opgaven	197

## **11 Maag-darmkanaal, pancreas en lever 199**

11.1	Maag en darmen	200
	11.1.1 Pathofysiologie maag en darmen	203
11.2	De alvleesklier (pancreas)	209
	11.2.1 Pathofysiologie van de pancreas	209
11.3	Bloedonderzoek bij pancreatitis	210
	11.3.1 Amylase	210
	11.3.2 Bepaling van amylase	211
	11.3.3 Lipase	212
11.4	De lever	213
	11.4.1 Fysiologie van de lever	213
	11.4.2 Bilirubine metabolisme	214
	11.4.3 Leverinsufficiëntie	216
11.5	Leverziekten	216
	11.5.1 Galstuwing	218
	11.5.2 Hepatitis	221
	11.5.3 Levercirrose	224
11.6	Hyperbilirubinemie	224
11.7	Bloedonderzoek bij leveraandoeningen	227
	11.7.1 Lactaat dehydrogenase (LD)	227
	11.7.2 Transaminasen: alanine-aminotransferase (ALAT) en aspartaat-aminotransferase (ASAT)	230
	11.7.3 Alkalische fosfatase (AF)	232
	11.7.4 Gammaglutamyltransferase ( $\gamma$ -GT of GGT)	233
	11.7.5 Bilirubine	234
	11.7.6 Ammoniak	236
	11.7.7 Albumine	238
	11.7.8 Totaal eiwit in serum	239
11.8	Samenvatting enzymen	239

## **12 Inleiding tot de endocrinologie 241**

12.1	Inleiding	241
12.2	Werking van hormonen	242
12.3	Regulatie van hormoonaanmaak	243
12.4	Endocriene organen aangestuurd door de hypofyse	246
12.5	Overige hypofysehormonen	248
12.6	Niet-hypofyse-gereguleerde hormonen	249

## **13 Glucose en diabetes mellitus 251**

13.1	Fysiologie	251
13.2	Pathologie	255
	13.2.1 Hyperglykemie	256
	13.2.2 Hypoglykemie	257
13.3	Bloedafname	259

13.4	Bepalingsmethode	261
13.4.1	Glucose	261
13.5	Interpretatie van glucose-uitslagen	264

## **14 De schildklier 265**

14.1	Inleiding	265
14.1.1	Anatomie van de schildklier	267
14.2	De productie van schildklierhormonen staat onder controle van TSH	269
14.3	Functionele afwijkingen van de schildklier	272
14.3.1	Hyperthyroïdie (verhoogde FT4- en verlaagde TSH-concentratie)	272
14.3.2	Hypothyroïdie (verlaagde FT4- en verhoogde TSH-concentratie)	274
14.3.3	Schildklierafwijkingen bij zwangere vrouwen	276
14.3.4	Schildklierafwijking bij ernstige ziekten	276
14.4	Laboratoriumbepalingen	277
14.4.1	TSH	278
14.4.2	FT3 en FT4	279
14.5	Routineonderzoek schildklier samengevat	279

## **H15 Erythrocyten 285**

15.1	Inleiding	285
15.2	Erythrocyten	287
15.2.1	Vorm van de erythrocyt	287
15.2.2	Binding van zuurstof aan hemoglobine	289
15.2.3	Aanmaak van rode bloedcellen	291
15.2.4	Afbraak van de erythrocyt	291
15.3	Anemie	292
15.3.1	Klinisch beeld bij anemie	293
15.4	Anemie-diagnostiek op basis van MCV	295
15.4.1	Microcytaire anemie	296
15.4.2	Normocytaire anemie	297
15.4.3	Macrocytaire anemie	297
15.5	Hemolytische anemie	298
15.5.1	Hemoglobinopathie	298
15.5.2	Auto-immuun hemolytische anemie	298
15.5.3	Allo-immuun hemolytische anemie	298
15.5.4	Laboratoriumdiagnostiek bij hemolytische anemie	302
15.5.5	Verhoogde afbraak: haptoglobine, LD, bilirubine	302
15.5.6	Verhoogde aanmaak: reticulocyten	302
15.5.7	Aanwezigheid van beschadigde erythrocyten: microscopische differentiatie	303
15.6	Megaloblastaire anemie	304
15.7	Laboratoriumonderzoek bij anemie: hemocytometrie	309



15.8	Morfologisch onderzoek	310
15.8.1	Morfologisch onderzoek perifeer bloed	310
15.9	Bepalen van het aantal reticulocyten	313
15.10	Anemieprotocol	315
15.10.1	Microcytaire anemie	316
15.10.2	Normocytaire anemie	317
15.10.3	Macrocytaire anemie	317
	Opgaven	318

## **16 Leukocyten en trombocyten 319**

16.1	Leukocyten	319
16.2	Neutrofiële granulocyten	320
16.2.1	Neutrofiële leukocytose bij infecties en ontstekingen	322
16.2.2	Myeloïde leukemie als oorzaak van een neutrofiële leukocytose	324
16.2.3	Neutropenie	325
16.3	Eosinofiele granulocyten	327
16.3.1	Eosinofilie	327
16.4	Basofiele granulocyten	327
16.4.1	Basofilie	328
16.5	Monocyten	328
16.5.1	Monocytose	329
16.6	Lymfocyten	329
16.6.1	Lymfocytose	330
16.6.2	Lymfocytopenie	331
16.6.3	Plasmacellen	332
16.7	Trombocyten	332
16.7.1	Rol van trombocyten in de stolling	333
16.7.2	Aanmaak en afbraak van trombocyten	333
16.7.3	Trombocytose	334
16.7.4	Trombocytopenie	334
16.7.5	Verminderde aanmaak van trombocyten	335
16.7.6	Verhoogd verbruik of afbraak van trombocyten	335
16.7.7	Pseudotrombocytopenie	336
16.8	Onderzoekstechnieken bij telling en beoordeling van cellen in bloed	336
16.8.1	Microscopie	336
16.8.2	Bloeduitstrijkpreparaat	337
16.8.3	Beoordelen van een bloeduitstrijkpreparaat	337
16.8.4	Telkamer	338
16.8.5	De microscoop	338
16.8.6	De digitale microscoop	339
16.9	Kleurtechnieken voor cellen in bloed	340
16.9.1	May-Grünwald Giemsa-kleuring en Wright-kleuring	340
16.9.2	Kleihauer-test	341

<b>17</b>	<b>Referentiewaarden en interpretatie van uitslagen</b>	<b>343</b>
17.1	Inleiding	343
17.2	Referentiewaarden	344
17.3	De biologische variatie	346
17.4	Wat zijn eigenlijk referentiewaarden en hoe gaan we ermee om?	347
17.5	Een afwijkende laboratoriumtestuitslag en toch gezond?	348
17.6	Hoe stel je referentiewaarden in de praktijk vast?	349
	17.6.1 Referentiewaarden bij een normale verdeling	349
	17.6.2 Referentiewaarden bij een asymmetrische verdeling	351
17.7	De interpretatie van seriële metingen bij de individuele patiënt	352
17.8	Het werken met afkapwaarden	355
17.9	Hoe kun je afkapwaarden vaststellen?	355
	Opgaven	356
<b>18</b>	<b>Kwaliteitsbewaking</b>	<b>359</b>
18.1	Inleiding	360
18.2	Precisie, standaardafwijking en variatiecoëfficiënt van een bepaling	361
18.3	Beoordelen van uitslagen van controlemonsters en goedkeuren van patiëntresultaten	363
	18.3.1 Een Levey-Jenningskaart maken van een controlemonster	363
	18.3.2 Het gebruik van een Levey-Jenningskaart in de praktijk	365
	18.3.3 De Westgardregels	366
	18.3.4 Het gebruik van Westgardregels in de praktijk	368
18.4	Acties na afkeuren van een testrun	372
	18.4.1 Kalibreren	373
	<b>Register</b>	<b>377</b>

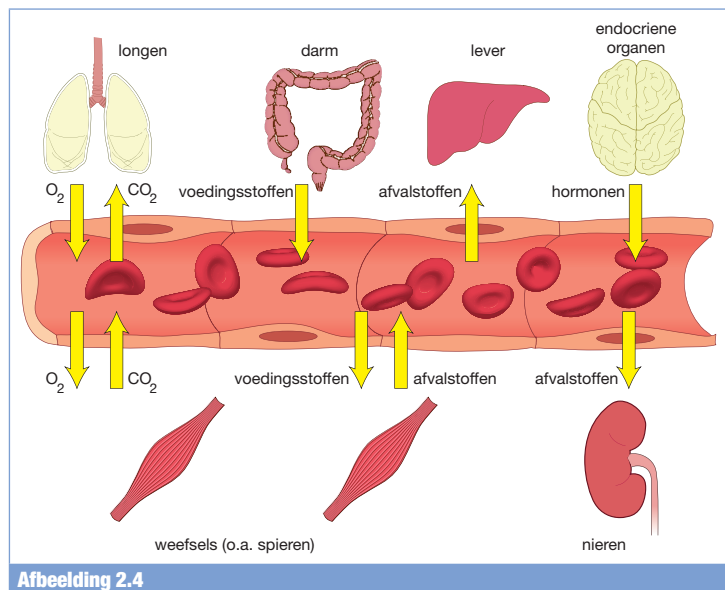
De snelheid waarmee bloed door de bloedvaten stroomt, wordt mede bepaald door de viscositeit van het bloed. Deze wordt enerzijds bepaald door de hoeveelheid cellen in het bloed en hun vorm, maar ook door de hoeveelheid eiwit in het bloedplasma. Vooral eiwitten waarvan de moleculen groot en langgerekt van vorm zijn, zoals fibrinogeen (een eiwit betrokken bij bloedstolling) of sommige immuuglobulinen (antistoffen), doen de viscositeit sterk toenemen.

Bij vele ziekten (o.a. infecties, ontstekingen en maligniteiten) treden veranderingen op in de samenstelling van de plasma-eiwitten. Dit heeft een groot effect op zowel de lading van de rode bloedcellen alsop de viscositeit van het bloed.

### 2.3 Functies van het bloed

Bloed is één van de belangrijkste orgaansystemen van het lichaam. De functies van het bloed kunnen als volgt worden samengevat:

- het transporteert water, zuurstof, kooldioxide, koolhydraten, eiwitten (zoals antistoffen, stollingsfactoren), vetten, mineralen, vitaminen, hormonen en afbraakproducten. Hierbij spelen het bloedplasma en rode bloedcellen een grote rol (afbeelding 2.4);



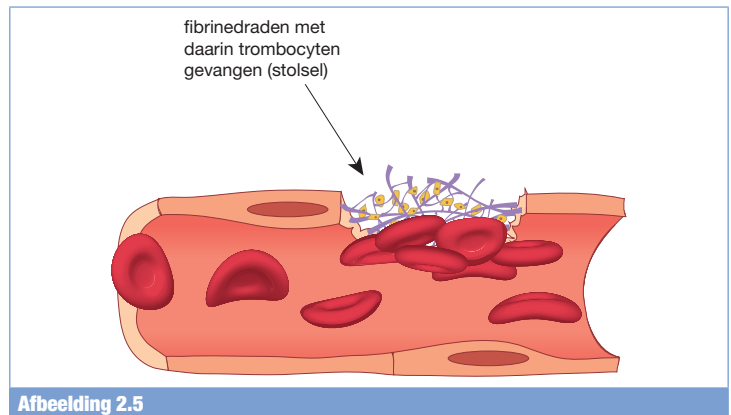
Afbeelding 2.4

Overzicht van enkele belangrijke functies van bloed. Erythrocyten zorgen voor transport van O<sub>2</sub> van de longen naar de organen (weefsels). Bij de verbranding van O<sub>2</sub> en voedingsstoffen in de weefsels ontstaan afvalstoffen en CO<sub>2</sub>. De afvalstoffen worden via het bloed afgevoerd naar de nieren (via urine) en lever (via galafvoer en ontlasting), het CO<sub>2</sub> verlaat via de longen het lichaam (uitademing).

leukocyten

trombocyten

- het beschermt tegen binnendringende micro-organismen en lichaamsvreemde stoffen. Hierbij spelen de witte bloedcellen (*leukocyten*) een grote rol;
- het zorgt dat de binnenwand van bloedvaten intact blijft en bij verwonding gedicht wordt, zodat bloedverlies zoveel mogelijk voorkomen wordt. Hierbij spelen de bloedplaatjes (*trombocyten*) en fibrinogeen een grote rol (afbeelding 2.5);
- het vervoert warmte vanuit de weefsels naar de huid en de longen, waar de warmte afgegeven wordt aan de omgeving. Hierdoor speelt het bloed een belangrijke rol bij de regulatie van de lichaamstemperatuur;
- het speelt een rol in de waterhuishouding (d.w.z. de hoeveelheid water die wordt vastgehouden in weefsels en bloed) en bij het zuur-base-evenwicht (het in stand houden van de pH van het bloed).



Afbeelding 2.5

Stolselvorming bij een beschadigd bloedvat.

## 2.4 Bestanddelen van het bloed

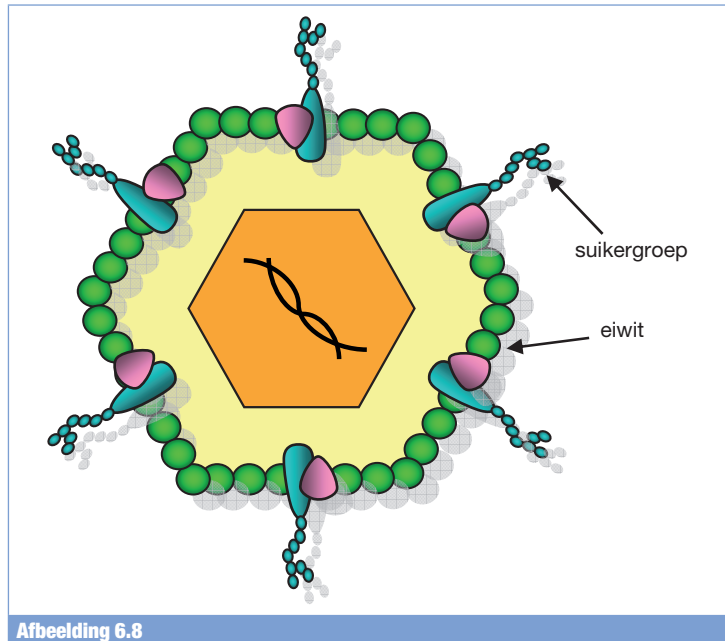
### 2.4.1 Serum en plasma

fibrinogeen

Indien je bloed bij een persoon afneemt en opvangt in een buis, wordt *fibrinogeen*, een eiwit dat zich in het bloedplasma bevindt, omgezet in fibrine. Dit slaat neer, waarbij een netwerk van draden gevormd wordt waarin bloedcellen zijn opgesloten: het bloedstolsel. Dit stollingsproces noemt men coaguleren. Het stolsel trekt zich na enige tijd samen, een proces dat retractie wordt genoemd, waarbij vloeistof uit het stolsel treedt. Deze vloeistof, die geen stollingsfactoren meer bevat, noemt men bloedserum. De omzetting van fibrinogeen in fibrine vindt plaats onder invloed van het enzym trombine, dat tijdens de stolling actief wordt gemaakt. De vorming van trombine is het resultaat van een ingewikkeld proces, waarop we later terugkomen; wel vermelden we hier alvast dat er calciumionen voor nodig zijn.

**immuuncomplex**

dat door het lichaam wordt verwijderd door cellen van het immuunsysteem. Een antigeen-antistof-complex wordt ook wel een immuuncomplex genoemd.



Afbeelding 6.8

Een schematische weergave van een virus. Een virus bevat vele verschillende eiwitten en suikergroepen die een antigene werking hebben en daarmee antistoffen kunnen opwekken tijdens een immunrespons.

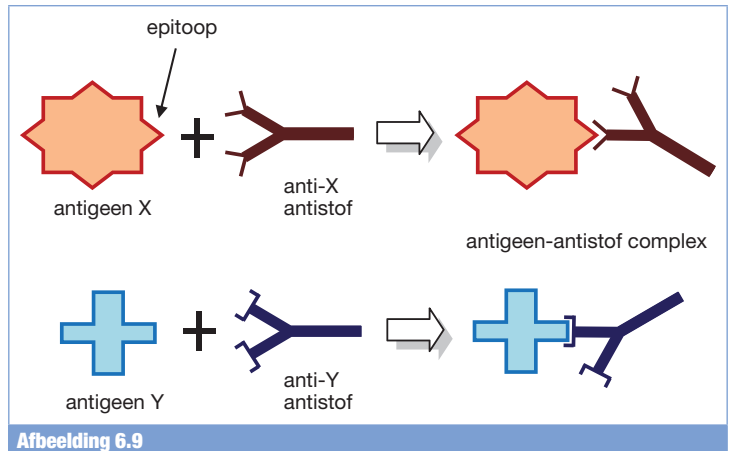
**verdiepingsstof**

**Epitooop en affiniteit**

De plaats waar een antistof bindt aan een antigeen noemt men een antistof-bindingsplaats, ook wel epitooop genoemd (afbeelding 6.9). In wezen bevat een antigeen een aantal plaatsen waar antistoffen kunnen binden. Een epitooop bestaat veelal uit een heel klein stukje eiwit (ongeveer zes aminozuren groot) of een suikergroep die aan een eiwit gebonden is. De binding tussen een antistof en een epitooop is in principe omkeerbaar. Sommige antistoffen zullen sterk binden aan het epitooop, andere weer zwak. De sterkte van de binding wordt de affiniteit genoemd. Hoe hoger de affiniteit, des te sterker bindt een antistof aan een epitooop op een antigeen.

**affiniteit**

Bij vele laboratoriumtesten maakt men gebruik van het principe dat antigenen en antistoffen complexen vormen, die eenvoudig aan te tonen zijn (afbeelding 6.9). Hiermee kunnen vele verschillende eiwitten, waaronder hormonen, worden aangetoond. Het is mogelijk om vrijwel tegen elk antigeen specifieke antistoffen te maken die vervolgens gebruikt worden in een specifieke test (zie kader Het verkrijgen van antistoffen).



Afbeelding 6.9

Vorming van een antigeen-antistofcomplex. Binding van een specifieke antistof aan (het juiste) antigeen resulteert in een antigeen-antistofcomplex. De bindingsplaats van de antistof, het epitooop, is aangegeven. Een antistof is specifiek voor een bepaald antigeen (vergelijkbaar met een enzymreactie: het zogenaamde 'sleutel-slot'-principe). In het voorbeeld kan de anti-X antistof wel binden aan antigeen X, maar niet aan antigeen Y (anti-X antistof herkent geen bindingsplaats op antigeen Y). Het omgekeerde geldt ook: anti-Y kan wel binden aan antigeen Y, maar niet aan antigeen X.

Binnen de immunochemie zijn er meerdere testmethoden om antigeen-antistofcomplexen in een oplossing aan te tonen. Enkele hiervan zullen we bespreken:

- het aantonen van een antigeen-antistofcomplex m.b.v. turbidimetrie of nefelometrie;
- het aantonen van een antigeen-antistofcomplex m.b.v. agglutinatiereactie;
- het aantonen van een antigeen-antistofcomplex m.b.v. sandwich-immunoassay of competitieve immunoassay.

### verdiepingsstof

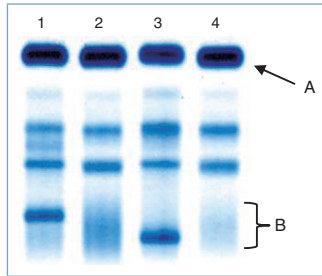
#### Het verkrijgen van antistoffen voor immunoassays

De specifieke antistoffen die gebruikt worden in een immunochemische test worden verkregen door het antigeen (eiwit) in te spuiten bij een dier (afbeelding 6.10). Omdat het ingespoten eiwit voor het dier als lichaamsvreemd wordt herkend, zal het immuunsysteem antistoffen gericht tegen het ingespoten eiwit gaan aanmaken. Je kunt bijvoorbeeld antistoffen tegen menselijke eiwitten verkrijgen door het eiwit bij een konijn of geit in te spuiten. Stel, je wil een immunochemische test voor albumine opzetten. Hiervoor wordt menselijk albumine in een gezuiverde vorm bij een geit geïnjecteerd. De geit zal antistoffen tegen het 'vreemde' humane albumine gaan maken (anti-humaan albumine). Deze antistoffen kunnen vervolgens uit het bloed van de geit worden gezuiverd, zodat het in een immunochemische test gebruikt kan worden. In de test zal de gezuiverde antistof reageren met het albumine (antigeen) in het te bepalen monster en een antigeen-antistofcomplex vormen. Voor een test kunnen zowel polyclonale als monoclonale antistoffen gebruikt worden. Tegenwoordig gebruikt men meestal monoclonale antistoffen.

## Opgaven

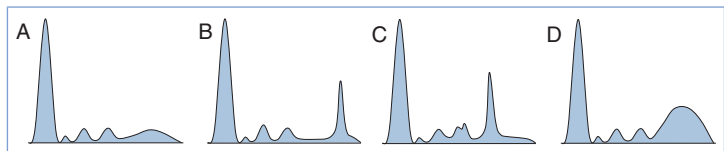
### Opgave 1

Bij vier verschillende patiënten is er een serum-eiwitelektroforese uitgevoerd. De resultaten staan hieronder weergegeven.



### Vragen

- Hoe noem je de eiwit-‘fracties’ B zoals aangegeven in de afbeelding?
- Welke eiwitten zitten in de bandjes (fracties) A en B?
- Bij welke patiënt is het eiwitspectrum niet afwijkend?
- Benoem de afwijkingen in de eiwitspectra van de patiënten. Welke diagnose zou daarbij passen?
- Van patiënt 1, 2, 3 en 4 is een densitogram gemaakt, zie afbeelding hieronder. Welk densitogram hoort bij welke patiënt?



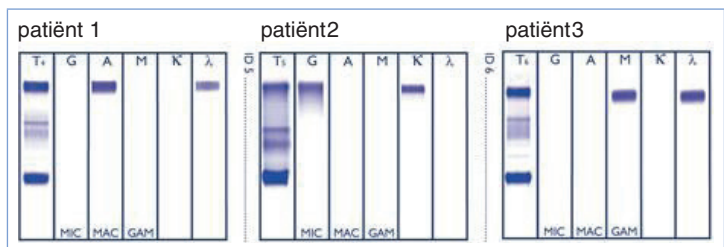
### Opgave 2

Bij drie patiënten is in het eiwitspectrum een extra-bandje gevonden.

### Vragen

- Als vervolgonderzoek is er een immunofixatie ingezet. Waarom?
- Hieronder zie je de resultaten (zie afbeelding) van de immunofixaties van de drie patiënten. Wat is te zien in de eerste baan (T)?

Wat kun je aflezen uit de onderstaande immunofixaties, met andere woorden welke uitslagen rapporteer je aan de arts?



---

## Hoofdstuk 8

# Atomaire emissie- en absorptiespectrometrie

*Dr. E. ten Boekel*

### 8.1 Inleiding

Begin 1900 stelde Niels Bohr vast dat metalen bij verhitting in een vlam een specifieke kleur licht uitstralen. Zo zullen natrium-atomen in een vlam geel-oranje licht uitzenden, bij zink is dat blauw, bij kalium paars en bij koper blauw-groen. Atomen zijn in bepaalde situaties in staat om lichtgolven met (een) specifieke golflengte(n) uit te zenden (= *lichtemissie*) of op te nemen (= *lichtabsorptie*). Bij atomaire emissiespectrometrie (ook wel vlam-emissiespectrometrie of *vlamfotometrie* genoemd) wordt het *uitzenden* van licht toegepast om de concentratie van atomen te meten; bij atomaire absorptiespectrometrie (AAS) wordt daarentegen de *absorptie* van licht gemeten. De toename of afname in intensiteit van het licht wordt vervolgens gemeten en is een maat voor de concentratie van de aanwezige atomen in het monster (volgens de wet van Lambert-Beer).

emissie  
absorptie

### 8.2 Atomaire emissiespectrometrie (AES)

Door het te analyseren monster op een hoge temperatuur te brengen, komen de moleculen in de gasfase; die vallen vervolgens uiteen in losse, vrije atomen. Dit noemen we *atomiseren*. Deze vrije atomen zijn nodig om licht te kunnen uitzenden of absorberen.

atomiseren

Van een gegeven metaal zijn bij kamertemperatuur alle atomen in de grondtoestand, de meest stabiele toestand van een atoom. Voor bijvoorbeeld het natriumatoom zit het buitenste elektron (het valentie-elektron) in de zogenaamde 3s-grondtoestand. Als het atoom wordt blootgesteld aan energie zal deze energie door de buitenste elektronen van het atoom worden opgenomen. Dit kan worden bereikt door het verhogen van de temperatuur, bijvoorbeeld in een vlam, tot 2000-3000 °C. Het elektron dat energie opneemt, springt vervolgens naar een verder gelegen atoombaan, het atoom is dan niet meer in de meest stabiele toestand. De levensduur van deze 'aangeslagen toestand' (*excitatie*) is heel kort, het elektron valt daarom snel weer terug naar zijn grondtoestand.

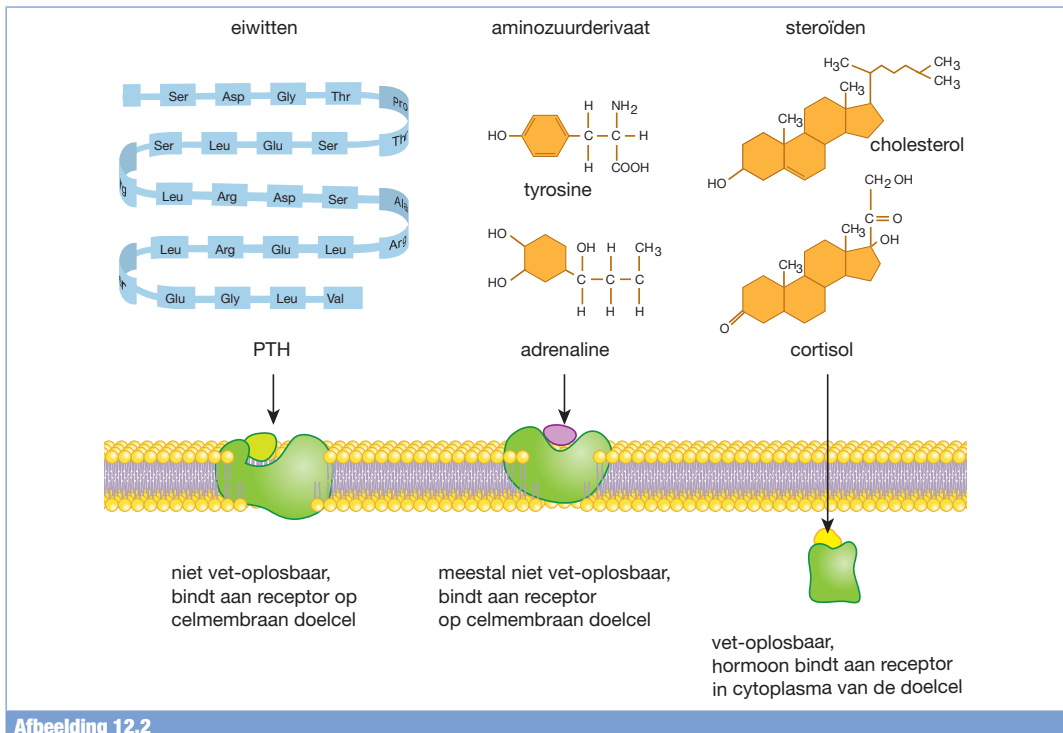
excitatie



## 12.2 Werking van hormonen

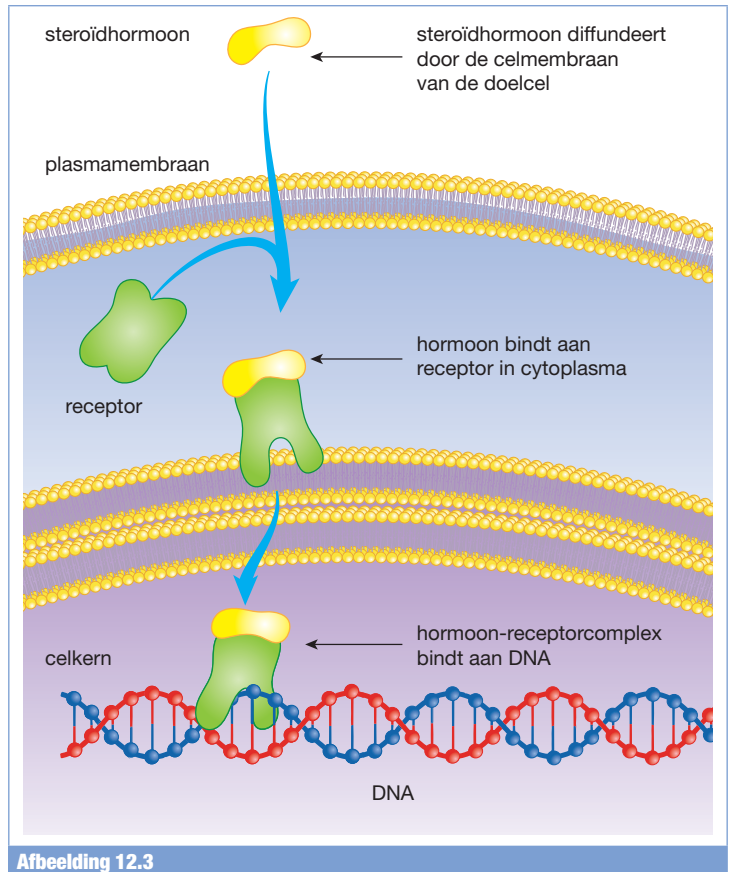
### steroidhormonen

Hormonen kunnen op basis van hun structuur worden ingedeeld in verschillende groepen. Eiwithormonen, zoals insuline en parathormoon (PTH), steroidhormonen zoals de geslachtshormonen en amines (afbeelding 12.2). Steroidhormonen worden via een aantal stappen geproduceerd uit cholesterol, terwijl amines worden gemaakt uit bepaalde aminozuren (veelal tyrosine). Naast een verschil in structuur hebben hormonen ook een verschillend werkingsmechanisme. Sommige hormonen oefenen hun werking uit op de doelcellen door te binden aan een specifieke receptor die zich aan de buitenkant van de weefselcel bevindt (afbeelding 12.2). Na binding gaat er een signaal door de celmembranen, waarna een ingewikkeld systeem van signaalmoleculen in het cytoplasma wordt geactiveerd. Andere hormonen, zoals steroiden, zijn vetoplosbaar en kunnen daardoor de (vetachtige laag) van de celmembranen van hun doelcel passeren. Nadat het steroidhormoon de doelcel is binnengedrongen bindt het aan een zogenaamde steroidreceptor die zich in het cytoplasma van de cel bevindt (afbeelding 12.3). Het hormoon-receptor-complex dat hierdoor ontstaat, verplaatst zich vervolgens naar de celkern, waar het specifieke genen aan- of uitschakelt. Dit resulteert bijvoorbeeld in extra aanmaak van bepaalde eiwitten, o.a. enzymen. Een samenvatting van de regulatie en werking van de meest belangrijke hormonen is weergegeven in tabel 12.1.



Afbeelding 12.2

Indeling van hormonen, afhankelijk van hun structuur. Steroidhormonen zijn, in tegenstelling tot eiwithormonen en amines, in staat de celmembranen te passeren.



Afbeelding 12.3

Werking van steroidhormonen.

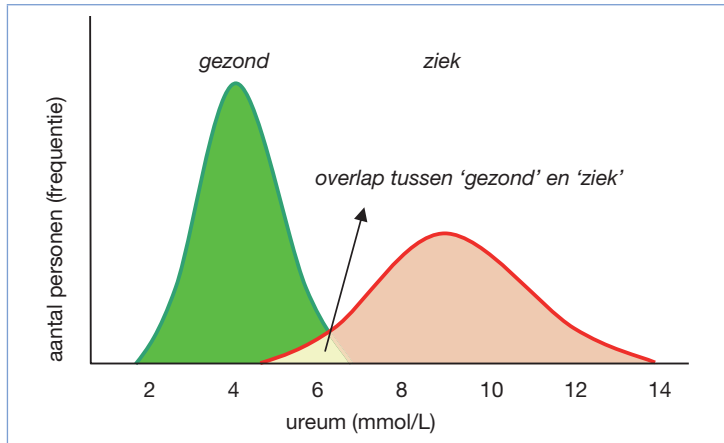
### 12.3 Regulatie van hormoonaanmaak

De productie van hormonen door de endocriene klieren wordt sterk gereguleerd. Afhankelijk van de behoefte kan hierdoor de concentratie van het hormoon toenemen of anderzijds juist afnemen. Hormonen worden geproduceerd als respons op een bepaalde specifieke prikkel.

De productie van hormonen kan via een drietal mechanismen in gang worden gezet (afbeelding 12.4):

- 1 via een andere stof,
- 2 via een neuronale stimulus,
- 3 via de productie van een ander hormoon.

Een afwijkende concentratie van een bepaalde stof in het bloed kan aanleiding zijn voor de productie van een hormoon. Voorbeelden hiervan zijn de aanmaak van PTH door de bijnier bij een te lage concentratie calcium in het bloed of aanmaak van insuline door de alvleesklier bij een hoge glucoseconcentratie (af-



Afbeelding 17.4

Verdeling van ureumconcentraties in bloed van gezonden en zieken. De referentiewaarden voor ureum in bloedplasma bij volwassenen is 2,5-6,4 mmol/L. Te zien is dat er een overlap in ureumconcentraties tussen gezonden en zieken bestaat.

### 17.3 De biologische variatie

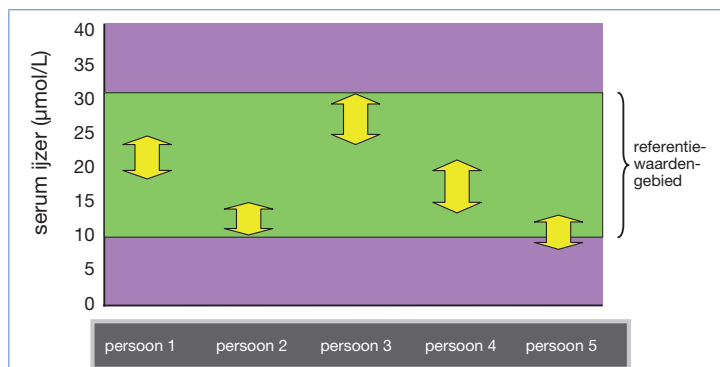
#### Casus

Een patiënt komt bij de huisarts met vermoeidheid als klacht. De arts vermoedt een bloedarmoede door ijzeregebrek. De arts laat vervolgens de concentratie van ijzer in het bloed van de patiënt bepalen. In het laboratorium wordt een ijzerconcentratie van  $8 \mu\text{mol/L}$  gevonden (referentiewaarden:  $8\text{-}30 \mu\text{mol/L}$ ), precies op de grens van 'gezond/ziek'. De arts weet niet goed raad met de uitslag en verwijst de patiënt nogmaals naar het laboratorium voor bloedonderzoek. Bij de patiënt wordt voor een tweede maal bloed afgenomen en wederom een ijzer gemeten. De uitslag in de tweede bloed-afname is  $11 \mu\text{mol/L}$ , een toename van 38% ( $(11-8)/8 \times 100\%$ ). Hoe kun je deze toename in ijzer verklaren? Het antwoord vind je hieronder.

#### dagritme

De concentratie van een bestanddeel in bloed is gedurende één dag of van dag-tot-dag niet constant, maar schommelt tussen bepaalde grenzen. Dit wordt het *dagritme* van een stof genoemd. Dus als je bij eenzelfde persoon meerdere malen de concentratie van een bepaalde stof meet, zul je niet steeds dezelfde uitslag verkrijgen, maar zullen er schommelingen in de uitkomsten te zien zijn. De variatie in concentratie van een bepaalde stof binnen één persoon wordt de *biologische variatie* genoemd.

Terugkomend op de casus: in het bloed van een individu varieert de concentratie van ijzer gedurende één dag of van dag-tot-dag fors (afbeelding 17.5). De toename van  $8$  naar  $11 \mu\text{mol/L}$  zou verklaard kunnen worden door de biologische variatie binnen één persoon. Hoe je dat precies kunt berekenen zal in paragraaf 17.7 verder worden uitgelegd.



**Afbeelding 17.5**

De biologische variatie van ijzer in bloedserum. De grafiek toont de spreiding (gele pijl) van de ijzerconcentratie in bloed gedurende één dag bij vijf verschillende personen.

In tabel 17.2 staan de biologische variaties van enkele bestanddelen in serum vermeld. Een kleine biologische variatie, bijvoorbeeld die van natrium, betekent dat de concentratie in bloed weinig schommelt. De variatie van ijzer is erg groot (namelijk 27%). De concentratie van ijzer in bloed fluctueert dus sterk. Het referentiewaardengebied van een bepaalde test wordt voornamelijk bepaald door de biologische variatie (afbeelding 17.5).

*Tabel 17.2*

*Biologische variatie van enkele bestanddelen in bloed*

<i>Serumbestanddeel</i>	<i>Biologische variatie (%)</i>
Albumine	3
Natrium	1
Ureum	12
IJzer	27

## 17.4 Wat zijn eigenlijk referentiewaarden en hoe gaan we ermee om?

**onder- en bovengrens**

Een groep personen bestaande uit gezonde individuen vormt samen een referentiepopulatie. Een voorbeeld van een dergelijk referentiepopulatie is bijvoorbeeld alle volwassen personen uit een streek of stad. Omdat het praktische onhaalbaar is om al deze personen te testen, wordt er uit deze groep van personen een aantal genomen, een steekproef of referentiegroep genaamd. Uit de resultaten van deze bepaling wordt het referentiewaardengebied, de onder- en bovengrens, berekend. Men heeft afgesproken dat het referentiewaardengebied 95% van de meetwaarden van de referentiegroep moet bevatten. Dit is een imperfecte, maar nuttige afspraak om de laboratoriumresultaten bij individuele personen