

Tabel 1. Reproduceerbaarheid per apparaat. Weergegeven zijn de variatiecoëfficiënten na 5 keer bepalen van het HbA1c uit hetzelfde monster op alle hier geselecteerde apparatuur. Vb = bepaald in volbloed, POCT = point-of-care-apparatuur. Eerste, tweede: resultaten voor de eerste resp. tweede batch cassettes.

HbA1c	10,5%	6,9%	5,2%
In2it (POCT)	1,7	1,4	3,4
DCAvantage (POCT)	2,2	1,6 (eerste) 0,6 (tweede)	1,4
Cobas C111 (Vb)	0,5	0,3	0,8

Conclusie

HbA1c rond de klinische beslisgrens van 7% kan door alle geteste apparaten betrouwbaar worden bepaald en rond dit gebied correleren de gemeten waarden met die geproduceerd door de routinechemieanalyse van het centrale laboratorium. Ondanks zijn analytische superioriteit vinden wij echter de Cobas C111 van Roche niet geschikt voor POCT van HbA1c in de huisartsenpraktijk. Dit wordt veroorzaakt niet alleen door de omvang van het apparaat, maar met name door de vele noodzakelijke kalibraties en controles alsmede de lange opstartfase, die alleen maar gecompenseerd kan worden als er ook daadwerkelijk 8 monsters tegelijkertijd gemeten gaan worden.

Zowel de Biorad In2it als de DCAvantage van Siemens zijn eenvoudig te bedienen, weinig ruimte innemende

apparaten, die redelijk correleren met de routinechemie-HbA1c-bepaling en die met een variatiecoëfficiënt van 1,4% en 0,6% bij de klinische beslisgrens van <7%, onder de maximaal toegestane variatie van 1,7% liggen en ver onder de biologische variatie van 3,4% blijven (3).

Hoewel beide apparaten een grotere variatie vertonen in de lage, respectievelijk hoge HbA1c-range, is deze variatie volgens ons toelaatbaar gezien het feit dat in die gebieden de HbA1c-waarde niet absoluut maar indicatief wordt gebruikt.

Gezien hun omvang en gebruiksvriendelijkheid zijn zowel de DCAvantage als de In2it zeer geschikt voor point-of-care-testen van HbA1c in de huisartsenpraktijk. Mits gebruikt volgens de juiste protocollen en periodiek gecontroleerd door een centraal laboratorium, kunnen deze apparaten betrouwbaar worden toegepast bij het monitoren van de insuline-instelling van diabetes.

Referenties

1. Kilpatrick ES. Hemoglobin A1c in the diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. *J Clin Pathol* 2008; 61: 977-982.
2. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Br Med J* 2000; 321: 405-412.
3. Desirable specifications for total error, imprecision and bias, derived from biologic variation. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 245-248

Macrotrponine

E.C.H.J. MICHIELSEN, P.G.T. BISSCHOPS* en M.J.W. JANSSEN

Ziektegeschiedenis

Een 35-jarige vrouw presenteerde zich bij de huisarts met sinds een viertal uren bestaande retrosternale pijn op de borst en sinds langere tijd bestaande dyspneu-klachten en vermoeidheid. De huisarts besloot een ECG te maken en omdat dit geen afwijkingen liet zien besloot hij bloedonderzoek te laten verrichten gericht op cardiale problematiek (tabel 1; dag 1, 13:36). Nadat de huisarts door het laboratorium telefonisch op de hoogte was gesteld van de verhoogde cTnI-concen-

tratie (6,4 µg/l), werd patiënte direct ingestuurd naar de Eerste Hart Hulp (EHH) van het VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg met als werkdagnose acuut coronair syndroom. Het lichamenlijk onderzoek op de EHH liet geen bijzonderheden zien behoudens een licht verhoogde temperatuur van 38.1°C. Er was geen sprake van pericard- of pleurawrijvingen. Het ECG was bij herhaling op de EHH normaal. Uitgebreider laboratoriumonderzoek (tabel 1; dag 1, 15:50) liet geen afwijkingen zien behalve de nog steeds verhoogde cTnI-concentratie en een licht verhoogd aantal leukocyten. De conventionele thoraxopname liet geen afwijkingen zien. Onder verdenking van een myocarditis werd een echocardiogram gemaakt. Deze liet een normale linker- en rechterkamerfunctie zien zonder aanwezigheid van pericardvocht en zonder regionale

Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium en Afdeling Cardiologie, VieCuri Medisch Centrum voor Noord-Limburg, Venlo en Venray*

E-mail: etiennemichielsen@gmail.com

Tabel 1. Uitslagen van het laboratoriumonderzoek van patiënte met een constant verhoogde troponine-I-concentratie. ASAT, aspartaat aminotransferase; ALAT, alanine aminotransferase; LD, lactaat dehydrogenase; CK, creatinine kinase; BNP, B-type natriuretisch peptide; nn, niet-nuchter; CRP, C-reactive protein.

Bepaling	Dag 1 13:36	Dag 1 15:50	Dag 2 00:22	Dag 5 08:00	Dag 15 09:52	Dag 52 09:46	Dag 138 09:41	Ref.waardes	Eenheid
Natrium	-	139	-	138	-	-	138	135 - 145	mmol/l
Kalium	-	4,0	-	4,2	-	-	4,1	3,5 - 5,0	mmol/l
Ureum	-	3,3	-	4,7	-	-	-	2,5 - 6,7	mmol/l
Creatinine	-	61	-	56	-	-	-	44 - 80	µmol/l
ASAT	-	18	18	20	-	16	20	< 30	U/l
ALAT	-	19	17	19	-	17	19	< 35	U/l
LD	-	302	266	262	-	263	287	< 490	U/l
CK	-	62	55	123	-	63	-	< 160	U/l
Troponine I	6,4	6,5	6,5	6,1	5,7	5,6	4,0	< 0,03	µg/l
BNP	19	20	-	-	-	22	-	< 100	ng/l
Glucose nn	4,5	7,9	5,1	4,5	-	-	-	< 7,8	mmol/l
CRP	-	4,7	4,7	5,3	-	-	-	< 5,0	mg/l
Leucocyten	-	13,4	9,6	7,3	-	-	-	4,0 - 10	10 ⁹ /l
Hb	8,6	8,7	-	8,6	-	-	-	7,5 - 10	mmol/l

wandbewegingsstoornissen. Omdat de oorzaak van de verhoogde cTnI-concentratie nog onduidelijk was, werd patiënte opgenomen. De volgende dag werd coronairangiografie verricht, welke geen afwijkingen liet zien. De dagen hierna bleef patiënte qua laboratorium en kliniek onveranderd. Gezien de aanhoudende dyspnoe klachten en verhoogde cTnI-concentratie werd, ondanks de lage Wells-score van 1,5 en een normale D-dimeer (<0,5 mg/l), besloten CT-angiografie van de thorax te verrichten ter uitsluiting van een longembolie. De CT-scan liet geen aanwijzingen zien voor longembolie of intrapulmonale afwijkingen. Tevens werden mediastinaal geen pathologische klieren gezien. Onder verdenking van een myocarditis was inmiddels uitgebreid onderzoek ingezet naar een mogelijk virologische oorzaak. Echter, het serologisch onderzoek liet geen aanwijzingen zien voor een infectie met influenza A/B, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, picornavirussen of cytomegalovirus. Onderzoek middels ANA en ANCA naar een auto-immuungerelateerde oorzaak bleek ook negatief.

Haar voorgeschiedenis vermeldt een vitamine-B12-deficiëntie (106 pmol/l; streefwaarde: > 140 pmol/l) waarvoor zij sinds 5 weken vitamine-B12-injecties kreeg. Sinds een aantal maanden gebruikt zij orale anticonceptiva. Haar familie is cardiaal belast: haar vader onderging een bypass-operatie op 50-jarige leeftijd en een oom stierf op 47-jarige leeftijd aan 'sudden cardiac death'. Patiënte gaf aan nooit te hebben gerookt en had geen andere risicofactoren voor coronairlijden zoals hypertensie, hypercholesterolemie of diabetes mellitus. Nadat patiënte het ziekenhuis had verlaten op dag 5 werd wegens het gebrek aan een klinische verklaring voor de constant verhoogde cTnI-concentratie zonder dynamisch beloop de klinisch chemicus geconsulteerd.

Laboratoriumonderzoek

In het VieCuri Medisch Centrum wordt cTnI routinematig bepaald met een geautomatiseerde immunochemische bepaling op een Architect i2000 analyser (Abbott Diagnostics). Deze bepaling heeft een referentiewaarde van <0,03 µg/l. De bepaling maakt gebruik van monoklonale antilichamen gericht tegen humaan cTnI, welke opgewekt zijn in muizen. Om een analytische verklaring te vinden voor de verhoogde cTnI-concentratie werd ten eerste de analyse herhaald in het originele gehepariniseerde plasma en in serum van dag 1, 15:50. De resultaten waren gelijk aan de eerdere uitslagen. Door het uitblijven van een dynamisch beloop ging de aandacht uit naar een analytische interferentie (2). Mogelijke interferentie door heterofiele antilichamen tegen muizen-IgG ('human anti-mouse antibodies' of HAMA) werd onderzocht door het plasma van patiënte in verschillende mate te verdunnen met plasma dat negatief is voor cTnI. Ook werd muizenserum aan het plasma van patiënte toegevoegd. De uitslagen bleven, na correctie voor de verdunningen, gelijk. De aanwezigheid van heterofiele antilichamen werd hierdoor minder waarschijnlijk geacht. Andere bekende oorzaken van analytische interferentie konden met grote zekerheid worden uitgesloten op basis van laboratoriumuitslagen. Reumafactor was negatief (3,9 IU/ml; referentiewaarde < 24 IU/ml), het eiwit-spectrum en immunofixatie gaven geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van een M-proteïne en de urine bevatte geen Bence Jones-eiwitten.

Inmiddels was plasma van dag 1, 15:50 opgestuurd voor de bepaling van de cTnI-concentratie met behulp van twee andere immunochemische bepalingen welke gebruik maken van andere antilichamen: de MiniVidas Troponin I Ultra en de Beckman Coulter Access AccuTnI. Ook werd in hetzelfde serum de cTnI-con-

centratie bepaald op een Roche Elecsys 2010. Al deze troponinebepalingen gaven een resultaat onder de bij de betreffende immunoassay behorende referentiewaarde.

Polyethyleenglycolprecipitatie

Polyethyleenglycolprecipitatie werd uitgevoerd om te onderzoeken of er sprake is van hoogmoleculaire vormen van cTnI die reageren in de Abbott cTnI-immunoassay. Hiertoe werd 200 µl plasma samengevoegd met 200 µl PEG 6000 (w/v 250 g/l) in een propyleenbuisje. De inhoud werd goed gemengd op een vortex en 10 minuten gecentrifugeerd bij 2500 x g. Het supernatant werd overgepipetteerd in een nieuw buisje waarin de cTnI-concentratie gemeten werd.

De referentiewaarde voor cTnI na PEG-precipitatie werd vastgesteld door plasma van 39 willekeurige patiënten met een verhoogde cTnI-concentratie te onderwerpen aan PEG-precipitatie. De mediane recovery bedroeg 47% met een minimale en maximale recovery van respectievelijk 27% en 69% (figuur 1A). De originele cTnI-concentraties lagen tussen 0,051 µg/l en 36,8 µg/l. Opvallend was dat het plasma van de patiënte bij herhaling een extreem lage recovery gaf tussen 0% en 4% wat wijst op de aanwezigheid van een hoogmoleculaire vorm van cTnI die reageert in de Architect immunoassay.

Gelfiltratiechromatografie

Om het vermoeden op een hoogmoleculaire vorm van cTnI te bevestigen werd gelfiltratiechromatografie uitgevoerd met een Superdex-75-kolom zoals eerder beschreven (1). Deze methode scheidt moleculen op basis van grootte en wordt bijvoorbeeld gebruikt voor het aantonen van macroprolactine. Grote moleculen elueren eerst van de kolom, direct na het dood volume, gevolgd door steeds kleinere. Het eluaat werd separaat opgevangen in fracties waarin vervolgens cTnI werd gemeten (figuur 1B). De resultaten geven aan dat bij patiënte een hoogmoleculaire vorm van cTnI aanwezig is die reageert in de Architect immunoassay en die niet bij andere patiënten met een verhoogde cTnI-concentratie werd gevonden. Ook in het NIST Standaard Referentie Materiaal 2921 dat bestaat uit het troponine-TIC-complex werd deze hoogmoleculaire vorm niet gezien. Deze hoogmoleculaire vorm elueerde direct van de kolom. Dit betekent dat het groter is dan het scheidend vermogen van de kolom (75 kD). Het intacte cTnI-molecuul heeft een grootte van ongeveer 23 kD. Dit elueert later van de kolom zoals te zien in figuur 1B bij de willekeurige patiënt met verhoogd cTnI en wordt gevolgd door kleinere fragmenten die als laatste elueren van de kolom.

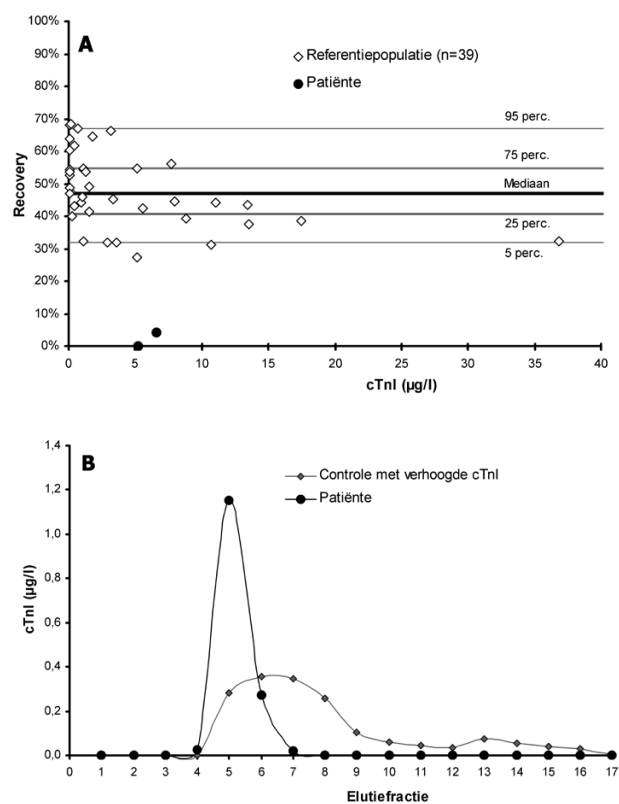
Beloop

Veertien dagen na haar ontslag uit het ziekenhuis werd patiënte ter controle gezien op de polikliniek (tabel 1; dag 15, 09:52). Ze gaf aan geen thoracale pijnklachten meer te hebben, maar bleek nog steeds een troponineconcentratie te hebben van 5,7 µg/l. Enkele maanden later (tabel 1; dag 52, 09:46 en dag 138, 09:41) werd opnieuw poliklinisch de cTnI-concentratie gecontroleerd en deze was respectievelijk 5,6 en 4,0 µg/l.

Verhoogde troponineconcentraties worden gevonden bij tal van aandoeningen anders dan het acuut coronaair syndroom zoals onder meer bij hersenbloeding (3), gedilateerde cardiomyopathie (4), hartfalen (5), endocarditis (6), longembolie (7), vasculaire chirurgie (8), cardiotoxiciteit (9), sepsis (10), nierfalen (11) en na duursport (12). Dit, in combinatie met de uitslagen van de verschillende laboratoriumonderzoeken en de afwezigheid van enige cardiale, pulmonale of andere problematiek zoals hierboven genoemd, maakt nogmaals de aanwezigheid van interferentie specifiek voor de cTnI-bepaling op de Architect analyser zeer aannemelijk.

Conclusie

Deze casus laat zien dat niet iedere (significant) verhoogde troponineconcentratie betekent dat er sprake is van een acuut coronaair syndroom of een ander cardiaal probleem. Bij het ontbreken van een dynamisch beloop van de troponineconcentratie, klinische symptomen van een acuut coronaair syndroom en ECG-afwijkingen moet altijd gedacht worden aan een analytische oorzaak voor een onbegrepen verhoogde troponineconcentratie, zeker voordat een patiënt aan (dure en soms risicovolle) vervolgdagnostiek wordt onderworpen. Tijdige communicatie tussen arts en laboratorium is daarbij noodzakelijk. In deze casus is middels meerdere methoden aannemelijk gemaakt dat er sprake is van een macrotroponine. Dit is nog niet als zodanig beschreven in de literatuur.



Figuur 1. A) Recovery van troponine I na precipitatie met polyethyleenglycol in een referentiepopulatie en in twee separate plasmamonsers van patiënte. B) Chromatogram van cTnI-reactiviteit in verschillende fracties na gelfiltratiechromatografie van een willekeurige controlepatiënt met een verhoogde cTnI-concentratie, en de patiënte.

Dankbetuiging

In het Algemeen Klinisch Laboratorium van het Elkerliek Ziekenhuis werden de twee troponine-I-bepalingen uitgevoerd en in het Klinisch Chemisch Laboratorium van het Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC) de troponine-T-bepaling. Het MUMC faciliteerde de gelfiltratiechromatografie.

Referenties

1. Michielsen EC, Diris JH, Kleijnen VW, Wodzig WK, Van Dieijen-Visser MP. Interpretation of cardiac troponin T behaviour in size-exclusion chromatography. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 1422-7.
2. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassays. *Clin Biochem Rev.* 2004; 25: 105-20.
3. James P, Ellis CJ, Whitlock RM, McNeil AR, Henley J, Anderson NE. Relation between troponin T concentration and mortality in patients presenting with an acute stroke: observational study. *Br Med J.* 2000; 320: 1502-4.
4. Sato Y, Yamada T, Taniguchi R, Nagai K, Makiyama T, Okada H, et al. Persistently increased serum concentrations of cardiac troponin T in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy are predictive of adverse outcomes. *Circulation.* 2001; 103: 369-74.
5. Ilva T, Lassus J, Siirilä-Waris K, Melin J, Peuhkurinen K, Pulkki K, et al. Clinical significance of cardiac troponins I and T in acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2008; 10: 772-9.
6. Purcell JB, Patel M, Khera A, de Lemos JA, Forbess LW, Baker S, et al. Relation of troponin elevation to outcome in patients with infective endocarditis. *Am J Cardiol.* 2008; 101: 1479-81.
7. Giannitsis E, Muller-Bardorff M, Kurowski V, Weidtman B, Wiegand U, Kampmann M et al. Independent prognostic value of cardiac troponin T in patients with confirmed pulmonary embolism. *Circulation.* 2000; 102: 211-7.
8. Kertai MD, Boersma E, Klein J, Van Urk H, Bax JJ, Poldermans D. Long-term prognostic value of asymptomatic cardiac troponin T elevations in patients after major vascular surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004; 28: 59-66.
9. O'Brien PJ. Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology.* 2008; 245: 206-18.
10. Scott EC, Ho HC, Yu M, Chapital AD, Koss W, Takaniishi DM Jr. Pre-existing cardiac disease, troponin I elevation and mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Anaesth Intensive Care.* 2008; 36: 51-9.
11. Freda BJ, Tang WH, Van Lente F, Peacock WF, Francis GS. Cardiac troponins in renal insufficiency: review and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 40: 2065-71.
12. Michielsen EC, Wodzig KW, Van Dieijen-Visser MP. Cardiac troponin T release after prolonged strenuous exercise - a review. *Sports Med.* 2008; 38: 425-35.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 248-249

Detection of a monoclonal gammopathy by lipemia-index measurement

I.C.A. MUNNIX, M.T.M. RAIJMAKERS, W.P. OOSTERHUIS and H.A. KLEINVELD

Introduction

Monoclonal gammopathy is defined by the presence of monoclonal immunoglobulins in serum or urine. It is caused by the proliferation of a single clone of plasma cells and is visible in serum electrophoresis as a single, sharply defined band. The monoclonal immunoglobulin is also called paraprotein or M-protein and can occur in human serum in extremely high concentrations (1). A single M-protein is homogeneous in terms of its structure and specificity. It consists of either complete immunoglobulin molecules or fragments, which may form polymers. This can influence the solubility and binding ability in a non-predictable way (2, 3). M-proteins in clinical chemistry assays are attracting increasing attention. When it occurs in very high concentrations, it may cause significant interference in clinical chemistry assays (4, 5). Serum indices are calculations of absorbance measurements that pro-

vide a semi-quantitative representation of levels of icterus, hemolysis, or lipemia that are present in patient samples. These indices can be easily measured on a Modular P analyzer by spectrophotometry. Here, we report a case in which a monoclonal gammopathy was detected by measurement of the serum lipemia-index on a Modular Analytics P module.

Methods

A 50 year old female patient was admitted to the hospital for loss of consciousness and a resulting wound on her head. Upon admission a plasma sample was drawn and serum indices, creatinine, urea nitrogen, electrolytes, glucose, total protein, CRP, and liver enzymes were measured on a Modular P analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) according to the manufacturer's manual.

For serum index measurement 8 µl of sample is mixed with 200 µl of saline and the bichromatic wavelength pairs at 480 and 505, 570 and 600, and 660 and 700 nm are measured. Based on these absorbances semi-quantitative values are calculated for the degree of lipemia, hemolysis and icterus present in the sample.

Department of Clinical Chemistry, Atrium Medical Centre, Heerlen, The Netherlands

E-mail: imunnix@atriummc.nl