Invloed additieven op concentratie van biomerkers in urine

Chloorhexidinedigluconaat, Na2EDTA/ascorbinezuur en natriumcarbonaat

Laura Nijboer
Datum: 24 juni 2019
Begeleider: Joyce Doorn
Basiseenheid: UMCG

Samenvatting

Achtergrond: In het UMCG worden 24 uur per dag en 7 dagen in de week urine- en bloedanalyses uitgevoerd. Met deze analyses kunnen de concentraties van verschillende biomerkers bepaald worden. De concentraties van de biomerkers kan iets zeggen over de nierfunctie, maar ook over de functie van andere organen in het lichaam. Voor specifieke analyses worden additieven toegevoegd. In het UMCG worden chloorhexidinedigluconaat, Na_2EDTA/ascorbinezuur en natriumcarbonaat als additieven gebruikt. Tijdens dit onderzoek wordt gekeken wat het effect van deze additieven is op biomerkers van de routineanalyses. Ook wordt onderzocht of achteraf bepaald kan worden of een additief daadwerkelijk aan de urine is toegevoegd.

Methode: Voor dit onderzoek zijn 24uurs urine verzamelingen gebruikt. De volgende routine biomerkers zijn geanalyseerd uit de urine: albumine, calcium, chloride, fosfaat, kreatinine, natrium, magnesium, glucose, kalium, totaal eiwit, ureum en urinezuur. De concentraties van deze biomerkers zijn bepaald met de Cobas8000.

Resultaten: Uit de resultaten blijkt dat chloorhexidinedigluconaat toenemend effect heeft op de concentraties van albumine en calcium en een dalend effect op totaal eiwit. Na_2EDTA/ascorbinezuur heeft toenemend effect op albumine, magnesium en totaal eiwit en een afnemend effect op calcium en glucose. Natriumcarbonaat heeft invloed op calcium, glucose, natrium (toenemend effect) en totaal eiwit.

Conclusie: Per biomerker zijn minstens vijf meetpunten verzameld. Dit zorgt ervoor dat sommige resultaten niet betrouwbaar zijn. Hiervoor moet vervolgonderzoek gedaan worden. Ook zijn bij onder andere totaal eiwit, albumine en glucose hele lage concentraties gemeten en geen urines getest met hoge concentraties. Dit kan een vertekent beeld geven. Verder zijn de extra metingen gedaan met urineporties. Dit is een veel kleiner volume dan bokalen, waardoor de concentratie van de additieven hoger zijn geweest in de urineporties. Hierdoor kan het additief meer effect hebben gehad op de concentraties gemeten uit de urineporties dan de bokalen. Dit is ook terug te zien in de resultaten bij sommige biomerkers, zoals bij totaal eiwit met chloorhexidine en calcium met Na_2EDTA/ascorbinezuur.

Inhoudsopgave

Samenvatting 2
Inleiding 4
Waarom analyse van urine? 4
Biomerkers 4
Additieven 9
Voorgaande onderzoeken 11
Onderzoeksvragen 12
Materiaal en methode 13
Additieven 13
Stappenplan onderzoek 13
Cobas 8000 14
Dataverwerking 15
Resultaten 16
Chloorhexidinedigluconaat 16
Na_2EDTA/vitamine C 19
Natriumcarbonaat 22
Discussie 25
Chloorhexidinedigluconaat 25
Na_2EDTA/ascorbinezuur 26
Natriumcarbonaat 27
Achteraf controleren of additief is toegevoegd 29
Conclusie 30
Bijlagen 1
Bijlage 1: Chloorhexidinedigluconaat 1
Bijlage 2: Na_2EDTA/ascorbinezuur 1
Bijlage 3: Natriumcarbonaat 1

Inleiding

In het UMCG worden 24 uur per dag en 7 dagen per week bloed- en urinemonsters geanalyseerd. Deze analyses vinden plaats op het klinisch chemisch lab. Resultaten van de analyses van de bloed- en urinemonsters kunnen wat zeggen over de gezondheid van de patiënt en de behandeling die de patiënt krijgt (of deze aanslaat of niet). Er zijn veel verschillende biomerkers die geanalyseerd worden in urine. Een aantal biomerkers worden later toegelicht.

Waarom analyse van urine?

In het lichaam zitten twee nieren die het bloed filteren. Deze nieren bevatten een functionele eenheid, de nefron. De nefron bevat weer verschillende onderdelen, zoals glomerulus en tubulus. De glomerulus is het filter van de nieren. Hier wordt een hoge druk opgebouwd, waardoor componenten (<60 kDa) uit het bloed, samen met water, worden doorgelaten naar de tubulus. In de tubulus wordt pre-urine verzameld. De glomerular filtration rate (GFR) is de hoeveelheid bloed dat gefilterd wordt. Deze is afhankelijk van de druk in de glomerulus. Per dag wordt zo'n 170 liter pre-urine gevormd, waarvan 1 à 2 liter daadwerkelijk als urine uitgescheiden wordt. De overige liters van de pre-urine worden geresorbeerd in de tubulus. Ook worden hier belangrijke componenten voor het lichaam geresorbeerd naar het bloed. Water kan over het permeabel membraan terug naar het bloed en zorgt ervoor dat de vocht- en zoutbalans op peil blijft. Hiermee wordt ook de bloeddruk gereguleerd. Het water en de afvalstoffen die in de tubulus overblijven worden via de urinebuis uitgescheiden als urine.(1) Er zijn verschillende componenten die uitgescheiden worden door de nieren, waaronder kreatinine, ureum, urinezuur en elektrolyten.

De belangrijkste functies van de nieren zijn pH-regulatie, excretie van afvalstoffen, hormoonaanmaak en regulatie van de water- en zoutbalans (1).

Bij dysfunctie van de nieren kan het zijn dat een component uit het bloed overmatig of verminderd uitgescheiden wordt. Bij nierfalen kunnen afvalstoffen (zoals kreatinine) minder goed worden uitgescheiden, waardoor deze gaan ophopen in het bloed. Problemen in de tubulus (verminderde resorptie) kunnen juist leiden tot overmatige uitscheiding van bepaalde stoffen, waardoor de concentraties in het bloed gaan dalen (1).

De functie van de nieren kan gecontroleerd worden door analyse van de urine- en bloedmonsters, maar ook functies van andere organen kunnen nagegaan worden.

Biomerkers

Er zijn verschillende belangrijke biomerkers die teruggevonden kunnen worden in urine en daarmee informatie kunnen geven over de nierfunctie of de functie van een ander orgaan in het lichaam. Hieronder zijn verschillende biomerkers toegelicht, die vaak bij routinecontroles worden geanalyseerd.

Kreatinine

Kreatine wordt in de spieren afgebroken, waarbij het afvalproduct kreatinine gevormd wordt. De kreatinine wordt vervolgens uitgescheiden door de nieren. In de urine is het normaal om hoge concentraties kreatinine te meten, omdat kreatinine een afvalproduct is. Deze hoge concentratie kreatinine kan veroorzaakt worden door veel afbraak van spieren of door de hoeveelheid spieren die een persoon heeft. Zo heeft een bodybuilder veel spiermassa, waardoor de concentratie kreatinine in de urine hoger zal zijn dan bij andere personen. (5)

Een oorzaak voor een lage concentratie kreatinine in urine kan komen door een verminderde nierfunctie. Hierdoor zal de concentratie kreatinine stijgen in het bloed. De stijging van de concentratie

kreatinine in het bloed zal echter niet direct terug te zien zijn, omdat de nieren een flinke overcapaciteit hebben (5).

De concentratie kreatinine dat gemeten wordt in bloed is belangrijk, omdat hiermee bepaald kan worden of er sprake is van overmatige spierafbraak of een verminderde nierfunctie. Dit moet wel in combinatie geanalyseerd worden met de concentratie kreatinine in urine, zodat de precieze oorzaak vastgesteld kan worden.

De kreatinine klaring via de urine zegt iets over de nierfunctie en kan bepaald worden door de concentratie kreatinine te bepalen in bloed en urine. Om deze klaring te berekenen, wordt 24uurs urine verzameld aangezien de concentratie kreatinine in urine gedurende de dag wisselt (5).

Ureum
Ureum is het afvalproduct van eiwitten dat afgebroken wordt in de lever. Het wordt uitgescheiden door de nieren. De concentratie ureum in de urine is afhankelijk van de hoeveelheid opgenomen eiwitten in de darmen. Er geldt hoe meer afbraak van eiwitten, des te meer ureum uitgescheiden wordt via de urine. De hoeveelheid uitgescheiden ureum is ook afhankelijk van de bloeddruk. De druk in de glomerulus is lager als de bloeddruk laag is, waardoor meer ureum geresorbeerd wordt. In tegenstelling tot ureum dat onder andere afhankelijk is van de bloeddruk, is de concentratie kreatinine in urine niet afhankelijk van de bloeddruk. Hierdoor kan de concentratie ureum t.o.v. de kreatinine concentratie een hulpmiddel zijn bij onderzoek naar de oorzaak van de verminderde nierfunctie. Het is waarschijnlijk dat de verminderde nierfunctie een pre-renale oorzaak heeft als de ureum concentratie meer dan 1/10 van de concentratie kreatinine is (5).

Urinezuur
Purines zijn de guanine en adenosine bouwstenen van DNA. Ze worden afgebroken in cellen en hierbij wordt urinezuur gevormd. De concentratie van urinezuur hangt nauw samen met de nierfunctie, omdat urinezuur renaal geklaard wordt. De concentratie urinezuur zal stijgen bij een verminderde nierfunctie. Een te hoge concentratie urinezuur in bloed kan leiden tot kristalvorming in gewrichten. Deze kristallen veroorzaken ontstekingen (jicht) (5).

Ook kan er sprake zijn van overmatige productie van urinezuur, waardoor veel urinezuur uitgescheiden wordt via urine. De hoge concentratie urinezuur in urine kan gaan neerslaan, waardoor nierstenen gevormd worden.

Natrium
Natrium wordt opgenomen via de darmen vanuit de voeding en heeft een grote invloed op de osmolaliteit in het bloed. Het is de belangrijkste positieve elektrolyt in het bloed en wordt uitgescheiden via de nieren. Als het uitgescheiden wordt door de nieren diffundeert water mee. Hierdoor blijft de osmolaliteit van het bloed gelijk. Het constant houden van de osmolaliteit wordt ook geregeld door het opnemen van natrium de cel in of juist de cel uit. Ook hier diffundeert water mee met natrium. Dit constant houden van de osmolaliteit is met name belangrijk voor de hersenen. Bij een te hoge concentratie natrium (hypernatriemie) verschuift water van de hersencellen naar de bloedbaan om de osmolaliteit te corrigeren. Dit veroorzaakt uitdrogingsverschijnselen. Deze hoge concentratie natrium kan verschillende oorzaken hebben, zoals verhoogde inname of verminderde uitscheiding van de nieren of een hormoonstoornis.

Een te lage concentratie natrium kan veroorzaakt worden door te weinig inname of verlies van natrium door bijvoorbeeld nierproblemen, diuretica gebruik of ernstige diarree. Dit tekort aan natrium (hyponatriemie) kan voornamelijk zorgen voor problemen in de hersenen. Het water zal vanuit de

bloedbaan de cellen in gaan om de osmolaliteit constant te houden. Hierdoor zwellen de cellen op en dit kan gevaarlijk zijn (5).

Chloride
Chloride is een belangrijk negatief geladen elektrolyt bij zuurbaseregulering in het bloed. De regulatie van chloride hangt samen met de natriumregulatie. Het komt in hoge concentratie voor in zweet en maagzuur (5).

Een te lage concentratie chloride (hypochloremie) kan veroorzaakt worden door veel braken, verlies bij brandwonden via de huid en een te lage inname. Een te hoge concentratie chloride (hyperchloremie) kan juist veroorzaakt worden door uitdroging, verlies van natrium en/of water (5).

Kalium
Kalium heeft een belangrijke rol in de zenuwgeleiding en het regelen van de bloeddruk. De concentratie van kalium is hoger in de cel dan buiten de cel. De concentratie van kalium wordt op peil gehouden door de Na^+/K^+-pomp, waarbij 3 natriumionen de cel uitgepompt worden tegen 2 kaliumionen de cel in. Hiermee wordt het volume van de cel gereguleerd. De pomp werkt optimaal bij lichaamstemperatuur. Als de pomp niet goed werkt zal kalium de cel uitlekken, door over het membraan te diffunderen (5).

Een te lage concentratie van kalium (hypokaliemie) kan veroorzaakt worden door verlies door diarree, braken, bepaalde soorten diuretica en insuline. Insuline bevordert namelijk de opname van kalium de cel in, waardoor de kaliumplasmaconcentratie te laag wordt (5).

Hyperkaliemie (te hoge concentratie kalium) wordt zelden veroorzaakt door te hoge inname kalium, omdat kalium snel uitgescheiden wordt door de nieren. Het kan wel veroorzaakt worden door nierproblemen, waardoor kalium verminderd uitgescheiden wordt. Ook kan het veroorzaakt worden door kaliumsparende diuretica of door een tekort aan aldosteron. Aldosteron is een hormoon dat de nieren stimuleert om kalium uit te scheiden. Bij een tekort aan aldosteron zal dit niet gestimuleerd worden, waardoor de concentratie kalium in plasma toeneemt. Bij een te hoge concentratie aldosteron zal er juist veel meer kalium uitgescheiden worden (5).

Magnesium
Magnesium wordt opgenomen in de darmen vanuit voeding en weer uitgescheiden via de nieren. Het komt maar voor 1% voor in het bloedplasma, omdat het zorgt voor de stabiliteit van nucleïne zuren en ribosomen. Ook is magnesium een belangrijke cofactor voor enzymen in cellen. Zo speelt het een belangrijke rol bij de PTH productie. Als de magnesiumconcentratie afwijkend is, heeft dit indirect invloed op de calciumhuishouding. Een te lage concentratie magnesium (hypomagnesiemie) kan veroorzaakt worden door verlies van magnesium in de darmen of nieren. Dit gaat vaak gepaard met afwijkingen van andere elektrolyten. Een verhoogde concentratie magnesium (hypermagnesiemie) komt voor bij nierpatiënten en bij zwangere vrouwen. Zij krijgen magnesiumsulfaat als weeënremmer toegediend en bij hen worden hoge concentraties magnesium gemeten. (5)

Calcium
Calcium wordt opgenomen vanuit de darmen onder invloed van vitamine D en het wordt uitgescheiden via de nieren. Ook vindt reabsorptie plaats van calcium vanuit de nieren naar het plasma onder invloed van PTH (parathormoon). Voor 99% is calcium te vinden in botten en voor 1% in plasma. Van de 1% calcium in het plasma is 50% ongebonden (geïoniseerd calcium), 40% is gebonden aan albumine en weer 10% is gebonden aan andere ionen. (5)

Calcium speelt een belangrijke rol bij samentrekking van spiercellen en het doorgeven van signalen. Het is ook essentieel voor botopbouw en als cofactor bij de stolling. De calciumconcentratie in plasma wordt gereguleerd door een ingewikkeld systeem, waarin vitamine D en PTH ook een rol spelen.

Een tekort aan calcium (hypocalciemie) kan veroorzaakt worden door een tekort aan vitamine D of PTH. Een tekort aan PTH kan samenhangen met hypomagnesiemie, omdat magnesium zorgt voor het vrijgeven van PTH. Verder kan hypocalciemie veroorzaakt worden door langdurige nierfalen. (5)

Hypercalciemie (te veel calcium) kan veroorzaakt worden door te veel PTH of vitamine D. Hypofosfatiemie gaat vaak gepaard met hypercalciemie als dit veroorzaakt wordt door PTH, omdat PTH ook effect heeft op uitscheiding van fosfaat. Verder kan hypercalciemie veroorzaakt worden door botaandoeningen, zoals tumormetastasen. Hierdoor komt veel calcium vrij uit de botten. (5)

Fosfaat
Fosfaat is een belangrijke bouwstof voor stoffen in het lichaam, waaronder ATP en DNA-moleculen. Voor 99% van het fosfaat zit in de botten en cellen en het wordt makkelijk opgenomen vanuit de darmen. De concentratie fosfaat in bloed is daarom na een maaltijd hoger. De regulatie van fosfaat is afhankelijk van PTH en vitamine D en hangt nauw samen met de regulatie van calcium. De uitscheiding van fosfaat gebeurt onder invloed van PTH en gaat via de nieren. Een te hoge concentratie fosfaat (hyperfosfatiemie) in bloed wordt vaak veroorzaakt door een verminderde nierfunctie, waardoor het moeilijker wordt om fosfaat uit te scheiden. Dit gaat vaak samen met een te lage concentratie calcium. Er worden dan dus lagere concentraties fosfaat in de urine teruggevonden. (5)

Te lage concentraties fosfaat (hypofosfatiemie) in het bloed kunnen veroorzaakt worden door te hoge concentraties PTH, waardoor veel fosfaat uitgescheiden wordt door de nieren. De plasma concentratie daalt dan en de concentratie neemt toe in de urine. Een te lage concentratie veroorzaakt vooral problemen in de erytrocyten, omdat het enzym voor zuurstoftransport niet goed meer functioneert (5).

Totaal eiwit
Eiwitten zijn grote moleculen die niet door de wand van de bloedbaan heen kunnen. In het bloed circuleren veel verschillende eiwitten. De grootste concentratie eiwitten is van albumine, immunoglobulines en fibrinogeen. Als iemand gaat staan wordt er een toename in de concentratie eiwitten gemeten van 10-20%. Dit komt doordat de bloeddruk stijgt als iemand gaat staan, waardoor water uit de bloedvaten geperst wordt. Een snelle toename van de concentratie totaal eiwit wordt dus veroorzaakt door dehydratie en ook bij toename van immunoglobulines. Verlaagde concentratie van eiwitten kan veroorzaakt worden door hydratatie, malabsorptie (problemen met opname van eiwitten of slechte voeding), nefrotische syndroom (eiwitten gaan verloren in nieren) of leverfalen (de lever is de belangrijkste bron van eiwitproductie) (5).

Eiwitten komen normaal gesproken niet of in hele lage concentratie voor in urine. Wanneer wel eiwitten worden gemeten in urine, spreekt men van proteïnurie. Dit kan veroorzaakt worden door een hoge bloeddruk, hartaandoeningen of aandoeningen waarbij abnormale eiwitten of eiwitconcentraties worden geproduceerd (5).

Albumine
Albumine is een belangrijk transporteiwit voor onder andere calcium, bilirubine, schildklierhormonen en vetzuren. Het wordt geproduceerd in de lever en is het meest voorkomende eiwit in het bloed. Verder levert het de belangrijkste bijdrage aan de colloïd osmotische druk. Verhoogde concentraties albumine komen nauwelijks voor. Een tekort aan albumine kan worden veroorzaakt door nefrotisch syndroom, leverfalen of malabsorptie. Er kan door ernstig verlaagde concentraties albumine een

verandering in de waterverdeling ontstaan. Hierdoor gaat water vooral in weefsels zitten, wat tot oedeem leidt.

Normaal gesproken zorgt het basale membraan van glomeruli ervoor dat eiwitten, zoals albumine niet doorgelaten worden (1). Het basale membraan zijn de cellen die de wand van de bloedvaatjes vormen en podocyten (22). De cellen in dit membraan zitten strak op elkaar, waardoor moleculen groter dan 60 kD er niet doorheen kunnen. Podocyten hebben ook invloed op wat doorgelaten wordt naar de voorurine. Ze kunnen ingedeeld worden in drie domeinen. Het eerste domein is het apicale domein. Dit domein (apicale celmembraan) is negatief geladen, waardoor het voorkomt dat er adhesie tussen de boven- en naastgelegen celmembranen kan plaatsvinden (23). Hierdoor blijft de urineruimte en filtratiespleet open. Het tweede en derde domein, glomerulaire basaalmembraan (GBM) en filtratiespleetdiagfragma zorgen samen voor selectieve filtratie voor de voorurine (23).

In de urine wordt normaal gesproken een hele lage concentratie albumine gemeten (<30 mg/24uur). Door schade aan de nieren kan het zijn dat eiwitten toch doorgelaten worden naar de urine. Deze schade aan de nieren kan onder andere veroorzaakt worden door hoge concentraties glucose (diabetespatiënten) of auto-immuunaandoeningen waarbij ontstekingen de nieren aantasten. De concentratie albumine die teruggevonden wordt in urine is een maat voor de ernst en prognose van nierschade (5).

Glucose

De belangrijkste energiebron voor cellen in het lichaam is glucose. Glucose kan gevormd worden door de lever vanuit aminozuren (gluconeogenese) of direct opgenomen worden vanuit voedsel. De opname van glucose in de cellen wordt gereguleerd door insuline. Deze stof wordt aangemaakt in de alvleesklier in de eilandjes van Langerhans. (5)

De lever slaat glucose op als glycogeen in de lever. Deze energie kan later verbruikt worden, doordat glycogeen weer omgezet kan worden in glucose. Glucose kan worden uitgescheiden naar de pre-urine, maar wordt meestal weer geresorbeerd naar het bloed. Het is een belangrijke component voor het lichaam om te behouden (5).

De glucosespiegel in het bloed kan door verschillende oorzaken stijgen. Ten eerste, kunnen antistoffen de eilandjes van Langerhans afbreken, waardoor insuline niet geproduceerd kan worden. Glucose kan vervolgens niet meer door de cellen opgenomen worden. Er is dan sprake van type I diabetes. Ten tweede, kunnen de receptoren op cellen in het lichaam ongevoelig worden voor insuline, waardoor glucose ook niet opgenomen kan worden door de cellen. Om de verhoogde plasma glucose spiegel te verlagen wordt glucose uitgescheiden via de urine, doordat er minder resorptie van glucose plaats vindt in de tubulus.(5)

Additieven

Voor sommige bepalingen in urine is het van belang om een additief toe te voegen om de biomerker te stabiliseren. In tabel 1 zijn de additieven die gebruikt worden tijdens dit onderzoek weergegeven en de biomerkers waarbij deze additieven in het UMCG toegevoegd worden.

Tabel 1. In de tabel is aangegeven welke biomerkers in het UMCG in combinatie van een additief geanalyseerd worden in de urine.

Additief	**Analyse biomerkers**
Chloorhexidinedigluconaat	Methylhistamine, methylimidazolazijnzuur (MIMA) en histamine
Na_2EDTA/ascorbinezuur	Serotonine, 5-hydroxindol-azijnzuur (5-HIAA) en/of catecholaminen (adrenaline, noradrenaline). Als uit dezelfde verzameling catecholamine metabolieten (HVA, VMA) of metanefrinen geanalyseerd moeten worden ook additief toevoegen
Soda (natriumcarbonaat)	Delta-amino-levulinezuur, porfobilionogeen en porfyrinen

Chloorhexidinedigluconaat

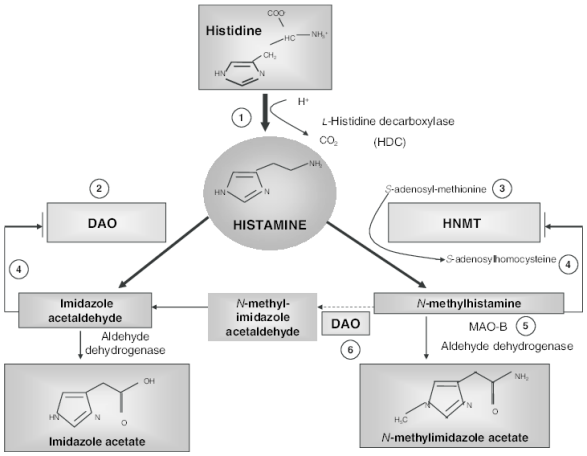
Chloorhexidinedigluconaat wordt toegevoegd bij analyses van histamine en de metabolieten van histamine. Het is een desinfectiemiddel, waardoor gramnegatieve bacteriën in de urine dood gaan. Deze bacteriën kunnen histamine en de metabolieten afbreken en sommige bacteriën kunnen juist histamine metabolieten produceren. Dit kan leiden tot foutief verhoogde of verlaagde concentraties (contaminatie). Ook zijn de histamine metabolieten niet stabiel in vitro. Door chloorhexidinedigluconaat toe te voegen wordt, worden het histamine en de histamine metabolieten gestabiliseerd.

Histamine speelt een belangrijke rol bij het afweersysteem en is een neurotransmitter in het centrale zenuwstelsel. Histamine wordt vrijgegeven door mestcellen bij de afweerreactie met IgE. De concentratie histamine in bloedplasma neemt hierdoor toe.

Abnormale toenames van histamine in het bloed kunnen veroorzaak worden door anafylactische en allergische reacties en mastocytose (toename van abnormale mestcellen). Plaatselijk verhoogde concentraties histamine kunnen oedeem, roodheid en jeuk veroorzaken. In de longen zorgt het voor een luchtvernauwing. Ook kan het leiden tot een ernstige daling van de bloeddruk, waardoor een anafylactische shock kan worden veroorzaakt.

Histamine wordt zeer snel gemetaboliseerd en is daarom instabiel in bloed. Metabolieten van histamine, die worden uitgescheiden in urine zijn stabieler, waardoor ervoor gekozen wordt om de concentraties van de metabolieten te meten in urine.

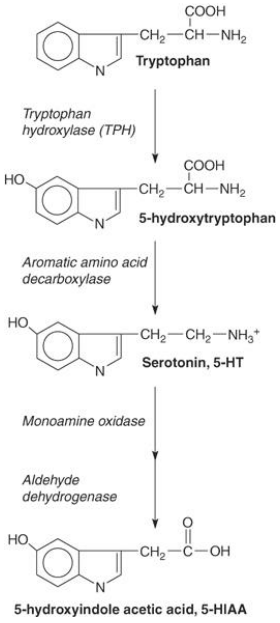
In figuur 1 is het metabolisme van histamine weergegeven. De metabolieten imidazolazijnzuur en N-methylhistamine worden gevormd met dit metabolisme via oxidatie deaminering en N-methylering (17). Deze metabolieten worden ook gevormd bij de afbraak van histidine (17). Hierdoor kan met het meten van deze metabolieten niet achterhaald worden wat de concentratie histamine was in het bloed. Histamine wordt ook enzymatisch gedeactiveerd, waarbij de metabolieten methylhistamine (MHIS) en methylimidazolazijnzuur (MIMA) gevormd worden (5). Deze zijn specifiek voor de afbraak van histamine.



Figuur 1. Metabolisme histamine via oxidatieve deaminering en N-methylering. (17)

Na_2EDTA/ascorbinezuur (1:1)

Na_2EDTA/ascorbinezuur wordt toegevoegd voor analyse van 5-hydroxyindol-azijnzuur (5-HIAA). 5-HIAA is een afbraakproduct van serotonine en wordt uitgescheiden door de nieren (7). Serotonine kan bij neuro-endocriene tumoren in overmaat geproduceerd worden en bij de afbraak van serotonine wordt 5-HIAA gevormd. In figuur 2 staat het metabolisme van 5-HIAA, waarin serotonine gevormd wordt vanuit tryptofaan en serotonine afgebroken wordt tot 5-HIAA. Doordat er veel 5-HIAA geproduceerd wordt bij een neuro-endocriene tumor kan de concentratie van 5-HIAA in urine worden gebruikt als tumormerker. Met analyses van 5-HIAA in urine kunnen tumoren in het neuro-endocriene systeem opgespoord worden en kan bepaald worden of de behandeling tegen een dergelijke tumor aanslaat (7).



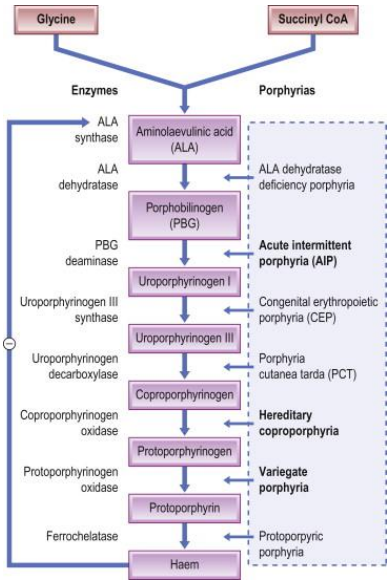
Figuur 2. Metabolisme van 5-HIAA (19)

5-HIAA bevat twee hydroxy-groepen en deze groepen kunnen snel oxideren bij een hogere pH. Daarom is 5-HIAA stabieler bij een pH tussen 2 en 5 (6).

Om 5-HIAA te stabiliseren in urine wordt ascorbinezuur toegevoegd. Ascorbinezuur is een antioxidant. Een antioxidant reageert met zuurstof in de omgeving. Hierdoor zullen de hydroxy-groepen van 5-HIAA niet oxideren.

Ook kan de pH verlaagd worden, zodat de 5-HIAA niet weg oxideert voor de analyse (6). De pH van urine kan verlaagd worden door vitamine C, wat ervoor zorgt dat de urine verzuurd. De pH van urine daalt dan naar 2-4. EDTA (EthyleenDiamineTetraAcetaat) blokkeert de werking van calcium door een soort kooi om calcium te vormen (1). EDTA bindt naast calcium ook aan andere metaalionen, zoals magnesium (21). Om de hydroxy-groepen te stabiliseren van 5-HIAA moet de urine dus aangezuurd worden met Na_2EDTA/ascorbinezuur.

Soda (natriumcarbonaat)
Soda (zuurbuffer) zorgt ervoor dat de pH in de urine gelijk blijft. De pH van urine is bij gezonde mensen tussen de 5 en 6. De pH van urine zal toenemen naarmate het langer blijft staan, omdat er meer bacteriegroei plaats vindt. De bacteriegroei in urine zal blijven plaatsvinden na het toevoegen van soda, maar de pH van de urine zal wel gelijk blijven. Dit is van belang voor verschillende stoffen, zoals delta-amino-levulinezuur, porfyrinen en porforbilionogeen.



Figuur 3. Metabolisme van de synthese van heem. (18)

In figuur 3 is het porfyrine metabolisme weergegeven. Het bestaat uit verschillende opeenvolgende enzymatische reacties, waarbij verschillende porfyrinen gevormd worden. Als een reactie van het metabolisme niet goed functioneert kan er een ziekte ontstaan. Afhankelijk van welk enzym deficiënt is, kunnen er verschillende ziektebeelden ontstaan. Er hopen dan bepaalde porfyrinen op in het bloed en de verhoogde concentraties worden ook in urine gezien. Door urine te analyseren kan achterhaald worden welk enzym niet (goed) functioneert. De groep aandoeningen dat kan ontstaan door een enzymdeficiëntie wordt porfyrien genoemd (5).

Voorgaande onderzoeken

Voordat dit onderzoek opgestart is, is gekeken naar vergelijkende onderzoeken. Er zijn veel verschillende onderzoeken gedaan waarbij gekeken werd of een additief beter vooraf of achteraf toegevoegd kan worden en of het toevoegen van een additief invloed heeft over de bewaartijd van urine. Hierbij werd het resultaat van een aantal biomerkers onderzocht.

In het onderzoek van Feres, et al. (10) is onderzocht wat het effect van zoutzuur op urinezuur, kreatinine, ureum, chloride, glucose, magnesium, albumine, kalium, natrium, eiwitten, calcium en fosfaat is. Dit is gedaan onder 4 verschillende condities. Er is zonder toevoegen van zoutzuur gemeten, met 5 ml/L zoutzuur vooraf toegevoegd, 5 mL/L zoutzuur achteraf toegevoegd en 20 mL/L zoutzuur vooraf toegevoegd. Hieruit kwam dat zoutzuur effect heeft op de concentraties van chloride (toename), urinezuur (afname) en totaal eiwit (afname).

Zoutzuur is een andere stof dan Na_2EDTA/ascorbinezuur. Beide zijn echter een zuur additief. Het is niet duidelijk of deze stoffen een ander effect hebben op de biomerkers die geanalyseerd worden. Het is dus van belang dat het onderzoek specifiek met de additieven van het UMCG plaatsvindt, zodat het precieze effect van Na_2EDTA/ascorbinezuur onderzocht kan worden. Zoutzuur is een sterker zuur dan Na_2EDTA/ascorbinezuur, waardoor zoutzuur meer effect heeft op de gemeten concentraties van de biomerkers. Dit is ook afhankelijk van de hoeveelheid die toegevoegd wordt aan de urine.

Het effect van 5 g/L natriumbicarbonaat en 5 g/L zoutzuur in urine op de concentraties van calcium, magnesium, fosfaat en urinezuur is tijdens het onderzoek van Yilmaz (11) onderzocht. Natriumbicarbonaat is een vergelijkbare stof met natriumcarbonaat en zoutzuur wordt vergeleken met Na_2EDTA/ascorbinezuur. Het resultaat van het onderzoek is dat natriumbicarbonaat geen effect had op de biomerkers en toevoeging van zoutzuur leidde alleen tot een afname van de urinezuurconcentratie.

Tijdens het onderzoek van Douwes (13) is onderzocht wat het effect van 2 g/L boorzuur is op de concentratie van kreatinine, natrium, kalium, albumine en totaal eiwit. Boorzuur is ook een zuuradditief en wordt in dit geval vergeleken met Na_2EDTA/ascorbinezuur. Het is wel een zwakker zuur dan Na_2EDTA/ascorbinezuur, waardoor de resultaten mogelijk minder overeenkomen, dan met zoutzuur. Uit de resultaten is gekomen dat boorzuur geen relevant verschil heeft op de gemeten biomerkers.

Bij alle drie de onderzoeken is het effect onderzocht met vergelijkende additieven, maar niet exact dezelfde additieven die gebruikt worden in het UMCG. Ook zijn er andere methoden gebruikt dan er in het UMCG worden gebruikt. De analyse apparaten komen ook niet overeen. Deze onderzoeken geven een richtlijn voor een verwachting bij bepaalde biomerkers, maar kunnen ook afwijken bij dit onderzoek. Het is van belang om precies te weten wat het effect is van de additieven in het UMCG op de biomerkers die bij routineanalyses gemeten worden, zodat mogelijk deze analyses ook in aanwezigheid van het additief gemeten kunnen worden. Dit kan ervoor zorgen dat het verzamelen van bokalen voor patiënten minder belastend kan zijn in de toekomst.

Voor chloorhexidinedigluconaat is geen vergelijkend onderzoek gevonden. Er zijn dus geen verwachtingen van dit onderzoek.

Onderzoeksvragen

Hierboven zijn drie additieven (chloorhexidinedigluconaat, Na_2EDTA/ascorbinezuur en natriumcarbonaat) toegelicht die gebruikt worden in het UMCG. Tot nu toe worden de analyses waarbij deze additieven toegevoegd worden apart geanalyseerd van de routineanalyses. Hierdoor kan het zijn dat patiënten twee bokalen moeten verzamelen, één met additief en één zonder additief. Dit is belastend voor de patiënt.

Tijdens dit onderzoek wordt gekeken of het mogelijk is om de routineanalyses in aanwezigheid van een additief te analyseren. Er wordt onderzocht wat het effect is van de in het UMCG gebruikte additieven op routine klinisch chemische analyses, waarvoor geen additieven worden gebruikt. Uit deze informatie kan vervolgens worden opgemaakt of het noodzakelijk is om meerdere urines (porties of 24uurs urines) te verzamelen of dat het mogelijk is om uit dezelfde urineverzameling in aanwezigheid van een additief ook routine klinisch chemische analyses te doen.

Ook wordt er gekeken tijdens dit onderzoek of na een analyse aangetoond kan worden of een additief daadwerkelijk toegevoegd is. Het is immers aan de urine niet te zien of er een additief is toegevoegd en soms is dit onduidelijk. Het kan voorkomen dat de patiënt zegt dat er niks is toegevoegd. Ook kan het zijn dat er op het formulier wel een additiefsticker zit, maar op de bokaal niet, of andersom.

Materiaal en methode

Additieven

De onderzochte additieven staan in tabel 2 met de hoeveelheden die in de routine diagnostiek in het UMCG toegevoegd worden aan de bokalen of urinepotjes.

Tabel 2. In de tabel staat de hoeveelheid van elk additief dat is toegevoegd aan bokaal of urineportie voor de analyse.

Additief	**Hoeveelheid toegevoegd**
Chloorhexidinedigluconaat	Bokaal: 2 mL Urineportie: 0,5 mL
Na_2EDTA/ascorbinezuur	Bokaal: 250 mg
Soda (natriumcarbonaat)	Bokaal: 1 gram

In het UMCG is het gebruikelijk dat de 3 additieven alleen toegevoegd worden aan analyses uit bokalen. Alleen chloorhexidinedigluconaat wordt ook aan urineporties voor histamine metabolieten toegevoegd. Het volume urine in een bokaal is doorgaans tussen de 1 en 3 liter. Het volume in de bokaal wisselt en daarvoor wordt in het UMCG de bokaal gewogen, zodat de concentratie gecorrigeerd kan worden met het volume in de bokaal. Er werd tijdens het onderzoek de standaard hoeveelheid additief toegevoegd aan de bokaal of urineportie, zoals in tabel 1 staat.

Stappenplan onderzoek

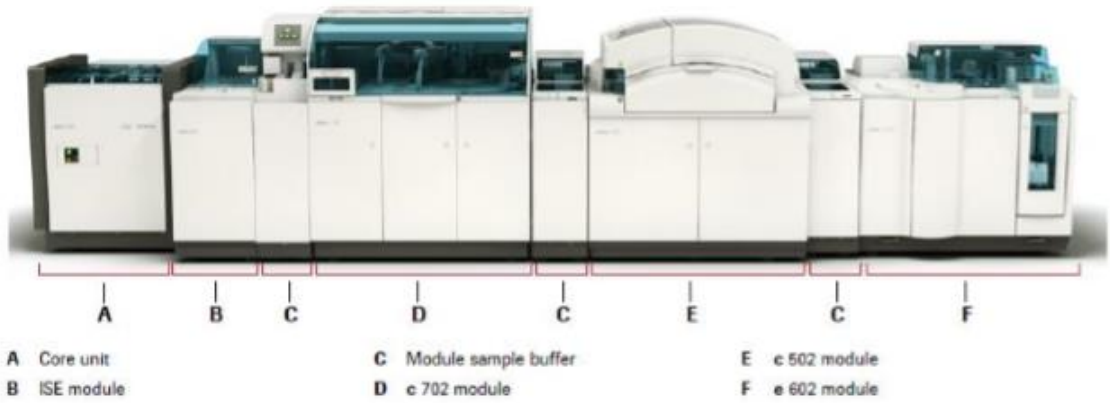
De volgende stappen zijn ondernomen om bokalen of urineporties te verzamelen en te analyseren:

1. Bij de prikpoli werd gevraagd of bokalen en urineporties verzameld kon worden.
2. Via glims werden studiepatiënten aangevraagd met een specifiek studiepatiëntnummer en ook werd in glims aangegeven welke biomerkers (kreatinine, urinezuur, ureum, chloride, natrium, kalium, calcium, magnesium, fosfaat, glucose, albumine, totaal eiwit) geanalyseerd moesten worden. Van elk studiepatiënt werd een etiket geprint.
3. Op een aparte code-lijst (beveiligd) is bijgehouden welk studie monsternummer bij welk zorg monsternummer hoort. Op deze lijst zijn geen persoonsgegevens genoteerd.
4. Na het afhalen van de bokalen van de prikpoli, werd het zorgmonsternummer genoteerd op de code-lijst.
5. De pH (ColorPhast) van de urine werd gemeten voor het toevoegen van het additief (1 van de 3) en genoteerd op het bijbehorende (studie)etiket.
6. Het additief werd in de juiste hoeveelheid (tabel 2) toegevoegd aan de bokaal/urineportie.
7. Chloorhexidinedigluconaat: met een pipet 0,5 mL toegevoegd aan urineportie en 2 mL aan een bokaal.
8. Natriumcarbonaat: met een schep 1 gram toegevoegd aan de bokaal.
9. Na_2EDTA/ascorbinezuur: met een schep 250 mg toegevoegd aan de bokaal.
10. De bokaal/urinepotje werd 5 tot 10 keer gezwenkt. Er werd gecontroleerd of het additief goed opgelost is. Op het bijbehorende studie etiket werd genoteerd welk additief toegevoegd was aan de bokaal.
11. De pH van de urine na het toevoegen van het additief werd opnieuw gemeten en genoteerd op de bijbehorende studie etiket.
12. De buisjes werden gevuld voor studiemeting (met 6 mL, buisje gevuld mbv vacuum systeem) en etiket werd op het buisje geplakt.
13. De buisjes werden afgegeven bij het centraal lab voor analyse.
14. Op het bijbehorende studie etiket werd genoteerd hoelang tussen het verzamelen van de bokalen en het afgeven van de buisjes zit.
15. Na de analyses werden de resultaten opgevraagd via glims en werden verwerkt in excel.

Voor methode vergelijkende onderzoeken worden normaal 40 patiënt monsters geanalyseerd per methode (internationale richtlijnen). Om het onderzoek tijd- en kosten efficiënt te houden, is er hier voor gekozen om in eerste instantie 5 bokalen per additief te verzamelen en hiervan alle parameters te meten. Vervolgens is aan de hand van passing-bablok grafieken en verschil plotten bepaald van welke parameters extra metingen gedaan moesten worden.
Voor de extra metingen is ervoor gekozen om urine te verzamelen bij de diabeteskliniek, omdat er een grotere kans is dat urine van deze patiënten verhoogde concentraties van glucose, totaal eiwit en albumine bevatten. Bij de diabeteskliniek worden alleen urineporties verzameld, waardoor het volume van de urine 100 mL is i.p.v. 1 tot 3 liter. De hoeveelheid additief dat aan de urineporties is toegevoegd is daarom verkleind. Bij chloorhexidinedigluconaat is 0,5 mL toegevoegd, soda is 0,25 g toegevoegd en bij Na_2EDTA/ascorbinezuur is 62.5 mg toegevoegd.

Cobas 8000

In het UMCG worden kwantitatieve analyses uitgevoerd op het centrale lab. Hier wordt gebruik gemaakt van de Cobas 8000, waarop zowel urine- als bloedanalyses worden gedaan. In figuur 4 is te zien dat het apparaat uit verschillende delen bestaat.



Figuur 4. Cobas 8000 analyzer met de verschillende units (2).

Onderdeel A is de core unit. Deze unit zorgt ervoor dat de buisjes met sample uit de samplerekken wordt gehaald voor de analyse. ISE module is het onderdeel waar via een elektronische weg de concentraties van natrium, kalium en chloride bepaald worden. Een efficiënte sample transport en management door de analyzer wordt gedaan door de module sample buffers. De klinisch chemische analyses worden uitgevoerd in modules c702 en c502. Met beide units worden fotometrische bepalingen uitgevoerd, waaronder kinetische, colorimetrische en turbidimetrische metingen. Met de c502 module worden ook bepalingen gedaan van serum-indices (hemolytisch, icterisch en lipemisch). Ook wordt het stolsel level bepaald. De stolsel en vloeistof niveaudetectie (LLD), LLD- en schuimdetectie voor reagentia en serum-indices (icterisch, hemolytisch en lipemisch) worden ook met de c702 module bepaald. (2)

De laatste module, e602, is de immunoassay-analyser. Het monster wordt eerst geïncubeerd door het Sandwich bindingsprincipe of competitieve bindingsprincipe. Bij deze analyse zijn antilichamen betrokken. Als deze geactiveerd worden, gaan ze licht uitzenden. De activitatie gaat via een Electro Chemische Luminescentie reactie (ECL-cel). Met een ECL meetcel kan vervolgens het uitgezonden licht gemeten worden. Het meetsignaal wordt omgezet in een concentratie. (2)

In tabel 3 is weergegeven welke analysemethode gebruikt wordt voor elke parameter die tijdens dit onderzoek gemeten is.

Tabel 3. Per biomerker aangegeven welke analysemethode gebruikt wordt en of er voor de analyse nog wat toegevoegd wordt.

Biomerker	Analysemethode	Toevoegingen voor analyse
Albumine	Cobas C702, colorimetrische analyse (BCG methode) (5)	-
Natrium, kalium, chloride	ISE module, ion-selectieve elektrode (5)	ISE-diluent (waterige oplossing dat groei remmend conserveermiddel bevat) (24)
Fosfaat	Cobas C502, colorimetrische analyse (5)	Ammonium molybdate
Totaal eiwit	Cobas C702, colorimetrische analyse (25)	-
Ureum	Cobas C502, kinetische analyse (25)	Glutamaat dehydrogenase
Urinezuur	Cobas C702, enzymatische colorimetrische analyse (25)	-
Glucose	Cobas C702, kinetische analyse (25)	-
Calcium	Cobas C502, colorimetrische analyse (25)	5-nitro-5'-methyl-BAPTA en EDTA
Kreatinine	Cobas C702, kinetische Jaffé methode (25)	-
Magnesium	Cobas C502, colorimetrische eindpunt methode (25)	Xylidyl blue, diazonium salt (magnesium kleurt blauw)

Dataverwerking

De resultaten vanuit de zorg en van de test zijn opgezocht in glims, het laboratorium informatiemanagement systeem. Deze resultaten zijn vervolgens verwerkt in Excel. Met behulp van de Analyse It tool zijn vervolgens Passing-Bablok analyses gedaan en verschil plotten gemaakt. Bij de verschil plotten is per parameter een bepaalde 2x standaarddeviatie gebruikt (20; 26). Deze is namelijk gelijk aan 95% betrouwbaarheidsinterval.

Resultaten

In de resultaten is per additief een tabel weergegeven met de hellingen van de passing-bablok grafieken. In de bijlagen staan de passing-bablok grafieken en verschil plotten van alle parameters (bijlage 1 chloorhexidinedigluconaat, bijlage 2 Na_2EDTA/ascorbinezuur en bijlage 3 natriumcarbonaat). De verschil plotten van de parameters waar afwijkende waardes zijn gevonden worden hieronder beschreven. Bij sommige parameters zijn extra metingen gedaan met urineporties van de diabeteskliniek. Deze punten staan in blauw weergegeven in de grafieken.

Chloorhexidinedigluconaat

Bij het toevoegen van chloorhexidinedigluconaat aan de urine werd een soort witte neerslag waargenomen. Deze neerslag verdween vanzelf weer, doordat het oploste in de urine.

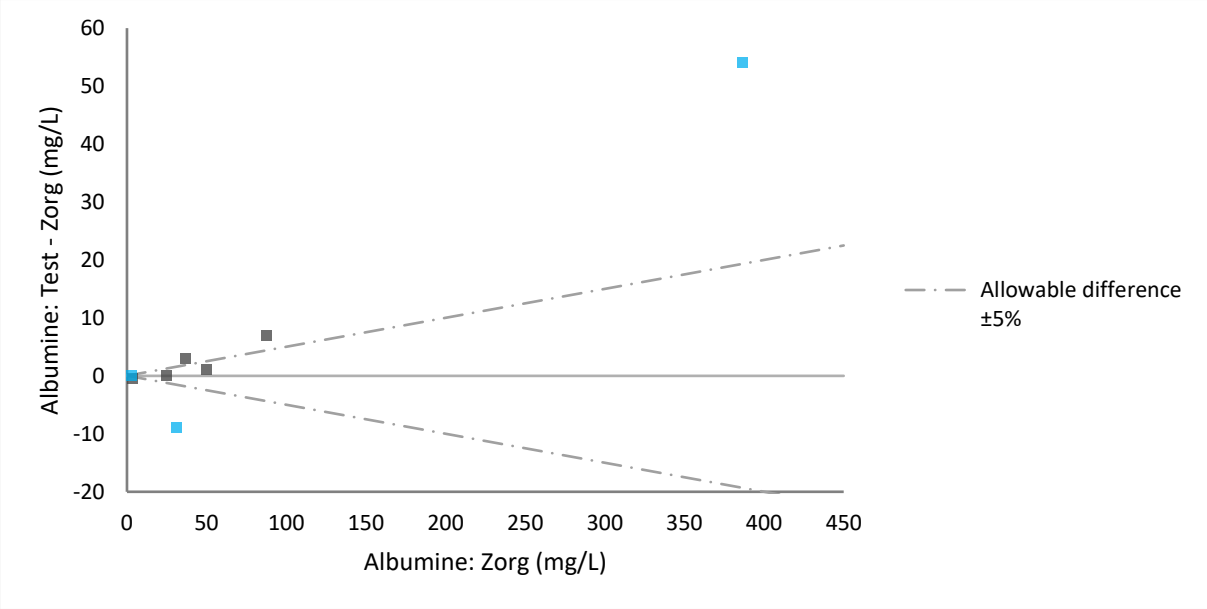
Tabel 4 vermeldt de hellingen en het snijpunt van de passing-bablok methode vergelijkingen voor de verschillende urine analyses. In de optimale situatie is de helling van elke grafiek gelijk aan 1, omdat dan de concentraties van de parameter met en zonder toevoeging van additief gelijk aan elkaar zijn. Het snijpunt is in de optimale situatie gelijk aan 0, omdat de grafiek dan door de oorsprong gaat. Voor de helling en het snijpunt zijn ook de 95% betrouwbaarheidsintervallen weergegeven. Hoe breder deze is, des te onnauwkeuriger de meting of afwijking van de punten.

Tabel 4. Tabel met helling en snijpunt (+95 CI) van elke parameter.

Parameter	Helling	Helling 95% CI	Snijpunt	Snijpunt 95% CI
Albumine	1,099	1,0000 tot 1,158	-1,330	-5,421 tot 0,500
Calcium	1,009	0,8788 tot 1,091	0,01749	-0,06500 tot 0,1220
Chloride	0,9848	0,9259 tot 1,094	0,7273	-4,500 tot 4,019
Fosfaat	1.045	0.8140 tot 1.113	-0,6242	-1,655 tot 2,655
Glucose	0,9844	0,9506 tot 1,0000	0,002344	0 tot 0,01235
Kalium	0.9756	0.9306 tot 1,056	1,060	-1,618 tot 2,839
Kreatinine	1.0000	0.9286 tot 1.018	0	-0,1909 tot 0,3429
Magnesium	1.004	0.7308 tot 1.500	-0,005319	-0,8300 tot 0,3546
Natrium	1.0000	0.9677 tot 1.071	1,0000	-2,786 tot 2,581
Totaal eiwit	0,9000	0,5882 tot 1,250	0,04000	-0,04375 tot 0,03794
Ureum	1.002	0.9468 tot 1.163	0,2434	-31,33 tot 12,38
Urinezuur	1.027	0.9286 tot 2.0000	-0,03427	-1,370 tot 0,1086

Bij magnesium, totaal eiwit en urinezuur werden relevante betrouwbaarheidsintervallen gevonden. Dit is bepaald aan de hand van de hoge of lage concentraties die gemeten zijn bij de biomerkers. De helling bij totaal eiwit wijkt ook relevant af van 1. De opvallende snijpunten en betrouwbaarheidsintervallen zijn bij de parameters albumine, magnesium, totaal eiwit en urinezuur.

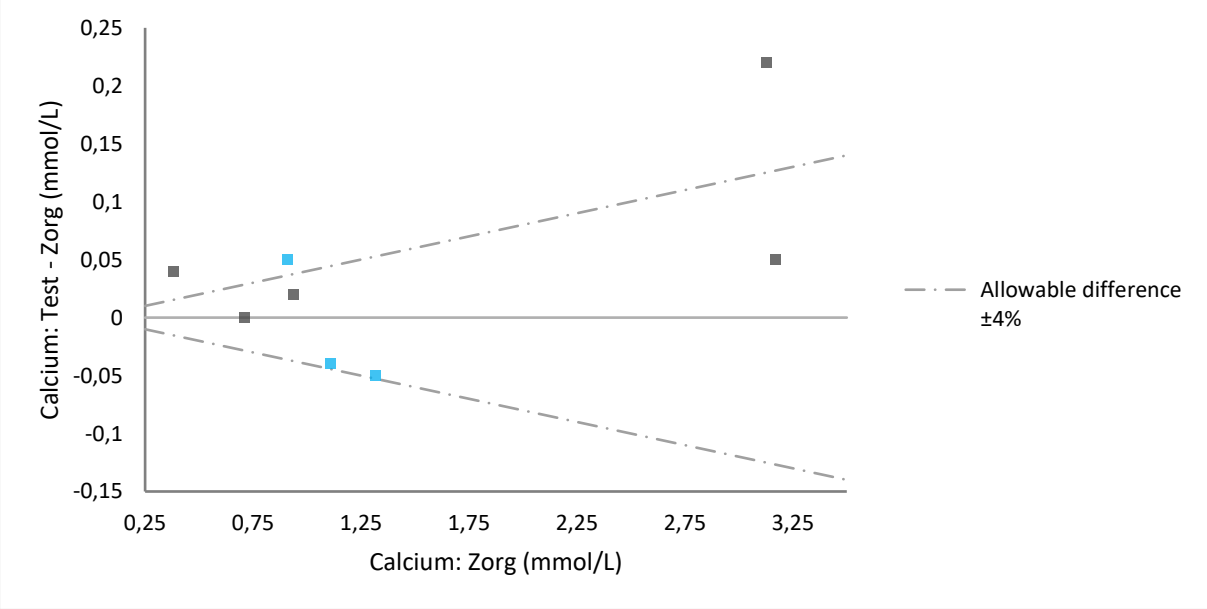
Albumine



Figuur 5. Verschilplot van albumine.

In figuur 5 is de verschilplot van albumine weergegeven. In de verschilplot is het absolute verschil tussen de zorg (zonder additief) en de test (met additief) concentratie uitgezet tegen de concentratie in urine zonder additief. Er waren 9 meetpunten, waarvan vier punten buiten de 2x standaarddeviatie van 5% vielen. Opvallend was het punt bij een concentratie van 387 mg/L, waarbij na toevoegen van het additief een veel hogere concentratie (toename 50 mg/L) werd gevonden.

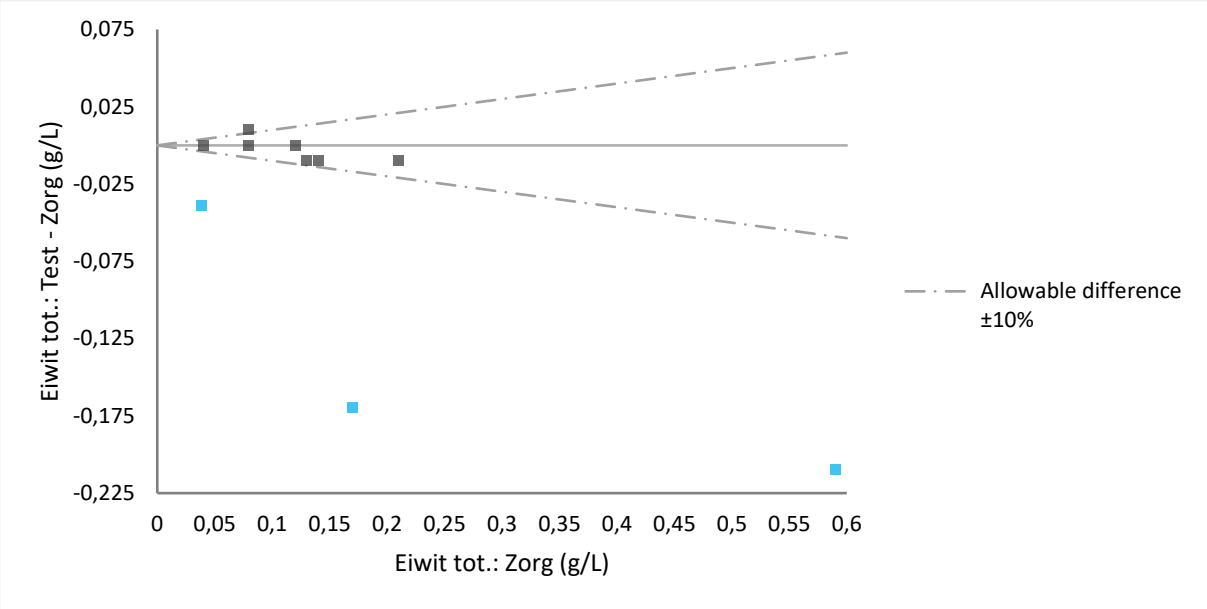
Calcium



Figuur 6. Verschilplot van calcium.

De verschilplot van calcium is weergegeven in figuur 6. Bij een concentratie van 3,13 mmol/L werd een toename van 0,22 mmol/L gevonden.

Totaal eiwit



Figuur 7. Verschilplot van totaal eiwit.

In figuur 7 is de verschilplot van totaal eiwit weergegeven. Opvallend waren de drie punten van de urineporties, bij concentraties van 0,59 g/L, 0,17 g/L en 0,039 g/L. Deze punten vielen buiten de 2x standaarddeviatie van 10%. De andere meetpunten weken niet af.

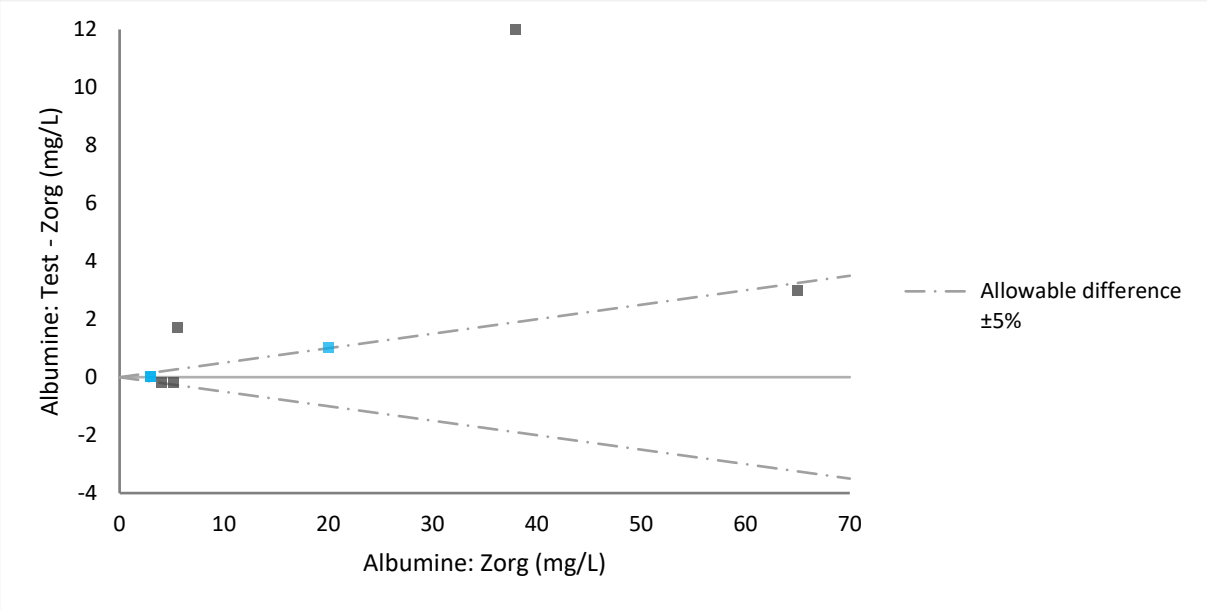
Na_2EDTA/vitamine C

Tabel 5. Tabel met helling en snijpunt (+95 CI) van elke parameter.

Parameter	Helling	Helling 95% CI	Snijpunt	Snijpunt 95% CI
Albumine	1,059	0,9514 tot 1,372	-0,1758	-1,911 tot 1,059
Calcium	1,131	0 tot 5,156	-0,2907	-6,929 tot 1,345
Chloride	1.0340	0.9000 tot 1.2860	-2,109	-17,71 tot 6,200
Fosfaat	1,018	0,9082 tot 1,101	0,05847	-1,120 tot 1,112
Glucose	1,050	1,0000 tot 1,090	-0,01489	-0,09776 tot 0
Kalium	1,004	0,9290 tot 1,067	0,1181	-1,593 tot 3,785
Kreatinine	1.0000	0.9000 tot 1.0640	0	-0,3628 tot 0,5050
Magnesium	1,135	0,8919 tot -	-0,4982	- tot 0,04919
Natrium	0.9963	0.9600 tot 1.1030	0,8944	-7,310 tot 3,520
Totaal eiwit	1,000	0,8571 tot 1,286	0	-0,01571 tot 0,007857
Ureum	1.0040	0.9691 tot 1.054	2,727	-6,017 tot 8,843
Urinezuur	1.0000	0.7143 tot 1.682	-0,02000	-0,9200 tot 0,3571

Tabel 5 toont de hellingen van de passing-bablok grafieken van elke parameter en ook de helling met het 95% betrouwbaarheidsinterval. Opvallende betrouwbaarheidsintervallen met relevante spreiding van de hellingen waren bij de parameters calcium en magnesium. De opvallende snijpunten en betrouwbaarheidsintervallen waren bij de parameters calcium en natrium. Dit is bepaald aan de hand van de hoge of lage concentraties die gemeten zijn bij de biomerkers.

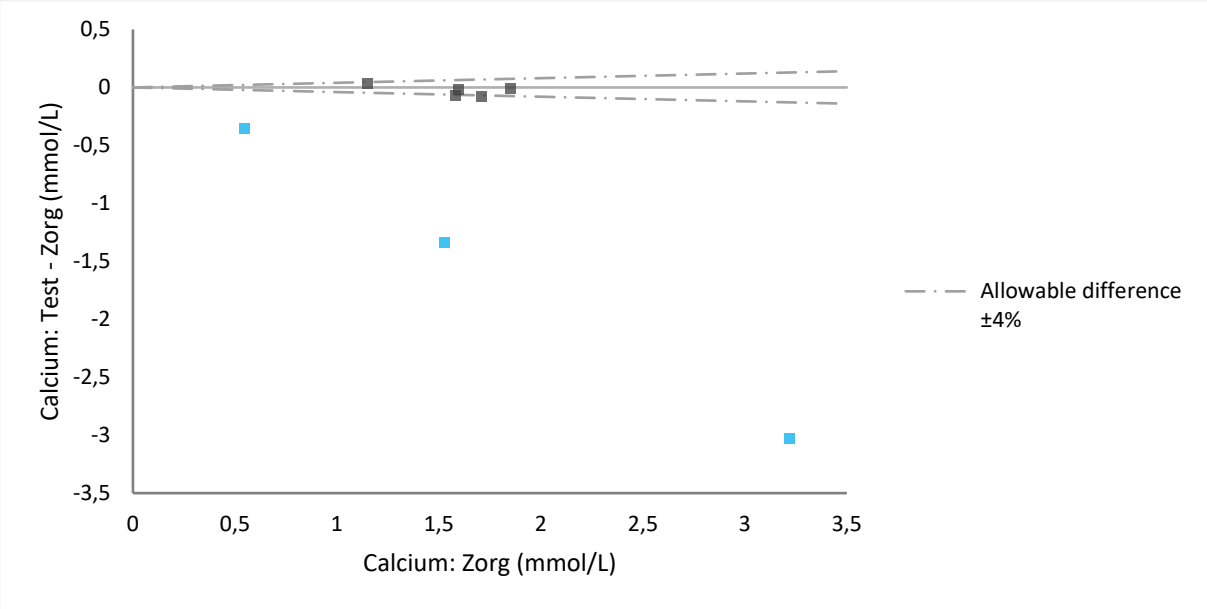
Albumine



Figuur 8. Verschilplot van albumine.

In figuur 8 is de verschilplot van albumine weergegeven. Opvallend was dat twee meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie van 5% vielen. Er werd bij een concentratie 38 mg/L een toename van 12 mg/L gevonden.

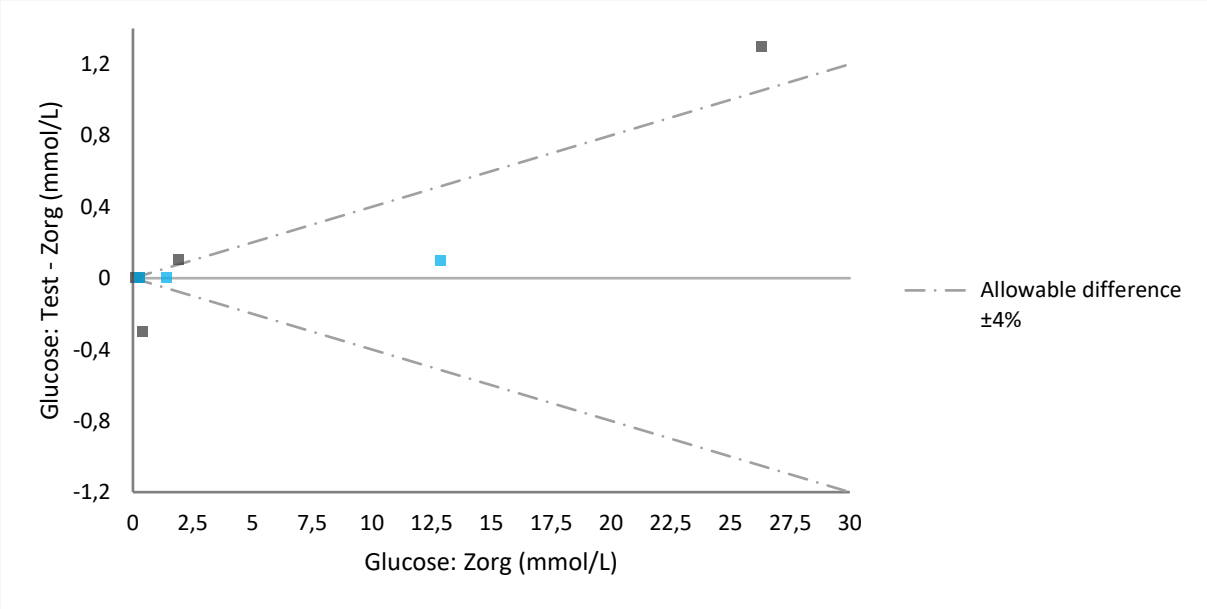
Calcium



Figuur 9. Verschilplot van calcium.

De verschilplot van calcium is weergegeven in figuur 9. De concentraties gemeten in de urineverzamelingen vallen binnen de 2x standaarddeviatie van 4%. De concentraties van de urineporties vielen buiten de 2x standaarddeviatie. De achteraf gemeten concentraties van de urineporties waren alle drie 0,19 mmol/L. Hierdoor werden afnames gevonden van 0,5 mmol/L, 1,5 mmol/L en 3,25 mmol/L. Gezien de 3 exact dezelfde uitslagen is er twijfel over de betrouwbaarheid.

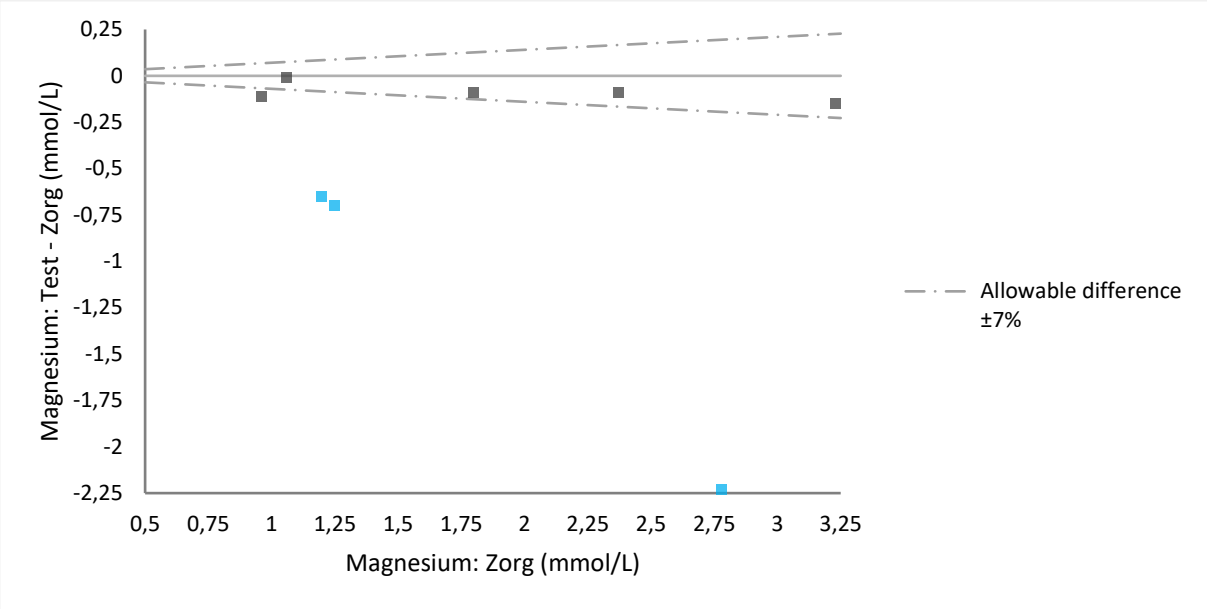
Glucose



Figuur 10. Verschilplot van glucose.

In figuur 10 is de verschilplot van glucose weergegeven. Twee meetpunten vielen buiten de 2x standaarddeviatie van 4%. Bij een concentratie van 26,3 mmol/L werd een toename van 1,3 mmol/L gevonden en bij een concentratie van 0,4 mmol/L werd een afname van 0,3 mmol/L gevonden.

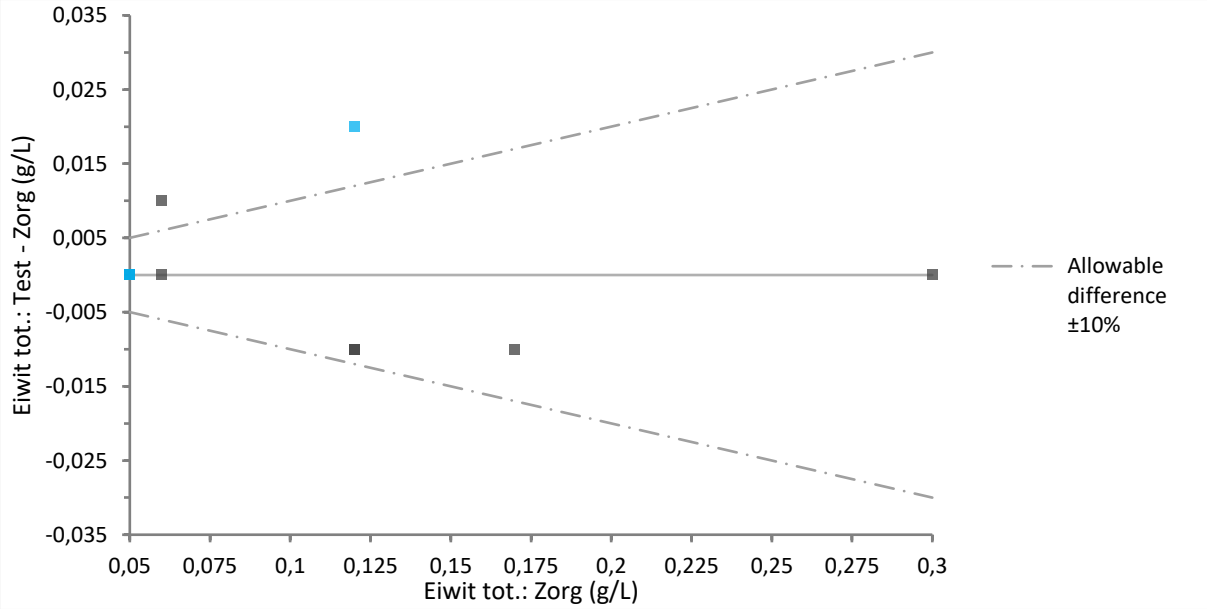
Magnesium



Figuur 11. Verschilplot van magnesium.

In figuur 11 is de verschilplot van magnesium weergegeven. De meetpunten met urineporties van de diabeteskliniek vielen alle drie buiten de 2x standaarddeviatie van 7%. De concentraties van de bokalen vielen wel binnen de 2x standaarddeviatie. Bij een concentratie van 1,25 mmol/L werd een afname van 0,7 mmol/L, bij 1,2 mmol/L werd een afname van 0,65 mmol/L en bij 2,78 mmol/L werd een afname van 2,23 mmol/L gevonden. Gezien deze resultaten alle drie van de urineporties zijn is er twijfel over de betrouwbaarheid.

Totaal eiwit



Figuur 12. Verschilplot van totaal eiwit.

In figuur 12 is de verschilplot van totaal eiwit te zien. Twee meetpunten vielen buiten de 2x standaarddeviatie van 10%. Het ging over toename van 0,010 g/L en 0,020 g/L.

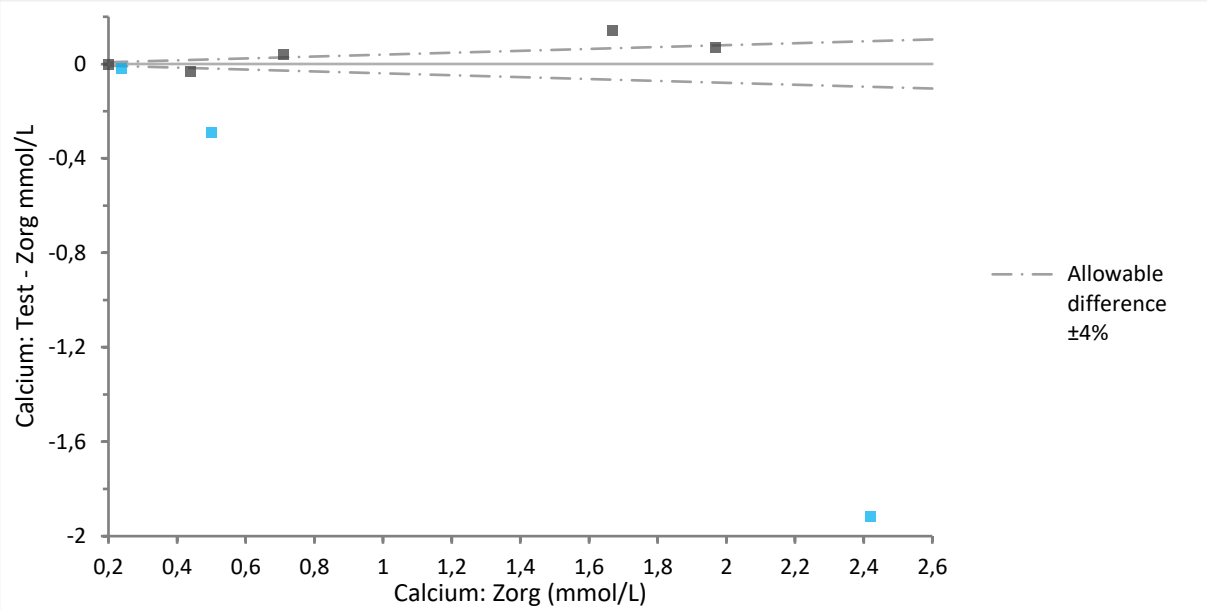
Natriumcarbonaat

Tabel 6. Tabel met helling en snijpunt (+95 CI) van elke parameter.

Parameter	Helling	Helling 95% CI	Snijpunt	Snijpunt 95% CI
Albumine	1,0000	0,9697 tot 1,023	0	-01163 tot 0,2273
Calcium	1,059	0,1351 tot 1,259	-0,03985	-0,2185 tot 0,2691
Chloride	1.050	0.9348 tot 1.600	-2,146	-26,20 tot 5,065
Fosfaat	1.049	0.9262 tot 1.093	-0,4302	-1,160 tot 0,4526
Glucose	1,000	0 tot -	-2,649 E-04	- tot 0,10000
Kalium	1,030	0,9530 tot 1,113	-0,7386	-2,840 tot 0,9295
Kreatinine	0.9617	0.9394 tot 1.0000	0,1282	-0,10000 tot 0,2303
Magnesium	1.035	0.9247 tot -	-0,03115	- tot 0,1314
Natrium	1.059	0.9412 tot 1.333	0,07336	-14,67 tot 6,735
Totaal eiwit	0,7561	0 tot 1,000	0,01463	0 tot 0,06000
Ureum	1.017	0.9931 tot 1.035	-0,03388	-0,09412 tot -3,163 E-4
Urinezuur	0,9871	0,8837 tot 1,071	0,02045	-0,07964 tot 0,09558

In tabel 6 staan de hellingen van de grafieken van passing-bablok van elke parameter en ook de helling met betrouwbaarheidsinterval van 95%. Opvallende betrouwbaarheidsintervallen met relevante spreiding van de hellingen waren bij de parameters calcium, chloride en totaal eiwit. Bij natrium is een opvallende spreiding van natrium gevonden. Dit is bepaald aan de hand van de hoge of lage concentraties die gemeten zijn bij de biomerkers.

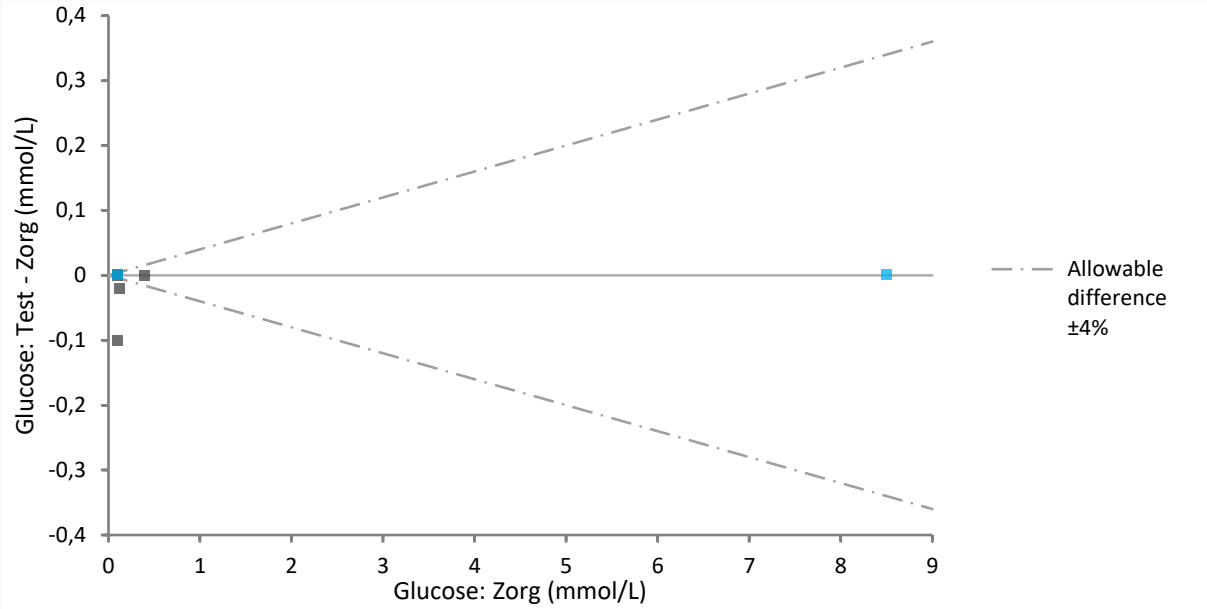
Calcium



Figuur 13. Verschilplot van calcium.

De verschilplot van calcium is weergegeven in figuur 13. Opvallend was dat zeven van de acht meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie vielen. Het ging om toename en afnames tussen 0 en 0,4 mmol/L. Bij het meetpunt met de concentratie 2,42 mmol/L was een afname gemeten van 1,92 mmol/L.

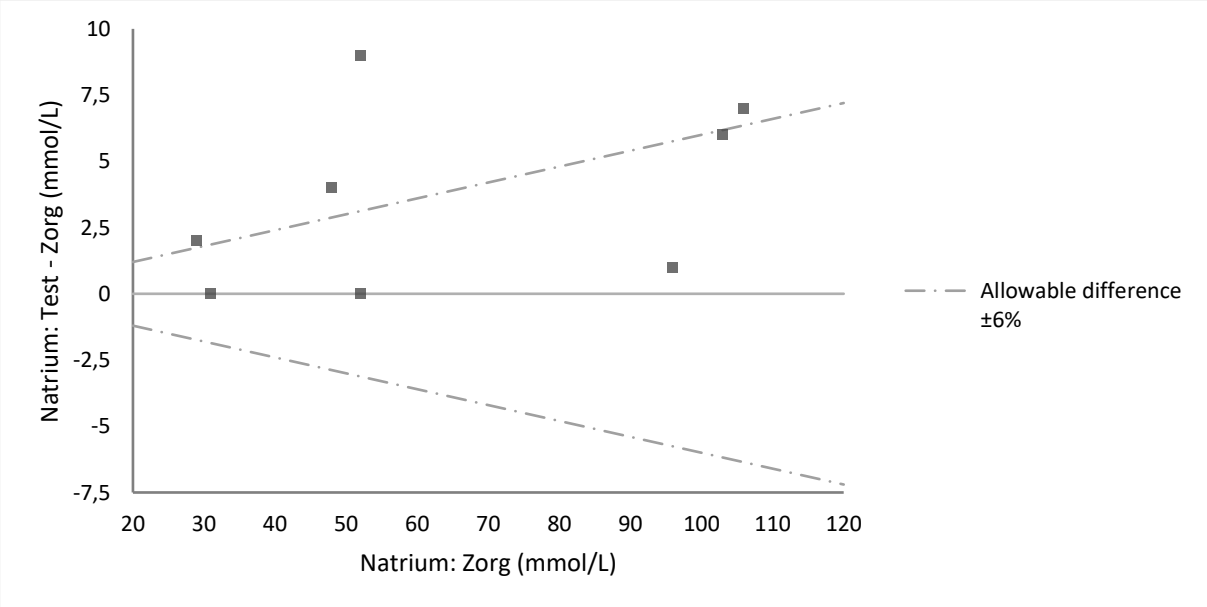
Glucose



Figuur 14. Verschilplot van glucose.

In figuur 14 is de verschilplot van glucose weergeven. Er werd één meetpunt bij een hoge concentratie (8,5 mmol/L) gemeten. De rest van de meetpunten was bij een lage concentratie gemeten. Twee punten vielen buiten de 2x standaarddeviatie van 4% bij een concentratie van 0,1 mmol/L met een afname van 0,02 mmol/L en 0,1 mmol/L.

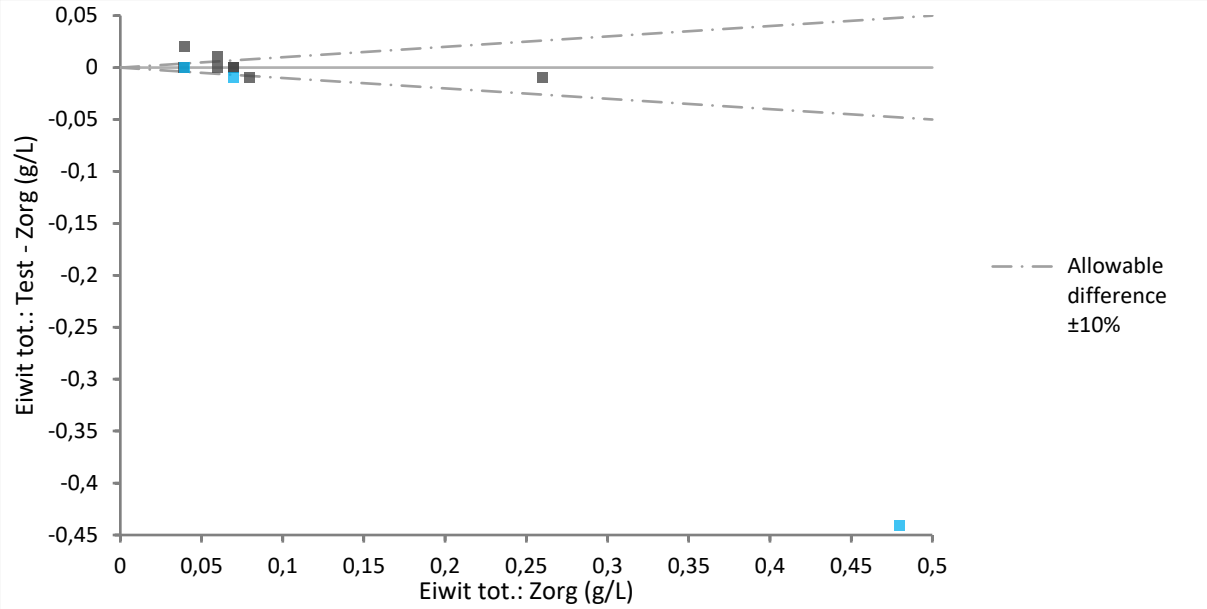
Natrium



Figuur 15. Verschilplot van natrium.

Figuur 15 toont de verschilplot voor natrium. Opvallend was dat er of geen verschil was of een toename na het toevoegen van natriumcarbonaat. Dit heet ook wel een positieve bias. Er vielen vier punten boven de 2x standaarddeviatie van 6%, allemaal bij een andere concentratie. De grootste toename van 9 mmol/L werd gevonden bij een concentratie van 52 mmol/L.

Totaal eiwit



Figuur 16. Verschilplot van totaal eiwit.

In figuur 16 is de verschilplot van totaal eiwit weergegeven. Bij een concentratie van 0,48 g/L was een verschil van 0,44 g/L gemeten. Bij de lage concentraties tussen 0,01 g/L en 0,1 g/L vielen vier meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie. Het ging om toenames en afnames tussen 0,01 g/L en 0,09 g/L.

Discussie

Chloorhexidinedigluconaat

Chloorhexidinedigluconaat wordt normaal gesproken alleen toegevoegd bij analyses van histaminemetabolieten. Het werkt als conserveermiddel. Uit de resultaten blijkt dat het toevoegen van chloorhexidinedigluconaat geen relevante verschillen veroorzaakt bij analyse van chloride, fosfaat, glucose, kreatinine, magnesium, kalium, natrium, ureum en urinezuur. Wel is de spreiding van de helling (0,9286 tot 2,0000) en snijpunt (-1,370 mg/L tot 0,1086 mg/L) van urinezuur groot in vergelijking tot de albumineconcentraties die gemeten zijn. De laagst gemeten concentratie albumine is 2,99 mg/L en als het snijpunt dan een afwijking van meer dan 1 mg/L kan hebben is dat een relevant verschil. Dit betekent dat het resultaat niet betrouwbaar is. Er moet vervolgonderzoek plaatsvinden waarbij een toets uitgevoerd moet worden die mogelijke significantie aantoont. Ook moeten er meerdere analyses gedaan worden voor een betrouwbaarder resultaat. Hetzelfde geldt voor magnesium. De spreiding van de helling van magnesium is 0,7308 tot 1,500.

Bij calcium vallen drie meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie van 4%. Er is een toename van concentratie gevonden na toevoegen van chloorhexidinedigluconaat. De maximale toename is 0,25 mmol/L. De referentiewaardes van calcium in 24uurs urine verzameling is 0,5 - 6,65 mmol/L (28). Een toename van 0,25 mmol/L bij een concentratie van 6,65 mmol/L is 3,8% en zal dus binnen de 2x standaarddeviatie vallen. Niet alle concentraties vallen binnen de reeks 0,5 – 6,65 mmol/L bij dit onderzoek, waardoor de verschilplot een vertekend beeld kan geven.

Er werd verwacht dat de concentratie chloride toe zou nemen na het toevoegen van chloorhexidinedigluconaat, omdat chloorhexidinedigluconaat twee chloride-atomen bevat in de structuur. Uit de resultaten blijkt dat er geen relevante verhoogde of verlaagde concentraties gemeten zijn na het toevoegen van chloorhexidinedigluconaat. Een verklaring voor het ontbreken van een toename van de concentratie kan zijn dat chloorhexidinedigluconaat in een waterige oplossing de chloorionen aan de structuur blijven en er andere zouten gevormd worden, zoals gluconaat, digluconaat, hydrochloor en di-acetaat (27). Chloride ionen komen niet vrij en beïnvloeden de concentratie chloride in de urine niet.

Bij totaal eiwit liggen alle meetpunten binnen de 2x standaarddeviatie, behalve de gemeten urineporties. Opvallend is dat de concentratie totaal eiwit na toevoegen van chloorhexidinedigluconaat bij de urineporties 0 g/L is gemeten. Het is hierdoor niet te bepalen of de resultaten onbetrouwbaar zijn of de concentratie totaal eiwit is afgenomen. Stel de concentratie totaal eiwit is afgenomen, dan kan dit veroorzaakt zijn door het verschil in urinevolume. Bij de porties (max. 100 mL) urine is 0,5 mL chloorhexidinedigluconaat toegevoegd en bij de bokalen (1-3 L) 2 mL. Er zit een relevant verschil tussen de twee volumes, waardoor de concentratie chloorhexidinedigluconaat hoger is geweest in de urineporties. Hierdoor kan het een groter effect hebben gehad op de concentratie totaal eiwit, waardoor deze meetpunten een grotere afname laten zien. Chloorhexidine kan disulfide-bruggen verbreken in eiwitten, waardoor deze denatureren. Ze zullen daardoor niet meer gemeten kunnen worden tijdens de analyse (27). Doordat de punten van de urineporties afwijken, is de helling ook vrij laag. Voor betrouwbaardere resultaten moeten urines met hogere concentraties eiwitten getest worden, omdat tijdens dit onderzoek maar hele lage concentraties eiwitten gemeten zijn. Ook moet bij vervolgonderzoek gekozen worden om het effect van chloorhexidinedigluconaat te meten op gelijke volumes urine, waardoor gelijke concentratie chloorhexidinedigluconaat aan de urine toegevoegd wordt.

Albumine is een eiwit, waardoor verwacht werd dat hetzelfde effect optreedt als de analyses van totaal eiwit. Uit de resultaten van de bokalen komt dat er geen afname van albumine is na het toevoegen

van chloorhexidinedigluconaat. Er is zelfs een kleine toename van 7 mg/L. Er is wel een afname van de concentratie albumine van 9 mg/L na toevoeging van chloorhexidinedigluconaat aan een urineporties. In de urineporties zit een kleiner volume, waardoor de concentratie chloorhexidinedigluconaat groter is. Het punt gemeten bij een concentratie van 350 mg/L met een verschil van 50 mg/L wijkt erg af van de andere punten en is daarom erg onbetrouwbaar. Door deze afwijking wijkt het snijpunt (-1,330 mg/L) af van de passing-bablok grafiek en is het resultaat minder betrouwbaar. Hiervoor moeten meer analyses uitgevoerd worden en ook urines die hogere concentraties albumine bevatten.

Na_2EDTA/ascorbinezuur

Na_2EDTA/ascorbinezuur zorgt voor verzuring van de urine, waarbij ascorbinezuur als antioxidant werkt en EDTA de werking van calcium en magnesium blokkeert. Het wordt toegevoegd bij analyses van 5-HIAA. Uit de resultaten is gekomen dat het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur geen effect heeft op de concentraties van chloride, kreatinine, natrium, fosfaat, kalium, ureum en urinezuur. Wel beginnen de grafieken van chloride (-2,109) en ureum (2,727) niet helemaal in de oorsprong. Dit kan komen door de spreiding van de punten binnen de 2x standaarddeviatie. Door meer urines te meten en meetpunten te verkrijgen, wordt het resultaat betrouwbaarder en preciezer. Hierdoor kan beter bepaald worden of Na_2EDTA/ascorbinezuur effect heeft op de concentraties van chloride en ureum.

Het resultaat van fosfaat komt overeen met het onderzoek van Yilmaz (11). Tijdens onderzoek had boorzuur ook geen effect op de concentratie fosfaat.

Verwacht werd dat de gemeten concentraties natrium toe zouden nemen na het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur. Na_2EDTA/ascorbinezuur lost goed op in water, waardoor Na_2EDTA uiteenvalt in natriumionen en EDTA. De concentratie natrium in de urine zou dan toenemen. Uit de resultaten is gekomen dat alle meetpunten binnen de 2x standaarddeviatie van 6% vallen, behalve één meetpunt. Bij dit punt een afname van 12 mmol/L gemeten, terwijl alle andere meetpunten wel binnen de 2x standaarddeviatie vallen. Het punt wijkt erg af van de andere punten en wordt daarom als onbetrouwbaar beschouwd. Door dit punt is het snijpunt met de y-as 0,8944 mmol/L en het heeft het snijpunt een grote spreiding van -7,310 mmol/L tot 3,520 mmol/L. Het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur heeft dus geen effect op de concentratie natrium in de urine. Er is geen verklaring gevonden voor geen toename van de natriumconcentratie na het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur, dus er moet vervolgonderzoek naar gedaan worden om het verschil te kunnen verklaren.

In de inleiding zijn twee onderzoeken genoemd, Feres, et al. (10) en Yilmaz (11), waarbij Na_2EDTA/ascorbinezuur vergeleken werd met boorzuur en zoutzuur. Uit deze onderzoeken bleek dat het toevoegen van zoutzuur effect had op de analyses van chloride (toegenomen), urinezuur (afgenomen) en totaal eiwit (afgenomen) en boorzuur op de analyse van urinezuur (afgenomen).

Het is te verklaren dat de concentratie chloride toegenomen was bij het onderzoek Feres, et al. (10), omdat zoutzuur oplost in water. Hierbij worden waterstofionen en chloride-ionen gevormd. Hierdoor was de concentratie chloride verhoogd. Na_2EDTA/ascorbinezuur bevat geen chloride ionen en heeft daardoor geen invloed op de concentratie chloride in de urine.

Uit de resultaten kwam dat Na_2EDTA/ascorbinezuur geen invloed had op de analyse van urinezuur. Uit de eerdere onderzoeken met zoutzuur en boorzuur is gebleken dat de gemeten concentratie urinezuur lager was na het toevoegen van het additief. Zoutzuur en boorzuur zijn andere stoffen dan Na_2EDTA/ascorbinezuur, waardoor dit toch geen effect heeft op de analyse van urinezuur. Ook zijn de concentraties die toegevoegd zijn aan de urine verschillend. Bij dit onderzoek is de pH gemeten voor en na het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur. Hieruit blijkt dat er geen toename of afname is

gevonden na het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur. Bij beide metingen was de pH 6. De pH van de urine na het toevoegen van boorzuur en zoutzuur waren bij die onderzoeken wel degelijk gedaald naar een pH van 4 en 5. Dit kan in dat geval de concentratie van urinezuur hebben beïnvloed, terwijl Na_2EDTA/ascorbinezuur dit effect niet had op de concentratie urinezuur.

Verwacht werd bij de analyses van calcium en magnesium, dat de concentraties van deze biomerkers na het toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur zou afnemen. EDTA bindt aan metaalionen, zoals genoemd in de inleiding. Hiertoe behoren calcium en magnesium. Doordat calcium en magnesium binden aan EDTA kan de concentratie van deze ionen niet gemeten worden. Het is dus volgens verwachting dat de concentraties van calcium en magnesium lager zijn na toevoeging van EDTA. Bij de metingen die gedaan zijn, zijn kleine afnames gevonden. Of dit om een significant verschil gaat moet in vervolgonderzoek aangetoond worden met een juiste statistische toets. De meeste concentraties vallen ook nog binnen de 2x standaarddeviatie, maar bij hogere concentratie EDTA zullen er grotere verschillen gevonden worden (21). Ook is van de helling af te leiden dat Na_2EDTA/ascorbinezuur effect heeft op de concentratie calcium, omdat de helling afwijkt van 1. De helling was bij calcium namelijk 1,131 met een spreiding van 0 tot 5,156 mmol/L.

In het onderzoek van Yilmaz (11) werd gevonden dat boorzuur geen invloed had op de analyses van calcium en magnesium. Dit verschil is te verklaren doordat boorzuur een andere stof is dan Na_2EDTA/ascorbinezuur, waar EDTA specifiek de werking van magnesium en calcium blokkeert.

Uit de resultaten blijkt dat twee meetpunten van albumine buiten de 2x standaarddeviatie van 5% vallen. Het punt bij een albumineconcentratie van 38 mg/L heeft een toename van 12 mg/L. Dit punt wijkt er af van de andere meetpunten en wordt daarom als niet betrouwbaar beschouwd. Het andere punt is gemeten bij een concentratie van 5,6 mg/L met een toename van 1,7 mg/L. Dit is een relevante toename, omdat een afwijking van 1,7 mg/L bij zo'n lage concentratie een groot effect heeft. Daarom moet bij een vervolgonderzoek meer urines geanalyseerd worden en ook met hogere concentraties albumine om een goed beeld te krijgen wat het effect van Na_2EDTA/ascorbinezuur op de concentratie albumine is.

De verwachting was dat de concentratie totaal eiwit na toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur zou afnemen, omdat bij het onderzoek van Feres (10) significante afnames gevonden waren. Uit de resultaten blijkt dat er kleine afnames en toenames na toevoegen van Na_2EDTA/ascorbinezuur gemeten zijn. De grootste toename die gemeten is, is 0,023 g/L. Het gaat om zulke kleine concentraties dat er voor betrouwbaarder resultaten meerdere urines getest moeten worden. Ook urines met hogere concentratie totaal eiwit, zodat het effect over de heel reeks bepaald kan worden.

Ook bij glucose zijn hele lage concentraties gemeten in de urine. Hetzelfde effect als op de concentratie totaal eiwit, vallen er een aantal meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie bij de lage concentraties. Er zijn twee punten gemeten bij hogere concentratie glucose. Eén punt hiervan valt buiten de 2x standaarddeviatie. Dit is bij een concentratie van 26,3 mmol/L en laat een toename zien van 1,3 mmol/L. Voor een betrouwbaar resultaat moeten tijdens een vervolgonderzoek meer urine geanalyseerd worden die ook hogere concentraties glucose bevatten.

Natriumcarbonaat

Natriumcarbonaat wordt gebruikt als additief voor bepalingen van porfyrines. Het is een zuurbuffer en zorgt ervoor dat de pH gelijk blijft voor de analyse. Uit de resultaten kwam dat natriumcarbonaat geen effect heeft op de analyses van albumine, chloride, fosfaat, kreatinine, magnesium, kalium, ureum en urinezuur.

Uit de resultaten blijkt dat natriumcarbonaat geen effect heeft op de analyse van kalium, omdat geen van de meetpunten buiten de 2x standaarddeviatie valt. Het resultaat is niet heel betrouwbaar, omdat de spreiding van het snijpunt groot is (-5,421 mg/L tot 0,500 mg/L). Door urines te analyseren wordt het resultaat betrouwbaarder.

Bij chloride is een grote spreiding van de helling waar te nemen. Dit kan verklaard worden doordat er maar vijf urines gemeten zijn. Hierdoor wordt de helling beïnvloed door elk meetpunt en is het resultaat minder betrouwbaar. Voor een betrouwbaarder resultaat moeten bij een vervolgonderzoek meer urines geanalyseerd worden om het effect van natriumcarbonaat op de concentratie chloride te bepalen.

Bij het onderzoek van Yilmaz (11) was het resultaat dat natriumbicarbonaat geen invloed heeft op de analyses van calcium, urinezuur, fosfaat en magnesium. Het resultaat van magnesium, urinezuur en fosfaat komen overeen met het onderzoek van Yilmaz (11). Bij deze biomerkers zijn geen relevante verschillen gevonden na het toevoegen van het additief.

Natriumcarbonaat heeft wel een effect op de concentratie calcium in tegenstelling tot het onderzoek van Yilmaz (11). Drie meetpunten vallen buiten de 2x standaarddeviatie van 4%. Bij één punt is een afname van 1,92 mmol/L gevonden. Dit punt is gemeten bij een concentratie van 2,42 mmol/L. Dit is een meetfout, aangezien de andere afnames en toenames binnen 0,4 mmol/L vallen. Doordat dit punt afwijkt, is de spreiding van helling groot. Dit betekent dat het geen betrouwbare meting is en hiervoor meer vervolgonderzoek gedaan moet worden.

Natriumcarbonaat lost goed op in water, waardoor het splitst in natrium- en carbonaationen. Bij de meting van natrium zullen volgens verwachting ook de ionen van natriumcarbonaat gemeten worden naast de oorspronkelijke concentratie natrium dat al in de urine aanwezig is. Hierdoor is de verwachting dat de gemeten concentraties natrium hoger zijn na het toevoegen van natriumcarbonaat. Uit de resultaten is gekomen dat de concentraties van natrium toegenomen zijn na het toevoegen van natriumcarbonaat, overeenkomstig de verwachting. Dit is ook terug te zien bij de spreiding van het snijpunt van natrium. Het snijpunt ligt tussen -14,67 mmol/L en 6,735 mmol/L. De maximale toename is 9 mmol/L gemeten bij een concentratie van 52 mmol/L.

Met Na_2EDTA/ascorbinezuur en natriumcarbonaat worden natriumionen toegevoegd aan urine. Opvallend is dat er hogere concentraties natriumionen gemeten worden na het toevoegen van natriumcarbonaat dan wanneer Na_2EDTA/ascorbinezuur toegevoegd wordt. Aan de bokalen is 1 gram soda ($NaCO_3$) toegevoegd. Dit is $9{,}435 \cdot 10^{-3}\text{mol}$ $\left(\frac{1\,g}{105{,}9888\,g/mol}\right)$. Van Na_2EDTA/ascorbinezuur is 250 mg toegevoegd. Dit is 0,4559 mol ($\frac{250\,mg}{548{,}36\,mg/mol}$). De verhouding natriumionen die vrijkomen van soda en Na_2EDTA/ascorbinezuur is 1:2. Dus in bokalen waar soda aan toegevoegd wordt, wordt 1 x $9{,}435 \cdot 10^{-3}\text{mol}$ toegevoegd en bij Na_2EDTA/ascorbinezuur is dit 2 x 0,4559 mol = 0,9118 mol. Er zou aan de hand hiervan verwacht worden dat bij Na_2EDTA/ascorbinezuur hogere natriumconcentraties gemeten worden dan bij natriumcarbonaat. Er is geen verklaring voor gevonden, dus er moet vervolgonderzoek naar gedaan worden om het verschil te kunnen verklaren. Hierbij moet er met een reeks concentraties en vooral hoge concentraties van natriumcarbonaat en Na_2EDTA/ascorbinezuur getest worden. Er kan dan gekeken worden per concentratie of het additief effect op de concentratie van natrium.

Glucose komt in lage concentraties voor in de urine, tenzij een patiënt diabetes heeft of een nierinsufficiëntie. Bij dit onderzoek waren er eerst vijf 24uurs urine bokalen verzameld bij de prikpoli. Bij de eerste vijf metingen zijn lage concentraties glucose aanwezig. Er is veel variatie tussen de meetpunten te zien, waardoor er gekozen is om nog drie porties urine te verzamelen van diabetespatiënten waarin een hogere concentratie glucose te vinden is. Uit de resultaten blijkt dat bij

één urineportie een hogere concentratie glucose aanwezig is van 8,5 mmol/L. Bij deze concentratie is geen afname of toename gevonden. De maximale afname die gemeten is, is 0,1 mmol/L bij een concentratie van 0,1 mmol/L. Het resultaat kan een vertekend beeld zijn, omdat er maar één punt gemeten is bij een hoge concentratie glucose. Vervolgonderzoek moet uitwijzen of natriumcarbonaat een effect heeft op de glucoseconcentratie.

Ook bij totaal eiwit zijn hele lage concentraties gemeten, waardoor de afwijkingen bij deze meetpunten een vertekend beeld kunnen geven. De hoogste concentratie die gemeten is 0,48 g/L. Terwijl na het toevoegen van natriumcarbonaat een concentratie van 0,039 g/L is gemeten. Bij de lagere concentraties zijn ook toenames en afnames gemeten na het toevoegen van natriumcarbonaat. Deze afname en toenames zijn kleiner dan 0,5 mg/L. Doordat de gemeten concentraties heel laag zijn, zit het snijpunt van de passing-bablok grafiek wel dichtbij de oorsprong. De helling van de grafiek is wel relevant lager dan 1. Hieruit is te halen dat natriumcarbonaat effect heeft op de concentratie totaal eiwit, maar om een beter beeld hiervan te krijgen zullen er meerdere analyses van urine met hogere concentraties eiwit uitgevoerd moeten worden. Ook moet bij het vervolgonderzoek een statistische toets gedaan worden om te bepalen of er sprake is van significantie.

Achteraf controleren of additief is toegevoegd

De tweede onderzoeksvraag was om te kijken of achteraf gecontroleerd kan worden of het additief daadwerkelijk toegevoegd is. Hiervoor is bij de eerste drie bokalen per additief de pH voor het toevoegen van het additief en na het toevoegen van het additief gemeten. Hieruit kwam dat de pH's bij alle drie de additieven gelijk bleven. Hiermee kan dus niet achteraf gecontroleerd worden of het additief daadwerkelijk toegevoegd is.

Ook uit de grafieken is niet op te maken of het additief toegevoegd is of niet. Bij alle parameters zijn er meetpunten die binnen en buiten de 2x standaarddeviatie vallen, waardoor niet bepaald kan worden bij een parameter of het additief toegevoegd is.

Om achteraf te kunnen controleren of een additief toegevoegd is, moet vervolg onderzoek plaatsvinden. Er kan onderzocht worden of bij andere analysemethode wel verschil gevonden worden tussen het wel of niet toevoegen van een additief. Hierbij kan gedacht worden aan analyse met HPLC, gaschromatografie of vloeistofchromatografie in combinatie met massaspectrometrie.

Conclusie

Geconcludeerd kan worden dat chloorhexidinedigluconaat geen effect heeft op de concentratie van de parameters chloride, fosfaat, glucose, kreatinine, magnesium, kalium, natrium, ureum en urinezuur. Wel heeft het additief effect op de concentratie calcium, totaal eiwit en albumine. Bij calcium gaat het om kleine verschillen in concentratie en zijn er alleen lage concentraties gemeten. Bij totaal eiwit en albumine zijn relevante afnames zichtbaar bij de urineporties, omdat er een hogere concentratie chloorhexidinedigluconaat toegevoegd is aan de urine. Ook bij totaal eiwit zijn alleen lage concentraties gemeten. Daarom moeten er extra meetpunten verzameld worden voor deze parameters voor een betrouwbaarder resultaat.

Aan de hand van de behaalde resultaten kan geconcludeerd worden dat Na_2EDTA/ascorbinezuur geen effect heeft op de concentratie chloride, kreatinine, natrium, fosfaat, kalium, ureum en urinezuur. Het heeft wel effect op de concentratie van calcium, magnesium, glucose, totaal eiwit en albumine. EDTA bindt aan calcium en magnesium, waardoor er een lagere concentratie van deze parameters gemeten wordt. Bij albumine, glucose en totaal eiwit zijn voornamelijk lage concentraties gemeten, waardoor afwijkingen een vertekend beeld geven. Voor een betrouwbaar resultaat voor deze biomerkers moet tijdens vervolgonderzoek meer urines geanalyseerd worden en ook met hogere concentratie van de biomerkers.

Natriumcarbonaat heeft geen effect gehad op de concentratie van albumine, chloride, fosfaat, kreatinine, magnesium, kalium, ureum en urinezuur. Het heeft wel effect gehad op de concentraties calcium, totaal eiwit, glucose en natrium. Wel zijn de resultaten van calcium, totaal eiwit en glucose niet betrouwbaar en daarvoor moet vervolgonderzoek gedaan worden om te achterhalen wat het effect precies is. Bij natrium werden wel relevante verschillen (toename) gemeten. Natriumcarbonaat lost op in water, waardoor natriumionen vrijkomen en deze meegenomen worden tijdens de analyse.

Als laatste kan geconcludeerd worden dat uit de resultaten niet gehaald kan worden hoe achteraf gecontroleerd kan worden of een additief toegevoegd is. Uit de grafieken zijn geen duidelijke verschillen gemeten, waardoor bij het resultaat van één patiënt niet met zekerheid gezegd kan worden dat het additief toegevoegd is. Ook met de pH was dit niet te bepalen, omdat deze voor en na het toevoegen van het additief gelijk was.

Literatuurlijst

1. Boekel EtBBAd. Klinische chemie en hematologie voor analisten deel 1. 1st ed. Arnhem: Syntax Media; 2010.

2. UMCG. UMCG laboratoriumgeneeskunde. [Online].; - [cited 2019 April 23. Available from: file:///C:/Users/Laura/AppData/Local/Packages/microsoft.windowscommunicationsapps_8wekyb3d8bbwe/LocalState/Files/S0/38/Attachments/02%20Cobas%208000%20Principes[2603].pdf .

3. Roche. Diagnostics Roche. [Online].; 2019 [cited 2019 April 24. Available from: https://diagnostics.roche.com/global/en/products/systems/cobas_-8000-modular-analyzer-series.html.

4. UMCG. UMCG laboratoriumgeneeskunde. [Online].; - [cited 2019 April 23. Available from: file:///C:/Users/Laura/AppData/Local/Packages/microsoft.windowscommunicationsapps_8wekyb3d8bbwe/LocalState/Files/S0/2634/Attachments/Additieven%20urinewerkplek%20prikpoli's[2639].pdf.

5. UMCG. UMCG laboratoriumgeneeskunde. [Online].; - [cited 2019 April 23. Available from: file:///C:/Users/Laura/AppData/Local/Packages/microsoft.windowscommunicationsapps_8wekyb3d8bbwe/LocalState/Files/S0/2634/Attachments/02%20Algemeen%20Achtergrondinformatie%20bepalingen%20chemie[2637].pdf.

6. Geerts I. UZ Leuven. [Online].; 2010 [cited 2019 April 25. Available from: https://w1.uzleuven.be/labo/Leermodule/EBLM_CAT/doc/CAT_100316_Metanefrines.pdf.

7. Stichting tegen kanker. [Online].; 2019 [cited 2019 mei 6. Available from: https://www.kanker.be/lexicon/h/5-hydroxyindolazijnzuur-5-hiaa.

8. Maag lever darm stichting. [Online].; 2019 [cited 2019 mei 6. Available from: https://www.mlds.nl/chronische-ziekten/porfyrie/.

9. Wikiwand. [Online].; 2018 [cited 2019 mei 6. Available from: http://www.wikiwand.com/en/5-Hydroxyindoleacetic_acid.

10. Feres MC,BR,e. Implications for the use of acid preservatives in 24-hour urine for measurements of high demand biochemical analytes in clinical laboratories. Clinica Chimica Acta. 2011 Februari; 1(412): p. 2322-2325.

11. Yilmaz G,YFM,HA,YD. Are preservatives necessary in 24-hour urine measurements. ScienceDirect. 2008 Februari; 41(1).

12. Lee ZSK,CJAJH. Simultaneous measurement of catecholamines and kallikrein in urein using boric acid preservative. Clinica Chimica Acta. 1998 Juni; 276(1).

13. Douwes E. [Figuur].; 2019 [cited 2019 mei 16. Available from: https://www.simpto.nl/laboratoriumonderzoek/hyperuricemie/.

14. Ranjan K,PM,PG. Researchgate. [Online].; 2016 [cited 2019 mei 17. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Principle-of-Radioimmuno-assay_fig8_291171327.

15. UMC M. UMCutrecht. [Online].; 2012 [cited 2019 mei 17. Available from: https://www.umcutrecht.nl/nl/Ziekenhuis/Professionals/Diagnostiek-aanvragen/Laboratorium-Klinische-Chemie-en-Haematologie/Studies-Trials/Referentiewaarden-01-2012.

16. labuitslag. [Online].; 2019 [cited 2019 mei 17. Available from: https://labuitslag.nl/bloedtest/urinezuur/.

17. Maintz L. ReasearchGate. [Online].; 2007 [cited 2019 mei 17. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Summary-of-the-histamine-metabolism-The-biogenic-amine-histamine-is-synthesized-by_fig1_6340859.

18. Kumari A. ScienceDirect. [Online].; 2018 [cited 2019 mei 17. Available from: https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/porphyrias.

19. Gray JA. Researchgate. [Online].; 2007 [cited 2019 mei 17. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Biosynthesis-and-metabolism-of-5-HT-The-essential-amino-acid-tryptophan-is-converted-in_fig3_230202270.

20. Brande, J. v. (2017). Kindergeneeskunde voor kinderverpleegkundigen. Maarssen: Boh Stafleu van Loghum.

21. Dijk-Looyaard, A.M. van; Janssen, P.J.C.M, et al. EDTA in drink- en oppervlaktewater. [Online].; 1990 [cited 2019 juni 12. Available from: http://edepot.wur.nl/375918

22. Cyberpoli. [Online].; 2019 (cited 2019 juni 12. Available from: https://www.cyberpoli.nl/nieren/medisch/nefrotisch

23. Vogtländer, N.P.J., Rietjesn, S.J.; Vlag, J. van der; Berden, J.H.M. nvtg. [Online].; 2004 [cited 2019 juni 12. Available from: https://www.ntvg.nl/artikelen/podocytdisfunctie-en-prote%C3%AFnurie/volledig

24. Pointe scientific. [Online].; 2019 [cited 2019 juni 12. Available from: https://www.pointescientific.com/system_specific_reagents/product/352

25. Ziekenhuis Oost-Limburg. [Online].; 2019 [cited 2019 juni 12. Available from: https://www.zol.be/klinisch-laboratorium/labogids/analyse/

26. UMCG. [Online].; 2019 [cited 2019 juni 6. Available from Joyce.

27. Dental Info. [Online].; 2019 [cited 2019 juni 13. Available from: https://www.dentalinfo.nl/thema-a-z/mondhygiene/een-update-over-choorhexidine/

28. Bepalingenwijzer UMCG. [Online].; 2017 [2019 juni 20. Available from: https://bepalingen.umcg.nl/bepinfo.asp?bepnr=254&zklttr=c

Bijlagen

Bijlage 1: Chloorhexidinedigluconaat

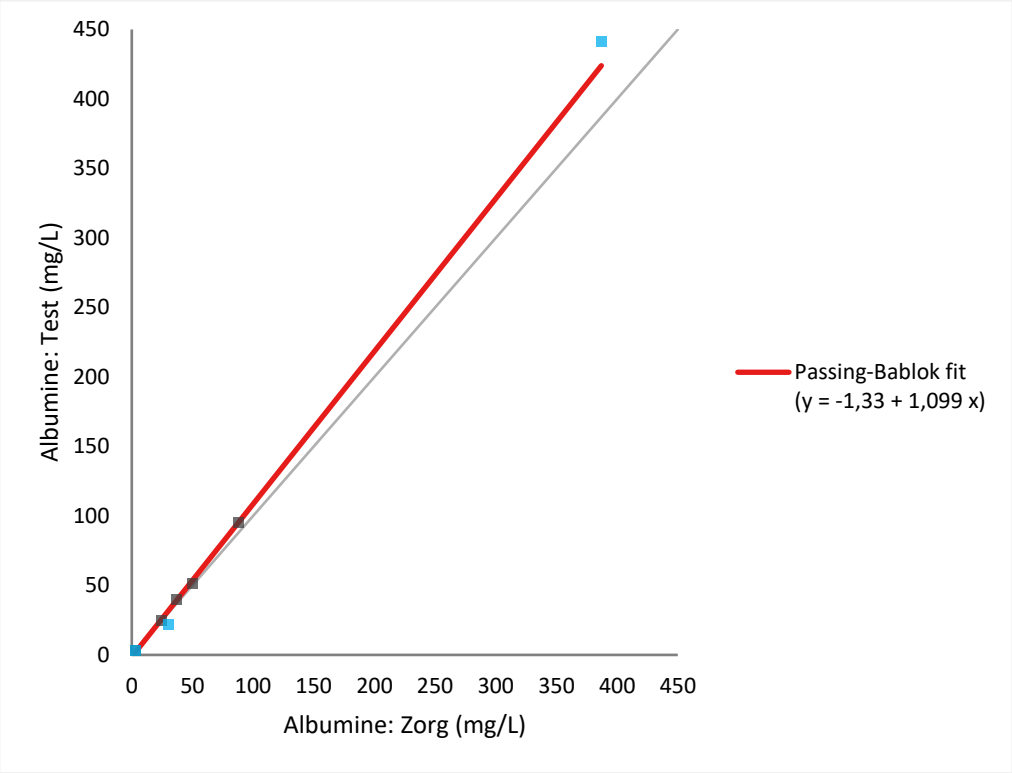
Tabel 7. Alle gemeten concentraties van de parameters albumine, calcium, chloride, fosfaat, glucose en kalium met chloorhexidinedigluconaat.

	Albumine (mg/L)		Calcium (mmol/L)		Chloride (mmol/L)		Fosfaat (mmol/L)		Glucose (mmol/L)		Kalium (mmol/L)	
Deelnemer	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**
1	38		1,41		31		10,62		1,7		23,1	
2	40		0,76		49		12,72		0,4		32,6	
3	25	25	3,35	3,13	36	35	36,05	35,1	0,7	0,8	51,2	51,2
4	40	37	0,71	0,71	36	36	10,18	10,06	0,1	0,1	31,5	30,8
5	3	3,6	3,22	3,17	60	60	14,4	14,43	0,2	0,2	28,7	28,4
6	51	50	0,96	0,94	28	28	11,93	12,21	5,1	5,1	41,3	40,1
7	95	88	0,42	0,38	71	68	22	21,62	0,3	0,3	38,2	38
8	441	387	0,96	0,91	60	61			6,5	6,6	68	70,1
9	22	31	1,07	1,11	160	168			12,8	13,2	74,6	75,5
10	<3	<3	1,27	1,32	68	68			0,1	0,1	24,4	24,1

Tabel 8. Alle gemeten concentraties van de parameters kreatinine, magnesium, natrium, totaal eiwit, ureum en urinezuur met chloorhexidinedigluconaat. Ook is het volume van het bokaal weergegeven.

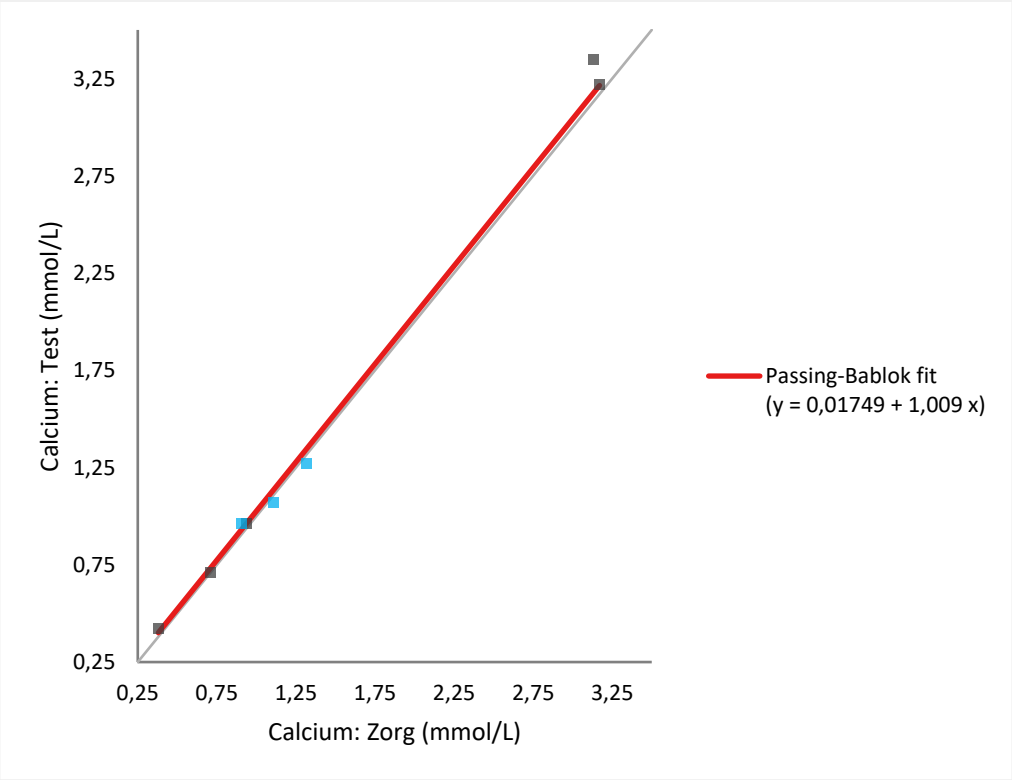
	Kreatinine (mmol/L)		**Magnesium (mmol/L)**		**Natrium (mmol/L)**		**Eiwit tot. (g/L)**		**Ureum (mmol/L)**		**Urinezuur (mmol/L)**		**Volume (mL)**
Deelnemer	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	
1	3,6	3,6	1,28		35	35	0,09	0,08	159,8	155,7	0,92		2370
2	5	5	1,43		54	53	0,12	0,12	192,2	185	1,.6		1890
3	16,1	16	4,84	4,82	50	49	0,12	0,13	430,3	432,4	3,31	3,28	910
4	4,8	4,8	1,26	1,26	42	43	0,08	0,08	142,4	145,1	0,9	0,91	2820
5	5,2	5,3	2,17	2,17	66	65	0,04	0,04	167,7	171,1	1,39	1,38	2800
6	4,9	5	1,29	1,28	35	34	0,13	0,14	196,2	195,6	1,29	1,33	2280
7	13,1	13,1	1,48	1,54	96	96	0,2	0,21	306,1	305,3	2,27	2,24	1200
8							0,38	0,59					
9							0,00	0,17					
10							0,00	<0,04					

Albumine



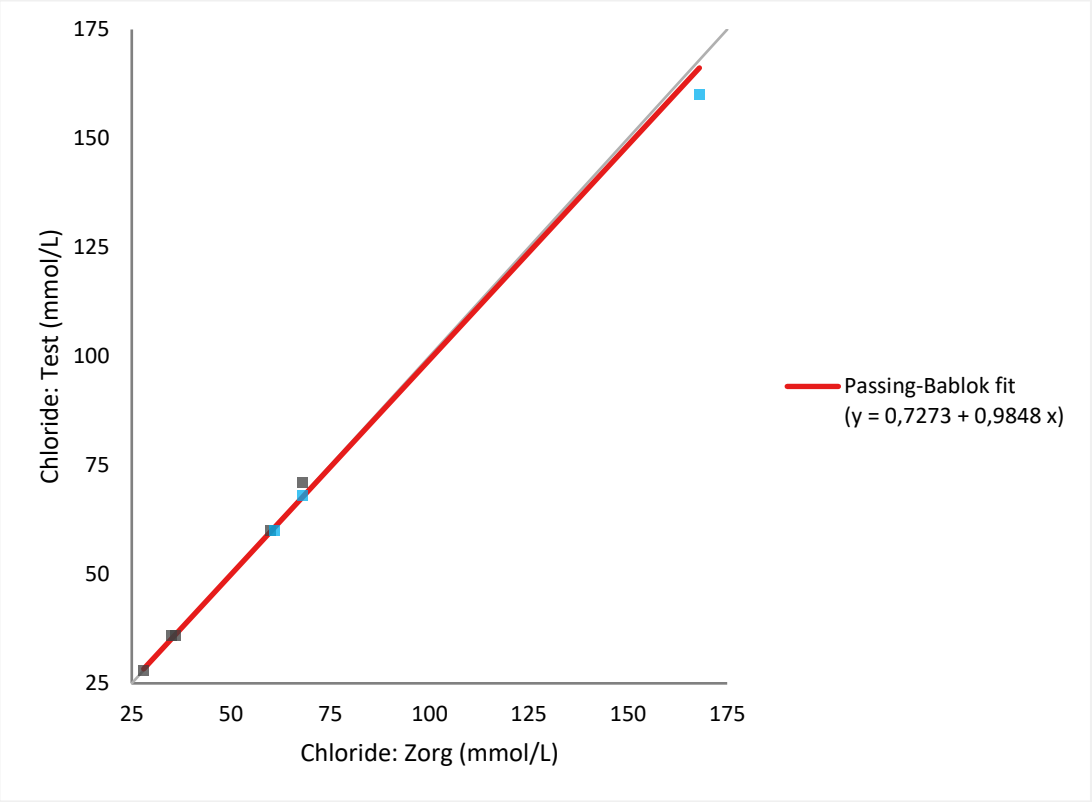
Figuur 17. Grafiek passing-bablok, waarin albumine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Calcium

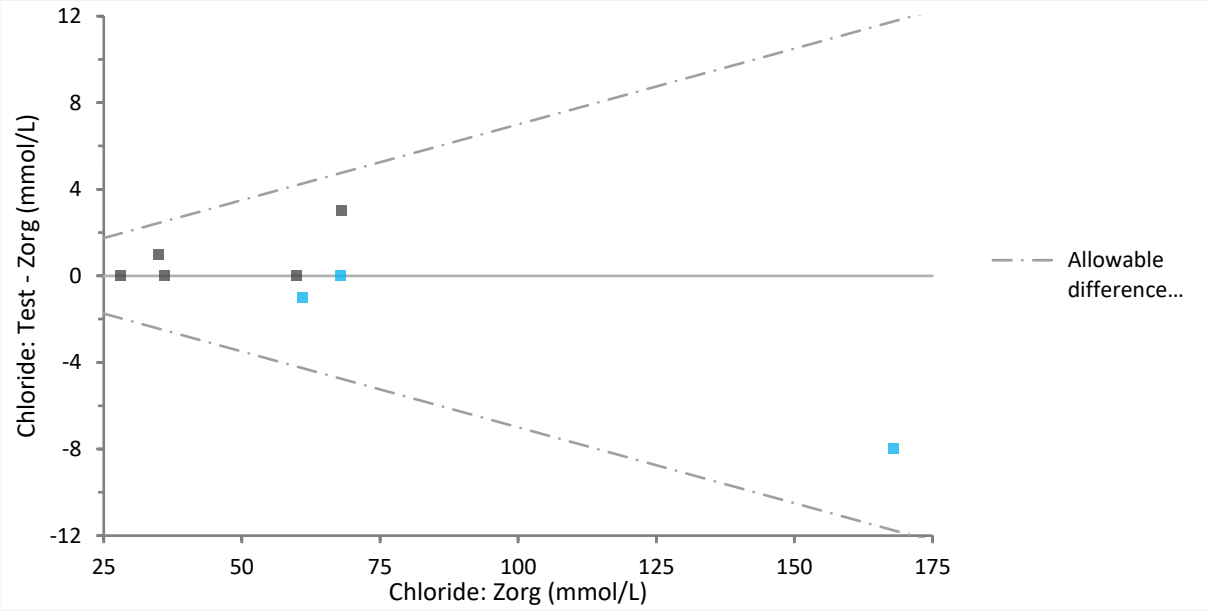


Figuur 18. Grafiek passing-bablok, waarin calcium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Chloride

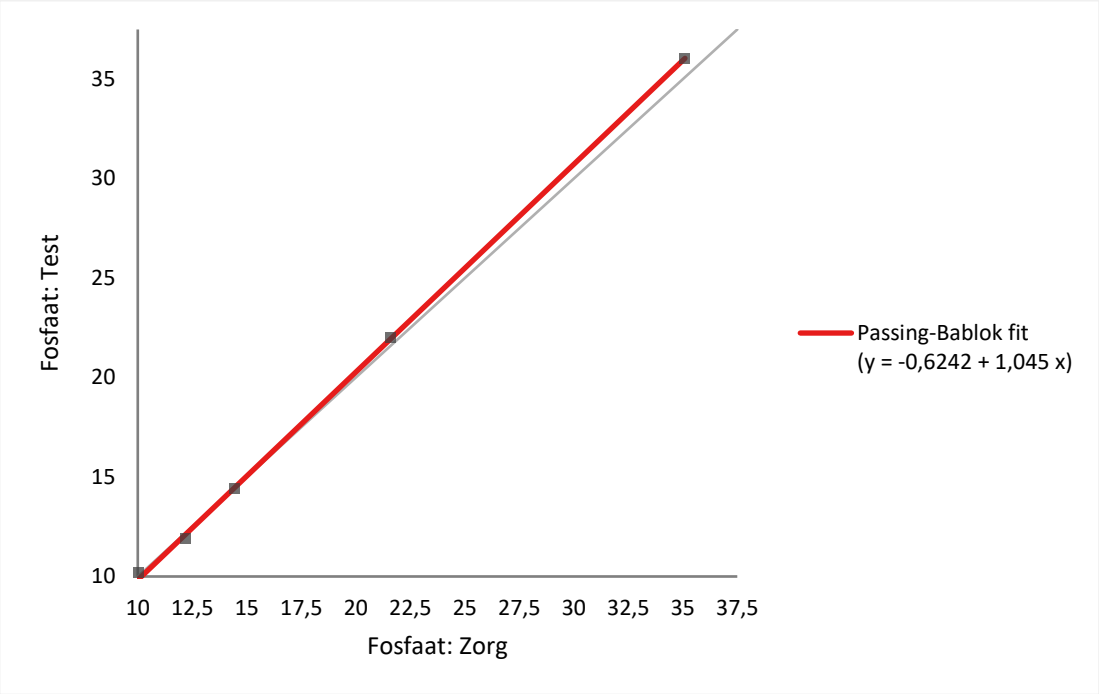


Figuur 19.Grafiek passing-bablok, waarin chloride test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

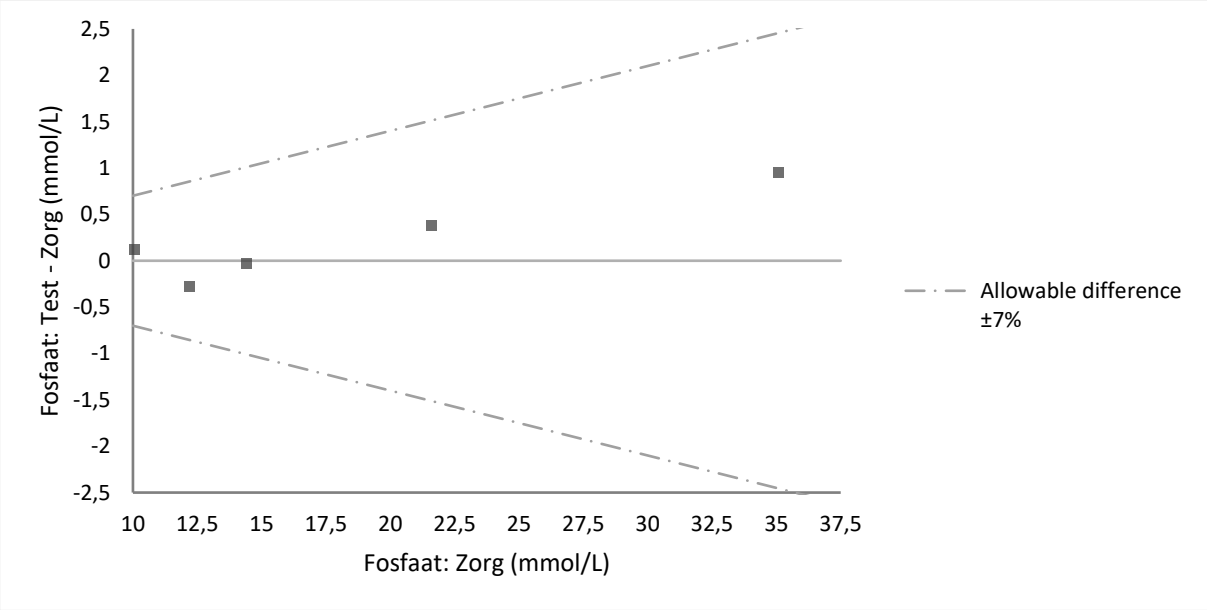


Figuur 20. Verschilplot van chloride.

Fosfaat

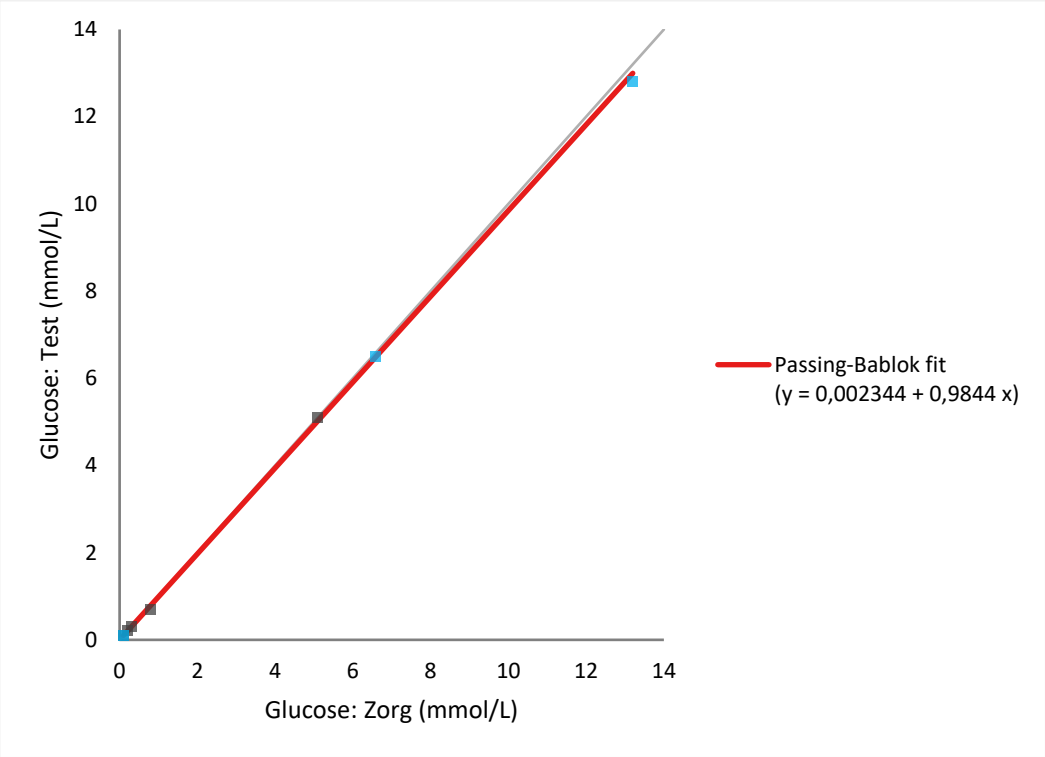


Figuur 21. Grafiek passing-bablok, waarin fosfaat test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

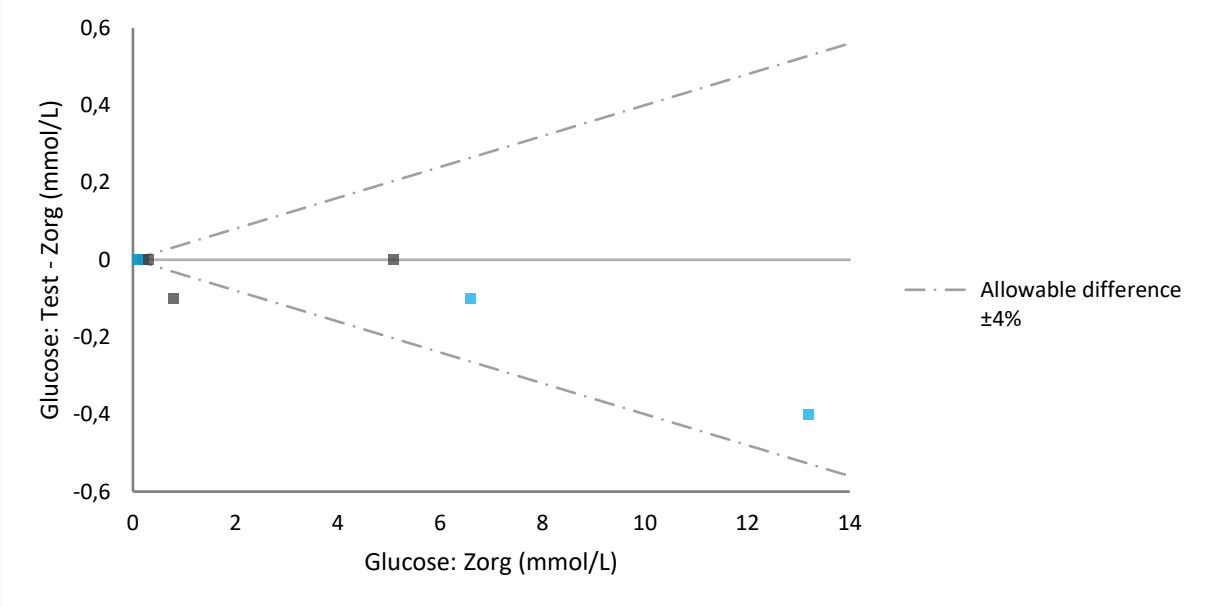


Figuur 22. Verschilplot van fosfaat.

Glucose

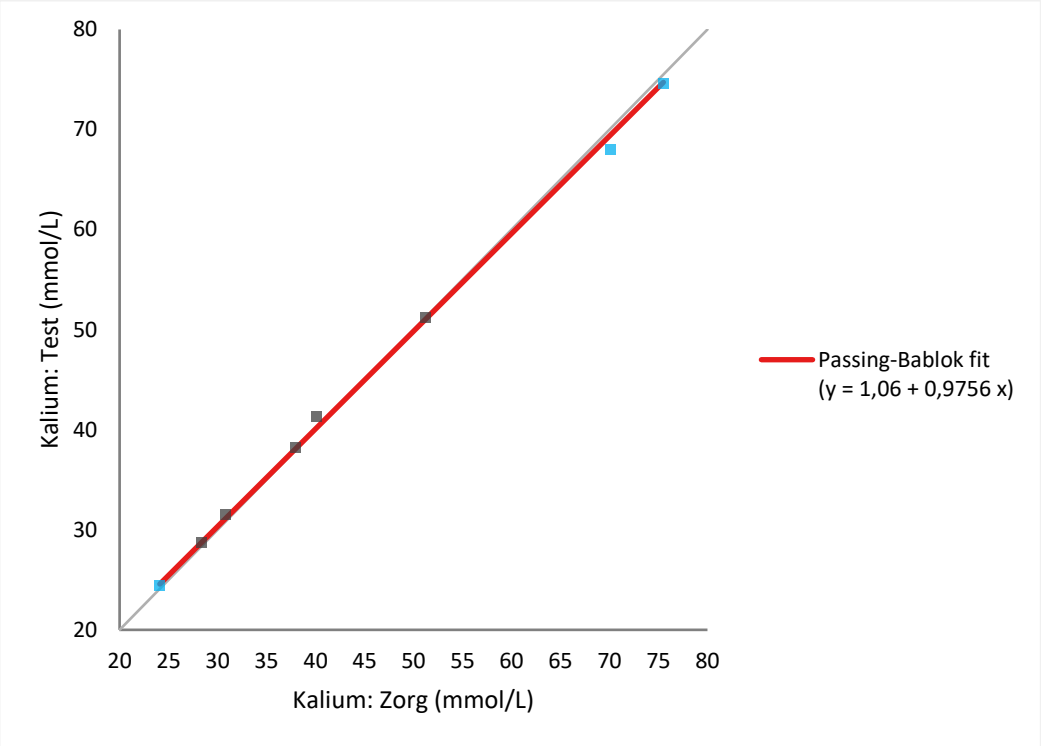


Figuur 23. Grafiek passing-bablok, waarin glucose test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

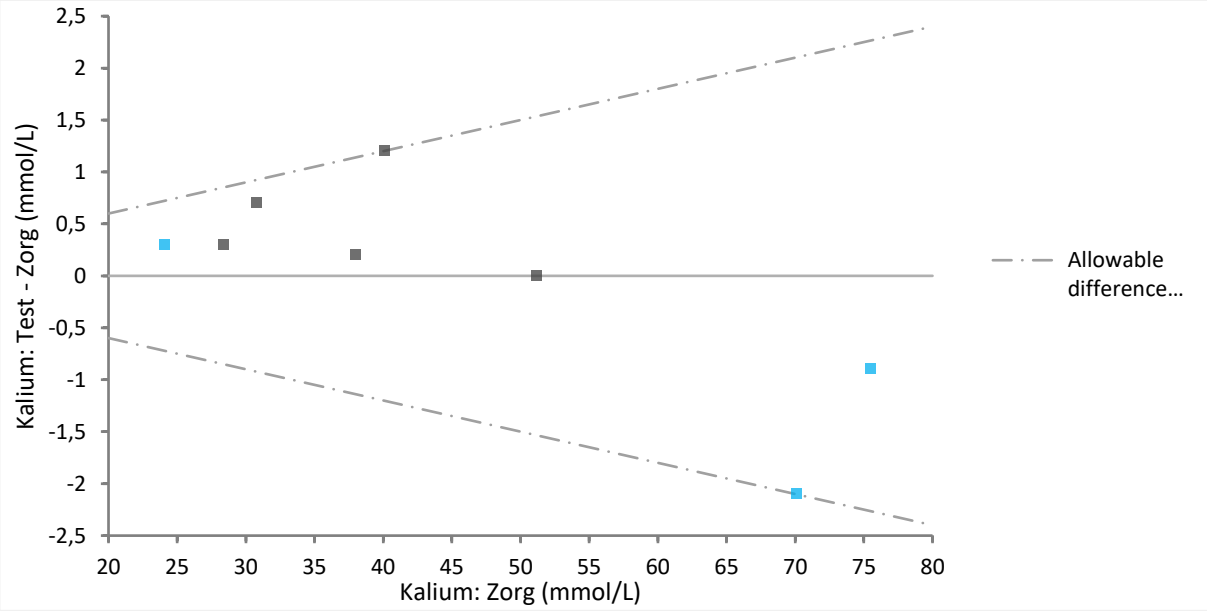


Figuur 24. Verschilplot van glucose.

Kalium

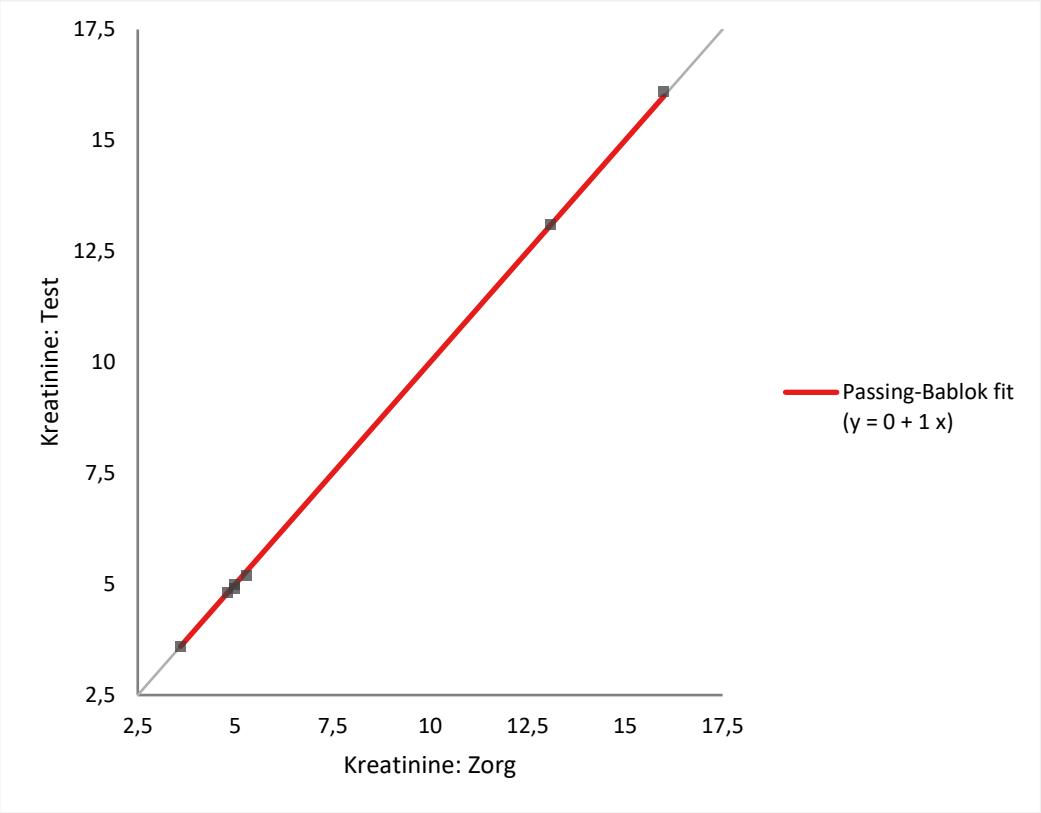


Figuur 25. Grafiek passing-bablok, waarin kalium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

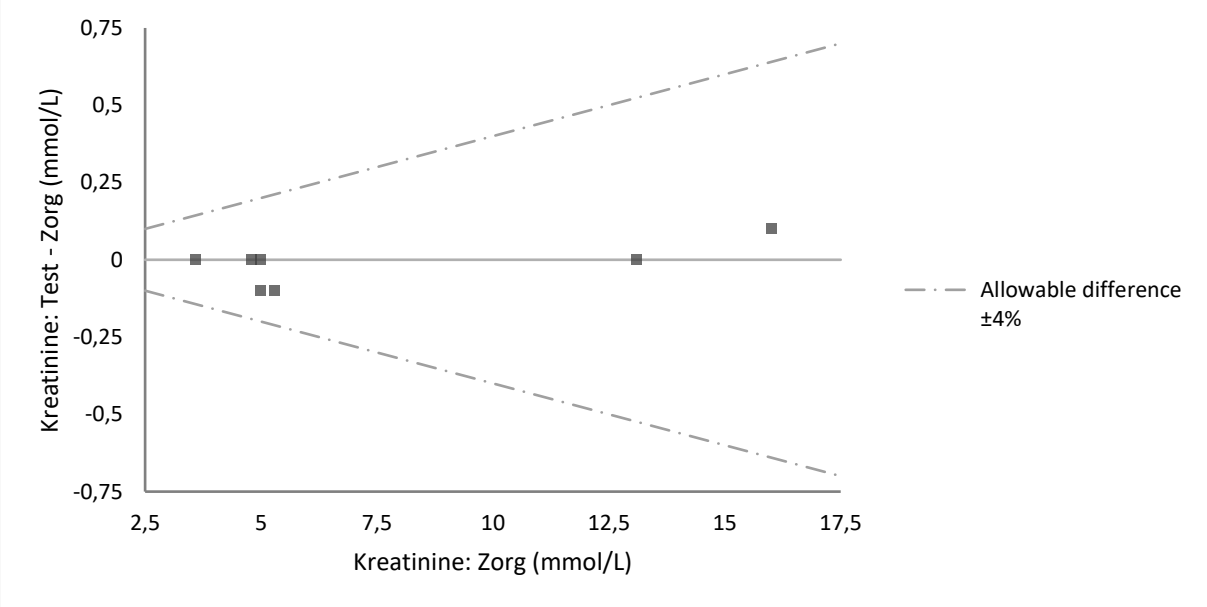


Figuur 26. Verschilplot van kalium.

Kreatinine

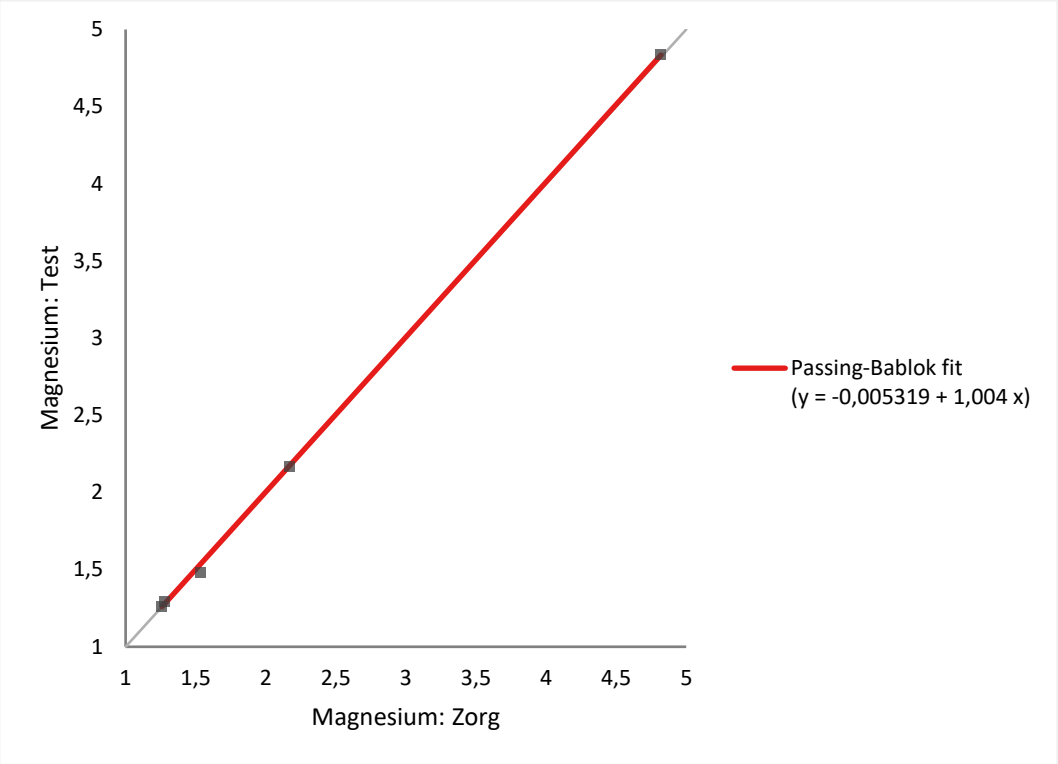


Figuur 27. Grafiek passing-bablok, waarin kreatinine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

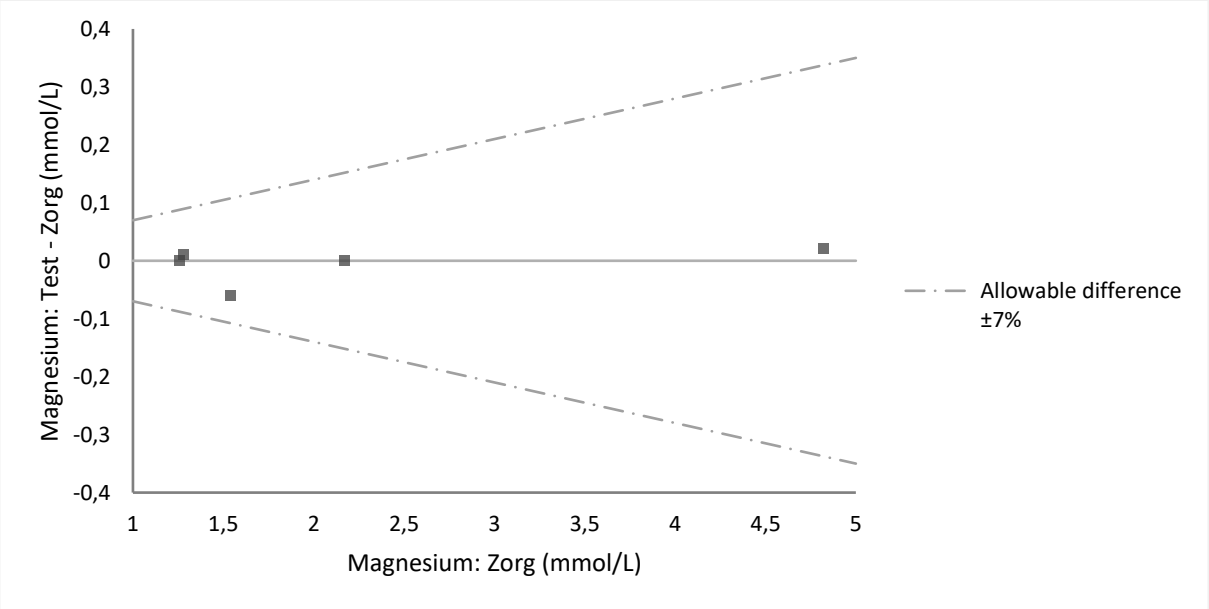


Figuur 28. Verschilplot van kreatinine.

Magnesium

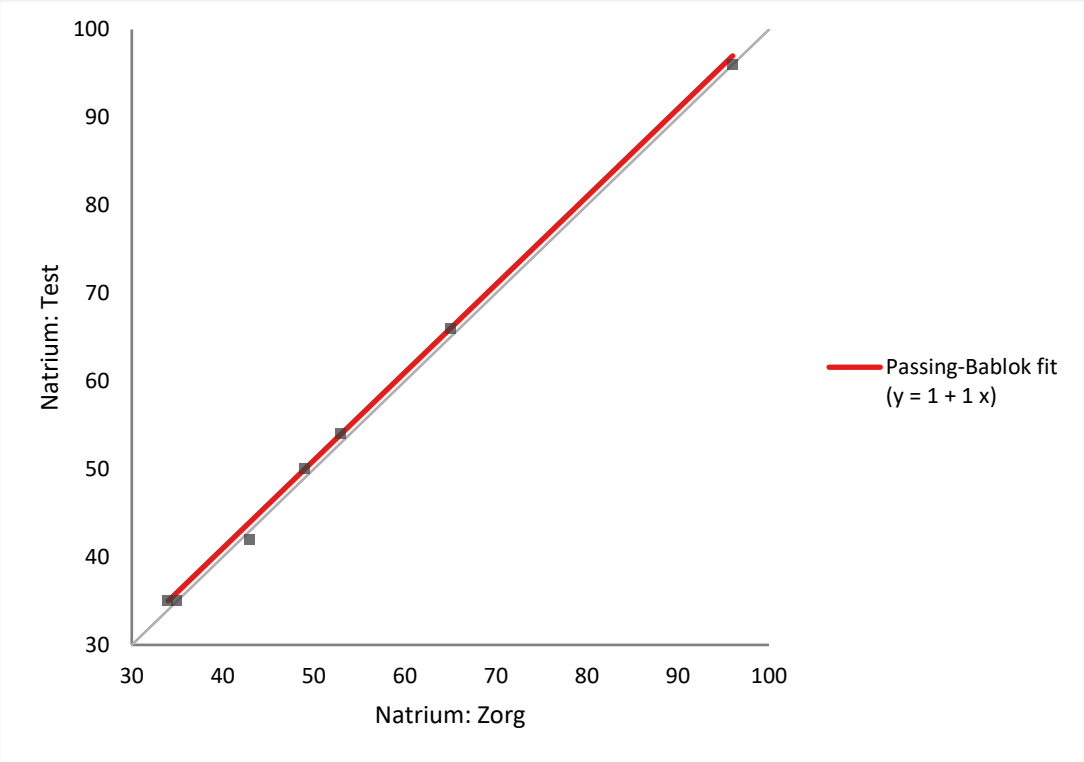


Figuur 29. Grafiek passing-bablok, waarin magnesium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

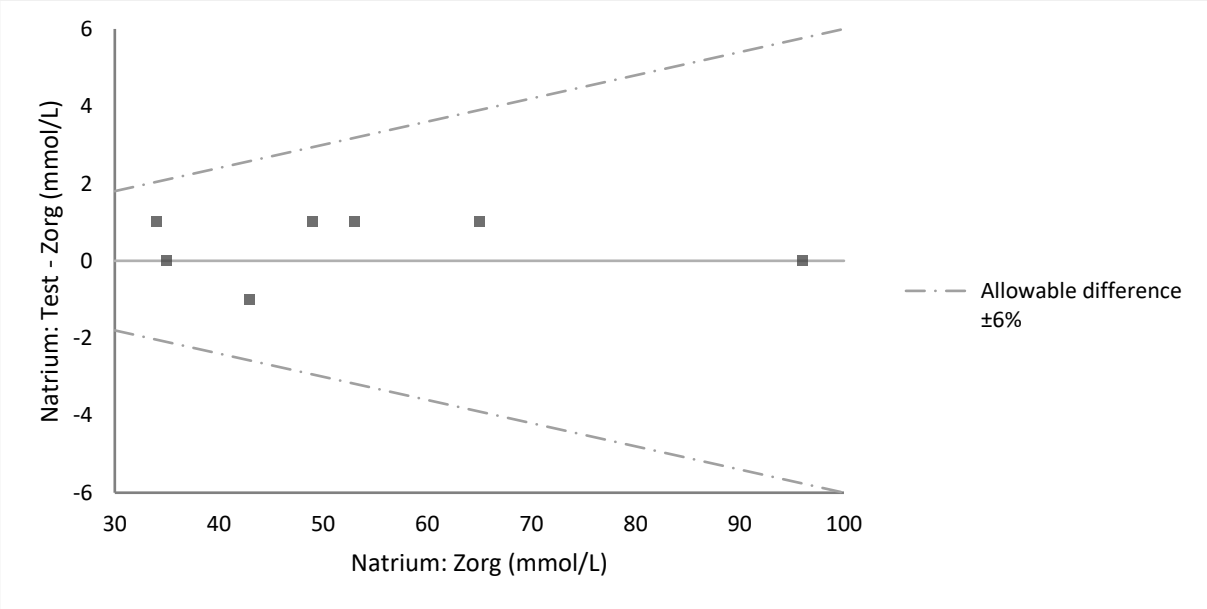


Figuur 30. Verschilplot van magnesium.

Natrium

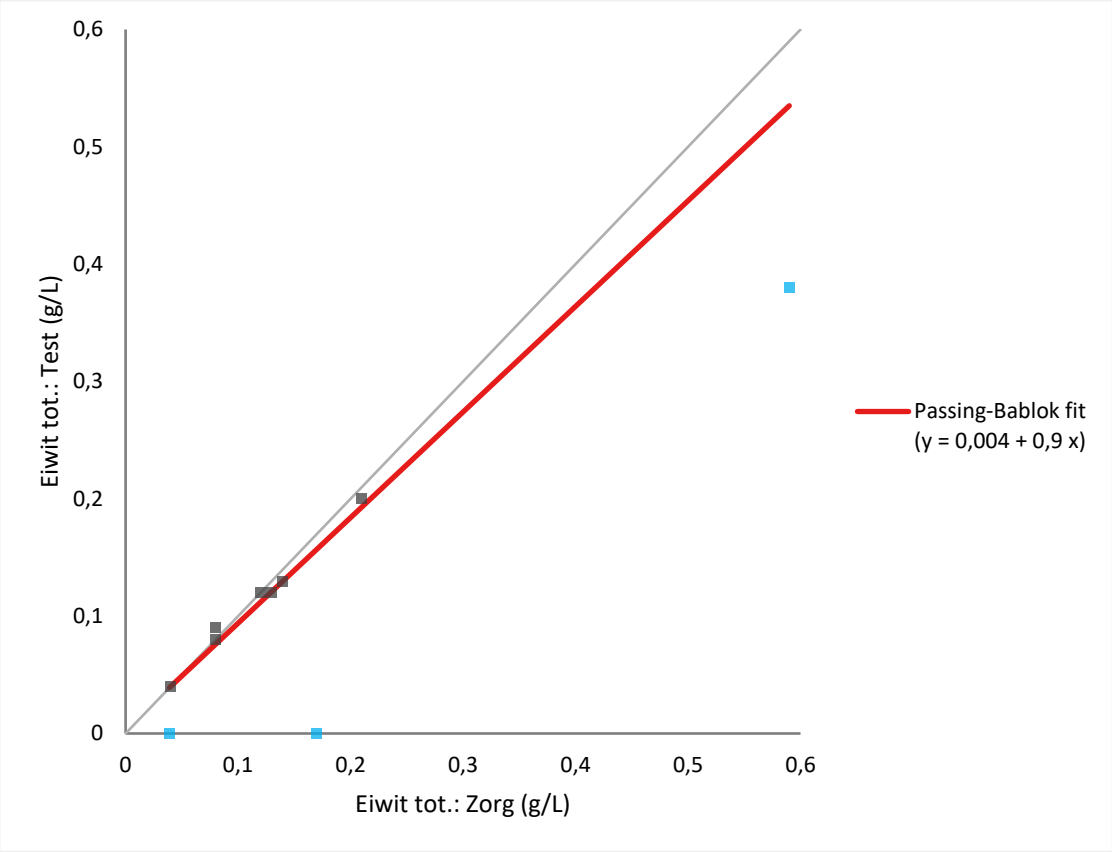


Figuur 31. Grafiek passing-bablok, waarin natrium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



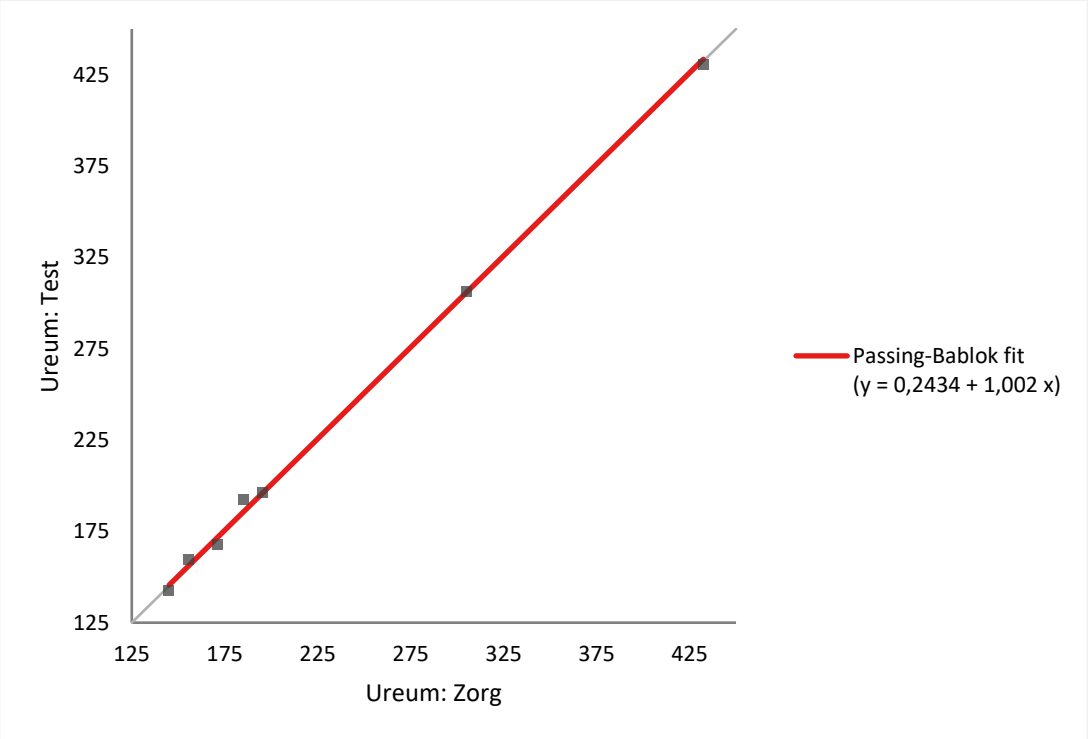
Figuur 32. Verschilplot van natrium.

Totaal eiwit

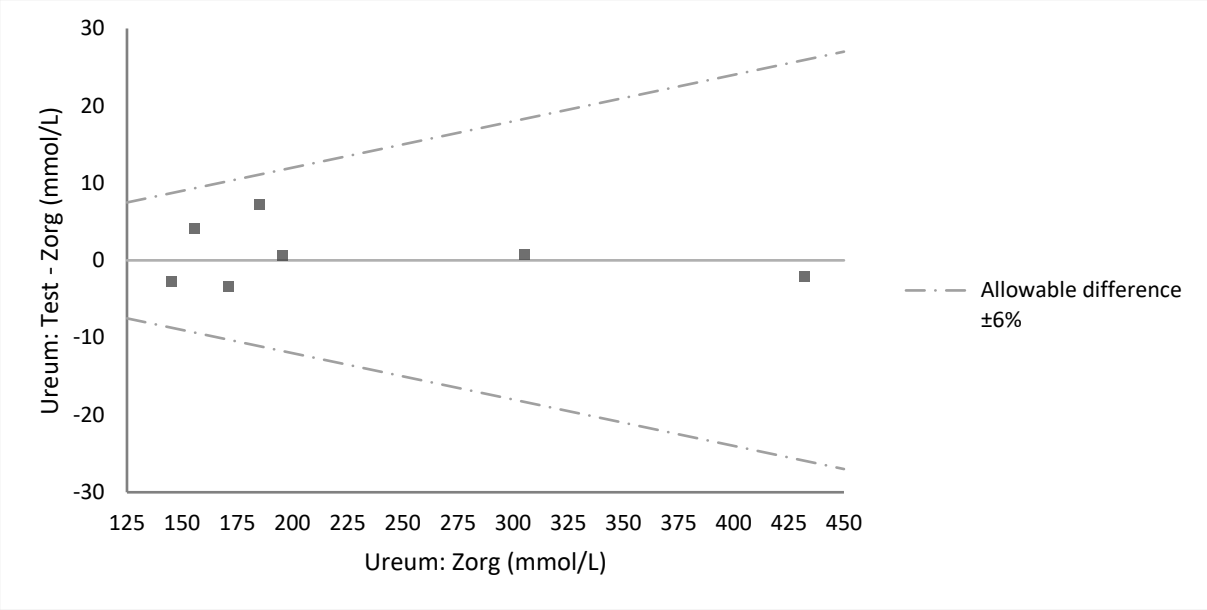


Figuur 33. Grafiek passing-bablok, waarin totaal eiwit test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Ureum

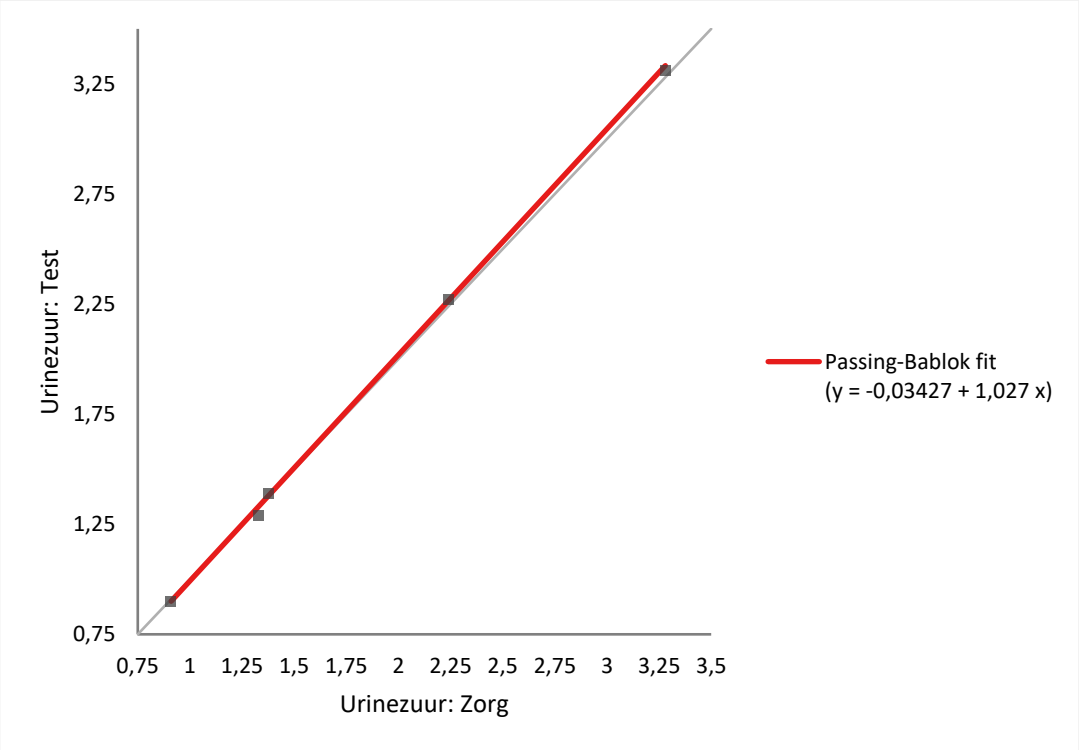


Figuur 34. Grafiek passing-bablok, waarin ureum test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

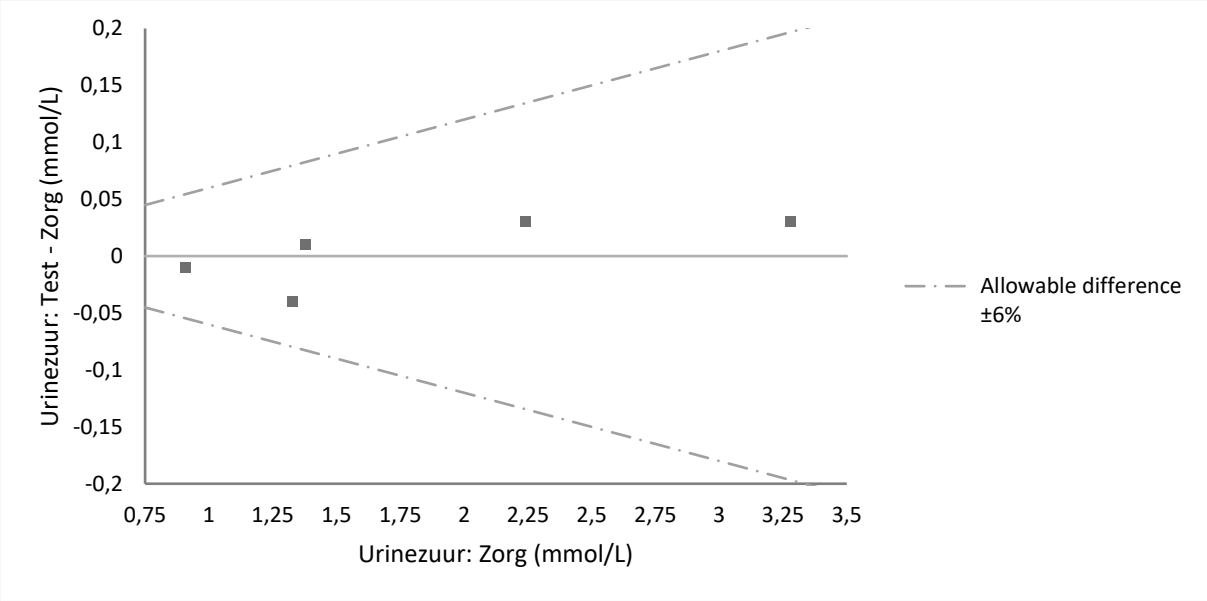


Figuur 35. Verschilplot van ureum.

Urinezuur



Figuur 36. Grafiek passing-bablok, waarin urinezuur test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



Figuur 37. Verschilplot van urinezuur.

Bijlage 2: Na_2EDTA/ascorbinezuur

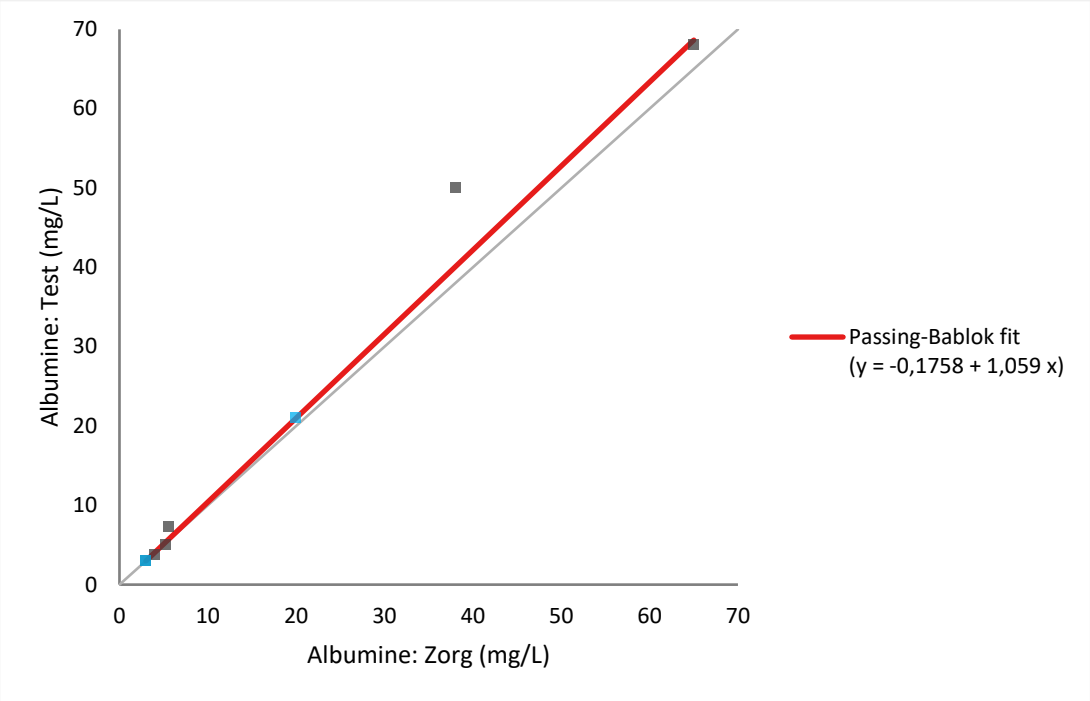
Tabel 9. Alle gemeten concentraties van de parameters albumine, calcium, chloride, fosfaat, glucose en kalium met Na_2EDTA/ascorbinezuur.

	Albumine (mg/L)		**Calcium (mmol/L)**		**Chloride (mmol/L)**		**Fosfaat (mmol/L)**		**Glucose (mmol/L)**		**Kalium (mmol/L)**	
Deelnemer	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**
1	51		0,6		65		10,03		<0,1		20,4	
2	204		1,7		84		10,78		0,2		23,1	
3	6		0,62		38		7,46		0,4		16,6	
4	50	38	1,51	1,58	62	62	17,12	16,58	2	1,9	49,4	49,1
5	3,8	4	1,18	1,15	35	35	7,46	6,83	0,1	0,1	12,7	12,7
6	5	5,2	1,84	1,85	168	164	17,86	17,3	27,6	26,3	44	43
7	7,3	5,6	1,58	1,6	81	82	9,57	9,69	0,3	0,3	46,6	44,7
8	68	65	1,63	1,71	53	55	7,76	7,48	0,1	0,4	39,5	39,2
9	2,99	2,99	0,19	0,55			6,44	6,93	13	12,9	19,5	19,5
10	21	20	0,19	1,53			18,77	19,16	1,4	1,4	35	33,6
11	2,99	2,99	0,19	3,22			1,59	1,59	0,3	0,3	62,2	62,6

Tabel 10. Alle gemeten concentraties van de parameters kreatinine, magnesium, natrium, totaal eiwit, ureum en urinezuur met Na_2EDTA/ascorbinezuur. Ook is het volume van het bokaal weergegeven.

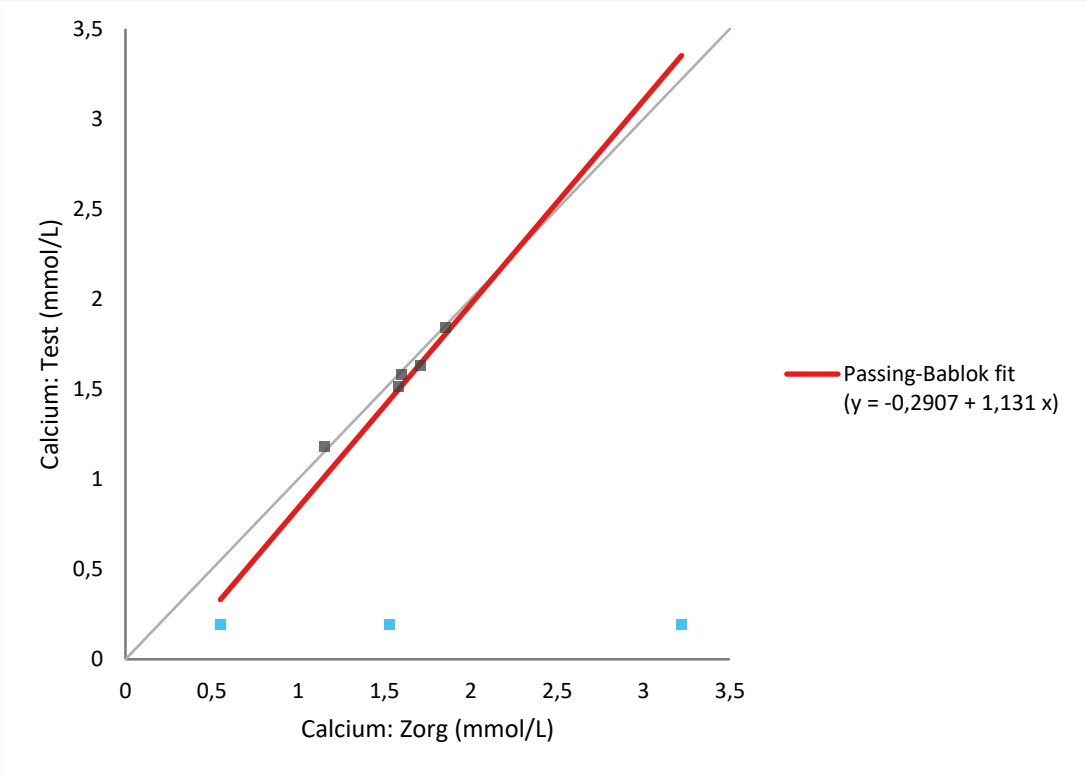
	Kreatinine (mmol/L)		**Magnesium (mmol/L)**		**Natrium (mmol/L)**		**Eiwit tot. (g/L)**		**Ureum (mmol/L)**		**Urinezuur (mmol/L)**		**Volume (mL)**
Deelnemers	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	
1	6	6	1,48		79	79	0,16	0,17	146,8	141,8	1,58		2010
2	6,2	6,2	1,23		97	97	0,3	0,3	221,4	215,8	1,19		1710
3	3,2	3,2	<0,56		46	58	0,05	0,05	110,8	106,5	0,7		2270
4	6,8	7,2	2,28	2,37	73	72	0,11	0,12	254	257,3	1,3	1,32	2080
5	3,7	3,8	0,85	0,96	42	41	<0,04	<0,04	92,2	93,2	0,53	0,51	2490
6	10	10,2	1,71	1,8	174	174	0,07	0,06	290,4	287	2,75	2,62	1910
7	8,7	8,5	3,08	3,23	76	74	0,06	0,06	306,6	302,6	2,38	2,4	1300
8	4,1	4,1	1,05	1,06	40	39	0,11	0,12	168,4	165,2	0,63	0,65	1310
9			0,55	1,25			0,05	0,05					
10			0,55	2,78			0,14	0,12					
11			0,55	1,2			0,05	0,05					

Albumine



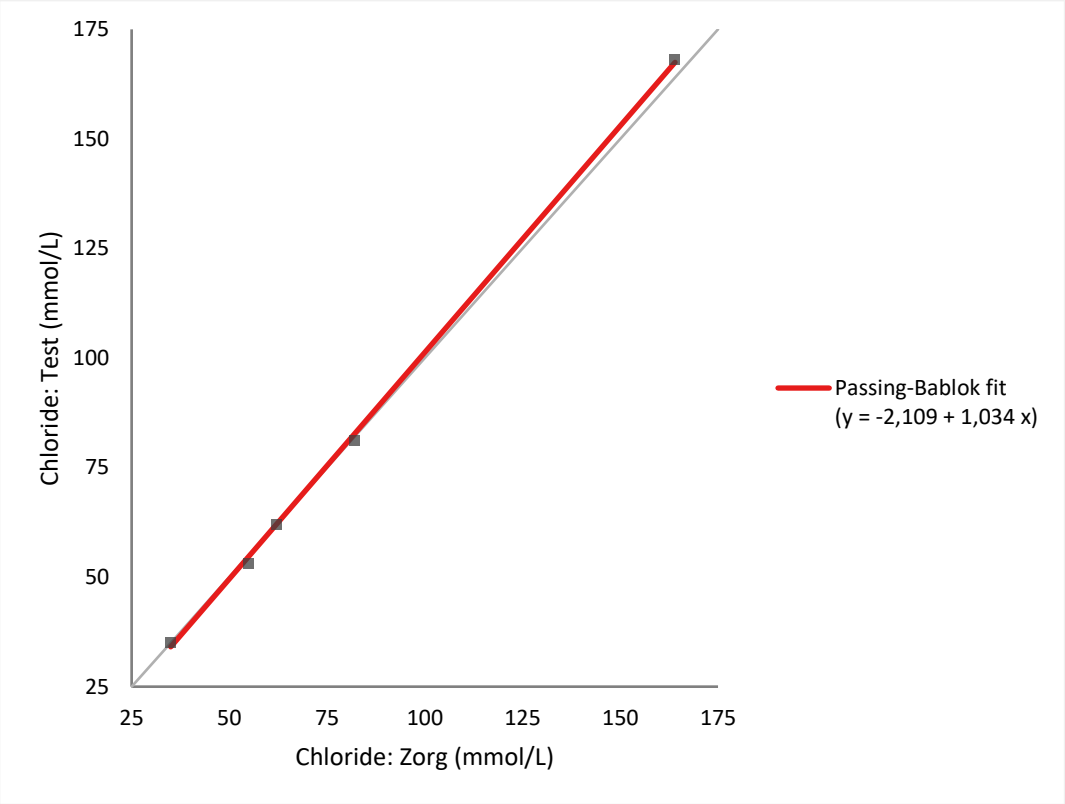
Figuur 38. Grafiek passing-bablok, waarin albumine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Calcium

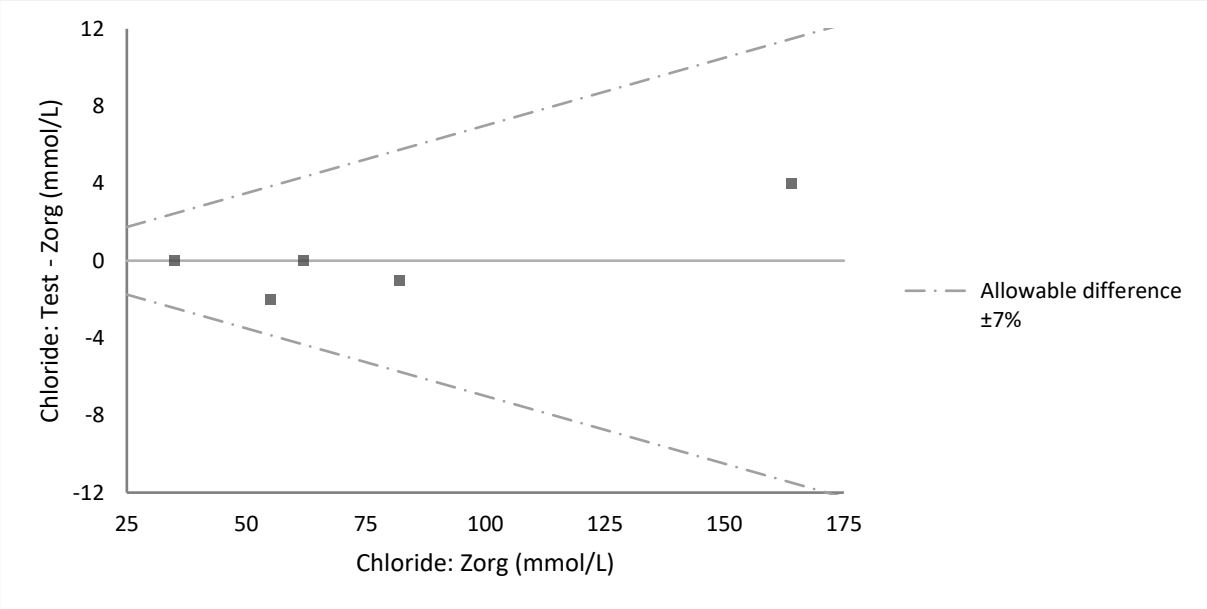


Figuur 39. Grafiek passing-bablok, waarin calcium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Chloride

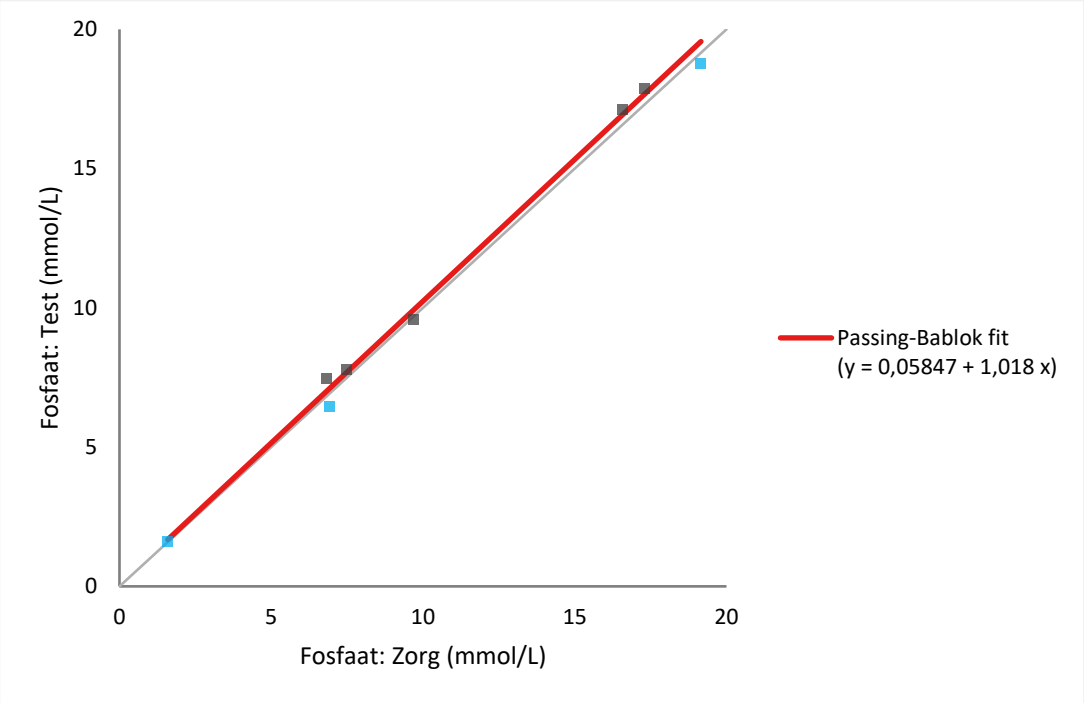


Figuur 40. Grafiek passing-bablok, waarin test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

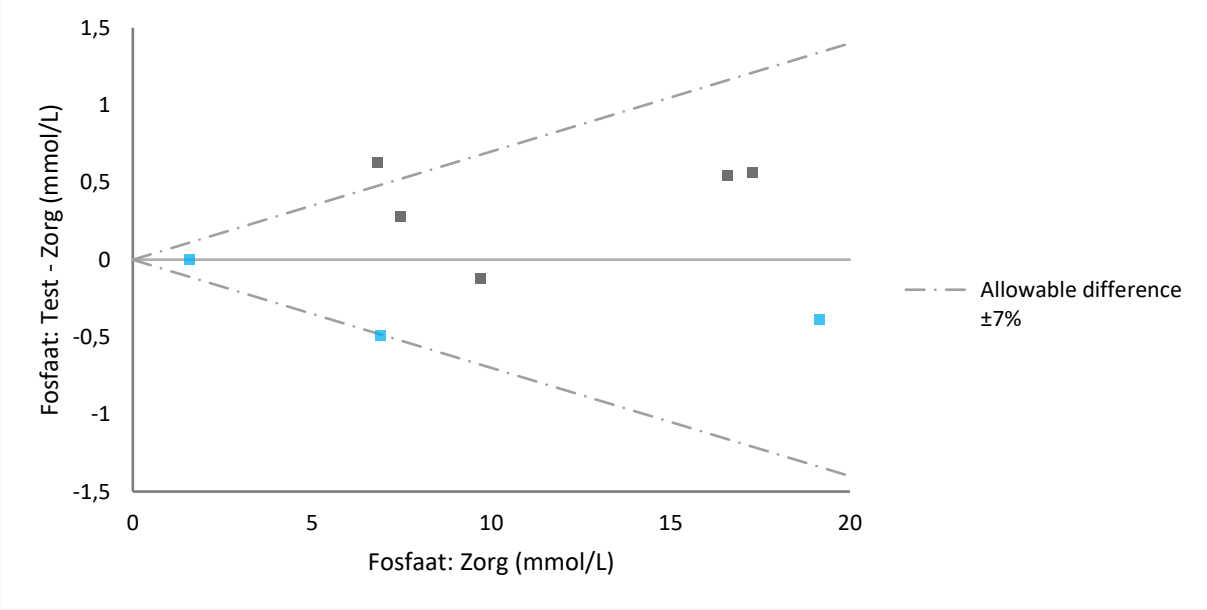


Figuur 41. Verschilplot van chloride.

Fosfaat

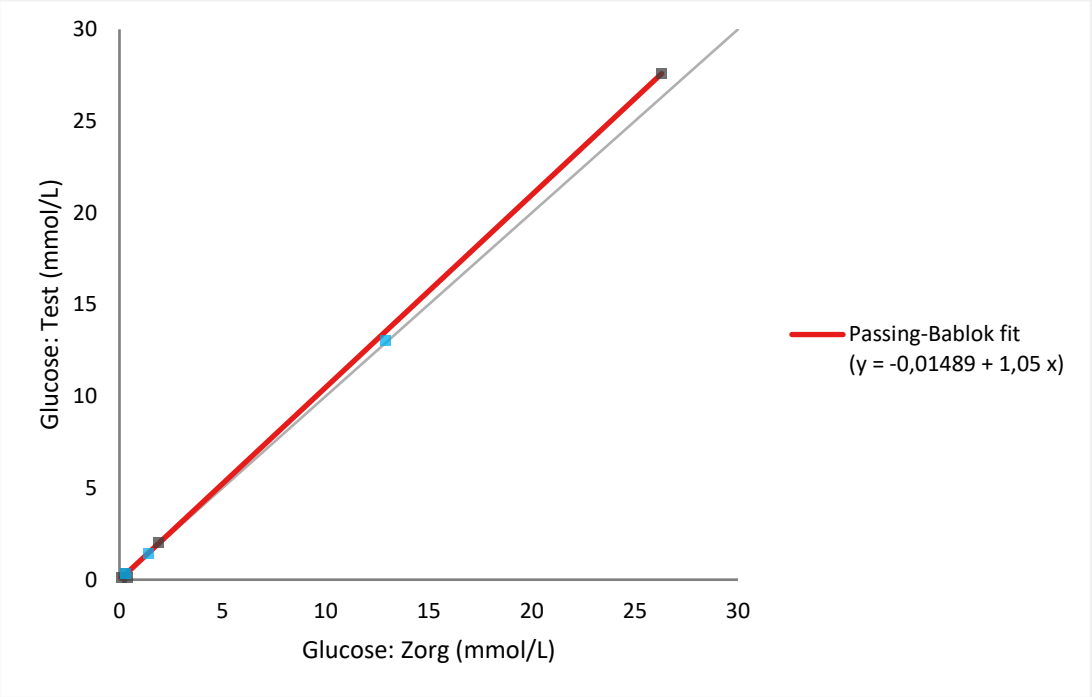


Figuur 42. Grafiek passing-bablok, waarin fosfaat test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



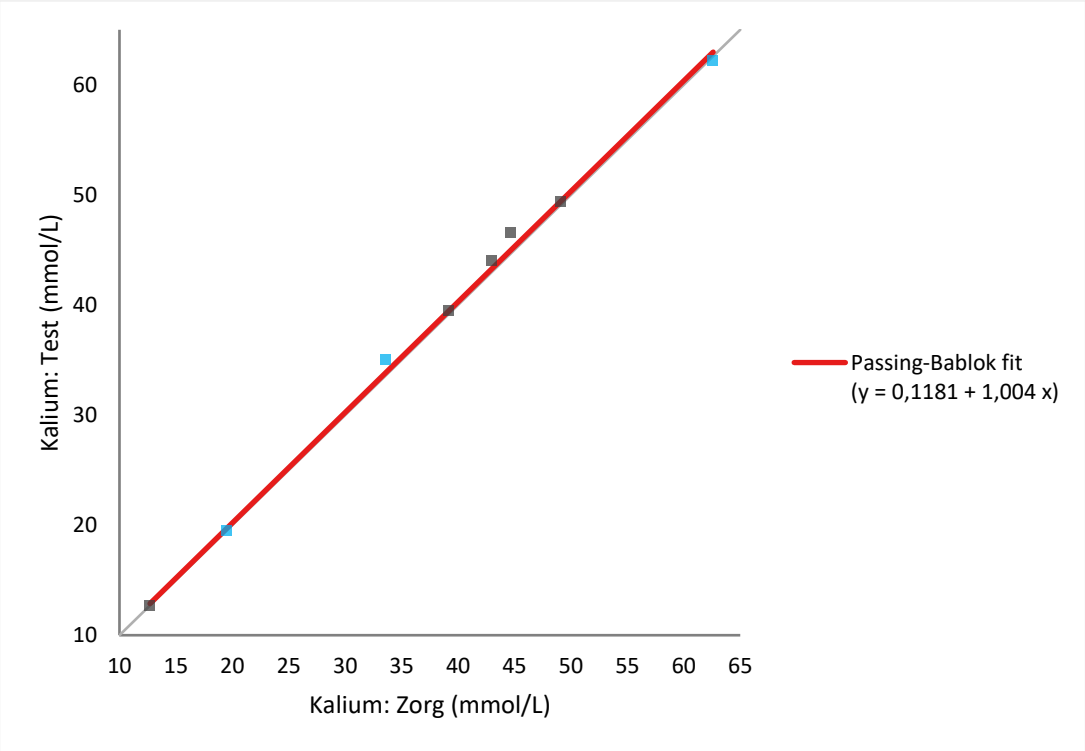
Figuur 43. Verschilplot van fosfaat.

Glucose

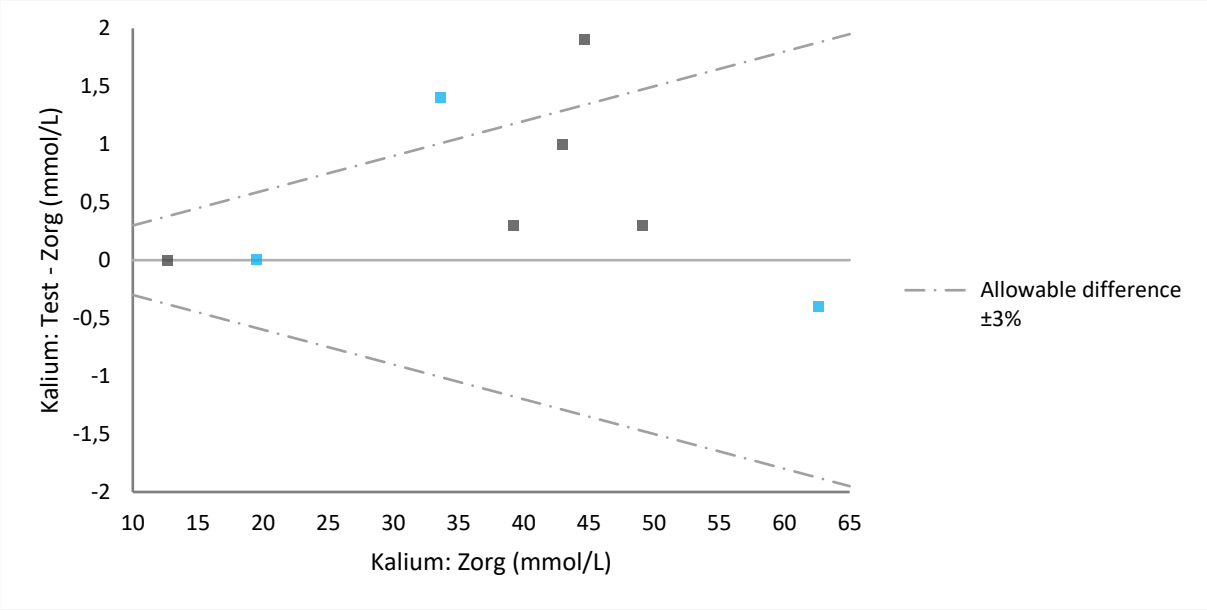


Figuur 44. Grafiek passing-bablok, waarin glucose test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Kalium

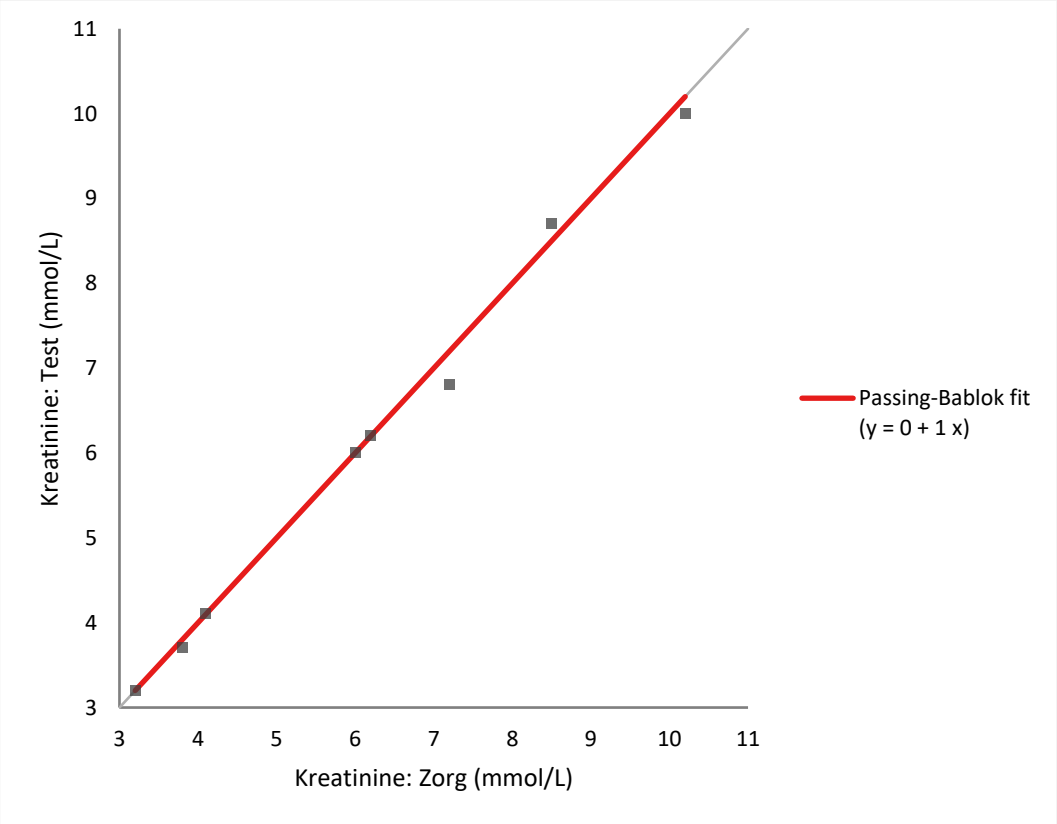


Figuur 45. Grafiek passing-bablok, waarin kalium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

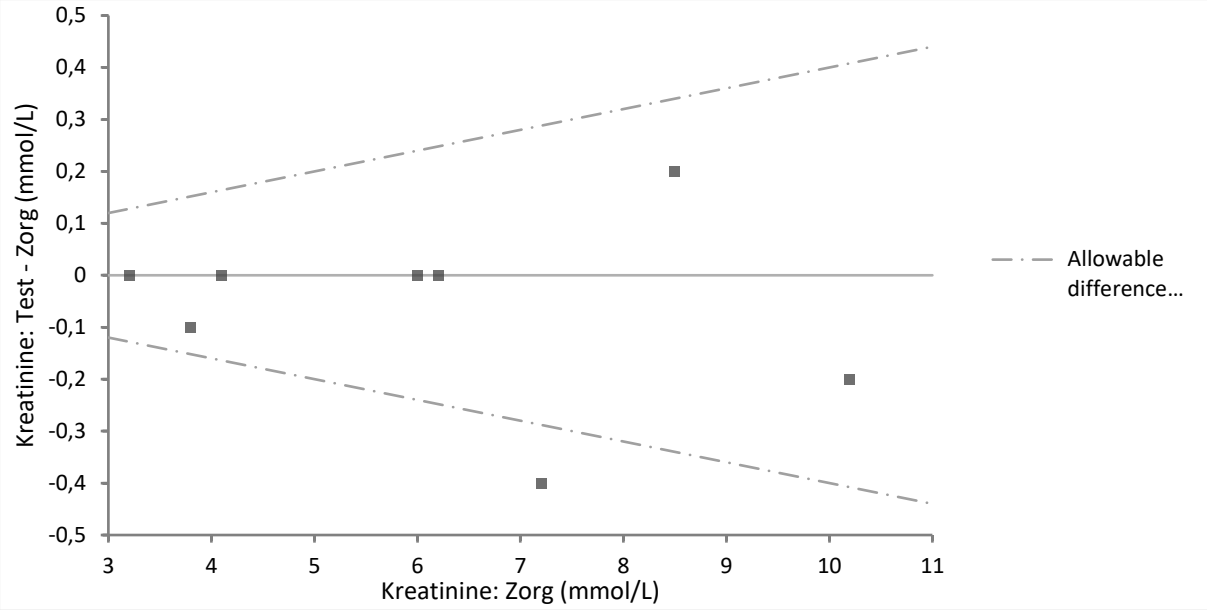


Figuur 46. Verschilplot van kalium.

Kreatinine

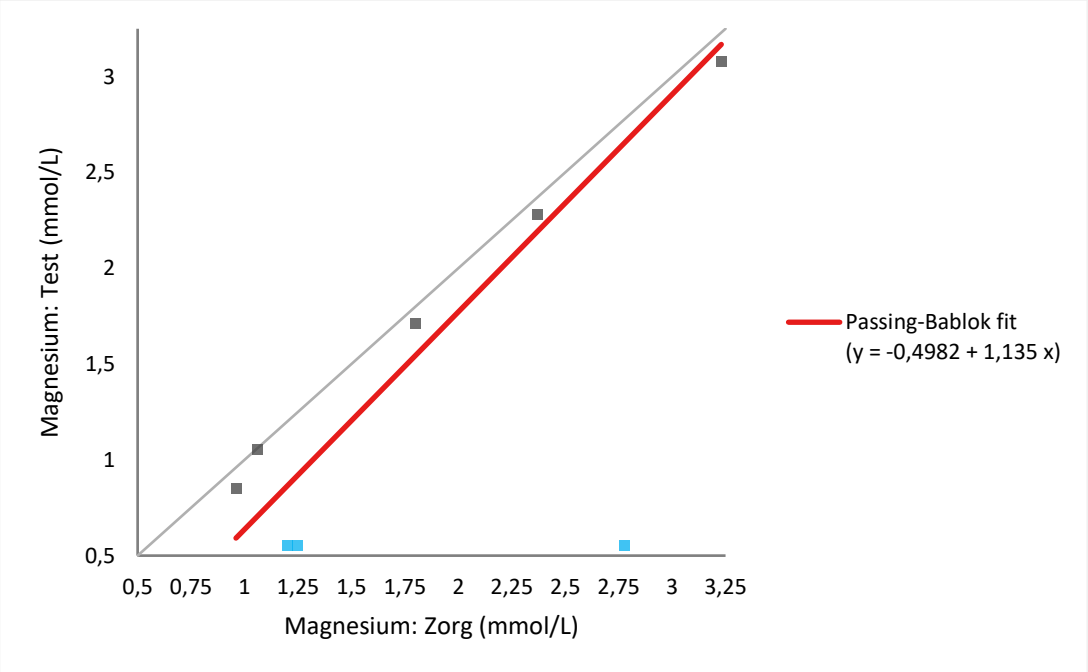


Figuur 47. Grafiek passing-bablok, waarin kreatinine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



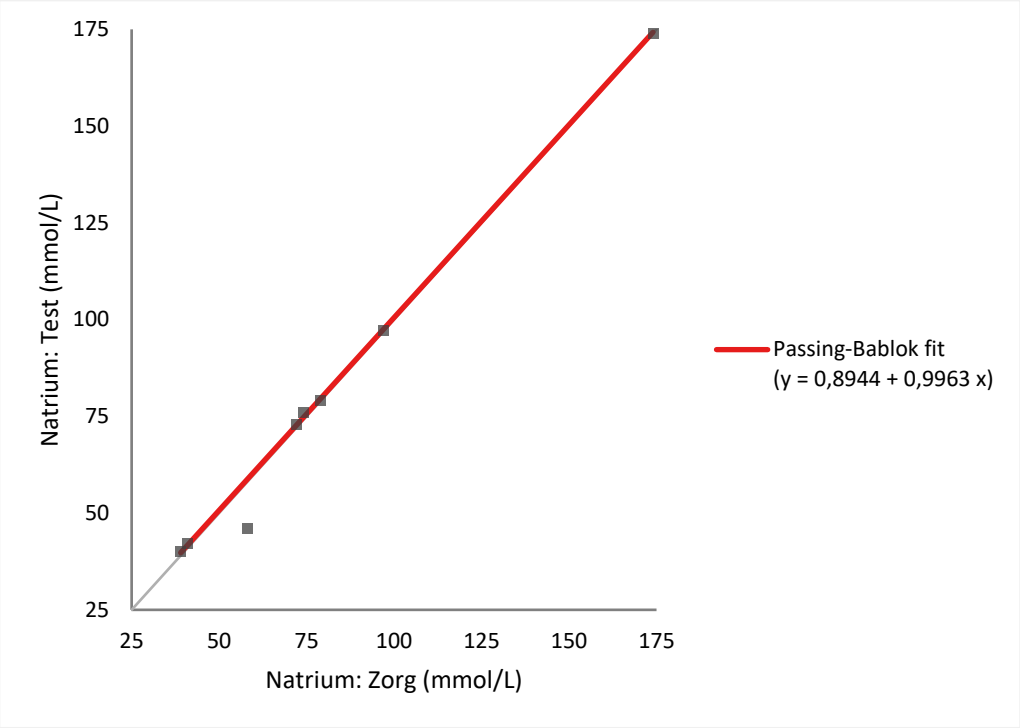
Figuur 48. Verschilplot van kreatinine.

Magnesium

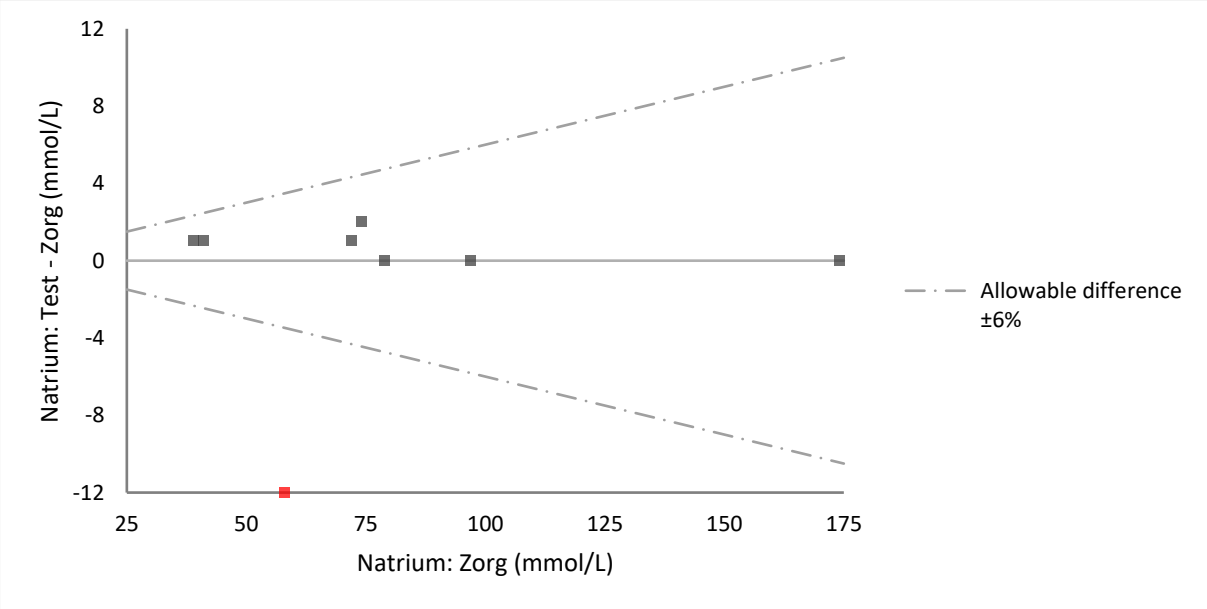


Figuur 49. Grafiek passing-bablok, waarin magnesium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Natrium

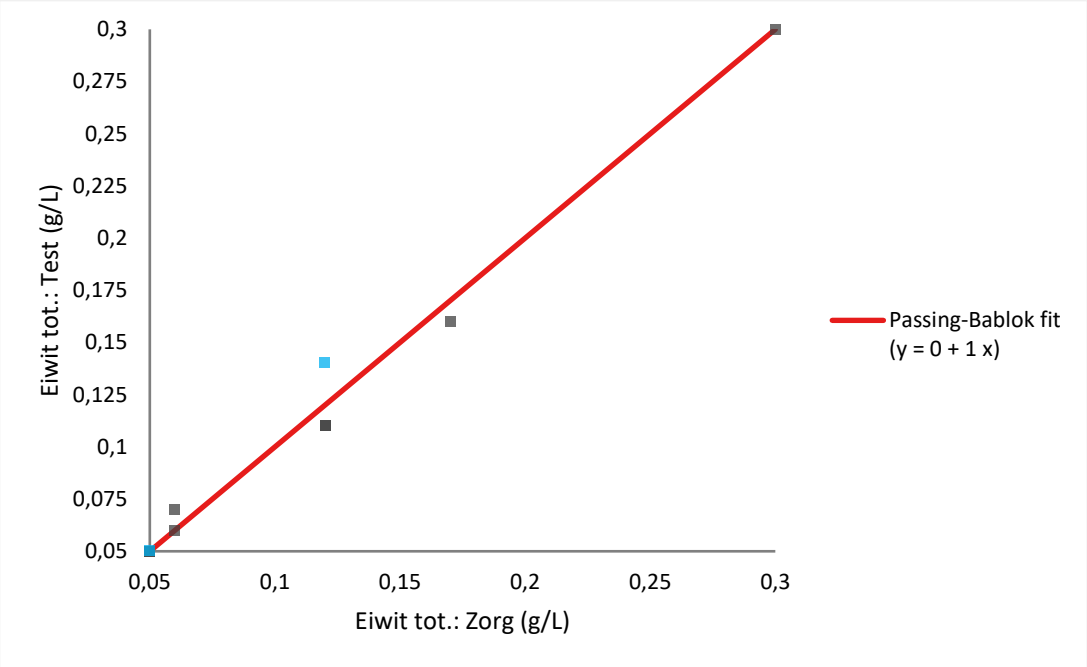


Figuur 50. Grafiek passing-bablok, waarin natrium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



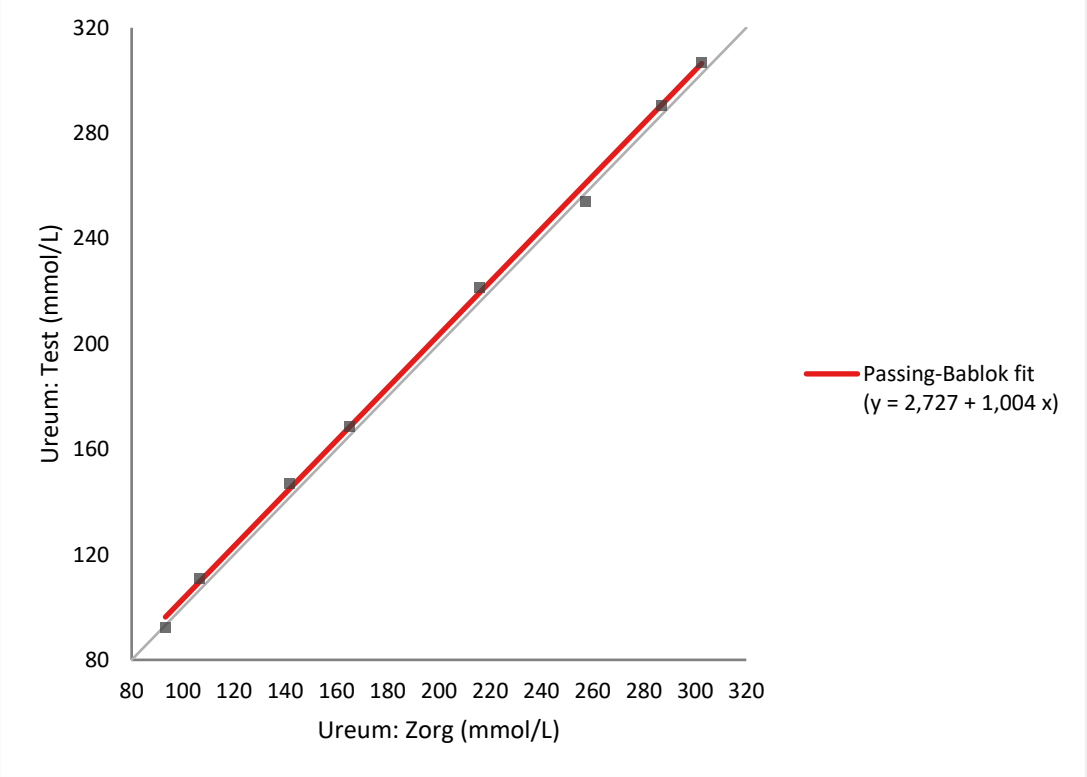
Figuur 51. Verschilplot van natrium.

Totaal eiwit

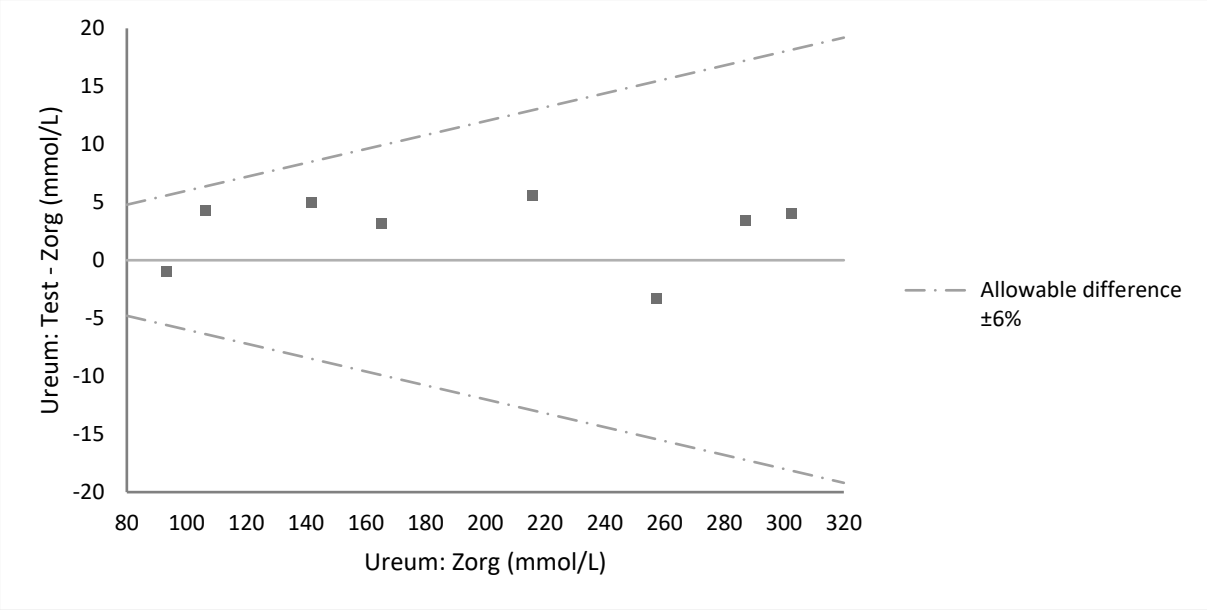


Figuur 52. Grafiek passing-bablok, waarin totaal eiwit test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Ureum

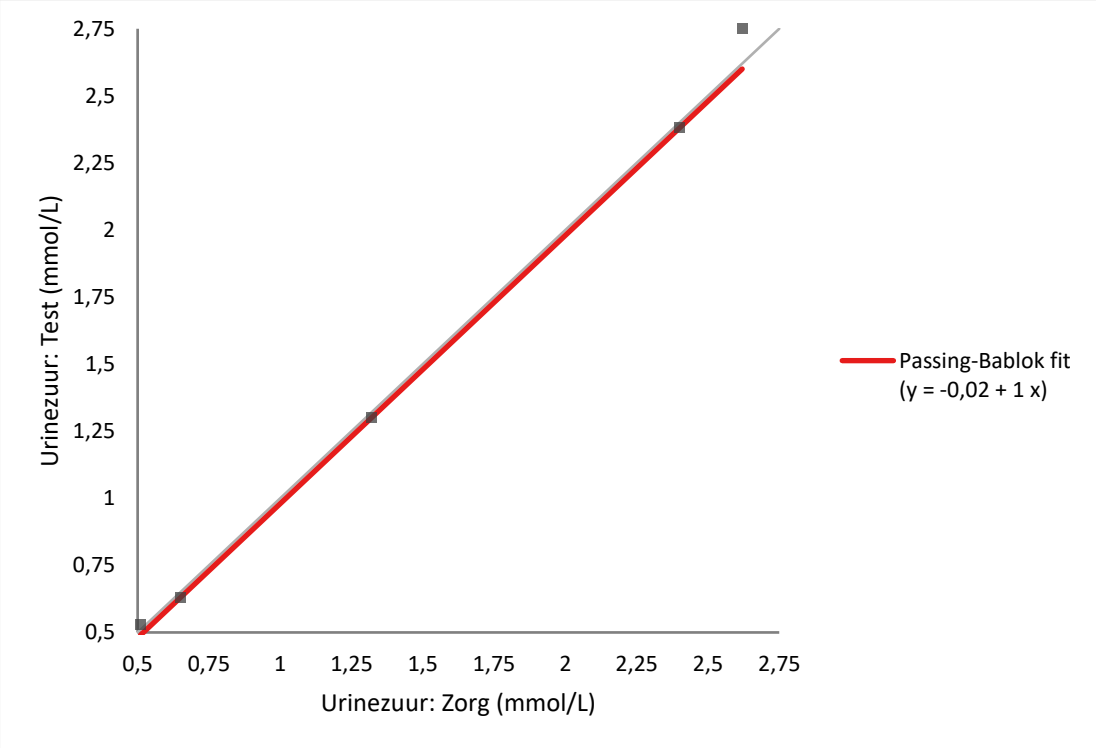


Figuur 53. Grafiek passing-bablok, waarin ureum test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

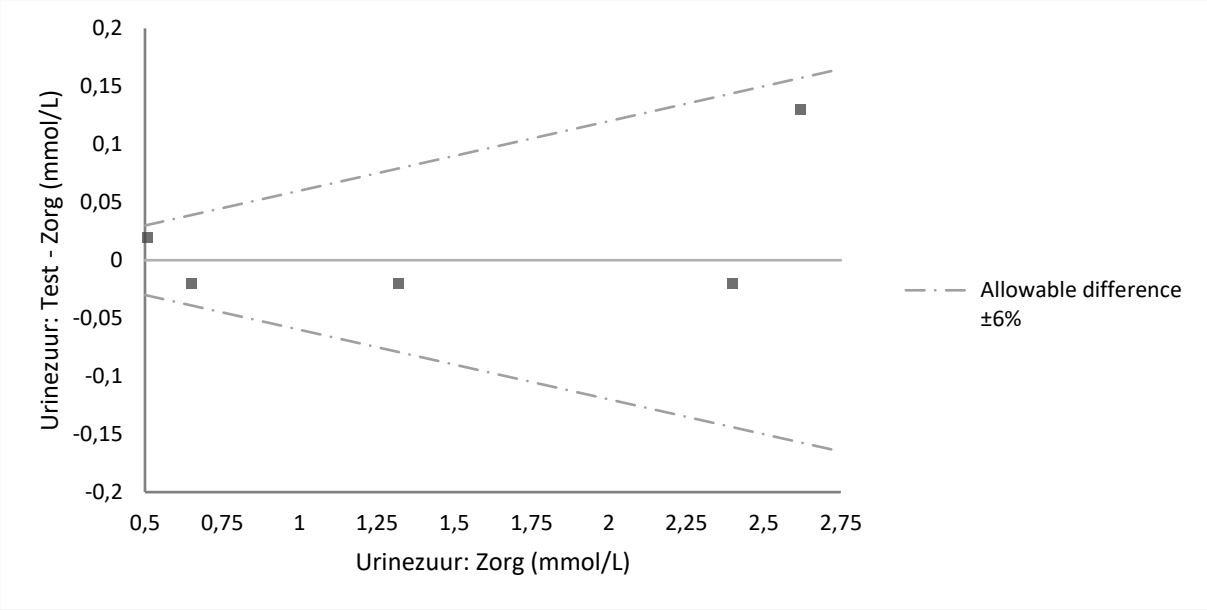


Figuur 54. Verschilplot van ureum.

Urinezuur



Figuur 55. Grafiek passing-bablok, waarin urinezuur test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



Figuur 56. Verschilplot van urinezuur.

Bijlage 3: Natriumcarbonaat

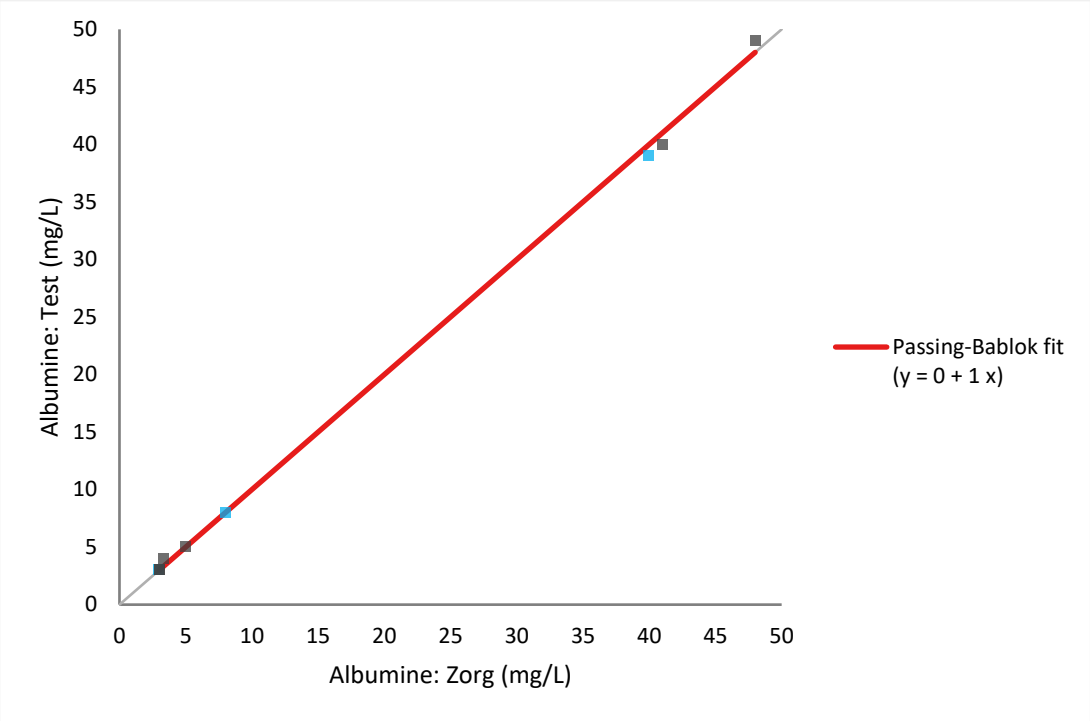
Tabel 11. Alle gemeten concentraties van de parameters albumine, calcium, chloride, fosfaat, glucose en kalium met natriumcarbonaat.

	Albumine (mg/L)		Calcium (mmol/L)		Chloride (mmol/L)		Fosfaat (mmol/L)		Glucose (mmol/L)		Kalium (mmol/L)	
Deelnemer	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**
1	3	3	4,46		52		14,01		0,2		30,7	30,5
2	34		2,01		27		11,83		1		30,9	
3	10		3,16		93		17,23		0,3		49,4	
4	49	48	1,81	1,67	49	47	9,4	9,66	0,1	0,1	34,8	35,6
5	40	41	0,2	0,2	22	23	6,22	6,33	0	0,1	18	18,2
6	5	5	0,75	0,71	92	93	23,69	22,76	0,1	0,1	54,7	51,7
7	3	3	2,04	1,97	106	102	13,6	13,53	0,4	0,4	27,9	28,3
8	4	3,3	0,41	0,44	41	42	7,14	7,22	0,1	0,12	20,6	20,7
9	8	8	0,5	2,42					0,1	0,099	28,4	28,6
10	2,99	2,99	0,21	0,5					8,5	8,5	21,2	21,6
11	39	40	0,22	0,24					0,099	0,1	24,6	24,4

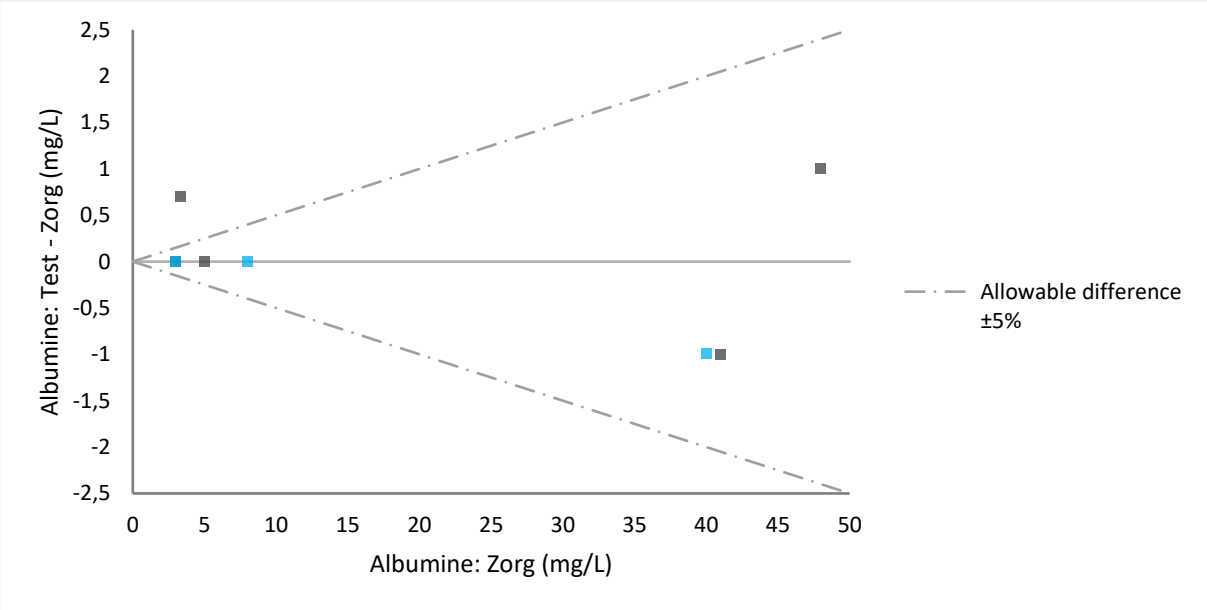
Tabel 12. Alle gemeten concentraties van de parameters kreatinine, magnesium, natrium, totaal eiwit, ureum en urinezuur met natriumcarbonaat. Ook is het volume van het bokaal weergegeven.

	Kreatinine (mmol/L)		Magnesium (mmol/L)		Natrium (mmol/L)		Eiwit tot. (g/L)		Ureum (mmol/L)		Urinezuur (mmol/L)	
Deelnemer	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	**Zorg**	**Test**	
1	6,6	6,7	2,74		52	52	0,06	0,04	145,1	142,7	1,48	2960
2	3,4	3,4	1,24		31	31	0,07	0,08	98,2	98,9	0,98	2910
3	7,7	7,8	1,7		97	96	0,07	0,07	218,2	214,8	2,48	1980
4	3,8	3,8	1,5	1,48	61	52	0,25	0,26	173,4	173,4	1,26	1920
5	3,3	3,3	1,14	1,13	31	29	0,07	0,07	82,2	84,3	0,57	2900
6	6,9	7,1	3,4	3,31	113	106	0,06	0,07	266,1	272,9	1,73	1510
7	9,6	9,9	5,12	5,17	109	103	0,06	0,06	286,2	297,4	1,72	1290
8	4,9	5	0,98	1,16	52	48	0,04	0,04	153,2	152,7	1,06	2750
9							0,039	0,48		0,5	0,48	
10							0,039	0,039		0,69	0,68	
11							0,07	0,06		0,65	0,62	

Albumine

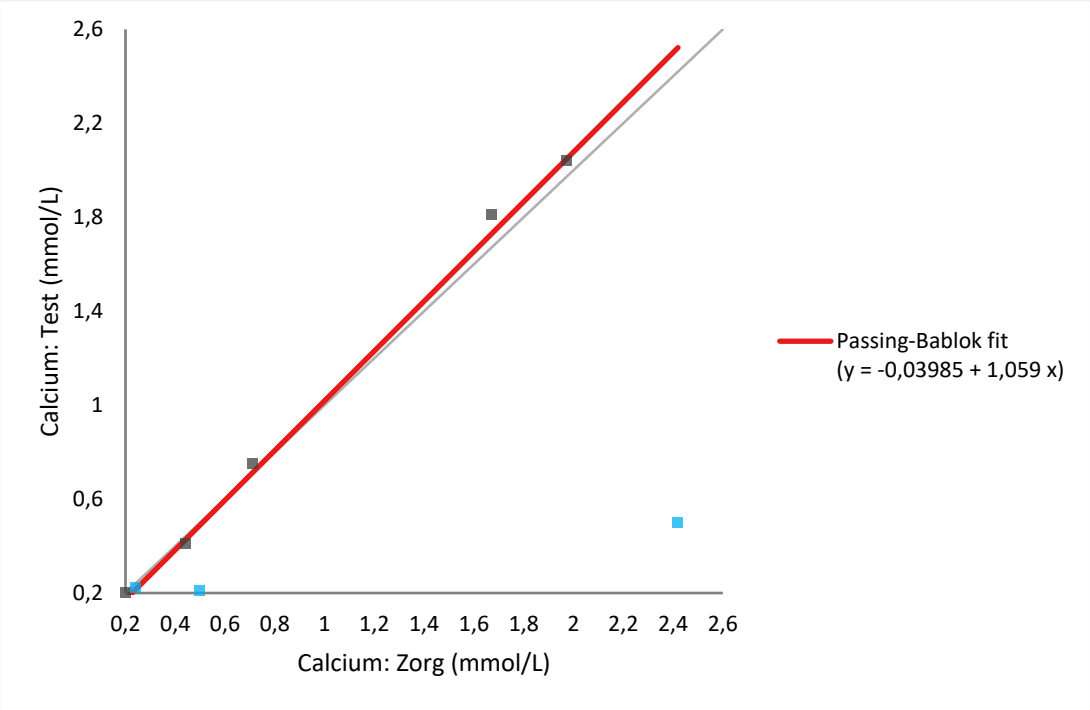


Figuur 57. Grafiek passing-bablok, waarin albumine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



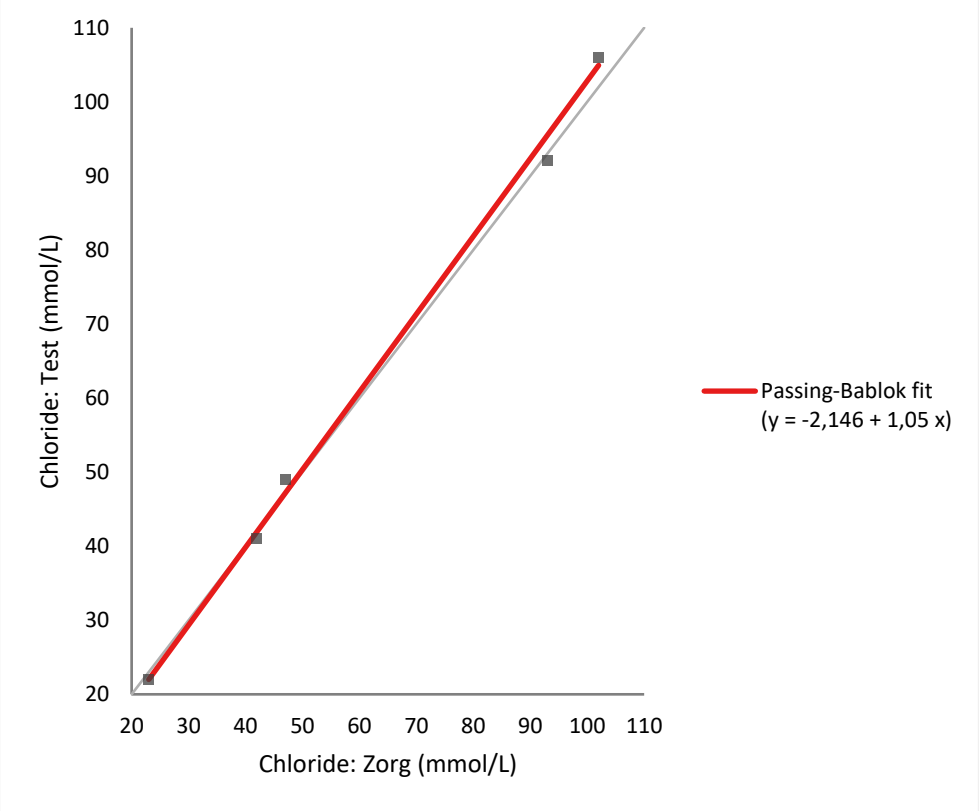
Figuur 58. Verschilplot van albumine.

Calcium

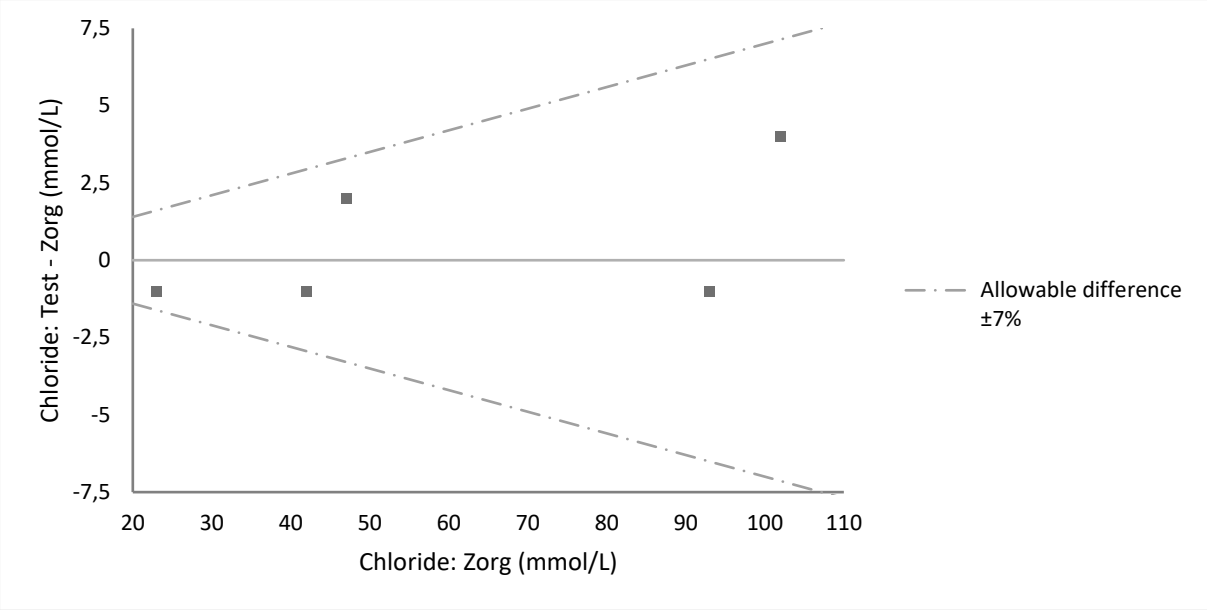


Figuur 59. Grafiek passing-bablok, waarin calcium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Chloride

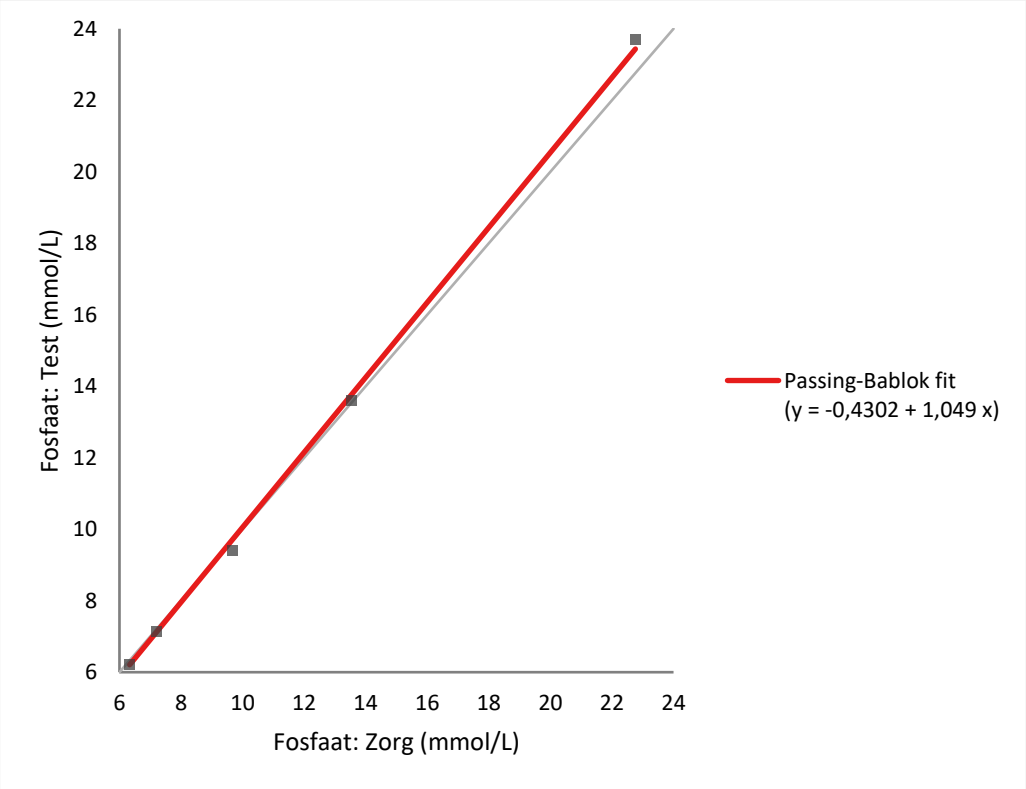


Figuur 60. Grafiek passing-bablok, waarin chloride test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

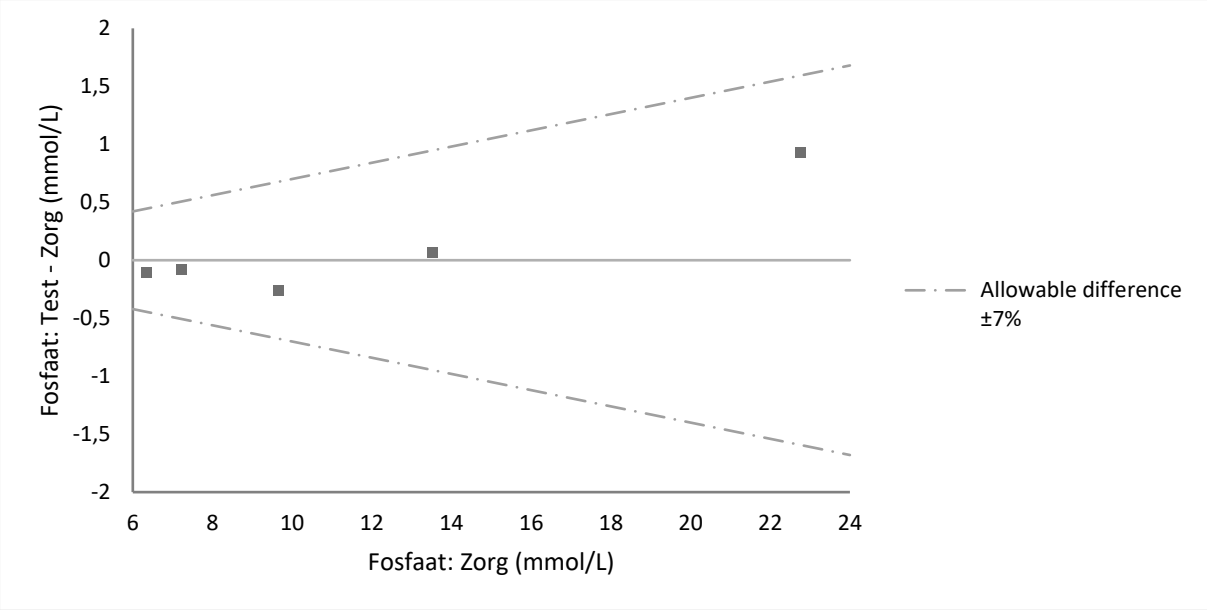


Figuur 61. Verschilplot van chloride.

Fosfaat

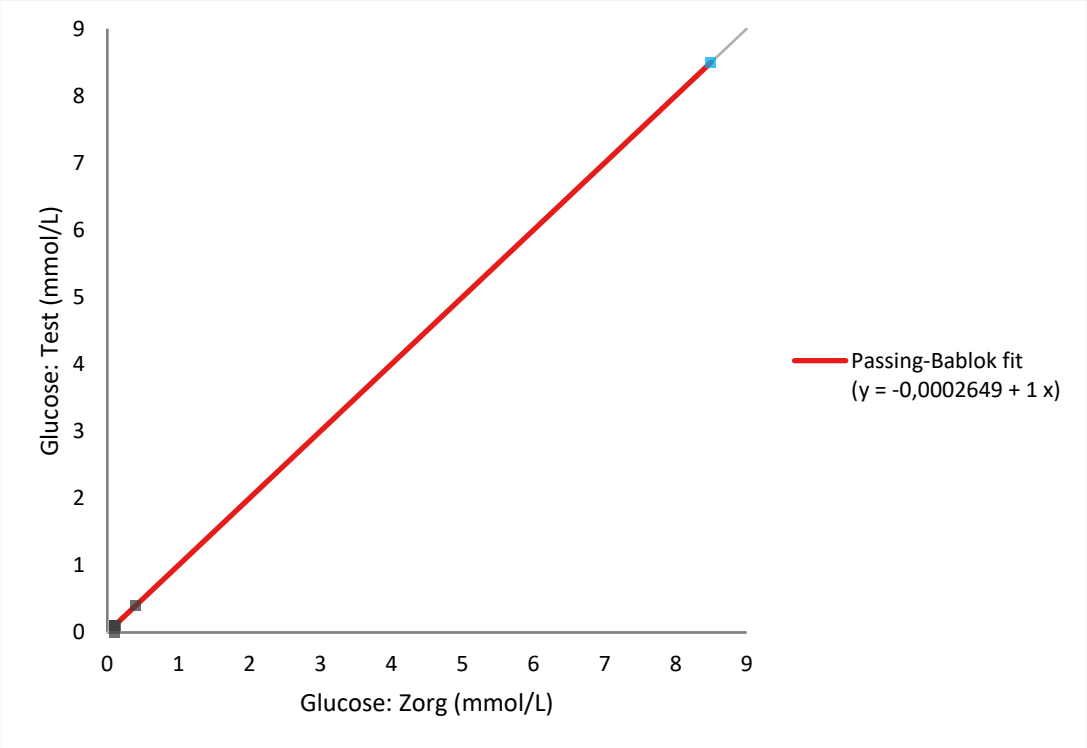


Figuur 62. Grafiek passing-bablok, waarin fosfaat test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



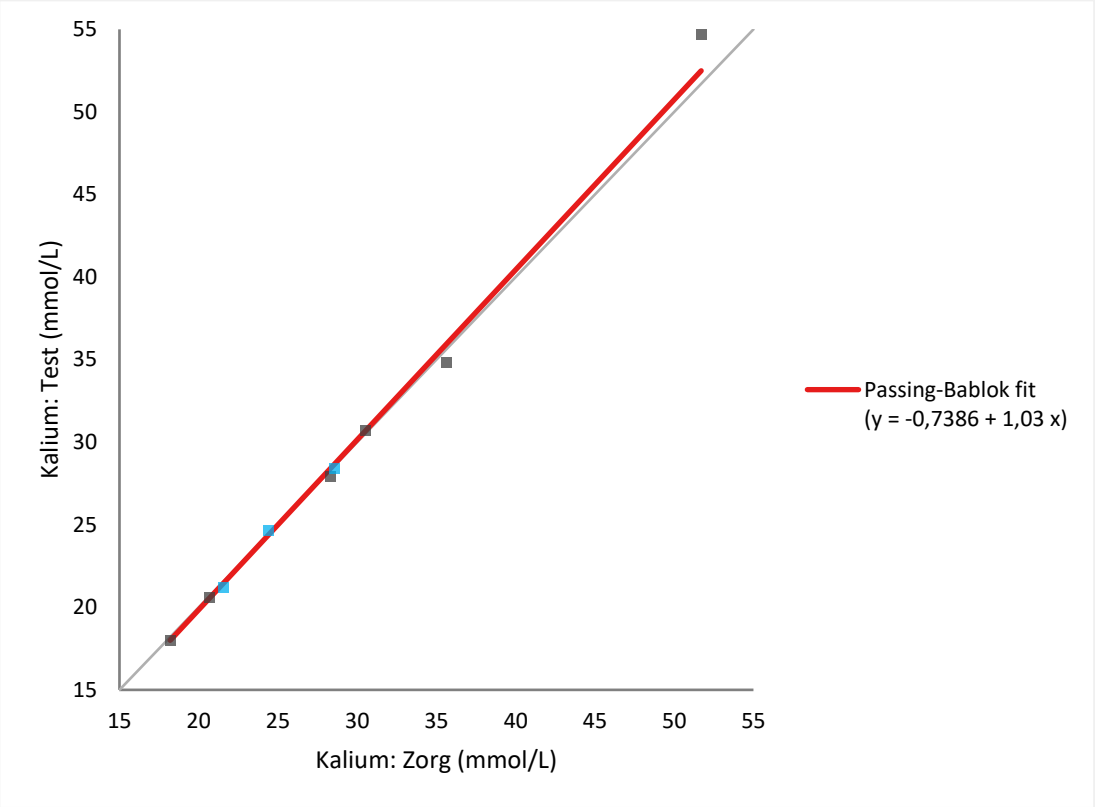
Figuur 63. Verschilplot van fosfaat.

Glucose

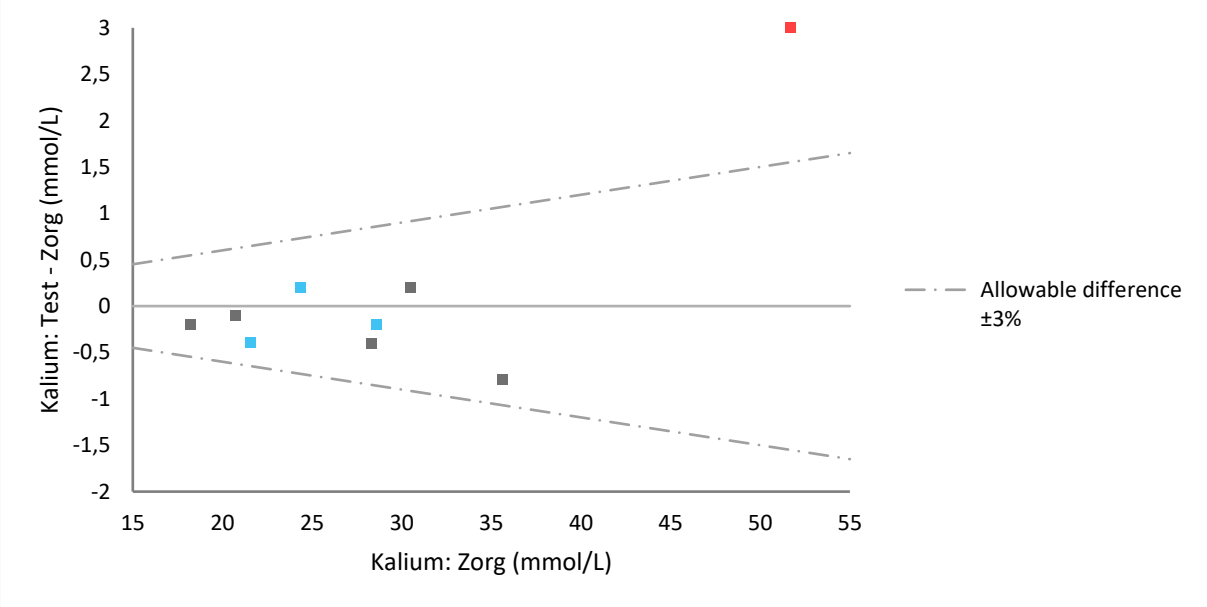


Figuur 64. Grafiek passing-bablok, waarin glucose test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Kalium

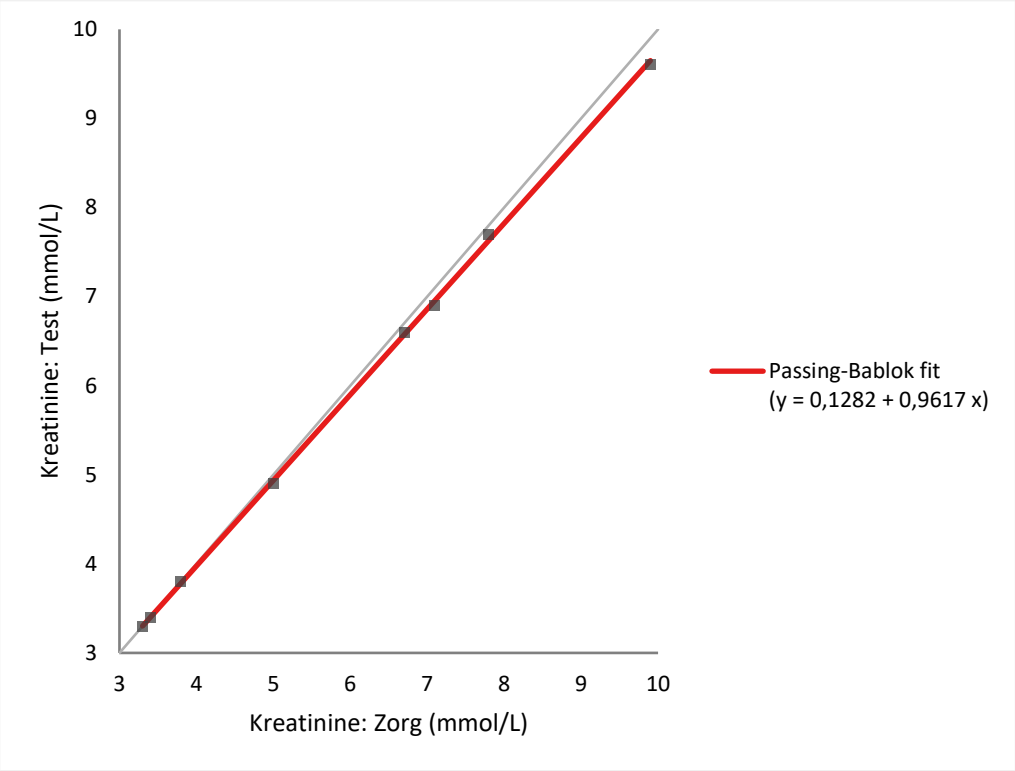


Figuur 65. Grafiek passing-bablok, waarin kalium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

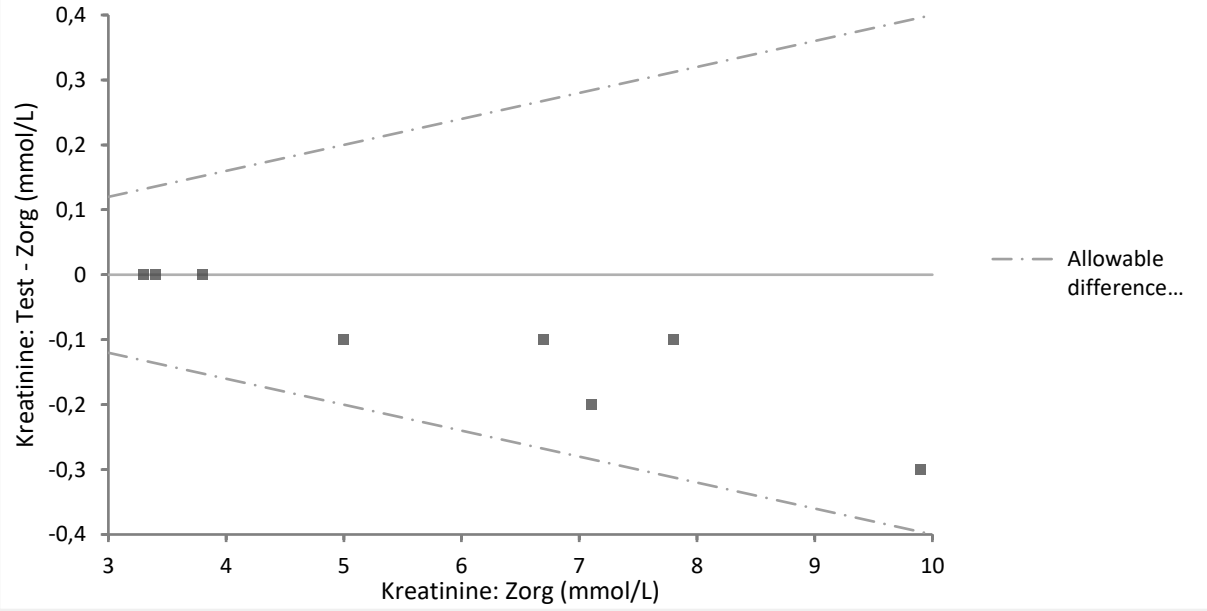


Figuur 66. Verschilplot van kalium.

Kreatinine

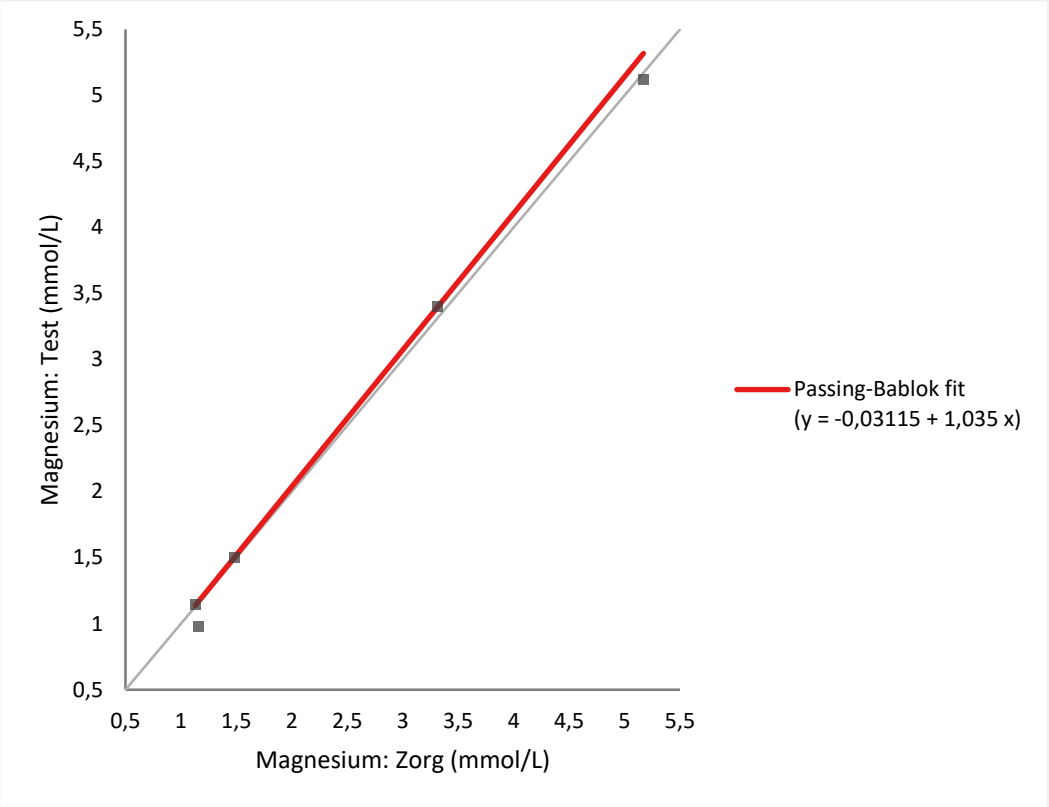


Figuur 67. Grafiek passing-bablok, waarin kreatinine test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

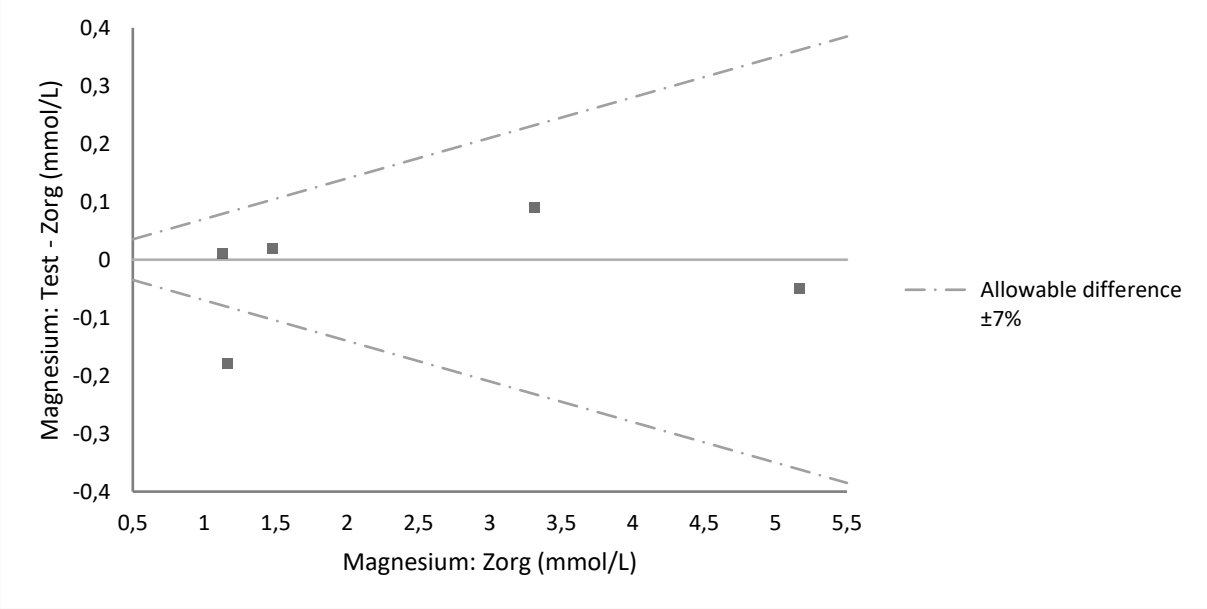


Figuur 68. Verschilplot van kreatinine.

Magnesium

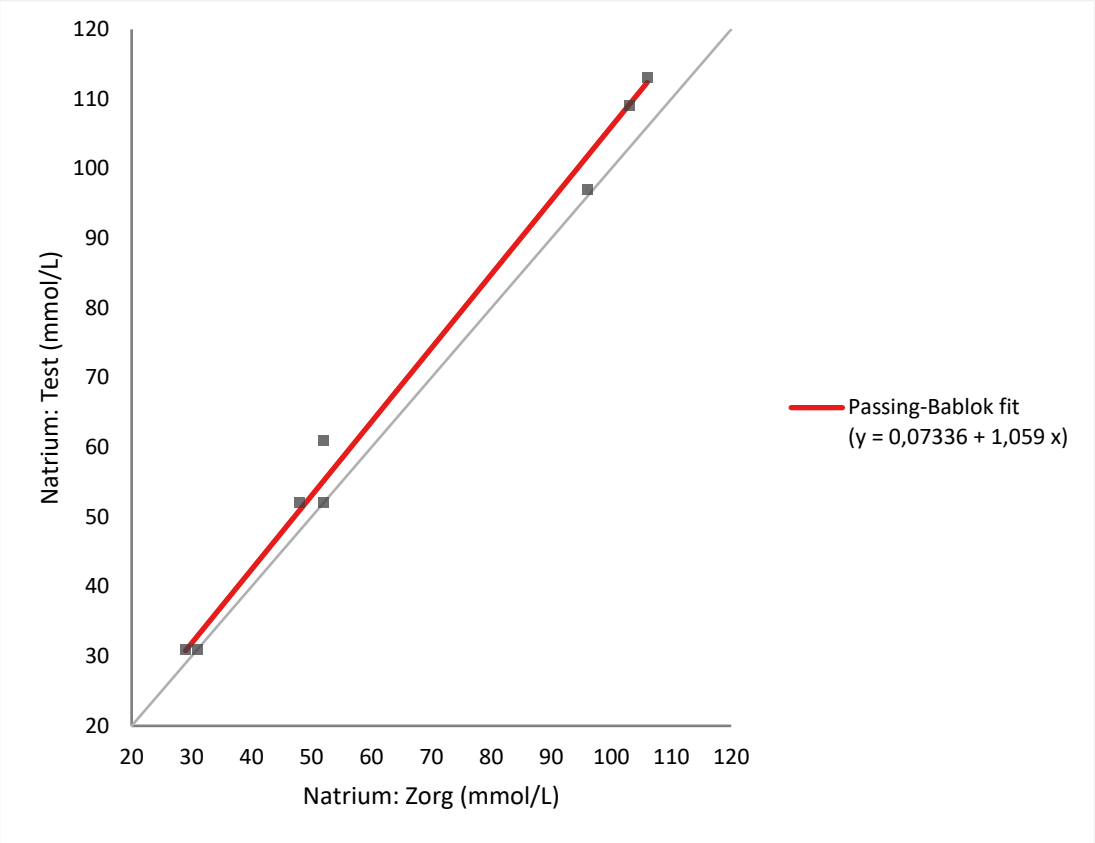


Figuur 69. Grafiek passing-bablok, waarin magnesium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



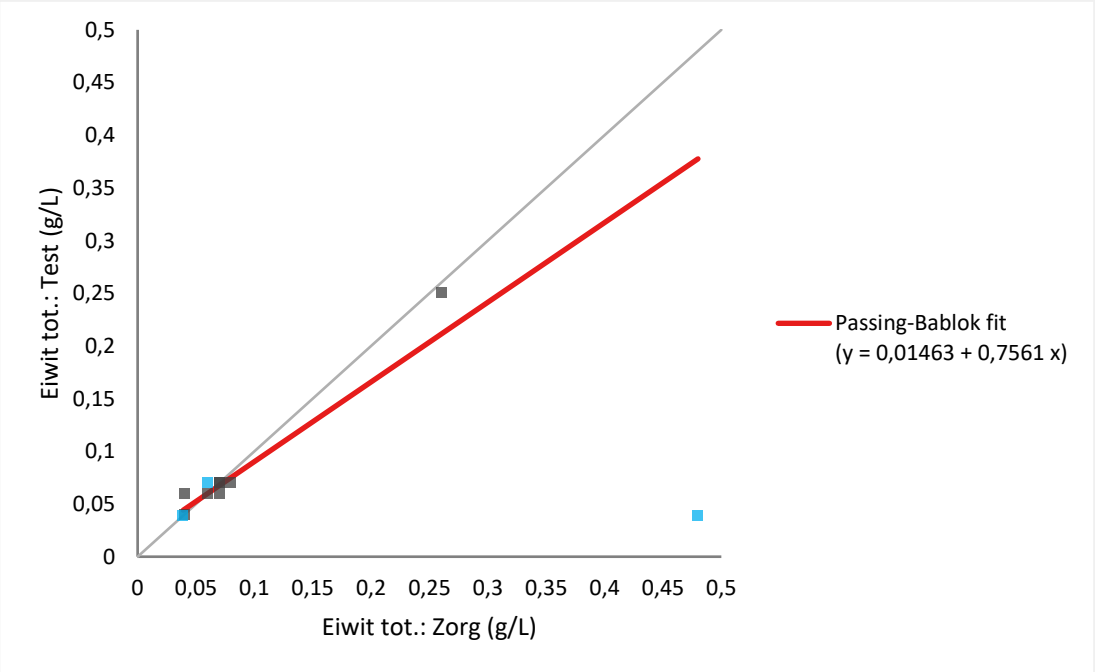
Figuur 70. Verschilplot van magnesium.

Natrium



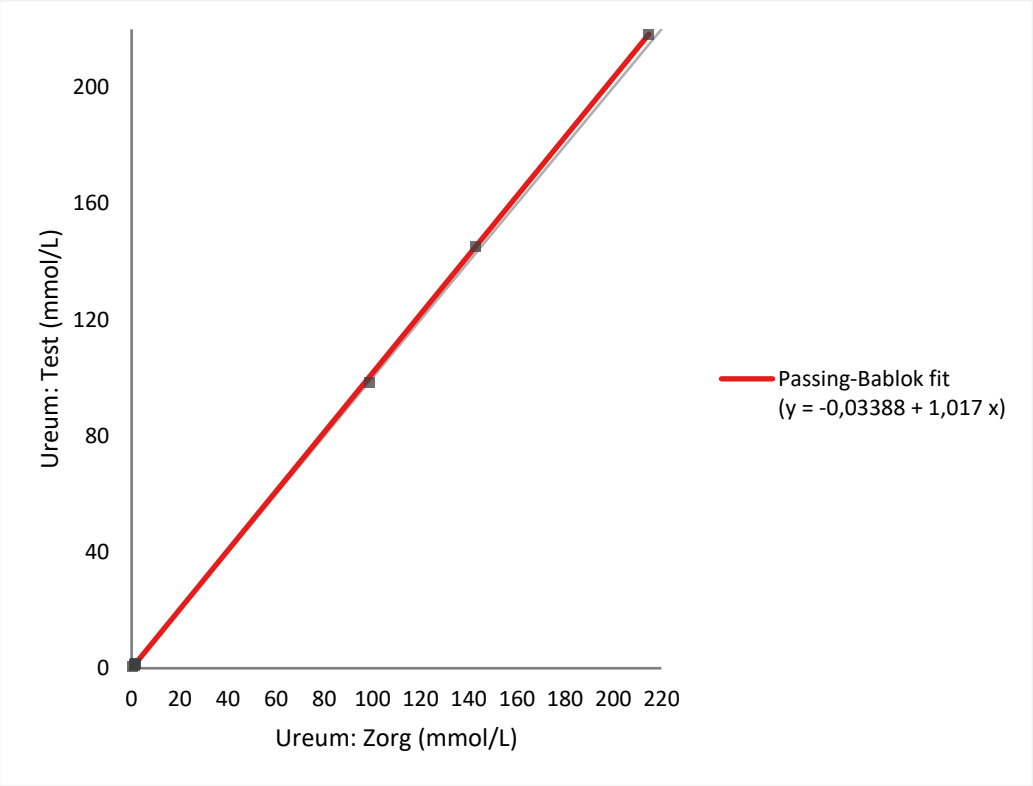
Figuur 71. Grafiek passing-bablok, waarin natrium test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Totaal eiwit

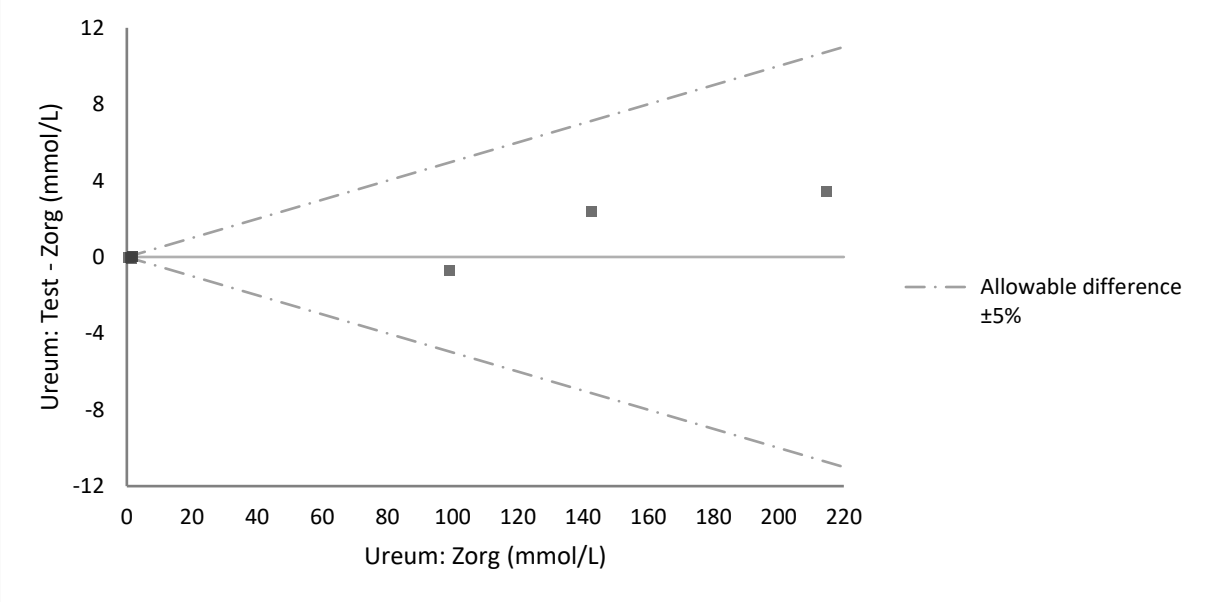


Figuur 72. Grafiek passing-bablok, waarin totaal eiwit test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

Ureum

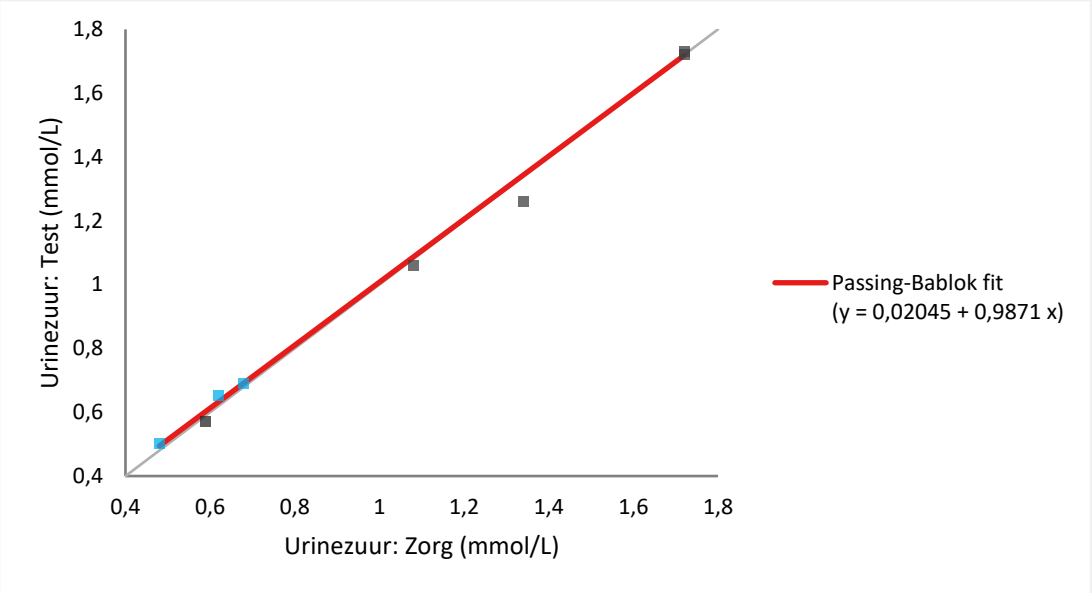


Figuur 73. Grafiek passing-bablok, waarin ureum test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.

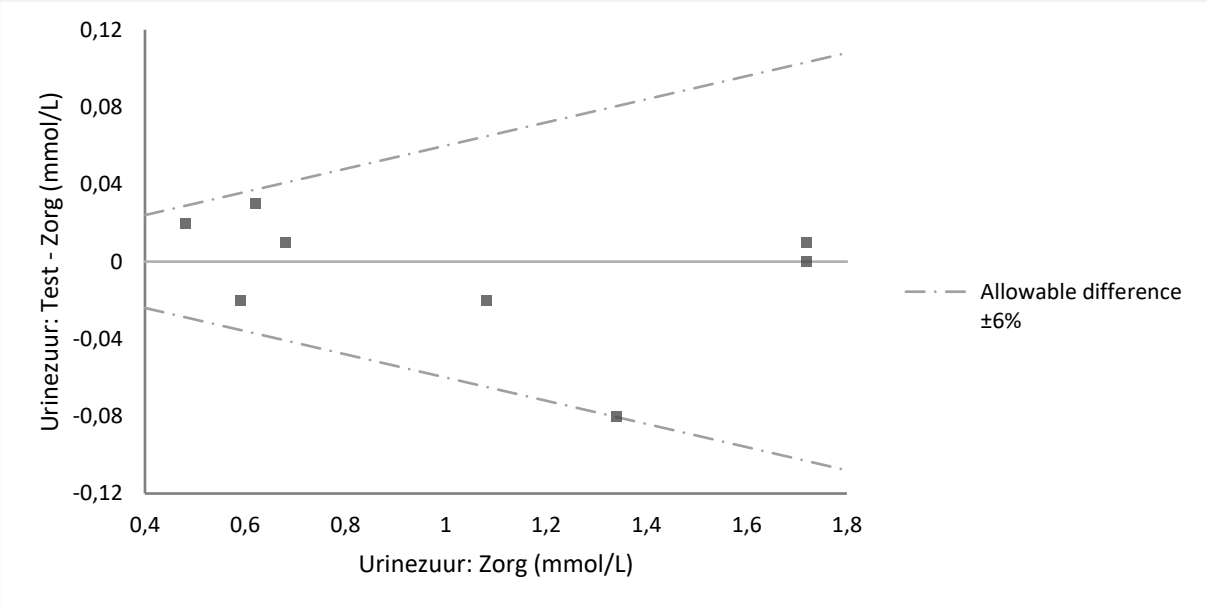


Figuur 74. Verschilplot van ureum.

Urinezuur



Figuur 75. Grafiek passing-bablok, waarin urinezuur test en zorg tegen elkaar uitgezet zijn.



Figuur 76. Verschilplot van urinezuur.