

## De totale ijzerbindingscapaciteit in de SKML combi algemene chemie enquête. Zijn alle resultaten het rapporteren waard?

C. RAMAKERS, M. TRIBAK en Y. KLUITERS-de HINGH

De totale ijzerbindingscapaciteit (TIJBC) kan berekend worden uit de transferrineconcentratie (transferrine  $\times$  25) of door de latente ijzerbindingscapaciteit (LIJBC)-concentratie bij de serum ijzerconcentratie op te tellen. Beide methoden kunnen worden gebruikt voor het rapporteren van de TIJBC in de combi algemene chemie (CAC)-enquête van de SKML. Bij de beoordeling van het kwartaalrapport 2010.1 vielen twee monsters op door negatieve LIJBC's. De resultaten uit een retrospectieve data-analyse in patiënten tonen aan dat de negatieve LIJBC's in de CAC-enquête niet-fysiologisch zijn en waarschijnlijk worden veroorzaakt door extreem hoge ijzerconcentraties als gevolg van toevoeging van ijzer. Hierdoor wordt de ijzerbindingscapaciteit van transferrine overschreden en blijft er vrij geïoniseerd ijzer in het monster over. Dit resulteert in een negatieve LIJBC-concentratie. In de CAC-enquête wordt naast een sporadische inclusie van een patiëntenmonster jaarlijks gebruik gemaakt van slechts één enkele transferrineconcentratie. Dit maakt dat de TIJBC berekend m.b.v. LIJBC structureel zal afwijken van de transferrinemethode in die situaties waarbij er vrij geïoniseerd ijzer aanwezig is in de CAC-monsters. In samenspraak met de SKML zou binnen de LIJBC-methodegroep tot een consensus moeten worden gekomen om de TIJBC berekend uit een negatieve LIJBC-concentratie niet te rapporteren. Omdat er voor transferrine in de combi immunochemie-enquête een adequate externe kwaliteitscontrole bestaat, is het de vraag of de TIJBC-concentratie op basis van de transferrineconcentratie in de CAC-enquête nog nuttig is, en dan met name vanwege de geringe analytische variatie in transferrineconcentraties in deze enquête.

*Trefwoorden: TIJBC; LIJBC; transferrine; combi algemene chemie enquête*

De totale ijzerbindingscapaciteit (TIJBC) maakt onderdeel uit van het bepalingenpakket voor het vaststellen van de ijzerstatus bij patiënten. Samen met de serum ijzerconcentratie (Fe) kan met behulp van de TIJBC de transferrinesaturatie (TS) worden berekend

( $TS = Fe / TIJBC \times 100\%$ ). De TS is belangrijk in de screening voor hereditaire hemochromatose (HH). Een  $TS > 45\%$  is voldoende sensitief en specifiek voor het opsporen van HH en is aanleiding voor het inzetten van onderzoek naar DNA mutaties in het hemochromatose-gen (1).

De twee belangrijkste manieren om de TIJBC te berekenen zijn: (a) berekening met behulp van transferrine ( $TIJBC = 25 \times transferrine$ ) (2) en (b) berekening met behulp van de serum Fe en de gemeten latente ijzerbindingscapaciteit (LIJBC) ( $TIJBC = Fe + LIJBC$ ) (3). Vanwege de lage kostprijs maakt het Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium (KCHL) van het St. Elisabeth Ziekenhuis al sinds jaar en dag gebruik van de spectrofotometrische LIJBC-bepaling voor het berekenen van de TIJBC en TS.

Het principe van de LIJBC-bepaling berust op toevoegen van een bekende overmaat Fe(II) aan een serum monster. Het Fe(II) zal in een alkalische milieu aan transferrine binden als Fe(III) totdat het transferrine voor 100% is verzadigd. Het ongebonden Fe(II) wordt vervolgens spectrofotometrisch gemeten als een FerroZine-complex® (4) waarbij het gemeten signaal omgekeerd evenredig is aan de LIJBC.

### Resultaten

Binnen het KCHL wordt de LIJBC-bepaling uitgevoerd op vier Cobas C501 systemen (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Almere). Ten behoeve van de externe kwaliteitscontrole wordt de TIJBC gerapporteerd binnen de combi algemene chemie (CAC)-enquête van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek (SKML). Bij de beoordeling van het kwartaalrapport 2010.1 vielen bij de TIJBC-rapportage de monsters 2010.1A en 2010.1B op door een gerapporteerde TIJBC waarde van 0  $\mu\text{mol/l}$ . Controle van de ruwe data liet voor beide monsters negatieve LIJBC-concentraties zien ( $LIJBC_{2010.1A} = -10,2 \mu\text{mol/l}$ ,  $LIJBC_{2010.1B} = -3,3 \mu\text{mol/l}$ ). Deze afwijkende resultaten voor de LIJBC heeft de analist ten onrechte doen besluiten om geen berekening uit te voeren en voor de TIJBC-rapportage van monster 2010.1A en 2010.1B het getal 0 in te voeren (tabel 1).

Om deze negatieve LIJBC in de SKML-monsters op waarde te schatten is het goed om te weten dat in de tweepunts kalibratie van de LIJBC-bepaling gebruik wordt gemaakt van een watermonster om de maximale bekende overmaat Fe-concentratie die wordt toegevoegd vast te stellen (figuur 1). Dit kalibratiepunt vertegenwoordigt een fictieve TS van 100%, waarbij het in overmaat toegevoegde ijzer niet aan transferrine

---

*Klinisch Chemisch Hematologisch Laboratorium & Trombosedienst, St. Elisabeth ziekenhuis, TweeSteden ziekenhuis, Tilburg*

Correspondentie: C. Ramakers, KCHL, St. Elisabeth ziekenhuis, Postbus 90151, 5000 LC Tilburg  
E-mail: c.ramakers@elisabeth.nl

**Tabel 1.** Overzicht ruwe en gerapporteerde data (monster A t/m F) op vier Cobas C501 systemen (C1 t/m C4) van serum Fe, LIJBC en TIJBC voor SKML enquête combi algemene chemie 2010.1. De getallen tussen de haakjes vertegenwoordigen de resultaten van de methodegroep voor serum Fe (n=877) en TIJBC (n=28). Alle getallen in  $\mu\text{mol/l}$ . Opgemerkt dient te worden dat voor monster 2010.1D een invoerfout is gemaakt waarbij het resultaat van de LIJBC meting is ingevoerd als TIJBC resultaat.

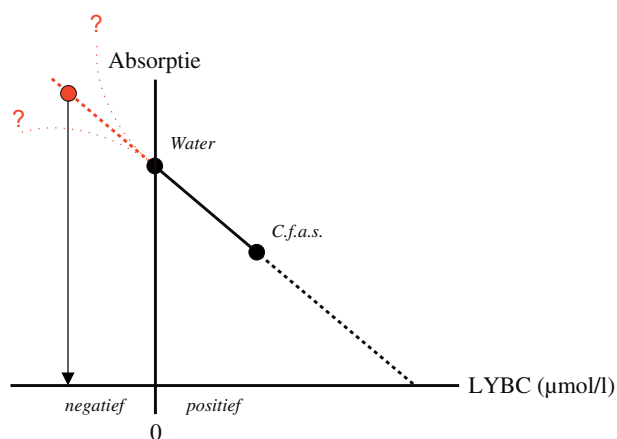
	A	B	C	D	E	F
<b>C1</b>						
serum Fe	73,6 (71,6)	67,1 (65,7)	12,8 (12,1)	59,0 (60,0)	37,7 (37,7)	20,9 (19,5)
LIJBC	-10,2	-1,0	12,6	4,8	17,7	29,4
TIJBC	0 (62,0)	0 (59,0)	25 (25,2)	5 (26,4)	55 (54,7)	50 (51,6)
<b>C2</b>						
serum Fe	71,9 (71,6)	66,0 (65,7)	12,8 (12,1)	60,0 (60,0)	37,7 (37,7)	21,4 (19,5)
LIJBC	-8,0	-1,1	9,8	3,1	18,0	31,8
TIJBC	0 (62,0)	1 (59,0)	23 (25,2)	3 (26,4)	56 (54,7)	53 (51,6)
<b>C3</b>						
serum Fe	73,8 (71,6)	66,4 (65,7)	12,5 (12,1)	60,9 (60,0)	37,0 (37,7)	20,7 (19,5)
LIJBC	-13,6	-4,6	12,4	4,3	18,9	28,8
TIJBC	0 (62,0)	0 (59,0)	25 (25,2)	4 (26,4)	56 (54,7)	50 (51,6)
<b>C4</b>						
serum Fe	75,1 (71,6)	66,6 (65,7)	13,0 (12,1)	60,8 (60,0)	37,4 (37,7)	21,4 (19,5)
LIJBC	-8,9	-6,5	8,5	3,6	19,6	28,2
TIJBC	0 (62,0)	0 (59,0)	22 (25,2)	4 (26,4)	57 (54,7)	50 (51,6)

kan binden maar volledig wordt gebonden aan Ferro-Zine. Een negatieve uitslag in de LIJBC-bepaling in de SKML-monsters impliceert dat transferrine reeds voor 100% is verzadigd met Fe en dat er naast het in overmaat toegevoegde Fe nog additioneel vrij geïoniseerd Fe aanwezig is. Retrospectief vonden wij over een periode van een jaar geen enkele negatieve LIJBC-waarde bij 7561 patiënten. Dit resultaat suggereert dat in de in vivo circulatie, met uitzondering van intoxicaties, geen vrij geïoniseerd Fe aanwezig is en dat de negatieve LIJBC-uitslagen in de CAC-enquête hoogstwaarschijnlijk veroorzaakt worden door toevoeging van extra ijzer aan de samengestelde SKML-monsters. Dit vermoeden wordt ondersteund door SKML (zie onder). Tabel 1 laat voor met name monster 2010.1A een extreem hoge serum Fe-concentratie (methodegroep) zien van  $71,6 \mu\text{mol/l}$  (NB: de hoogste concentratie van serum Fe in de bovengenoemde data-analyse van ons LIS is  $67 \mu\text{mol/l}$ ).

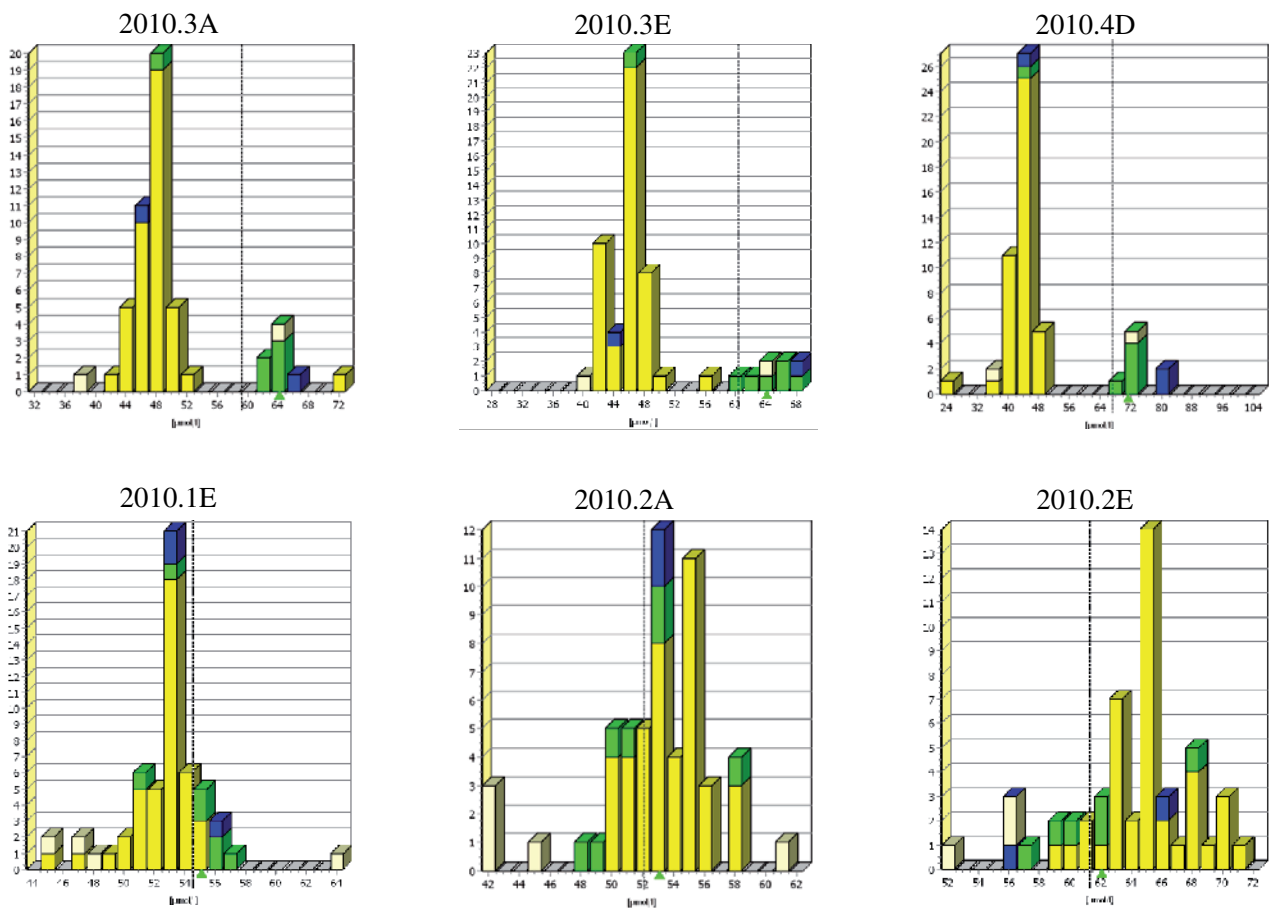
Naast de vier Cobas C501 modules van het KCHL namen in de SKML-enquête CAC 2010.1 nog 24 andere apparaten deel in dezelfde methodegroep voor TIJBC. Gezien het feit dat enkel de groepsconcentraties van serum Fe en TIJBC-waarden worden gerapporteerd in de enquête is niet te achterhalen wat de gevonden LIJBC-waarden van de andere apparaten binnen dezelfde methodegroep zijn geweest. Uitgaande van de methodewaarden voor serum Fe van  $71,6 \mu\text{mol/l}$  en TIJBC van  $62,0 \mu\text{mol/l}$  voor monster 2010.1A (tabel 1) is het goed mogelijk dat de overige gebruikers binnen de methodegroep een negatieve LIJBC-waarde bij het serum Fe hebben opgeteld. Uitgaande van een gemiddelde LIJBC over onze vier Cobas C501 apparaten van  $-10,2 \mu\text{mol/l}$  maakt deze aanname zeer wel mogelijk ( $\text{TIJBC} = -10,2 + 71,6 = 61,4 \mu\text{mol/l}$ ).

Naast de LIJBC-methode om de TIJBC te rapporteren ( $\text{LIJBC} + \text{serum Fe}$ ) kan op de Cobas C501 ook transferrine worden gebruikt voor het rapporteren van de

TIJBC ( $25 \times$  transferrine). Omdat de externe kwaliteitsrondzending in de SKML voor transferrine onderdeel is van de Combi Immunochemie enquête van de SKML voorziet de CAC niet in een goede kwaliteitscontrole voor transferrine. SKML meldt dat in het samenstellen van de verschillende CAC monsters geen variatie in de transferrineconcentratie wordt aangebracht en dat de transferrineconcentratie in alle monsters gelijk is, met uitzondering van een sporadische inclusie van een patiëntenmonsters in de externe rondzending gedurende het jaar. Dientengevolge zal er in de TIJBC-rapportage met behulp van de transferrinemethode in het merendeel van de SKML-monsters ook geen variatie zitten. Dit maakt dat de TIJBC berekend met de LIJBC-me-



**Figuur 1.** Schematisch voorbeeld van de LIJBC kalibratie-curve. De twee-puntskalibratie maakt gebruik van een watermonster voor het vaststellen van de concentratie aan overmaat toegevoegd ijzer. De dikke stippellijn vertegenwoordigt een niet-fysiologische situatie waarbij er naast de overmaat toegevoegd ijzer nog additioneel geïoniseerd ijzer aanwezig is. De dunne stippellijnen vertegenwoordigen de mogelijke analytische onzekerheid van negatieve LIJBC concentraties. C.f.a.s.: calibrator for automated systems.



**Figuur 2.** Zestal gerapporteerde TIJBC concentraties van SKML monsters in de combi algemene chemie enquête. De drie histogrammen boven zijn voorbeelden van monsters met relatief hoge ijzerconcentraties (2010.3A=61 µmol/l, 2010.3E=64 µmol/l, 2010.4D=71 µmol/l). Onder drie histogrammen met relatief normale ijzerconcentraties (2010.1E=38 µmol/l, 2010.2A=33 µmol/l, 2010.2E=17 µmol/l). Licht: transferrinemethode; medium: LIJBC-methode (zonder MgCO<sub>3</sub> precipitatie), donker: LIJBC-methode (met MgCO<sub>3</sub> precipitatie).

thode structureel zal afwijken van de transferrinemethode in die situaties waarbij de ijzerbindingscapaciteit van transferrine wordt overschreden en er vrij geïoniseerd ijzer in de SKML-monsters aanwezig is. Figuur 2 laat zes monsters zien binnen de CAC-enquête van 2010. De histogrammen boven laten TIJBC-concentraties zien van drie monsters met een hoge serum Fe-concentratie (2010.3A=61 µmol/l, 2010.3E=64 µmol/l en 2010.4D=71 µmol/l). Onder worden drie histogrammen getoond van TIJBC-concentraties in monsters met lagere ijzerconcentraties (2010.1E=38 µmol/l, 2010.2A=33 µmol/l, 2010.2E=17 µmol/l). De gele balken vertegenwoordigen de transferrinemethodegroep terwijl de groene balken de LIJBC-methodegroep vertegenwoordigen. In de monsters met een hoge Fe-concentratie ontstaan twee populaties omdat de TIJBC alleen in de LIJBC-methodegroep afhankelijk is van de Fe-concentratie.

### Conclusie

Bij de rapportage van de TIJBC in de SKML CAC-enquête dienen deelnemers rekening te houden met een tweetal zaken. De CAC-monsters worden gesuppleerd met Fe wat, bij zeer hoge Fe-concentraties, kan resulteren in negatieve LIJBC-concentraties. Gezien het feit dat negatieve concentraties in vivo niet bestaan is het rapporteren van een TIJBC-concentraties op basis van deze concentraties onjuist.

Deelnemers die de TIJBC berekenen uit de transferrineconcentratie dienen rekening te houden met het feit dat, naast een sporadisch patiëntenmonster, de CAC-enquête gedurende het jaar maar voorziet in één enkele transferrineconcentratie voor alle monsters. Het is de vraag of deze uiterst geringe variatie in transferrineconcentratie een goede opzet is voor de externe kwaliteitscontrole van de TIJBC-concentratie. Voor de transferrinemethodegroep zou de TIJBC wellicht beter kunnen worden ondergebracht in de combi immunochemie.

Voor wat betreft de LIJBC-methodegroep zou in overleg met SKML kunnen worden overwogen om tot een consensus te komen om in de toekomst geen TIJBC-concentraties te rapporteren in die gevallen waar ten gevolge van suppletie van ijzer negatieve LIJBC-concentraties worden gemeten.

### Referenties

1. NVKC-VAL & NVI. Diagnostiek en behandeling van hereditaire hemochromatose. Richtlijn Hemochromatose. 2007; 13-27.
2. Gambino R, Desvarieux E, Orth M, Matan H, Ackattupathil T, Lijoi E, Wimmer C, Bower J, Gunter E. The relation between chemically measured total ironbinding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. Clin Chem. 2007; 43: 2408-12.

3. Klein E. Direct determination of latent iron-binding capacity of the blood. *Acta Haematol.* 1957; 17: 263-70.
4. Carter P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Anal Biochem.* 1971; 40: 450-8.

## Summary

Ramakers C, Tribak M, Kluiters-de Hingh Y. Total iron binding capacity in the SKML general chemistry round-robin. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011; 36: 153-156.

The total iron binding capacity (TIBC) can be calculated from the transferrin concentration (transferrin  $\times$  25) or by adding up the serum iron concentration and the latent iron binding capacity (LIBC). Both methods for calculating TIBC are part of the Dutch external quality assessment scheme (EQAS) for clinical chemistry. With the evaluation of the 2010.1 quarterly report, two samples stood out because of negative LIBC concentrations. A retrospective data analysis of patient results did not yield negative LIBC, showing that the negative LIBC in the EQAS samples are non-physiological and probably the result of extremely high iron concentrations due to spiking of the EQAS samples. Substantial spiking with iron will exceed the iron binding capacity of transferrin resulting in unbound ionized iron in those EQAS samples. This is the most likely cause of the negative LIBC concentrations.

Per year, the EQAS scheme for clinical chemistry makes use of a single transferrin concentration. Consequently this will result in structural TIBC differences between the transferrin method and the LIBC method in situations where the iron concentration exceeds the transferrin binding capacity and unbound ionized iron is present.

TIBC concentrations calculated with negative LIBC concentration need to be excluded from the EQAS for clinical chemistry, preferably this has to be done in consensus with all LIBC method users.

*Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2011; 36: 156-161

## Toxicologisch onderzoek naar drugs in haar

E.J.M. PENNINGS

De laatste jaren is de onrust toegenomen over de interpretatie van de resultaten van toxicologisch onderzoek naar drugs in menselijke haren. De reden hiervan is dat externe contaminatie van haren met cocaïne kan leiden tot onverwacht hoge opname van cocaïne in het haar, afhankelijk van de porositeit van het haar. Het is daarom noodzakelijk het haar op de juiste wijze te wassen voorafgaand aan de chemische analyse. Er bestaat echter geen consensus onder wetenschappers over de juiste wasprocedure. Wel is duidelijk dat wassen van haar met enkel een organisch oplosmiddel onvoldoende is en dat aanvullend wassen met een wa-

The Dutch EQAS for clinical chemistry has a limited analytical variation in transferrin concentrations. Consequently, the TIBC variation based on transferrin is equally limited. Because the EQAS of choice for transferrin is the immunochemistry scheme, it is questionable whether the EQAS for clinical chemistry, with its limited variation in transferrin concentrations, is the most suited scheme for reporting the TIBC.

*Keywords: TIBC; LIBC; transferrin; EQAS; clinical chemistry*

### Reactie sectie algemene chemie van de SKML, organisator van de Combi Algemene Chemie (CAC) enquête

Wij danken Ramakers et al. voor hun analyse van het probleem dat sommige rondzendmonsters een negatieve LIJBC en daarmee TIJBC kennen in de Combi Algemene Chemie (CAC) enquête. Wij delen hun conclusie dat dit waarschijnlijk veroorzaakt wordt door het toevoegen van ijzer aan de rondzendmonsters.

Om een indruk te geven van de ijzerbindingscapaciteit in serum of plasma wordt door de meeste laboratoria tegenwoordig het transferrinegehalte immunochemisch bepaald en transferrine en/of TIJBC (berekend uit transferrine) gerapporteerd. De transferrine saturatie kan vervolgens uit de transferrine en ijzer concentraties berekend worden. Omdat de meeste laboratoria het transferrine bepalen en transferrine onderdeel is van de Combi Immunochemie enquête van de SKML zou de TIJBC in de CAC geschrapt kunnen worden. Voor het zeer geringe aantal laboratoria dat nog LIJBC of TIJBC meet, zou de TIJBC aan de Combi Immunochemie enquête toegevoegd kunnen worden. Tot die tijd moeten negatieve TIJBC in CAC monsters niet naar de SKML ingestuurd worden om verwarring te voorkomen.

terige oplossing noodzakelijk is om het haar te doen zwellen en externe verontreinigingen die het haar zijn binnengedrongen, te verwijderen.

*Trefwoorden: toxicologie; drugs; haar; analyse; wasprocedure*

De laatste jaren is de onrust toegenomen over de interpretatie van de resultaten van toxicologisch onderzoek naar drugs in menselijke haren. De reden hiervan is dat externe contaminatie van haren met cocaïne kan leiden tot onverwacht hoge afzetting van cocaïne in het haar. Een aantal recente bevindingen laat zien dat kunstmatig op haar aangebrachte cocaïne het haar kan binnendringen in concentraties die overeenkomen met de concentraties die worden teruggevonden in het haar van cocaïnegebruikers (1-3). Het gevolg hiervan is dat externe contaminatie van haar met cocaïne er toe kan

Correspondentie: dr. E.J.M. Pennings. G.Rietveldlaan 19, 2343 MA Oegstgeest. E-mail: e.j.m.pennings@planet.nl. Afd. Pathologie en Toxicologie, Nederlands Forensisch Instituut, Postbus 24044, 2490 AA Den Haag  
E-mail: e.j.m.pennings@planet.nl