

S-CDT disialo på HPLC (NPU19601), Lund

Bakgrund, indikation och tolkning

Järn transporteras i blodet bundet till transferrin. Transferrin är, liksom majoriteten av andra plasmaproteiner, ett glykoprotein. Transferrinmolekylen innehåller två kväve-bundna (N-linkade) glykokonjugat vilka vardera avslutas med 0, 1, 2 eller 3 sialinsyrarester, d.v.s. högst 6 stycken sialinsyrarester i hela transferrinmolekylen (fig 1).

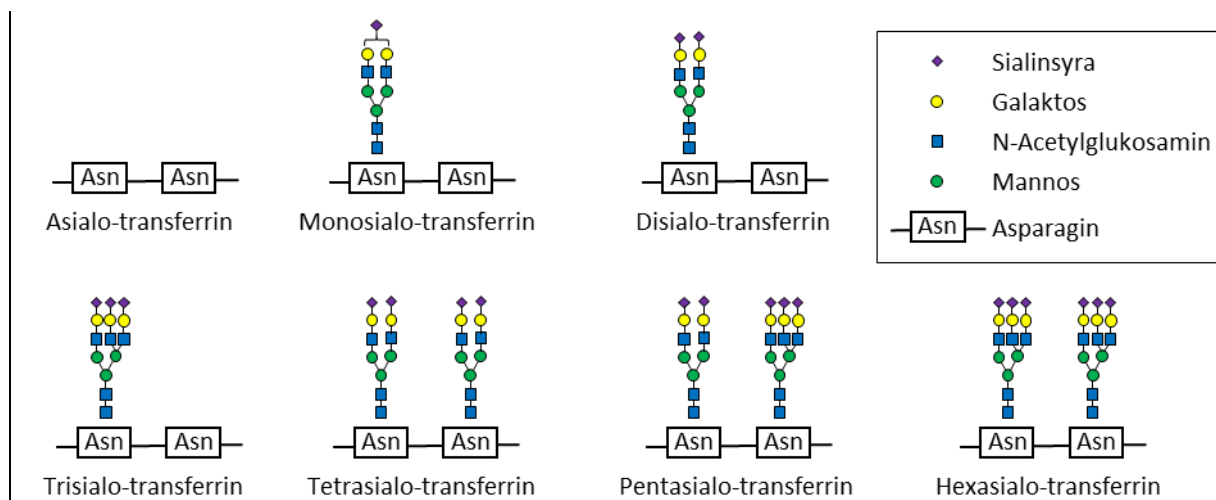


Fig 1. Schematisk presentation av kliniskt relevanta transferrin former.

Vid hög alkoholkonsumtion reduceras andelen fullt glykosylerade transferrinmolekyler (CDT = carbohydrate deficient transferrin). En eller båda av de N-linkade glykokonjugaten saknas helt (1,2). De cirkulerande transferrinmolekylerna kommer därför i varierande utsträckning att ha onormalt låg glykosylering och därmed få sialinsyrarester. Sialinsyra är vid fysiologiskt pH negativt laddad och påverkar således molekylen totaladdning och därmed dess retentionstid vid jonbyteskromatografi. De olika kromatografiska topparna vid HPLC-analys benämns efter antal sialinsyrarester; asialo, monosialo, disialo osv (fig 2) (3). För bestämning av CDT ställs andelen disialo-transferrin i relation till totalt transferrin.

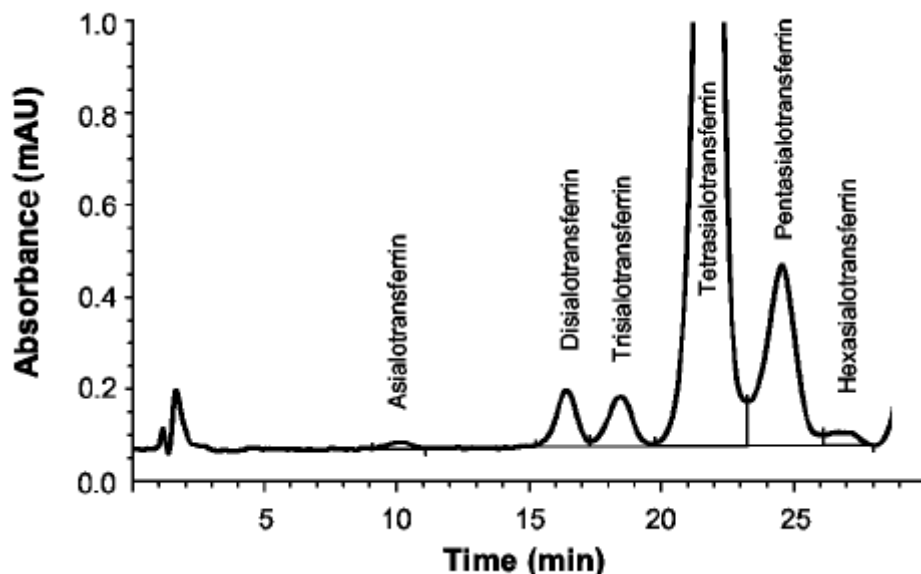


Fig 2. Helander A, Husa A, Jeppsson J. Improved HPLC-method for carbohydrate transferrin in serum. *Clin Chem* 2003, 49(11), 1881-1890 (3).

Dagligt intag under två till fyra veckors tid på minst 60 g ren alkohol (motsvarar ungefär 1 flaska vin eller 3-4 burkar starköl eller 20 cL sprit) ger förhöjda värden i 50 % av fallen medan en genomsnittlig daglig konsumtion på > 100 g ren alkohol krävs för att CDT, disialo skall bli förhöjt i 90 % av fallen. Halveringstiden för CDT är c:a 10 dagar (4), varför förhöjda värden kan ses flera veckor efter att alkoholkonsumtionen upphört.

Värden på 2.0 % CDT eller däröver är uttryck för förhöjd alkoholkonsumtion. Generellt gäller att ju högre alkoholkonsumtionen är, desto högre mätvärde uppmäts. Sensitiviteten är högre än 50 % men beroende av den undersökta populationen. Specificiteten är mycket hög (mer än 90 %), men även vissa former av svår leversjukdom, galaktosemi, ärftlig fruktosintolerans samt congenital disorders of glycosylation (CDG) kan ge förhöjda värden (4,5). Vid beställning av S-CDT på barn <11 år gäller att S-Transferrin proteoformer kommer att analyseras istället för S-CDT.

Analysprincip

Serum järnmättas för att undvika mikroheterogenitet och β -lipoproteiner fälls bort med dextransulfat och magnesiumklorid. Provet centrifugeras och därefter analyseras supernatanten där glykoformerna av transferrin separeras på en stark anjonbytare i ett HPLC-system med en saltgradient. De olika glykoformerna har olika antal sialinsyrarester och retarderas efter ökande antal; från asialotransferrin (kortast retentionstid) till mono, di, tri, tetra, penta och hexasialo-transferrin. Fe-transferrinkomplexet har en specifik absorbans vid 470 nm, som används för detektion av transferrinets glykoformer i samband med kromatografi. Baslinjeintegrering tillämpas från disialo till penta/hexasialo. Arean av disialotoppen divideras med den totala arean och resultatet presenteras i procent (3).

Referensintervall

Referensintervallet för både män och kvinnor är < 2,0 % (5).

Referensintervallet är baserat på nationella riktlinjer från Equalis som omfattar, dels metodologiska riktlinjer, dels en referenspopulation där värden lägre än medelvärdet + 3 SD har betraktats som normalt.

Metodbeskrivning

S-CDT_ LundGäller för
Klinisk kemi

LU

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Utöver de felkällor beskrivna i avsnittet "Bakgrund, indikation och tolkning" ovan finns även följande kända interferenser och felkällor:

- Genetiska varianter av transferrin kan försvåra tolkningen av kromatogrammet (5).
- Hög fukosylering kan leda till dålig separation mellan di- och trisialotopparna (6).
- EDTA-plasma (se bilaga 7) ger ett atypiskt kromatogram, vilket även citrat-plasma kan göra.
- Eventuellt kan även hemolytiskt eller ikteriskt prov försvåra tolkningen. Tillsatsförsök visade ingen interferens vid bilirubin <150 µmol/L, hemoglobin <0,7 g/L och CRP <242 mg/L. Hemolytiska och ikteriska prover analyseras och kromatogrammets utseende får avgöra om svar kan lämnas ut.

Mätområde

Mätområde inte relevant.

Detektionsgräns

Nedre detektionsgräns är inte relevant eftersom mätvärdet utgörs av en kvot och den nedre detektionsgränsen är beroende av provets totaltransferrinhalten.

Mätosäkerhet

Hämtat från Flexlab/QM Lund, årsgenomgång för 2022.

Nivå (%)	Imprecision (CV%)
0.96	7
2.39	5

Spårbarhet

Kalibrator saknas. Deltar i Equalis externa kontrollprogram.

Ackreditering

S-CDT disialo är ackrediterad enligt SS-EN ISO 15189.

Referenser

1. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as a marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. Clin Chem [Internet]. 2001;47:13–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11148172>
2. Bjerre B, Borg S, Nord B, Helander A, Jeppsson J, Mas U. CDT värdefull markör för överkonsumtion av alkohol. Riktlinjer för dess användning vid körkortsprövning. 1999;677–83: <http://www.lakartidningen.se/OldPdfFiles/2001/22422.pdf>
3. Helander A. Improved HPLC Method for Carbohydrate-deficient Transferrin in Serum. Clin Chem [Internet]. 2003 [cited 2014 Feb 10];49:1881–90. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2003.023341>
4. Jeppsson JO, Kristensson H, Fimiani C. Carbohydrate-deficient transferrin quantified by HPLC to determine heavy consumption of alcohol. Clin Chem [Internet]. 1993;39:2115–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8403395>

S-CDT_ Lund

-
5. Helander A, Eriksson G, Stibler H, Jeppsson JO. Interference of transferrin isoform types with carbohydrate-deficient transferrin quantification in the identification of alcohol abuse. Clin Chem [Internet]. 2001;47:1225–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11427453>

 6. Landberg E, Åström E, Kågedal B, Pahlsson P. Disialo-trisialo bridging of transferrin is due to increased branching and fucosylation of the carbohydrate moiety. Clin Chim Acta [Internet]. Elsevier B.V.; 2012 [cited 2014 Feb 10];414:58–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22902807>