



Staf KCL

Mevr.
 Prof. dr. C.M. Cobbaert
 Drs. A. Albersen
 Dr. B.E.P.B. Ballieux
 Dr. J.A. Bakker
 Mevr. Dr. J.M.E.P. Gillis
 Dr. P.W. Schenk

Mevr. Dr. S. Kos

**Klinisch chemicus
 in opleiding**

Dr. W.P.J. den Elzen
 Dr. J.P.H.M. van den
 Wijngaard
 Dr. S.A.A. van den Berg

KCL NIEUWSBRIEF

Nieuwsbrief nr. 1 – 5 januari 2016

Nieuwe cortisol bepaling op de Roche Modular E170

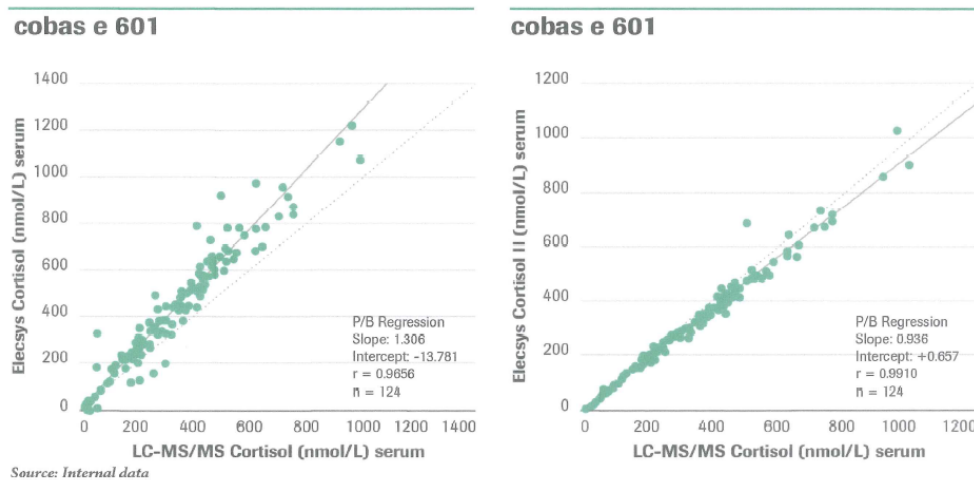
Serum

Met ingang van woensdag 6 januari 2016 wordt de nieuwe 2^e generatie cortisol bepaling van Roche Diagnostics ingevoerd. Dit heeft gevolgen voor de referentiewaarden en de beslisgrenzen van endocriene functietesten.

Belangrijkste verschil met oude methode is de introductie van een monoclonaal antilichaam met een goed gekarakteriseerde nauwe specificiteit. Hiermee is de lange termijn stabiliteit van de methode gegarandeerd en zijn lot-tot-lot verschillen geminimaliseerd. Daarnaast is van de gelegenheid gebruik gemaakt om de methode te herstandaardiseren tegen de internationale ID-GCMS referentiemethode voor cortisol middels het IRMM/IFCC-451 serumpanel.

Deze verandering heeft tot gevolg, dat de uitslagen lager zullen worden. Er was al bekend, dat de huidige methode een positieve bias had t.o.v. de referentiemethode (ref 1 en fig 1).

Fig 1: vergelijking Cortisol generatie 1 en generatie 2 met de LCMS referentiemethode voor serum cortisol (links is 1e gen, rechts is 2e gen)

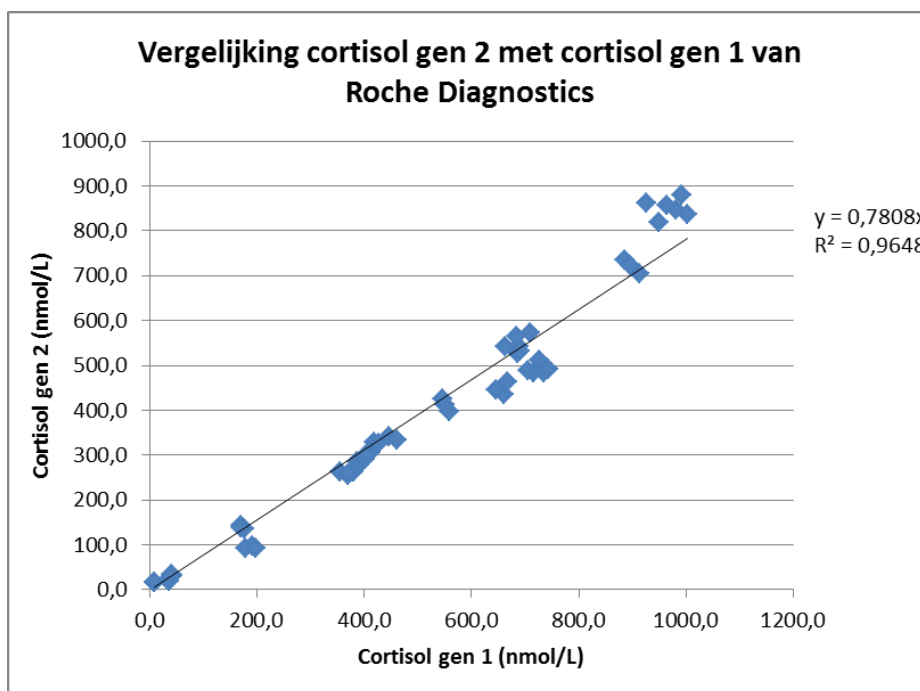


In onze eigen vergelijking wordt conform de data van Roche een helling van 0,78 gevonden van het tweede generatie reagens t.o.v. de eerste generatie.(zie fig 2)



KCL NIEUWSBRIEF

Nieuwsbrief nr 1 – 5 januari 2016



Dit heeft gevolgen voor de referentiewaarden. De klinische beslisgrenzen voor hyper en hypo cortisolisme zullen veranderen. Momenteel wordt de grens van 0,55 $\mu\text{mol/L}$ bij een ACTH stimulatietest gebruikt als beslisgrens voor hypocortisolisme, maar de evidence voor deze beslisgrens is zeer beperkt. Na herrekening op basis van de methodevergelijking wordt dat 0,43 $\mu\text{mol/L}$. Dit is zeer vergelijkbaar met de recent gepubliceerde beslisgrens voor de referentiemethode van 0,42 $\mu\text{mol/L}$ (ref 1). Voor de 1 mg over nacht dexamethason remmingstest lijkt er geen evidence voor wijziging van de beslisgrens uit de guidelines van de Endocrine Society van 0,50 $\mu\text{mol/L}$ (ref 2 en mondelinge communicatie met auteurs) Zie voor verdere uitleg hieronder.

Tabel 1: Referentiewaarden en klinische beslisgrenzen in serum ($\mu\text{mol/L}$)

| conditie | test | ondergrens | bovengrens | referentie |
|--------------------|--------------------------------|------------|------------|-----------------------------------|
| referentieinterval | ochtend (6 – 10 uur) | 0.17 | 0.50 | Bijsluiters Roche* |
| | middag (16 – 20 uur) | 0.07 | 0.29 | Bijsluiters Roche |
| | midnacht | | 0,14 | omrekening |
| hypocortisolisme | na 250 μg synacthen | 0.43 | | El-Fahran et al 2013 ¹ |
| Hypercortisolisme | 1 mg dexamethason remming | | 0.05 | Hempens et al 2012 ² |

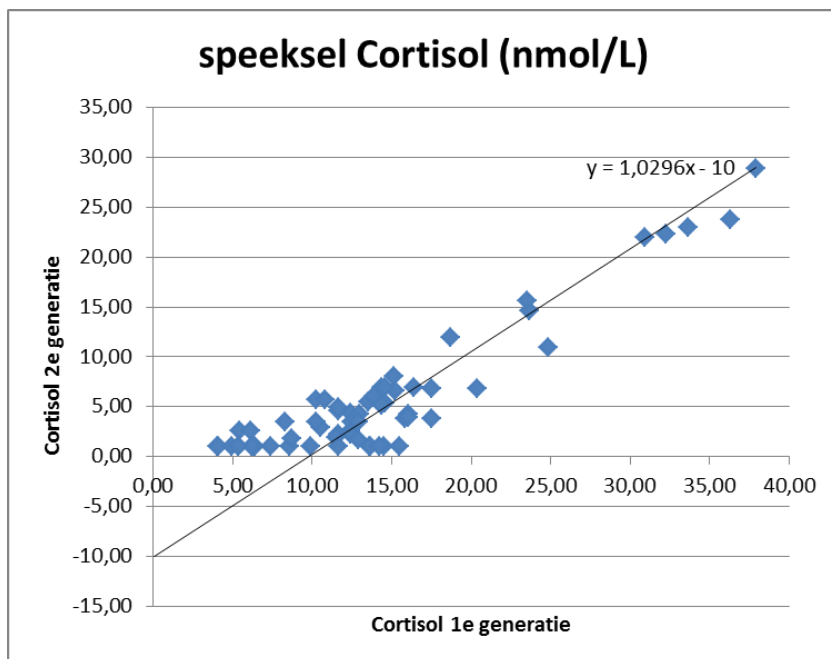
* Deze waarden zijn vastgesteld in een referentiepopulatie van 150 gezonde personen (volgens eigen opgave). Leeftijd was 21 jaar en ouder en exclusiecriteria waren zwangerschap, borstvoeden en orale anticonceptie, Daarnaast was corticosteroiden medicatie uitgesloten.

KCL NIEUWSBRIEF

Nieuwsbrief nr 1 – 5 januari 2016

Speeksel

De meetresultaten voor speeksel zullen ook fors lager worden. Uit een methode vergelijking komt de volgende regressie lijn: **Cortisol 2^e generatie = 1,03 x Cortisol 1^e gen – 10**



Tabel 2: Referentiewaarden in speeksel (nmol/L)*

| tijd | bovengrens | % van uitslagen onder detectie-limiet (1,5 nmol/L) | referentie |
|----------------------|------------|--|------------------|
| ochtend (6 – 10 uur) | 21.6 | 3% | Bijsluiter Roche |
| middag (16 – 20 uur) | 6.7 | 25% | Bijsluiter Roche |
| midnacht | 5.7 | 72% | Bijsluiter Roche |

* Deze waarden zijn vastgesteld in een referentiepopulatie van 150 gezonde personen (volgens eigen opgave). Leeftijd was 21 jaar en ouder en exclusiecriteria waren zwangerschap, borstvoeden en orale anticonceptie, Daarnaast was corticosteroiden medicatie uitgesloten.

In een eigen serie van 30 middernacht monsters van vrijwilligers wordt 90% van de uitslagen onder de detectielimiet gevonden en 3 uitslagen tot 3,5 nmol/L.

1. El-Farhan N. et al. Method-specific serum cortisol responses to the adrenocorticotrophin test: comparison of gas chromatography-mass spectrometry and five automated immunoassays. Clin Endocrinol (Oxf). 2013 May;78(5):673-80. PMID: 22994849.
2. Hempen C et al. Dexamethasone suppression test: development of a method for simultaneous determination of cortisol and dexamethasone in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Ann Clin Biochem. 2012 Mar;49(Pt 2):170-6. PMID: 22247524

Implicaties van de overgang voor endocriene functietesten:**250 µg ACTH stimulatietest**

Zoals in de procedure van de ACTH stimulatietest in iProva te lezen is, is er grote onduidelijkheid over de juiste beslisgrens voor de ACTH test. Deze variëren van 0,46 – 0,55 µmol/L. Deze zijn niet te herleiden tot een specifieke meetmethode, noch tot de internationale cortisol referentiemethode. Hierbij wordt dus geen rekening gehouden met de (grote) methodeverschillen tussen de cortisol assays onderling en het doel waarvoor men de test gebruikt (aantonen dan wel uitsluiten bij a priori lage of hoge voorafkans)¹

Zowel een te hoge als een te lage beslisgrens heeft consequenties:

Een **te hoge** beslisgrens kan leiden tot levenslange cortisol suppletie bij personen met een voldoende bijnierfunctie. Dit zal in een perifere screenende setting veel meer implicaties hebben dan in een tertiair verwijzingscentrum, waar de voorafkans al veel groter is.

Een **te lage** beslisgrens kan leiden tot het missen van klinisch relevante bijnierfunctie stoornissen. Dit kan juist in een academische setting bezwaarlijk zijn. In een perifere setting zullen de gemiste patiënten bij aanhoudende klachten weer terugkomen en dan wellicht wel een onvoldoende stijging tonen.

De enige herleidbare beslisgrens voor de 250 µg ACTH test (0,42 µmol/l) is in 2013 gepubliceerd¹. Deze ligt aanzienlijk lager dan de hierboven genoemde beslisgrenzen, maar is volstrekt in lijn met de omrekening van de huidige gebruikte beslisgrens van 0,55 naar 0,43 voor de nieuwe gestandaardiseerde cortisol methode van Roche.

1. El-Farhan N. et al. Method-specific serum cortisol responses to the adrenocorticotrophin test: comparison of gas chromatography-mass spectrometry and five automated immunoassays. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 May;78(5):673-80. PMID: 22994849.

CRH test

De CRH test wordt voor twee doeleinden gebruikt: De voorspelling van een hypofysaire bijnier-insufficiëntie na hypofyse operatie en het onderscheiden van een hypofysaire M Cushing van een ectopische ACTH productie.

In het eerste geval wordt een gelijke beslisgrens aangehouden als bij de 250µg ACTH test (0,55 µmol/L). Deze grens is klinisch gevalideerd met de huidige 1^e generatie Cortisol assay². Hiermee is deze dus direct om te rekenen tot een beslisgrens van 0,43 µmol/L voor de 2^e generatie assay.

Het gebruik in de diagnostiek van de ziekte van Cushing is gebaseerd op percentages stijging vanaf basaal van cortisol en ACTH. Dit wordt niet beïnvloed door de methodewijziging. De ACTH bepaling is ook niet gewijzigd (zie procedure CRH test in iProva).

2. Kokshoorn NE, Romijn JA, Roelfsema F, Rambach AH, Smit JW, Biermasz NR, Pereira AM. The use of an early postoperative CRH test to assess adrenal function after transsphenoidal surgery for pituitary adenomas. *Pituitary*. 2012 Sep;15(3):436-44.

ITT

De Insuline induced hypoglycemia stimulation test (ITT) is vergeleken met de CRH test en de ACTH stimulatietest in Maghnie et al³. Een significant aantal patiënten met uitval van 2 of meer hypofyse-assen zonder evidente klinische klachten heeft bij een

KCL NIEUWSBRIEF

Nieuwsbrief nr 1 – 5 januari 2016

voldoende oloop in de ACTH test een suboptimale respons op de ITT en de CRH test. Ook hier is een cut off van 0,55 $\mu\text{mol/L}$ gebruikt voor alle testen in combinatie met de 1^e generatie Roche Cortisol assay. Hiermee kan deze beslisgrens direct omgerekend worden naar 0,43 $\mu\text{mol/L}$ voor de 2^e generatie test.

3. Maghnie M, Uga E, Temporini F, et al. Evaluation of adrenal function in patients with growth hormone deficiency and hypothalamic-pituitary disorders: comparison between insulin-induced hypoglycemia, low-dose ACTH, standard ACTH and CRH stimulation tests. *Eur J Endocrinol* 152:735-741, 2005.

1 mg dexamethason over-nacht remmingstest

De Endocrine society Practice Guideline voor diagnostiek van de ziekte van Cushing vermeldt een cortisol beslisgrens van 50 nmol/L na over nacht 1 mg dexamethason met verwijzing naar Wood PJ et al 1997⁴. Deze stelt dat ongeacht de immunoassay methode een beslisgrens van 50 nmol/L een optimale sensitiviteit (>98%) geeft met acceptabele specificiteit (% vals positieven)

4. Wood PJ, Barth JH, Freedman DB, Perry L, Sheridan B. Evidence for the low dose dexamethasone suppression test to screen for Cushing's syndrome-- recommendations for a protocol for biochemistry laboratories. *Ann Clin Biochem.* 1997 May;34 (Pt 3):222-9.

In een recent artikel waarin de dexamethason remmingstest wordt geëvalueerd middels een massaspectrometrische simultaantest voor cortisol en dexamethason worden waarden gevonden voor cortisol beneden de 50 nmol/L voor alle gezonde personen⁵. Communicatie met de auteurs leerde ons dat de resultaten van de evaluatie van deze test niet heeft geleid tot een verandering van de beslisgrens van 50 nmol/L in hun laboratorium.

5. Hemen C et al. Dexamethasone suppression test: development of a method for simultaneous determination of cortisol and dexamethasone in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Ann Clin Biochem.* 2012 Mar;49(Pt 2):170-6. PMID: 22247524