

Introductie van apolipoproteïne-A-I- en -B-bepalingen op het klinisch-chemisch laboratorium: wat weerhoudt ons?

C. COBBAERT¹, E.S.G. STROES² en H. BAADENHUIJSEN³

De analytische kwaliteit van de apo(lipoproteïne) -A-I- en -B-bepalingen in Nederland is anno 2004 in SKML-verband geëvalueerd. De analytische kwaliteit werd getest met commuteerbare kwaliteitscontrolematerialen waaraan referentiewaarden zijn toegekend. Op 150 deelnemende klinisch-chemische laboratoria voeren 22 laboratoria routinematig apo-A-I- en -B-bepalingen uit. Gepoolde data uit zes tweemaandelijks rondzendingen tonen aan dat de gemiddelde binnenlabprecisie voor apo B en apo A-I 4,5% respectievelijk 4,0% bedraagt. De gemiddelde absolute bias voor apo B en apo A-I is 6,8% respectievelijk 8,6%. De gemiddelde interlaboratoriumvariatie voor apo B en apo A-I bedraagt 8,6% respectievelijk 9,9%.

Eén jaar na IVD-98/79/EC-implementatie, blijkt de gemiddelde binnenlabprecisie en bias voor de apo-A-I- en -B-bepalingen niet te voldoen aan de gewenste kwaliteit afgeleid uit biologische variatiegegevens. Ondanks de beschikbaarheid van internationaal erkende referentiesystemen en wettelijke kaders is er ruimte voor verdere verbetering van de apo-A-I- en -B-standaardisatie.

‘Changing times?’

Screening met behulp van cholesterol: de beperkingen
De huidige klinische praktijk van cardiovasculair risicomanagement is grotendeels gestoeld op een schatting van het individuele risico op het ontwikkelen van een toekomstig cardiovasculair ‘event’ (1-3). Hierbij wordt veelal gebruik gemaakt van rekenmodellen zoals de ‘Framingham’, waarmee het risico wordt berekend op grond van geslacht en leeftijd van de patiënt, diens bloeddruk en cholesterolgehalte, alsmede de aanwezigheid van diabetes mellitus en eventueel rookgedrag. Hoewel deze methode een nauwkeurige schatting oplevert van het cardiovasculaire risico, is de rol van cholesterolgehalten hierbij in toenemende mate aan discussie onderhevig. Allereerst blijkt dat het meten van het cholesterolgehalte niet

altijd adequaat onderscheid maakt tussen hen die hart- en vaatziekten ontwikkelen en hen die hiervan gevrijwaard blijven. In een grote, prospectieve ‘case control’-studie (n=21.520) bleek het totaal cholesterolgehalte als screeningparameter slechts 12% van de totale hoeveelheid patiënten met hart- en vaatziekten op voorhand als zodanig te herkennen. Dit ging echter ten koste van een 5% fout-positieve waarde (4). Dit laatste illustreert een zeer beperkt onderscheidend vermogen, hetgeen de waarde van cholesterol als screeningparameter beperkt. Een tweede ‘nadeel’ doet zich voor bij patiënten met een relatief laag cholesterolgehalte. Onder deze condities blijkt de waarde van LDL-c als voorspeller voor het optreden van hart- en vaatziekten minimaal te zijn (5). Dit laatste is een uiterst relevante observatie, aangezien het aantal patiënten met een verhoogd cardiovasculair risico zonder een duidelijke LDL-c-verhoging sterk aan het toenemen is (patiënten met diabetes mellitus type 2 of metabool syndroom). Tenslotte zijn aan het gebruik van cholesterol enkele praktische nadelen verbonden. Zo dient een patiënt in nuchtere situatie bloed te laten afnemen voor een adequate interpretatie van het lipidspectrum. Ook is het een nadeel dat LDL-c-concentratie berekend wordt, terwijl de betrouwbaarheid van deze berekening minder goed uitpakt bij enerzijds lage LDL-c-getallen en anderzijds hoge triglyceridgehaltes (6).

Lijst met afkortingen

Apo A-I	apolipoproteïne A-I
Apo B	apolipoproteïne B
BIPM	Bureau International de Poids et Mesure
CE	Communauté Européenne (European Community)
CV	variatiecoëfficiënt
EQA	External Quality Assessment
HDL-c	High Density Lipoprotein cholesterol
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
ILAC	International Laboratory Accreditation Cooperation
INA	immunonefelometrische bepalingen
ITA	immunoturbidimetrische bepalingen
JCTLM	Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine
LDL-c	Low Density Lipoprotein cholesterol
SKML	Stichting Kwaliteitszorg Medische Laboratoria
TC	totaal cholesterol
TG	triglyceriden
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Amphia Ziekenhuis, Breda¹, Vasculaire geneeskunde, AMC, Amsterdam² en SKML, Universitair Medisch Centrum Nijmegen, Nijmegen³

Correspondentie: dr. C. Cobbaert, KCHL, Locatie Langendijk, Langendijk 75, 4819 EV Breda
Email: ccobbaert@amphia.nl

Screening met behulp van apolipoproteïnes: een verbetering?

De relatie tussen apolipoproteïnen, de belangrijkste eiwitmarkers van cholesteroldeeltjes, en cardiovasculair risico is reeds lang onderwerp van wetenschappelijk onderzoek. Al in 1979 maakten Avogaro et al. (7) melding van het feit dat apolipoproteïne B (apoB) en A-I (apoA-I), alsmede de ratio van deze twee (apoB/A-I), beter onderscheid maakten tussen patiënten mét en zónder hart- en vaatziekten in vergelijking met klassieke lipiden. De rationale voor een betere voorspellende waarde beruiste met name op het feit dat apo B aanwezig is op alle atherogene lipidenpartikels zoals VLDL, IDL en LDL en dus een reflectie is van de totale atherogene last, in tegenstelling tot een geïsoleerd LDL-c-getal. De meerwaarde van apoA-I ten opzichte van HDL-c werd mede verklaard door het feit dat apoA-I, verantwoordelijk voor activatie van vele enzymen, betrokken is bij het 'reverse' cholesteroltransport. Inderdaad kon, na de invoering van de gestandaardiseerde laboratoriumtechnieken (8, 9) in grote studies bevestigd worden dat de apoB/A-I-ratio een betere voorspellende waarde had voor het optreden van hart- en vaatziekten dan de klassieke lipidenparameters (5, 10). In een grote 'case control'-studie uit het EPIC Norfolk-cohort is recent onomstotelijk aangetoond dat de apoB/AI-ratio predictieve waarde heeft voor hart- en vaatziekten zelfs na correctie voor de TC/HDL-c-ratio; de meest markante observatie is de toegevoegde waarde bovenop de veel gebruikte risicocalculatoren zoals de Framingham-score (11, 12). Een bijkomend, praktisch voordeel van het meten van apolipoproteïnen bestaat uit het feit dat deze parameters ongevoelig zijn voor de voedingstatus van de patiënt, zodat eventueel gebruik van apolipoproteïnen tevens logistieke voordelen biedt.

Van cholesterol naar apolipoproteïnen: zijn we er klaar voor?

Op basis van bovenstaande argumenten zal naar verwachting een verschuiving optreden van het bepalen van het lipidspectrum naar het meten van apolipoproteïnes A-I en B. In die context is de roep naar goed gestandaardiseerde apo-A-I- en -B-bepalingen steeds luider en leek het ons zinvol om een nulmeting uit te voeren en de stand van zaken te beschrijven m.b.t. de beschikbaarheid en de kwaliteit van de vigerende lipiden- en apolipoproteïne-A-I- en -B-bepalingen in Nederland.

Lipiden- en apolipoproteïne-A-I- en -B-bepalingen in klinisch-chemische laboratoria in Nederland anno 2004

De metingen van totaal cholesterol en triglyceriden berusten in alle klinisch-chemische laboratoria in Nederland op een specifieke enzymatische reactie, direct in serum of plasma, en zijn sinds circa 25 jaar geautomatiseerd. Ze maken onderdeel uit van het routinepakket van chemieanalyseapparatuur.

De metingen van HDL-c en LDL-c zijn in de voorbije decade gewijzigd van bewerkelijke precipitatie technieken met een aparte, manuele voorbehandelingsstap, naar directe, geautomatiseerde methoden (13-15). Alle

directe HDL-c- en LDL-c-methoden gebruiken een kwantificeringsprincipe op basis van oppervlakte-actieve stoffen en polyanionen. De directe methoden zijn evenwel kwetsbaar, omdat specificiteit verloren gaat bij kleine wijzigingen in de onderlinge samenstelling van de reagentibestanddelen en soms ook bij pathologische sera.

Van de 150 laboratoria die participeren in de externe kwaliteitsbewaking van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria (SKML) zijn er 135 (90%) overgegaan naar een directe HDL-c-meting. LDL-c daarentegen wordt slechts in een fractie van de klinisch-chemische labs (28 labs) extern gecontroleerd via de SKML, hetgeen zeer waarschijnlijk een afspiegeling vormt van de mate waarin Nederlandse klinisch-chemische laboratoria LDL-c officieel rapporteren. Onder die 28 labs blijken 18 labs LDL-c te berekenen volgens Friedewald en zes labs LDL-c te meten met een directe LDL-c-meting; vier labs maken deel uit van de categorie 'overige'. Onder de 150 deelnemende labs voeren 22 labs routinematig immunochemische apo-A-I- en -B-bepalingen uit, op basis van immunoturbidimetrie (ITA) op routineklinische chemieanalyzers (6 labs) dan wel op basis van immunonefelometrie (INA) op 'dedicated' nefelometers (16 labs). Uit deze inventarisatie blijkt dat in Nederland onder de huidige CBO Cholesterol Consensus (1) noch directe LDL-c-, noch apo-A-I- en -B-bepalingen breed zijn ingevoerd.

Wat meten we in geval van een LDL-c-test en wat meten we in een apo-B-test?

LDL-c is de hoeveelheid cholesterol aanwezig in LDL-partikels per liter plasma. LDL-partikels verschillen evenwel m.b.t. hun cholesterolinhoud. Elk VLDL- en LDL-partikel daarentegen bevat één molecuul apo B; daarom is het plasma-apo-B-gehalte o.a. een goede maat voor het aantal atherogene partikels. Daarnaast is de meerderheid van de LDL-partikels bij normalen cholesterolrijk, 'large buoyant LDL', terwijl slechts een klein deel cholesterolarm, 'small dense LDL' is. Door het meten van apo B in combinatie met TG is het mogelijk om een onderscheid te maken tussen de zeer atherogene hypertriglyceridemische hyperapo-B-lipoproteïnemie (met verhoogd aantal VLDL- en 'small dense LDL'-partikels) en de minder atherogene hypertriglyceridemische normo-apo-B-lipoproteïnemie (met triglyceridrijker VLDL zonder toename van het aantal VLDL- en 'small dense LDL'-partikels) (16). Uit de Quebec Cardiovascular Study is immers gebleken dat zowel het apo-B-partikel-aantal als de LDL-partikelsamenstelling relevant zijn (17). Uit de resultaten van de Atorvastatin Comparative Cholesterol Efficacy and Safety Study (ACCESS) is gebleken dat bij een behandeling met een statine men niet alleen dient te streven naar een laag LDL-cholesterolgehalte, maar ook naar een laag aantal LDL-deeltjes (18). Het streven naar een laag LDL-c-gehalte kan leiden tot onderbehandeling. Bij een subgroep van ruim 1800 patiënten met een verhoogd cholesterolgehalte was het LDL-cholesterolgehalte door behandeling met een statine gedaald tot beneden de 2,5 mmol/l. De concentratie van apo B

was echter veel minder gedaald. Afgaand op de LDL-c-concentratie was de behandeling een groot succes; uitgaand van de concentratie van apoB was het succes echter matig. Het aantal deeltjes was veel minder gedaald. Beide aspecten dienen daarom beoordeeld te worden in de atherogene risicoschatting. Bepaling van LDL-c laat niet toe om inzicht te krijgen in het LDL-partikel aantal én de LDL-samenstelling; apo-B-bepaling, in combinatie met TG, laat dit wel toe (16, 19-21).

Relevante preanalytische en methodologische voordelen van apo-B-meting t.o.v. LDL-c-berekening

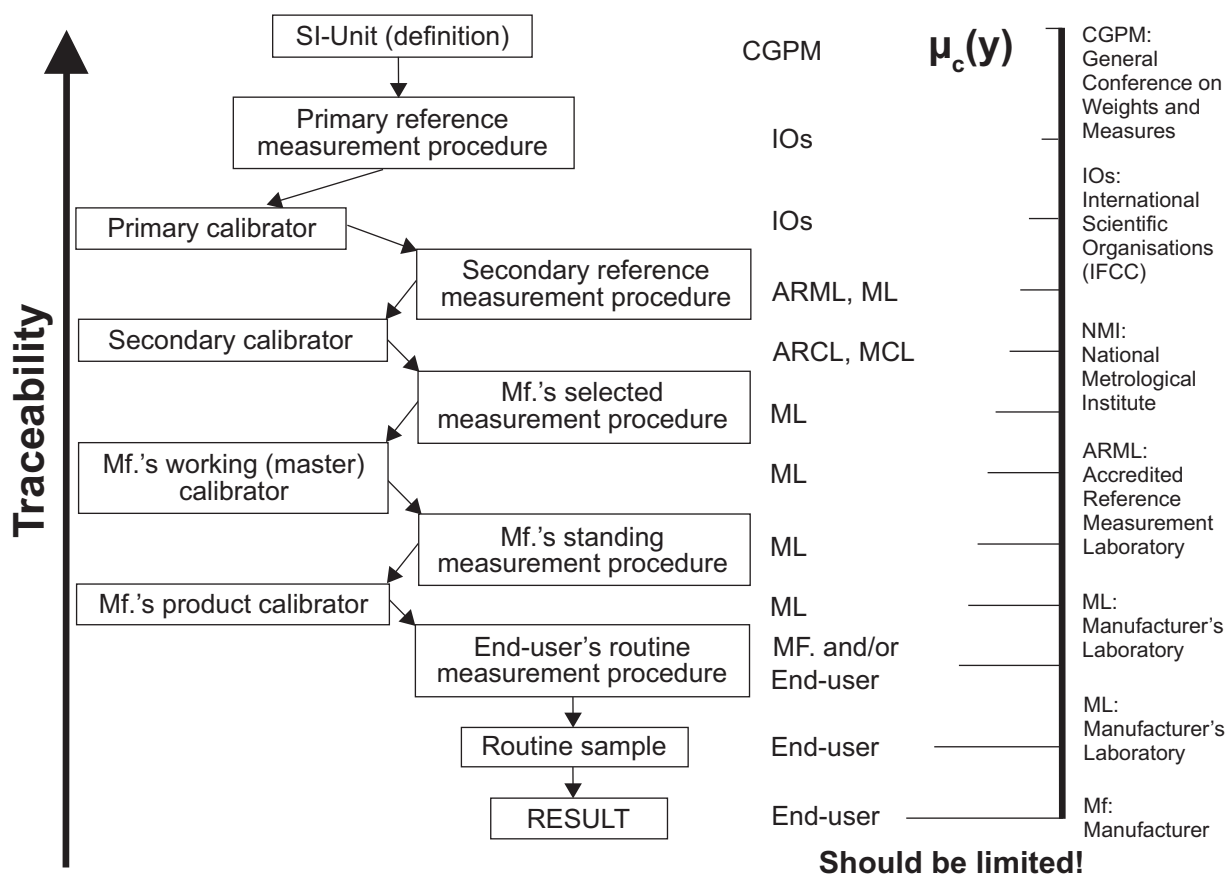
De Friedewald-LDL-c-berekening heeft duidelijke methodologische tekortkomingen. LDL-c wordt immers berekend uit TC, TG en HDL-c ($LDL-c = TC - (TG/2,2) - HDL-c$; alle parameters uitgedrukt in mmol/l). Deze formule veronderstelt afwezigheid van andere lipoproteïnen dan LDL, VLDL en HDL en omvat evenzeer Lp(a)-cholesterol. De formule is niet bruikbaar bij aanwezigheid van chylomicronen of niet nuchtere afnames, bij aanwezigheid van IDL en bij $TG > 4,5$ mmol/l. De methodologische fout is afhankelijk van de gecumuleerde meetfouten in de bepalingen van TC, TG en HDL-c. Meetfouten zijn relatief groot in het lagere, therapeutische LDL-c-gebied en zijn problematisch in diabetische patiënten met een 'normaal LDL-c' (6).

Apo-B-meting kan zowel in nuchtere als in niet nuchtere afnames: apo-B-meting wordt, afhankelijk van de gebruikte antistoffen, helemaal niet of slechts verwaarloosbaar beïnvloed door apo-B48-gehalte in chylomicronen. De immunochemische apo-B-assay is zeer specifiek door het gebruik van specifieke antistoffen en meet met de huidige applicaties juist, ook in aanwezigheid van hoge concentraties TG.

Essentiële randvoorwaarden voor brede invoering van apoA-I en B in de dagelijkse praktijk

Uitgaande van beschikbaarheid van populatiegebaseerde referentiewaarden en besliscriteria voor diagnose en behandeling van dyslipidemie, zijn essentiële randvoorwaarden voor toekomstige routineapplicatie van apo A-I en apo B in klinisch-chemische laboratoria:

- beschikbaarheid van CE-gemarkeerde applicaties op routine klinische-chemieapparatuur;
- prijsstelling vergelijkbaar aan die van directe HDL-c- of LDL-c-testmethoden;
- internationale standaardisatie middels een eenduidig gespecificeerd en internationaal erkend referentiesysteem;
- onafhankelijke externe kwaliteitstoetsing van apo-A-I- en apo-B-meetresultaten.



Figuur 1. Traceerbaarheid van meetresultaten naar een SI-standaard van hogere orde. Links is de methode- en kalibratorhiërarchie en traceerbaarheid aangegeven; rechts is de meetonzekerheid $\mu_c(y)$ vermeld. Over de traceerbaarheidsketen heen neemt de meetonzekerheid toe. De verantwoordelijkheden van de instanties die betrokken zijn bij het borgen van de traceerbaarheid (CGPM, metrologische instituten, referentielaboratoria, IFCC, diagnosticafabrikanten en eindgebruiker) zijn rechts aangegeven. De verantwoordelijkheid van de diagnosticafabrikant voor metrologische traceerbaarheid begint bij de toegekende waarde aan de productkalibrator en eindigt bij de secundaire kalibrator of bij de secundaire referentiemethode (indien aanwezig). De fabrikant is eveneens verantwoordelijk voor de gebruikersinstructies.

Tabel 1. Internationaal erkende referentiesystemen voor lipiden en apolipoproteïnen

	Primary Reference method	Primary Reference material	Secondary Reference method	Secondary Reference material
Cholesterol	ID-MS	NIST SRM 911b pure cholesterol	Abell-Kendall (CDC)	CDC frozen pools NIST SRM 909 NIST SRM 1951a
HDL-c	NA	NA	UC- hep./Mn ²⁺ - Abell-Kendall (CDC)	CDC frozen pools NIST SRM 1951a
Triglycerides	ID-MS	NIST SRM 1595 Tripalmitin	Methylene chloride silicic acid-chromotropic acid (CDC)	CDC frozen pools NIST SRM 1951a
LDL-c	NA	NA	Beta-quantification (CDC)	CDC frozen pools NIST SRM 1951a
Apo A-I	HPLC-MS (CDC) (Candidate)	BCR-CRM 393 Purified apo A-I	NA	WHO reference reagent SP1-01 (for manufacturers). Labeled by CDC-RIA comparison method.
Apo B	NA	d = 1,030-1,050 g/ml UC purified LDL	NA	WHO reference reagent SP3-07 (for manufacturers). Labeled by NWLRL-immunonephelometry comparison method.

NA (= not available): niet beschikbaar. NWLRL = NorthWest Lipid Research Laboratory van Dr. Santica Marcovina

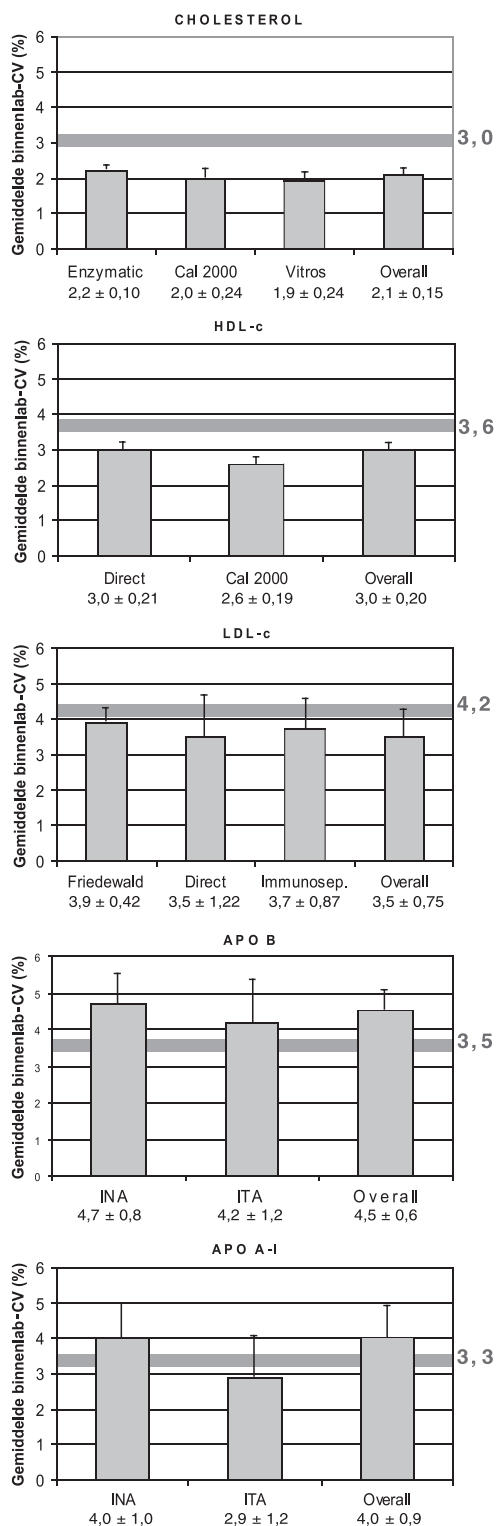
Standaardisatie in een internationaal kader

De recente implementatie van de IVD-richtlijn 98/79/EC per 7 december 2003 vormt voor behandelars en klinisch-chemische laboratoria een mijlpaal m.b.t. bevorderen van internationale standaardisatie / harmonisatie van laboratoriummeetresultaten. Immers, deze Europese richtlijn verplicht diagnostica-fabrikanten om transparantie te creëren ten aanzien van de traceerbaarheid van de meetresultaten. De richtlijn legt bovendien de verplichting op om traceerbaarheid naar "een standaard of procedure van hogere orde" te garanderen (figuur 1). Op die manier wordt bewerkstelligd dat juistheid ('accuracy') nagestreefd wordt en dat de interlaboratoriumvariatie verder gereduceerd wordt doordat fabrikanten, waar mogelijk, de methoden afijken op erkende referentiematerialen en -methoden. Daarmee wordt juistheid en/of harmonisatie van meetresultaten bevorderd en wordt de mondiale uitwisselbaarheid van data mogelijk gemaakt.

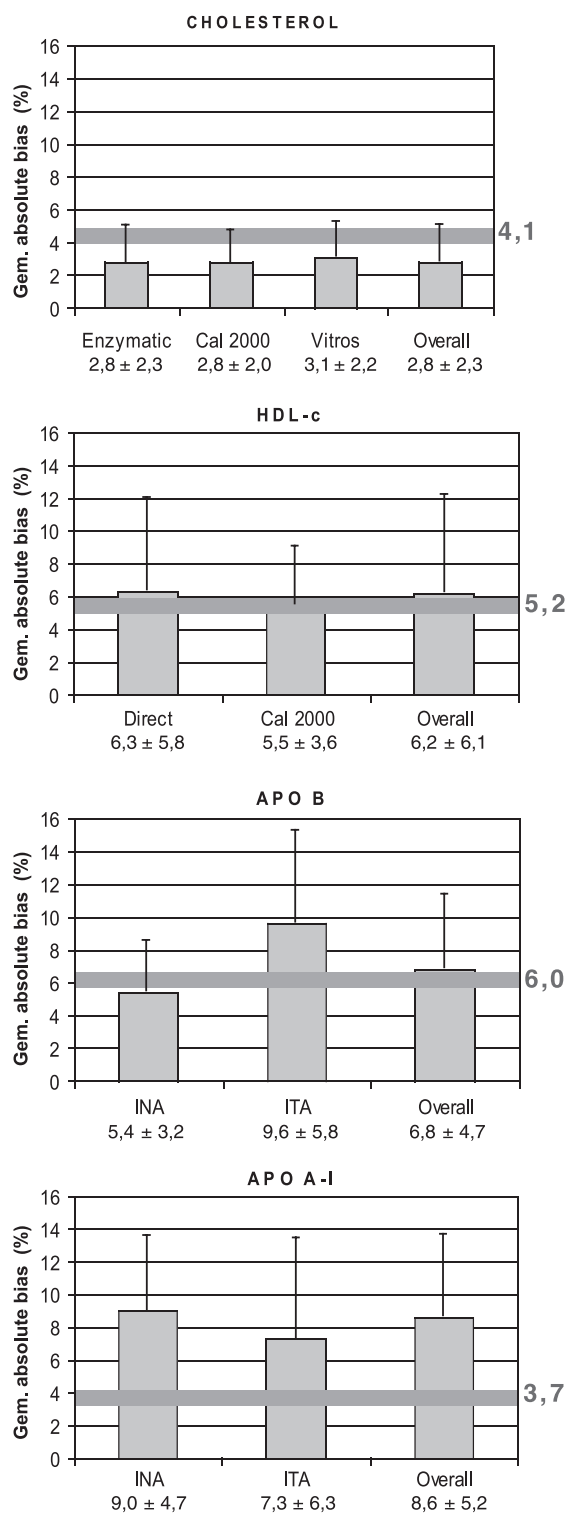
Om het moeizame traject van traceerbaarheid van meetresultaten en wereldwijde standaardisatie te faciliteren, werd onder auspiciën van BIPM, IFCC en ILAC in juni 2002 een internationale commissie, het 'Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine (JCTLM)', opgericht. Het JCTLM is sinds zijn oprichting bezig met de inventarisatie en toetsing van kandidaatreferentiematerialen, -referentiemethoden en -referentielaboratoria. Deze laatste worden, mits ze voldoen aan gestelde criteria, ondergebracht in "JCTLM-endorsed" lijsten die voor iedereen, maar met name de diagnostica-industrie, opvraagbaar zijn (www.bipm.org). Lipiden- en apolipoproteïne-referentiesystemen zijn beschikbaar, internationaal erkend en weergegeven in tabel 1.

Analytische kwaliteit van lipiden- en apolipoproteïne testmethoden in Nederland anno 2004

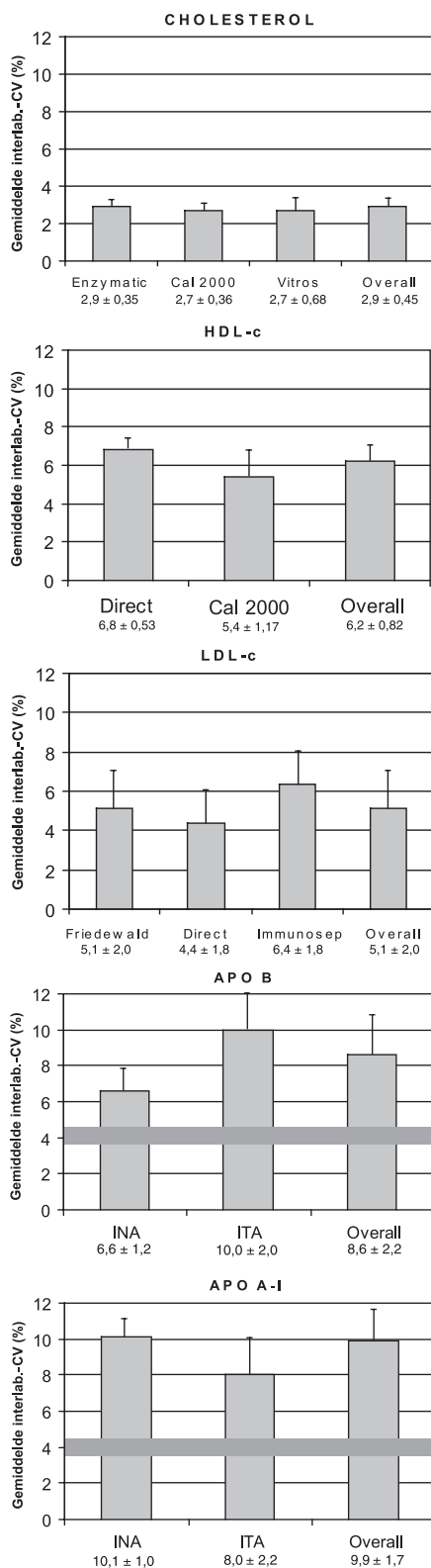
In Nederland is sinds 1998 door de stuurgroep Calibratie 2000 en de Sectie Algemene Chemie van de nationale organisatie voor externe kwaliteitsbewaking (SKML) gewerkt aan de ontwikkeling en introductie van juistheidverificatiematerialen (22-25). Voor lipiden en apolipoproteïnen zijn dit externe kwaliteitscontrole-materialen van zuiver humane herkomst, die bewezen commuteerbaar zijn (=zich gedragen als patiëntenmonsters) en waaraan waarden werden toegekend met de internationaal erkende referentiesystemen uit tabel 1. Deze juistheidverificatiematerialen worden sinds 2004 regulier ingezet in de externe kwaliteitsbewaking en laten toe om landelijk de juistheid c.q. bias van lipiden- en apolipoproteïnenmeetresultaten te onderzoeken. Anno 2004 blijkt dat de gemiddelde binnenlabprecisie voor totaal cholesterol, HDL-c, LDL-c, apo B en apo A-I respectievelijk 2,1%, 3,0%, 3,5%, 4,5% en 4,0% bedraagt (figuur 2). Voor alle lipiden is de gemiddelde binnenlabprecisie lager dan de toelaatbare CV_{analytisch}. De gemiddelde absolute bias voor totaal cholesterol, HDL-c, apo B en apo A-I bedraagt respectievelijk 2,8%; 6,2%; 6,8% en 8,6% (figuur 3). De toelaatbare bias op grond van biologische variatie bedraagt respectievelijk 4,1%; 5,2%; 6,0% en 3,7% (26). Alleen voor cholesterol blijkt de gemiddelde absolute bias kleiner te zijn dan de toelaatbare bias. De huidige gemiddelde interlaboratoriumvariatie -uitgedrukt in CV%- voor totaal cholesterol, HDL-c, LDL-c, apo B en apo A-I bedraagt respectievelijk 2,9%; 6,2%; 5,1%; 8,6% en 9,9% (figuur 4). Op basis van eigen onderzoek is vastgesteld dat met behulp van dergelijk juistheidverificatiemateriaal de interlaboratoriumspreiding voor apo A-I en B landelijk kan worden teruggebracht tot minder dan 4% (24).



Figuur 2. Gemiddelde binnenlaboratoriumvariatioëfficiënt (± 1 SD) van serum- of plasmalipiden en apolipoproteïnen in Nederland anno 2004 voor de belangrijkste SKML-methodegroepen. Cholesterol- en HDL-c-data zijn afkomstig van zes commuteerbare controlemonsters gemeten door 150 labs in zes tweemaandelijks rondzendingen; apo-A-I- en -B-data zijn gemeten in dezelfde zes commuteerbare monsters door 22 labs in zes rondzendingen; LDL-c-data zijn berekend dan wel gemeten met hetzelfde EQA-materiaal door 28 labs in zes rondzendingen. De rondzendingen werden in SKML-verband uitgevoerd. Per parameter en per methodegroep zijn de gemiddelde binnenlaboratorium-CV (grijze balk) + 1 SD (verticale lijn) in percent weergegeven. Toetsing vindt plaats t.o.v. de toelaatbare CV_{analytisch} (—). De toelaatbare CV_{analytisch} is gedefinieerd als 0,5 x de intra-individuele biologische variatioëfficiënt.



Figuur 3. Gemiddelde absolute bias (± 1 SD) van serum- of plasmalipiden en -apolipoproteïnen voor de belangrijkste SKML-methodegroepen in Nederland anno 2004. Cholesterol- en HDL-c-data zijn afkomstig van zes commuteerbare controlemonsters gemeten door 150 labs in zes tweemaandelijks rondzendingen; apo-A-I- en -B-data zijn gemeten in dezelfde zes commuteerbare monsters door 22 labs in zes rondzendingen. De rondzendingen werden in SKML-verband uitgevoerd. Per parameter en per methodegroep zijn de gemiddelde absolute bias (grijze balk) + 1 SD (verticale lijn) in percent weergegeven. Toetsing vindt plaats t.o.v. de toelaatbare bias (—). De toelaatbare bias is gedefinieerd als $0,25 \times (\text{toelaatbare CV}_{\text{analytisch}}^2 + \text{interindividuele biologische variatioëfficiënt}^2)^{1/2}$.



Figuur 4. Gemiddelde interlaboratoriumvariatiëcoëfficiënt (\pm 1 SD) van serum- of plasmalipiden en -apolipoproteïnen voor de belangrijkste SKML-methodegroepen in Nederland anno 2004. Cholesterol- en HDL-c-data zijn afkomstig van zes commuteerbare controlemonsters gemeten door 150 labs in zes tweemaandelijke rondzendingen; apo-A-I- en -B-data zijn gemeten in dezelfde zes commuteerbare monsters door 22 labs in zes rondzendingen. LDL-c-data zijn berekend dan wel gemeten met hetzelfde EQA-materiaal door 28 labs in zes rondzendingen. De rondzendingen werden in SKML-verband uitgevoerd. Per parameter en per methodegroep zijn de interlaboratorium-CV (grijze staaf) en 1 SD (lijn) in percent geplott. Voor apo A-I en B is de theoretisch haalbare interlaboratorium-CV \leq 4% (24).

Wat weerhoudt ons van routinematige introductie van apoA-I en B?

In onze optiek heeft de apo-B-bepaling bij hyperlipoproteïnemie een vergelijkbare betekenis als de HbA1c-bepaling bij de inventarisatie van het glucosemetabolisme; het is een kwalitatief goede maat voor de totale atherogene 'burden' en een parameter voor de lange(re) termijn die minder beïnvloed wordt door dieet en activiteitenpatroon. Vanuit klinisch-chemisch oogpunt kan momenteel aan alle essentiële randvoorwaarden worden voldaan om brede introductie op een verantwoorde manier door te voeren. Alle diagnostica-fabrikanten bieden CE-gemarkeerde apolipoproteïnen-A-I- en -B-testmethoden aan die in principe geautomatiseerd en geconsolideerd met de routinechemie kunnen worden uitgevoerd op chemieanalyzers. De prijsstelling is nu hoger dan die van directe HDL-c- en LDL-c-testen, maar bij afname van grotere volumes is te voorzien dat de testprijs vergelijkbaar wordt. ApoA-I- en -B-standaardisatie zijn aanwezig en internationaal geregeld (8, 9). Gezien de recente IVD-98/79/EC-implementatie zijn diagnostica-fabrikanten ook verplicht deze standaardisatie door te voeren. Nationaal is via de SKML voor lipiden en apolipoproteïnen sinds 2004 een extern kwaliteitsprogramma opgezet met hoogwaardige kwaliteitscontrolematerialen die juistheidverificatie toelaten, zodat naast harmonisatie ook juistheid bewaakt kan worden.

De noodzakelijke ingrediënten voor succesvolle, brede implementatie van apo A-I en B in de dagelijkse praktijk zijn aanwezig. Desalniettemin dient er door de beroepsgroep en de SKML bij implementatie de komende jaren een traject doorlopen te worden ten aanzien van effectieve verbetering van de standaardisatie en verkleining van de interlaboratoriumvariatie.

Literatuur

1. Behandeling en preventie van coronaire hartziekten door verlaging van de plasmacholesterolconcentratie. Consensus cholesterol tweede herziening. Utrecht: CBO, 1998. <http://www.cbo.nl/product/richtlijnen>.
2. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. JAMA 2001; 285; 2486-97.
3. Backer G de, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, Ebrahim S et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. Eur Heart J 2003; 24: 1601-1610.
4. Law MR, Wald NJ. Risk factor thresholds: their existence under scrutiny. BMJ 2002; 324: 1570-1576.
5. Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. Lancet 2001; 358: 2026-2033.
6. Scharnagi H, Nauck M, Wieland H, März W. The Friedewald Formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations. Clin Chem Lab Med 2001; 39: 426-431.
7. Avogaro P, Bon GB, Cazzolato G, Quinci GB. Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis? Lancet 1979; 8122: 901-903.

8. Marcovina SM, Albers JJ, Henderson LO, Hannon WH. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. III. Comparability of apolipoprotein A-I values by use of International Reference Material. *Clin Chem* 1993; 39: 773-781.
9. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, Mei JV, Henderson LO, Hannon WH. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. IV. Comparability of apolipoprotein B values by use of International Reference Material. *Clin Chem* 1994; 40: 586-592.
10. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937-952.
11. Boekholdt SM, Steeg WA van der, El-Harchaoui AK, Stroes ESG, Zwinderman AH, Stein EA, Jukema JW, Bingham SA, Day NE, Sandhu MS, Kastelein JJ, Kay-Tee Khaw. Apo B/A-I adds to the predictive value of classical lipid parameters and Framingham Risk Score. *Circulation*, 2005; 117 (Suppl II): II239, abstract 1219).
12. Boekholdt SM; Steeg WA van der, Stein EA; El-Harchaoui AK, Stroes ESG, Sandhu MS, Wareham NJ, Jukema JW, Luben R, Bingham SA, Day NE, Zwinderman AH, Kastelein JJP, Kay-Tee Khaw. Value of Apolipoprotein B/A-I ratio in Cardiovascular Risk Assessment Case control analysis in EPIC-Norfolk study. *Ann Internal Medicine* (aangeboden).
13. Halloran P, Roetering H, Pisani T, Berg B van den, Cobbaert C. Reference standardization and analytical performance of a liquid homogeneous HDL-cholesterol method compared to a chemical precipitation method. *Arch Pathol Lab* 1999; 123: 317-326.
14. Nauck M, Graziani MS, Bruton D, Cobbaert C, Cole TG, Lefevre F et al. Analytical and clinical performance of a detergent-based homogeneous LDL-cholesterol assay: a multicenter evaluation. *Clin Chem* 2000; 46: 506-514.
15. Nauck M, Graziani MS, Jarausch J, Bruton D, Cobbaert C, Cole TG et al. A new liquid homogeneous assay for HDL cholesterol determination evaluated in seven laboratories in Europe and the United States. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 1067-1076.
16. Sniderman AD. How, when and why to use apolipoprotein B in clinical practice? *Am J Cardiol* 2002; 90 (Suppl): 48i-54i.
17. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. Small, dense LDL particles a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997; 95: 69-75.
18. Ballantyne CM, Andrews TC, Hsia JA, Kramer JH, Shear C. ACCESS Study Group. Atorvastatin Comparative Cholesterol Efficacy and Safety Study. Correlation of non-high-density lipoprotein cholesterol with apolipoprotein B: effect of 5 hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on non-high-density lipoprotein cholesterol levels. *Am J Cardiol* 2001; 88: 265-269.
19. Sniderman AD. Counterpoint: To measure apo B or not to measure apo B: a critique of modern medical decision-making. *Clin Chem* 1997; 43: 1310-1314.
20. Durrington PN. Can measurement of Apo B replace the lipid profile in the follow-up of patients with lipoprotein disorders? *Clin Chem* 2002; 48: 401-402. Editorial.
21. Walldius G, Jungner I, Aastveit AH, Holme I, Furberg C, Sniderman AD. The apoB/apoA-I ratio is better than the cholesterol ratios to estimate the balance between plasma pro-atherogenic and anti-atherogenic lipoproteins and to predict coronary risk. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 1355-1363.
22. Jansen RTP, Kuypers AWHM, Baadenhuijsen H, Besselaar AMHP van den, Cobbaert CM, Gratama JW et al. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 153-158.
23. Baadenhuijsen H, Steigstra H, Cobbaert C, Kuypers A, Weykamp C, Jansen R. Commutability assessment of potential reference materials using a multi-centre split-patient-sample between-field-method (twin-study) design. *Clin Chem* 2002; 48: 1520-1525.
24. Cobbaert C, Weykamp C, Baadenhuijsen H, Kuypers A, Lindemans J, Jansen R. Selection, preparation, and characterization of commutable frozen human serum pools as potential secondary reference materials for lipid and apolipoprotein measurements: study within the framework of the Dutch project "Calibration 2000". *Clin Chem* 2002; 48: 1526-1538.
25. Baadenhuijsen H, Kuypers A, Weykamp C, Cobbaert C, Jansen R. External quality assessment in The Netherlands: time to introduce commutable survey specimens. Lessons from the Dutch "Calibration 2000" project. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 304-307.
26. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. AACC Press 2001. ISBN 1-890883-49-2.

Summary

Introduction of apolipoprotein A-I en B determinations in a clinical chemistry laboratory: why not? Cobbaert C, Stroes ESG, Baadenhuijsen H. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2006; 31: 65-71.

In the Netherlands the analytical performance of apo A-I and B determinations was evaluated. Performance was tested by the Dutch EQAS (SKML) using value-assigned, commutable control materials. Out of 150 participating clinical chemistry laboratories, 22 laboratories routinely perform apo A-I and B analyses. Pooled data from six two-monthly surveys in 2004 revealed a mean within-lab precision for apo B and apo A-I of 4.5 % and 4.0%, respectively. Mean absolute bias for apo B and apo A-I was 6.8% and 8.6%, respectively. Mean interlaboratory precision for apo B and apo A-I was 8.6% and 9.9%, respectively. One year after IVD 98/79/EC implementation, average within lab precision and average absolute bias of apo A-I and B applications do not meet desirable performance criteria based on biological variation. Notwithstanding the availability of internationally recognized reference systems and legal support, professional and EQAS support are needed to improve apo A-I and B standardization.