

'N ONDERSOEK NA DIE TOEPASSING VAN ESSAIËRINGSTELLE  
VIR BEPALING VAN VERWYSINGSWAARDES VIR VITAMIEN B<sub>12</sub>,  
SERUM-EN ROOISELFOLAAT BY VERSKILLENDE ETNIESE GROEPE

HENNY CLOETE

CAPE/KAAPSE TECHNIKON  
LIBRARY ITEM:97000268



53587



'N ONDERSOEK NA DIE TOEPASSING VAN ESSAIËRINGSTELLE  
VIR BEPALING VAN VERWYSINGSWAARDES VIR VITAMIEN  
B<sub>12</sub>, SERUM- EN ROOISELFOLAAT BY VERSKILLENDE  
ETNIESE GROEPE

HENNY CLOETE

Verhandeling ingelewer ter voldoening aan die vereistes vir die  
Meestersdiploma in Tegnologie (Geneeskundige Tegnologie) by die  
Skool vir Lewenswetenskappe aan die Kaapse Technikon

Departement van Hematologiese Patologie

Tygerberg Hospitaal

April 1992

Interne Studieleier:

Mnr E J Truter

Eksterne Studieleier:

Prof J G Steytler

VERKLARING

Hiermee verklaar ek, die ondergetekende, dat die inhoud van die verhandeling my eie werk verteenwoordig en dat menings hierin uitgespreek my eie is en nie noodwendig dié van die Technikon is nie. Die verhandeling is nog nie voorheen ingedien vir die verkryging van enige diploma, graad of eksamen by enige ander instansie nie.

*H Cloete*

*November 1992*

.....  
H CLOETE

.....  
DATUM

## DANKBETUIGINGS

Ek wil graag 'n spesiale woord van dank rig aan die volgende persone vir hul bydrae, hulp en ondersteuning tydens die voorbereiding van hierdie verhandeling.

My Ouers

Ernie Truter

Elsje Badenhorst

Francois Venter

Prof.J.Steytler

Jaco Cloete

Sanet Schilhorn

Die personeel van die W.P. Bloedoortappingsdiens

## OPSOMMING

So vroeg as 1822 is daar ontdek dat 'n pasient met 'n makrositêre anemie, 'n goeie hematologiese respons getoon het na behandeling met lewer, 'n ryk bron van folaat (folacin), wat by sy dieet gevoeg was. Dieselfde het in 1851 gebeur, toe dit gevind is dat 'n megaloblastiese anemie gekorrigeer kon word na behandeling met 'n giskonsentraat, 'n ryk bron van vitamien B<sub>12</sub> (kobalamien). Dit is bekend dat 'n tekort aan hierdie vitamienes verantwoordelik is vir 'n megaloblastiese anemie, wat ongelukkig nie hematologies van mekaar onderskei kan word nie, maar wat nogtans verskillende tipes behandeling vereis. Dit is dus van belang om die oorsprong van die makrositêre anemie te bepaal deur die evaluering van vitamien B<sub>12</sub>- en folaatvlakke.

Verskeie laboratorium-toetsmetodes is die afgelope 20 tot 30 jaar ontwikkel en deur voortdurende verbeteringe het dit gelei tot die radio-immun essai (RIE) metode waarmee vitamien B<sub>12</sub>- en folaatvlakke tans bepaal word. Hierdie metode het verskeie voordele bo die mikrobiologiese metode, wat vroeër in gebruik was, maar is nog steeds afhanklik van vooropgestelde reikwydtes of normale waardes. Hierdie reikwydtes word saam met elke toetsstel verskaf en word opgestel deur gebruik te maak van 'n Amerikaanse blanke populasie.

Huidiglik ondervind die laboratorium probleme met die RIE toetsstel in gebruik en daar is ook dikwels gevind dat die vitamien B<sub>12</sub>- of folaatresultate en kliniese bevindinge van pasiente, by sommige bevolkingsgroepe, verskil het. Dit het die

vraag laat ontstaan of die toetsstel wat tans in gebruik is, vervang behoort te word. Ook is dit bevraagteken of die beskikbare verskafte toetsstel-reikwydtes vir alle bevolkingsgroepe in die Kaapse Skiereiland, geskik is.

'n Besluit is geneem om verskillende RIE toetsstelle te evalueer en daarna toe te pas op nuwe bloedskenkers sodat daar gelyktydiglik gekyk kan word of daar enigsinds ander reikwydtes vir verskillende bevolkingsgroepe in die Kaapse Skiereiland opgestel behoort te word. Vanweë 'n gebrek aan nuwe skenkers is agt-en-dertig blanke mans, sewe-en-dertig blanke vroue, een-en-dertig kleurling mans, een-en-veertig kleurling vroue, vyf swart mans (nie genoeg vir statistiese analise nie,) en agt-en-dertig swart vroue in hierdie studie ingesluit. Hulle was almal nuwe bloedskenkers wat deur 'n ewekansige seleksie by die verskillende Bloedtransfusieklinieke in die Skiereiland aangemeld het. Hulle het 'n vraelys (aanhangsel 1) ingevul, voldoen aan die kriteria wat vir nuwe bloedskenkers gestel is (aanhangsel 3) en met hul toestemming, is daarna 5ml EDTA bloed geneem wat koud gehou is en dadelik na die laboratorium gestuur is.

Om 'n vergelyking te kon tref tussen die normale en abnormale waardes is megaloblastiese bloed en beenmurg monsters van pasiënte by Tygerberg Hospitaal gebruik.

Na die evaluering van vier kommersiële radio-immun essay (RIE) toetsstelle, is daar besluit om die Bio-Rad Laboratory Quantaphase Dual Label toetsstel vir die laboratorium in gebruik te neem vir die gelyktydige bepaling van vitamien B<sub>12</sub>- en



folaatwaardes en hierdie toetsstel toe te pas op nuwe bloedskenkers om gekyktydig te kyk of daar 'n verskil in reikwydte by verskillende etniese groepe aangetoon kan word.

Daar is 'n roetine hematologiese profiel op die bloed uitgevoer deur gebruik te maak van die Coulter Model "S Plus" selteller. Perifere- en beenmurgsmere is gemaak en met die May Grünwald-Giemsa kleurmetode gekleur. Vitamien B<sub>12</sub>-, serum- en rooifolaaatwaardes is deur middel van 'n RIE metode en Bio-Rad Laboratory se toetsstel bepaal.

Die verskillende toetsstelle is evalueer. Die verkrygte vitamien B<sub>12</sub>-, serum- en rooifolaaatwaardes van die bloedskenkers het 'n asimmetriese verspreiding getoon en die reikwydtes is derhalwe deur middel van die log-normale verspreiding uitgewerk (aanhangsel 2).

Die gevolgtrekking wat gemaak kon word, is dat daar in die laboratorium na die Bio-Rad toetsstel oorgeskakel moet te word omdat dit beter en betroubare resultate gelewer het. Daar kon ook 'n verskil aangetoon word vir die verskillende etniese groepe in die Kaapse Skiereiland tussen die reikwydtes verkry in hierdie studie en dié verskaf met die Bio-Rad toetsstel. Dit is dus ook noodsaaklik dat elke laboratorium sy eie reikwydtes behoort te bepaal na gelang die bevolkingsgroepe wat getoets word. Dit kan ook van groot kliniese waarde in die evaluasie van pasiënte wees, wat veral na Provinsiale opleidingshospitale in die Wes-Kaap verwys word, as daar 'n toekomstige studie aangepak kan word om ander reikwydtes op te stel.

## SUMMARY

As early as 1822 it was discovered that treating a patient, who had a macrocytic anaemia, with a diet containing liver, a rich source of folic acid (folacin), brought about an excellent haematological response. The same happened in 1851 when a yeast extract, a source of vitamin B<sub>12</sub> (cobalamine), corrected a megaloblastic anaemia. It is well known that a lack of either one or both of these vitamins is responsible for a megaloblastic anemia which has been shown to be hematologically indistinguishable yet requires different treatment to correct. It is therefore important to make a correct diagnosis as to the cause of the illness in a megaloblastic anaemia by the measurement of vitamin B<sub>12</sub> and folate levels.

Various laboratory test methods were developed over the past 20 to 30 years and through constant improvement culminated in the current radio immune assay (RIA) technique used for the measurement of vitamin B<sub>12</sub> and folate values. This method has many advantages over the microbiological method that preceded it, but is still dependent on normal values or reference ranges. These reference ranges, supplied with each test kit, are obtained from a white American population and are probably only applicable to the white South African population.

At the moment the laboratory is having some difficulty with the test kit in use and it was also found that often the vitamin B<sub>12</sub> or folate test results, and a patient's clinical assessment, did not correlate in some of our population groups. The question

arose whether it had become necessary to change the test kit because there could be the possibility that commercial kit's reference ranges did not apply for all the different population groups in the Cape Peninsula. A decision was made to investigate these problems. Different RIA test kits were to be evaluated. The chosen one would be used on new blood donors to see whether different reference ranges for the various population groups in the Cape Peninsula could be demonstrated.

Because of the shortage of new donors, only thirty eight white males, thirty seven white females, thirty one coloured males, forty one coloured females, five black males (too few for statistical analysis), and thirty eight bantu females were included in the study. All were new blood donors, randomly selected, at the various Blood Transfusion clinics in the Peninsula. Each completed a special questionnaire (appendix 1), and met the criteria set for new blood donors (appendix 3), after which 5ml of EDTA blood was drawn, kept cold and sent directly to the laboratory.

Megaloblastic blood and bone marrow samples from regular patients at Tygerberg Hospital were used to enable a comparison between the normal and abnormal results.

After evaluation of four commercial RIA kits, it was decided that the Bio Rad Quantaphase<sup>R</sup> Dual Label RIA test kit, for the simultaneous testing of vitamin B<sub>12</sub> and folic acid, should replace the kit presently in use in the laboratory and run it using new blood donors to see whether a difference in reference

ranges could be obtained.

Full blood counts, using the Coulter Model "S PLUS" cell counter as well as peripheral blood and bone marrow smears, stained with the May Grünwald-Giemsa method, were performed on all the blood samples. Vitamin B<sub>12</sub>, serum and red cell folate levels were assayed using a RIA method and the Bio-Rad Laboratory test kit.

The donors' vitamin B<sub>12</sub>, serum and red cell folate results obtained showed an asymmetrical distribution and therefore the log-normal distribution method was used to obtain all the reference values (appendix 2).

The conclusion that was drawn, is that the laboratory should change to the Bio-Rad test kit because it gave better and more accurate results. A difference in reference ranges was obtained in this study and that supplied with each Bio-Rad test kit for the various population groups in the Cape Peninsula. It is also essential that every laboratory should determine its own reference range according to the population group being tested. It would be of clinical-diagnostic importance if a study could be launched to confirm these differences in reference ranges especially in the evaluation of patients referred to Provincial Hospitals in the Western Cape.

## INHOUDSOPGAWE

HOOFSTUK 1:	INLEIDING	1
HOOFSTUK 2:	LITERATUUROORSIG	
2.1	Foliensuur	4
2.1.1	Die Geskiedenis van Foliensuur	4
2.1.2	Eienskappe van Foliensuur	5
2.1.3	Eksterne Bronne van Foliensuur	7
2.1.4	Benodighede van Foliensuur	7
2.1.5	Absorpsie en Transport van Foliensuur	8
2.1.6	Funksies van Foliensuur	9
2.1.7	Die Berging en Uitskeiding van Foliensuur	10
2.1.8	Foliensuurtekort	11
2.1.9	Behandeling van Foliensuurtekort	12
2.2	Vitamien B <sub>12</sub> (Vit. B <sub>12</sub> )	13
2.2.1	Die Geskiedenis van Vit. B <sub>12</sub>	13
2.2.2	Eienskappe van Vit. B <sub>12</sub>	15
2.2.3	Die Vit. B <sub>12</sub> Bindingsproteïene	16
2.2.3.1	Intrinsieke Faktor (IF)	16
2.2.3.2	Transkobalamien II (TCII)	17
2.2.3.3	Kobalafilien (TCI, TCIII)	18
2.2.4	Bronne van Vit. B <sub>12</sub>	18
2.2.5	Daaglikse Vit. B <sub>12</sub> Benodighede	19
2.2.6	Vit. B <sub>12</sub> Absorpsie en Transport	19

2.2.7	Funksies van Vit. B <sub>12</sub>	21
2.2.8	Berging en Uitskeiding van Vit. B <sub>12</sub>	22
2.2.9	Vit. B <sub>12</sub> Tekort	22
2.3	Eritropoiëse	27
2.3.1	Eritropoiëse en Anemie	30
2.3.2	Megaloblastiese Eritropoiëse	31

### HOOFSTUK 3: EVALUASIE VAN TOETSSTELLE

3.1	Evaluering van Verskillende RIE Toetsstelle	34
3.1.1	Toetsstelstandaarde	35
3.1.2	Kommersiële Kontroles	35
3.1.3	Herhaalbaarheid van toetsmonsters	36
3.1.4	Vergelyking van Plasma- en Serum Resultate	36
3.2	Bio-Rad en Micro-Medic Toetsstelresultate	37
3.2.1	Toetsstelstandaarde	37
3.2.2	Kommersiële Kontroles	41
3.2.3	Herhaalbaarheid van Toetsmonsters	46
3.2.4	Vergelyking van Plasma-en Serumresultate	48
3.3	Keuse van Toetsstel	50

HOOFSTUK 4      BEPALING VAN VITAMIEN B<sub>12</sub> EN FOLATE BY PASIËNTE EN  
BLOEDSKENKERS

4.1	Inleiding	52
4.2	Instrumentasie en Apparaatuur	52
4.2.1	Die 121 Multi-Gamma Teller	52
4.2.2	Die Elektroniese Selteller	55
4.3	Monsterversameling	58
4.3.1	Perifere Bloedmonsters	58
4.3.2	Beenmurgmonsters	59
4.4	Kleurings	60
4.4.1	May-Grünwald-en Giemsaareagens	61
4.4.2	Kleurmetode	62
4.5	Essai van Vit. B <sub>12</sub> , Serum- en Rooiselfolaat	63
4.5.1	Beginsel van die essai	63
4.5.2	Essai gehaltebeheer	64
4.5.3	Toetskomponente	64
4.5.4	Essai Prosedure	65
4.6	Resultate	67
4.6.1	Coulter-Teller "S Plus" en RIE Resultate van:-	69
4.6.1.1	Blanke Mans	69

4.6.1.3	Kleurling Mans	79
4.6.1.4	Kleurling Vroue	84
4.6.1.5	Swart Vroue	89
4.6.1.7	Megaloblasties-Anemiese Pasiënte	94
4.7	Statistiese Analise van Verskillende Rasse en Geslagte	97
4.8	Morfologie van Normale en Megaloblastiese Periferebloed- en Beenmurgselle	99
4.9	Opsomming van Verhandeling- resultate	107

## HOOFSTUK 5: SAMEVATTING EN AANBEVELINGS

5.1	Keuse van RIE Toetsstel	109
5.2	Samevatting Van Normale Hematologiese Literatuur-en Verhandelingwaardes van Mans en Vroue	110
5.5	Gevolgtrekking en Aanbevelings	113
	Aanhangsel 1	114
	Aanhangsel 2	115
	Aanhangsel 3	116
	Verwysingslys	117



## L Y S   V A N   F I G U R E

Figuur	2.1	Die Struktuur van Foliensuur	6
Figuur	2.2	Die Struktuur van Vit. B <sub>12</sub>	14
Figuur	2.3	Die Onderlinge Afhanklikheid tussen Vit. B <sub>12</sub> en Foliensuur	25
Figuur	2.4	Eritropoiëse; 'n skematiese voorstelling	28
Figuur	3.1	BioRad Foliensuur Standaardkurwe	37
Figuur	3.2	Micro-Medic Foliensuur Standaardkurwe	38
Figuur	3.3	Bio-Rad Vit. B <sub>12</sub> Standaardkurwe	39
Figuur	3.4	Micro-Medic Vit. B <sub>12</sub> Standaardkurwe	40
Figuur	3.5	Grafiese Voorstelling van Kontrole "A"	42
Figuur	3.6	Grafiese Voortelling van Kontrole "Laag"	43
Figuur	3.7	Grafiese Voorstelling van Kontrole "Medium"	44
Figuur	3.8	Grafiese Voorstelling van Kontrole "Hoog"	45
Figuur	3.9	Grafiese Voorstelling van die Herhaalbaarheid van Folaatresultate	46
Figuur	3.10	Grafiese Voorstelling van die Herhaalbaarheid van Vit. B <sub>12</sub> Resultate	47

Figuur	3.11	Grafiese Voorstelling van Serum vs EDTA (S.Fol) resultate	48
Figuur	3.12	Grafiese Voorstelling van Serum vs EDTA (Vit. B <sub>12</sub> ) resultate	49
Figuur	4.1	Die LKB-Wallc Gamma Teller	53
Figuur	4.2	Die Coulter Model "S PLUS"	56
Figuur	4.3	Klima Beenmurg Aspiraatnaald	60
Figuur	4.4	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit.B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van Blanke Mans	73
Figuur	4.5	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit. B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van die Blanke Vroue	78
Figuur	4.6	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit. B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van die Kleurling Mans	83
Figuur	4.7	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit. B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van die Kleurling Vroue	88
Figuur	4.8	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit. B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van die Swart Vroue	93

Figuur	4.9	Grafiese Voorstelling van die vergelyking tussen die GKV-, Vit. B <sub>12</sub> - en Rooiselfolaat waardes van Megaloblastiese Pasiënte	94
Figuur	4.10	Ligmikroskopiese Beeld van Normale en Megaloblastiese	99
	4.25	Bloed-en Beenmurgselle	106

L Y S   V A N   T A B E L L E

Tabel	4.1	Coulter* Resultate van Blanke Mans	69
Tabel	4.2	Statistische Analise van Coulter Resultate van Blanke Mans	70
Tabel	4.3	Vit.B <sub>12</sub> -,Serum- en Rooiselfolaat Resultate van Blanke Mans	71
Tabel	4.4	Statistische Analise van RIE Resultate van Blanke Mans	72
Tabel	4.5	Coulter Resultate van Blanke Vroue	74
Tabel	4.6	Statistische Analise van Coulter Resultate van Blanke Vroue	75
Tabel	4.7	Vit.B <sub>12</sub> -,Serum- en Rooiselfolaat Resultate van Blanke Vroue	76
Tabel	4.8	Statistische Analise van RIE Resultate van Blanke Vroue	77
Tabel	4.9	Coulter Resultate van Kleurling Mans	79
Tabel	4.10	Statistische Analise van Coulter Resultate van Kleurling Mans	80
Tabel	4.11	Vit.B <sub>12</sub> -,Serum- en Rooiselfolaat Resultate van Kleurling Mans	81
Tabel	4.12	Statistische Analise van RIE Resultate van Kleurling Mans	82
Tabel	4.13	Coulter Resultate van Kleurling Vroue	84

Tabel	4.14	Statistiese Analise van Coulter Resultate van Kleurling Vroue	85
Tabel	4.15	Vit.B <sub>12</sub> -, Serum-en Rooiselfolaat Resultate van Kleurling Vroue	86
Tabel	4.16	Statistiese Analise van RIE Resultate van Kleurling Vroue	87
Tabel	4.17	Coulter Resultate van Swart Vroue	89
Tabel	4.18	Statistiese Analise van Coulter Resultate van Swart Vroue	90
Tabel	4.19	Vit.B <sub>12</sub> -, Serum- en Rooiselfolaat Resultate van Swart Vroue	91
Tabel	4.20	Statistiese Analise van RIE Resultate van Swart Vroue	92
Tabel	4.21	Relevante Coulter-, Vit. B <sub>12</sub> - Serum-en Rooiselfolaat Resultate van Megaloblastiese Pasiënte	95
Tabel	4.22	Analise van Relevante Coulter en RIE Resultate van Megaloblastiese Pasiënte	96
Tabel	4.23	Analise van lae Vit.B <sub>12</sub> -, Serum- en Rooiselfolaat Resultate van Megaloblastiese Pasiënte	96
Tabel	4.24	Statistiese Analise van die vergelyking tussen die Blanke Man en Vrou se Vit. B <sub>12</sub> -, Serum en Rooiselfolaatwaardes	97

Tabel	4.25	Statistiese Analise van die vergelyking tussen die Kleurling Man en Vrou se Vit.B <sub>12</sub> -, Serum- en Rooiselfolaatwaardes	98
Tabel	4.26	Statistiese Analise van die vergelyking tussen al die Mans en Vroue se Vit. B <sub>12</sub> -, Serum en Rooiselfolaat waardes	98
Tabel	4.27	Gemiddelde waardes van die rasse en geslagte	107
Tabel	4.28	Geometriese gemiddelde waardes van al die rasse en geslagte	107
Tabel	4.29	Reikwydtes van die rasse en geslagte	108

## LYS VAN AFKORTINGS

%	Persentasie
$\mu\text{Ci}$	mikrocurie
$\mu\text{g}$	mikrogram $\times 10^{-6}$
adensyl	5 <sup>1</sup> -deoksiadenosiel
AdoCbl	Adenosielkobalamien
B/T	Totale Binding
BLMAN	Blanke Man
BLVR	Blanke Vrou
B <sub>0</sub> /T	Maksimum Binding
B <sub>0</sub>	Zero Binding
BVR	Swart Vrou
CH	Metilidien
CH <sub>2</sub>	Metileen
CNCbl	Sianokobalamien
Co <sup>-57</sup>	Kobalt 57
CoA	Ko-ensiem A
Cr <sup>-51</sup>	Chroom 51
d	Dalton
D	Alkoholgebruikers
D.P.C.	Diagnostic Product Corporation
dl	dessiliter
DNA	Deoksiribonukleïnesuur
DPX	Monteermiddel
DTT	Ditiotreitol
ED	Verwagte Binding
EDTA	Etileendiamientetrachloroasynsuur

EEPROM	Erasable Programmable Read Only Memory
EPO	Eritropoiëtien
FH <sub>4</sub>	Tetrahydrofolaat
fl	femtoliter $\times 10^{-15}$
g	gram
GKHK	Gemiddelde Korpuskulêre Hemoglobien Konsentrasie
GKV	Gemiddelde Korpuskulêre Hemoglobien
GKV	Gemiddelde Korpuskulêre Volume
GPV	Gemiddelde Plaatjie Volume
H <sub>2</sub> O	Water
Hb	Hemoglobien
HC <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Metiel
HCNH	Formimino
HCO	Formiel
HOCH <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Hidroksimetiel
I <sup>-125</sup>	Jodium 125
I <sup>-129</sup>	Jodium 129
IF	Intrinsieke Faktor
J	Ouderdom
KeV	Kilo elektrovolts
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumdihydrofosfaat
KLMAN	Kleurling Man
KLVR	Kleurlinge Vrou
M	Molaar
M	Man
Maks	Maksimum
mg	milligram $\times 10^{-3}$
MHz	Megahertz
Min	Minimum



N/R	Nie-Rokers
N/D	Nie-Alkoholgebruikers
Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Di-natriumwaterstoffosfaat
ng	nannogram x10 <sup>-9</sup>
nl	Naamlik
NSB	Nie Spesifieke Binding
OHCB1	Hidroksiekobalamien
P	Pronormoblast
PDW	Plaatjie Distribusie Wydte
pg	pikogram x10 <sup>-12</sup>
PGA	Pterimonoglutamiensuur
pH	Waterstof-ioon konsentrasie
Pkt	Plaatjiekrit
R/G	Ras en Geslag
R/SFOL	Rooiselfolaat
R	Rokers
RAM	Random Access Memory
RBS	Rooibloedseltelling
RDW	Rooisel Distribusie Wydte
RIA	Radio-immune assay
RIE	Radio-immuno essai
RNA	Ribonukleïnesuur
ROM	Read Only Memory
rpm	Revolusies per minuut
S.FOL	Serumfolaat
SDx1	1 Standaardafwyking
SDx2	2 Standaardafwyking
Sman	Swart Man
Std	Standaard

β	Beta
T	Totale Tellings
TC II	Transkobalamien II
TC I	Kobalafien (R. Proteïen)
TC III	Kobalafien (R. Proteïen)
THFA	Tetrahydrofolaat
UPA	(BPA) Uitbars promoverende aktiwiteit
UVE-E	Uitbars vormende eenheid eritroïed
V	Vrou
Veg	Vegetariër
Vit. B <sub>12</sub>	Vitamien B <sub>12</sub>
Vl	Nie-Vegetariër
WBS	Witbloedseltelling
°C	Grade celsius

## HOOFSTUK 1

## I N L E I D I N G

Enige metode waarmee vitamien B<sub>12</sub> en folaat waardes bepaal word is afhanklik van 'n normale reikwydte of normale waardes (Krause, 1975). Hierdie term "normale reikwydte of waarde" in die mediese wetenskap het 'n spesifieke betekenis wat verwys na vooropgestelde parameters, 'n minimum en maksimum waarde (verkry vanaf die standaardafwyking van die gemiddelde vitamien B<sub>12</sub>- en folaatwaardes van 'n spesifieke populasie) waartussen enige toetsresultaat moet val om as normaal geklassifiseer te word. Hierdie normale waardes bewerkstellig dat toetsresultate en kliniese beelde van dieselfde pasiënt met mekaar ooreenstem.

Afwykings van bogenoemde stelling, tydens vitamien B<sub>12</sub> en folaat toetsing van rasse en geslagte in die Kaapse Skiereiland, het die vraag laat ontstaan of die normale waardes wat saam met 'n kommersiële toetsstel verskaf word, van toepassing is op verskillende rasse en geslagte.

Die eerste toetsresultate wat benodig word om 'n diagnose van megaloblastiese anemie te bevestig, is die vitamien B<sub>12</sub>-, serum- en rooieselvolaatvlakke (Fairbanks, 1983). Die interpretasie van die resultate word egter beïnvloed deur verwysingswaardes wat vir

elke etniese groep aangepas behoort te word (Brandt, 1961; Kwee, 1985). Tans bestaan daar nie verwysingswaardes vir die gekleurde en swart mense vir vitamien B<sub>12</sub>- of folaatwaardes in die Kaapse Skiereiland nie en word die verwysings-reikwydtes van die aangekoopte toetsstel Quantaphase<sup>R</sup> van die maatskappy BIO-RAD laboratorium in die V.S.A.gebruik (Anoniem, 1989). Hierdie verwysingswaardes is verkry van 'n blanke populasie wat heelwat verskil van ons etniese groepe. Vele laboratoriums regoor ons land het gevind dat van hul opgestelde reikwydtes nie altyd ooreenstem met die waardes wat met die toetsstel verskaf word nie (Christenson, 1985; Krause, 1975; Raniolo, 1984;).

Laboratoriums ondervind probleme met die toetsing van foliensuur en vitamien B<sub>12</sub>. (Zucker, 1983). Die grootste struikelblok blyk die vitamien B<sub>12</sub> bindingsproteïene te wees (Bain, 1984; England, 1980; Kolhouse, 1978; Oxley, 1984; Waters, 1981; Zucker, 1983). Kolhouse (1978), impliseer dat toetsstelle en essays behoorlik evalueer moet word voordat hulle in gebruik geneem kan word om sodoende 'n toetsstel te gebruik wat goeie en betroubare waardes kan lewer.

#### PROBLEEMSTELLING

Die doel van hierdie studie was om verskeie RIE toetsstelle te evalueer. Die beste een wat die mees betroubare resultate lewer, vir die laboratorium op nuwe bloedskenkers uit te toets. So kan daar ook gekyk word of daar enigsinds 'n verandering in reikwydtes vir vitamien B<sub>12</sub>-, serum- en rooiselfolaatwaardes aangetoon kan word vir die blanke, gekleurde en swart mans en

vroue in die Kaapse Skiereiland omdat daar soms teenstrydigheid ontstaan tussen die kliniese beeld en die toetsresultate, tydens toetsing.

In hierdie verhandeling word daar gepoog om 'n kort oorsig van die geskiedenis, belangrikheid en funksie van vitamien B<sub>12</sub> en folaat te gee. Hul rol in eritropoïese sal bespreek word en die metodiek van die essaiëring sal beskryf word. Verskillende radio-immun essai (RIE) toetsstelle is vergelyk. Bloedanalises, deur middel van verskeie tegnieke is uitgevoer en die resultate is geanaliseer en bespreek.

Ten slotte is daar besluit dat die toetsstel wat die mees betroubare en herhaalbare resultate lewer in 'n laboratorium gebruik moet word en ook dat elke laboratorium 'n eie stel waardes behoort te bepaal waarteenoor 'n megaloblastiese anemie gemeet kan word. Daar kan ook 'n aanbeveling gemaak dat daar in die toekoms 'n omvangryke studie aangepak word om reikwydtes vir elke individuele groep mense op te stel.

## HOOFSTUK 2

## L I T E R A T U U R O O R S I G

## 2.1 INLEIDING: FOLIENSUUR (FOLACIN)

Beide foliensuur en vitamien B<sub>12</sub> is onontbeerlik vir die fisiologiese werking van byna alle wesens. Die grootste effek kan aangetoon word tydens seldeling asook RNA en DNA sintese. (Jandl, 1987)

## 2.1.1 DIE GESKIEDENIS VAN FOLIENSUUR

So vroeg as 1851 is daar 'n anemie beskryf wat miskien te wyte kon wees aan 'n foliensuur gebrek. Hierdie gebrek was hoofsaaklik geassosieer met ondervoeding en anemie tydens swangerskap. In 1937 het dr Lucy Wills, in Bombaai, 'n hematologiese respons gekry nadat sy 'n giskonsentraat (Marmite) in die dieet van verwagte moeders, met 'n voedingsgebrek, ingesluit het (Chanarin, 1969). Tussen 1931 en 1941, in 'n reeks toetse, is die teenwoordigheid van 'n noodsaaklike groeifaktor waargeneem. Hierdie onbekende faktor is deur verskillende navorsers verskillende name gegee o.a: in 1938 het Day et al dit die vitamien M genoem; in 1938 het Stokstad en Manning dit Faktor U genoem; in 1939 het Hogan en Parrott dit Bc genoem (vitamien benodig vir normale groei van kuikens); in 1940 het Snell en Petersen dit die Norit eluaat faktor genoem ('n groei substans

benodig vir *Lactobacillus casei*, uit gis en lewer verkry) en in 1941 het Mitchell en medewerkers 'n identiese faktor uit spinasieblare gekry wat nodig is vir die groei van *Streptococcus lactis* R. Hulle het dit foliensuur genoem. (Folium = blaar (Latyn)). Hulle het toe ook 'n redelike suiwer vorm geïsoleer. Dit is later gevind dat al hierdie verskillende faktore eintlik een en dieselfde faktor was, naamlik die Wills Faktor. In 1941 het Mitchel et al 'n redelike suiwer vorm geïsoleer, so ook het Hutchings et al in 1941, Pfiffner et al in 1943 en Stokstad in 1943. Die chemiese struktuur van foliensuur was deur middel van sy afbraakprodukte en later deur chemiese sintese verkry deur Angier en later deur Julies en Stokstad in 1948 (Chanarin, 1969).

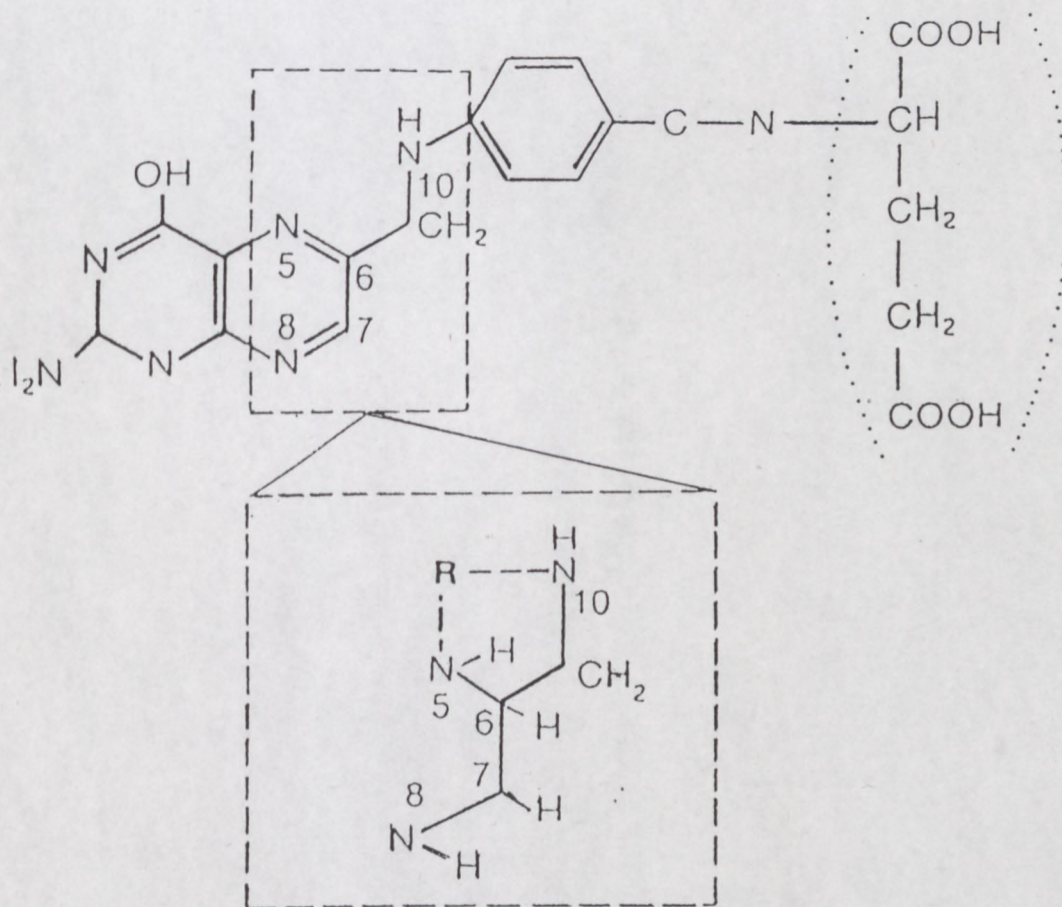
### 2.1.2 EIENSKAPPE VAN FOLIENSUUR

Folacin is die generiese term vir foliensuur (Chanarin, 1969). Die moedersamestelling is pteroïelsuur met pteroate en pteroïel as soute. Die volledige chemiese naam is pteroïelmonoglutamiensuur, wat verkort word na pteroïelglutamiensuur of PGA. (Williams, 1991). Die foliensuur molekule het 'n molekulêre gewig van 454d en bestaan uit drie gekoppelde komponente nl.: 'n dubbele pteridien ring, para-aminobensiensuur en L-glutamiensuur (Chanarin, 1969).

'n Ensiem, dihidrofolaat reduktase, reduseer die foliensuur en veroorsaak dat die dubbele bande breek en die hidriedione dan by die 5de, 6de, 7de en 8ste posisies van die molekule gevoeg word. Die gereduseerde molekule, tetrahydrofolaat, funksioneer as 'n

formiel of 'n formimino groepe, wat aan die N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup> of aan albei posisies van die gereduseerde molekule kan bind. Verskillende ko-ensieme word dus so gevorm wat aan verskillende metaboliese reaksies deelneem (Williams, 1991).

Sintetiese foliensuur is 'n heldergeel verbinding en is slegs effens gering oplosbaar in water. Dit is stabiel in die donker, maar blootstelling aan ultra-violet lig veroorsaak klowing van die molekule by die 9,10 posisie om 'n pteridien en 'n vry aromatiese amien te gee. (Chanarin, 1969).



FIGUUR 2.1

Die Struktuur van Foliensuur (Williams, 1991).



### 2.1.3 EKSTERNE BRONNE VAN FOLIENSUUR

Folate word redelik algemeen in 'n groot verskeidenheid van plant- en dierlike voedsel gekry (De Gruchy, 1970). Die rykste bronne is lewer en gis asook groen groente, veral spinasie en kool. In 'n mindere mate is dit ook teenwoordig in suiwelprodukte, vrugte, vleis, neute en graankosse. Folaat is baie labiel en word maklik deur hitte en lig vernietig. Dit word maklik geoksideer as dit nie deur 'n reduksie agens beskerm word nie (Chanarin, 1969).

Die folaat wat in voedsel voorkom is metabolies aktief en kom in die poliglutamaatvorms van tetrahydrofolate voor en moet dus eers afgebreek word na monoglutamate voor absorpsie kan plaasvind. (Rapaport, 1987).

### 2.1.4 FOLIENSUUR BENODIGDHEDE

Die mens benodig 100µg foliensuur per dag vir die instandhouding van normale eritropoïese. Die aanbevole daaglikse dieetinname wissel dus tussen 200 en 400µg. Benodigdhede vermeerder na gelang van die aanvraag bv. gedurende swangerskap 800µg en by lakterende moeders ± 500µg per dag. Babas benodig tussen 30 en 45µg per dag en kinders tussen die ouderdom van 1 en 10 jaar, 100-300µg per dag (Herbert et al, 1980). Hierdie hoeveelhede is meer as wat die liggaam benodig vir normale metabolisme. Daar is bevind dat 'n mondelike toediening van 100µg sintetiese foliensuur per dag die toestand in 'n pasiënt met 'n folaattekort anemie verbeter (Chanarin, 1969).

Die daaglikse hoeveelheid folaat benodig deur die liggaam is afhanklik van die selmetabolisme, -tempo en -omset. Die aanvraag word dus verhoog met versnelde selmetabolisme, soos by infeksies en in verhoogde selomset soos gevind in hemolitiese anemie (Herbert et al, 1980).

#### 2.1.5 ABSORPSIE EN TRANSPORT VAN FOLIENSUUR

Absorpsie van 'n dosis gekonjugeerde of ongekonjugeerde folaat begin binne minute na ete en bereik die hoogste vlakke binne 1 tot 2 uur (Williams, 1991). Net 'n klein hoeveelheid foliensuur kom in die monoglutamien vorm in voedsel voor en word maklik in die dermkanaal geabsorbeer. Die meeste folate kom voor as poliglutamate en moet eers na monoglutamate afgebreek word voordat absorpsie kan plaasvind. Die ensiem konjugases, aanwesig in die periferie van die jejunale mukosa selle, kataliseer hierdie reaksie. Absorpsie vind plaas in die boonste dunderm en geen ko-faktor word benodig vir hierdie proses nie (Williams, 1991).

In die mukosa selle word die folaat omgesit na 5-metieltetrahydrofolaat, die vernaamste vorm van folaat en word sonder verandering deur die bloedstroom opgeneem (Williams, 1991). Folaat sirkuleer in die bloedstroom as  $N^5$ -metiel  $FH_4$  monoglutamaat en word deur alle weefsel, veral deur die lewer, opgeneem. Die lewer stoor en stel ook folaat vry vir hergebruik deur die dunderm via die gal. Hierdie interhepatiese sirkulasie is verantwoordelik vir die handhawing van die normale plasmafolaat vlakke (Rapaport, 1980).

Deur poliglutamylasie en folaatbindende proteïene word folaat in die liggaamsselle behou. Drie van hierdie folaatbindende proteïene is onlangs geëien as ensieme wat deel neem aan metielgroep metabolisme (Williams, 1991) nl.: Sarkosien dehidrogenase, dimetielglisien dehidrogenase (mitokondriaal) en glisien N-metiel transferase (sitosolies). Die funksie van hierdie proteïene is egter nog onbekend (Williams, 1991). Absorpsie kan egter verhinder word deur die inname van sulfasalazine, phenytoin en mondelikse voorbehoedmiddels. (Rapaport, 1987).

#### 2.1.6 FUNKSIES VAN FOLIENSUUR

Die aktiewe vorm van folaat is tetrahidrofoliensuur (THFA) wat aan verskeie enkel koolstof groepe gekoppel is nl:

Inhoud	Formule
. formiel	HCO
. formimino	HCNH
. hidroksimetiel	HOCH <sub>2</sub> -
. metiel	HC <sub>3</sub> -
. metelene	CH <sub>2</sub> -
. metelidien	CH-

(Chanarin, 1969)

Die vermoë van folaat om aan hierdie enkel koolstofgroepe te bind en dan weer vry te stel, vorm die basis vir die biochemiese

funksie (Herbert et al, 1980). THFA tesame met vitamien B<sub>12</sub> word benodig vir die sintese van DNA en is dus noodsaaklik vir normale seldeling en eritropoïese.

Folaat word ook benodig vir:

- . metilasie van deoksiuridilaat na timidilaat (klinies die belangrikste)
- . biosintese van purien
- . omsetting van histidien na glutamate
- . omsetting van homosistien na metionien
- . vorming van serien uit glisien
- . vorming van chlorien (Williams, 1991)

Timidien en purien word benodig vir DNA sintese en purien vir RNA sintese. Hierdie verbindings word gesintetiseer deur alle selle wat hulself hernieu, soos by eritrosiete, die vel, mondwand, maag, nierpypies ens. (Williams, 1991).

#### 2.1.7 DIE BERGING EN UITSKEIDING VAN FOLIENSUUR

Folate is aanwesig in alle liggaamswefsel en bloed in die vorm van N<sup>5</sup>-metiel FH<sub>4</sub> (Williams, 1991). Totale liggaamsvoorraad is ± 5 tot 10mg waarvan die helfte in die lewer gestoor word (Herbert et al, 1980). Die gestoorde folate word op aanvraag deur die lewer vrygestel vir herabsorpsie deur die dunderm (Rapaport, 1987) en is voldoende vir 3 tot 5 maande waarna folaattekort intree (Jandl, 1987). Ongeveer 100µg aktiewe foliensuur word in galsekresies aangetref. Foliensuur word deur die urine en stoelgang in die onaktiewe vorm van asetaminobensoïelglutamaat uitgeskei (Herbert, 1980), en in 'n

mindere mate ook deur sweet en speeksel. (Williams, 1991).

#### 2.1.8 FOLIENSUURTEKORT

'n Foliensuurtekort kan veroorsaak word deur:

- . onvoldoende inname
- . intestinale wanabsorpsie
- . vermeerderde aanvraag, bv. swangerskap
- . die onvermoë om foliensuur te benut vanweë die aksie van foliensuur antagonist
- . sekondêr tot ander siektes, bv. leukemie (Williams, 1991).

Die kliniese simptome is gewoonlik swakheid, gewigsverlies, koors ens, maar geen neurologiese afwykings nie (De Gruchy, 1970).

'n Diagnose van folaattekort word gemaak wanneer serum sowel as rooieselvolaatvlakke verlaag is. Die serumvlak kan tot onder 2,5ng/ml val. 'n Makrositêre anemie ontstaan dan met 'n verlaging in die rooiseltelling, hemoglobien, witseltelling en plaatjietelling. In die beenmurg ontstaan daar 'n eritroïede hiperplasie met reuse witselvoorlopers en megaloblastiese normoblaste (Rapaport, 1987).

'n Folaatgebrek veroorsaak ingekorte timidilaat sintese, 'n DNA sintese inkorting, 'n vertraging in die purien biosintese en dit belemmer ook die histidien afbraakproses (Williams, 1991).

Folaatgebrek anemie kom voor by ouer persone wat 'n swak dieet volg of sekondêr tot ander siektes bv. leukemie, limfoom ens.

Dit kan voorkom by vroue tydens gebruik van mondelikse voorbehoedmiddels, alkoholmisbruik en by suigeling met 'n gebrekkige folaatdieet. Dit is ook 'n algemene oorsaak van anemie tydens swangerskap vanweë die snelle tempo van seldeling by die fetus en by lakterende moeders. (Williams, 1991).

#### 2.1.9 BEHANDELING VAN FOLIENSUURTEKORT

Pasiënte met 'n folaatgebrek respondeer gewoonlik goed op 'n dosis van 100-200 $\mu$ g sintetiese foliensuur per dag wat per mond of parentaal toegedien kan word (Chanarin, 1969). Indien daar 'n wanabsorpsie, vermeerderde aanvraag of ander komplikasies is, word die daaglikse dosis tot tussen 0,5 en 1,0mg per dag vermeerder. 'n Instandhoudingsdosis van 0,1mg per dag kan vir ongeveer 3 maande gegee word. Sodra 'n goeie dieet gevolg word, kan behandeling gestaak word (Chanarin, 1969).

Die bloedbeeld, beenmurg en kliniese beeld verbeter drasties binne 'n paar dae na aanvang van behandeling met foliensuur. Die rooiseltelling vermeerder en die rooiselle keer terug na normale grootte en vorm. Die hemoglobien, witseltelling en plaatjietelling keer terug na normale waardes. Foliensuur sal remissie teweegbring tydens 'n toestand van vitamien B<sub>12</sub> tekort maar is nie effektief genoeg om neurologiese afwykings te verhoed of te korrigeer nie. Dus word foliensuur nie toegedien alvorens daar vasgestel is dat die megaloblastose veroorsaak is deur 'n folaat- eerder as 'n vitamien B<sub>12</sub> gebrek nie (Chanarin, 1969).

## 2.2 VITAMIEN B<sub>12</sub> (KOBALAMIEN)

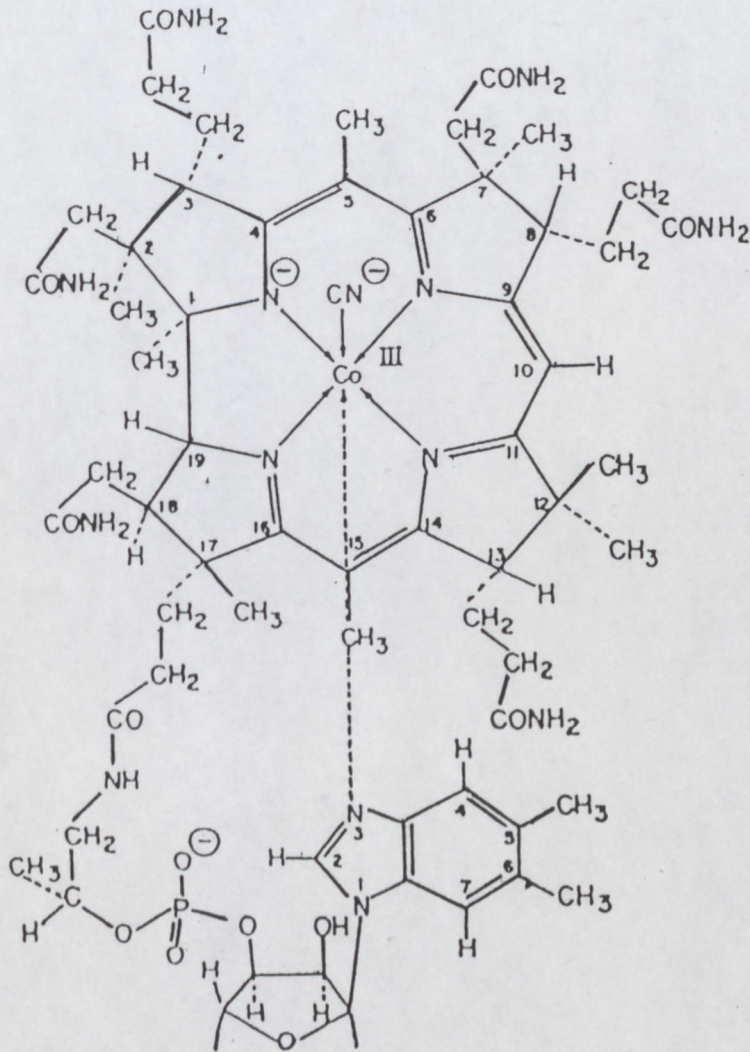
Beide vitamien B<sub>12</sub> en foliensuur is onontbeerlik vir die fisiologiese werking van byna alle wesens. Die grootste effek kan aangetoon word tydens seldeling asook RNA en DNA sintese. (Jandl, 1987). Die belangrikheid van vitamien B<sub>12</sub> gedurende hemopoiëse en die rol wat dit by eritropoiëse speel asook vitamien B<sub>12</sub> - folaat verhouding sal geïllustreer word.

### 2.2.1 DIE GESKIEDENIS VAN VITAMIEN B<sub>12</sub>

So vroeg as 1822 is daar 'n anemie gerapporteer wat die studie van pernisiëse en megaloblastiese anemie tot gevolg gehad het (Herbert et al, 1980). Die isolasie en tipering van vitamien B<sub>12</sub> het begin toe Minot en Murphy (1926) 'n hematologiese respons gekry het nadat hulle 'n pernisiëse anemie pasiënt lewer as 'n deel van sy dieet gegee het (Chanarin, 1969). In 1929 het Castle en medewerkers 'n intrinsieke faktor ontdek wat in maagsap voorkom en wat aan 'n ekstrinsieke faktor gekoppel is. Hy het ook agtergekom dat as normale maagsappe saam met vleis by die dieet van 'n pernisiëse anemie pasiënt gevoeg word, dit 'n drastiese hematologiese respons veroorsaak het (Wintrobe, 1976).

Later is dit ontdek dat vitamien B<sub>12</sub> die ekstrinsieke faktor was, en in 1948 het twee onafhanklike groepe 'n verbinding in lewer geïsoleer wat identies was aan hierdie onbekende vitamien. So het die bestaan van vitamien B<sub>12</sub> bekend geword (Herbert, 1980). Eers later het Barker en werkers die biologiese aktiewe vorms en

ko-ensieme van vitamien B<sub>12</sub> ontdek (Chanarin, 1969).



FIGUUR 2.2

Die Struktuur van Vitamien B<sub>12</sub> (Williams, 1991).



## 2.2.2 EIENSKAPPE VAN VITAMIEN B<sup>12</sup>

Kobalamiene bestaan uit 'n groep molekules met soortgelyke strukture en biologiese eienskappe met die vermoë om spesifieke proteïene te bind (Rapaport, 1987). Dit is een van die grootste en mees komplekse molekules van al die vitamienes. Die struktuur bestaan uit 'n porfirien-soortige korrin ring wat 'n sentrale kobalt atoom bevat en 'n nukleotied, 5,6 -dimetielbensimidiasool, wat byna reghoekig teenoor die korrin ring geplaas is en 'n molekulêre gewig van 355 dalton(d) het (Chanarin, 1969). Die korrin ring bestaan uit 4 pirool ringe wat aan die sentrale kobalt atoom verbind is. Die nukleotied, wat direk aan die kobalt atoom gekoppel is, is verbind deur ribose - 3 - fosfaat en 1 - amino - 2 - propanol. Die laaste binding van die kobalt atoom kan 'n verskeidenheid ione bind vir 'n biologies ongewone kobalt- koolstof koppeling waardeur die verskillende vitamien B<sub>12</sub> analoë gevorm kan word. Die verskeie vorms is nl:

- . sianokobalamien (CNCbl)
- . adenosilkobalamien (AdoCbl)
- . hidroksiekobalamien (OHCbl)
- . metielkobalamien (HeCbl)
- . 5'-deoksieadenosiel (adenosyl) (Chanarin, 1969)

CNCbl en OHCbl word maklik na Ado(b) in die weefsel omgesit deur 'n ko-ensiem sintese sisteem (Williams, 1991). CNCbl is stabiel en is beskikbaar vir farmaseutiese gebruik alhoewel dit nie natuurlik in die liggaam vervaardig word nie (Rapaport, 1991).

Die metaboliese aktiewe vorms van vitamien B<sub>12</sub> in die mens is metielkobalamien (HeCbl) en adenosilkobalamien (adenosyl).

### 2.2.3 DIE VITAMIE B<sub>12</sub> BINDINGSPROTEÏENE

Vitamien B<sub>12</sub>, soos alle ko-ensieme, is in die natuurlike vorm aan 'n proteïen gekoppel. Dit kom nie in die "vry" vorm voor nie. Vitamien B<sub>12</sub> bindingsproteïene kan in 3 groepe geklassifiseer word nl:

- . intrinsieke faktor (I.F.)
- . transkobalamien 11 (TC 11)
- . kobalafilien (R-Proteïene) (Chanarin, 1969)

Die funksie van die bindingsproteïene is kortliks:

- . IF is nodig vir die absorpsie van vitamien B<sub>12</sub>
- . TC 11 vervoer die vitamien B<sub>12</sub> vanaf die ekstrasellulêre vloeistowwe na die selle
- . R-Proteïene (transkobalamien 1 en 111), TC 1 dra die meeste sirkulerende kobalamien. (Williams, 1991)

#### 2.2.3.1 INTRINSIEKE FAKTOR (IF)

Castle en medewerkers het reeds in 1929 waargeneem dat maagsappe, tesame met inname van rou vleis, 'n groot hemopoiëtiese effek gehad het indien dit aan 'n pasiënt met pernisiëuse anemie gegee is. Hulle het besef dat hierdie effek deur 'n substans in die maagsap teweeggebring word aangesien rou vleis alleen geen verbetering sou veroorsaak het nie. Hulle het die substans

intrinsieke faktor (IF) genoem en bevestig dat 'n tekort daarvan seker die vernaamste oorsaak van pernisiëuse anemie is (Chanarin, 1969). Byna 30 jaar later is IF eers geïsoleer en gekarakteriseer en is daar bevestig dat dit sy oorsprong in die pariëtale selle van die maagfundus het (Chanarin, 1969).

IF is 'n glukoproteïen met 'n molekulêre gewig wat tussen 50000 - 120000 d geskat word. Die klein hoeveelheid IF wat die maag per 24 uur afskei kan 50 - 200µg vitamien B<sub>12</sub> bind wat ongeveer 10 - 50 maal die benodigde vitamien B<sub>12</sub> per dag is. Omtrent 1% IF word per dag gebruik vir daaglikse vitamien B<sub>12</sub> binding (Chanarin, 1969). IF binding aan kobalamien is noodsaaklik vir absorpsie van hierdie vitamien (Rapaport, 1997).

#### 2.2.3.2 TRANSKOBALAMIEN 11 (TC 11)

TC 11 is 'n β globulien wat in klein hoeveelhede (0,5 - 1,5 µg/l) in vry vorm in plasma aanwesig is (Chanarin, 1969). Dit word deur vele selle gesintetiseer, insluitende hepatosiete en fibroblaste en is 'n sleutel transportproteïen wat kobalamien van die plasma na die ekstrasellulêre vloeistowwe tot binne die selle dra. Die transportproses begin deur die binding van die TC 11-kobalamien kompleks aan 'n membraan reseptor aanwesig op 'n verskeidenheid selle. Die reseptor-gebonde kompleks word dan geïnkorporeer deur pinositose en aan 'n lisosoom gelewer, waar die TC 11 verteer en die kobalamien vrygestel word (Williams, 1991).

### 2.2.3.3 KOBALAFILIEË (TC 1 en TC 111)

TC 1 is 'n lid van die kobalafilieë groep, word in die granulose voorlopers gesintetiseer en het 'n intravaskulêre halflewe van 'n paar dae. In die lewer word dit baie stadig gekataboliseer en dus is daar gedeeltelike uitskeiding van die gebonde kobalamien in die gal. Die rol van TC 1 in kobalamien metabolisme is onbekend en word nie as noodsaaklik beskou nie omrede individue met 'n oorerflike TC 1 tekort geen sigbare tekens van megaloblastiese anemie toon nie (Rapaport, 1969).

Dit is ook bevind dat TC 111 amper in alle opsigte soos TC 1 is, behalwe in die koolhidraat konsentrasie (Rapaport, 1969).

Hierdie 3 groepe binders het almal een enkele polipeptiedketting en vitamien B<sub>12</sub> bindingsplek, maar verskil egter ten opsigte van:

- . aminosuur samestelling
- . koolhidrate
- . molekulêre gewig
- . interaksie met vitamien B<sub>12</sub>

### 2.2.4 BRONNE VAN VITAMIEN B<sub>12</sub>

Vitamien B<sub>12</sub> (kobalamien) word nie in die menslike liggaam vervaardig nie (Williams, 1991). Sommige bakterieë en swamme in water, grond asook die ingewande van diere, vervaardig kobalamien. Die mens is dus afhanklik van voedsel vir kobalamien

inname. Voedsel wat ryk aan kobalamien is, sluit die volgende in: vleis, pluimvee, vis en suiwelprodukte. 'n Gemiddelde daaglikse dieet bevat  $\pm$  5-30 $\mu$ g kobalamien wat in die ensiem-aktiewe vorm van metielkobalamien voorkom (Rapaport, 1969).

#### 2.2.5 DAAGLIKSE VITAMIEN B<sub>12</sub> BENODIGDHEDE

Dit word algemeen beskou dat tussen 0,6 - 1,2 $\mu$ g die minimum daaglikse inname vir 'n volwasse persoon behoort te wees. So min as 0,1 $\mu$ g per dag is voldoende om 'n hematopoiëtiese respons in 'n pernisiëuse anemie pasiënt te verkry (Jandl, 1987). Die daaglikse aanbevole inname is 3 $\mu$ g wat vermeerder word tydens swangerskap en laktasie ( $\pm$  4 $\mu$ g) (Jandl, 1987).

#### 2.2.6 VITAMIEN B<sub>12</sub> ABSORPSIE EN TRANSPORT

Absorpsie van vitamien B<sub>12</sub> geskied deur middel van twee weë, nl. die farmakologiese- en fisiologiese paaie. Farmakologiese absorpsie geskied langs die hele lengte van die dunderm deur middel van diffusie. Dit is nie afhanklik van IF nie en  $\pm$  1% van alle vry vitamien B<sub>12</sub> word so geabsorbeer (Herbert, 1980).

Die fisiologiese pad benodig bindingsproteïene om die vitamien na die spesifieke absorpsie areas in die ileum te vervoer, waar die IF-vitamien B<sub>12</sub> kompleks aan spesifieke reseptore van die ileale mukosa selle bind (Herbert, 1980).

In die mondholte word vitamien B<sub>12</sub> geskei van die voedsel deur middel van speekselensieme en bind dan aan kobalafilien wat in die speeksel teenwoordig is. Die vitamien B<sub>12</sub> - kobalafilien kompleks beland saam met die voedsel in die maag waar nog vitamien B<sub>12</sub>, deur middel van maagensieme en sure van die voedsel, gesplits word om aan kobalafilien te bind. Pariëtale selle in die maag skei IF af, maar omdat die Ph te laag is, kan dit nie hier aan die vitamienkompleks bind nie (Williams, 1991).

In die boonste gedeelte van die duodenum kom die vitamien B<sub>12</sub>-kobalafilien kompleks in aanraking met 'n omgewing wat alkalies gemaak is deur ensieme van die pankreas en wat die vitamien B<sub>12</sub> van die vitamien B<sub>12</sub>-kobalafilien kompleks vrystel. Die vrygestelde vitamien B<sub>12</sub> bind dan aan IF om die IF - vitamien B<sub>12</sub> kompleks te vorm wat dan in die ileum geabsorbeer word. In 'n alkaliese medium bind die IF-B<sub>12</sub> kompleks aan die ileale mukosa selreseptore. Die vitamien B<sub>12</sub> word deur TC 11 na die liggaamselle vervoer waar dit opgeneem word vir gebruik tydens sekere reaksies (Williams, 1991).

Daar is ook 'n inter-hepatiese siklus waardeur die vitamien B<sub>12</sub> via die galsekresie herwin word vir absorpsie. In die gal bind dit aan kobalafilien en vorm die vitamien B<sub>12</sub>-kobalafilien kompleks. Daarna beland dit in die dermkanaal waar die kobalafilien deur die pankreasensieme verteer word en die vitamien B<sub>12</sub> vrygestel word om weer aan IF te bind (Williams, 1991).

### 2.2.7 FUNKSIES VAN VITAMIEN B<sub>12</sub>

Vitamien B<sub>12</sub> speel 'n aktiewe rol by die onderhoud van alle selle, maar veral in die senuwee stelsel, gastro-intestinale kanaal en die beenmurg, waar 'n vitamien B<sub>12</sub> ko-ensiem benodig word vir DNA sintese. Vitamien B<sub>12</sub>, tesame met foliensuur word benodig vir die sintese van rooi- en witbloedselle. Dit is noodsaaklik vir die sintese en oordra van enkel koolstofeenhede soos bv. die metielgroep, by die sintese van metionien en chloor. Vitamien B<sub>12</sub> ko-ensieme word benodig vir die omsetting van metielmalonaat na suksinaat (Williams, 1991).

Verder is vitamien B<sub>12</sub> ook noodsaaklik vir verskeie ensiemreaksies in bakterieë, alhoewel by die mens is daar net 2 metaboliese reaksies waarin dit 'n rol speel, naamlik:

- . Die omsetting van hemosisteïen na metionien deur die gebruik van 5-metieltetrahidrofolaat as 'n skenker van die metielgroep via die ensiem, metieltransferase en metielkobalamien as ko-ensiem.
  
- . Die omsetting van metiel-ko-ensiem A (CoA) na suksiniel-ko-ensiem A waar metiel maloniel CoA mutase die ensiem en adenosielkobalamien die ko-ensiem is (Williams, 1991).

Onlangs is vitamien B<sub>12</sub> ook in seminale vog gevind en daar word tans geglo dat dit 'n belangrike voedingstof vir die instandhouding van normale fertiliteit is (Carmel, 1984).

### 2.2.8 BERGING EN UITSKEIDING VAN VITAMIEN B<sub>12</sub>

Die lewer is die primêre bergplek van vitamien B<sub>12</sub>, en bevat 50-90% van alle liggaamstore van vitamien B<sub>12</sub> wat wissel van 1 tot 3mg. Aangesien die daaglikse benodigdhede vir 'n volwassene 5µg is, neem dit dus tussen 3 tot 5 jaar van wanabsorpsie vir 'n pernisiëuse anemie om te ontwikkel en tot 20 jaar vir 'n vegetariër om megaloblasties te word (Rapaport, 1987).

Vitamien B<sub>12</sub> uitskeiding is baie laag. Ongeveer 1 tot 3µg word daaglik deur die stoelgang verloor (Rapaport, 1987). Minder vitamien B<sub>12</sub> word in die urine as in die gal en stoelgang uitgeskei.

### 2.2.9 VITAMIEN B<sub>12</sub> TEKORT

'n Vitamien B<sub>12</sub> tekort word gewoonlik toegeskryf aan 'n intestinale absorpsiedefek eerder as die gevolg van 'n vitamien B<sub>12</sub> gebrekkige dieet (Chanarin, 1969). Die kliniese beeld van die tekort sluit die nie-spesifieke manifestasies van megaloblastiese anemie in naamlik :-

- . swakheid en moegheid
- . gewigsverlies
- . maag ongesteldheid
- . tinteling van die tone of vingers
- . seer tong
- . diaree of hardlywigheid



- . koors
- . probleme met stap

asook spesifieke kenmerke soos neurologiese abnormaliteite (Chanarin, 1969).

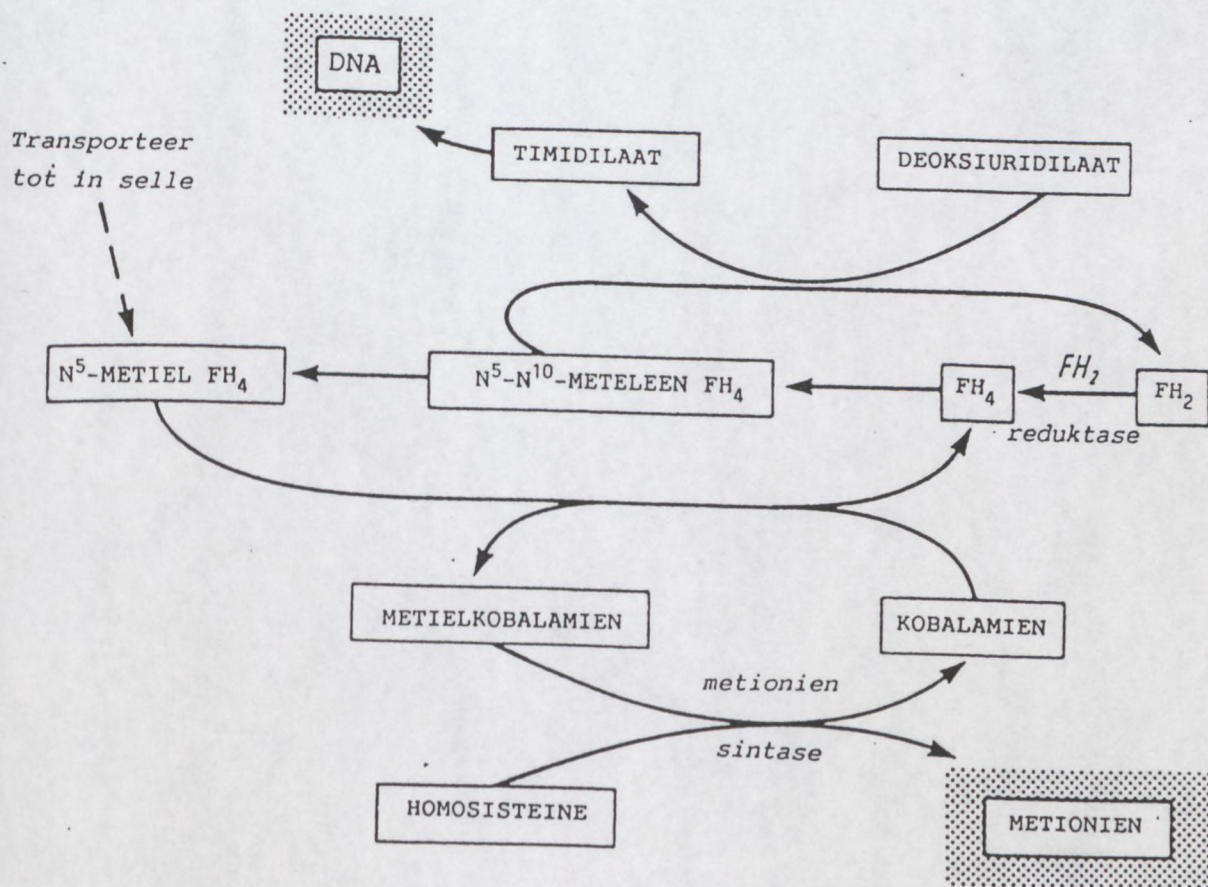
'n Vitamien B<sub>12</sub> tekort verhoed optimum eritropoïese wat derhalwe tot 'n anemie lei. Gebrekkige sekresie van IF deur die gastriese mukosa verhoed effektiewe absorpsie van kobalamien en is die algemeenste oorsaak van pernisiëuse anemie (Rapaport, 1987). Sonder aanvullende medikasie kan 'n anemie 5 tot 6 jaar na 'n totale gastrektomie ontwikkel. Hipotiroïdisme, sproei, ileum reseksie, limfoom of beskadiging na bestraling kan almal kobalamien tekort in die liggaam veroorsaak. Steurings in die metabolisme van 'n metielgroep mag die oorsaak wees van die neurologiese letsels gesien in 'n vitamien B<sub>12</sub> tekort en die toediening van metionien mag hierdie toestand verbeter. Vegetariërs ontwikkel 'n megaloblastiese anemie as hulle alle suiwelprodukte en eiers uit hulle dieet sny (Chanarin, 1991).

Blokkerende teenliggame wat verhoed dat die IF-CbL kompleks aan hul reseptore bind, of outoteenliggame teen die gastriese pariëtale selle, blyk 'n patogeniese rol te speel in pernisiëuse anemie (Williams, 1991).

Megaloblastiese anemie en die veranderinge wat met 'n pernisiëuse anemie gepaard gaan, dui daarop dat vitamien B<sub>12</sub> benodig word by die sintese van DNA. Vitamien B<sub>12</sub> en folaat kan nie onafhanklik

van mekaar funksioneer nie, omdat die sintese van timidilaat beide vitamies benodig. 'n Metielgroep word verwyder uit metielfolaat deur die vitamien B<sub>12</sub> ensiem, transmetilase, wat dit dan aan homosisteïene besorg. Daardeur word metionien (metiel-homosisteïene) gevorm en deur die generasie van tetrahydrofoliensuur (THFA) word 5,10 -metileen THFA gevorm. Hierdie 5,10 -metileen THFA word benodig vir die timidilaat sintese en dus ook vir DNA sintese (Williams, 1991). As metioniensintese deur vitamien B<sub>12</sub> gebrek geïnhibeer word, blokkeer dit die regenerasie van THFA van 5,10 -metileen THFA. Die sel probeer kompenseer vir die ontoereikende metionien sintese deur N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup> -metileen THFA vanaf die timidilaatsintese pad na die metioniensintese pad te stuur en in die proses hoop die folaat, as N<sup>5</sup> -metielfolaat, in die sel op (Williams, 1991).

Vars folaat, wat die sel as N<sup>5</sup> -metielfolaat binnekom, kan dus nie na tetrahydrofolaat en dan na N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup> -metileen THFA omgesit word nie. Die intrasellulêre ophoping van N<sup>5</sup> -metiel THFA is nie geskik vir die sintese van timidilaat nie. Hierdie intrasellulêre ophoping van metielfolaat kan lei tot 'n afname in die puriensintese wat benodig word vir die DNA sintese. Hierdie toestand word die vasvang van metielfolaat genoem, "the methyl folate trap" (Williams, 1991).



FIGUUR 2.3 Die onderlinge afhanklikheid tussen vitamien B<sub>12</sub> en foliensuur (Rapaport, 1987)

Dit blyk dus duidelik te wees dat 'n tekort aan òf vitamien B<sub>12</sub> òf folaat 'n metielfolaat valstrik kan veroorsaak en mag verduidelik waarom daar klinies en morfologies geen onderskeid gemaak kan word tussen 'n vitamien B<sub>12</sub>- of 'n folaattekort nie. In beide gevalle word die hematologiese skade toegeskryf aan 'n tekort aan voldoende 5,10 -metileen THFA wat die metielgroep aan deoksiuridilaat lewer wat dit dan weer omsit na timidilaat wat

lei na die DNA sintese gedurende die 5 -fase. (Herbert, 1980).

'n Onderbreking in die DNA sintese veroorsaak oneffektiewe eritropoïese in die beenmurg en lei tot megaloblastose en die ontwikkeling van abnormale groot rooiselvoorlopers as gevolg van 'n blokkasie in die 5 -fase van selreplikasie. Die biochemiese defek, wat veroorsaak dat 'n verminderde timidilaat sintese megaloblaste vorm, mag die verlenging van die DNA ketting verhinder, alhoewel oor genoegsame vermoë beskik om DNA sintese aan die gang te sit. Dit mag wees as gevolg van die verminderde timidilaat konsentrasie wat wel genoeg is om as substraat te dien vir die inisieëring van DNA-polimerase, maar nie genoeg is vir die verlenging van DNA-polimerase nie (Herbert, 1980).

Die effek wat vitamien B<sub>12</sub> tekort op ontwikkelende eritrosiete het, is sekerlik die mees bestudeerde terrein op hierdie gebied. 'n Onderbreking in DNA sintese en seldeling in die maturasie van die eritrosiet word ondervind. Dit het tot gevolg die produksie van groter, maar minder volwasse, rooiselle. Daar is ook 'n vermeerdering in beenmurg hemopoiëtiese weefsel en totale eritroïede eritropoïese is verhoog, maar effektiewe eritropoïese in terme van die lewering van normaal funksionerende rooiselle na die sirkulasie, is verminder. Verder toon die megaloblaste 'n verkorte halflewe (Herbert, 1980).

'n Suiwer vitamien B<sub>12</sub> tekort kan eintlik eers na jare ontdek word omdat die liggaamstore tot 5 jaar kan neem om uitgeput te raak (Chanarin, 1969).

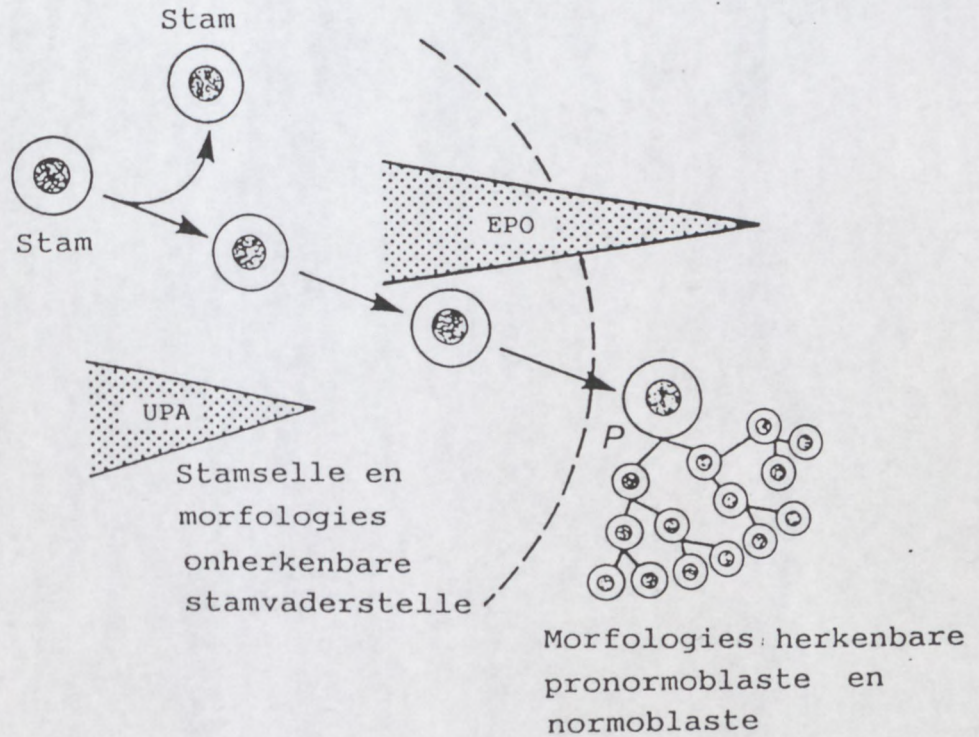
### 2.3 ERITROPOIËSE

Eritropoiëse is die proses waar die rooisel in die beenmurg vervaardig en in die bloedsirkulasie vrygestel word. Vitamien B<sub>12</sub> en foliensuur, onder andere, speel 'n groot rol by eritropoiëse, veral in die nukluêre ontwikkeling. 'n Tekort aan een van hierdie twee vitamienes bring drastiese veranderinge in die perifere bloed sowel as in die beenmurg teweeg.

Eritropoiëse benodig verskeie groeifaktore om die proses te inisieer, reguleer en handhaaf:-

- . Uitbars promoverende aktiwiteit (UPA)  
"Burst promoting activity (BPA)"
- . Die hormoon eritropoiëtien
- . Foliensuur en vitamien B<sub>12</sub>
- . Vitamien B<sub>6</sub> en vitamien C
- . Koper en yster
- . Aminosure

In die beenmurg is daar pluripotente stamselle wat twee funksies kan uitoefen naamlik:- selfhernuwing en differensiasie. Met differensiasie verloor die stamsel sy pluripotensiaal- en selfhernuwing funksie en differensieer tot 'n stamvadersel, "progenitor cell."



FIGUUR 2.4 'n Voorstelling van die stadia van eritropoïese.

UVE-E;	Uitbars vormende eenheid eritroïed	"BFU-E"
KVE-E;	Kolonie vormende eenheid eritroïed	"CFU-E"
UPA;	Uitbars promoterende aktiviteit	"BPA"
EPO;	eritropoïetien	"EPO"
P;	pronormoblast	"P"

(Rapaport, 1987)

Die stadia van rooiseldifferensiasie kan as volg beskryf word:-

(soos gesien na 'n Romanowsky kleuring)

. **Pluripotensiale stamsel**

- . Die sel is 25-35 $\mu$  in deursnit en word "Burst forming units erythroid(BFU-E)" genoem (UVE-E). Dit is die mees primitiewe eritroïede sel en toon 'n groot nukleus met fyn chromatiennetwerk en fyn granules in die sitoplasma.

. **Intermediêre stamsel**

- . Die sitoplasma word minder maar blouer, en verloor die granules.

. **Hemositoblast**

- . Die sel is 20 - 30 $\mu$  in deursnit en word "colony forming units-erythroid(CFU-E)" genoem(KVE-E). Dit is die mees gedifferensieerde eritroïede stamsel.

. **Pronormoblast**

- . Die sel is 20-28 $\mu$  in deursnit en is 'n groot sel met diepblou sitoplasma. Die nukleus neem byna die hele selruimte in. Dit toon 'n fyn chromatiennetwerk met klein nukleoli.

. **Basofiliese normoblast**

- . Die sel is 15-18 $\mu$  in deursnit. Die nukleoli het verdwyn en chromatienklompings word in die kern sigbaar. Die sitoplasma is steeds diepblou vanweë die hoë RNA inhoud.

. **Polichromatofiele normoblast**

- . Die sel is 10-15 $\mu$  in deursnit. Die sel en sy nukleus is kleiner. Erge chromatienklompings van die kern is sigbaar. Die sitoplasma se kleur wissel tussen grys-pers en pers-pienk, aanduidend van die verminderde RNA en vermeerderde hemoglobieninhoud.

. **Ortochromatiese normoblast**

- . Die sel is  $\pm 10\mu$  in deursnit en is nou heelwat kleiner. Die nukleus is 'n digte, donker bal en die sitoplasma is pienk.

. **Retikulosiet**

- . Die retikulosiet is  $\pm 9\mu$  in deursnit en het geen kern, maar wel oorblywende RNA in die sitoplasma wat met sekere supravitale kleurings tot 'n fyn retikulien netwerk gepresipiteer kan word. Dit bly 1-2 dae in die beenmurg voordat dit in die bloedstroom beland.

. **Eritrosiet**

- . Die eritrosiet is  $\pm 7,6\mu$  in deursnit en het geen nukleus. Dit kleur rooi met 'n Romanowsky kleuring.

Normaalweg vind eritropoiëse by die mens in die beenmurg plaas. Gedurende sekere siektetoestande word die rooibloedselle, witbloedselle en plaatjies buite die beenmurg vervaardig. Dit word ekstra-medullêre hematopoiëse genoem waar die milt en lewer die mees prominente produksie areas is (Rapaport, 1991).

### 2.3.1 ERITROPOIËSE EN ANEMIE

Eritropoiëse word so gereguleer om 'n normale hoeveelheid rooibloedselle te handhaaf. 'n Anemie ontstaan wanneer daar onvoldoende normale rooiselle aan die sirkulasie vrygestel word. Daar ontstaan dus òf 'n verlaging in die hoeveelheid



rooibloedselle, òf 'n verminderde hemoglobien inhoud. 'n Normale balans tussen die ontwikkeling en afbraak van rooibloedselle word deur 'n daaglikse produksie van  $2 \times 10^{12}$  selle in die beenmurg gehandhaaf. Die rooibloedselle het 'n lewensduur van 120 dae. Hierdie balans word deur bv. bloedverlies of defektiewe rooisel produksie omvergewerp. Vitamien B<sub>12</sub> en foliensuur is van fundamentele belang vir normale eritropoïese en die maturasie van normoblaste (Rapaport, 1987).

### 2.3.2 MEGALOBLASTIESE ERITROPOIËSE

'n Tekort aan òf foliensuur òf vitamien B<sub>12</sub> veroorsaak 'n verandering in DNA sintese en gee aanleiding tot 'n eritroïede hiperplasie in die beenmurg met 'n proliferasie van abnormale normoblaste (megaloblaste) in alle stadia van ontwikkeling. Hierdie selle is groter as die normale normoblaste wat heel moontlik te wyte is aan die langer groeitydperk sonder mitose. Abnormaliteite soos: diseritropoïese, abnormale kern-sitoplasma verhouding, onvolwasse kernstruktuur, kernrestante en mitose, word almal in die megaloblaste, in alle stadia van ontwikkeling, in die beenmurg waargeneem.

Alle sellyne in die perifere bloed kan geraak word en daar ontstaan 'n erge aniso- en poikilositose. Die rooiselle is ovaal en groot en in erge gevalle is daar insluitingsliggaampies soos Howell-Jolly liggaampies, Cabot ringe en basofiele stippeling. Daar mag ook enkele megaloblastiese normoblaste aanwesig wees. Heelwat van die neutrofielkerne toon hipersegmentasie.

Sideroblaste is gewoonlik vermeerder aanwesig en die ysterstore is meestal verhoog (Williams, 1991).

Die stadia van die megaloblast-differensiasie. (Soos gesien met 'n Romanowsky kleuring).

. **Promegaloblast**

- . Die sel is 19-27 $\mu$  in deursnit. Die nukleus is ligpers met 'n gestippelde retikulêre chromatienpatroon sonder enige klompings soos waargeneem kon word in die pronormoblaste. Daar kan drie tot vyf nukleoli aanwesig wees. Die hoeveelheid sitoplasma is buite verhouding tot die nukleus.

. **Basofiliese megaloblast**

- . Die sel is 15-22 $\mu$  in deursnit en is groter as die basofiliese normoblast. Die nukleus is asentries geleë en het 'n fyner en egaliger chromatiennetwerk. Daar is geen nukleoli. Die sitoplasma is donkerblou en meer as dié van 'n basofiliese normoblast.

. **Polichromatofiliese megaloblast**

- . Die sel is 10-18 $\mu$  in deursnit en groter as die polichromatofiliese normoblast. Die nukleus is rond en asentries geleë, het 'n fyn retikulêre chromatien, wat nie soos in die normoblast, klompings toon nie.

. **Ortochromatiese megaloblast**

- . Die sel is 8-15 $\mu$  in deursnit en is gewoonlik 3-4 maal

die grootte van die normale normoblast. Die nukleus is blou-pers en toon chromatienklomping. Die sitoplasma is erg eosinofilies en baie in vergelyking met die laat normoblast. Howell-Jolly liggaampies en basofiele stippeling kan aangetref word (Rapaport, 1987).

Vitamien B<sub>12</sub> en foliensuur is noodsaaklik vir die instandhouding en normale groei van selle, asook vir seldeling en selontwikkeling in die liggaam. 'n Tekort aan een van hierdie twee vitamies het 'n geweldige invloed op die produksie en ontwikkeling van eritrosiete. In die beenmurg kom groot megaloblaste tot stand wat 'n korter lewensduur as die normoblaste het en dus so die eritrosiëttelling verlaag en 'n anemie laat ontwikkel.

Om hierdie toestande te kan monitor, sal abnormale waardes gemeet en evalueer word. Om dit te kan doen, is dit nodig om 'n goeie fisiologiese grondslag te hê waarteen hierdie waardes gemeet kan word. Dit is dus noodsaaklik om verwysingswaardes vir verskillende bevolkingsgroepe in die Kaapse Skiereiland te bepaal vanweë verskillende lewenstyl en omstandighede.

## HOOFSTUK 3

## EVALUASIE VAN TOETSSTELLE

## 3.1 EVALUERING VAN VERSKILLENDE RIE TOETSSTELLE

Voordat daar met hierdie studie begin kon word, moes die probleme wat daar met die huidige RIE metode bestaan het, ondersoek en opgelos word. Veral die teenstrydige resultate wat uit die vitamien B<sub>12</sub> essai gespruit het, het aanleiding gegee tot die ondersoek van vier verskillende toetsstelle.

Sedert die radio-immuun toetsmetodes ontwikkel is, het vele laboratoriums dit in gebruik geneem, omdat dit minder omslagtig en baie vinniger die resultate beskikbaar gestel het. Ongelukkig lewer alle toetsstelle nie bevredigende resultate nie (Arch Pathol Lab Med, bl. 940, Editor letters 1984; Cl Chemistry, bl. 2115 Editor letters, 1983; England, 1980; Wu, 1974). Alhoewel daar streng kontrole en baie navorsing by die vervaardigers se laboratoriums uitgeoefen word, word daar nog van tyd tot tyd probleme met reagense ondervind (Raniolo, 1984; Zucker, 1983). Dit is egter noodsaaklik om altyd die beste toetsstel te gebruik wat 'n goeie herhaalbaarheid, akkuraatheid en spesifisiteit toon. Toetsstelle van verskeie maatskappye is getoets. Die Immuno-Diagnostic Systems Limited (VSA) se toetsstel is vanweë die omslagtige metode en voorbereiding van die reagense, na die eerste keer se gebruik, nie verder oorweeg nie. Diagnostic Products Corporation (VSA) se DUALCOUNT Solid Phase No Boil

toetsstel het 'n wisseling in vitamien B<sub>12</sub> standarde se resultate getoon en is na die eerste toetsproses nie verder oorweeg nie. Twee toetsstelle, naamlik:- (A) Quantaphase<sup>R</sup> van BIO-RAD, 'n kookmetode, en (B) Micro Medic van DPC, 'n nie-kook metode, is geëvalueer.

Die materiale en metodes van die BIO-RAD en Micro Medic-toetsstelle is geëvalueer om sodoende die beste toetsstel vir hierdie studie te kon selekteer ten opsigte van die volgende aspekte:

- . Toetsstelstandarde
- . Kommersiële kontroles
- . herhaalbaarheid van toetsmonsters
- . Vergelyking van plasma-en serumresultate

### 3.1.1 TOETSSTELSTANDAARDE

Elke RIE toetsstel word voorsien van 'n reeks standarde (sien bl 49) waarmee die standaardkurwe opgestel word en wat gebruik word om die pasiënt se tellings per minuut (TPM) na ng/ml of pg/ml om te skakel. Die toetsstelstandarde se resultate van die twee stelle is oor 'n tydperk van 14 weke versamel. Die grafieke, van een toetsreeks, soos deur die gamma-teller self opgestel, word grafies voorgestel.

### 3.1.2 KOMMERSIËLE KONTROLES

Om goeie kwaliteitbeheer uit te oefen, word daar met elke

toetsreeks wat uitgevoer word, 'n aantal onafhanklike kommersieel vervaardigde kontroles, LYPHOCHEK<sup>R</sup> IMMUNOASSAY CONTROL SERUM (HUMAN) ANAEMIC CONTROL, LEVELS 1, 11, and 111, van verskillende konsentrasies ingesluit:- Kontrole A (baie laag), reikwydte 117-203pg/ml; Kontrole Laag, reikwydte 450-680pg/ml; Kontrole Medium, reikwydte 560-884pg/ml en Kontrole Hoog, reikwydte 883-1327pg/ml. Beide toetsstelle se resultate is oor 'n tydperk van 14 weke versamel en is voorgestel in figure 3.5 tot 3.8.

### 3.1.3 HERHAALBAARHEID VAN TOETSMONSTERS

Om die akkuraatbaarheid van die toetsstel te bepaal, is 30 pasiëntmonsters afsonderlik vir elke toetsstel, in 1ml deelvolumes gedeel en by -20°C gevries. Hulle is daarna weekliks getoets om die herhaalbaarheid daarvan te bepaal. Hierdie resultate is voorgestel in figure 3.9 en 3.10.

### 3.1.4 VERGELYKING VAN PLASMA- EN SERUMRESULTATE

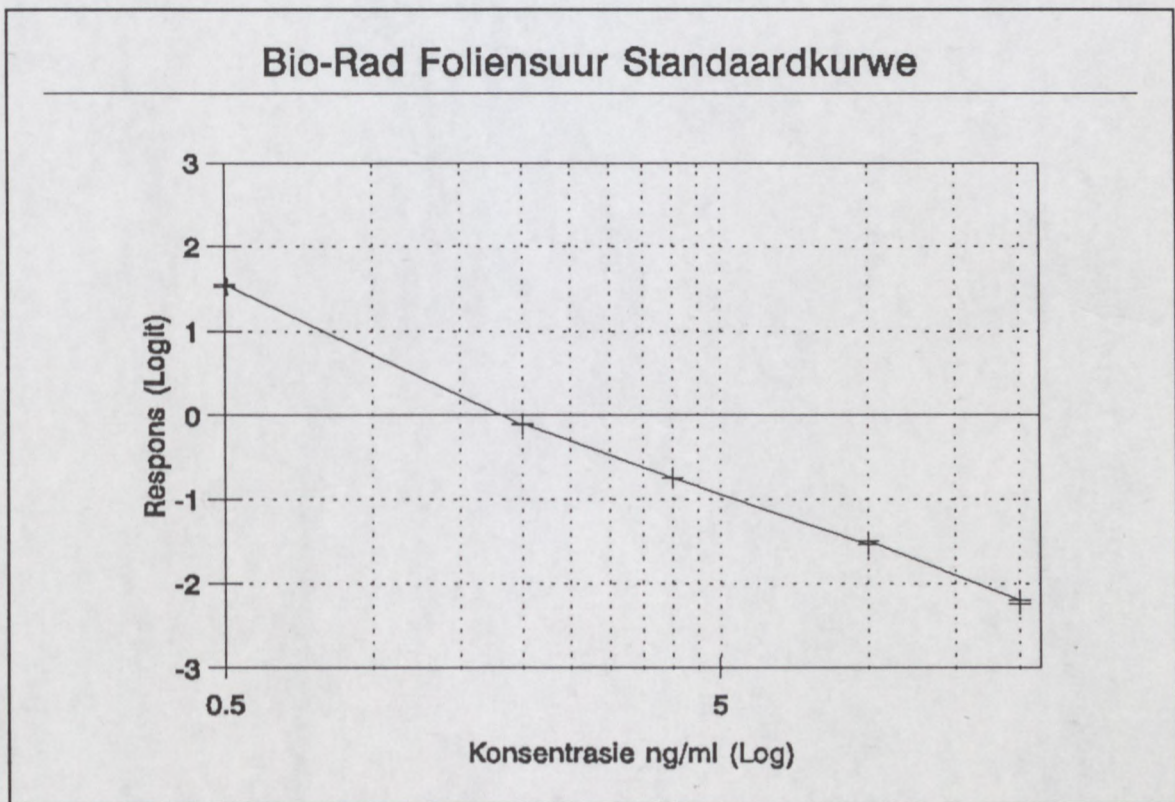
Sommige toetsstelle benodig serum vir essaiëring, maar daar word dikwels net ongestolde bloedmonsters vir die bepaling van vitamien B<sub>12</sub> en serumfolaat ontvang. Dertig pasiënte se EDTA- en serummonsters is afsonderlik vir elke toetsstel vergelyk. Die resultate is voorgestel in figure 3.11 en 3.12.

Statistiese analise met behulp van die tweesydige, gepaarde t-toets met 'n betroubaarheidspeil van 95%, is gedoen, om aan te toon of daar 'n betekenisvolle verskil, tussen die verskillende resultate van die afsonderlike toetsstelle is.

### 3.2 BIO-RAD EN MICRO-MEDIC TOETSSTELRESULTATE

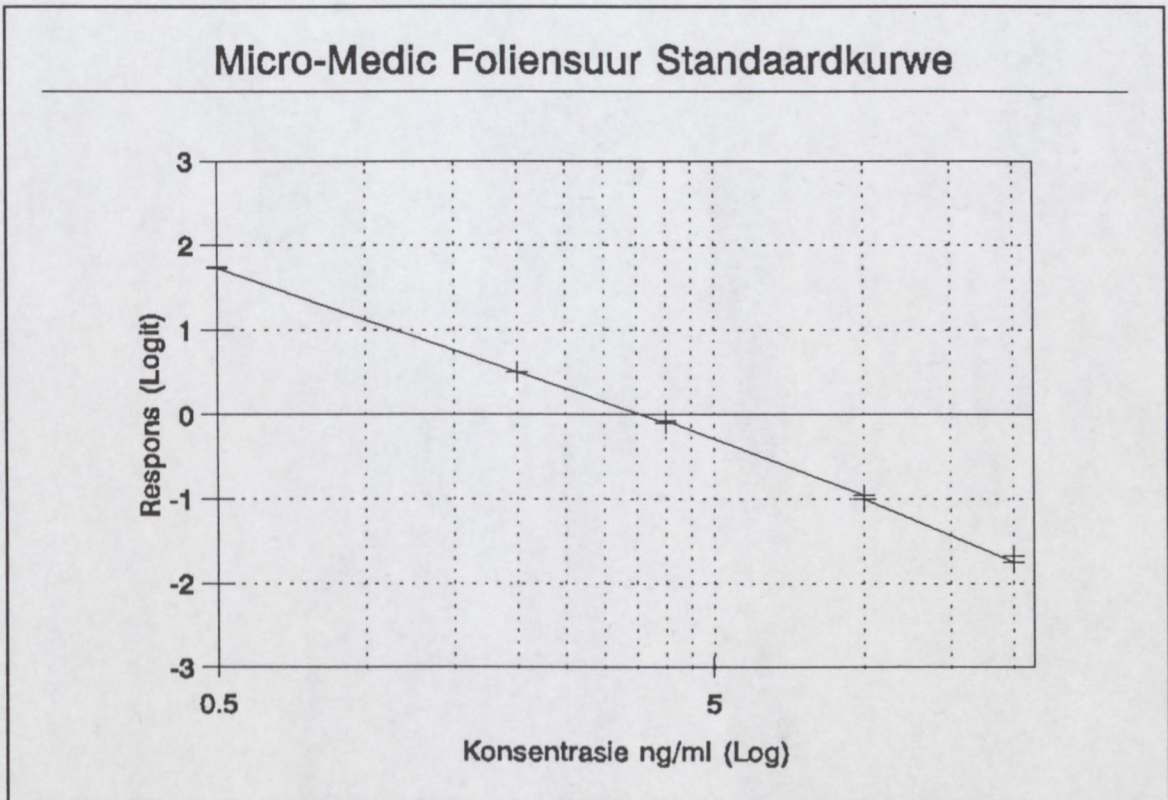
#### 3.2.1 Toetsstelstandaarde

Beide toetsstelle se folaat duplikaat tellings (TPM) van die verskillende standaard konsentrasies het nooit meer as 2% verskil nie en word as aanvaarbaar beskou (Anoniem (b), 1989).



FIGUUR 3.1 Bio-Rad Foliensuur Standaardkurwe.

Die tellings het 'n helling van 0,984, 'n intersep van 1,134 en 'n variansie verhouding van 0,0 getoon. 'n B/T = 0.03, R/T = 0.27, ED-20 = 13,255. ED-50 = 3,367, ED-80 = 0,752.

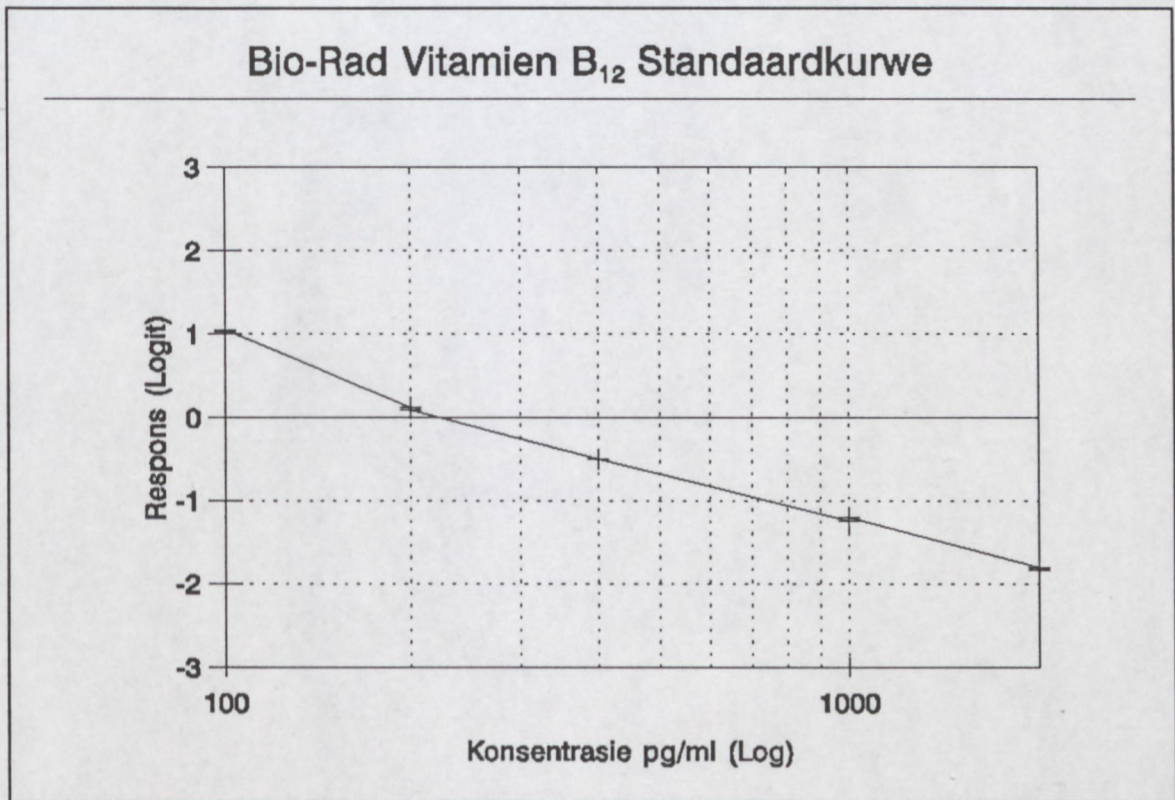


**FIGUUR 3.2                      Micro-Medic Foliensuur Standaardkurwe**

Die tellings het 'n helling van 0,957, 'n intersep van 0,719 en 'n variansie verhouding van 2,252 getoon B/T = 0,02, R/T = 0,50, ED-20 = 8,679, ED-50 = 2,130, ED-80 = 0,496.



Die duplikaat TPM van die vitamien B<sub>12</sub> Bio-Rad stel se verskillende vitamien B<sub>12</sub> standaard konsentrasies het oor die algemeen nie meer as 2% verskil nie, terwyl die van die Micro-Medic stel se tellings tot met soveel as 30% kon verskil.

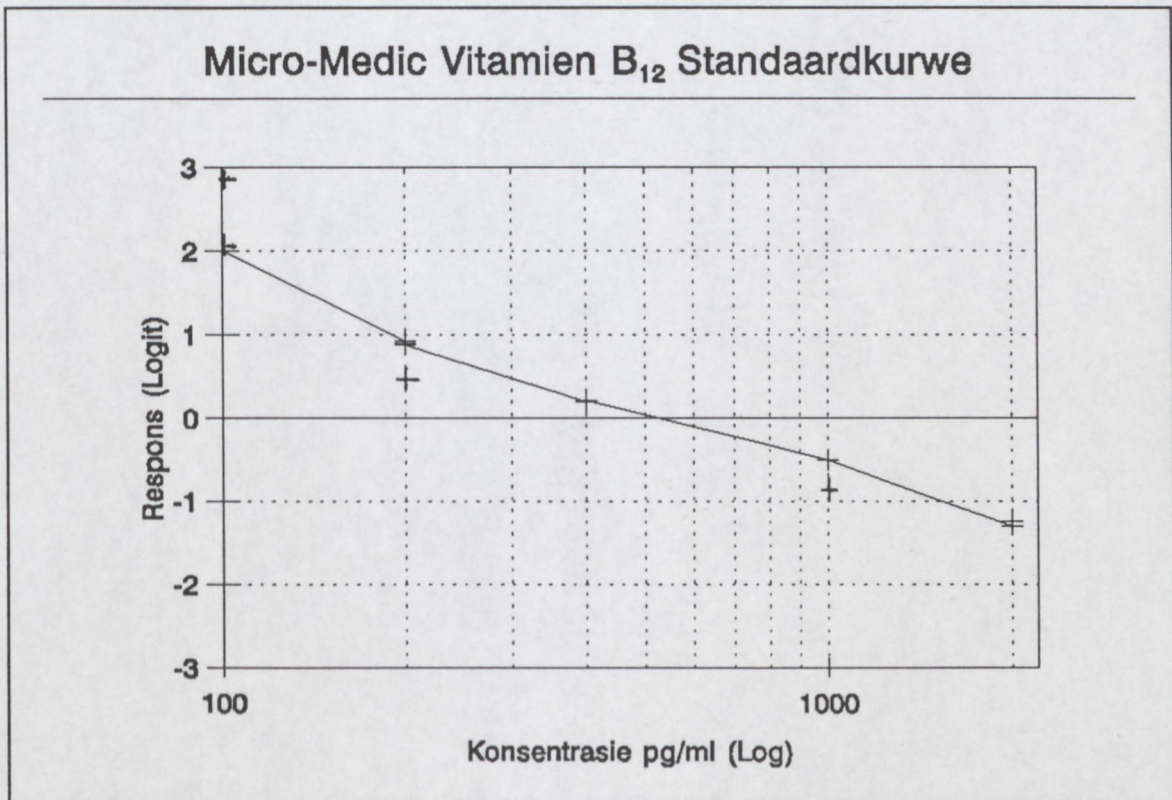


FIGUUR 3.3

Bio-Rad Vitamien B<sub>12</sub> Standaardkurwe.

Die tellings het 'n helling van 0,987, 'n intersep van 0,605 en 'n variansie verhouding van 2,452 getoon. 'n B/T = 0,02, R/T =

0,80 ED-20 = 1215,7, ED-50 = 306,91 en ED-80 = 74,481.



**FIGUUR 3.4**                      **Micro-Medic Vitamien B<sub>12</sub> Standaardkurwe.**

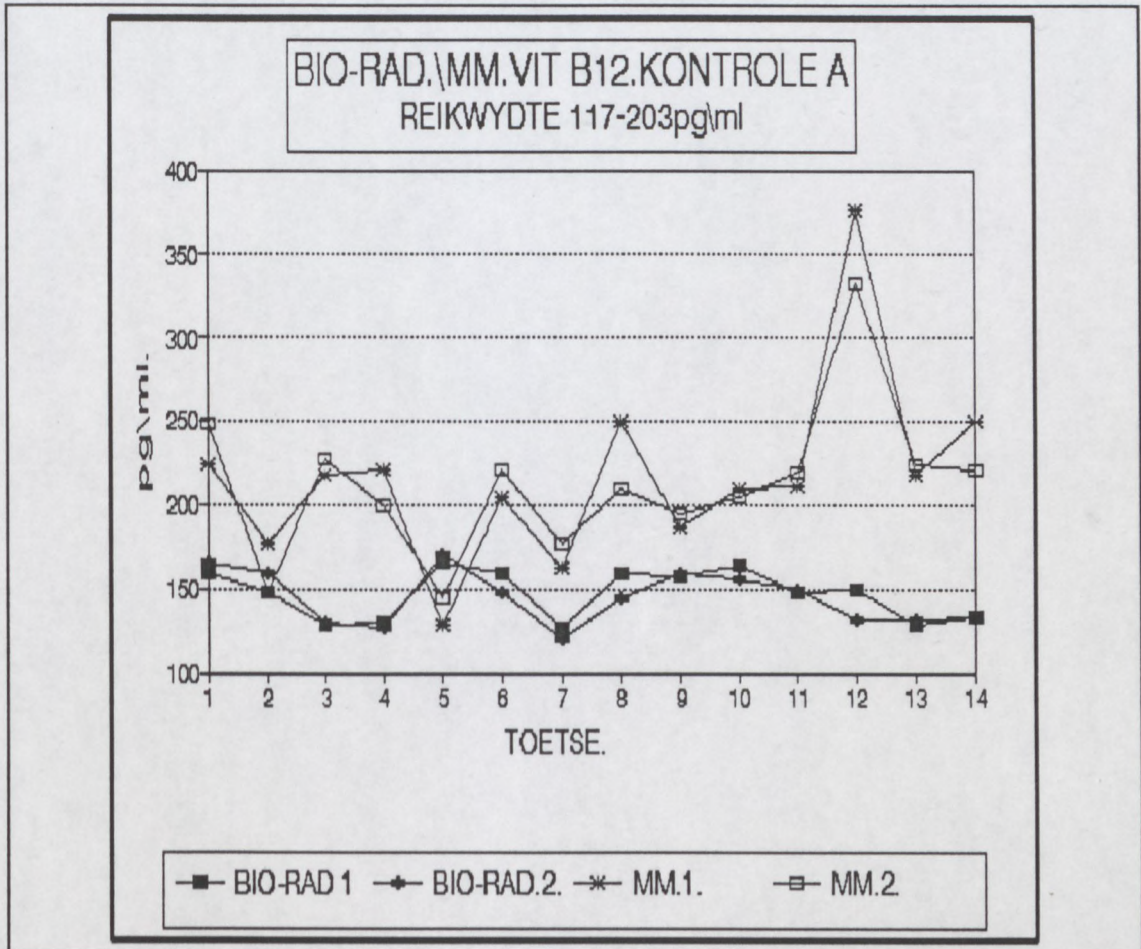
Die tellings het 'n helling van 0,965, 'n intersep van 8,394 en 'n variansie verhouding van 17,240 getoon. B/T = 0,02, R/T = 0,48, ED-20 = 2209,6, ED-50 = 465,3, ED-80 = 140,04

### 3.2.2 KOMMERSIËLE KONTROLES

Die Bio-Rad toetsstel se duplikaat waardes van sowel die folaat as die vitamien B<sub>12</sub> bepalings, van al die kontroles, het goeie verband getoon met die geykte waardes, interstel sowel as tussen stelle.

Die Micro-Medic se folaatwaardes het konstant gebly en 'n goeie korrelasie getoon, terwyl die vitamien B<sub>12</sub> waardes verskil het, interstel sowel as tussen stelle.

Statistiese analise is gedoen met behulp van die tweesydige, gepaarde t-toets met 'n betroubaarheidspeil van 95% om aan te toon of daar 'n statistiese verskil al dan nie, tussen die duplikaat resultate van die twee toetsstelle is.



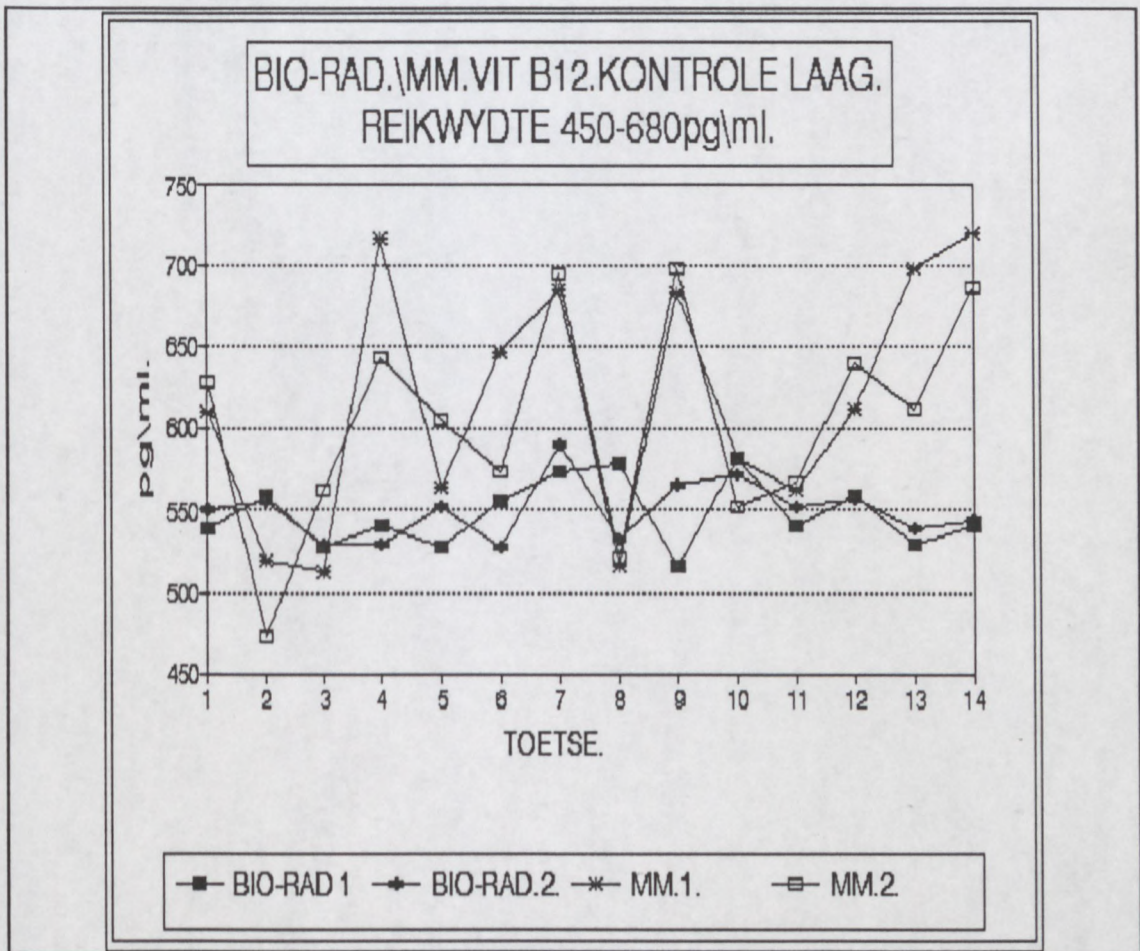
FIGUUR 3.5

Grafiese Voorstelling van Kommersiële  
kontrole: A (baie laag)

Statistiese analise:

BIO-RAD:  $t = 1.1, p = 0.3101$

Micro-Medic:  $t = 0.8, p = 0.4548$



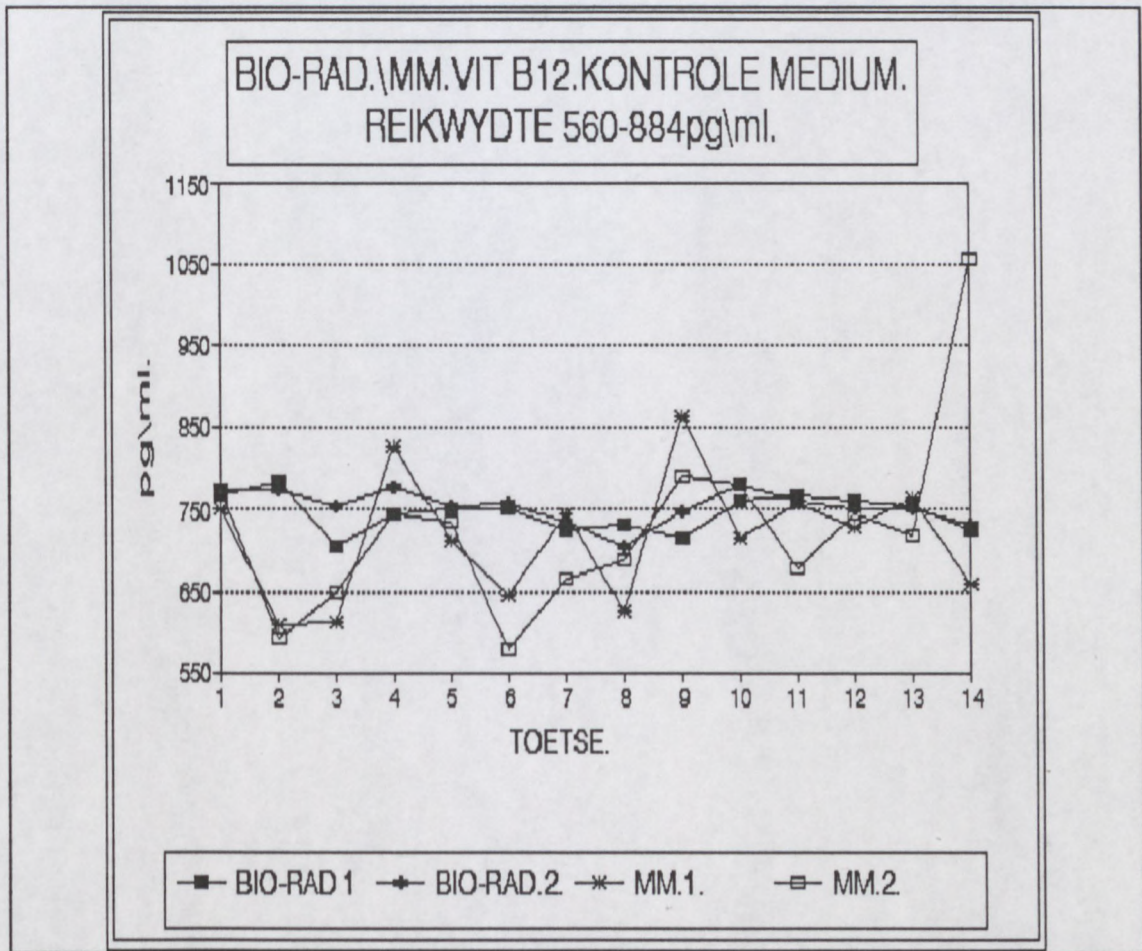
FIGUUR 3.6

Grafiese Voorstelling van Kommersiële  
kontrole: LAAG

Statistiese analise:

BIO-RAD,  $t = 0.4$ ,  $p = 0.7282$

Micro-Medic,  $t = 1.2$ ,  $p = 0.2437$



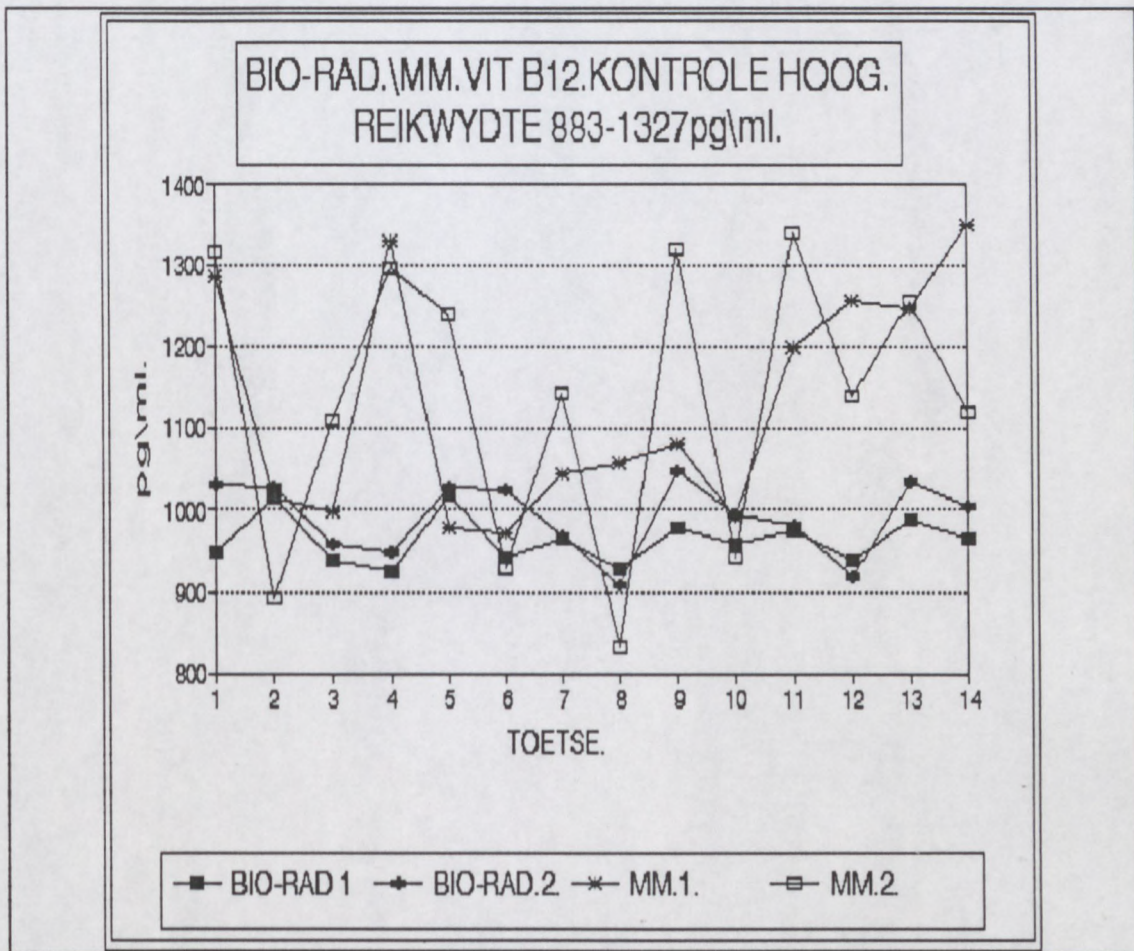
FIGUUR 3.7

Grafiese Voorstelling van Kommersiële  
kontrole: MEDIUM

Statistiese analise:

BIO-RAD,  $t = 1.4$ ,  $p = 0.1767$

Micro Medic,  $t = 0.4$ ,  $p = 0.7195$



FIGUUR 3.8

Grafiese Voorstelling van Kommersiële  
kontrole: HOOG

Statistiese analise:

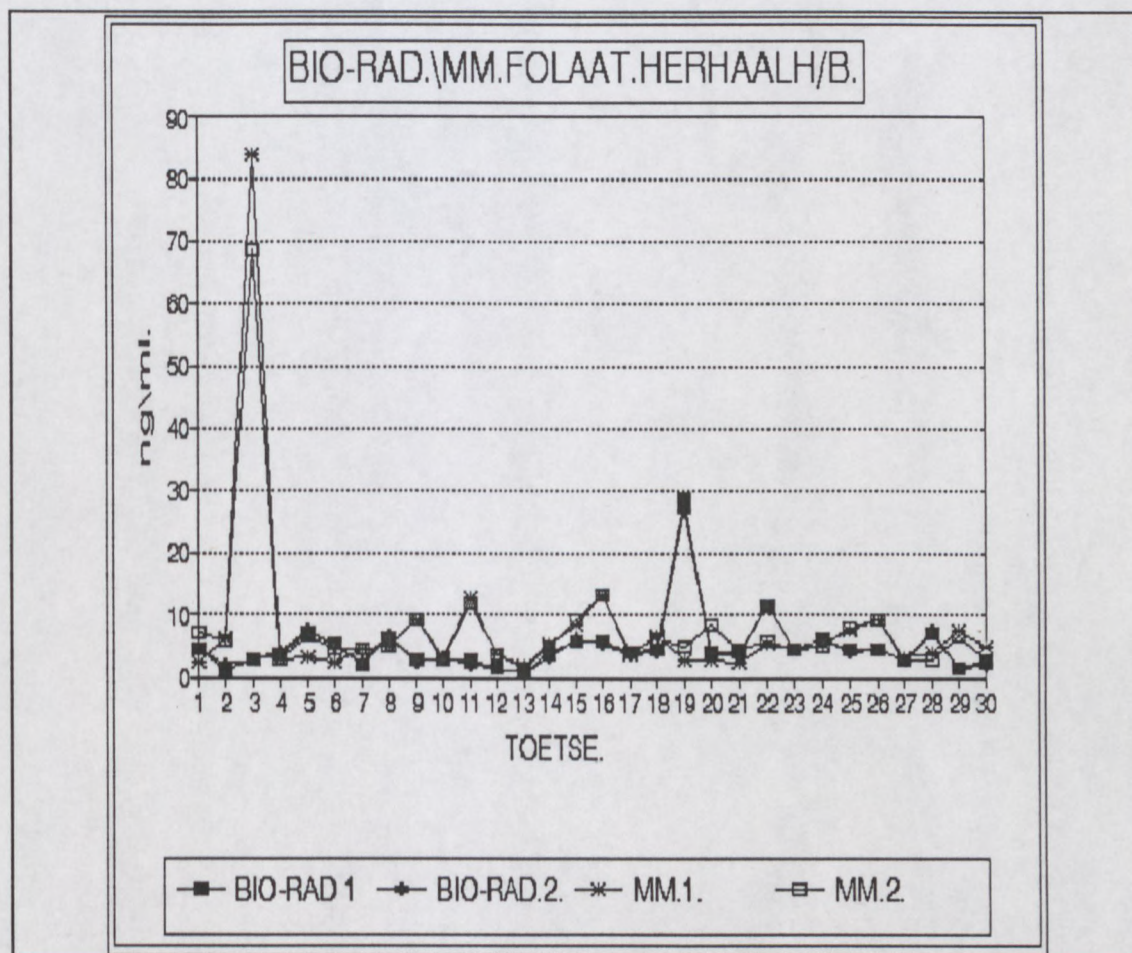
BIO-RAD,  $t = 0.2$   $p = 0.9043$

Micro-Medic,  $t = 3.2$ ,  $p = 0.0076$ ,

'n Beduidende verskil is aangetoon.

### 3.2.3 HERHAALBAARHEID VAN TOETSMONSTERS

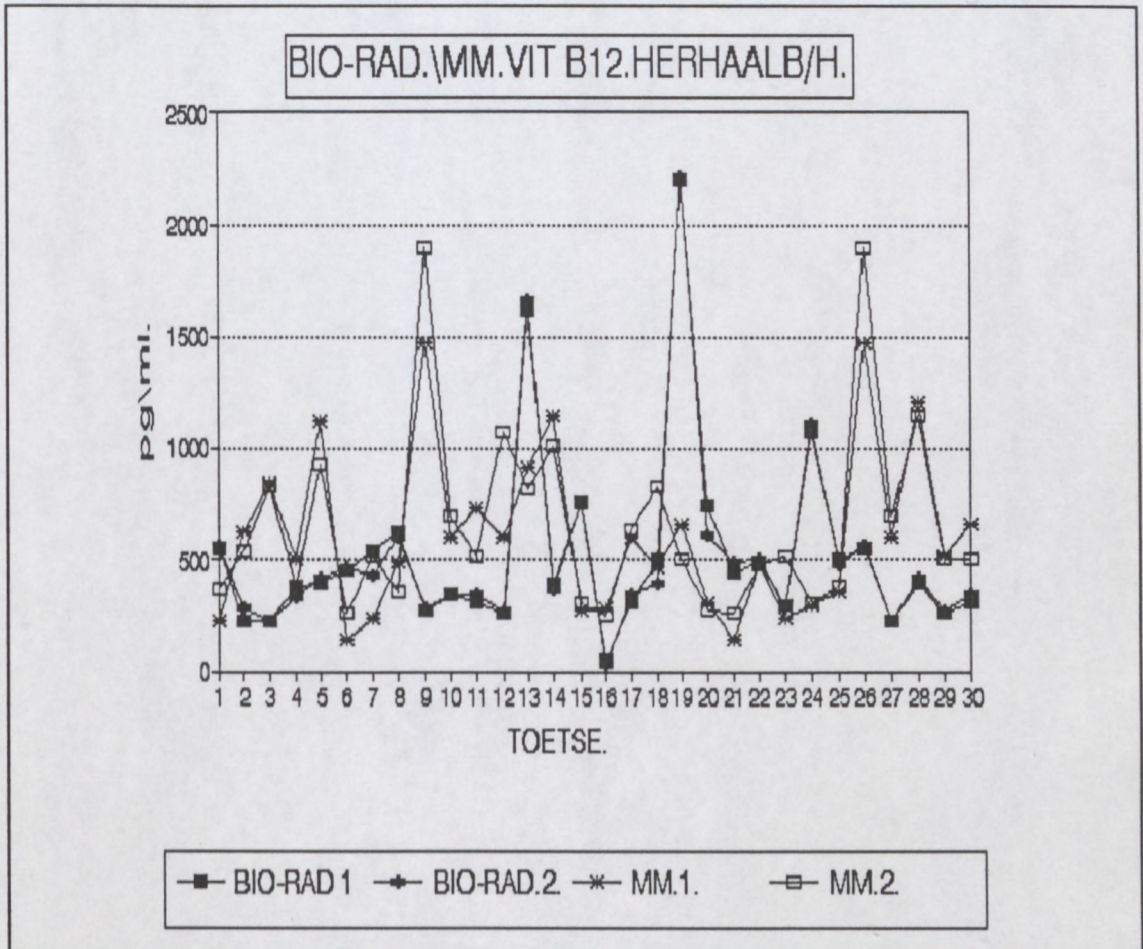
Die akkuraatbaarheid van die twee toetsstelle het gewissel. Elke stel se folaatwaardes van het goed vergelyk. Die vitamien B<sub>12</sub> waardes van die Bio-Rad toetsstel het goeie korrelasie getoon terwyl die Micro-Medic toetsstel soms aansienlike verskille getoon het met groot verskille tussen die resultate.



FIGUUR 3.9 Grafiese Voorstelling van Folaat Herhaalbaarheid.

Statistiese analise:           BIO-RAD,                   t= 0.2,   p= 0.9363  
   Micro Medic,           t= 1.6,   p= 0.1128





FIGUUR 3.10

Grafiese Voorstelling van Vitamien B<sub>12</sub>  
Akkuraatheid

Statistiese analise:

BIO-RAD,

$t = 0.5,$

$p = 0.6620$

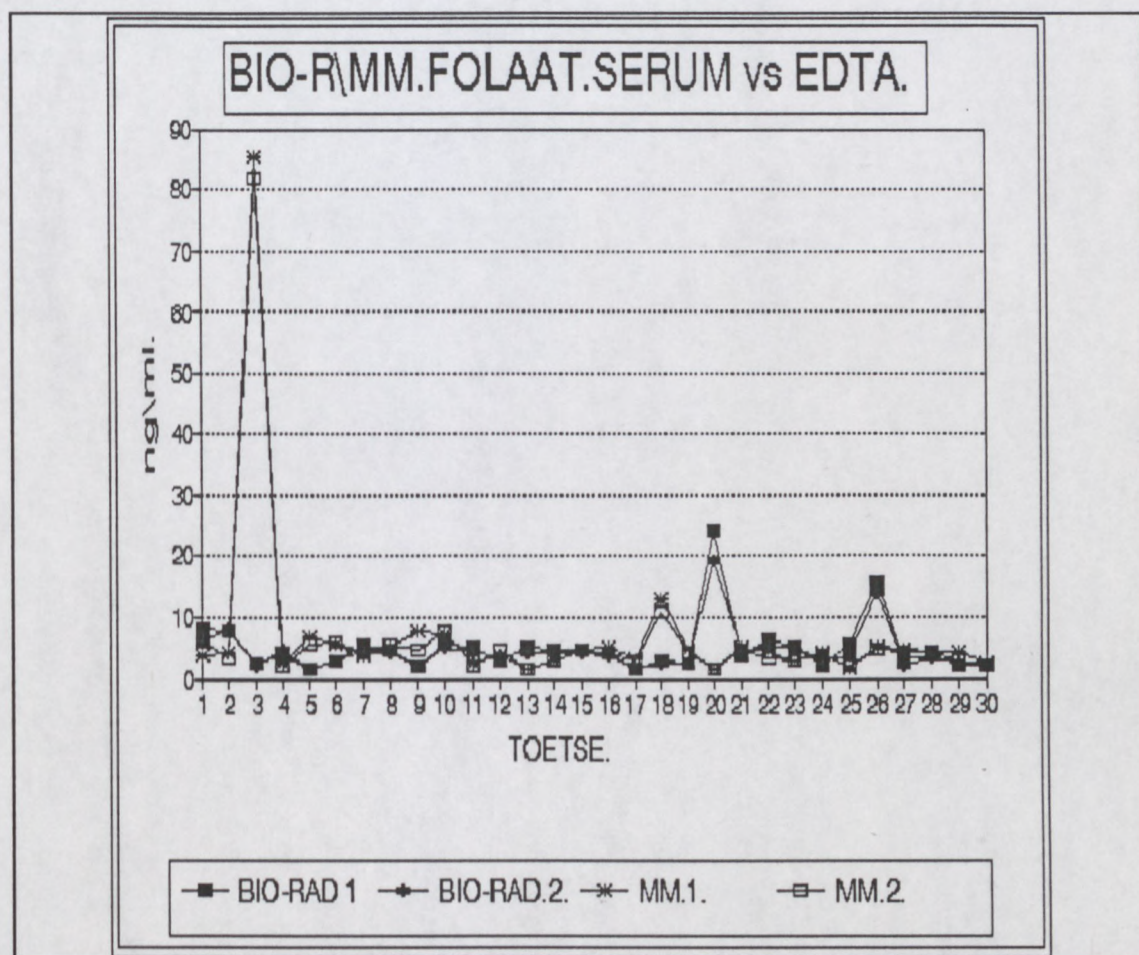
Micro-Medic,

$t = 1.4,$

$p = 0.1649$

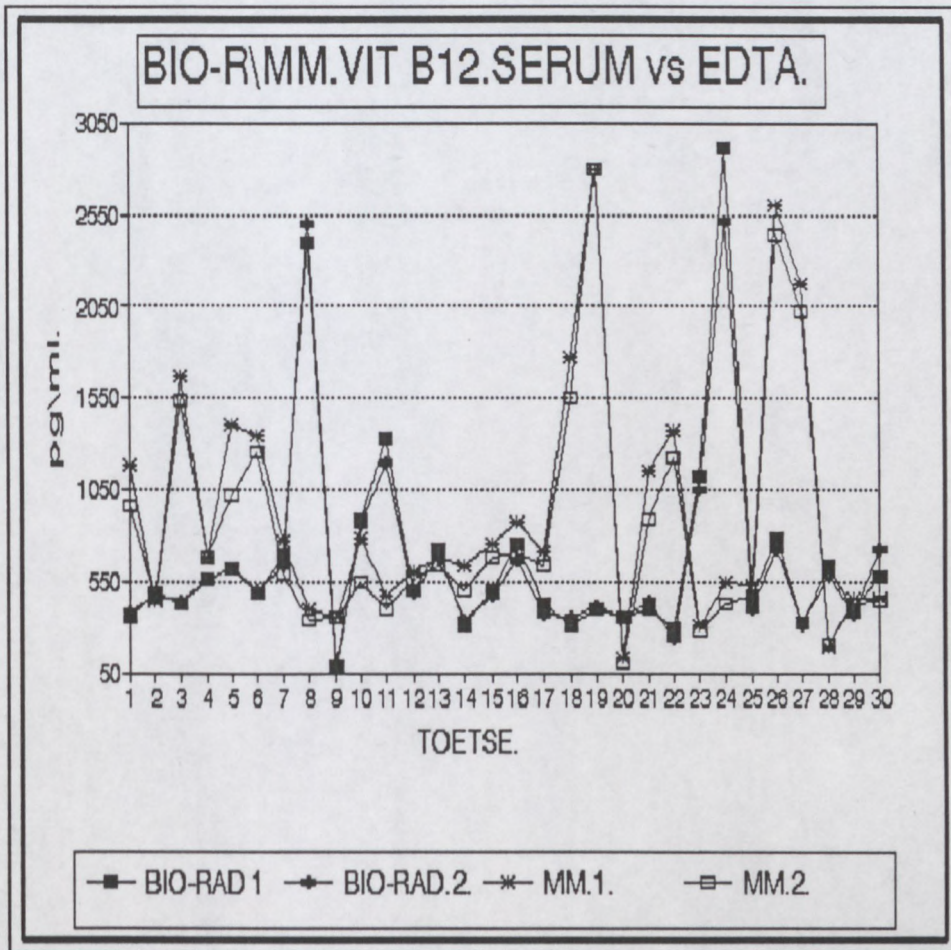
## 3.2.4 VERGELYKING VAN PLASMA-EN SERUMRESULTATE

Die folaat- en vitamien B<sub>12</sub> resultate van die Bio-Rad toetsstel het goed vergelyk terwyl die Micro-Medic toetsstelwaardes tussen die plasma- en serum resultate redelike verskille getoon het.



FIGUUR 3.11 Grafiese voorstelling van die Serum vs EDTA Folaat Resultate

Statistiese analise: BIO-RAD,  $t = 0.7$ ,  $p = 0.1151$   
 Micro-Medic,  $t = 2.2$ ,  $p = 0.0384$   
 'n Beduidende verskil is aangetoon.



FIGUUR 3.12

Grafiese voorstelling van die Serum vs.  
EDTA Vitamien B<sub>12</sub> Resultate.

Statistiese analise:

BIO-RAD,  $t = 1.5$ ,  $p = 0.1579$

Micro- Medic,  $t = 5.9$ ,  $p = <0.00001$

'n Hoogs beduidende verskil is aangetoon.

### 3.3 KEUSE VAN TOETSSTEL

Die grootste probleemarea wat by al die toetse van toepassing was het rondom vitamien B<sub>12</sub> ontleding gesentreer. Dit kon moontlik aan die vitamien B<sub>12</sub> bindingsproteïene te wyde gewees het.

Bio-Rad toetsstel, maak van 'n kookproses gebruik waardeur die bindingsproteïene geïnaktiveer word en al die verskillende vorme van vitamien B<sub>12</sub> in die teenwoordigheid van dithiothreitol, na sianokobalamien omgesit word. Hierdie kook-metode blyk 'n uitstekende tegniek te wees omdat daar min verskille tussen duplikaat lesings voorkom. Die kommersieel aangekoopte kontroles het van week tot week sowel as tussen die duplikaat tellings goeie, herhaalbare lesings gegee en sodoende kon daar 'n goeie kwaliteitbeheer program opgestel word. Daar was ook goeie korrelasie tussen die serum en EDTA duplikaat lesings en herhaalbaarheid van toetsmonsters.

Aan die ander kant maak die Micro-Medic toetsstel gebruik van 'n sterk alkali, natriumhidroksied, om die bindings proteïene te inaktiveer en in die teenwoordigheid van kaliumsianied, by 'n pH van ongeveer 13, al die vorme van vitamien B<sub>12</sub> na sianokobalamien om te sit. Hierdie proses blyk nie altyd konstant te wees nie, omdat daar tot 'n 30% verskil tussen duplikaat tellings kon voorkom.

Die Bio-Rad RIE toetsstel, vir die gelyktydige bepaling van vitamien B<sub>12</sub> en folaat, is na goeie oorweging gekies om die

laboratorium se huidige toetsstel te vervang. Dit blyk 'n beter metode te wees as dié waar die kobalamien by 'n pH van 13 na Sianokobalamien omgesit word

Die Bio-Rad toetsstel het beter- en meer akkurate vitamien B<sub>12</sub> resultate gelewer en is toegepas op nuwe bloedskenkers om te kyk of daar enige verskil tussen die verskillende etniese groepe in die Kaapse Skiereiland se vitamien B<sub>12</sub> en folaat waardes aangetoon kan word.

## HOOFSTUK 4

BEPALING VAN VIT. B<sub>12</sub> EN FOLATE  
BY PASIENTE EN BLOEDSKENKERS

## 4.1 INLEIDING

Die Bio-Rad toetsstel is gebruik vir die bepaling van vitamien B<sub>12</sub>, serum- en rooifolaat waardes vir die onderskeie rasse en geslagte in die Kaapse Skiereiland, om te kyk of daar enige verskil tussen die verskillende etniese groepe aangetoon kan word. Die LKB-Wallac 121 Multi-Gamma teller vir die RIE bepalings en 'n elektroniese selteller, die Coulter Model "S Plus", vir alle roetine hematologiese bepalings gebruik.

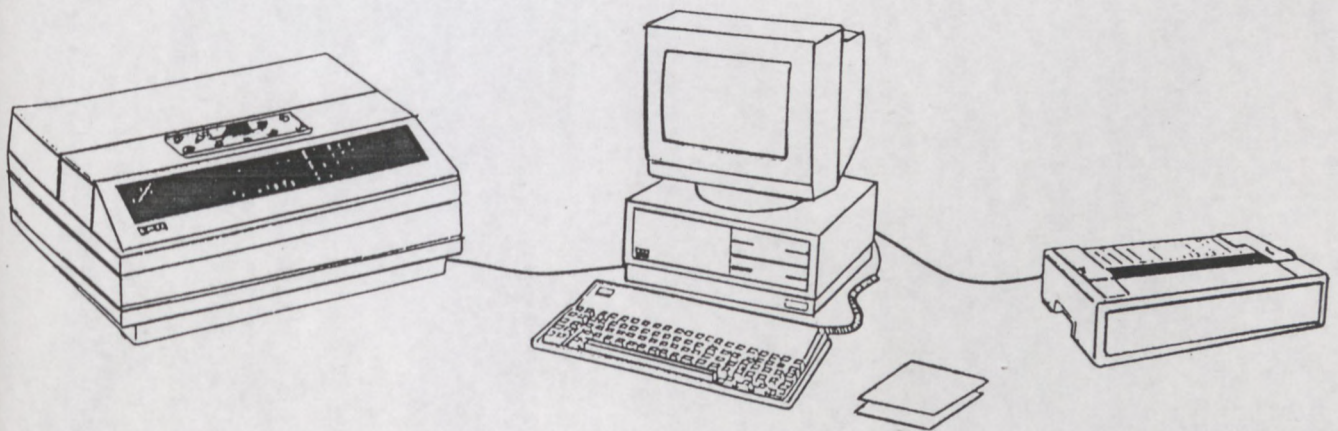
## 4.2 INSTRUMENTE EN APPARATE

## 4.2.1 DIE 121 MULTI-GAMMA TELLER

Die LKB-Wallac 121 Multi-Gamma teller is 'n 10-detektor hand model teller. Dit kan isotoop-gemerkte monsters tel wat oor 'n energie reikwydte van tussen 0-400 keV beskik. Die detektors is 15mm in deursnit en besit elk 'n 1,5mm aluminium bedekte natrium jodied kristal. Die detektors is rondom afgeskerm met 'n 20mm loodomhulsel met 'n 11mm loodskerm tussen die detektors.

Die teller beskik oor 'n ingeboude mikrorekenaar met 'n Zilog Z80B 6 MHz sentrale verwerkingseenheid met 128k RAM, 256k ROM en 8k van 'n nie-vlugtige EEPROM. Die teller besit ook 'n ingeboude

toetsbord wat uit 'n numeriese toetsbord, vier sagtesleutels met veranderlike funksies, en 'n kursor kontrole bestaan (Anoniem, (c) 1985).



*LKB Teller*

*Drukker*

*Laboratorium-rekenaar*

FIGUUR 4.1 Die LKB-Wallac Gamma Teller

**BEGINSEL**

Die 1261 Multi-Gamma teller maak gebruik van 'n multi-kanaal analisetegniek om optimale vensterstelling vir alle isotope te verseker. Daar is vasgestelde vensterstellings vir I-125, Co-57, I-129, Cr-51 en 'n dubbelgemerkte venster vir I-125/Co-57. Die stabiliteit en herhaalbaarheid van die resultate word verseker deur streng kontrole te hou oor die resolusie-doeltreffendheid en spektrumkoers-afwyking. Die werkverrigting van die masjien word getoets deur die gebruik van die I-129 toetshouer, wat oor 'n bekende vlak van radio-isotoop aktiwiteit beskik. Gedurende normalisasie, word elke detektor se onderskeie isotoop oorloop-faktore outomaties bereken (Anoniem (c), 1985).

**WERKVERRIGTING**

Die teller is aan 'n laboratorium-rekenaar en drukker gekoppel. Daar word gebruik gemaak van die LKB-Wallac RIA Calc evaluasie program. Al die tel-parameters word geprogrammeer en in die eksterne rekenaar gestoor. Evaluasie van gekollekteerde data en kwaliteitkontroles word deur die rekenaar hanteer. Die Multi-Gamma gebruiker selekteer die spesifieke protokol in die rekenaar en plaas die monsters in die masjien vir telling.

Die teller het ingeboude toetsprogramme wat die instrument outomaties kontroleer asook 'n stel diensprogramme wat gebruik word om foute te diagnoseer en op te los (Anoniem (a), 1985).



#### 4.2.2 DIE ELEKTRONIESE SELTELLERS

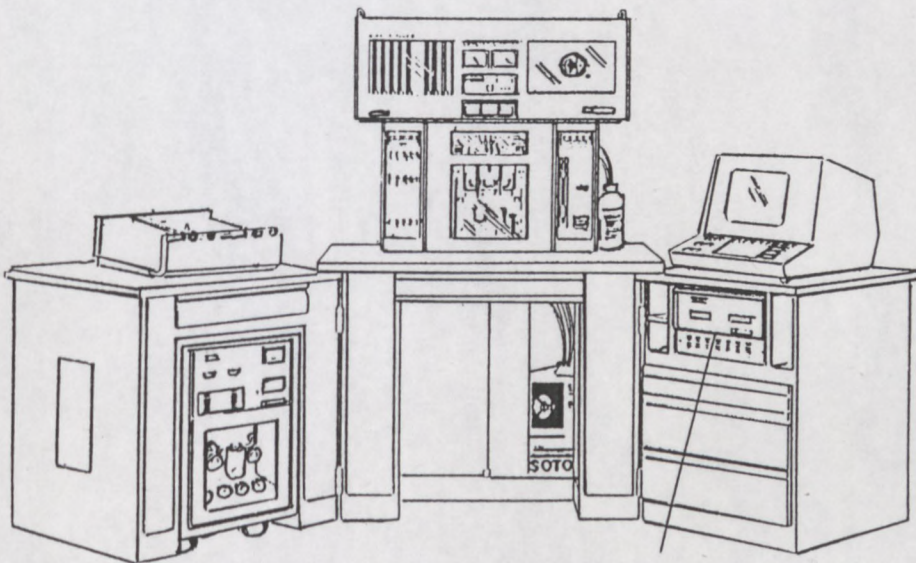
Gedurende die afgelope 25 jaar het laboratoriumontledings dramatiese ontwikkeling ondergaan met die koms van semi- en ten volle geoutomatiseerde analitiese instrumente. Een van die grootste ontwikkelings, van toepassing in hematologie, is sekerlik dié van die elektroniese bloedseltellers. Aanvanklik was die tellers uitsluitlik aangewend om die werklading te verminder, maar dit het gou duidelik geword dat daar vele ander voordele is naamlik:-

- . verbeterde akkuraatheid
- . groter herhaalbaarheid
- . verkryging van addisionele data nie roetinegeweg beskikbaar nie
- . data nie andersins genereerbaar nie (Anoniem(a), 1985).

#### BEGINSEL

Die elektroniese partikelanalise beginsel wat deur Coulter Electronics, Inc. gebruik word vir alle seltellings en metings is gebaseer op die bespeuring en meting van die verandering in die elektriese weerstand wat veroorsaak word deur 'n partikel, wat in 'n geleidende vloeistof gesuspendeer is en 'n klein opening kruis. Dit word "elektronic gating" genoem. Die grootte van die verandering in impuls is direk proporsioneel aan die volume van die partikels. Die hoeveelheid impulse in 'n gemete volume elektroliet is dus direk proporsioneel tot die hoeveelheid selle in die suspensie (Anoniem (a), 1985).

Die Coulter Electronics, Inc maatskappy het tot die gevolgtrekking gekom dat die volume van die partikels nie akkuraat deur die fisiese eienskappe van die instrument bereken kan word nie en derhalwe moet daar gebruik gemaak word van verwysingspartikels met 'n bekende volume. Die metings moet ook gekorrigeer word vir die waarskynlikheid dat daar meer as een partikel tergelyk deur die telopening gaan.



*Teller*

*Stipper en Lugperspomp*

*Drukkerskerm en Drukker*

FIGUUR 4.2

Die Coulter Model "S PLUS"

**WERKVERRIGTING**

Die Coulter Model "S Plus" selteller is 'n ten volle outomatiese, 12 parameter instrument. Heelbloed of 'n vooraf verdunde bloedmonster kan gebruik word vir ontleding. Die hemoglobien (Hb), rooisel(RBS)- en witseltellings(WBS) en die gemiddelde korpuskulêre volume (GKV) word bepaal en die hematokrit (HKT), gemiddelde korpuskulêre hemoglobien (GKH) en gemiddelde korpuskulêre hemoglobien konsentrasie (GKHK) word vanaf hierdie verkrygte waardes bereken. Die teller tel die plaatjies, meet die gemiddelde plaatjie volume (GPV) en bereken die plaatjiekrit (PKT) en die plaatjie distribusie wydte (PDW).

**DIE Hb**

Die Hb word as sianmethemoglobien geles na blootstelling vir 23 sekondes aan 'n gekombineerde Hb/liseringreagens.

**DIE RBS**

'n 1 in 500 verdunning word outomaties in die teller voorberei. Die telling word verkry van die gemiddelde hoeveelheid impulse van die drie telopeninge.

**GKV**

Die GKV word bereken deur die som van die impuls groottes van die rooiselle wat deur twee telopeninge gaan, te deel deur die hoeveelheid impulse.

**HKT**

Die teller bereken die HKT deur die rooiseltelling met die GKV te deel.

**GKH**

Die teller bereken die GKH deur die Hb met die rooiseltelling te

deel.

#### GKHK

Die teller bereken die GKHK deur die Hb met die HKT te deel.

#### WBS

Die teller berei outomaties 'n 1 in 224 verdunning van die bloedmonster in 'n liseringreagens voor. Die verdunning word deur die telopening opgesuig en die gekernde selle met kerne wat bo die onderste drempel deurgaan, word getel. (Net die kerne word getel want die sitoplasma word verwyder).

#### PLAATJIETELLING

Die plaatjies en ander partikels van gelyke volume word in die rooisel- en plaatjielyn deur middel van differensiële "gating" getel. Die verspreiding van hierdie volumes in die 2-20fl reikwydte word gebruik om 'n egalige kurwe te kry, wat ge-ekstrapoleer word na 'n log-normale verspreiding. Die plaatjietelling word dan bereken vanaf die area onder die kurwe.

#### RDW

Hierdie parameter word verkry vanaf die totale rooiselle getel. 'n Onafgebroke veranderlike drempel word geleidelik verlaag om volumes by die 20ste en 80ste persentiel te noteer, waarvan die RDW dan bereken word.

### 4.3 MONSTERVERSAMELING

#### 4.3.1 PERIFERE BLOEDMONSTERS

Bloedmonsters is verkry van gesonde, nuwe skenkers aan die Westelike Provinsie Bloedtransfusiediens. Elke persoon is gevra

om 'n vraelys te voltooi (aansangsel 1 ) aangaande hul eetgewoontes en alkoholgebruik. Nadat hulle aanvaarbaar vir skenking bevind is (aansangsel 3), is 5 ml EDTA bloed van die skenker verkry. Die monster is so spoedig moontlik deur die elektroniese selteller, (Coulter Model "S Plus"), ontleed en 'n perifere bloedsmeer is gemaak en gekleur deur die May Grünwald-Giemsa kleurmetode.

Heelbloed is vir 5 min. teen 3000 rpm gesentrifugeer, die plasma is met 'n pipet afgetrek, in gemerkte buise gesit en saam met die rooiselverduunning teen  $-20^{\circ}\text{C}$  gevries totdat die RIE bepalings gedoen kon word (nooit langer as 1 week nie).

'n 1 in 11 verduunning van heelbloed is gemaak in 'n 0,4% askorbiensuur-oplossing in  $\text{H}_2\text{O}$  vir die bepaling van die rooiselfolaat. Die verduunning is vir 90 min. by kamertemperatuur gelaat sodat die endogene folaatkonjugases die gekonjugeerde pteropoliglutamate na pteromonoglutamate kon omsit. Die askorbiensuur stabiliseer hierdie vrygestelde folaat.

Resultate is ook versamel van pasiënte wat oor die afgelope jaar by Tygerberg Hospitaal met 'n makrositêre anemie gepresenteer het.

#### 4.3.2 Beenmurgmonsters

Beenmurg aspirate is verkry van pasiënte by Tygerberg Hospitaal wat vir nie-hematologiese probleme 'n beenmurgaspirasie ondergaan

het en dié wat met 'n megaloblastiese anemie gepresenteer het om die morfologiese verskil tussen 'n erge megaloblastose en 'n normale aspiraat aan te toon. 'n Klima beenmurg aspiraatnaald (Fig. 4.3) is vir die prosedure gebruik. In volwassenes is 'n goeie beenmurg aspiraatmonster vanuit die agter-heupbeen (posterior ilia spina) verkry. Ongeveer 0,5 ml beenmurg is geaspireer waarvan daar onmiddellik smere gemaak is. Die smere is met die May Grünwald-Giemsa kleurmetode gekleur, getel en met DPX medium onder 'n dekglasie gemonteer.



FIGUUR 4.3                      Klima beenmurg aspiraatnaald.

#### 4.4      KLEURINGS

Die Romanowsky beginsel word byna universeel vir die kleuring van perifere- en beenmurgskyfies gebruik omdat dit uitstekende resultate lewer. Die merkwaardige eienskappe van die kleurstowwe, om subtiele onderskeidings in die kleurskakerings van die granules differensieel te kleur, hang van die twee komponente, asuur B (trimetieltionien) en eosien Y (tetrabromo-fluoresseien), af.

Verskeie faktore kan die kleuring beïnvloed, nl:- kleuringstyd, kleurstof-konsentrasie, die asuur B tot eosien Y verhouding asook die pH van die finale oplossing. Enkele van die Romanowsky kleurings wat gewoonlik gebruik word, is die Jenner-, Giemsa-, Leishman-, Wrights-, Jenner-Giemsa- en May Grünwald-Giemsa kleurmetodes. 'n pH van 6,8 word vir algemene gebruik aanbeveel.

Die meganisme waardeur sekere komponente van die selstruktuur met spesifieke kleurstof-komponente kleur, berus op 'n komplekse wyse waarmee die kleurstowwe op verskillende wyse aan die chemiese interaksie tussen die kleurstof molekules asuur B, in die dimere vorm aan die anioniese molekule, bv. die fosfaat groepe van DNA, bind. Eosien Y, as 'n monomeer, bind aan die kationiese bindingsplekke van die proteïene.

Sodra die kleurstowwe gebind het, vind elektron-interaksie plaas. Eosien Y molekules interkaleer tussen die asuur N molekules en die kompleks word deur 'n stroomeffek saamgehou.

Proteïene van die selkerne, primitiewe sitoplasma en basofiliese granules, word deur die basiese kleurstof, asuur B gekleur. Die eosinofiliese granules in die sitoplasma word deur die suur kleurstof, eosien Y, gekleur (Dacie, 1990).

#### 4.4.1 May Grünwald en Giemsa-reagens

Beide kleurstowwe is kommersieel beskikbaar en word elke dag voor gebruik vars opgemaak.

**Buffer**

Fosfaat buffer (Sörensen) pH 6,80

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  23,11 g

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  23,37 g

Maak op tot 5 liter met gedistilleerde  $\text{H}_2\text{O}$

**May Grünwald**

75 ml May Grünwald Kleuroplossing

75 ml fosfaat buffer pH, 6,8

Die oplossing is goed gemeng en deur No. 1 Whatman papier gefiltreer.

**Giemsa**

20 ml Giemsa Kleuroplossing

130 ml fosfaat buffer 6,8

Die oplossing is goed gemeng en deur No. 1 Whatman papier gefiltreer.

**Metanol**

"Solvent" metanol is gebruik.

**4.4.2 KLEURMETODE**

Die skyfies is fikseer in "Solvent" Metanol vir 15 min en in May-Grünwald oplossing vir 8 minute geplaas.

Daarna is die skyfies in die Giemsa oplossing vir 15 minute gekleur. Differensiasie het geskied in die fosfaatbuffer en die die skyfies is toegelaat om droog te word. DPX is as monteermidium gebruik.



#### 4.5 ESSAI VAN VITAMIEN B<sub>12</sub>, SERUM- EN ROOISELFOLAATVLAKKE

BIO RAD Quantaphase<sup>R</sup> B<sub>12</sub>/folaat Radio-immuun essai is gebruik vir die gelyktydige bepaling van die serum vitamien B<sub>12</sub>-, serumfolaat- en rooifolaaatvlakke.

##### 4.5.1 DIE BEGINSSEL VAN DIE RIE ESSAI

Die radio-immuun essai is uitgevoer deur 'n serum of plasmamonster by 'n gemerkte C<sup>14</sup>-57 vitamien B<sub>12</sub> en I-125 folaat in die teenwoordigheid van ditiotrietol (DTT) te voeg. Die mengsel is daarna gekook om die endogene bindingsproteïene te inaktiveer en al die verskillende vitamien B<sub>12</sub> vorme na siankobalamien om te sit. Gedurende die kookproses stabiliseer die DTT die gereduseerde folaat derivate. Geïmmobiliseerde, affiniteit-suiwer vark intrinsieke faktor (IF) en folaat bindingsproteïene is na die kookproses by die afgekoelde mengsel gevoeg wat dan met die vitamien B<sub>12</sub> en folaat bind. Hierdie stadium is gereguleer en gebuffer om 'n pH van 9.2 te hê. Die mengsel is daarna vir 1 uur by kamertemperatuur geïnkubeer.

Op grond van hul relatiewe konsentrasies, kompeteer die endogene en radio-aktiewe vitamine vir die beperkte hoeveelheid bindingsplekke tydens die inkubasietydperk. Na inkubasie word die mengsel gesentrifugeer en gedekanteer. Die ongebonde vitamine in die supernatant word dus verwyder. Die sediment bestaan uit gemerkte en ongemerkte vitamien wat aan die geïmmobiliseerde bindingsproteïene gebind het, waarvan die radio-

aktiwiteit op die gammateller getel word (Anoniem (b), 1989).

'n Standaardkurwe is opgestel deur van die voorafgekalibreerde vitamien B<sub>12</sub> en folaat standarde gebruik te maak. Die konsentrasie vitamien B<sub>12</sub> en folaat van die pasiëntmonster word volgens die standaardkurwe bepaal (Anoniem (b), 1989).

#### 4.5.2 GEHALTEBEHEER

Kontrolemonsters met wisselende waardes (baie laag, laag, medium en hoog) is met elke toets opgesit. Hierdie kontrolemonsters is kommersieel beskikbaar van verskillende maatskappye.

#### 4.5.3 TOETSKOMPONENTE

- . Vitamien B<sub>12</sub>/folaat sero standaard

4 ml vitamien B<sub>12</sub>/folaatvry HSA basis met < 0,5% natrium asied

- . Vitamien B<sub>12</sub>/folaat standarde

5 buise wat elk vitamien B<sub>12</sub> (siankobalamien) en PGA (pteroïelglutamiensuur) in HSA basis met bevat < 0,5% natrium asied met vlakke van:

- . Vitamien B<sub>12</sub>: pg/ml: 100 250 500 1000 2000

- . Folaat: ng/ml: 1,0 2,5 5,0 10 20

- . Mikrokorrel reagentse

10,5 ml affiniteit-suiwer, vark IF suspensie en folaat bindingsproteïene wat kovalent aan die polimeerkorrels gekoppel is, in 'n fosfaatbuffer wat < 0,5% natriumasied

bevat.

. **Blanko reagens**

3 ml polimeerkorrel suspensie in 'n fosfaatbuffer wat < 0,5% natriumasied bevat.

. **Ditiotreitol (DTT)**

1 buis geliofiliseerde DTT

. **Vitamiën B<sub>12</sub>/folaat indikator (spoorder)**

100 ml < 2  $\mu$ Ci radio-aktiewe vitamien B<sub>12</sub> (Co-57) as siankobalamien en < 8  $\mu$ Ci radio-aktiewe folaat (I-125) in 'n 0,05M boraatbuffer met 10  $\mu$ g/ml kaliumasianied.

. **Rooiselfolaat verdunningsvloeistof**

10 ml geliofiliseerde, folaatvry HSA basis met < 0,5% natriumazied.

. **Askorbiensuur**

1 gram askorbiensuur

#### 4.5.4 ESSAI PROSEDURE

##### Voorbereiding van reagense

. **Indikator (working tracer)**

DTT is voorberei deurdat 10ml gedistilleerde H<sub>2</sub>O by die indikator gevoeg is.

##### Essai stappe

1. Alle reagense en monsters is toegelaat om kamertemperatuur te bereik.
2. 12 x 75 mm Polipropieleen buise vir standarde, kontroles en monsters is ooreenkomstig genommer.

3. 200  $\mu$ l van elk van die Standaard, Kontrole, en Pasiënt monster is by die toepaslike buise gevoeg.
4. 200  $\mu$ l van die Zero Standaard is by die blanko buise gevoeg.
5. 1 ml van die voorbereide Indikator (Working Tracer) is by alle buise gevoeg waarna alle buise gevorteks is.
6. Al die buise is met aluminiumfoelie bedek en vir 20 minute gekook waarna dit in 'n koue waterbad geplaas is om af te koel.
7. 100  $\mu$ l Mikrokorrel reagens is by alle buise behalwe die blanko buise gevoeg.
8. 100  $\mu$ l Blanko reagens is by die blanko buise gevoeg waarna alle buise gevorteks is.
9. Alle buise is vir 1 uur by kamertemperatuur geïnkubeer ( $\pm 20^{\circ}$ )
10. Alle buise is vir 10 minute teen 1500 x g gesentrifugeer waarna die supernatant onmiddellik verwyder is en die buise op handdoekpapier drooggedep en dadelik regop geplaas is.
11. 1 ml Indikator (Working Tracer) is by die totale telling buise gevoeg.
12. Alle buise is vir 1 minuut in die gamma teller getel.

Die teller is aan die laboratoriumrekenaar gekoppel en alle verwerkings en afleidings van die tellings is outomaties deur middel van die RIA-Calc program bereken. Die Log-Logit verwerking is gebruik om die kurwe op te stel.

#### 4.6 RESULTATE

Die volbloedtellings sowel as die serum-, rooifolaat en vitamien B<sub>12</sub> resultate word in tabelvorm voorgestel.

Statistiese analise is vanaf die tabelle verkry om vergelykings van die verskillende bevolkings-groepe te vergemaklik sowel as om die verkrygte resultate met die abnormale waardes te vergelyk.

Ligmikroskoopfotos, geneem van normale, sowel as abnormale bloed en beenmurg om visueel die verskil te demonstreer wat die effek van vitamien B<sub>12</sub>- of folaattekort op die bloed en beenmurg het, is ingesluit.

Vanweë 'n tekort aan nuwe skenkers by die verskillende Bloedtransfusieklinieke in die Kaapse Skiereiland, was die aantal Bantoe mans wat wel aangemeld het, onvoldoende om 'n statistiese, aanvaarbare normale waarde te kon bepaal en word dus net vir afronding by die studie ingesluit.

Van die tabelle kan dit gesien word dat sommige resultate buite die normale reikwydte val (Dacie & Lewis, 1990). Dit kan egter verwag word aangesien verwysingswaardes eie is aan die groep waaruit die lesings gemaak word.

Normale hematologiese waardes word volgens Dacie en Lewis as sulks weergegee (Dacie & Lewis, 1990).

#### Perifere Coulter-teller bloedtellings

Witseltelling (WBS)		4	- 11 x 10 <sup>9</sup> /l
Rooiseltelling (RBS)	Mans (M)	4,5	- 6,5 x 10 <sup>12</sup> /l
	Vroue (V)	3,8	- 5,8 x 10 <sup>12</sup> /l
Hemoglobien (Hb)	M	13,0	- 18,0 g/dl
	V	11,5	- 16,5 g/dl
Hematokrit (Hkt)	M	40	- 54%
	V	37	- 47%
Plaatjietelling		150	- 400 x10 <sup>9</sup> /l
Gemiddelde korpuskulêre hemoglobien (GKH)		27	- 32 pg
Gemiddelde korpuskulêre hemoglobien konsentrasie (GKHK)		30	- 36%
Gemiddelde korpuskulêre volume (GKV)		76	- 96 fl
Rooisel distribusie wydte RDW		12	- 16

Die vitamien B<sub>12</sub>, serum- en rooifselfolaat waardes is volgens die metode van Bio-Rad se Quantaphase B<sub>12</sub>/folaat Radio- essai as sulks aangetoon.

Vitamien B <sub>12</sub> :	Gemiddeld:	537 pg/ml
(Vit.B <sub>12</sub> )	Reikwydte:	165 - 1603 pg/ml;
Serum folaat:	Gemiddeld:	7,1 ng/ml
(SFOL)	Reikwydte:	1,5 - 27,3 ng/ml
Rooifselfolaat:	Gemiddeld:	374 ng/ml
(R/SFOL)	Reikwydte:	134 - 855 ng/ml

Daar is geen onderskeid tussen ras en geslag gemaak nie.

#### 4.6.1 COULTER-TELLER "S PLUS"- EN RIE RESULTATE

##### 4.6.1.1 BLANKE MANS (n=38)

TABEL 4.1 Coulter waardes van gezonde Blanke Mans.

	J*	WBS	RBS	Hb	Pl	HKT	GKV	GKH	GKHK	RDW
		x10 <sup>9</sup> /l	x10 <sup>12</sup> /l	g/dl	x10 <sup>9</sup> /l	g/dl	fl	pg	%	
1	19	5	4.87	14.3	126	43.5	89.2	29.4	32.9	13.4
2	19	4.8	5.36	15.6	232	48.5	90.4	29.1	32.2	13.3
3	20	3.8	5.09	14.7	186	44.4	87.1	28.8	33.1	14.1
4	20	4.4	4.54	13.7	171	42.1	92.5	30.	32.6	13.4
5	19	4.4	4.48	13.6	194	41.2	91.8	30.4	33	14.8
6	19	5	4.65	13.8	209	41.7	89.6	29.7	33.2	13.8
7	42	8.1	4.83	15.2	178	45	93.2	31.5	33.8	17.7
8	31	3.8	4.87	16	201	46.8	96.2	32.9	34.2	16.8
9	32	9.1	4.51	16.1	163	47.8	106	35.6	33.6	15.3
10	29	11	5.11	16	182	47.1	92.3	31.4	34	18.5
11	27	9.7	4.73	14.4	175	42.	89.9	30.5	33.9	19
12	31	5.2	4.54	13.7	203	41.4	91.3	30.2	33	18
13	25	6.4	4.2	13.9	198	40	95.1	33.1	34.8	17.9
14	23	4.	3.93	12.2	134	35.6	89.5	31.5	35.3	17.1
15	23	6.1	4.77	15.8	168	44.3	92.9	31.4	33.8	17.8
16	29	13	4.52	14.3	212	43.4	95.8	31.6	33	12.9
17	35	6	4.96	15.3	136	45.8	92.2	30.9	33.5	15.1
18	30	5.8	3.54	11.2	253	33.1	93.7	31.7	33.8	13.7
19	27	6.8	4.62	15.3	194	44	95.3	33.2	34.9	15.2
20	29	6.3	5.11	15.3	269	44.2	86.4	29.9	34.6	12.8
21	25	7.7	4.48	14	260	42.1	93.9	31.3	33.2	14.9
22	43	6.5	4.48	14.2	214	42.4	94.6	31.8	33.6	15.1
23	24	9	5.23	15.7	255	45.9	87.6	30.1	34.3	16.1
24	28	5.7	4.56	15	158	42.7	93.8	32.9	35.1	16.6
25	22	5.8	4.8	15.8	178	45.1	94	31.1	35.1	16.9
26	37	8.7	4.91	15.2	326	45.7	93.1	31.1	33.3	18.1
27	30	7.2	4.96	15	342	45.1	91.1	30.4	33.3	15.7
28	43	7.3	4.81	15.5	357	48.5	89.5	29.6	34.5	15.3
29	29	5.8	4.98	14.6	257	43.7	87.8	29.3	33.4	12.8
30	41	4.7	4.56	14.2	296	42.3	92.7	31.1	33.5	12.5
31	43	8.7	5.18	15.7	242	46.6	89.8	30.3	33.7	13.3
32	19	6.3	5.35	14	231	45.3	84.6	26.2	31	16.3
33	18	4.5	5.45	15.4	240	48.3	88.5	28.3	32	13.2
34	19	5.4	4.55	15.2	226	45.1	99.3	33.6	33.8	15.3
35	19	5	5.35	14.3	327	46.4	86.6	26.7	30.8	14.2
36	19	5.8	4.93	13.9	367	45.2	91.7	28.1	30.7	15.2
37	19	6	4.49	14.2	258	48	87.3	29.1	33.1	14.3
38	20	5.7	4.84	14.5	262	44	89	29.4	33.1	13.5

\*Ouderdom



TABEL 4.2

Statistiese analise van Coulter waardes in Tabel 4.1

	J*	WBS	RBS	Hb	Pl	HKT	GKV	GKH	GKHK	RDW
		$\times 10^9$ /l	$\times 10^{12}$ /l	g/dl	$\times 10^9$ / l	%	fl	pg	%	
GEMI	27	6.4	4.8	14.7	225.8	44.1	91.7	30.6	33.4	15.3
SDx1		2	0.4	1	61.7	3.2	4	1.9	1.1	1.9
SDx2		4	0.8	2	123.7	6.4	8	3.8	2.2	3.8
MAKS	43	13	5.45	16.1	367	48.5	106	35.6	35.3	19
MIN	18	3.8	3.45	11.2	126	33.1	84.6	26.2	33.1	12.5

\* Ouderdom

Volgens Tabel 4.2 het die oënskynlik gesonde blanke mans 'n gemiddelde ouderdom van 27 jaar . Die gemiddelde WBS is  $6,4 \times 10^9/l$  en wissel tussen  $3,8$  en  $13,0 \times 10^9/l$ . Die RBS wissel tussen  $3,45$  en  $5,45 \times 10^{12}/l$  met 'n gemiddelde van  $4,8 \times 10^{12}/l$  Die Hb toon 'n gemiddelde van  $14,7$  g/dl met 'n maksimum van  $16,1$  en 'n minimum van  $11,2$  g/dl. Die plaatjietelling wissel tussen  $126$  en  $367 \times 10^{12}/dl$  met 'n gemiddelde van  $225,8 \times 10^{12}/l$ . Die HKT wissel tussen  $33,1$  en  $48,5$  met 'n gemiddelde van  $44,1\%$ . Die GKV toon 'n minimum waarde van  $84,6$ , 'n maksimum van  $106$  en 'n gemiddelde van  $91,7$  fl. Die gemiddelde GKH is  $30,6$  met 'n minimum van  $26,2$  en 'n maksimum waarde van  $35,6$  pg. Die GKHK toon 'n minimum van  $33,1$ , 'n maksimum van  $35,3$  en 'n gemiddelde waarde van  $33,4\%$ .

TABEL 4.3 Vit.B<sub>12</sub>, Serum en Rooiselfolaat resultate van Bl.Mans

	Ouderdom	VIT.B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
No.	Jaar	pg/ml	ng/ml	ng/ml
1	19	378.3	3.4	199.9
2	19	538.5	2.7	193.3
3	20	339.2	3.4	134.1
4	20	954.8	7.1	180.3
5	19	159.1	9.2	200.6
6	19	502.2	6.2	182.7
7	42	800.6	3.5	145.1
8	31	386.3	5.8	130.4
9	32	302.6	3.2	98.4
10	29	329.9	6.1	160
11	27	230.3	2.4	193.3
12	31	565.5	3.6	172
13	25	518.4	6.3	348.5
14	23	539	1.3	154.8
15	23	382.9	2.3	109.8
16	29	270	2.9	123.6
17	35	374.7	6	144.3
18	30	292.1	1.7	205.7
19	27	208.9	7.2	125.3
20	29	327.2	3.3	199.8
21	25	410.3	2.7	188.3
22	43	570.5	4.4	240
23	24	771.1	7.1	412.7
24	28	534.2	3	138.3
25	22	537.4	2.6	192.2
26	37	510.7	6.4	167.6
27	30	338.1	3.3	133.1
28	43	597.4	2.6	114.6
29	29	270.6	7	200.3
30	41	158	9.1	198.5
31	43	491.2	6.6	206.6
32	19	953.7	6.9	179.2
33	18	244.7	2.3	130.9
34	19	484.3	3.1	177.4
35	19	504.7	3.8	130.5
37	19	248.3	3.1	127.2
38	20	533.1	3.6	122.1

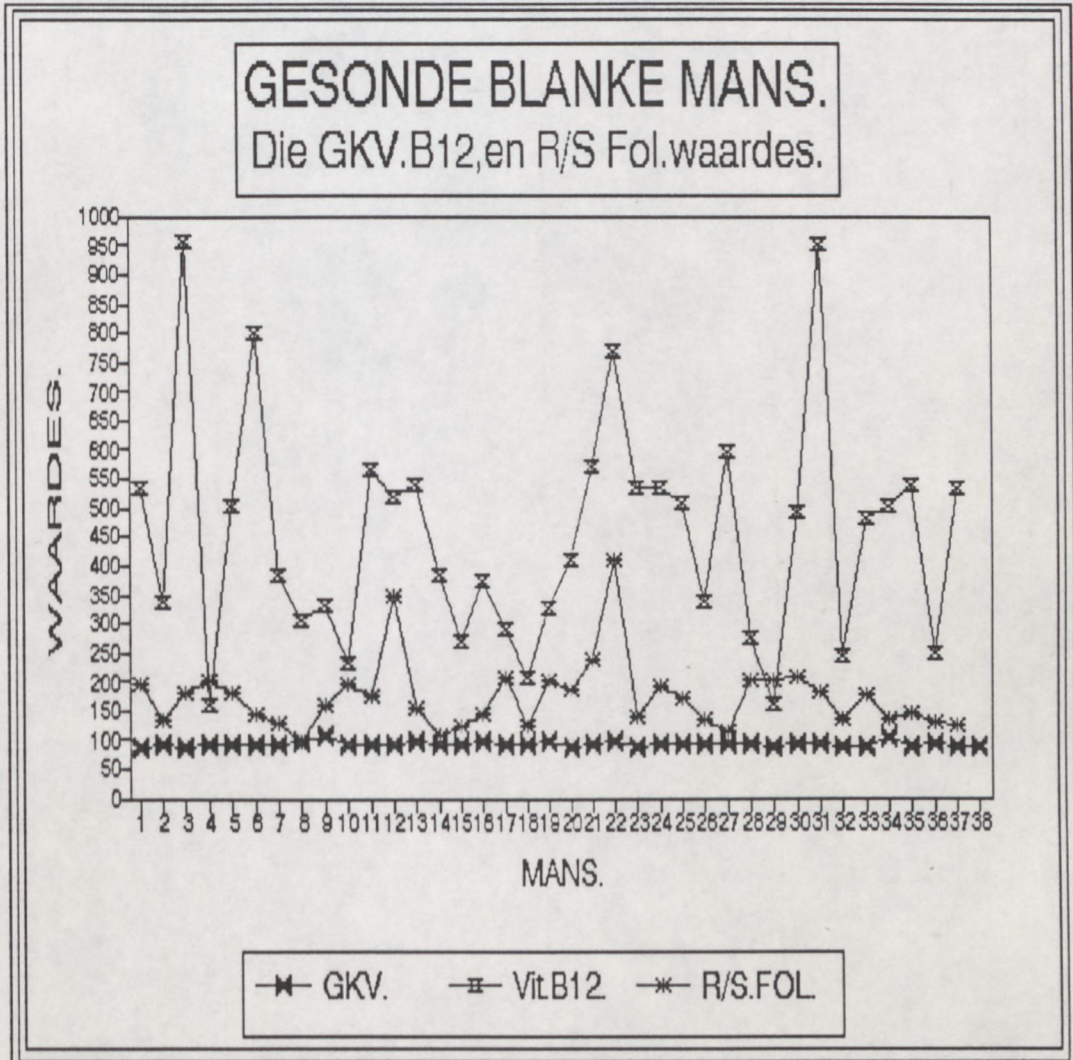
TABEL 4.4 Statistiese analise van die Vit.B12,serum en Rooiselfolaat waardes in tabel 4.3

	OUDERDOM	VIT.B12	S.FOL.	R/SEL FOL.
	JAAR	pg/ml.	ng/ml.	ng/ml.
GEMID.	27.1	449.8	4.8	173.8
SDx1		193.9	2.1	60.5
SDx2		387.8	4.2	412.7
MAKS.	43	954.8	9.2	825.4
MIN.	18	158	1,3	98.4
REIKWYDTE.		170,33	2.7	92,4
		tot	tot	tot
		991,14	10,36	298,15

Volgens Tabel 4.4 toon die Blanke Mans 'n gemiddelde Vit.B<sub>12</sub> waarde van 449,9 pg/ml. Die standard afwyking is 194, die minimum 158 en 'n maksimum waarde van 954,8 pg/ml.

Die serum folaat toon 'n gemiddelde waarde van 4,4 ng/ml, 'n standard afwyking van 2,1, 'n minimum van 1,3 en 'n maksimum waarde van 9,2 ng/ml.

Die rooiselfolaat toon 'n standard afwyking van 60,5 met 'n gemiddelde van 173, 'n minimum van 98,4 en 'n maksimum waarde van 412,7 ng/ml.



FIGUUR 4.4

Grafiese voorstelling van die vergelyking tussen die GKV, Vit. B12 en Rooiselfolaat resultate van die Blanke Mans

Die grafiek toon wisselende waardes van Vit. B12 en rooiselfolaat met geringe korrelasie tussen die resultate.

## 4.6.1.2 BLANKE VROUW (n=37)

TABEL 4.5 Coulter-teller resultate van gesonde Blanke Vroue.

No	J *	WBS $\times 10^9/l$	RBS $\times 10^{12}/l$	Hb g/dl	Pl $\times 10^9/l$	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
1	44	10	4.4	13.3	288	40.9	91.3	29.8	32.6	12.9
2	23	5.5	4.13	12.9	177	38.3	92.7	31.3	33.7	12.3
3	33	8.3	4.23	13.8	302	41.3	97.4	32.5	33.3	13.3
4	24	4.9	4.44	13.5	281	40.6	91.4	30.4	33.2	12.6
5	31	5.4	3.73	11.6	285	34.5	92.5	31.1	33.6	15.4
6	31	7.9	4.08	12.9	241	39.2	96	31.6	32.9	12.4
7	51	10	4.53	14	140	41.3	91.1	31	34	13.6
8	20	5.7	4.72	14.7	215	44.6	94.5	31.1	32.9	14.1
9	19	4.1	4.34	12.8	204	39.2	90.3	29.4	32.6	14.8
10	47	5	3.19	10.5	212	32.1	100	32.8	32.6	15
11	37	5.1	4.28	13.2	145	39.9	93.2	30.8	33.1	17.3
12	21	8.2	4.18	12.6	227	38.6	92.4	30.1	32.5	17.9
13	58	4.9	3.69	11.9	236	34.4	93.3	32.1	34.4	17.6
14	31	7.2	4.04	12.2	189	36.2	89.7	30.2	33.7	18.1
15	23	9.5	4.39	13.3	218	38.9	88.5	30.3	34.2	12.4
16	23	5.7	4.17	13.5	207	43.3	104	32.5	31.3	12.2
17	20	5.5	3.88	12.8	159	37.9	103	32.9	32.2	12.4
18	23	5	4.54	13.8	164	42.6	93.9	30.4	32.4	14.1
19	25	6.1	4.87	10.1	260	31	83.6	29.8	32.7	13.7
20	42	6.9	4.2	13.7	202	40.2	95.7	32.7	34.2	14.2
21	32	9.3	4.55	14.3	268	41.3	90.7	31.5	34.7	15.7
22	21	8.2	4.1	12.7	323	37.3	91.1	31.1	34.1	15.4
23	20	8.5	4.22	13.2	307	38.3	90.7	31.2	34.4	15.6
24	31	4.5	4.46	14.2	213	41.5	93.1	31.9	34.3	13.5
25	20	6.4	3.92	12.4	356	38.5	87.5	28.1	32.1	15.9
26	22	7.2	3.93	12.9	252	35.1	89.1	30.2	33.9	13.2
27	29	6.2	4.7	13.3	248	40.5	86.3	28.4	32.9	13.7
28	47	9.3	5.11	16.5	287	48.9	95.6	32.2	33.7	15.1
29	36	3.8	3.97	12.8	321	35	97	32.6	33.6	13.4
30	24	5	4.61	13.8	288	41.3	89.6	29.8	33.3	12.9
31	19	7.9	4.52	12.4	233	38.6	85.4	27.5	32.2	15.6
32	19	14	4.41	12.2	445	38.2	86.6	27.7	32	13.9
33	19	5.9	4.68	13.3	239	43.6	93.1	28.4	30.5	16.9
34	19	4.5	4.21	13.1	334	40.1	89.5	27.9	33.1	15.1
35	18	7.6	5.3	14	285	41.5	87.9	29.1	32.5	14.7
36	19	5.1	4.66	12	234	40	85.8	25.8	30.1	13.9
37	19	5.6	4.54	12.3	349	39.9	87.8	27.1	30.9	17.1

\*Ouderdom.

TABEL 4.6

Statistiese analise van Coulter-teller resultate in Tabel 4.5

	J*	WBS	RBS	Hb	Pl	HKT	GKV	GKH	GKHK	RDW
		$\times 10^9/l$	$\times 10^{12}/l$	g/dl	$\times 10^9/l$	%	fl	pg	%	
GEMID	28	6.8	4.3	13	252.3	39.3	91.9	30.4	33	14.5
SDx1		2.1	0.4	1.1	64.8	3.4	4.6	1.8	1.1	1.7
SDx2		4.2	0.8	2.2	129.6	6.8	9.2	3.6	2.2	3.4
MAKS	58	14	5.3	16.5	445	48.9	103.8	32.9	34.7	18.1
MIN	18	3.8	3.2	10.1	140	31	83.6	25.8	30.1	12.2

\* Ouderdom

Volgens Tabel 4.6 het die oënskynlik gesonde Blanke Vroue 'n gemiddelde ouderdom van 28 jaar getoon. Die jongste is 18 en die oudste 58 jaar. Die gemiddelde WBS is 6,8 met 'n minimum van 3,8 en 'n maksimum van 14,0  $\times 10^9/l$ . Die RBS toon 'n gemiddelde van 4,3, met 'n minimum van 3,2 en 'n maksimum waarde van 5,3  $\times 10^{12}/l$ . Die Hb toon 'n gemiddelde waarde van 13,0 met 'n minimum van 10,1 en 'n maksimum waarde van 16,5 g/dl. Die gemiddelde plaatjietelling is 252,3 met 'n minimum van 140 en 'n maksimum waarde van 445  $\times 10^9/l$ . Die HKT toon 'n minimum van 31, 'n maksimum van 48,0 en 'n gemiddelde waarde van 39,3%. Die GKV toon 'n gemiddelde van 91,9, 'n minimum van 83,6 en 'n maksimum waarde van 103,8 fl. Die GKH toon 'n minimum van 25,8, 'n maksimum van 32,9 en 'n gemiddelde waarde van 30,4 pg. Die GKHK toon 'n gemiddelde waarde van 33%, met 'n minimum van 30,1 en 'n maksimum waarde van 34,7% .

TABEL 4.7 Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat  
resultate van Blanke Vroue

No.	Ouderdom Jaar	VIT B12 pg/ml	S.FOL ng/ml	R/S.FOL ng/nl
1	44	326.7	4.4	121.3
2	23	212.7	2.8	174.2
3	33	278.7	7.1	194.5
4	24	1044.8	5.7	198.9
5	31	314.1	6.5	265.1
6	31	320.1	3.1	171.4
7	51	630.9	2.1	171.1
8	20	373.1	13.5	234.4
9	19	482.8	2.8	318.9
10	47	211.6	2.7	173.1
11	37	776.3	4.6	255.8
12	21	277.6	6.9	193.4
13	58	639	4.2	320.3
14	31	200	1.2	97.1
15	23	639.2	5.6	172.4
16	23	719.6	1.4	107.6
17	20	313.8	3.7	177.5
18	23	1054.9	5.6	197.6
19	25	312.9	6.4	266
20	42	319.2	3	179.3
21	32	938.9	5.2	168.1
22	21	629.8	1.9	170.1
23	20	240.9	5.7	196.6
24	31	636.2	2.9	126.1
25	20	435.6	1.8	160
26	22	371.9	15.6	233.3
27	29	491.2	5.3	235.5
28	47	340	3.7	127.5
29	36	321.3	2.2	98.1
30	24	659	5.3	162.2
31	19	481.7	2.7	317.8
32	19	379.3	4.7	197.6
33	19	343.4	2.7	129.7
34	19	237.7	1.9	217.2
35	18	459.1	5.7	236.1
36	19	362.2	4.1	268.8
37	19	336.7	2.1	166.2

TABEL 4.8

Statistiese analise van Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat resultate in Tabel 4.7

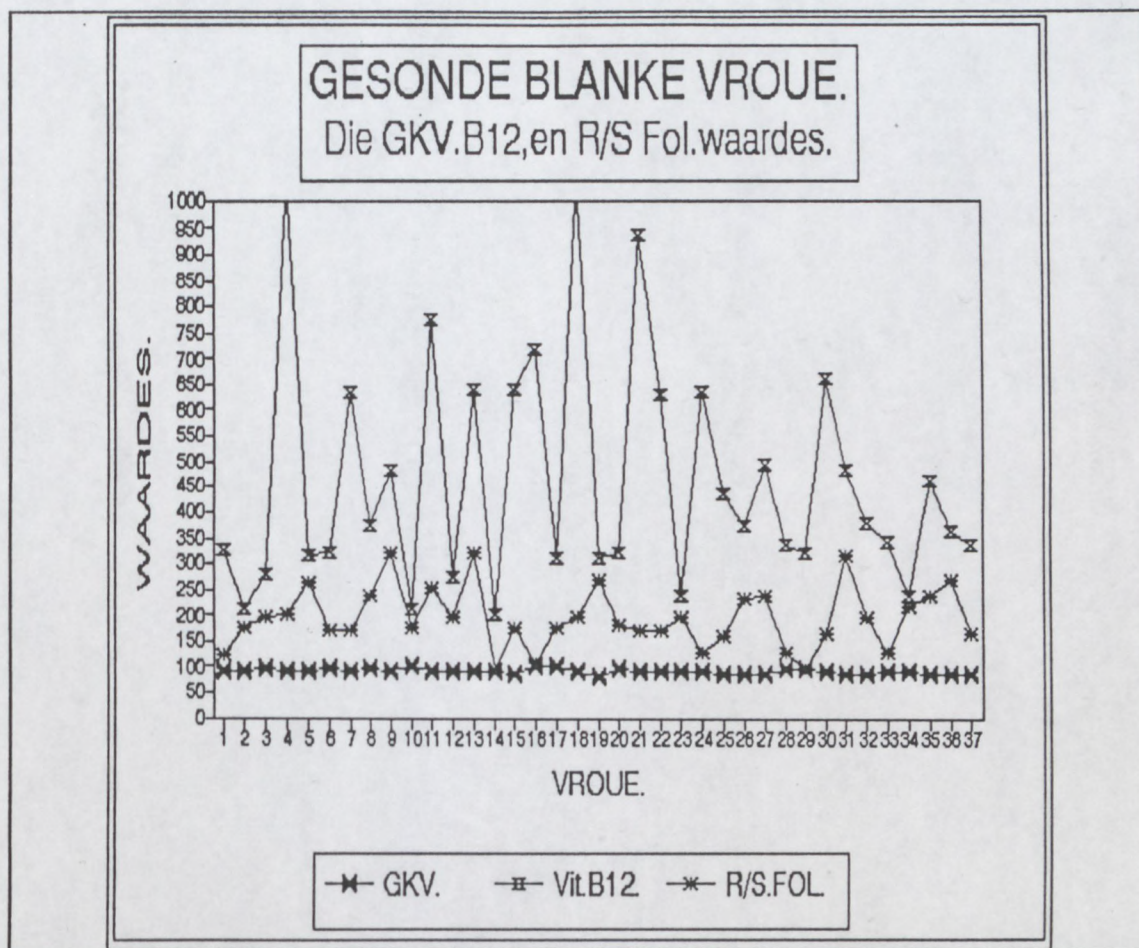
	OUDERDOM.	VIT.B <sub>12</sub> .	S.FOL	R/S.FOL.
	JAAR.	pg/ml.,	ng/ml.	ng/ml.
GEMID.	28	462.5	4.5	194.6
SDx1		227.1	2.9	58.9
SDx2		454.2	5.9	117.8
MAKS.	58	1054.9	15.6	320.3
MIN.	18	200	1.2	97.1
REIKWYDTE.		169,34	1.3	99,96
		tot	tot	tot
		1027,27	10,6	366,85

Volgens Tabel 4.7 toon die Blanke Vroue 'n gemiddelde vitamien B<sub>12</sub> waarde van 462,5pg/ml. Die standaardafwyking is 227,1 met 'n minimum van 200 en 'n maksimum waarde van 1054pg/ml.

Die serumfolaat het 'n gemiddelde waarde van 4,5ng/ml getoon. Die standaardafwyking is 2,9 met 'n minimum van 1,2 en 'n maksimum waarde van 15,6ng/ml.

Die rooiselfolaat waarde het 'n gemiddelde van 194,6ng/ml. getoon. Die standaardafwyking is 58,9 met 'n minimum van 97.1 en 'n maksimum waarde van 329,3ng/ml.





FIGUUR 4.5

Grafiese voorstelling van die vergelyking tussen die GKV., Vitamien B12, Serum en roiselfolaat resultate van die Blanke Vroue.

Grafiek 4.14 toon min korrelasie tussen die GKV., vitamien B<sub>12</sub> en roiselfolaat vlakke.

## 4.6.1.3 Kleurling MANS (n=31)

TABEL 4.9 Coulter-teller resultate van  
gesonde Kleurling Mans.

No	J*	WBS x10 <sup>9</sup> / l	RBS x10 <sup>12</sup> / l	Hb g/dl	Pl x10 <sup>9</sup> / l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
1	39	12.7	4.39	13.9	277	40.1	88.3	30.4	33.5	14.1
2	38	12.5	4.41	13.4	312	39.4	89.3	30.5	34.1	13.9
3	33	4.7	4.83	14.3	312	42.1	87.1	29.7	34.1	13.3
4	27	12.5	5.09	14.8	326	45.9	90.1	29	32.3	13.1
5	30	6.3	4.66	14.9	142	44.2	94.7	32	33.8	17.4
6	22	5.9	4.26	13.5	177	40.1	94.2	31.8	33.7	16.9
7	29	6.1	4.47	14.7	198	43.4	91.6	31	33.9	18.5
8	28	6.6	4.37	13.1	185	39.2	89.9	30.1	33.5	18.6
9	32	10.8	4.45	14.7	253	43	96.6	33	34.1	16.5
10	26	5.7	4.81	13.7	194	42	87.3	28.4	32.5	20
11	38	3.7	4.42	14.1	167	42.6	96.3	32	33.2	16.7
12	29	3.9	5.14	14.9	135	45.5	88.5	28.9	32.6	20.2
13	31	6.32	4.88	14.3	165	43.8	89.9	29.3	32.6	19.4
14	40	6.1	4.91	14.6	162	43.3	88.3	29.7	33.6	20.3
15	20	6.8	5.64	15.8	228	49.2	87.3	28.8	32.1	16.9
16	23	6.1	4.82	15.3	316	44.2	91.4	31.5	34.3	14.5
17	23	7.1	4.1	13.6	385	40	89.5	30.1	33.5	15.7
18	45	3.6	4.79	15.2	239	44.2	92.3	31.8	34.5	16.5
19	35	3.34	4.74	13.6	191	41.4	86.9	28.7	33.1	16.1
20	27	6	5.05	15	253	44.8	88.7	29.6	33.4	12.9
21	25	5.5	5.11	15.7	285	47.1	92.2	30.8	33.3	13.2
22	25	6.6	4.12	12.8	179	39.5	98.9	30.1	32.4	15.8
23	31	9.1	5.42	15.5	345	48.6	92.1	29.6	33.6	16.1
24	21	5.6	4.61	13.3	299	42.1	83.1	29.8	33.4	15.1
25	31	7.2	5.21	15.3	189	46.6	98.4	31.1	35.5	14.7
26	28	6.6	4.87	12.6	220	39.2	93.1	30.2	32.1	13.6
27	35	8.1	5.01	13.2	172	42.5	91.3	31.2	34.1	15.1
28	31	5.1	4.73	14.1	225	42.1	85.9	29.3	33.7	16.2
29	38	4.9	4.8	14.2	341	42.8	88.8	29.8	33.6	13.9
30	21	5.5	4.51	12.5	155	37.5	89.3	30.2	32.9	14.6
31	26	5.9	4.88	13.9	356	42.7	84.1	29.9	33.3	15.2

\*Ouderdom

TABEL 4.10

Statistiese analise van Coulter-teller resultate  
in Tabel 4.9

	J*	WBS x10 <sup>9</sup> /l	RBS x10 <sup>12</sup> /l	Hb g/dl	Pl x10 <sup>9</sup> / l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
GEMID	30	6.7	4.8	14.2	238.2	42.9	90.5	30.3	33.4	15.9
SDx1		2.5	0.4	0.9	72.2	2.8	3.8	1.1	0.8	2.2
SDx2		5	0.8	1.8	144.4	3.6	7.6	2.2	1.6	4.4
MAKS	45	12.7	5.6	15.8	385	49.2	98.9	33	35.5	20.3
MIN	21	3.3	4.1	12.5	135	37.5	83.1	28.4	32.1	12.9

\*Ouderdom

Volgens Tabel 4.10 het die oënskynlik gesonde Kleurling Mans 'n gemiddelde ouderdom van 30 jaar. Die jongste is 21 en die oudste is 45jaar. Die gemiddelde WBS is 6,7 met 'n minimum van 3.3 en 'n maksimum waarde van 12,7 x 10<sup>9</sup>/l Die RBS het 'n minimum van 4,1, 'n maksimum van 5,6 en 'n gemiddelde waarde van 4,8 x 10<sup>12</sup>/l getoon. Die Hb se gemiddelde waarde is 14,2 met 'n minimum van 12,5 en 'n maksimum van 15,8 g/dl. Die plaatjietelling het 'n gemiddelde waarde van 238,2 x 10<sup>12</sup>/l met 'n minimum van 135 en 'n maksimum waarde van 385 x 10<sup>12</sup>/l getoon. Die gemiddelde HKT is 42,9 met 'n minimum van 37,5 en 'n maksimum waarde van 49,2%. Die GKV het 'n gemiddelde van 90,5 , 'n minimum van 83,1 en 'n maksimum van 98,9 fl getoon. Die GKH het 'n minimum van 28,4 , 'n maksimum van 33 en 'n gemiddelde waarde van 30,3 pg getoon. Die gemiddelde GKHK is 33,4 met 'n minimum van 32,1 en 'n maksimum van 35,5%.

TABEL 4.11 Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Roiselfolaat  
resultate van Kleurling Mans.

No.	OUDERDOM Jaar	VIT.B <sub>12</sub> pg/ml.	S.FOL ng/ml.	R/S.FOL ng/ml.
1	39	214.1	3.1	131.2
2	38	213.5	3.2	130.8
3	33	605.8	5.5	127.7
4	27	480.1	3.1	145.4
5	30	479.1	2.9	144.3
6	22	516.8	4.8	158.2
7	29	621.7	5.8	167.3
8	28	593.7	3.5	146.3
9	32	553.8	5.9	165.1
10	26	357.6	2	77.3
11	38	455.2	2.3	133.6
12	29	366.9	4.5	157.9
13	31	397.4	3.2	156.2
14	40	381.9	6.8	166.9
15	20	362.7	5.4	129.6
16	23	337.6	4.8	118.9
17	23	494.2	10.4	228.4
18	45	462.2	3.2	141
19	35	486.6	4.2	159.8
20	27	281.4	7.6	216.9
21	25	519.3	10.8	154.9
22	25	472.6	4.8	201.9
23	31	569.8	8.4	289.4
24	21	449.1	7.3	160.8
25	31	528	3.1	170.3
26	28	474.6	3.2	204.8
27	35	665.5	2.1	126.8
28	31	699.4	5.7	178.2
29	38	875.5	8.3	147.2
30	21	213.1	4.8	112.1
31	26	638	4.6	150.5

TABEL 4.12

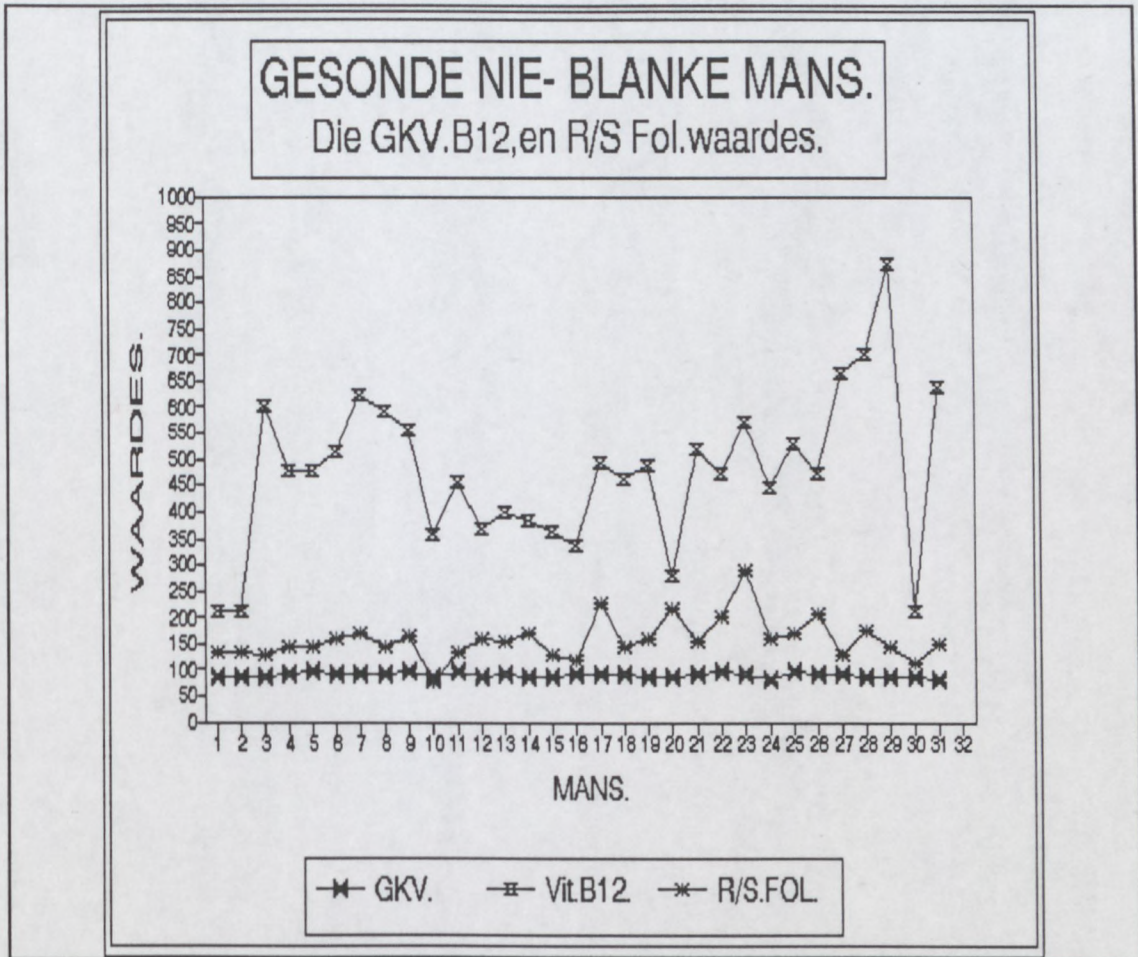
Statistiese analise van Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat resultate in Tabel 4.11

	OUDERDOM. JAAR.	VIT.B <sub>12</sub> pg/ml.	S.FOL ng/ml.	R/S.FOL ng/ml.
GEMID.	30	476.4	5	158.1
SDx1	6.3	148.8	2.3	39.4
SDx2		296.6	4.6	78.8
MAKS.	45	875.5	10.8	289.4
MIN.	20	213.1	2	77.3
REIKWYDTE.		227.66	1,85	95,23
		tot	tot	tot
		897,36	11,13	248,04

Volgens Tabel 4.12 toon die Kleurling Mans 'n gemiddelde vitamien B<sub>12</sub> waarde van 476,4 ng/ml. Die standaardafwyking is 148,8 met 'n minimum waarde van 213,1 en 'n maksimum waarde van 875,5 pg/ml.

Die serumfolaat het 'n gemiddelde waarde van 5,0 ng/ml. getoon en gewissel tussen 2,0 en 10,8 ng/ml met 'n standaardafwyking van 2,3 ng/ml.

Die gemiddelde rooiselfolaat waarde is 158,0 ng/ml. Die standaardafwyking is 39,4. met 'n minimum waarde van 77,3 en 'n maksimum waarde van 289,4 ng/ml.



FIGUUR 4.6

Grafiese voorstelling van die vergelyking tussen die GKV., Vitamien B<sub>12</sub>, serum- en Rooiselfolaat resultate van die Kleurling Mans.

Figuur 4.6 toon 'n redelike gelykmatige populasie aan met enkele pieke van vitamien B<sub>12</sub> waardes. Die grafiek toon ook dat daar min vergelyking tussen die vitamien B<sub>12</sub> en rooiselfolaat vlakke is.

## 4.6.1.4 KLEURLING VROUEN. (N=41)

TABEL 4.13 Coulter-teller resultate van  
gesonde Kleurling Vroue.

No	J*	WBS x10 <sup>9</sup> /l	RBS x10 <sup>12</sup> /l	HB g/dl	Pl x10 <sup>9</sup> /l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
1	23	7.2	3.66	12	297	34.1	92.7	32.6	35.2	12.8
2	23	11.9	4.75	13.4	370	40.9	86	28.2	32.8	14.4
3	33	8.2	4.4	13.4	266	40.9	93	30.5	32.7	14
4	32	13.5	3.88	12.6	380	37.	96	32.5	33.9	12.9
5	19	6	4.5	12.6	260	38.6	85.7	28	32.6	12.3
6	21	6.1	3.5	12	234	32.9	94	31.4	33.4	12.9
7	23	10.4	4.41	12.7	318	38.1	86.4	28.8	33.3	19.1
8	21	7.9	3.94	12	169	35.7	90.7	30.3	33.4	17.4
9	35	9.2	4.51	13.8	185	40.8	90.5	30.5	33.7	18.1
10	23	10.6	3.93	12.3	189	36.6	93	31.3	33.7	16.3
11	27	5.8	4.41	14.1	182	41.9	95	32.1	33.7	16.6
12	23	6.1	4.36	13.2	256	39.6	90.8	30.2	33.3	17.8
13	25	9.9	4.49	12.6	166	38.5	85.7	28.	32.9	19
14	30	8.6	4.33	13.8	236	41.1	94.8	31.9	33.6	16.7
15	41	8	3.9	12.1	180	36.1	92.5	31.1	33.6	16.9
16	25	13.2	4.81	15	296	44.3	92.2	31.1	33.7	18
17	23	6.6	4.82	13.9	177	42	87.2	28.9	33.2	19.9
18	30	7.1	5.2	15.9	267	47.8	92	30.5	33.2	18.6
19	33	9.2	5.3	15.3	147	46	86.9	28.9	33.3	19.8
20	27	5.3	4.14	12.3	144	37.7	90.9	29.7	32.7	18.3
21	25	5.2	3.84	11.8	224	35.4	92.2	30.6	33.2	17.1
22	44	6.2	3.88	3.8	179	35.5	91.5	30.2	33	17.4
23	34	12.7	4.18	13	311	39.1	93.5	31.1	33.3	17.5
24	27	14.2	4.38	12.6	278	39.1	89.2	28.7	32.1	18.9
25	38	5.2	4.44	12.2	205	38.1	85.9	27.5	32	19.4
26	29	5.2	4.2	12.4	177	38	90.5	29.6	32.7	18.4
27	23	7.7	4.45	12	214	37.3	83.8	27	32.2	20.8
28	30	7.2	4.47	13.7	221	41.4	92.7	30.7	33.1	18.3
29	27	7.1	4.76	13	162	40.5	85.1	27.3	32.1	20.2
30	32	4.9	5.1	14.3	174	44.3	86.8	28.1	32.4	20.5
31	36	5.2	4.39	11.9	172	37.6	85.8	27.2	31.7	19.6
32	31	6	3.91	12.6	238	36.4	93.3	32.2	34.5	17.4
33	28	8.4	4.27	12.7	203	37.5	87.9	29.6	33.7	19.8
34	34	5.83	4.01	13.2	264	37.4	93.2	32.8	35.2	14.1
35	22	5.7	4.42	11.3	230	32.9	74.5	25.6	34.3	19.1
36	25	4.2	4.47	14.4	266	42.8	95.7	32.1	33.6	14
37	27	8.4	4.53	14.4	250	41.9	92.4	31.9	34.5	14.4
38	28	5.6	4.84	12.1	318	40.1	88.4	31.6	34.6	15.9
39	33	5.2	4.27	12.1	230	38.8	86.6	29.1	34.1	15.5
40	23	8.55	4.3	13.4	243	39.2	91.1	31.1	34.1	15.9
41	25	6.34	3.97	12.4	181	35.2	88.7	31.2	35.1	16.2

\* Ouderdom

TABEL 4.14

Statistiese analise van Coulter-teller resultate  
in Tabel 4.13

	J*	WBS $\times 10^9$ /l	RBS $\times 10^{12}$ /l	Hb g/dl	Pl $\times 10^9$ /l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
GEMID	28	7.7	4.3	12.8	231	39	89.9	30	33.4	17.1
SDx1		2.6	0.4	1.8	58.5	3.3	4.1	1.8	0.9	2.3
SDx2		5.2	0.8	3.6	117	6.6	8.2	3.4	1.8	4.6
MAKS	44	14.2	5.3	15.9	380	47.8	96	32.8	35.2	20.8
MIN	19	4.2	3.5	3.8	144	32.9	74.5	25.6	31.7	12.3

\*Ouderdom.

Volgens Tabel 4.14 toon die oënskynlik gesonde Kleurling Vroue wat getoets is 'n gemiddelde ouderdom van 28 jaar. Die jongste is 19 en die oudste is 44jaar. Die gemiddelde WBS is 7,7, met 'n minimum van 4,2 en 'n maksimum waarde van 14,2 x 10<sup>9</sup>/l Die RBS het 'n minimum van 3,5, 'n maksimum van 5,3 en 'n gemiddelde waarde van 4,3 x 10<sup>12</sup>/l getoon. Die Hb se gemiddelde waarde is 12,8 g/dl , met 'n minimum van 3,8 en 'n maksimum van 15,9 g/dl. Die plaatjietelling toon 'n gemiddelde van 231, 'n minimum van 144 en 'n maksimum van 380 x 10<sup>12</sup>/l. Die gemiddelde HKT is 39 met 'n minimum van 32,9 en 'n maksimum waarde van 47,8% Die GKV wissel tussen 74,5 en 89,9 met 'n gemiddelde waarde van 96 fl. Die GKH toon 'n minimum van 25,6, 'n maksimum van 32,8 en 'n gemiddelde waarde van 30.0 pg. Die gemiddelde GKHK is 33,4 met 'n minimum van 31,7 en 'n maksimum waarde van 35,2%.



TABEL 4.15 Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat resultate van Kleurling Vroue.

No	Ouderdom Jaar	VIT. B <sub>12</sub> pg/ml	S.FOL ng/ml	R/S.FOL ng/ml
1	23	640.1	4.3	321.4
2	23	372.1	3.5	178.7
3	33	394.2	2.3	119.9
4	32	425.1	3.9	125.1
5	19	398.5	3.3	157.3
6	21	602.5	9.7	451.4
7	23	466.9	4.3	121.1
8	21	540.2	3.2	169.3
9	35	601.4	9.6	450.3
10	23	310.2	3.4	159.4
11	27	521.4	3.5	119.9
12	23	678.5	5.1	102.9
13	25	263.1	3.2	120.4
14	30	325.6	4.3	120.2
15	41	360	2.9	169.5
16	25	505.7	4.9	115.5
17	23	178.4	3.2	131.9
18	30	369.3	3.1	143.7
19	33	298.7	3.9	154.4
20	27	808.2	3.5	124.5
21	25	630.6	3.7	275.8
22	44	203.5	4.6	158.6
23	34	976.5	8.7	120.4
24	27	242.6	4.5	189.4
25	38	1328.8	5.7	143.1
26	29	699.2	6.3	105.5
27	23	545.4	5.6	112.5
28	30	415.3	4	118.8
29	27	207.4	1.8	130.5
30	32	541.9	6.2	149.3
31	36	409.2	4.8	163.4
32	31	324.8	2.2	129.7
33	28	486.6	3	105.8
34	34	280.5	6.6	94.8
35	22	436.3	5.2	257.7
36	25	379	11.4	182.3
37	27	323.9	10.6	165.3
38	28	225.6	4.4	176.4
39	33	800.8	8.1	265.4
40	23	400.7	1.9	127.6
41	25	739.9	3.4	253

TABEL 4.16

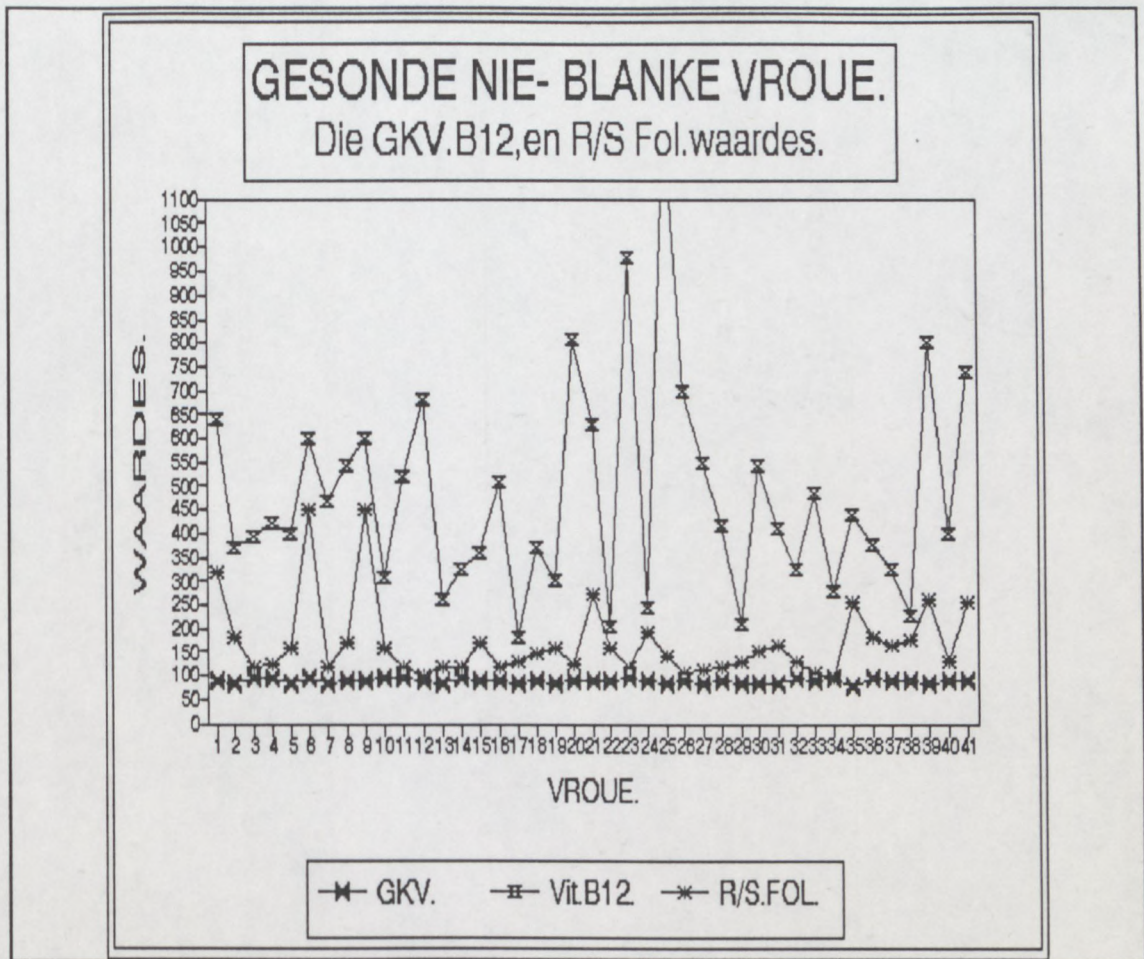
Statistiese analise van Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat waardes in Tabel 4.15

	OUDERDOM.	VIT B <sub>12</sub> .	S.FOL.	R/SEL.FOL
	JAAR.	pg/ml.	ng/ml.	ng/ml.
GEMID.	28	479.5	4.8	170.3
SDx1		228.7	2.4	82.4
SDx2		457.4	4.8	164.8
MAKS.	44	1328.8	11.4	451.4
MIN.	19	178.4	1.8	94.8
REIKWYDTE.		179,11	1,78	74,19
		tot	tot	tot
		977,19	10,63	332,87.7

Volgens Tabel 4.16 toon die Kleurling Vroue 'n gemiddelde vitamien B<sub>12</sub> waarde van 779,4 pg/ml. Die standaardafwyking is 228,7 met 'n minimum van 178,4 en 'n maksimum waarde van 1328,8 pg/ml.

Die serumfolaat toon 'n gemiddelde van 4,8 ng/ml en wissel tussen 1,8 en 11,4 ng/ml met 'n standaardafwyking van 2,4.

Die rooiselfolaat wissel tussen 94,8 en 451,4 ng/ml met 'n standaardafwyking van 82,4 en 'n gemiddelde waarde van 170,3 ng/ml.



FIGUUR 4.16

Grafiese voorstelling van die vergelyking tussen die GKV. Vitamien B<sub>12</sub> en Rooiselfolaat resultate van die Kleurling Vroue.

Volgens die grafiek is daar min korrelasie tussen die waardes van die vitamien B<sub>12</sub> en folaat resultate. Die GKV is redelik konstant met hier en daar 'n enkele lae waarde.

## 4.6.1.5 SWART VROUW (n=38)

TABEL 4.17 Coulter-teller resultate van gesonde Swart Vroue.

	J*	WBS x10 <sup>9</sup> / l	RBS x10 <sup>12</sup> / /l	Hb g/dl	Pl x10 <sup>9</sup> / l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
1	23	7.3	4.54	13.7	172	40.6	89.5	30.2	33.7	12.3
2	23	8.3	4.49	14.2	182	41.9	93.3	31.7	34	17.3
3	30	7.3	4.59	14.1	259	41.9	91.3	30.8	33.8	17.9
4	49	5.5	4	12.2	254	36.1	90.2	30.4	33.8	18
5	35	9.2	4.05	13.5	234	39.8	89.6	31.5	33.1	14.5
6	27	9.7	4.98	15.2	176	45.2	90.7	30.6	33.7	19.1
7	29	5.8	4.49	13.5	182	40.4	91.4	30.6	33.5	18
8	25	9.5	4.4	13.8	256	40.8	92.8	31.3	33.7	17.6
9	26	13.6	4.45	13.7	237	40.7	91.5	30.8	33.7	17.7
10	30	6.2	4.14	12.5	227	38.5	85.4	30.1	33.6	16.1
11	49	7.2	4.12	12.3	257	38.6	93.5	29.9	32	16.2
12	32	4.2	4.12	12.5	304	37.3	90.5	30.3	33.4	13.3
13	26	7.5	4.22	11.9	228	38.8	91.8	28.2	30.7	15.5
14	23	7.9	4.51	12.6	297	42	93	28	30	15.9
15	27	8.4	4.4	13.3	374	49.2	91.4	30.2	33.1	12.9
16	25	7	3.97	11.6	305	35.2	88.7	29.2	32.9	14.2
17	24	7.5	4.58	12.2	289	40.4	88.2	26.7	30.2	15.4
18	23	10	4.61	13.1	307	41.9	91	28.5	31.4	14.9
19	29	13	4.9	14.6	253	44.5	91	29.8	32.7	14.2
20	25	6.8	4.34	12.2	273	36.9	85	28	33.1	16.1
21	26	7.1	4.35	13.4	294	40.1	92.2	30.9	33.5	12.9
22	27	4.3	4.06	11.8	256	37.5	92.3	29.2	31.6	13.5
23	26	8.9	4.19	12	290	37.6	89.7	28.7	32	14.8
24	23	6.2	4.53	13	275	43.3	95.7	28.7	30	15.2
25	25	4.9	4.2	13.2	188	39.3	93.5	31.4	33.6	17.1
26	23	5.2	4.62	13	224	40.6	87.7	28.1	32	15.3
27	25	7.1	4.01	12.3	362	37.2	92.8	30.6	32.9	13.7
28	24	6.9	4.08	12.7	330	39.1	95.9	31.2	32.5	13.3
29	26	5.7	4.01	10.9	519	34.5	85.9	27.2	31.6	16.6
30	29	4.9	4.02	12.2	332	37.5	93.2	30.3	32.5	15.4
31	25	8.4	4.5	12.6	402	38.1	84.7	27.9	33	14
32	31	8.4	3.72	12.8	234	38.8	96	31.8	33.1	13
33	42	8.6	4.56	13.5	392	39.6	86.8	29.7	34.1	13.1
34	23	8.1	4.2	12.4	319	37.4	89	29.6	33.3	13.6
35	31	6.2	4.94	13.9	321	42.2	85.5	28.2	32.9	13.3
36	32	7.5	4.34	12.3	255	38.8	88.8	28.2	31.7	15.3
37	24	5.5	4.1	12.7	225	38.1	89.9	32.1	33.5	14.2
38	35	6.6	4.1	12.5	301	37.1	89.9	28.9	33.9	15.4

\* Ouderdom

TABEL 4.18

Statistiese analise van Coulter-teller resultate in Tabel 4.17

	J*	WBS x10 <sup>9</sup> /l	RBS x10 <sup>12</sup> /l	Hb g/dl	Pl x10 <sup>9</sup> / l	HKT %	GKV fl	GKH pg	GKHK %	RDW
GEMID	28	7.4	4.3	12.9	278.6	39.4	90.5	29.7	32.7	15.2
STDx1		2	0.3	0.9	70.4	3.3	3	1.4	1.1	1.8
STDx2		4	0.6	1.8	140.8	6.6	6	2.8	2.2	3.6
MAKS	49	13.6	5	15.2	519	49.2	96	32.1	34.1	19.1
MIN	23	4.2	3.7	10.9	172	29.8	84.7	26.7	30	12.3

\*Ouderdom

Volgens Tabel 4.18 het die oënskynlik gesonde Swart Vroue 'n gemiddelde ouderdom van 28 jaar. Die jongste is 23 en die oudste is 49 jaar. Die gemiddelde WBS is 7,4 met 'n minimum van 4,2 en 'n maksimum waarde van 13,6 x 10<sup>9</sup>/l. Die RBS het 'n minimum van 3,7, 'n maksimum van 5,0 en 'n gemiddelde waarde van 3,3 x 10<sup>12</sup>/l getoon. Die Hb se gemiddelde waarde is 12,9 met 'n minimum van 10,9 en 'n maksimum van 15,2 g/dl. Die plaatjietelling het 'n gemiddelde van 278,6, 'n minimum van 172 en 'n maksimum waarde van 519 x 10<sup>9</sup>/l getoon. Die gemiddelde HKT is 39,4 met 'n maksimum van 49,2 en 'n minimum waarde van 29,8%. Die GKV het 'n gemiddelde van 90,5, 'n minimum van 84,7 en 'n maksimum van 96 fl getoon. Die GKH het 'n minimum van 26,7, 'n maksimum van 32,1 en 'n gemiddelde waarde van 29,7 pg getoon. Die gemiddelde GKHK is 32,2 met 'n minimum van 30,3 en 'n maksimum waarde van 34,1%.

TABEL 4.19 Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat resultate van Swart Vroue.

No	Ouderdom Jaar	VIT.B <sub>12</sub> pg/ml	S.FOL. ng/ml	R/S.FOL ng/ml
1	23	502.2	6.2	132.7
2	23	419.5	5	126.2
3	30	477.5	3.2	139.2
4	49	430.6	4.8	146.4
5	35	360	3.4	144.1
6	27	358.1	4.3	100.7
7	29	466.3	3.2	96.9
8	25	248.8	3.3	104.1
9	26	408.3	2.2	136.7
10	31	476.5	2.8	257.6
11	49	320.2	3.6	137.5
12	32	672.2	5.7	201.4
13	26	567.2	4.7	169.9
14	23	811.5	3.7	149.3
15	27	431.5	4.8	155.6
16	25	193.5	2.7	190.1
17	24	377.1	3.4	135.1
18	23	281.1	3.8	184.7
19	29	598.7	3.6	150.3
20	25	373.2	3.9	138.1
21	26	322.7	2.9	115.8
22	27	478.1	3.7	179.3
23	26	301.1	5.2	195.9
24	23	291.2	4.4	135.8
25	25	227.3	2.7	114
26	23	263.5	1.1	98.1
27	25	320.9	1.7	105.4
28	24	209.4	2.4	156.5
29	26	154.1	1.1	89.1
30	29	146.4	1.2	119.5
31	25	647	1.8	133.9
32	31	728.4	5.5	173.2
33	42	424.8	3.7	91.7
34	23	283.8	3.6	88.3
35	31	233.9	5.1	182.1
36	32	809.3	3.4	135.8
37	24	305.2	5.5	381.7
38	35	581.4	9.7	237.5

TABEL 4.20

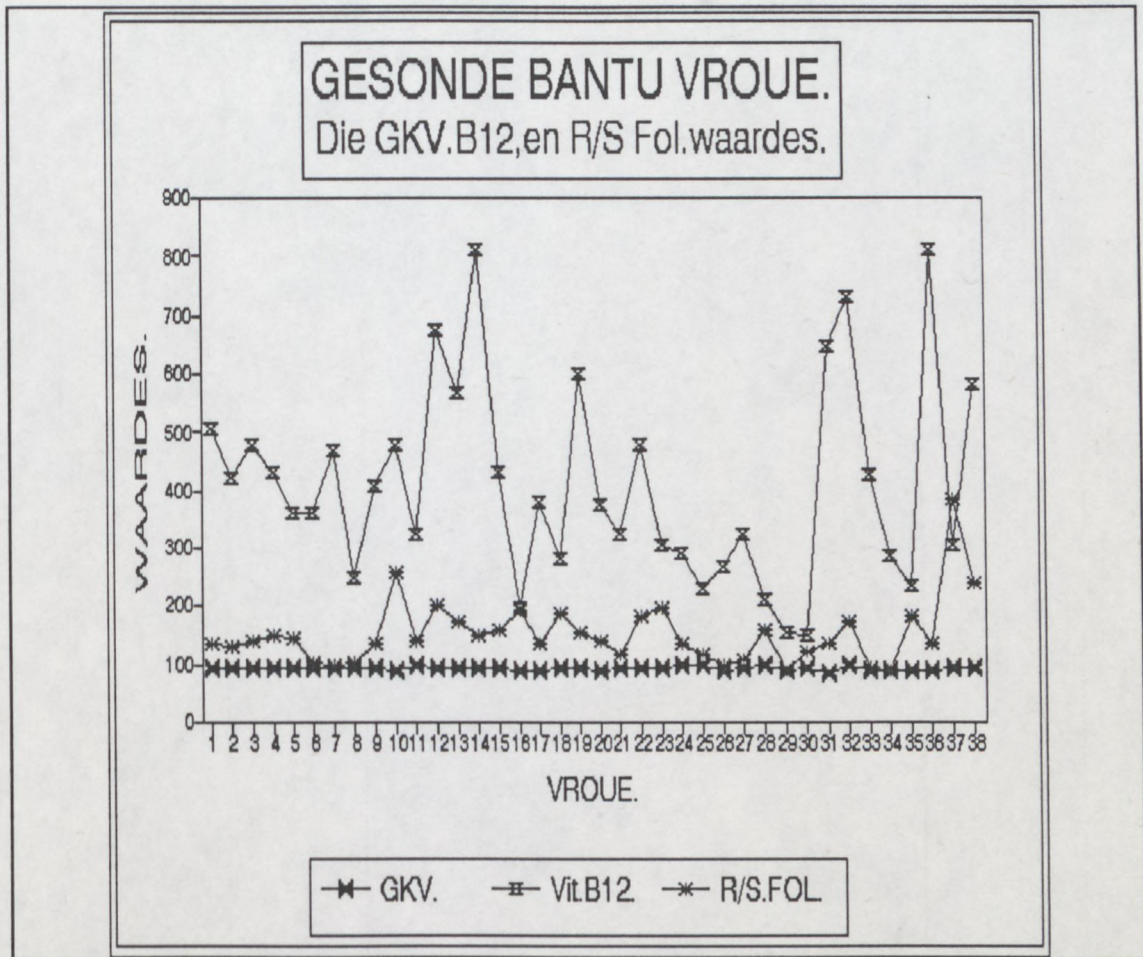
Statistiese analise van Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat resultate in Tabel 4.19

	OUDERDOM.	VIT.B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
	JAAR.	pg/ml.	ng/ml.	ng/ml.
GEMID.	28.4	407.9	3.8	150.8
SDx1		172.3	1.6	55.1
SDx2		344.6	3.2	110.2
MAKS.	49	811.5	9.7	381.7
MIN.	23	146.4	1.1	88.3
REIKWYDTE		158.2	1.33	77.06
		tot	tot	tot
		883.42	8.75	266.43

Die Swart Vroue het 'n gemiddelde vitamien B<sub>12</sub> waarde van 407,9 pg/ml, 'n standaardafwyking van 172,3 'n minimum van 146,4 en 'n maksimum waarde van 883,4 pg/ml getoon.

Die serumfolaatvlak wissel tussen 1,1 en 9,7 ng/ml met 'n standaardafwyking van 1,6 en 'n gemiddelde waarde van 3,8 ng/ml.

Die rooiselfolaat het 'n gemiddelde van 150,8 ng/ml, 'n standaardafwyking van 55,1 'n minimum van 88,3 en 'n maksimum waarde van 381,3 ng/ml getoon.



**FIGUUR 4.8**

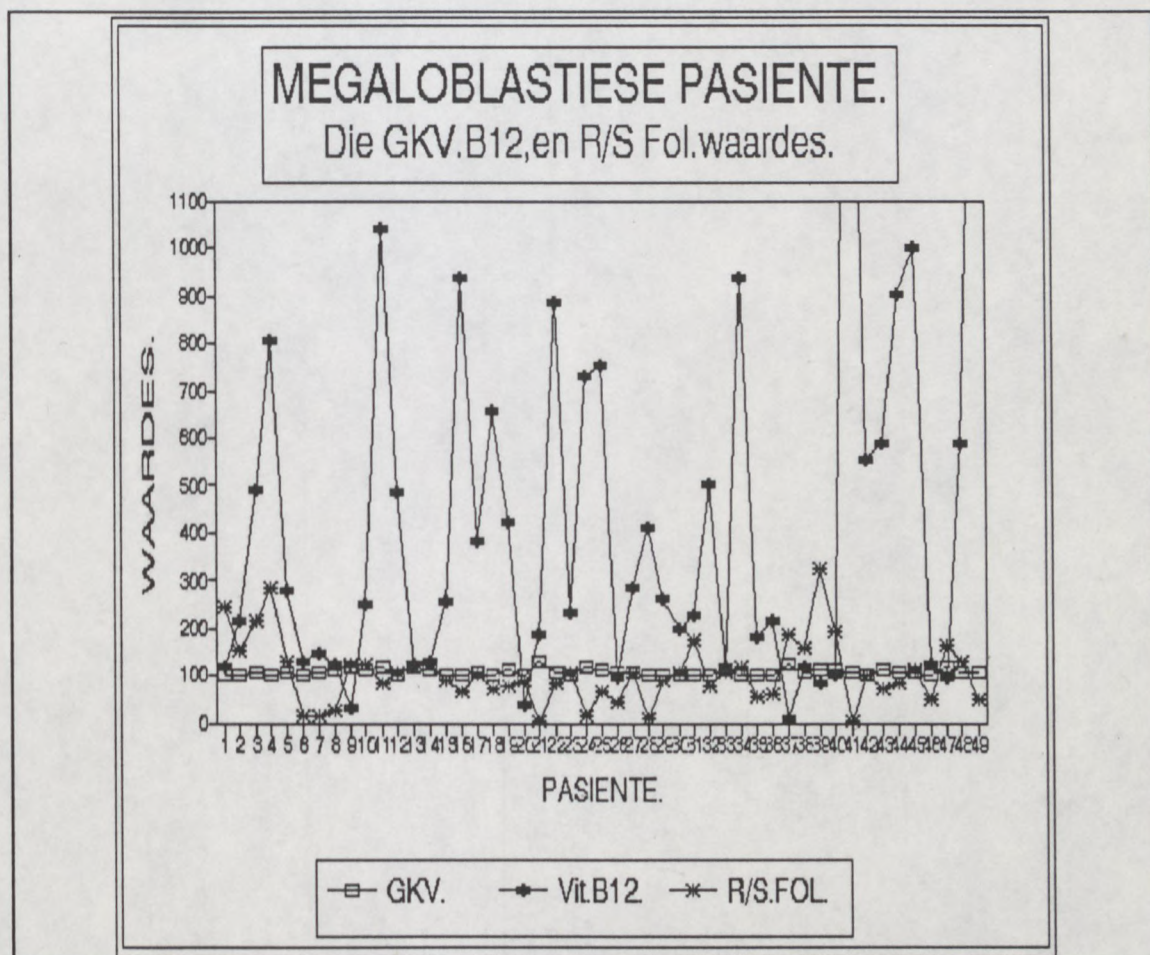
Grafiese voorstelling van die vergelyking tussen die GKV, Vitamien B<sub>12</sub> en Rooiselfolaat resultate van Swart Vroue.

Die grafiek toon 'n eweredige populasie van GKV vlakke met heelwat variasie in die vitamien B<sub>12</sub> en rooiselfolaat waardes.



## 4.6.1.6. MEGALOBLASTIES-ANEMIESE PASIENTE.

Gedurende 1991 het ongeveer 160 pasiente by Tygerberg Hospitaal gepresenteer met lae vitamien B<sub>12</sub>, serum- en rooiselfolaat waardes, alleen of in kombinasie van beide. Van die 160 pasiente wat ondersoek is, het net 49 met 'n makrositêre anemie gepresenteer. Hierdie pasiënte is by hierdie studie ingesluit. Net die relevante Coulter-teller resultate en al die vitamien B<sub>12</sub>, serum- en rooiselfolaat waardes verskyn in tabelvorm.



FIGUUR 4.9

Grafiese voorstelling van die GKV, Vitamien B<sub>12</sub>- en Rooiselfolaat waardes van die Megaloblastiese Pasiente.

Die grafiek toon die hoë GKV, baie lae vitamien B<sub>12</sub>- en rooiselfolaat waardes

TABEL 4.21 Relevante Coulter, Vit. B<sub>12</sub>, Serum en Rooiselfolaat resultate van Megaloblasties-Anemiese Pasiente

NO	*RG	Hb. g/dl	HKT. %	GKV. fl	VIT. B <sub>12</sub> pg/ml	S.FOL ng/ml	R/S.FOL ng/ml
1	4	7.7	22.4	98.5	121.2	3.4	245.5
2	2	9.4	28.3	100.4	216.8	1.4	153.5
3	3	10	32.4	105.4	492.1	1.3	213.3
4	4	9.7	29.2	100.5	803	1.3	281.7
5	8	9	27.1	106.3	279.1	3.8	129.2
6	4	4.2	13	101.9	130.8	0.6	13.9
7	3	4.7	14.2	105.8	144.3	0.2	15.6
8	8	3.2	9.6	110.1	126.3	0.2	26.3
9	8	9.5	27.4	121.2	31.3	5.6	122.6
10	7	9.9	32.7	113.8	251.9	5.2	125.4
11	4	2	5.6	114.9	1044	4.2	82.5
12	3	9	27.1	103.6	487.6	4.8	106.8
13	2	9.6	28.2	116.3	125.1	4.2	116.7
14	3	8.1	24.8	112.8	129.8	2.5	124.9
15	2	7.9	24	103.6	255.6	3.3	88.5
16	3	9.6	28.2	103.2	939.6	4	66
17	4	9.7	29.3	104.8	384.8	2.8	98.7
18	3	9.8	29.3	103.4	658.5	0.3	71.4
19	4	8.7	26.4	109.4	420.4	3.1	76.1
20	4	4.1	12.6	101.2	37.2	6.2	91.6
21	3	3.4	10.9	128.1	185.1	0.8	1
22	3	7.3	22.6	105.8	887.7	1.5	80
23	4	9.1	28.6	100.2	235.5	1.3	107.6
24	4	2.8	8.3	118	731.9	1.8	16.5
25	1	11.5	35.6	113	754.5	2.4	67.2
26	3	11	33.5	104.5	93.7	2.1	40
27	4	9	27.1	105.9	284.2	2.3	105.9
28	1	10.9	33.2	101.9	412.9	0.5	9.3
29	2	9.9	30	103.1	258	1	89.3
30	2	7.1	21.4	99.6	200.5	1.4	105
31	1	8	23.6	103.6	228.3	1.2	174.5
32	3	11.1	35.9	103.1	502.5	2.6	79.4
33	3	8.3	25.4	109.4	120.1	3.3	106.3
34	4	10.8	33.6	101.4	938.1	2.5	118.4
35	8	8.1	22.9	99	178.8	0.3	57.8
36	7	11.5	33.9	98.9	214.8	2.3	59.6
37	4	3.6	10.6	126.1	10.1	9.6	185.6
38	4	11	33.1	104.5	118.5	5.1	160.1
39	4	5.1	15.7	113.4	79.9	4.1	322.6
40	2	11.2	33.8	114.2	100.4	5.9	194.2
41	2	5.2	15	106.4	2400	0.6	0.1
42	4	10.8	32.5	101.6	555.6	2.2	103.1
43	3	9.6	30.9	110	586.2	2.3	73.3
44	4	9.4	27.7	105.9	904.6	1.7	81.4
45	8	9.6	28.3	108.5	999.2	1.4	110
46	8	4.5	12.9	99.6	126.1	0.1	47.6
47	2	9.9	32.8	120.1	97.2	3.7	165.8
48	4	11.9	35.5	104.9	586.6	2.3	128.3
49	3	9.2	27.7	106.7	2146	2.5	53

\* R/G = Ras en Geslag.

\* R/G = Ras en Geslag; 1 BLANKE MAN, 2 BLANKE VROU,  
3 KLEURLING MAN, 4 KLEURLING VROU, 8 SWART VROU.

TABEL 4.22

Analise van relevante Coulter, Vitamien B<sub>12</sub>,  
Serum- en Rooiselfolaat resultate in Tabel 4.21

	Hb	HKT	GKV	VIT.B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
	g/dl	%	fl	pg/ml	ng/ml	ng/ml
GEMID	8.3	25.2	107.2	449.3	2.6	103.9
STDx1	2.7	8.3	7.1	482.7	1.9	68.6
MAKS	11.9	35.9	128.1	2400	9.6	322.6
MIN	2	5.6	98.5	10.1	0.1	0.1

Volgens Tabel 4.22 het die 49 pasiente 'n gemiddelde Hb van 8,3 g/dl , 'n GKV van 107,2 fl en 'n HKT waarde van 25,2%.

TABEL 4.23

Analise van net die lae Vitamien B<sub>12</sub>, Serum en Rooiselfolaat  
resultate van Megaloblasties-anemiese pasiente in Tabel 4.21

	VIT.B <sub>12</sub>	S/FOL	R/SFOL
	pg/ml	ng/ml	ng/ml
GEMID	99.5	0.8	75.8
STDx1	40.2	0.5	40.1
MAKS	144.3	1.4	129.2
MIN	10.1	0.1	0.1

Volgens Tabel 4.23 het die pasiente met 'n lae vitamien B<sub>12</sub> vlak 'n gemiddelde waarde van 99,5 pg/ml 'n minimum van 10,1, maksimum van 144,3 pg/ml en 'n standaardafwyking van 40,2. Serumfolaat het gewissel tussen 0,1 en 1,4 ng/ml met 'n standaardafwyking van 0,5 en 'n gemiddelde van 0,8 ng/ml. Die rooiselfolaat toon 'n gemiddelde van 75,8, 'n standaardafwyking van 40,1, 'n minimum van 0,1 en 'n maksimum waarde van 129,2 ng/ml.

## 4.7 STATISTIESE ANALISE VAN VERSKILLEND RASSE EN GESLAGTE

Statistiese analise is gedoen om aan te toon of daar enige verskil al dan nie tussen die verskillende rasse en geslagte is. Daar is ook gekyk na die vegetariërs, alkohol gebruikers en rokers wat in die studie-groep ingesluit is. Die ongepaarde, tweeledige t-toets is gebruik en die volgende statistiese analise is gedoen.

TABEL 4.24

Statistiese analise van die vergelyking tussen die Blanke Mans (BLMAN) en die Blanke Vroue (BLVR) se Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat waardes.

	VIT. B <sub>12</sub>		S. FOL		R/S. FOL	
	pg/	ml	ng/	ml	ng/	ml
	BLMAN	BLVR	BLMAN	BLVR	BLMAN	BLVR
GEMID	449.9	462.5	4.4	4.5	173.8	194.6
STD AFW	193.9	227.1	2.1	2.9	60.46	58.99
STD FOUT	31.8	37.3	0.3	0.4	9.8	9.69
MIN.	158.0	200.0	1.3	1.2	98.4	97.1
MAKS.	984.8	1054.9	9.2	15.6	412.7	320.3
GEMID VERSKIL	12.581		.0923		20.82	
t-WAARDE	0.3		0.2		1.5	
GRADE VRYHEID	73		73		73	
p-WAARDE	0.9658		1.000		0.136	

Volgens die statistiese analise is daar nie 'n beduidende verskil aangetoon nie.

TABEL 4.25

Statistiese analise van die vergelyking tussen die Kleurling Mans(KLMAN) en Vroue(KLVR) se Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat waardes

	VIT. B <sub>12</sub>		S. FOL		R/S. FOL	
	pg/ ml		ng/ ml		ng/ ml	
	KLMAN	KLVR	KLMAN	KLVR	KLMAN	KLVR
GEMID	476.4	479.5	5.0	4.8	158.1	170.3
STD AFW	148.8	228.7	2.3	2.4	39.4	82.4
STD FOUT	26.7	35.7	.4	.4	7.1	12.9
MIN	213.1	178.4	2	1.8	77.3	94.8
MAKS	875.5	1239	10.8	11.4	289.4	451.4
GEMID VERSKIL	3.1168		.1852		12.24	
t-WAARDE	0.0		0.3		0.8	
GRADE VRYHEID	70		70		70	
p-WAARDE	1.0000		0.854		0.464	

Volgens die statistiese analise is daar nie 'n beduidende verskil aangetoon nie.

TABEL 4.26

Statistiese analise van die vergelyking tussen al die Mans en Vroue se Vitamien B<sub>12</sub>, Serum- en Rooiselfolaat waardes.

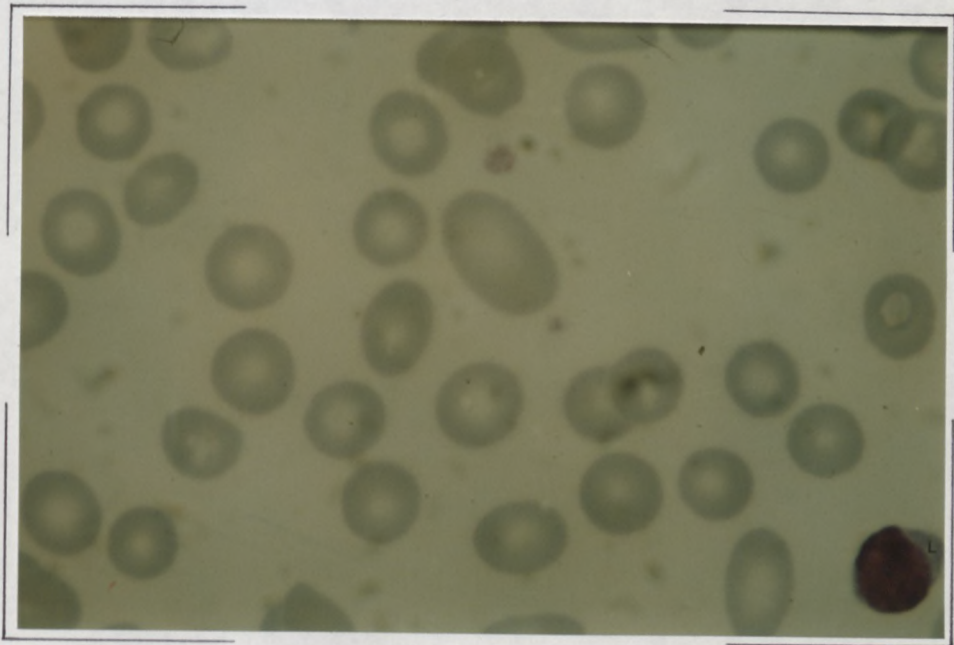
	VIT. B <sub>12</sub>		S. FOL		R/S. FOL	
	pg/ ml		ng/ ml		ng/ ml	
	MANS	VROUE	MANS	VROU	MANS	VROUE
GEMID	482.5	450.0	4.46	4.36	149.7	171.9
STD AFW	156.6	209.4	1.83	2.3	42.93	65.46
STD FOUT	18.20	19.43	0.21	0.21	4.99	6.03
MIN	954.8	1328.8	10.8	15.6	412.7	451.4
MAKS	158.0	146.4	1.3	1.1	77.3	88.3
GEMID VERSKIL	32.467		0.99		22.16	
t-WAARDE	0.6		0.3		1.2	
GRADEVRY HEID	188		188		188	
p-WAARDE	0.3393		.877		.2643	

Volgens statistiese analise is daar nie 'n beduidende verskil aangetoon nie.

#### 4.7 MORFOLOGIE VAN NORMALE EN MEGALOBLASTIESE PERIFERE BLOED- EN BEENMURGSSELLE.

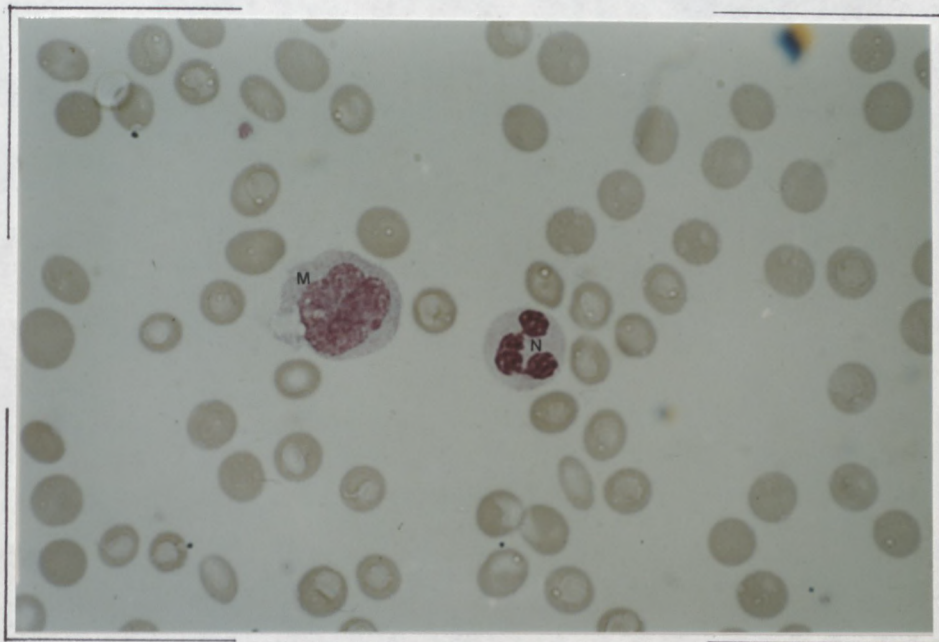
Ligmikroskoopfotos is geneem van selle in normale perifere bloed en beenmurgaspiraats van 'n gesonde mense. Ligmikroskoopfotos is ook geneem van megaloblastiese perifere bloed en beenmurgaspiraats van 'n pasiënte in Tygerberg Hospitaal om die verskil aan te toon en ook aan te dui wat die effek van 'n vitamien B<sub>12</sub>- of 'n foliensuurtekort op die bloed en beenmurg het.

#### MEGALOBLASTIESE PERIFERE BLOED



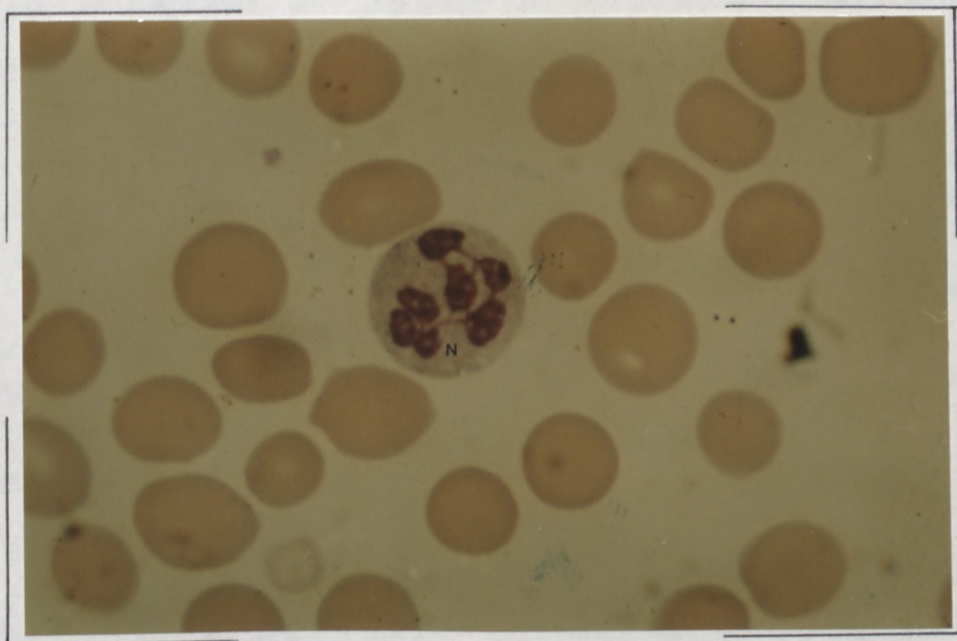
Figuur 4.10: Ovalomakrositêre rooiselmorfologie en 'n limfosiet (L)

## NORMALE PERIFERE BLOED



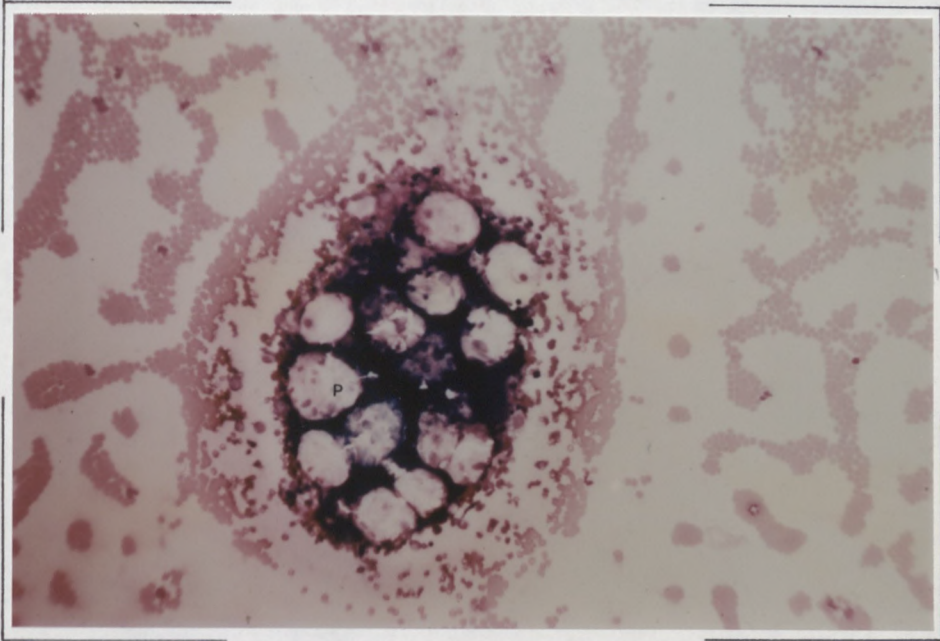
Figuur 4.11: Normale rooiselmorfologie, neutrofiel (N) en monosiet (M)

## MEGALOBLASTIESE PERIFERE BLOED



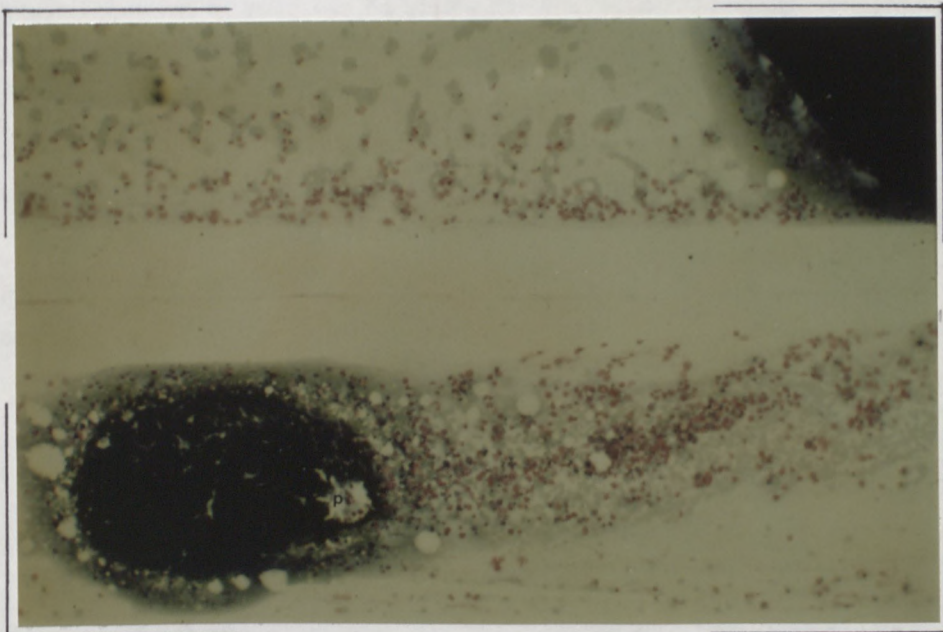
Figuur 4.12: Ovalomakrositose en 'n hipergesegmenteerde neutrofiel (N)

**NORMALE BEENMURGASPIRAAT**



**Figuur 4.13:** Normosellulêre beenmurgpartikel (P)

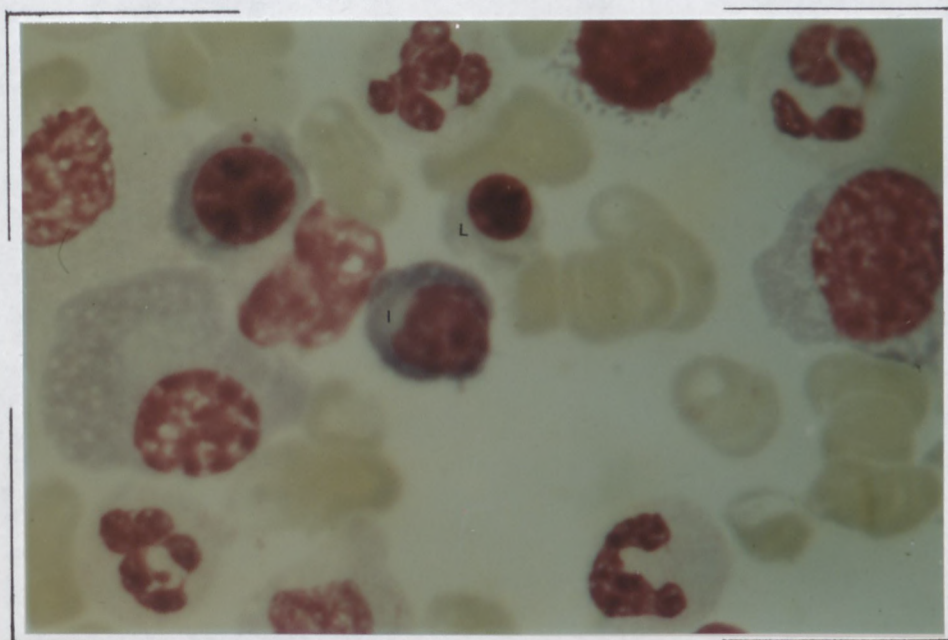
**MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT**



**Figuur 4.14:** Hipersellulêre beenmurgpartikel (P)

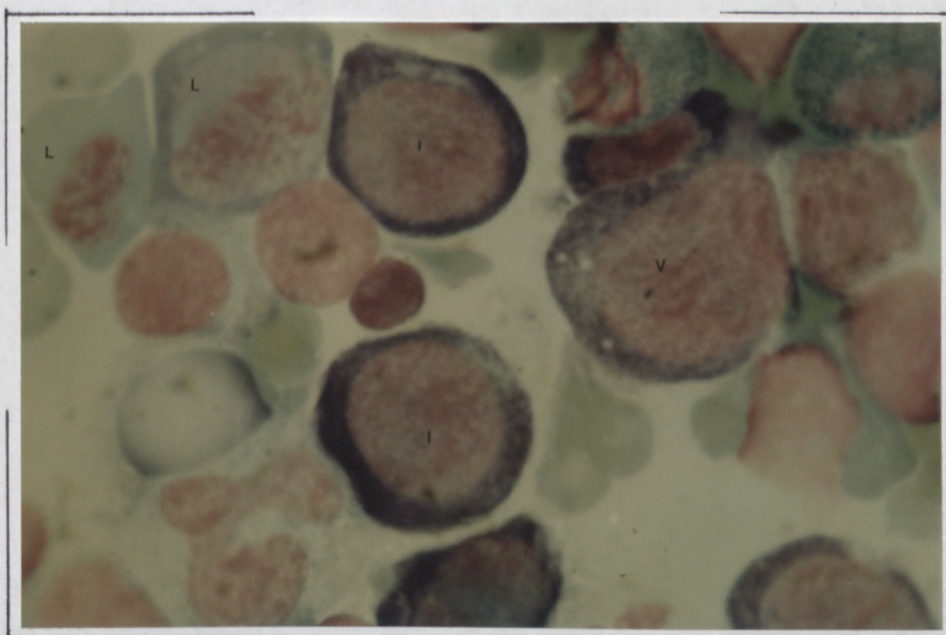


## NORMALE BEENMURGASPIRAAT



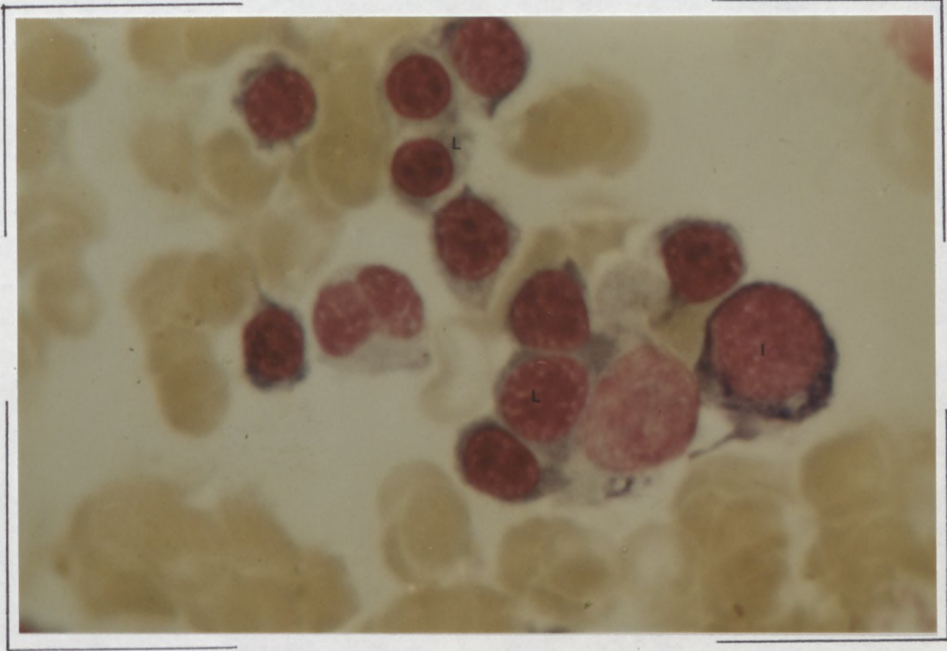
Figuur 4.15: Normoblastiese eritropoïese, laat- (L) en intermediêre (I) normoblast

## MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT



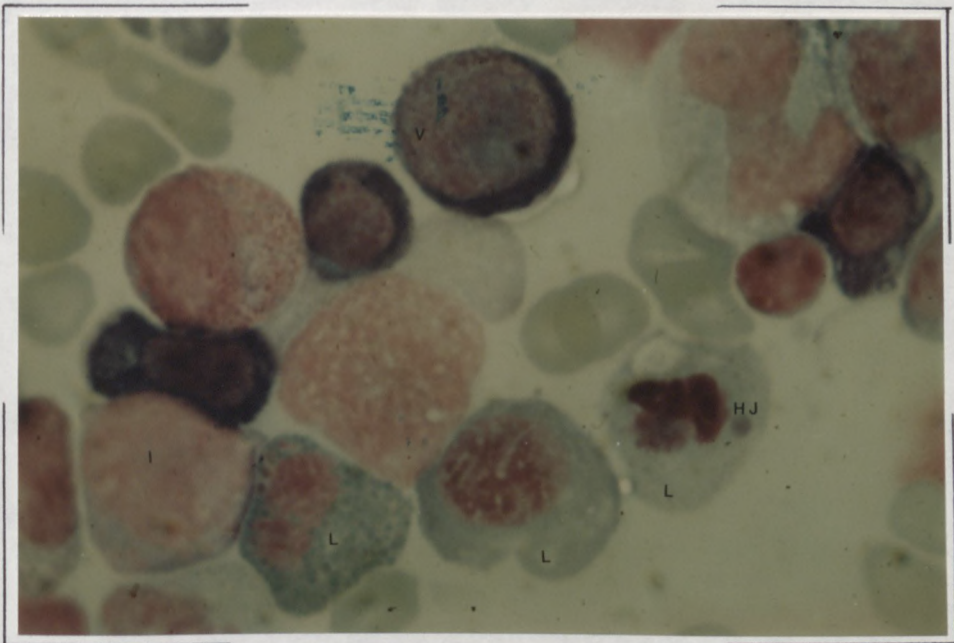
Figuur 4.16: Uitgesproke megaloblastiese eritroïede hiperplasie met laat-(L), intermediêre-(I) en vroë (V) normoblaste

## NORMALE BEENMURGASPIRAAT



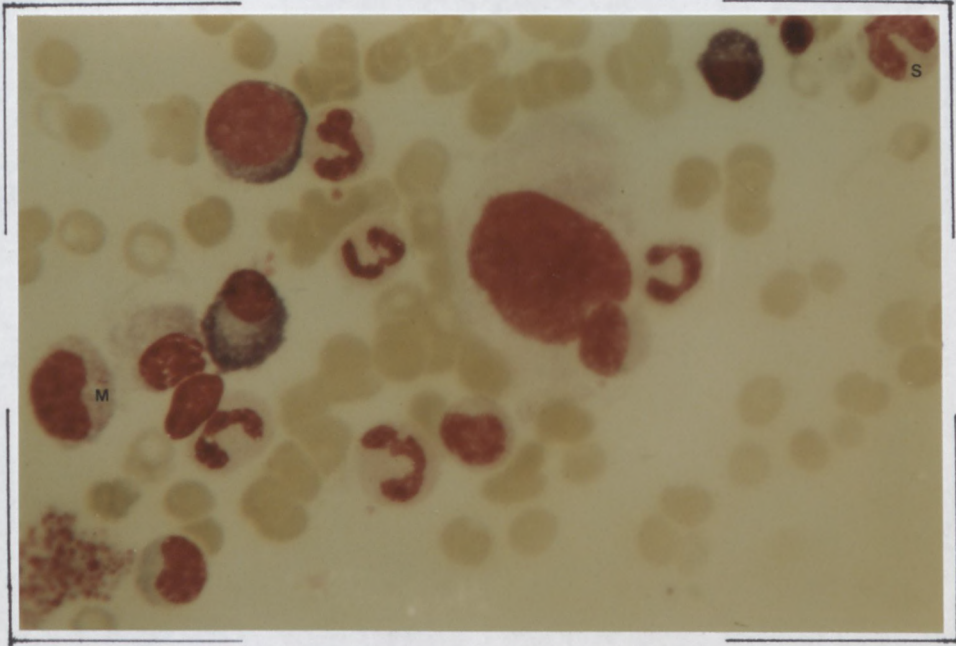
Figuur 4.17: Intermediêre (I)- en laat (L) normoblastiese normoblaste

## MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT.

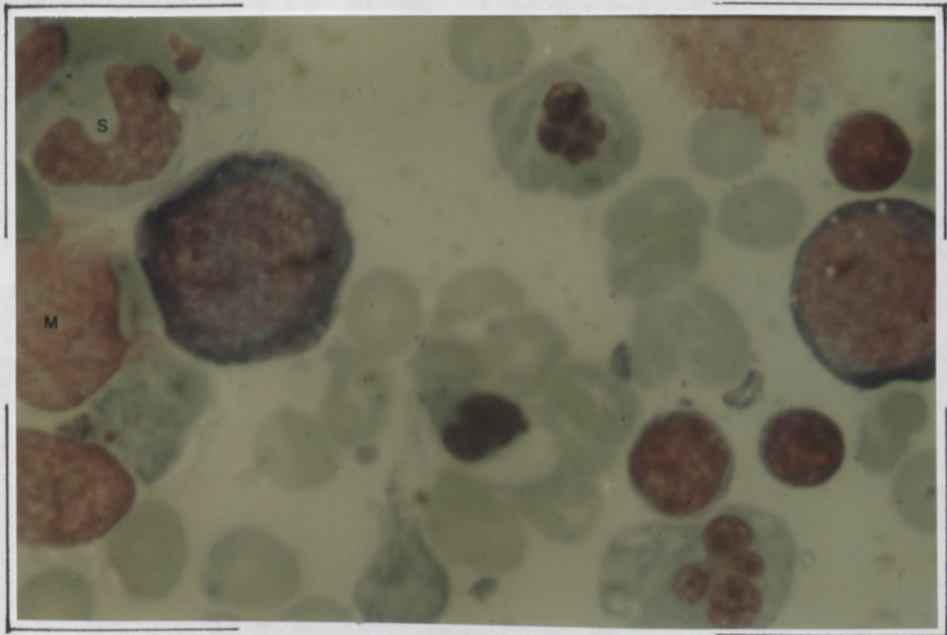


Figuur 4.18: Vroeë-(V), intermediêre-(I) en laat (L) megaloblaste met Howell-Jolly liggaampies (HJ)

## NORMALE BEENMURGASPIRAAT

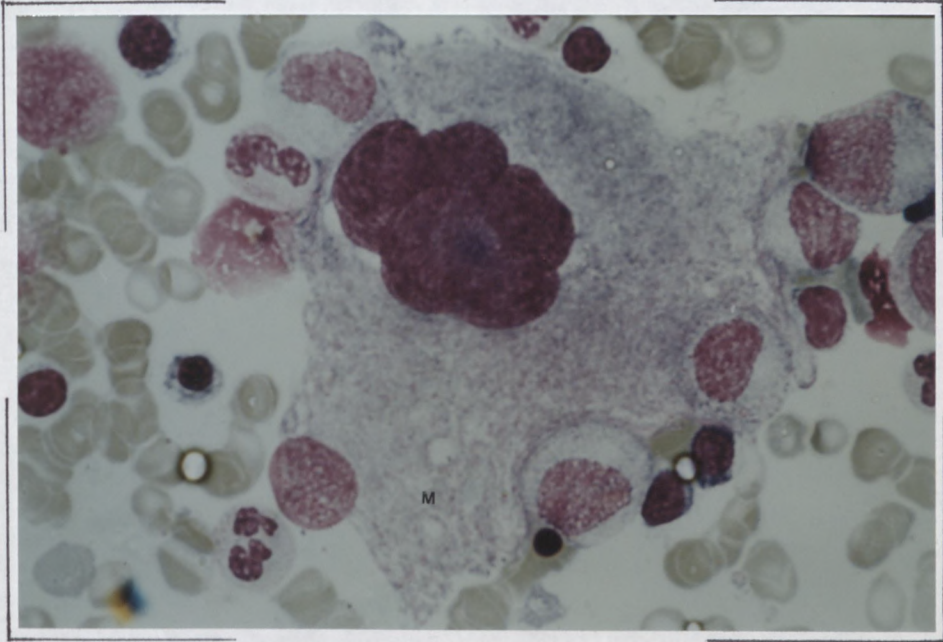


Figuur 4.19: Normale leukopoiëse (s) stafsel, (m) metamiëlosiet  
MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT



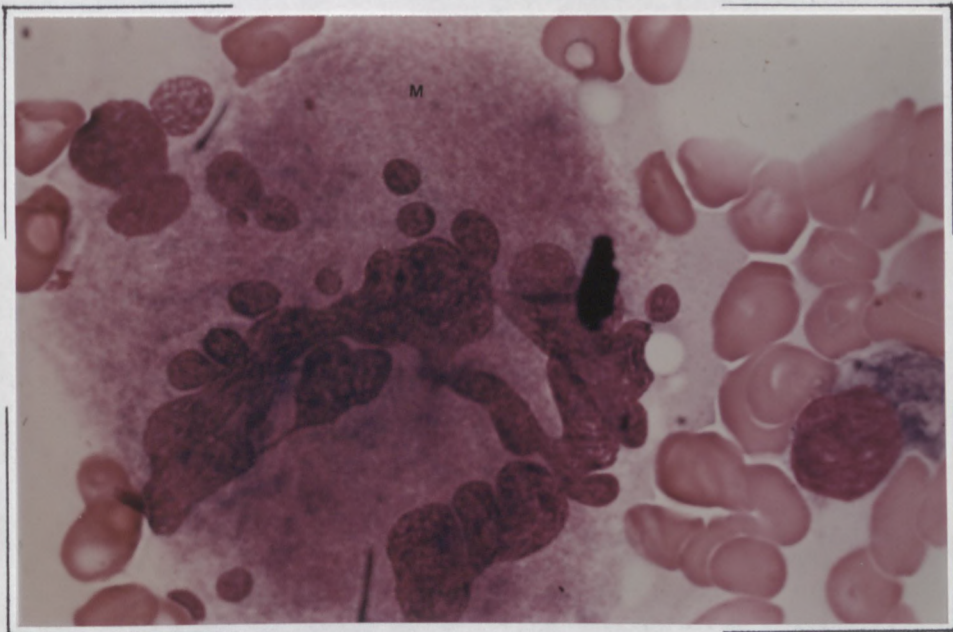
Figuur 4.11: Megaloblastiese leukopoiëse (s) stafsel,  
(m)metamiëlosiet

NORMALE BEENMURGASPIRAAT



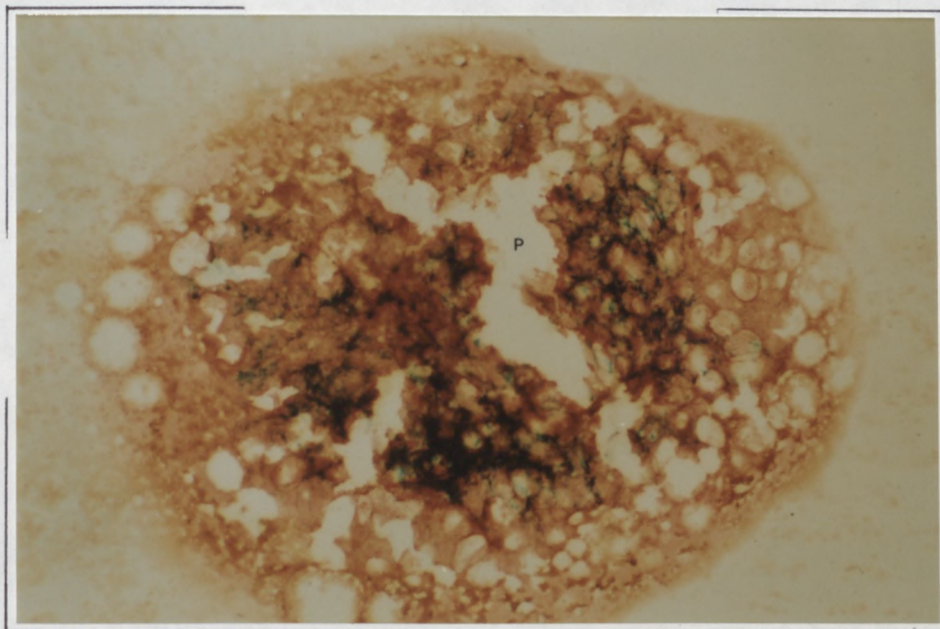
Figuur 4.21: Normale aktiewe megakariosiet (M)

MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT



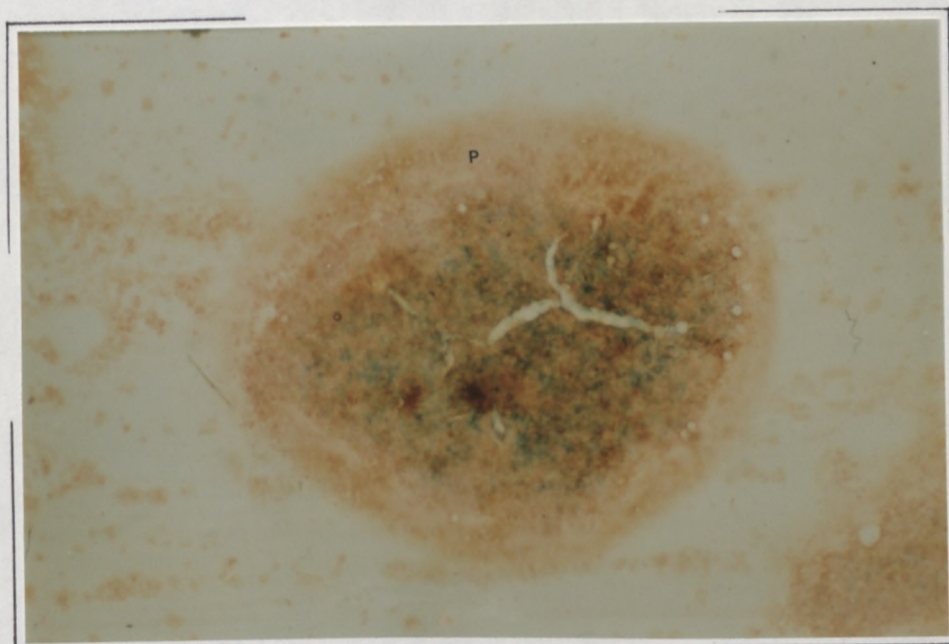
Figuur 4.22: Abnormale megakariosiet (M)

**NORMALE BEENMURGASPIRAAT**



**Figuur 4.23:** Normale yster-bevattende partikel (P) ( 3/6)

**MEGALOBLASTIESE BEENMURGASPIRAAT**



**Figuur 4.24:** Megaloblastiese, hipersellulêre, yster-bevattende partikel (P) (5/6)

## 4.8 OPSOMMING VAN DIE RESULTATE

Vanuit voorgenoemde resultate van die ongeveer 200 bloedskenkers wat evalueer is, blyk dit dat daar heelwaarskynlik nuwe gemiddelde waardes en reikwydtes van die verskillende rasse en geslagte opgestel behoort te word wat van groot waarde vir die laboratorium sal wees om 'n megaloblastiese anemie te diagnoseer.

TABEL 4.27

Gemiddelde waardes van die verskillende rasse en geslagte wat by hierdie studie ingesluit is.

GEMIDDELDE WAARDES			
	VIT. B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
	pg/ml	ng/ml	ng/ml
BLMAN	449.9	4.4	173.8
BLVR	462.5	4.5	194.6
KLMAN	476.3	5.0	158.0
KLVR	479.4	4.8	170.3
BVR	408.0	3.8	150.8

Omdat die resultate 'n asimmetriese verspreiding getoon het, is die goemetriese normale waardes en die reikwydtes volgens die log-normale distribusie uitgewerk.

TABEL 4.28

Geometriese normale waardes.

GEOMETRIESE GEMIDDELDE WAAREDS			
	VIT. B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
	pg/ml	ng/ml	ng/ml
BLMAN	410.8	3.95	166.0
BLVR	417.09	3.82	185.9
KLMAN	451.99	4.55	153.69
KLVR	434.81	4.36	157.15
BVR	373.85	3.413	143.2

TABEL 4.29

Reikwydtes van al die oënskynlik gesonde mense wat by hierdie studie ingesluit is.

REIKWYDTES			
	VIT.B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
	pg/ml	ng/ml	ng/ml
BLMAN	170.3 - 991.1	1.5 - 10.4	92.4 - 298.2
BLVR	169.3 - 1027.3	1.4 - 10.6	99.9 - 366.9
KLMAN	227.7 - 897.4	1.9 - 11.1	95.2 - 248.0
KLVR	179.1 - 977.2	1.8 - 10.6	74.4 - 332.9
BVR	158.2 - 883.4	1.3 - 8.7	77.1 - 266.4

Hierdie resultate sal in die volgende hoofstuk bespreek word.

## HOOFSTUK 5

## S A M E V A T T I N G E N A A N B E V E L I N G

Megaloblastiese anemie kom al hoe minder voor namate die voedingsgewoontes van bevolkingsgroepe verbeter. Alhoewel dit die geval is, het daar nogtans gedurende 1990 160 persone met òf 'n lae vitamien B<sub>12</sub>, òf serum- òf rooiselfolaatvlakke by Tygerberg Hospitaal voorgekom, waarvan daar net 49 gevalle met 'n makrositêre anemie gepresenteer het. Dit is dalk 'n aanduiding dat dieetkundige kontrole en voedselvoorligting daarin kan slaag om 'n gesonder bevolking teweeg te bring.

## 5.1 KEUSE VAN RIE TOETSSTEL

Die grootste probleemarea wat by al die toetse van toepassing was het rondom die vitamien B<sub>12</sub> ontleding gesentreer. Dit kon moontlik aan die vitamien B<sub>12</sub> bindingsproteïene te wyte gewees het.

Die Bio-Rad metode maak gebruik van 'n kook-metode waardeur die bindingsproteïene geïnaktiveer word en al die verskillende vorms van vitamien B<sub>12</sub>, in die teenwoordigheid van ditiotreitol, na sianokobalomien omgesit word. Hierdie kook-metode blyk 'n uitstekende proses te wees, omdat dit goeie herhaalbaarheid van die duplikaat lesings van die standaard gegee het. Die kommersiële kontroles het van week tot week uitstekende, herhaalbare resultate gelewer en daardeur is 'n goeie



kwaliteitsbeheer program ingestel en gehandhaaf. Hierdie toetsstel het ook goeie korrelasie tussen die EDTA- en serum lesings van die toetsmonsters gegee.

Die Micro-Medic toetsstel metode daarteenoor, maak gebruik van 'n sterk alkali, natriumhidroksied, wat die bindingsproteïene inaktiveer en in die teenwoordigheid van kaliumsianied en 'n pH van ongeveer 13, al die vorms van vitamien B<sub>12</sub> na sianokobalamien omsit. Hierdie proses blyk nie so konstant te wees nie, omdat daar tot 30% verskil tussen die duplikaat tellings van die standarde kon voorkom.

Die Bio-Rad RIE toetsstel se kook-metode, vir die gelyktydige bepaling van vitamien B<sub>12</sub> en folaat, is na goeie oorweging gekies om die laboratorium se huidige toetsstel te vervang en die nuwe bloedskenkers is gebruik om hierdie stel te evalueer en gelyktydig te kyk of daar 'n moontlikheid bestaan dat daar verskillende reikwydtes vir verskillende etniese groepe aangetoon kan word. Hierdie toetsstel se metode blyk beter te wees as dié waar die kobalamien by 'n sterk alkaliese pH na sianokobalomien omgesit word en lewer veral beter vitamien B<sub>12</sub> herhaalbare- en betroubare resultate.

## 5.2 SAMEVATTING VAN NORMALE HEMATOLOGIESE LITERATUUR- EN VERHANDELING WAARDES VAN MANS EN VROUE

Dit is altyd moeilik om normale hematologiese parameters op te stel omdat soveel faktore, soos byvoorbeeld ouderdom (NEXO,

1983), geslag, ras (Bailey, 1980; Hayes, 1984; Hitzhusen, 1985; Magnus, 1982), oefening, hoogte bo seespieël ens. dit kan beïnvloed. Volgens Dacie en Lewis (1991) is die volgende sogenaamde normale waardes opgestel waarteen hierdie studie- en die abnormale waardes gemeet kan word.

**Normale Waardes**

**Studie Waardes**

*(Dacie en Lewis, 1991)*

**Rooiseltelling**

Mans	5,5 ± 1,0	(x 10 <sup>12</sup> /l)	4,7 ± 0,9
Vroue	4,8 ± 1,0	(x 10 <sup>12</sup> /l)	3,96 ± 0,4

**Hemoglobien (Hb)**

Mans	15,5 ± 2,5	(g/dl)	14,0 ± 0,93
Vroue	14,0 ± 2,5	(g/dl)	12,9 ± 1,26

**Hematokrit (HKT)**

Mans	47 ± 7	(%)	42,6 ± 3,9
Vroue	42 ± 5	(%)	39,3 ± 3,3

**Gemiddelde Korpuskulêre Volume (GKV)**

Volwassenes	86 ± 10	(fl)	M	90,7 ± 4,4
			V	90,7 ± 3,9

**Gemiddelde Korpuskulêre Hemoglobien (GKH)**

Volwassenes	29,5 ± 2,5	(pg)	M	30,2 ± 1,16
			V	30,0 ± 1,66

**Gemiddelde Korpuskulêre Hemoglobien Konsentrasie (GKHK)**

Volwassenes	32,5 ± 2,5	(%)	M	33,3 ± 1,0
			V	32,8 ± 1,0

**Witseltelling (WBS)**

Volwassenes	7,5 ± 3,5	(x 10 <sup>9</sup> /l)	M	6,6 ± 1,9
			V	7,3 ± 2,23

Normale RIE Waardes (Dacie en Lewis, 1991)	Normale Bio-Rad RIE Waardes
---	--------------------------------

Vitamien B <sub>12</sub>	Reikwydte		Reikwydte
Volwassenes	160 - 760	pg/ml	165 - 1603
<b>Serumfolaat</b>			
Volwassenes	3 - 20	ng/ml	1,5 - 27,3
<b>Rooiselfolaat</b>			
Volwassenes	160 - 640	ng/ml	134 - 855

## Uiteensetting van studie RIE resultate

	VIT. B <sub>12</sub>	S.FOL	R/S.FOL
R/G*	pg/ml	ng/ml	ng/ml
BLMAN	170,3 - 991,1	1,5 - 10,4	92,4 - 298,2
BLVR	169,3 - 1027,3	1,4 - 10,6	99,9 - 366,9
KLMAN	227,7 - 897,4	1,9 - 11,1	95,2 - 248,0
KLVR	179,1 - 977,2	1,8 - 10,6	74,4 - 332,9
SVR	158,2 - 883,4	1,3 - 8,7	77,1 - 266,4

*BLMAN	Blanke Man
BLVR	Blanke Vrou
KLMAN	Kleurling Man
KLVR	Kleurling Vrou
SVR	Swart Vrou

### 5.3 GEVOLGTREKKING EN AANBEVELINGS

Die gevolgtrekking wat gemaak word is dat die Bio-Rad toetsstel van 'n beter metode vir die RIE bepaling vir vitamien B<sub>12</sub> en folate gebruik maak en derhalwe meer betroubare en herhaalbare resultate lewer. Die toepassing van die toetsstel op nuwe bloedskenkers het aan die lig gebring dat daar indringend gekyk moet word om nuwe reikwydtes op te stel vir die verskillende etniese groepe in die Kaapse Skiereiland omdat veral die groep Kleurling mans wat getoets is 'n hoër onderste vitamien B<sub>12</sub> grens getoon het en as dit so is, hierdie groep mense gouer behandeling behoort te ontvang indien hulle megaloblasties word. Dit sal ook die onduidelikheid uit die weg ruim dat die kliniese beeld van 'n pasiënt die vitamien B<sub>12</sub> resultate nie altyd ooreenstem nie. Elke laboratorium behoort derhalwe vir die verskillende etniese groepe 'n eie stel reikwydtes op te stel waarteenoor 'n megaloblastiese anemie gediagnoseer kan word.

AANHANGSEL 1

Vitamin B<sub>12</sub> and Folate Project.  
(New donors only.)

Dear donor

Please fill in this form as accurately as possible.

NAME.....

AGE.....

RACE.....SEX.....

- . How many times a week do you eat:-
  - . Meat
  - . Liver
  - . Vegetables
  - . Fish
  - . Fresh fruit
  
- . How many slices of bread do you eat per day?
  - . Brown
  - . White
  
- . Do you smoke?
  - . No
  - . Yes , number per day
  
- . Do you drink alcohol?
  - . No
  - . Occasionally
  - . Regularly
  
- . How many glasses of alcohol per day?
  - . Wine
  - . Beer
  - . Spirits
  
- . Are you taking any:-
  - . Vitamin tablets
  - . Iron Tablets

THANK YOU.

## AANHANGSEL 2

## Verhandeling reikwydtes

R/G*	Vitamien B <sub>12</sub> pg/ml	Serumfolaat ng/ml	Rooiselfolaat ng/ml
BLMAN	170,3 - 991,1	1,5 - 10,4	92,4 - 298,2
BLVR	169,3 - 1027,3	1,4 - 10,6	99,9 - 366,9
KLMAN	227,7 - 897,4	1,9 - 11,1	95,2 - 240,0
KLVR	179,1 - 977,2	1,8 - 10,6	74,4 - 332,9
SVR	158,2 - 883,4	1,3 - 8,7	77,1 - 266,4

\*BLMAN blanke man

BLVR blanke vrou

KLMAN kleurling man

KLVR kleurling vrou

SVR swart vrou

## Bio-Rad reikwydtes (vir alle rasse en geslagte)

Vitamien B <sub>12</sub> pg/ml	Serumfolaat ng/ml	Rooiselfolaat ng/ml
165 - 1605	1,5 - 27,3	134 - 885

## Aanhangsel 3

Kriteria waaraan nuwe bloedskenkers moet voldoen voordat hulle vir bloedskenking aanvaar word.

- . Hulle moet tussen die ouderdom van 18 en 65 jaar wees.
- . Hulle moet in goeie gesondheid verkeer.
- . Hulle mag nie geelsug of malaria gehad het nie.
- . Hulle mag nie op enige medikasie wees nie.
- . Hulle moet die persoonlike vraelys invul.
- . Hulle mag nie verwagtend of vastend wees nie.
- . Hulle moet die hemoglobientoets slaag.
- . By ondersoek moet die geneesheer in bevel hul bloeddruk, hart en long binne normale perke en gesond vind.

## BRONNNLYS

ANONIEM (a). (1985). Instruction manual for the use of the Coulter Model "S Plus".

ANONIEM (b). (1989). Instruction manual for Vitamin B<sub>12</sub>/Folate assay.

ANONIEM (c). (1985). Instruction manual for the use of the 1261-Multi-Gamma Counter.

Bailey LB, Wagner PA, Christakis GJ, Appeldorf H, Davis CG, Dorsey E, Dinning BS and JS. (1980). Vitamin B<sub>12</sub> Status of Elderly Persons from Urban Low-Income Households. *Journal of the American Genetics Society*. 6: 276-278.

Bain BJ, Wickramasinghe SN, Broom GN, Litwinczuik RA and Sims J. (1984). Assessment of the value of a competitive protein binding radioassay of folic acid in the detection of folic acid deficiency. *Journal of Clinical Pathology*. 37: 888-894.

Brandt V and Metz J. (1961). Serum Vitamin B<sub>12</sub> levels in South African White and Bantu. *South African Journal of Medical Science*. 26: 1-3.



Cormel R and Bernstein GS. (1984). Translocation 11 in Human Seminal Plasma. *Journal of Clinical Investigation*. 73: 868-872.

Chanarin I. (1969). *The Megaloblastic Anaemias*. 1st Edition. Blackwell Scientific Publication Oxford and Edinburgh.

Chanarin I. (1987). Megaloblastic Anemia, Cobalamin and Folate. *Journal of Clinical Pathology*. 40: 978-984.

Christenson RH, Dent A and Tuszynski A. (1985). Two Radioassays for Serum Vitamin B<sub>12</sub> and Folate Determinations Compared in a Reference Interval Study. *Clinical Chemistry*. 31/8: 1358-1360.

Dacie JV and Lewis SM. (1990). *Practical Haematology*. 7th Edition. Churchill Livingstone, Edinburgh, London.

de Gruchy GC. (1970). *Clinical Haematology in Medical Practice*. 3rd Edition. Blackwell Scientific Publication.

England JM and Linnell JC. (1980). Problems with Serum Vitamin B<sub>12</sub> Assay. *The Lancet*. 15: 1072-1074.

Fernandes-Costa F and Metz J . (1982). A comparison of Serum Transcobalamin Levels in White and Black Subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 35: 83-86.

Gilois CR and Dunbar DR . (1987). Measurements of Low Serum and Red Cell folate levels: A comparison of analytical methods. *Medical Laboratory Sciences*. 44: 33-40.

Hayes AN, Willians J and Skelton D. (1984). Vitamin B<sub>12</sub> and Folate Blood Levels in Geriatric Reference Group as Measured by Two Kits. *Clinical Biochemistry*. 18: 56-61.

Herbert V. (1980). The Nutritional Anemias. *Hospital Practice*. 15: 65.

Herbert V. (1980). Folic Acid and Vitamin B<sub>12</sub> In: *Modern Nutrition in Health and Disease*. Sixth Edition. (Eds.) RS Goodhart and ME Shils, Lea and Febiger, Philadelphia.

Hill RS and Steinberg SE.(1982). The Effects of Alcohol on Folate metabolism. *Annual Review of Medicine*. 33: 345.

Hitzhusen JC, Taplin ME, Stephenson WP and Ansell JE . (1985). Vitamin B<sub>12</sub> Levels and Age. *American Journal of Clinical Pathology*. 85: 32-36.

Jandl JH. (1987) *Blood*. 1st Edition.. (Eds.) Little Brown and Company, Boston.

Kolhouse JF, Kondo H, Allen NC, Podell E, Allen AB and R. (1978). Cobalamin Analogs are Present in Human Plasma and can mask Cobalamin Deficiency. *The New England Journal of Medicine*. 299: 785-792.

Krause RD, Anand VD and Willke TA. (1975). The Impact of Laboratory Error on the Normal Range: A Bayesian Model. *Clinical Chemistry*. 21: 321-324.

Kwee HG, Bowman HS and Wells LW. (1985). A Racial Difference in Serum Vitamin B<sub>12</sub> Levels. *Journal of Nuclear Medicine*. 26: 790-792.

El Shami S and Durham P. (1983) More on Vitamin B<sub>12</sub> Results as Measured with "Boil" and "No-Boil" Kits. *Clinical Chemistry*. 29: 2115-2116.

Warkentin DL. (1984). Serum Vitamin B<sub>12</sub> Assays: How Accurate Are They? *Archives of Pathology of Laboratory Medicine*. 108: 937-940.

Magnus EM, Bache-Wiig JE, Aanderson TR and Melbostad E. (1982). Folate and Vitamin B<sub>12</sub> Blood levels in Elderly Persons in Geriatric Homes. *Scandinavian Journal of Haematology*. 28: 360-366.

Nexo E. (1983). Variation with Age of Reference Values for P-Cobalamins. *Scandinavian Journal of Haematology*. 30: 430-432.

Oxley DK. (1984). Serum Vitamin B<sub>12</sub> Assays. How Accurate Are They? *Archives of Pathology of Laboratory Medicine*. 108: 277-279.

Raniolo E, Phillipou G, Paltridge G. (1984). Evaluation of a Commercial Radioassay for the Simultaneous Estimation of Vitamin B<sub>12</sub> and Folate with Subsequent Derivation of the Normal Reference Range. *Journal of Clinical Pathology*. 37: 1327-1335.

Rapaport SI. (1987). *Introduction to Hematology*. 2nd Edition. (Eds.) JB Lippincott Company, Philadelphia.

Shane B and Stokstad EL. (1985). Vitamin B<sub>12</sub>-Folate Interrelationships. *Annual Review of Nutrition*. 5: 115-141.

Steinberg SE, Fonda S, Campbell CL and Hillman RS.(1983). Cellular Abnormalities of Folate Deficiency. *British Journal of Haematology*. 54: 605-612.

Waters HM, Rhornton JA, Stevens RF, Gowenlock AH, Maciver JE and Delamore IW. (1981). Comparative Studies of a New Commercial Kit for the Estimation of Vitamin B<sub>12</sub> in the Serum. *Journal of Clinical Pathology*. 34: 972-978.

Williams WJ. (1991). *Hematology*. 4th Edition. (Eds.) McGraw-Hill Book Company.

Wintrobe MM. (1976). *Clinical Hematology*. 7th Edition. (Eds.)  
Lea & Febiger, Philadelphia.

Wu GT, Twomey SL and Thiers RE. (1974). Statistical Evaluation  
of Method - Comparison Data. *Clinical Chemistry*. 21: 315-320.

Zucker G, Podell ER and Allen RH. (1983). Multiple Problems with  
Current No-Boil Assays for Serum Cobalamin. *The Lingand Quaterly*.  
43-44.



