

EPCs in patients with SI

Before surgery, 11 out of 13 patients with CSS showed an elevated percentage of EPCs as compared with the control group, as is shown in figure 1. The percentage of EPCs in patients with one-vessel CSS were comparable to the percentage found in patients with a two vessel CSS.

Discussion and Conclusions

It is feasible to determine the percentage of EPCs using the described method. Although the EPCs are present in very low numbers, we found an increased percentage in patients with CSS as compared with the control group. However, we used a small control group to calculate this reference interval and have to increase the number to ensure that this interval is accurate. The coefficient of variation was low, but the reproducibility should also be tested with more controls.

In conclusion, we developed a method to measure EPCs in peripheral blood as a possible marker for CSS. The increased percentages of EPCs in patients with CSS indicate that this marker indeed may be of value for an early diagnosis of CSS. However, more patients and controls have to be analysed to support our hypothesis.

References

1. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Zee R van der, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-967.
2. Roncalli JG, Tongers J, Renault M, Losordo DW. Endothelial progenitor cells in regenerative medicine and cancer: a decade of research. *Trends in Biotechnology* 2008; 26: 276-283.
3. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial Progenitor Cells: Characterization and Role in Vascular Biology. *Circulation Research* 2004; 95: 343-353.
4. Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, Amano K, Kishimoto Y, Yoshimoto K, Akashi H, Shimada K, Iwasaka T, Imaizumi T. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 427-435.
5. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-3017.
6. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. *J Cell Mol* 2004; 8: 498-508.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 257-258

Evaluatie van de hepatitis-C-test op de cobas e

H. van der VUURST en W.A. NIJHOF

Inleiding

De recent uitgebrachte anti-HCV-test voor de cobas e analysers (Roche Diagnostics) is een 'electrochemiluminescence immunoassay' (ECLIA) volgens het sandwichprincipe, geschikt voor het aantonen van antilichamen tegen hepatitis-C-virus (HCV) in humaan serum of plasma. Deze derde generatietest maakt gebruik van peptides en recombinantantigenen tegen core-, NS3- en NS4-eiwitten om de anti-HCV-antistoffen aan te tonen. De test is door zijn eenvoud en eenduidigheid van resultaten geschikt voor routine-screening op een klinisch-chemisch laboratorium.

Methode

De nieuwe anti-HCV-methode voor de cobas e werd vergeleken met de huidige HCV-test voor de AxSYM (HCV version 3.0, Abbott Diagnostics), die gebruik

maakt van een 'microparticle enzyme immunoassay'-techniek (MEIA). De assay werd uitgevoerd op één E170-machine en één AxSYM, met gebruikmaking van steeds dezelfde meetcel per apparaat. Omdat bij dit vergelijk nauwelijks gebruik gemaakt kon worden van monsters met een bekende titer werd in eerste opzet gekozen voor een vergelijk met de monsters uit de SKML-enquête 'Viral Markers', aangevuld met serologie aan gepoolde sera en patiëntenmonsters.

Vervolgens is een EP10-protocol (1) toegepast op de methode, naar analogie van de initiatie van andere testen op de E170. Vijf opeenvolgende dagen is een serie 'high' (h), 'medium' (m) en 'low' (l) monsters gemeten in de volgorde m-h-l-m-m-l-l-h-h-m. Hieruit is een evaluatie gemaakt van carryover, lineariteit, precisie en bias, gebruikmakend van het programma EP Evaluator (Release 8, David G. Rhoads Associates, Inc.). De uitgangsmoesters waren afkomstig van twee patiënten bekend met hepatitis C. Eén monster had een hoge cut-off-index (COI), het tweede een laag signaal dat verder is verdund met negatief serum tot een waarde rond de cut-off van 1.

Streekziekenhuis Koningin Beatrix, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Winterswijk

E-mail: h.vandervuurst@skbwinterswijk.nl

Resultaat

Er werd gebruik gemaakt van ingevroren monsters van de SKML-enquêtes 'Viral Markers' 2008.1, 2008.2 en 2008.3 waarvan een definitieve uitslag bekend was. De testresultaten van ons laboratorium weken nauwelijks af van die van de methode AxSYM. Van de enquêtemonsters wordt bij de resultaatverwerking door de SKML aangegeven wat de verdunding van het oorspronkelijke (serologisch positieve) monster was. Deze vermelding is gebruikt om de sensitiviteit van de twee methodes te vergelijken.

De resultaten van het vergelijk zijn weergegeven in tabel 1. Beide methodes werken met een signaal/cut-off-ratio (S/CO), ook wel cut-off-index (COI) genoemd. Waarden onder de 1,0 (AxSYM) respectievelijk 0,9 (cobas) worden verondersteld niet-reactief te zijn. De waarde van deze verder arbitraire index is bij positieve monsters op de cobas e veel hoger dan op de AxSYM.

In alle drie de enquêtes werden ook de hoogste verdunningen (respectievelijk 1:4096, 1:8192 en 1:16384) positief bevonden met de cobas-test, terwijl volgens de data van de SKML geen van de ingezonden AxSYM-testen nog positief was. Alle negatieve monsters waren ook bij beide methodes negatief.

Een verdere indicatie van de specificiteit kwam uit het vergelijk van 54 gepoolde sera (circa 100 patiënten per pool). Van de serie van 54 poolsera testten 33 positief op AxSYM en E170. Van de 21 monsters die met de AxSYM negatief werden bevonden, waren er 4 positief op de E170. Omdat gepoolde sera zich niet lenen voor nader onderzoek is gekeken naar patiëntenmonsters. Drie reguliere patiëntenmonsters die ten tijde van de evaluatie een discrepantie vertoonden in de resultaten tussen AxSYM (positief) en E170 (negatief) werden ingestuurd naar Sanquin Diagnostiek Amsterdam. In twee gevallen was de 'chemiluminescent microparticle immunoassay' (CMIA, Abbott Architect) negatief. In een derde geval was de CMIA positief en moest een immunoblot (recombinant immunoblot assay, RIBA) uitsluitsel geven; ook dit monster werd negatief bevonden. Gedurende de testperiode werd geen monster gevonden dat negatief was in de E170-assay en positief met de AxSYM.

Evaluatie van het EP10-protocol met gebruikmaking van een 'high' en 'low' monster met een COI van 463, respectievelijk 0,94, laat zien dat er geen carryover kon worden vastgesteld met de anti-HCV-test op de E170. De totale variatiecoëfficiënten (CV's) van het lage, middelste en hoge monster waren respectievelijk 3,6, 4,0 en 2,0%. De lineariteit liet een positieve bias zien bij het gecombineerde middelste monster (COI 254) van 9,7%.

Conclusie

De nieuwe anti-HCV-test voor de cobas e lijkt een hoge sensitiviteit te koppelen aan een hoge specificiteit. Het

Tabel 1. Resultaten SKML-enquête 'Viral Markers' 2008 -1, -2 en -3 voor anti-HCV

Monster	verdunding	AxSYM HCV 3.0 alle labs methode ratio S/CO	cobas e anti-HCV lab SKB ratio S/CO
1F	neg	0,5	0,2
2C	neg	0,5	0,2
3B	neg	0,4	0,2
3D	1:16	28,0	982
1E	1:64	9,6	1008
2D	1:64	9,9	1016
1B	1:128	5,3	559
3E	1:128	5,1	602
2B	1:256	2,7	318
1A	1:512	1,8	162
3F	1:512	1,9	165
2A	1:1024	1,1	81
1C	1:2048	0,7	37
2E	1:2048	0,7	36
1D	1:4096	0,6	20
3C	1:4096	0,6	20
3A	1:8196	0,6	10
2F	1:16384	0,4	4,7

is lastig bij dit soort testen een getal te koppelen aan de sensitiviteit en specificiteit omdat (hepatitis-C-positief) materiaal beperkt is en geen gouden standaard, bijvoorbeeld een RNA-analyse, is uitgevoerd. Binnen de evaluatie van de SKML-getallen is de sensitiviteit van de anti-HCV-assay van Roche 100%. De specificiteit van de test is hoger dan die van de HCV-test op de AxSYM. Binnen de testresultaten van deze evaluatie is door de E170 geen fout-positief of fout-negatief resultaat afgegeven.

Verder heeft de assay een hoge precisie, maar is de lineariteit in de EP10-evaluatie onvoldoende. In geval het een hormoonbepaling zou zijn, zou de lineariteit nader moeten worden bekeken. Het is echter maar de vraag of deze CLSI-richtlijn voor evaluatie van klinisch-chemische methoden toegepast kan worden op gecompliceerde serologiebepalingen. Voor toepassing als screenende test binnen de klinisch-chemische of microbiologische laboratoria lijkt de anti-HCV-test van Roche een aanwinst voor het diagnostisch pakket.

Referenties

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Preliminary Evaluation of Clinical Chemistry Methods; Approved Guideline*. CLSI Document EP 10-A. (1988) CLSI Wayne, PA.