

Uit de laboratoriumpraktijk

De eerste ervaring met een semi-geautomatiseerde bepaling van Koolhydraat Deficiënt Transferrine

J. van PELT

De bepaling van Koolhydraat Deficiënt Transferrine (CDT) vindt in Nederland langzaam een plaats bij de diagnostiek van chronisch, overmatig alcoholgebruik. Duidelijk is, dat CDT onafhankelijk is van andere, 'traditionele' biochemische markers als γ GT en MCV en additionele en meer specifieke informatie biedt. Nadelen zijn het prijsniveau en de benodigde analistentijd. De sensitiviteit is, afhankelijk van de onderzochte populatie (tijdsduur en intensiteit van alcoholgebruik), 40 - 80% en de specificiteit is groter dan 95% (1, 2). Dit maakt de bepaling, zoals vrijwel alle klinisch-chemische bepalingen, minder geschikt voor (ongeselecteerde) screeningsdoeleinden (prevalentie alcoholmisbruik \leq 5%). Indien echter toegepast in een voorgeselecteerde groep met een grote(re) prevalentie van alcoholmisbruik zal, zoals bekend mag worden verondersteld, de positief voorspellende waarde flink toenemen (tabel 1).

Voor de bepaling kan gebruik gemaakt worden van de oorspronkelijke CDTECT-bepaling van Pharmacia en Upjohn (Woerden), in de vorm van een immunochemische methode (EIA) of radio-immunoassay (RIA) beide uitgedrukt in units per liter. De referentiewaarde voor mannen is < 20 U/l; voor vrouwen < 26 U/l. Het alternatief is de CDT-TIA% methode van Axis (Noorwegen, in Nederland vertegenwoordigd door Orange Chemicals), een turbidimetrische meetmethode op microtiterplaten of met behulp van een chemie analyzer, die een relatief resultaat in procenten geeft ten opzichte van transferrine. De referentiewaarden voor mannen en vrouwen zijn $< 5\%$. Beide methoden behoeven na een ijzerverzadigingsstap een chromatografische scheiding van koolhydraat deficiënt transferrine vormen door middel van minikolommen gevuld met anion wisselings materiaal waarop de 'normale' transferrine vormen binden. De bepalingen zijn in feite gevoelige transferrine bepalingen en worden uitgevoerd met het eluaat. De CDTECT-methode meet de a-, mono- en disialo-vormen, terwijl de CDT-TIA%-methode ook een gedeelte van de trisialo-vorm meebepaalt.

KCHL, Ziekenhuizen Noord-Limburg, Venlo.

Correspondentie: Dr. J. van Pelt, Ziekenhuizen Noord-Limburg, Postbus 1926, 5900 BX Venlo.
Ingekomen: 15.12.97

In een eerder onderzoek vonden wij geen voordeel van laatstgenoemde benadering, waarschijnlijk mede doordat de totaal transferrine deelbepaling in onze handen tekort schoot (3).

De firma Boehringer Mannheim heeft recentelijk de Axis methode in licentie overgenomen en geadopteerd voor hun chemie-analyzers (Tinaquant CDT%). De chromatografische voorbewerking is nagenoeg identiek, maar de bepaling van totaal transferrine en van CDT in het eluaat geschiedt volautomatisch met behulp van een Hitachi. Voor onderstaande vergelijkende studie maakten wij gebruik van 99 sera, verkregen in het kader van CBR-keuringen. Dit betrof personen (77 mannen, 12 vrouwen) die voor het rijden onder invloed van alcohol waren aangehouden. Hun bloedalcoholgehalte bij aanhouding was $> 2,1\%$ of het betrof recidivisten die voor de vierde keer in vijf jaar tijd met een gehalte $> 0,5\%$ (de wettelijke grens) waren aangehouden. Naast een uitgebreid psychiatrisch onderzoek werden behalve de CDTECT-bepaling ook de γ GT, ALAT en MCV bepalingen uitgevoerd. De sera werden vervolgens voor dit onderzoek batch-gewijs getest met de nog niet

Tabel 1. Positief en negatief voorspellende waarden bij een prevalentie van 5% (ongeselecteerde populatie) en 50% (specificiteit 95%; sensitiviteit 60%)

		CDTECT		
		neg	pos	
Alcoholgebruik	neg	180	10	190
	pos	4	6	10
		184	16	200
PPV = 6/16 = 37,5%; NPV = 180/184 = 98%				
		CDTECT		
		neg	pos	
Alcoholgebruik	neg	95	5	100
	pos	40	60	100
		135	65	200
PPV = 60/65 = 92%; NPV = 95/135 = 70%				

Tabel 2. Correlatiecoëfficiënten van CDTest, Transferrine (Tinaquant), CDT% en de deelbepalingen CDT en Transferrine

	CDTest	Tf	CDTest/Tf	CDT abs.	Transferrin CDT%
Transferrin	- 0,166				
CDTest/Tf	0,984	- 0,300			
CDT abs.	0,920	0,020	0,871		
Transferrine CDT%	- 0,117	0,846	- 0,243	0,032	
CDT%	0,920	- 0,283	0,925	0,930	- 0,319

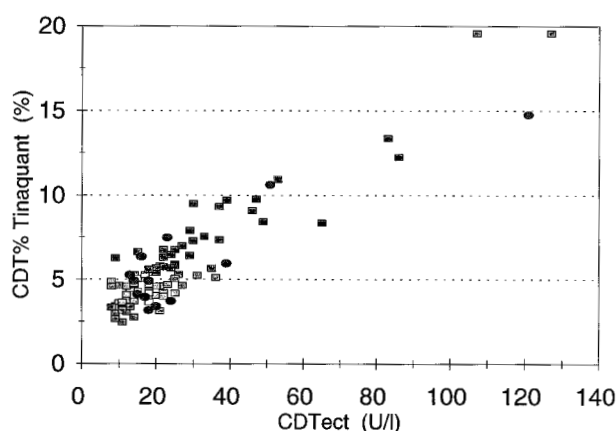
commerciële verkrijgbare Tinaquant CDT%-test op een Hitachi 917. Tevens werd de totale transferrine hoeveelheid bepaald met de Tinaquant Transferrine Assay, eveneens op de Hitachi 917. Aldus kon een vergelijking gemaakt worden tussen de beide totaal transferrine bepalingen en de beide CDT-bepalingen. Ook werd de CDTest-bepaling vergeleken met het CDT% en de CDTest/Tf-verhouding met het CDT%. De correlatiecoëfficiënten hiervan zijn weergegeven in tabel 2 en de meest relevante vergelijking tussen CDTest en CDT% is weergegeven in figuur 1. Hieruit blijkt een goede tot prima correlatie tussen de verschillende methoden vanuit een analytisch standpunt. De correlatiecoëfficiënt over het hele gebied is 0,918 en als de zes hoogste CDTest-waarden worden weggelaten: 0,808. Ook de variatiecoëfficiënten van herhaalde bepalingen waren vergelijkbaar voor beide methoden. De te verwachten winst van geautomatiseerde bemonstering valt weg ten opzichte van manuele voorbereiding en scheidingsstap. Een definitieve conclusie ten aanzien van de sensitiviteit (en specificiteit) is helaas niet op te maken, aangezien de gouden standaard, te weten de totale hoeveelheid geconsumeerd alcohol in de periode voor bloedafname, (uiteraard) ontbreekt. Wel kan worden aangenomen dat het overgrote deel van de onderzochte groep chronisch alcoholmisbruikers betreft, gezien de pakkans in Nederland en de psychiatrische bevindingen. Hiervan uitgaande is er geen voorkeur aan te geven voor

de absolute bepaling (CDTest) dan wel de relatieve bepaling (CDT%) en gezien figuur 1 ontlopen beide methoden elkaar niets of nauwelijks.

Indien de CDT hoeveelheid uitgezet wordt tegen de totale hoeveelheid transferrine (figuur 2), valt op dat er geen correlatie is tussen beide hoeveelheden. In mijn opinie betekent dit dat het in deze onderzochte groep geen voordeel biedt gebruik te maken van een verhouding CDT ten opzichte van totaal transferrine. Immers, toepassing van een relatieve maat wordt zinnig indien de ene hoeveelheid direct afhankelijk is van een andere en hiervoor gecorrigeerd dient te worden. Aangezien de factoren die de totale hoeveelheid transferrine bepalen (voedingstoestand, ijzerbehoefte) andere zijn dan die de glycosylering van transferrine bepalen, lijkt het niet zinvol een relatieve maat te gebruiken. Als de totale hoeveelheid transferrine stijgt, kan dit een door alcohol geïnduceerde toename van CDT maskeren. Andersom zal een daling van totaal transferrine bij gelijkblijvende CDT-hoeveelheden hogere waarden en mogelijk vals-positieven geven (4).

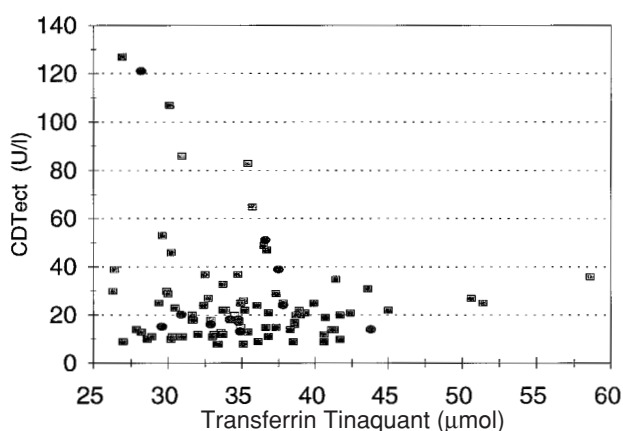
Anderzijds vonden wij in een ander onderzoek wel een correlatie tussen de CDT hoeveelheid en het totaal transferrinegehalte, met de aantekening dat dit een geselecteerde populatie zonder alcoholmisbruik betreft, te weten patiënten met anemie en patiënten met lage ferritinewaarden (5).

Figuur 1



Figuur 1. Correlatie tussen CDTest (P&U) en CDT% (BM); $CDT\% = 2,53 + 0,129 \times CDTest$, $r = 0,918$. (Mannen: □; vrouwen: ●)

Figuur 2



Figuur 2. CDTest (P&U) versus de totale hoeveelheid transferrine (Tinaquant, BM). (Mannen: □; vrouwen: ●)

Concluderend kan gesteld worden dat de semi-geautomatiseerde Tinaquant CDT%-methode vanuit analytisch oogpunt vergelijkbaar is met de CDTECT-methode. De keuze in de toekomst zal bepaald kunnen worden door praktische overwegingen als het aantal analyses per dag of de beschikbare apparatuur. Een voorkeur in termen van sensitiviteit en specificiteit is afhankelijk van meer biochemische kennis omtrent het ontstaan van CDT-vormen in relatie tot de totale hoeveelheid gesynthetiseerd transferrine onder verschillende omstandigheden. In ieder geval is voor de berekening van sensitiviteit en specificiteit of ROC-curves een betrouwbare en precieze opgave van cumulatief alcoholgebruik cruciaal, maar dit blijkt in de praktijk vanwege een taboesfeer helaas ook bijzonder moeilijk te verwezenlijken.

Ned Tijdschr Klin Chem 1998; 23: 140-145

Wat is er mis met de meting van ceruloplasmine? Stand van zaken na herstandaardisatie

I.S. KLASSEN, C. de KAT ANGELINO en H. BAADENHUIJSEN

Na invoering van het nieuwe referentieserum CRM470 door de BCR (Bureau Communautaire de Référence) zijn de tussenlaboratorium variatiecoëfficiënten (VC's), die in de landelijke SKZL/SKMI kwaliteitsbewakingsrondes voor serumewitten worden gemeten, gedaald. Het viel op dat ondanks deze herstandaardisatie de landelijke VC's van de ceruloplasminebepaling relatief hoog bleven. Geconstateerd werd dat dit samenhangt met de waarneming dat de uitslagen van de twee grootste betrokken leveranciers in twee populaties uiteen vallen. De mogelijke oorzaken hiervan worden besproken op grond van een door ons uitgevoerde studie, gevolgd door aanbevelingen voor buffer-, antiserum- en kalibratieserumgebruik.

Trefwoorden: CRM470; ceruloplasmine; nefelometrie; radiale immunodiffusie

In 1993 is onder auspiciën van de International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) door het Bureau Communautaire de Référence (BCR) een nieuw referentieserum voor de meting van serumewitten vrijgegeven (1, 2). Dit referentieserum, onder de naam Certified Reference Material (CRM470), wordt ook

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, AZN-St. Radboud, Nijmegen

Correspondentie: Dr. I.S. Klasen, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, AZN-St. Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

Ingekomen: 27.11.97

Literatuur

1. Stibler H. Carbohydrate Deficient Transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem* 1991; 37: 2029-2037.
2. Conigrave KM, Saunders JB, Whitfield JB. Diagnostic tests for alcohol consumption. *Alcohol Alcoholism* 1995; 30: 13-26.
3. Pelt J van, Koolhydraat deficiënt transferrine: een nieuwe biochemische marker voor chronisch alcoholmisbruik. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997; 141: 773-777.
4. Stowell CI, Fawcett JP, Brooke M, Robinson GM, Stanton WR. Comparison of two commercial test kits for quantification of serum carbohydrate-deficient transferrin. *Alcohol Alcoholism* 1997; 32: 507-516.
5. Pelt J van, Azimi H. False positive CDTECT values in patients with low ferritin values. *Clin Chem* (1998) accepted for publication.

beschikbaar gesteld door het College of American Pathologists (CAP) als het Reference Preparation for Proteins in Human Serum (RPPHS). Het materiaal is bedoeld als secundair (of deels primair) referentiemateriaal voor een 14-tal serumewitten waarop de leveranciers of laboratoria zelf hun afgeleide kalibratiesera kunnen ijken. Een van de aanleidingen voor de productie van dit nieuwe referentieserum was, dat de tot dan toe gebruikte referentiesera ieder hun eigen, veelal lastig traceerbare, historie hadden. In de praktijk van de landelijke kwaliteitsbewakingsrondes van de gezamenlijke immunochemie-enquêtes van de SKZL (Stichting Kwaliteitsbewaking Ziekenhuis Laboratoria) en SKMI (Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Immunologie) uitte dit zich als verschillende populaties van uitslagen van m.n. de leveranciers Behring en Beckman.

Na introductie van CRM470 bleken eind 1995 de landelijke variatiecoëfficiënten (VC's) voor de meeste serumewitten geleidelijk, maar goed waarneembaar te dalen. Op de VC's van de rondgezonden sera bij de bepaling van het serumewit ceruloplasmine was het effect van herstandaardisatie echter maar weinig zichtbaar. De VC's bleven zich bewegen rond de 10%. Dit verloop wordt gedemonstreerd in figuur 1 waarin ter vergelijking het verloop van de VC's van de haptoglobinebepaling in de landelijke kwaliteitsbewakingsrondes is weergegeven.

De hoofdoorzaak van deze hoog blijvende tussenlaboratorium variatie ligt in de waarneming dat bij de ceruloplasminebepaling de uitslagen niet homogeen verdeeld liggen. Dit verschijnsel wordt geïllustreerd in figuur 2. De resultaten van de twee meest toonaan-