

## Ingezonden

### Reactie op "Aanbevelingen van de enzymcommissie NVKC"

Met belangstelling hebben wij kennisgenomen van het artikel van collega van der Heiden c.s. (1), waarin een aantal aanbevelingen worden gedaan voor het meten van de katalytische activiteitsconcentratie van een zevental enzymen in serum en/of plasma. Zonder inhoudelijk uitputtend op onderwerpen als optimale reactiecondities, meetomstandigheden en instrumentarium en uitrusting in te gaan, betreuren wij de in dit artikel opgegeven voorlopige referentiewaarden voor gezonde volwassenen bij een meettemperatuur van 37 °C.

In Nederland wordt momenteel hard gewerkt om te komen tot harmonisatie van resultaten en zeker voor enzymen blijkt dit ook hard nodig te zijn. In 1998 hebben Franck en collega's (2) al aangetoond dat het regionaal mogelijk is tot vergelijkbare resultaten te komen en met behulp van het project "Kalibratie 2000" lijkt dit zelfs landelijk te gaan lukken. De in het kalibratie 2000 project ontwikkelde enzymkalibratoren hebben intussen activiteitswaarden toegekend gekregen (\*) en zijn nu ook in voldoende mate verkrijgbaar (3).

Bij het toekennen van doelwaarden aan de kalibrator is zoveel mogelijk rekening gehouden met de te verwachten waarden als gemeten wordt met de referentiemethoden bij 37 °C van de IFCC (International Federation for Clinical Chemistry). Het zou dan ook probleemloos mogelijk moeten zijn om de meer dan honderd Nederlandse klinisch-chemische laboratoria op vergelijkbare wijze enzymactiviteiten te laten meten. Echter, en dat mag de publicatie van van der Heiden c.s. aangerekend worden, blijkt er weer onduidelijkheid te zijn ontstaan over de referentiewaardengebieden van de zeven enzymen. In 1999 is in een "position paper" in dit Tijdschrift geïnventariseerd welke regio's betrokken waren/zijn bij projecten op het gebied van harmonisatie van uitslagen (4). Het bleek dat toen al ziekenhuizen in Den Haag, Delft en Leiden, in Gelderland en in de regio Rotterdam de in de tabel genoemde bovengrenzen wilden overnemen, waarbij nog discussie mogelijk zou kunnen zijn over de geslachtsafhankelijkheid van de verschillende enzymen en over het gebruik van andere reactie-omstandigheden bij de meting van LD en

\*: De waardevaststelling is geschied door het geschoonde gemiddelde te nemen van de resultaten in enquête 2000.6 van de SKZL Combi-enquête Algemene Chemie en door vergelijking met het patiëntenmateriaal van een rondzending van de regio "Rond Vliet en Oude Rijn" (2). De vermelde waarden dienen dus nog als voorlopig te worden beschouwd.

amylase. In tabel 1 volgt ter vergelijking een opgave van beide sets referentie(boven)grenzen.

Wij vragen ons tevens af waarom van der Heiden c.s. aansluiting hebben gezocht bij de aanbevelingen en referentiewaarden van de "Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie", die bijna tien jaar geleden al gepubliceerd werden. Ondanks deze aanbevelingen heerst ook in Duitsland nog grote onduidelijk: meer dan de helft van de laboratoria meet bijvoorbeeld nog bij 25 °C. Wellicht ten overvloede, de door van der Heiden c.s. genoemde bovengrenzen van 270 U/l voor de CK-activiteit bij mannen komt ons onwaarschijnlijk voor en is hopelijk een drukfout.

Misschien is de tijd in Nederland rijp om een aantal pragmatische beslissingen te gaan nemen. Feit is dat er verschillende methodes bestaan om de activiteit van enzymen te meten; feit is dat de SKZL nu de beschikking heeft over commuteerbare enzymkalibratoren én feit is dat praktisch alle Nederlandse laboratoria bij 37 °C meten. Het enige wat nu nog moet gebeuren is om landelijk te komen tot dezelfde referentiewaarden (bovengrenzen) en wat is dan eenvoudiger om aan te sluiten bij de waarden die al in een groot deel van Nederland worden gebruikt.

### Literatuur

1. Heiden C van der, Oosterom R, Peters FPAMN, Souverein JHM, Smit EM, Westerhuis LWJMM, Ballieux BEPB, Endenburg SC, Hoek YY van der, Rijke YB de, Wolhuis A. Aanbevelingen voor het meten van de katalytische activiteitsconcentratie van de enzymen L-alanine-amino-transferase (ALAT), L-aspartaataminotransferase (ASAT), creatinekinase (CK), alkalische fosfatase (AF),  $\gamma$ -glutamyl-transferase ( $\gamma$ -GT),  $\alpha$ -amylase en lactaatdehydrogenase (LD) in serum en/of plasma bij 37 °C. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 161-181.
2. Franck PFH, Steen G, Lombarts AJPF, Souverein JHM, Wermeskerken RKA van. Multicenter harmonization of common enzyme results by fresh-pool sera. Clin Chem 1998; 44: 614-621.

**Tabel 1.** Referentiewaarden (bovengrenzen) voor enzymactiviteiten bij 37 °C (in U/l)

|                      | Verbreide consensus |         | van der Heiden c.s. |         |
|----------------------|---------------------|---------|---------------------|---------|
|                      | mannen              | vrouwen | mannen              | vrouwen |
| alkalische fosfatase | 120                 | 120     | 155                 | 145     |
| ALAT                 | 45                  | 45      | 50                  | 35      |
| ASAT                 | 40                  | 40      | 50                  | 35      |
| LD                   | 450                 | 450     | 225                 | 215     |
| $\gamma$ GT          | 50                  | 35      | 40                  | 35      |
| CK                   | 200                 | 170     | 270                 | 150     |
| amylase              | 220                 | 220     | 96                  | 96      |

3. Jansen RTP, Kuypers AWHM, Baadenhuijsen H, Besselaar AMHP van den, Cobbaert CM, Gratama JW, Lentjes EGWM, Mets M de, Preijers FWMB, Ross HA, Steigstra H, Weykamp CW. Kalibratie 2000. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 153-158.
4. Baadenhuijsen H, Keijzer R de, Ballieux B, Jansen R, Treskes M, Bekers O, Franck P. "Position paper" harmonisatie enzymresultaten. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1999; 24: 258-261.

*Nijmegen en Geldrop, juni 2001*

*Dr. M.H. de Keijzer, Dr. H. Baadenhuijsen  
en Dr. R.T.P. Jansen*

De auteurs de Keijzer c.s. geven mij de gelegenheid een kritische blik te werpen op hun reactie op de "Aanbevelingen van de enzymcommissie NVKC". De belangrijkste punten van kritiek betreffen:

1. de genoemde normale waarden, die de landelijke opbouw van normale waarden via projecten als "Kalibratie 2000" en "Position Paper" zouden doorkruisen
2. het aanhaken bij de aanbevelingen van de "Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie", die te oud zouden zijn en ook in Duitsland niet geïmplementeerd zijn en tenslotte
3. normale waarden vaststellen op basis van pragmatisme in plaats van wetenschappelijke gegevens.

Bij ieder van deze punten zal ik kort stil blijven staan.

Wat betreft de kritiek genoemd in punt 1 kan ik kort zijn. Er worden geen referentiewaarden gepresenteerd maar "Voorlopige referentiewaarden". "Voorlopige referentiewaarden" zijn niet meer dan een richtlijn en mogen niet als referentiewaarden worden aange-merkt. In de inleiding wordt duidelijk gezegd dat ieder klinisch chemisch laboratorium de te gebruiken normale waarden zelf moet vaststellen. Het is dus niet erg zinnig een tabel te produceren waarin de consensuswaarden vastgesteld door de SKZL vergeleken worden met de genoemde "Voorlopige referentiewaarden". De "voorlopige referentiewaarden" zijn vastgesteld door exact de methoden te volgen zoals deze beschreven zijn in de aanbevelingen. Op grond van ervaring met de SKZL komt het mij voor dat dit niet het geval is voor de consensuswaarden die zijn berekend door de SKZL uit waarden die zullen verschillen wat betreft de parameters (a) gebruikte apparatuur, (b) de vorm van de kuvet, (c) de pre-incubatie tijd, (d) het starten van de reactie, (e) de duur van de "lag time", (f) de duur van het volgen van de reactie en wellicht ook (g) de chemische samenstelling van het reactiemengsel. De verschillende activiteitsconcentraties zullen daarvoor gecorrigeerd zijn met behulp van de activiteit van een kalibrator, die onder dezelfde condities wordt meegemeten. Nu maken de auteurs een cruciale fout. Immers zij vermelden dat de waarde van de kalibrator wordt vastgesteld en wel zodanig dat "zoveel mogelijk rekening is gehouden met de te verwachten waarden als gemeten wordt met de referentiemethoden bij 37°C van de IFCC". De activiteit van een kalibrator dient gemeten te worden met een referentiemethode en niet te worden vastge-

steld. Dit is een eis in verband met de "traceability" van de activiteit van een kalibrator. In dit kader is ook de opmerking over de referentiemethoden van de IFCC bij 37°C niet correct. Immers voor de referentiemethoden bij 37°C van de IFCC voor de enzymen die in de routine praktijk worden gemeten, mis ik node de literatuur referentie. Het is een wijdverbreid misverstand als zou de IFCC officiële documenten hebben gepubliceerd over het meten van katalytische activiteitsconcentraties van enzymen bij 37°C. Zelfs voor de temperatuur van 30°C is dit slechts beperkt waar. Een goede aanbevolen methode of referentiemethode is namelijk van eminent belang om de activiteit van een kalibrator exact vast te kunnen stellen. Ik wil in deze verwijzen naar de inspanningen die geleverd worden door de European Committee for Standardization (CEN) in hun draft International Standard ISO/DIS 18153. De enzymcommissie heeft het streven om te komen tot vergelijkbare referentiewaarden in alle ziekenhuizen altijd ondersteund, ook als dit bereikt zou kunnen worden door gebruik te maken van een kalibrator. Daar is een voorwaarde aan verbonden. De eigenschappen van een dergelijke kalibrator moeten in een bijgevoegd document beschreven worden inclusief de referentiemethode waarmee de activiteit ervan is gemeten en de activiteit van de referentiekalibrator waarvan de activiteit van de gebruikte kalibrator is afgeleid (1). Wanneer de toegekende activiteit van de gebruikte kalibrator niet identiek is aan de activiteit gemeten met behulp van een referentiemethode zullen de referentiewaarden van de deelnemers aan de SKZL nagenoeg gelijk worden maar zeker niet vergelijkbaar met die verkregen door laboratoria, die niet deelnemen aan de SKZL.

Wat betreft punt 2 het volgende. De meeste aanbevelingen zijn weliswaar acht jaar oud maar zijn zeer gedegen onderzocht en beschreven. Standaardwerken zoals aanbevelingen of referentiemethoden zijn niet gebonden aan een tijdslimiet zoals dit ook het geval is voor vele spectrofotometrische of colorimetrische methoden, die stammen uit een ver verleden maar toch nog steeds gebruikt worden in de klinische chemie. Zij, die niet weten waarom in Duitsland aanbevelingen belemmerd worden bij de implementatie ervan in laboratoria, zijn vreemdelingen in Jeruzalem. Bij de CK-waarden is het woord "Voorlopige" weggevallen in de tekst. Dat betreurt ik. De keuze van de te kleine populatie bij het vaststellen van deze voorlopige referentiewaarden (inclusief actieve sportbeoefenaars) heeft waarschijnlijk geleid tot de waarde van < 270 U/l. Verder geldt hetgeen reeds onder (1) gezegd is over de voorlopige referentiewaarden.

Nog enkele woorden over punt 3. Er dient een wetenschappelijk basis te bestaan op grond waarvan het meten van katalytische activiteitsconcentraties van enzymen, ook die van kalibratoren, dient te worden gestandaardiseerd. Door het gebrek aan enzymstandaarden, wordt er gewerkt met referentiemethoden en referentiekalibratoren. Ter wille van de "traceability" van de activiteit van een in de praktijk gebruikte kalibrator dient de activiteit van de referentiekalibrator

noodzakelijkerwijze met een referentiemethode te worden vastgesteld. Het is bekend dat niet alle on-effenheden in gemeten enzymactiviteiten zijn te ver-effenen met kalibratoren. Een referentiekalibrator is te kostbaar om in de dagelijkse praktijk te gebruiken. Daarom zijn afgeleide kalibratoren noodzakelijk die geijkt dienen te worden op de referentiekalibrator. Deze ijking dient precies te worden vastgelegd wat betreft methode en matrix. Hierdoor ontstaan op ver-schillende gebruikersniveaus kalibratoren waarvoor exact bekend is hoe deze zijn afgeleid van de refe-rentiekalibrator. Referentiemethoden kunnen ook ge-bruikt worden om de "commutability" van een kali-brator of ander monster te controleren. Pragmatisme op het gebruikers niveau van kalibratoren kan nooit een probleem zijn, mist de activiteit van de kalibrator op een wetenschappelijk verantwoorde wijze is vast-gesteld. Deze aanpak dient alle steun te krijgen. Wellicht zullen de Duitse en/of Nederlandse aanbeve-lingen nog eens gebruikt worden om als referentie-methoden te dienen op internationaal niveau om kali-bratoren te ijken. Slechts een deel uit een aanbeveling

halen zoals b.v. de chemische samenstelling van een reactiemengsel en deze gebruiken in een automati-sche analyzer verhogen het pragmatisme maar maken de resultaten daarmee verkregen nog niet tot resulta-ten verkregen met een referentiemethode. Ik hoop dat alle commissies die zich bezig houden met kalibratie van enzymactiviteiten vooral ook hun licht opsteken bij leden van de NVKC die zitting hebben in CEN-commissies over de status quo van standaardisatie of harmonisatie van methoden voor het meten van kata-lytische activiteitsconcentraties van enzymen en de problematiek die daarbij een rol speelt. Uiteindelijk zullen de wetenschappelijke onderbouwing van meet-methoden en goed gedefiniëerde kalibratoren leiden tot een wereldomvattende harmonisatie van normale waarden van componenten waarvoor geen standaar-den bestaan zoals voor katalytische activiteitsconcen-traties van enzymen.

*Breda, juli 2001*  
*Dr. C. van der Heiden*