

**NVKC RICHTLIJN 2015**  
**GESCHIKTHEID VAN CDT ANALYSEMETHODEN**  
**TEN BEHOEVE VAN ONDERZOEK NAAR**  
**CHRONISCH OVERMATIG ALCOHOL GEBRUIK**

Samengesteld door de werkgroep CDT van de NVKC:

drs. FJM Bergkamp, voorzitter (\*)  
dr. ir. JPM Wielders  
dr. RMJ Hoedemakers  
dr. LHJ Jacobs  
dr. E Sanders  
dr. F.A.L. van der Horst

(\*) Correspondentie: drs FJM Bergkamp

Colofon:

© NVKC, Utrecht 15 december 2015

## Inhoudsopgave

Lijst met afkortingen:

Hoofdstuk 1 Scoop en Definitie

Hoofdstuk 2 Algemene inleiding

Hoofdstuk 3 Wat zijn geschikte biomarkers voor alcoholisme

Hoofdstuk 4 Goedgekeurde methoden voor CDT bepalingen t.b.v. CBR

Hoofdstuk 5 Minimale eisen analyse CDT t.b.v. CBR

Hoofdstuk 6 Overige eisen t.a.v. analyse CDT t.b.v. CBR

Hoofdstuk 7 Algemene toelichting

Hoofdstuk 8 Literatuur

Afkortingen:

- ALAT = alanineaminotransferase
- ASAT = aspartaataminotransferase
- CBR = Centraal Bureau Rijvaardigheid
- CDT = koolhydraat deficiënt transferrine
- CE = capillaire elektroforese
- DST = disialotransferrine
- EtG = ethylglucuronide
- gGT = gamma-glutamyltranspeptidase
- HPLC = high performance liquid chromatography
- MCV = gemiddeld volume erytrocyt
- NVKC = Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en laboratoriumgeneeskunde
- NVvP = Nederlandse vereniging voor Psychiatrie
- ORAG = overmatig en riskant alcohol gebruik
- PEt = fosfatidylethanol

# Hoofdstuk 1: SCOOP en DEFINITIES

## Scoop

In deze richtlijn zijn de minimale vereisten vastgelegd ten behoeve van betrouwbare laboratorium diagnostiek middels CDT bij onderzoek naar “overmatig en riskant alcoholgebruik” (ORAG) voor de beoordeling van de rijgeschiktheid van een persoon door het CBR

## Definities

### *Afkappunt*

Het afkappunt (beslisgrens), zoals gebruikt in deze richtlijn, is de getalsmatige uitslag, vanaf waar met 95% zekerheid gesteld mag worden dat de betrokken uitslag niet tot de referentiepopulatie behoort. Het afkappunt is de sommatie van de bovengrens van het referentiegebied plus het kritisch verschil. Nadere informatie in paragraaf 7.3.

### *CDT*

Carbohydraat Deficiënt Transferrine, een biomarker voor overmatig alcoholgebruik. CDT is een speciale vorm van het ijzer transporterend eiwit transferrine, waar ten gevolge van alcohol gebruik minder koolhydraatketens aan gebonden zijn. Onder CDT wordt verstaan de asialo, monosialo en disialovormen van transferrine.

### *CE*

Capillaire electroforese, een analysetechniek waarmee een mengsel in fracties gescheiden wordt en vervolgens de componenten kwantitatief bepaald kunnen worden.

### *Confirmatie onderzoek*

Onderzoek van een monster met behulp van de referentiemethode, ter bevestiging of ter correctie van eerder onderzoek op hetzelfde (correct bewaarde) monster met een andere, onafhankelijke methode. Bij voorkeur door een ander laboratorium uitgevoerd. Ter vermijding van begripsverwarring wordt het gebruik van de term contra-expertise ontraden, aangezien dit ook herhaald onderzoek kan betekenen met de oorspronkelijke methode.

### *EQUALIS, INSTAND, GTFCH, SKML*

Organisatie die externe kwaliteit controle onderzoeken voor de CDT-bepaling uitvoeren.

### *HPLC (High Performance Liquid Chromatography)*

Een chromatografische analyse techniek waarmee een mengsel in fracties gescheiden wordt, zodat vervolgens de componenten kwantitatief bepaald kunnen worden.

### *Herhaald onderzoek*

Onderzoek van een monster met dezelfde methode als voorheen, teneinde een toevallige fout in de analyse op te kunnen sporen. Binnen een meetsessie: een duplo, anders een hernieuwd onderzoek aan hetzelfde monster. Onder herhaald onderzoek wordt niet verstaan een onderzoek op een ander monster van diezelfde persoon.

### *Kritisch verschil (t.o.v. bovengrens normaal)*

Het verschil tussen een analyseresultaat en de bovengrens van normaal, dat minimaal vereist is om met 95 procent zekerheid vast te kunnen stellen dat dit verschil niet veroorzaakt kan zijn door de normale biologische en analytische variaties. Het kritisch verschil is methode afhankelijk en wordt berekend uit de biologische variatie en de inter-laboratorium variatie (zie paragraaf 7.3).

### *ORAG*

Overmatig en Riskant Alcohol Gebruik, hieronder verstaat de WHO/ISBRA de chronische inname van minimaal 60 g alcohol/dag voor mannen en minimaal 40 g alcohol/dag voor vrouwen. Zie verder ref 3.

### *Routinemethode voor CDT*

Een eenduidig gedefinieerde, van een CE markering voorziene en in eigen laboratorium geverifieerde analysemethode voor CDT, welke voldoet aan de eisen die gesteld worden in de voorliggende Richtlijn.

### *Referentiemethode voor CDT*

De door Helander/Husa/Jeppson in 2003 beschreven HPLC methode voor CDT, uitgevoerd door een referentielaboratorium, kortweg ook als Helander's HPLC aangeduid (ref. 2). De referentiemethode moet gezien worden als een analytische 'gouden standaard', maar gebruik van deze uitdrukking wordt niet aanbevolen om begripsverwarring te voorkomen.

### *Referentiegebied*

Binnen het referentiegebied ( het bereik tussen de bovengrens en ondergrens van "normaal"), valt de centrale 95% van de analyse resultaten, verkregen bij onderzoek van een geselecteerde "normale" gezonde bevolkingsgroep (ref. 16). Het referentiegebied wordt ook als normaal(waarden) gebied aangeduid.

### *Rapportage en eenheden.*

Bij HPLC methoden en CE methoden wordt gerapporteerd als %DST (fractie disialotransferrine t.o.v. totaal transferrine) en bij de N-Latex methode als %CDT (fractie alle CDT isovormen t.o.v. totaal transferrine). Het laboratorium dient de uitslag te rapporteren met vermelding van de betreffende methode en het daarvoor vastgestelde referentiegebied, conform tabel A van deze richtlijn.

### *Integratiemethode*

Voor HPLC en CE methoden worden de verhoudingen van de diverse transferrine isovormen bepaald door integratie van piekoppervlakte. Voor HPLC is een basislijn integratie vereist, maar CE werkt beter met een valley to valley integratie. Alle fracties vanaf asialo- t/m pentasialo transferrine dienen meegenomen te worden in de noemer bij de berekening van het %DST.

### *Uitslag*

Het resultaat van de meting van CDT, weergegeven als numerieke waarde plus bijbehorende eenheid.

## Hoofdstuk 2 Algemene inleiding

### 2.1 Uitgangsvraag: Hoe is deze Richtlijn tot stand gekomen?

De diagnose van “overmatig en riskant alcoholgebruik” (ORAG) is moeilijk te stellen, omdat veel personen overmatig alcoholgebruik ontkennen of relativeren en er geen diagnostische parameter bestaat, die zowel met hoge sensitiviteit als specificiteit wijst op ORAG. Zowel vanuit medisch als vanuit maatschappelijk oogpunt is er behoefte aan tijdige opsporing en juiste beoordeling van ORAG. Een voorbeeld hiervan is de beoordeling van de rijgeschiktheid van een persoon door het CBR (Wegenverkeerswet art. 13 I). Zo wordt in het kader van de vorderingsprocedure van het rijbewijs al vele jaren laboratoriumonderzoek gebruikt als onderdeel van een psychiatrisch onderzoek (ref. 1, 3). In dit pakket laboratoriumonderzoek vormt carbohydraat deficiënt transferrine (CDT) de parameter met de hoogste diagnostische nauwkeurigheid (ref. 3, 5, 7, 9).

### 2.2 Achtergrond en ontstaan van deze Richtlijn

In 2002 was op verzoek van het Centraal Bureau Rijvaardigheidsbewijzen (CBR) een commissie van laboratoriumdeskundigen samengesteld, die het CBR kon adviseren over de bepaling en interpretatie van laboratoriumparameters bij ORAG. Teneinde een onafhankelijk advies te kunnen garanderen, is dit zogenaamde Deskundigen panel in 2008 met instemming van alle betrokken instanties (NVKC, CBR, NVvP) overgegaan in de werkgroep CDT van de NVKC. Vanaf circa 2000 tot eind 2008 is voor CBR keuringen bij onderzoek naar alcoholgebruik bij ‘vordering’ en ‘eigen verklaring’ procedures (ref 1) de CDT methode van de firma Axis-Shield als basis methode gebruikt. Daarnaast werd zo nodig de HPLC methode van Helander (ref 2) gebruikt bij confirmatie onderzoek. Anno 2008 was de aanwijzing van alternatieve methoden voor de Axis-Shield methode noodzakelijk, zowel op basis van nieuwe inzichten, als ook door het van de markt verdwijnen van de Axis-Shield methode. De voorliggende NVKC Richtlijn CDT voorzag in die behoefte en benoemde in 2008 een drietal commercieel verkrijgbare methoden als geschikt voor dit doel.

De werkwijze van de CDT werkgroep en de NVKC Richtlijn CDT is in 2008 getoetst door de wetenschapscommissie van de NVKC, het commentaar is verwerkt en de uiteindelijke versie is geaccordeerd door de commissie Kwaliteit en Richtlijnen en tenslotte bekrachtigd door het bestuur van de NVKC op 15 oktober 2008.

In 2011 is deze NVKC Richtlijn CDT integraal overgenomen in de NVvP Richtlijn Diagnostiek van stoornissen in het gebruik van alcohol in het kader van CBR-keuringen (kortweg aangeduid als “NVvP Richtlijn CBR keuringen” (ref. 3).

Voor enkele nieuwe methoden zijn de karakteristieken en aanvullende gegevens in 2012 getoetst aan de in 2008 vastgelegde eisen en geschikt bevonden. Daardoor is in de “actualisatie 2012” het aantal goedgekeurde methoden in 2012 uitgebreid tot vijf.

Op verzoek van de NVKC is in 2015 de Richtlijn van 2012 qua indeling aangepast aan de voorgeschreven lay-out van NVKC Richtlijnen. Inhoudelijk zijn geen veranderingen aangebracht. Waar passend wordt verwezen naar de NVvP Richtlijn “Diagnostiek van stoornissen in het gebruik van alcohol in het kader van CBR-keuringen” uit 2011.

## **Hoofdstuk 3: Uitgangsvraag: Wat zijn geschikte biomarkers voor alcoholisme?**

### **3.1 Biomarkers alcoholisme**

Biomarkers voor laboratoriumdiagnostiek van alcoholgebruik kunnen grofweg in twee hoofdcategorieën worden verdeeld (ref. 18): directe markers, zoals het meten van alcohol en haar metabolieten, dan wel indirecte markers waarbij er veranderingen van organen of processen ten gevolge van (langdurig) blootstelling aan alcohol of metabolieten hebben plaatsgevonden. Traditionele indirecte biomarkers zijn MCV, gGT, ASAT, ALAT, of de verhouding ASAT/ALAT. Nieuwe biomarkers zijn CDT, EtG en PEt.

In de NVvP Richtlijn (ref. 3; hoofdstuk Laboratoriumonderzoek) worden de beperkingen van deze parameters toegelicht. Van deze groep heeft alleen gGT een beperkte inzetbaarheid, feitelijk alleen ter uitsluiting van alcoholgebruik. De NVKC onderschrijft de conclusies van de NVvP richtlijn ten aanzien van het gebruik van deze traditionele markers, zoals samengevat in onderstaande aanbevelingen.

---

#### **Aanbeveling 1 Minimumnorm**

Voor de diagnostiek van chronisch overmatig alcoholgebruik ten behoeve van CBR keuringen hebben de traditionele markers MCV en ASAT, ALAT of hun verhouding, hooguit een geringe betekenis als ondersteuning.

Als enkelvoudig bewijs zijn verhoogde waarden van deze markers ongeschikt.

Een verhoogde  $\gamma$ GT-waarde ( $> 1 \frac{1}{2} N$ ) ondersteunt de diagnose, mits andere specifieke aanwijzingen (bijvoorbeeld verhoogde CDT of een gestructureerde vragenlijst), in dezelfde richting wijzen

---

Van de biomarkers CDT, EtG en PEt is feitelijk vooral CDT geschikt, zowel op basis van uitvoerbaarheid in de meeste Nederlandse laboratoria, als ook wegens een goed diagnostische “accuracy” en een tijdsvenster van circa twee weken (refs. 3, 5, 7, 9). EtG en PEt bepalingen in bloed hebben wel potentie als biomarker voor ORAG, maar worden nog niet uitgevoerd in Nederland en grenswaarden en afkappunten zijn niet beschikbaar voor juridisch gebruik.

---

#### **Aanbeveling 2 Minimumnorm**

Voor laboratoriumdiagnostiek van chronisch overmatig alcoholgebruik moet tenminste CDT worden gemeten met een door de NVKC daartoe geschikt verklaarde methode, onder de daarbij horende voorwaarden

---

## **Hoofdstuk 4: Uitgangsvraag: Wat zijn goedgekeurde methoden voor CDT bepalingen tbv het CBR?**

### **4.1 Wat zijn de bestaande CDT methoden**

De huidige meetprocedures voor CDT zijn te onderscheiden in drie groepen: vloeistofchromatografie (HPLC), capillaire electroforese (CE) en directe nefelometrie gebaseerd op een specifieke immunochemische bepaling met Latex versterking. Bij de zogenaamde scheidingsmethoden HPLC en CE, worden de fracties (isovormen) van transferrine op basis van onder meer ladingsverschillen gescheiden, afzonderlijk in beeld gebracht en gekwantificeerd. Belangrijkste isovorm is het disialotransferrine (DST), gebaseerd op de aanbevelingen van de IFCC CDT werkgroep voor CDT standaardisatie (ref 14, 15).

In navolging van de Scandinaviërs wordt de ratio disialotransferrine t.o.v. transferrine als **%DST** gerapporteerd. De immunochemische methode N-Latex CDT (ref 4) is gebaseerd op het meten met behulp van antilichamen van transferrine vormen waarvan een of twee N-glycaan ketens afwezig zijn, aangeduid als CDT. Het CDT wordt vervolgens als ratio van het afzonderlijk gemeten transferrine uitgedrukt en als **%CDT** gerapporteerd.

Bij de uitslag moet altijd de methode en de eenheid vermeld worden.

---

### **Aanbeveling 3 Minimumnorm**

Bij de uitslag moet de correcte naamgeving worden gehanteerd (%DST of %CDT) en altijd moeten methode en referentiewaarde worden vermeld.

---

#### **Referentiemethode en routine methoden**

Vastgesteld als referentiemethode én tevens als routine methode voor CDT in het kader van CBR keuringen, is de HPLC methode volgens Helander (ref. 2). Deze methode is door de IFCC als “candidate reference method” vastgesteld. (ref. 14, 15)

Omdat meerdere CDT methoden commercieel worden aangeboden, moet voor forensisch gebruik gemaakt worden van een door de NVKC geschikt verklaarde methode met de daarbij horende voorwaarden, referentie interval en beslisgrens.

### **4.2 Welke methoden zijn door de NVKC goedgekeurd?**

Goedgekeurd door de NVKC als routinemethode voor CDT voor CBR keuringen is de N-Latex CDT methode van Siemens, de Helander HPLC methode, de CEofix CDT van Analis, de ClinRep CDT methode van Recipe, de Capillarys CDT en Minicap CDT van Sebia en de Ready-Prep %CDT van Bio-Rad, conform de specificaties gegeven in tabel A.

De analysemethode van Capillarys CDT en Minicap CDT van de firma Sebia berusten beide op een identieke CE-methode. Beide systemen gebruiken identieke reagentia, software, capillairen als ook uitvoering. De Capillarys werkt met 8 capillairen, terwijl de Minicap over slechts over twee capillairen beschikt. Met beide systemen worden identieke resultaten behaald.

---

#### Aanbeveling 4 Minimumnorm

Als confirmatiemethode is alleen de referentiemethode volgens de Helander HPLC methode toegestaan.

Als routine methoden zijn goedgekeurd de N-Latex CDT methode van Siemens, de CEofix CDT van Analis, de ClinRep CDT methode van Recipe, de Capillarys CDT en Minicap CDT van Sebia en de Ready-Prep %CDT van Bio-Rad.

Voor bovenstaande methoden moeten de bovengrenzen en de afkappunten van tabel A worden gehanteerd.

---

#### 4.3 Wat zijn de vastgestelde bovengrenzen normaal en de afkappunten.

Voor de gehele groep goedgekeurde methoden is de bovengrens van normaal en het afkappunt opnieuw berekend en vastgesteld in 2012. Dat heeft geleid tot actualisatie van de inhoud van tabel A.

CDT uitslagen vanaf het afkappunt vallen met 95% zekerheid buiten het referentiegebied.

#### Minimum norm:

Tabel A: Opsomming van goedgekeurde methoden met bijbehorende vastgestelde bovengrenzen en afkappunten.

Methode	Methode beschrijving (literatuur)	Interlaboratorium variatiecoëfficiënt (bron)	Referentiegebied of bovengrens (bron)	Afkappunt voor CBR incl. kritisch verschil (meting in enkelvoud <sup>1</sup> )
Helander HPLC (referentie methode)	Ref 2	8,8% EQUALIS 2011	0,7 – 1,7 %DST (ref 2)	1,67 + 0,37 = 2,04%DST <b>Afkappunt 2,0 % DST</b>
ClinRep CDT HPLC methode (RECIPE, München)	Ref 5	9,8% INSTAND 2010	1,6 %DST <sup>2</sup>	1,61 + 0,38 = 1,99 %DST <b>Afkappunt 2,0 %DST</b>
Ready-Prep %CDT Agilent, HPLC methode (Bio-Rad, München)	Ref 13	7,4% EQALIS 2011	0,5 – 1,5 % DST <sup>2</sup>	1,49 + 0,30 = 1,79 %DST <b>Afkappunt = 1,8 %DST</b>
CEofix CDT CE methode (Analis, Namur)	Ref 6	9 % <sup>3</sup> ARVECON / GTFCH	1,5 %DST <sup>2</sup>	1,51 + 0,36 = 1,87%DST <b>Afkappunt = 1,9% DST</b>
Capillarys CDT Minicap CDT <sup>4</sup> CE methode (Sebia, Evry)	Ref 10	6,4% at 1.7 RfB Ringversuch	0,5 – 1,4 %DST <sup>2</sup> (ref 10)	1,40 + 0,26 = 1,66 %DST <b>Afkappunt 1,7%DST</b>
N-Latex CDT nefelometrie (Siemens, Marburg)	Ref 4	6,6% EQUALIS 2011	2,2 %CDT <sup>2</sup>	2,16 + 0,41 = 2,57 %CDT <b>Afkappunt 2,6%CDT</b>

#### Opmerkingen bij tabel A

1 Bij de huidige methoden en interlab variatie < 10 % kan met één meting in enkelvoud volstaan worden

2 Bhattacharya berekening van het centrale 95% referentiegebied zijn uitgevoerd volgens een Gauss en volgens een Gamma benadering. Gekozen is voor de gemiddelde bovengrens van beide benaderingen (zie ook bijlage A2)

3 Schatting op basis van beperkte data

4 De Minicap is gelijk gesteld aan de Capillarys



Het verschil t.o.v. de tabel uit 2012 is de acceptatie van de Minicap plus enkele kleine lay-out aanpassingen.

## **Hoofdstuk 5: Uitgangsvraag: Wat zijn de eisen voor CDT analyse methoden t.b.v. CBR**

De werkgroep CDT van de NVKC heeft een aantal eisen opgesteld waaraan naar haar oordeel een analysemethode voor CDT t.b.v. CBR-keuringen moet voldoen.

Deze eisen zijn weergegeven in tabel B. Aan alle betrokken diagnostica firma's is gevraagd om via onderzoeksresultaten en peer reviewed literatuur aan te tonen dat hun product voldoet aan de gestelde eisen.

Nieuwe methoden worden door de firma met daarbij behorende documentatie ter goedkeuring voorgelegd aan de werkgroep CDT .

### **Minimum norm:**

---

Tabel B: NVKC eisen waaraan een geschikte CDT methode moet voldoen

---

- a) De opzet en de validatie moet duidelijk beschreven zijn in een peer reviewed internationaal wetenschappelijk tijdschrift.
  - b) De tussenlaboratoriumvariatie van de methode moet bekend zijn en mag maximaal 10% bedragen.
  - c) De juistheid moet herleidbaar zijn naar de referentiemethode.
  - d) Het opgegeven referentiegebied (centraal 95% gebied) moet afkomstig zijn van een voldoende breed onderzoek, waarbij een opzet volgens CLSI als richtlijn voor dit onderzoek geldt. Alternatief is een referentiegebied berekening volgens Bhattacharya.
  - e) De methode mag geen fout-positieve of fout-negatieve uitslagen opleveren bij aanwezigheid van transferrinevarianten, onvolledige scheidingen bij HPLC of CE, of door interfererende proteïnen
  - f) Resultaten van klinisch onderzoek moeten zijn beschreven in een peer reviewed internationaal wetenschappelijk tijdschrift. Een sensitiviteit > 40% bij een specificiteit > 90% wordt gevraagd.
- 

## **Hoofdstuk 6: Uitgangsvraag: Aan welke aanvullende eisen moet worden voldaan bij laboratoriumonderzoek t.b.v. CBR.**

Toelichting: Op verzoek van het CBR anno 2008 en conform de geldende ISO15189 norm zijn een aantal eisen dwingend voorgeschreven.

1. Het laboratorium (zowel het laboratorium waar de bloedafname plaatsvindt als het laboratorium waar het feitelijke onderzoek wordt uitgevoerd) dient geaccrediteerd te zijn door een bevoegde instelling. In Nederland is de RvA (waarin de CCKL is opgegaan) de bevoegde instelling voor accreditatie van medische laboratoria.
2. Bloedafname dient te geschieden door een bevoegde medewerker. Bij de bloedafname dient persoonsidentificatie plaats te vinden aan de hand van een geldig identiteitsbewijs en dient het nummer van het identiteitsbewijs minimaal een jaar traceerbaar te worden vastgelegd.

3. De pre-analytische fase dient nauwkeurig vast te liggen in beheerde en geautoriseerde laboratorium voorschriften met beschrijving van de werkwijze van afname, transport, opslag en verwerking van bloed, evenals de administratieve handelingen hieromtrent.
4. CDT-bepalingen dienen te worden uitgevoerd met een door de NVKC goedgekeurde methode (zie tabel A). Verificatie van de bepalingmethode van CDT dient te geschieden volgens de ISO 15189 norm. met inbegrip van de NVKC Richtlijn 2016 voor validatie en verificatie.
5. Verificatie gegevens dienen te zijn vastgelegd volgens het kwaliteitssysteem van het betreffende laboratorium en de betrokken gegevens moeten desgevraagd kunnen worden getoond.
6. Het laboratorium dient de gehanteerde referentiewaarden voor CDT te verifiëren en de betrokken gegevens desgevraagd te kunnen overleggen. Voor CBR onderzoek mogen uitsluitend de in de voorliggende richtlijn aangegeven grenzen worden gebruikt.
7. De analysegang dient nauwkeurig te zijn beschreven in een beheerd en geautoriseerd analysevoorschrift met vermelding van uitvoeringsgegevens, methode, reagentia, kwaliteitscontrolemonsters (inclusief poolserum) en kwaliteitsbewaking. Eveneens dient te zijn beschreven hoe te handelen bij afwijkende uitslagen van de kwaliteitscontrolemonsters.
8. De analyse van CDT mag in enkelvoud geschieden bij meebepalen van twee kwaliteitscontrolemonsters en een poolserum per serie. Indien de resultaten van twee controles meer dan 10% afwijkt van de streefwaarde, dient de serie in zijn geheel te worden herhaald.
9. CDT-uitslagen buiten het referentiegebied dienen zo nodig op verzoek te kunnen worden geconfirmeerd. Dit hoeft echter niet in hetzelfde laboratorium plaats te vinden, maar wel met oorspronkelijk monster (zie punt 10).
10. Na de analyse dienen alle sera één jaar bewaard te blijven bij  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  op het laboratorium waar de analyse werd uitgevoerd. Monsters zijn opvraagbaar door de opdrachtgever, de cliënt of diens advocaat.
11. Het laboratorium dient deel te nemen aan een externe kwaliteitsbewakingsprogramma voor CDT, zoals georganiseerd door SKML. De resultaten uit deze controlemonsters mogen maximaal 10% afwijken van de consensuswaarde. Indien dit voor één van beide monsters twee achtereenvolgende keren niet wordt gehaald, dient dit te worden gemeld aan het CBR. In het kwaliteitssysteem van het laboratorium dient de werkwijze bij afwijkende resultaten in het kader van externe kwaliteitsronzendingen te zijn vastgelegd.
12. Alle gegevens, inclusief die van alle kwaliteitscontrole- en calibratiemonsters, dienen minimaal een jaar bewaard te blijven.
13. De cumulatieve gegevens van de CDT uitslagen in alle kwaliteitscontrolemonsters, inclusief die van het kwaliteitsbewaking programma, zijn volgens geldende juridische procedures opvraagbaar door aanvrager of CBR.
14. Indien de uitvoering van de CDT bepaling wordt uitbesteed aan een ander laboratorium, dient het verzendend laboratorium zich ervan te verzekeren dat het uitvoerend laboratorium zich aan de voorliggende Richtlijn houdt.

## Hoofdstuk 7: Algemene toelichting

De werkgroep CDT van de NVKC heeft een aantal eisen opgesteld waaraan naar haar oordeel een analysemethode voor CDT t.b.v. CBR-keuringen moet voldoen.

Omdat deze richtlijn geschreven is vanuit de klinische chemie, maar in de praktijk gebruikt zal worden door zowel laboratoriumspecialisten als ook keurende psychiaters en CBR artsen, is hieronder een aantal zaken toegelicht. Aan de orde komen een toelichting van de methoden, vaststellen en gebruik van referentiewaarden en afkapgrens, en het toepassen van een kritisch verschil bij de interpretatie van de uitslag.

### 7.1 Beschrijving van methoden

Een korte beschrijving van de methoden wordt gegeven in hoofdstuk 4.1. Zie verder literatuur referentie 19.

Indien door aanwezigheid van transferrine varianten geen betrouwbare uitslag verkregen kan worden, dan adviseert de werkgroep het monster naar een (IFCC) referentie laboratorium door te sturen voor aanvullend onderzoek en of confirmatie.

### 7.2 Gebruiken van referentiegebied of van beslisgrens? Wanneer hoort een resultaat niet meer tot de normale uitslagen?

Uit de literatuur is bekend dat op basis van de CDT uitslag geen onderscheid kan worden gemaakt tussen volledige abstinentie en het gebruik van maximaal 20 g alcohol per dag. Als bovengrens van normaal hanteert de werkgroep de bovengrens van het centrale 95% gebied van een groep niet-drinkers ofwel het 97,5e percentiel bij een normale verdeling, conform de IFCC definitie van een referentiegebied. De bovengrens van 'normaal' mag niet beschouwd worden als de ondergrens van ORAG. Voor de vaststelling van een ondergrens oftewel beslisgrens voor ORAG, moeten we constateren dat er geen studies voorhanden zijn waarbij de gemiddelde CDT waarde, passend bij de ondergrens van ORAG, voor de diverse methoden is vastgelegd.

Daarom is gekozen voor het gebruik van het afkappunt als beslisgrens, waarbij voor één enkel individu beoordeeld wordt of een incidentele enkelvoudige meting in een geaccrediteerd laboratorium met door de NVKC goedgekeurde methode met hoge mate van zekerheid niet meer tot de groep normale uitslagen kan behoren. Deze benadering is verwant aan de hantering van een grijs gebied bij de constatering van een overschrijding van de snelheidslimiet bij verkeerscontroles of aan het gebruik van een onzekerheidsmarge bij forensische alcoholmetingen.

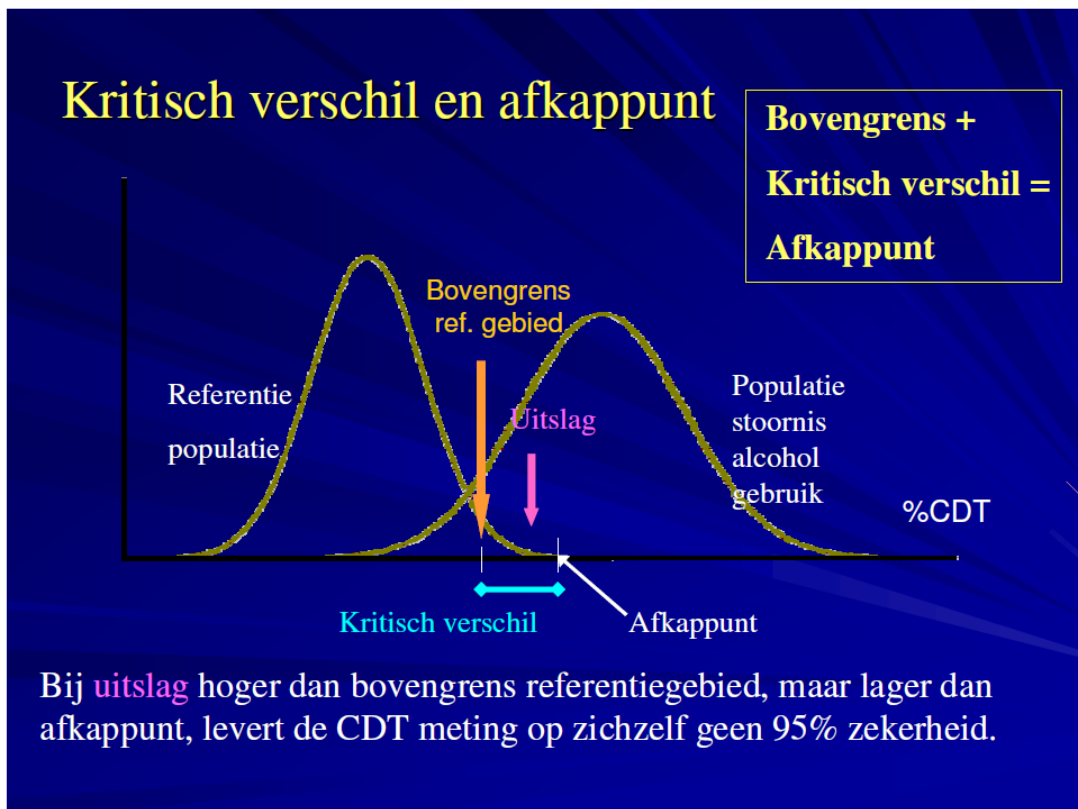
### 7.3 Vaststellen van het kritisch verschil

Teneinde het resultaat van een meting met zekerheid te kunnen classificeren als buiten het referentiegebied vallend, gaat deze richtlijn uit van de bovengrens van normaal plus een per methode te berekenen kritisch verschil volgens Punt et al (ref 7). De vastgestelde referentiegebieden en bijbehorende kritische verschillen leiden opgeteld tot te hanteren afkappunten zoals vermeld in tabel A en verduidelijkt in figuur 1. Aan het CBR en de keurende psychiaters wordt nadrukkelijk gevraagd om gebruik te maken van tabel A voor het juiste afkappunt, bij het trekken van hun conclusie t.a.v. het niet behoren tot de normale populatie op basis van een enkelvoudige bepaling van CDT.

#### **Voorbeeld berekening kritisch verschil voor de HPLC methode van Helander**

Bij een uitspraak met een gewenste zekerheid van 95%, een bovengrens van 1,67, een tussenlaboratorium-CV van 8,8% [Equalis], een biologische CV van 4,7% [bron: Helander] en een bepaling in enkelvoud (hetgeen bij HPLC vanzelfsprekend is, en –mits de apparatuur in een stabiele toestand verkeert— ook betrouwbaar moet worden geacht) past een kritisch verschil van 0,37 procentpunt.

Dat wil zeggen dat voor een individueel bloedmonster gemeten in enkelvoud in een geaccrediteerd NL laboratorium met grote zekerheid geconcludeerd mag worden dat de uitslag niet meer normaal is voor deze HPLC methode als de %DST uitslag minimaal 2,0 is. Dit wordt geïllustreerd in onderstaande figuur.



**Figuur 1: Referentiegebied, kritisch verschil en afkappunt**

De normale of referentie populatie links overlapt met de populatie overmatig alcoholgebruik rechts. Om voor 95% zeker te zijn dat een individu niet onterecht beschuldigd wordt van overmatig alcoholgebruik, moet een afkappunt gehanteerd worden, waarin zowel de spreiding binnen een individu als ook tussen verschillende laboratoria verwerkt is.

#### 7.4 Methode verschillen leiden momenteel tot verschillende referentiegebieden en afkappunten

Door verschillen in meetprincipes en/of kalibratie zijn de referentiegebieden en afkappunten niet gelijk, zoals blijkt uit tabel A. Een set kalibratoren voor CDT analyses heeft inmiddels plaatsgevonden via de IFCC-WG CDT. Dit zal ertoe leiden dat alle goedgekeurde en IFCC gekalibreerde methoden vergelijkbare resultaten opleveren na standaardisatie van de diverse methoden met behulp van deze kalibratoren en gebruikmakende van de referentiemethode. Zodra deze IFCC kalibratoren verkrijgbaar zijn, moeten deze minimaal elk kwartaal gebruikt worden door de uitvoerende laboratoria. Daarnaast is het noodzakelijk om via een poolserum in elke serie een controle op lange termijn drift uit te voeren.

#### 7.5 Confirmatieonderzoek bij een dispuut over de uitslag

Er kan bij de aanvrager, het CBR of de cliënt een verschil van inzicht bestaan over de juistheid van het CDT resultaat. Omdat CDT in serum een stabiel analyt is, mits bewaard bij

minimaal -20°C (ref. 19), kan de aanvrager, CBR of cliënt dan een confirmatieonderzoek aanvragen bij het uitvoerende laboratorium. Het uitvoerende laboratorium moet haar medewerking hieraan verlenen en zal het materiaal desgevraagd versturen naar een laboratorium waar de referentie methode wordt gebruikt. De hiermee gepaard gaande additionele kosten komen voor rekening van de partij die het confirmatieonderzoek verlangt. De werkgroep CDT van de NVKC is van mening dat deze mogelijkheid van confirmatieonderzoek bredere bekendheid moet krijgen. Confirmatieonderzoek kan door de betrokken cliënt of diens advocaat worden aangevraagd, maar het geniet de voorkeur als deze mogelijkheid in een vroege fase door de keurend psychiater of het CBR wordt benut. Confirmatie onderzoek dient plaats te vinden door een IFCC referentie laboratorium. Confirmatie onderzoek van andere biomarkers dan CDT is niet aanbevolen i.v.m. aspecten van (zeer) beperkte houdbaarheid.

## 8 Literatuur:

1. Vorderingsprocedure en Eigen verklaring CBR <http://www.cbr.nl/vorderingsprocedure.pp>. Zie ook <http://www.cbr.nl/10872.pp>.
2. Helander A, Husa A, Jeppsson J-O. Improved HPLC method for carbohydrate-deficient transferrin in serum. *Clin Chem* 2003;49:1881-1890.
3. NVvP Richtlijn "Diagnostiek van stoornissen in het gebruik van alcohol in het kader van CBR keuringen" (De Tijdstroom 2011).
4. Delanghe JR, Helander A, Wienders JPM, et al. Development and multicenter evaluation of the N Latex CDT direct immunonephelometric assay for serum carbohydrate-deficient transferrin. *Clin Chem* 2007;53:1115-21.
5. Arndt T, Guessregen B, Hallermann D, et al. Forensic analysis of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) by HPLC. Statistics and extreme CDT values. *Forensic Sci Int.* 2008;175:27-30.
6. Lanz C, Kuhn M, Deiss V, Thormann W. Improved capillary electrophoresis method for the determination of carbohydrate-deficient transferrin in patient sera. *Electrophoresis* 2004;25:2309-18.
7. Punt JM et al. Over de betekenis van de %CDT-uitslag bij de beoordeling van het patroon van alcoholgebruik. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2002; 27:271-8.
8. Joneli J, Lanz C, Thorman W. Capillary zone electrophoresis determination of carbohydrate-deficient transferrin using the new CEofix reagents under high-resolution conditions. *J Chromatography* 2006 .
9. Bergström JP, Helander A. Clinical characteristics of carbohydrate-deficient transferrin (%disialotransferrin) measured by HPLC Alcohol Alcoholism 2008;43:436-41.
10. Schellenberg F, Wienders JPM. Evaluation of capillary electrophoresis assay for CDT on SEBIA's Capillary System: Intra and inter laboratory precision, reference interval and cut-off *Clin Chim Acta* 2010;1888-1893 .
11. Kenan A, Husand S, Helander A. Importance of HPLC confirmation of problematic CDT results from a multicapillary electrophoresis routine method. *Clin Chim Acta* 411 (2010) 1945-50.

12. Schellenberg F, Girre G, Nalpas B. Analytical evaluation of a new capillary electrophoresis method for carbohydrate-deficient transferrin measurement Clin ChimActa 2007; 382:48-53.
13. Helander A, Bergström JP. Determination of carbohydrate-deficient transferrin in human serum using the Bio-Rad %CDT by HPLC test. Clin Chim Acta 2006; 371: 187-190.
14. Jeppsson J-O, Arndt T, Schellenberg F et al Towards standardization of CDT measurement I. Analyte definition and proposal of a candidate reference method. Clin Chem Lab Med 2007; 45:558 – 562.
15. Helander A, Wielders JPM, Jeppsson J-O et al Toward standardization of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) measurements: II. Performance of a laboratory network running the HPLC candidate reference measurement procedure and evaluation of a candidate reference material Clin Chem Lab Med 2010; 48:1585-92.
16. Naus AJ, Borst A, Kuppens PS The use of patient data for the calculation of reference values for some haematological parameters J Clin Chem Clin Biochem 1980;18:621-25.
17. First evaluation of a multi-capillary electrophoresis CDT assay on Helena Biosciences V8 analyser. Marinova M, Artusi C, Baggio S, Zaninotto M, Plebani M. Clin Biochem 2014; 47: 228-232.
18. Biomarkers voor alcoholmisbruik. Wiel vd A., Wielders JPM. NTVG 2009; 153: B160 1-6.
19. Weykamp C, Wielders J, Helander A, Anton RF, Bianchi V, Jeppsson J-O, Siebelder C, Whitfield J, Schellenberg F. Harmonization of measurement results of the alcohol biomarker carbohydrate-deficient transferrin by use of the toolbox of technical procedures of the international consortium for harmonization of clinical laboratory results. Clin Chem 2014;60:945-53.