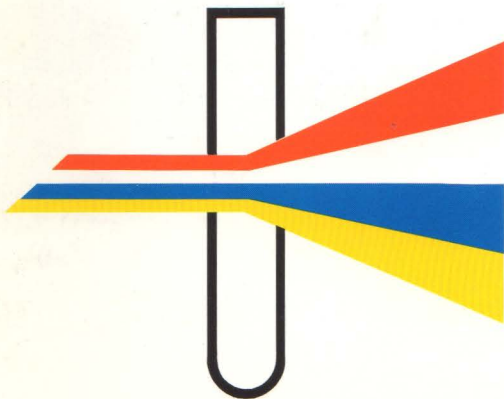
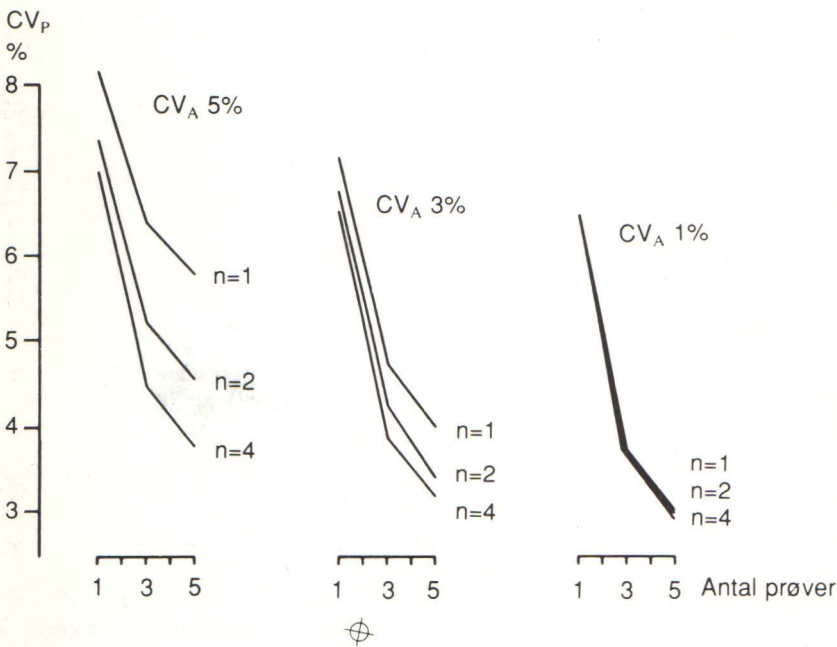


Klinisk kemi i Norden

Tidskrift för Nordisk Förening för Klinisk Kemi



Vol. 2, nr 3
november
1990

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Redaktionellt	3
Övergång till ECCLS standards	3
Rekommendationer för klinisk-kemiska afdelinger: Lipid- of lipoproteinanalyser	4
Extern kvalitetssäkring av proteinanalyser i Sverige	11
Bestemmelse af plasma proteiner v h j a turbidimetri og nephelometri	12
Erfarenheter av det svenska kvalitetssäkringssystemet för proteiner	15
CRP – ett kalibreringsproblem?	20
Kvalitetssäkring av HbA _{1c}	22
Enkät rörande användningen av fruktosamin	25
En ny internationell proteinstandard skall ersätta nuvarande WHO standarder	27
Svenska proteinsäkringssystemet – synpunkter från SFKK	29
Nordkem publicerar	30
Från läsekretsen	30

Redaktionskommitté för KLINISK KEMI I NORDEN

NFKK	Docent T. Veigar Gudmundsson Kliniskt-kemiska laboratoriet, Landsspítalinn IS-101 Reykjavík Island Telefon: Int. +354 1 60 19 71 Telefax: Int. +354 1 60 15 19	Island	Cand. Pharm. Leifur Franzson Dept of Clinical Chemistry Borgarspítalinn Fossvogi IS-108 Reykjavík Island Telefon: Int. +354 1 69 66 00 Telefax: Int. +354 1 69 63 63
Nordkem	Bitr. sekretariatschef Arno Nyberg Nordiskt samprojekt för klinisk kemi Stengårds sjukhus Norra Hesperigatan 23 A SF-00260 Helsingfors Finland Telefon: Int. +358 0 40 91 78 Telefax: Int. +358 0 44 25 91	Norge	Overlege Tor-Arne Hagve Klinisk-kjemisk avdeling Rikshospitalet Pilestedet 32 N-0027 Oslo 1 Norge Telefon: Int. +47 2 86 70 10 Telefax: Int. +47 2 86 70 29
Danmark	Overlæge Palle Wang Klinisk-kemisk afdeling Odense Sygehus DK-5000 Odense C Danmark Telefon: Int. +45 66 11 33 33 lokal 2839 Telefax: Int. +45 66 13 28 54	Sverige	Docent Kristoffer Hellsing Avdelningen för klinisk kemi Akademiska sjukhuset S-751 85 Uppsala Sverige Telefon: Int. +46 18 66 42 67 Telefax: Int. +46 18 54 96 23
Finland	Professor Ilkka Penttilä Avdelningen för klinisk kemi Kuopio universitetscentralsjukhus SF-70210 Kuopio Finland Telefon: Int. +358 71 17 31 50 Telefax: Int. +358 71 17 20 19		

Omslagets bild: Se Fig. 2, sid. 5



The most advanced
analyser of its kind,
yet devised.



FLEXIBLE

True random access
Rapid electrolyte throughput
60-test menu



OPERATOR FRIENDLY

Westgard QC package
Reaction curve monitor
Full colour graphics



SECURE

Direct sampling
Reagents barcoded
Samples barcoded



ECONOMICAL

Low revenue costs
Extended reagent stability
Minimal operator intervention

Bayer Norge A.s

Avd. diagnostika
Vollsveien 13, 1324 Lysaker
Telefon (02) 53 74 50

Bayer Diagnostics 

AMES, MILES, TECHNICON

Auto Counter AC920

Den lilla helautomaten



Även det lilla laboratoriet behöver rationella och säkra analysinstrument. Därför har Swelab utvecklat en liten hematologianalysator, som är automatiserad från början till slut.

Analysparametrarna är EPK, EVF, MCV, HGB, MCH, MCHC och LPK.

AC920 späder blodet, räknar och mäter samt presenterar resultaten med eller utan histogram.

AC920 är oberoende av provtagningsmetod, eftersom den är utrustad med både kanyl för blod i tillslutna vacuumrör och pipett för helblod och förspätt kapillärblod i öppna rör.

Andra värdefulla egenskaper är automatisk kalibrering, automatisk reagensövervakning och automatisk rengöring.

SWELAB

Box 839 · 121 08 Johanneshov · Tel. 08-81 03 30 · Fax 08-722 94 48

Klinisk Kemi i Norden

Årgång 2, Nummer 3, 1990

REDAKTIONELLT

Så har du nästa nummer i din hand, det fjärde i serien och det tredje under detta år. Numret innehåller väsentligen två artiklar, som redan varit publicerade i de danska resp. svenska medlemstidningarna. Vi har bedömt det så att dessa artiklar är av så pass stort allmänt intresse att vi vill upprepa dem i den nordiska tidningen.

Nästa nummer av KKN blir ett specialnummer. Det kommer enbart att uppta artiklar gällande övergången av enzymmetoderna från SCE:s till ECCLS:s. Vi räknar med att få det klart till mitten av december.

Under 1991 räknar vi med att komma upp i de fyra nummer per år som är vår intention.

Sista dag för manuskript under det kommande året är:

15/1; 15/4; 15/8 och 15/10

Eftersom processnings- och tryckningstiden rör sig om cirka 1 1/2 månad räknar vi med att numren skall vara färdiga cirka 1/3; 1/6; 1/10 resp. 1/12.

Bästa hälsningar

Kristoffer Hellsing

Övergång till ECCLS standards för bestämning av katalytisk koncentration av alanin aminotransferas (ALAT), aspartat aminotransferas (ASAT), kreatinkinas (CK) och gammaglutamyltransferas (GT)

I enlighet med tidigare redovisade planer skall vi i Norden gå över till de av ECCLS:s expertgrupp utarbetade metoderna för ALAT, ASAT, CK och GT. Övergången planeras ske i de olika länderna i början av 1991.

I december i år kommer Klinisk Kemi i Norden att ge ut ett supplement innehållande följande:

1. ECCLS standards
2. Preliminära referensintervall
3. Metodapplikationer
4. Metodjämförelser mellan olika på marknaden förekommande reagenskit.

Information kommer också att införas i de nationella medlemstidningarna.

Nordiska Enzymkommitten

Rekommandationer for klinisk-kemiske afdelinger: Lipid- og lipoprotein-analyser

JØRN DYERBERG, STEEN STENDER, GUNNAR EG ANDERSEN†, OLE FÆRGEMAN, TORBEN HAGHFELT, TORSTEN HVIID, TONNY JENSEN, ARNE LETH, BJARNE SIGURD & FLEMMING SKOVBY (LIPIDGRUPPEN, DANSK CARDIOLOGISK SELSKABS FRAKTION FOR PRÆVENTIV CARDIOLOGI)

Medicinsk Laboratorium a.s., Adelgade 7, 1304 København K; Køge Sygehus, klinisk kemisk afdeling; Rigshospitalet, København, pædiatrisk afdeling; Århus Amtssygehus, medicinsk afdeling; Odense Sygehus, medicinsk afdeling B; Østergade 35, 3200 Helsingør; Niels Steensens Hospital, Gentofte; Københavns Amts Sygehus i Glostrup, medicinsk afdeling C, og Nykøbing Falster Centralsygehus, medicinsk afdeling

Kolesterol indtager en central rolle i ateroskleroseudviklingen, omend eksakt viden om de tilgrundliggende molekulære processer endnu savnes. Øget koncentration af LDL-kolesterol i plasma betragtes i dag som kausalt relateret til udviklingen af den aterosklerotiske proces, og der findes en omvendt association mellem HDL-kolesterolkoncentrationer og forekomsten af aterosklerose. Påførte ændringer i LDL-kolesterolkoncentrationen medfører ændringer i risikoen for udvikling af aterosklerose, hvorimod det endnu er uvist om påførte ændringer i HDL-koncentration påvirker udviklingen af aterosklerose. Koncentrationen af lipider og lipoproteiner i blodet er væsentlige kvantiteter ved stillingtagen til prævention, intervention og behandlingskontrol ved aterosklerotisk hjertekarsygdom. Der stilles derfor berettigede krav til klinisk kemisk ekspertise om tilvejebringelse af et standardiseret analyserepertoire for lipid- og lipoproteinanalyser, samt til *reproducerbare* (præcise) og *sande* (akkurate) måleresultater.

ANALYSEREPERTOIRE

Den nuværende metodeudvikling og vor nuværende viden om aterosklerosesygdommens epidemiologi og molekulære biologi til-

lader ikke opstilling af et endeligt og ideelt analyserepertoire. Det må således fx i dag betragtes som uafklaret, om bestemmelse af lipoproteiner, lipider eller lipoprotein-apoproteiner i blodet er at foretrække. Om end det må skønnes, at apolipoproteinniveauet i plasma indeholder vægtig klinisk information, må det samtidig konstateres, at rimelige krav om standardisering, præcision og akkuratess ikke i dag kan opfyldes for disse komponenter. Den tværfaglige arbejdsgruppe vedr. klinisk-kemiske problemstillinger under Lipidgruppen (Dansk Cardiologisk Selskab) skal derfor anbefale, at følgende kvantiteter kan rekvireres til brug i den kliniske udredning af risiko for aterosklerotisk hjertekarsygdom samt i kontrol af behandling af hyperlipidæmi:

S-Cholesteroler (total), stofk.

(fPt) S-Triglycerider, stofk.

S-HDL-cholesterol, stofk.

(fPt) S-LDL-cholesterol, stofk., beregnet på grundlag af ovenstående målinger.

S (Serum) refererer til det system, hvori man måler den pågældende komponent. Stofk. (stofkoncentration) angiver, at måleresultatet opgives som en koncentration.

Återges med tillstånd av Ugeskrift for læger Referens: Ugeskrift for læger 152; 1990: 1434-7.

GENERELLE VEJLEDNINGER

Betydelig intraindividuel variation samt kombinationen af præanalytisk og analytisk variation og metodologiske standardiseringsproblemer gør klinisk stillingtagen på basis af »øjebliksbilleder« af lipid- og lipoproteinkoncentrationer vanskelig eller umulig. Beslutninger om drastiske ændringer i patientens levevis og medikamentel sænkning af kolesterolkoncentrationen bør derfor baseres på minimalt 2–3 bestemmelser med ca. 1 måneds mellemrum, i perioder hvor personen lever under »sædvanlige omstændigheder« dvs. på sædvanlig kost, uden sygdomsepisoder, medikamentskift, vægtændringer o.l.

Biologisk og analytisk variation: Den intraindividuelle biologiske variation (udtrykt som en variationskoefficient dvs. standarddeviation $\times 100$ /middeltal = CV %) på totalkolesterolkoncentrationen over måneder er 5–10 %. For triglycerid er størrelsesordenen 15–40 %. Den intraindividuelle biologiske variation på HDL-kolesterol er mindre sikkert kendt, men synes at ligge i området 5–10 %.

Variationskoefficientens betydning for variationen af koncentrationen er angivet i Fig. 1. For variationskoefficienter mellem 3 og 11 % angiver det tonede felt 95 % konfidensintervallet for udfaldet af et analyseresultat, hvis »sande« værdi er 7,0 mmol/l (fx af totalkolesterol) eller 1,0 mmol/l (fx af HDL-kolesterol) eller 4,0 (fx af en LDL/HDL-ratio).

Den analytiske variation kan reduceres ved at lave dobbelte eller flerdobbelte bestemmelser på samme prøvemateriale. Effekten af den biologiske variation kan reduceres ved at bestemme koncentrationen af den pågældende komponent på en række prøver, udtaget fra samme individ over en periode på flere måneder. Virkningen på den totale variationskoefficient fremgår af Fig. 2. CV_A er den analytiske variationskoefficient. CV_B er den biologiske og CV_P er kombinationen af de to. Det er CV_P , der skal tages hensyn til, når et analyseresultat skal vurderes.

Til bestemmelse af totalkolesterol samt

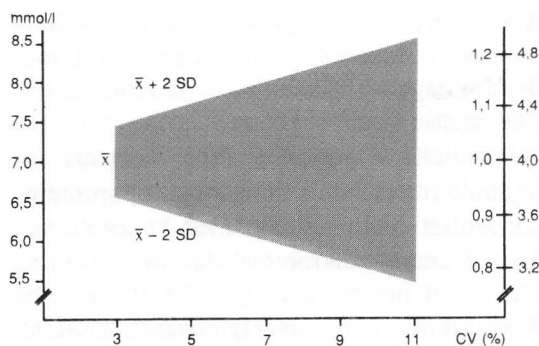


Fig. 1. Den totale variationskoefficientens betydning for udfaldet af koncentrationsmålingerne i en eller flere prøver fra en person med en gennemsnitskoncentration på 7,0, 1,0 og 4,0 mmol/l. Det tonede felt angiver 95 % konfidensintervallet.

HDL-kolesterol er det ikke nødvendigt, at patienten faster.

Bestemmelse af triglycerid og beregning af LDL-kolesterol forudsætter fastende patient, hvilket vil sige kaloriefaste i 10–12 timer.

Rekvirenten bør være vidende om andre årsager til variation i plasmaets lipid- og lipoproteinforhold, fx variationer i forbindelse

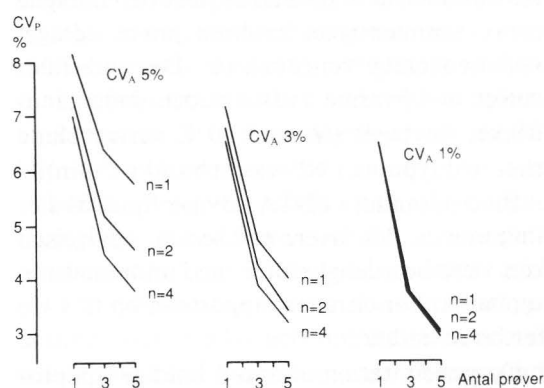


Fig. 2. Den totale intraindividuelle variation, angivet som en variationskoefficient, CV_P i relation til den analytiske variation (CV_A). Ved at øge antallet af gentagne bestemmelser på samme prøvemateriale (n) og antallet af tidsforskudte prøver på samme person (abscissen), vil det derved fremkomne gennemsnit udvise en mindre variationskoefficient. Det forudsættes at den rene intraindividuelle variation CV_B , (den biologiske variation) er 6,5 %.

med større sygdomsperioder (akut myokardieinfarkt), alkoholbelastning, graviditet, medicinindtagelse, metaboliske sygdomme, årstidsvariation etc.

Præanalytisk variation: Ved overgang fra liggende til stående stilling stiger lipoprotein-koncentrationen sammen med koncentrationen af andre makromolekyler med 9–12 %. Det er en proces, der tager 10–30 min. Af disse grunde bør prøvetagningsbetingelserne standardiseres, fx til mindst 15 min's hvil i siddende stilling inden prøvetagning. Dette vil formentlig ofte ikke være praktisk muligt, fx i ambulatorier med variabel ventetid, hvorfor rekvirenten bør informeres om denne kilde til variation.

Stase på armen i forbindelse med blodprøvetagning, har samme effekt, og det anbefales, at blodprøverne tages under så let og kortvarig stase som muligt. Stase i mindre end 1 minut synes ikke at have nogen betydning.

Ved udtagning af kapillærblod fra ører, fingre eller hæl er det vigtigt at sikre sig, at dette blod er repræsentativt for det blod, der cirkulerer i de større kar. Sparsom blodfremkomst med efterfølgende klemmen og masen kan give anledning til en betydelig forskel i koncentrationen af makromolekyler i den udtagne prøve sammenlignet med en prøve udtaget ved sædvanlig venepunktur. Det anbefales derfor at opvarme indstikstedet, inden indstikket foretages (fx med 40°C varme klude eller neddypning i 40° varmt vand i 3 min).

Blod opsamlet i EDTA udviser lipidværdier i plasma ca. 3 % lavere end serum. Afvigelsen kan være betydeligt større med andre antikoagulantia. For citrat er rapporteret op til 14 % for lave værdier.

Da præcipitation af apo-B holdige lipoproteiner ved bestemmelse af HDL-kolesterol blandt andet afhænger af ionstyrken i prøvematerialet, kan anvendelse af EDTA interferere med analysen. Heparin i plasma kan også påvirke denne præcipitation. Udvalget skal derfor anbefale, at lipider bestemmes på serum.

Udvalget anbefaler, at resultatet af koleste-

rol- og triglyceridmålingerne angives i mmol/l med 1 decimal.

In vitro er lipoproteiner lidet stabile, specielt ved lipæmiske niveauer. Det anbefales derfor, at prøver til HDL- og LDL-bestemmelse opbevares ved 4°C i den præanalytiske fase og transporteres som køleforsendelse. Analyse af køleforsendte prøver bør udføres senest 48 timer efter prøvetagningen. Prøver til lipoproteinanalyser tåler ikke frysning.

Serum til analyse for totalcholesterol og triglycerid tåler forsendelse i 1–2 døgn ved stuetemperatur. Prøver til lipidanalyser – man altså ikke lipoproteinbestemmelse – tåler dybfrysning og kan opbevares ved –20° i op til 30 døgn, ved –80° i adskillige måneder.

Det analyserende laboratorium bør være opmærksom på indsamlings- og forsendelsesprocedurer, der tidsmæssigt bør minimeres.

METODER, AKKURATESSE OG PRÆCISION

S-Cholesteroler, (total), stofk.: Totalcholesterol-koncentrationen i serum kan i dag bestemmes med en såkaldt definitiv metode. Dvs. at der for totalcholesterolkoncentrationens vedkommende findes værdier, der, af et flertal af specialister inden for dette specielle felt, betragtes som »sande«. Denne *definitive metode*, baseret på isotopfortyndings-massespektrometri, kræver særligt apparatur og ekspertviden og praktiseres kun få steder i verden. Der er imidlertid opbygget et såkaldt metodehierarki, der gør det muligt for ethvert dansk laboratorium at relatere sin kolesterolbestemmelse til værdier bestemt med den definitive metode.

I Danmark foretages der regelmæssig udsendelse til de laboratorier, der måtte ønske det, af frosne serumprøver, der hidrører fra samme pulje af humant serum. På dette materiale bestemmes kolesterolkoncentrationen med en *sekundær referencemetode*, der via en *primær referencemetode* refererer til en *definitiv metode*.

Lipidgruppen vil anbefale, at alle danske

laboratorier, der udfører kolesterolanalyser, tilslutter sig denne eller lignende former for ekstern kvalitetsbedømmelse, således at kolesterolniveau kontrolleres mindst 4 gange årligt, med mindst 2 humane referencematerialer med forskellige koncentrationer.

Anvendelse af tørstøfkemiske metoder har vundet nogen indpas i primærsektoren til bestemmelse af totalkolesterolkoncentrationen i fuldblod. Apparatrubbudet er heterogent og udvides hastigt. Flere af de solgte fabrikater viser ved anvendelse i sammenlignende undersøgelser god overensstemmelse med standardprocedure til kolesterolbestemmelse. Der observeres imidlertid uventede afvigelser, som oftest på grund af ukorrekt udtagning af kapillærblod. Selv om de analysetekniske procedurer er simple, er der dog, hvis apparaturet betjenes af uøvede, også her mulighed for betydelig metodebias, hvorfor det anbefales alle brugere af sådanne apparaturer i primærsektoren at tilslutte sig amtslige kvalitetssikringsprogrammer, ligesom de af fabrikanten anvisede metodeforskrifter bør efterleves minutiøst.

Enzymatiske metoder, egnede til automatisering, udviser tilfredsstillende overensstemmelse med resultater fra det nævnte metodehierarki. *Bias* som følge af metodetilpasning til apparaturbetinget krav bør dog altid underkastes individuel undersøgelse.

Afvigelserne fra den sande værdi bør ikke overstige 3%. Den variation, der fremkommer ved gentagne bestemmelse på samme prøve, udtrykt ved en variationskoefficient, bør ikke overstige 2–3%. Disse krav honoreres i dag af ca. 50% af danske laboratorier.

Da kolesterolkoncentrationen undertiden ønskes målt i serum med høj triglyceridkoncentration, bør laboratorierne sikre sig, at dette lader sig gøre uden betydelige afvigelser. Udvalget finder det rimeligt at man sikrer, at man kan måle kolesterol i en prøve med triglyceridkoncentration op til 10 mmol/l ved genfindingsforsøg på to prøver med henholdsvis høj og lav triglyceridkoncentration. Anvendelse af vegetabiliske triglycerid-emulsioner (intralipid) kan ikke anbefales, da emulsionen er

mere lipaseresistent end humane lipoproteiner.

(*fPt*) *S-Triglycerider, stofk.*: Den analytiske variation på triglyceridkoncentrationsmåling er ifølge resultaterne af de danske kvalitetssikringsprogrammer betragtelig. Det er udvalgets opfattelse, at der er et betydeligt behov for bedre akkurate og præcise. Der er i dag ikke, på samme måde som for kolesterol, mulighed for det analyserende laboratorium at sammenligne med sekundære referencemetoder, hvilket øger behovet for nationale og regionale kvalitetssikringsprogrammer.

Ligesom for kolesterolanalyser eksisterer der enzymatiske metoder med god overensstemmelse med referencemetodologi.

Ved anvendelse af kalibrerings- og kontrolmaterialer skal man huske, at mængden af frit glycerol i disse kan være højere, end hvad der almindeligvis findes i patientprøver. Typisk anvendes der ikke korrektion for fri glycerolkoncentration ved analyse af patientprøver (indhold ca. 0,1 mmol/l).

Maksimale afvigelser fra den »sande« værdi (*inakkurate*) på 3–5% og en variation på basis af gentagne bestemmelse på samme prøve (dag til dag) udtrykt som CV% (*impræcision*) af samme størrelsesorden bør tilstræbes og kan med nutidige metoder opnås.

Niveauet af frit glycerol i blodet og i reference- og kontrolplasma er en kilde til *bias* og kan i patientprøver ved patologiske tilstande nå klinisk betydende niveauer.

S-HDL-kolesterol, stofk.: Prospektive epidemiologiske undersøgelser har underbygget værdien af HDL-kolesterol som risikoprædikator for udvikling af iskæmiske hjertekarsygdomme. Det er udvalgets opfattelse, at analytisk klinisk kemi i dag ikke i tilstrækkelig grad lever op til de krav om præcision og akkurate, som den kliniske anvendelse af HDL-kolesterolkoncentrationen forudsætter. Klinisk stillingtagen må derfor aldrig baseres udelukkende på HDL-kolesterol-koncentrationsbestemmelse.

I praktisk klinisk kemi udføres HDL-kolesterolbestemmelse efter forudgående præcipi-

tation af apo-B-holdige lipoproteiner, efterfulgt af en kolesterolanalyse i supernatanten. Blandt de i litteraturen angivne metoder opfylder flere god sammenlignelighed med referencemetoder baseret på ultracentrifugering og standardiseret kolesterolbestemmelse af HDL-fraktionen. Udvalget mener ikke at kunne fremhæve enkelte metoder, men skal anføre, at elektroforetisk bestemmelse af HDL-fraktionen ikke tillader tilstrækkelig præcis og akkurat udtryk for HDL-niveauet, ligesom dextran-sulfat-præcipitation af apo-B-holdige lipoproteiner synes at udvise størst metodebias. Den amerikanske CAP-undersøgelse viser mindst metodebias i gruppen af laboratorier, der anvender fosfor-wolframsyre-MgCl₂-præcipitation, efterfulgt af enzymatisk kolesterolbestemmelse.

Et essentielt punkt er fuldstændig præcipitation af apo-B-holdige lipoproteiner, hvilket specielt kan være et problem ved lipidæmisk (turbid) prøvemateriale. Dette kan sikres ved inspektion af supernatanten. Ved triglyceridkoncentrationer over 5–8 mmol/l er apo-B-præcipitation ofte inkomplet. Fortynding af sådanne prøver er et muligt, men ikke sikkert kontrollabelt hjælpemiddel. Alternativt kan supernatanten ultrafiltreres.

Den vægt, der lægges på niveau og ændringer i HDL-kolesterol-koncentrationen, forudsætter metodebias (inakkuratesse) nær 0 og en impræcision mindre end 1–2 % (CV %). Disse krav opfyldes ikke i dag, hvorfor udvikling af metoder, der honorerer dette, bør prioriteres højt.

(fPt)S-LDL-cholesterol, stofk.: Ved hjælp af de ovenfor anførte analyser kan LDL-kolesterol beregnes under forudsætning af, at apo-B-holdige lipoproteiner er fuldt præcipiterede samt at triglyceridbestemmelsen giver et nøjagtigt mål for VLDL-koncentrationen, der tillader omregning til VLDL-kolesterolkoncentrationen. Dette sidste forudsætter igen en konstant og kendt VLDL-sammensætning, samt et minimalt indhold af kylomikroner. Skyldes betydende dele af triglyceridkoncentrationen kylomikronindhold, er beregnings-

metoder baseret på estimat af VLDL-kolesterol ud fra bestemmelse af serumtriglycerid ikke valide.

Beregning af LDL-kolesterol udføres som en subtraktion mellem total-kolesterol og summen af HDL-kolesterol og beregnet VLDL-kolesterol ved hjælp af Friedewald's formel: total-kolesterol minus (HDL-kolesterol + VLDL-kolesterol).

$S\text{-VLDL-kolesterol, mmol/l} = S\text{-Triglycerider, mmol/l} \times 0,45$.

Beregningsmetoden kan kun anvendes ved triglyceridkoncentration under ca. 5 mmol/l.

Resultatet indeholder alle variationer fra de involverede analyser, såvel præanalytiske som biologiske. Det kræver derfor høj analytisk og laboratoriemedicinsk standard for at resultatet kan bære en klinisk vurdering, evt. stillingtagen til medikamentel antihyperlipidæmisk behandling. Udvalget er klar over, at andre nationale og internationale videnskabelige selskaber har valgt at vurdere behandlingsindikation og -resultat på basis af LDL-kolesterolberegninger. Kravene til repetetive analyser som beslutningsgrundlag har her særlig aktualitet.

REFERENCEOMRÅDER – GRÆNSEVÆRDIER

Bestemmelse af lipid- og lipoproteinkoncentration anvendes i dag næsten udelukkende som prædiktorer for udvikling af aterosklerotiske hjerte-karsygdomme, samt i monitorering af lipidsænkende behandlingseffekt.

Et selvstændigt, om end begrænset, anvendelsesområde angår diagnostik og monitorering af en række genetiske og metaboliske lidelser med forstyrrelser i lipidmetabolismen, hvis konsekvens ikke umiddelbart relaterer sig til aterosklerotiske hjerte-karsygdomme.

Et referenceinterval hidrører sædvanligvis fra målinger på en referencegruppe. Referencegruppen skal være fri for sygdom, der er relateret til koncentrationen af den komponent, man måler. I en stikprøve fra »normal populationen« vil mange have »stum« ate-

rosklerose, dvs. aterosklerose, der først bliver symptomgivende om 10, 20 eller 30 år. Denne stumme aterosklerose er relateret til koncentrationen af kolesterol i blodet. Det er derfor ikke rimeligt at anvende et referenceområde for blodets kolesterolkoncentration baseret på målinger i en referencegruppe, hvor »stum« aterosklerose er hyppigt forekommende. Man har i hovedparten af de vestlige lande valgt at operere med såkaldte grænseværdier. Disse bør angive niveauer, der indikerer stillingtagen til yderligere udredning, evt. korrektion, og som i øvrigt tager hensyn til sundhedssektorens kapacitet og ressourcer. Sådanne værdier er ikke nødvendigvis biologisk optimale.

Udvalget er af den opfattelse, at der påhviler klinisk kemi en betydelig forpligtelse til ved svarafgivelse af angive anvendelige grænseværdier for den rekvirerende læge. Anvendelse af alders- og kønsafhængige referenceområder, baseret på stikprøver af baggrundspopulationen, er af de ovennævnte årsager mindre informative.

Udvalget skal derfor foreslå, at klinisk kemisk analyserende laboratorier i Danmark anvender et fælles sæt grænseværdier, der angiver niveauer, hvor klinikerne bør tage stilling til eventuelle korrektive indgreb. Disse modificeres selvsagt af den enkelte patientsituation, hvori indgår en lang række variabler (køn, familiær anamnese, rygning, blodtryk, forekomst af aterosklerotisk hjertekarsygdom, diabetes mellitus, overvægt, alder etc.).

Forslag til grænseværdier på danske laboratorieskemaer for den voksne befolkning.

<i>S-Cholesteroler (total), stofk.</i>	6 mmol/l
<i>(fPt)S-Triglycerider, stofk.</i>	2,5 mmol/l
<i>S-HDL-cholesterol, stofk.</i>	0,9 mmol/l
<i>(fPt)S-LDL-cholesterol, stofk. (beregnet)</i>	4,5 mmol/l

Det bør understreges, at de valgte grænseværdier repræsenterer arbitrære værdier i kontinuerlige risiko-relationer. Andre nationale og internationale institutioner har valgt andre grænser og kombinationer heraf. Det skal ligeledes fremhæves, at grænseværdier ikke kan sidestil-

les med interventionsværdier, men repræsenterer signalværdier, der kan udløse intervention.

Efter 55–60 års alderen hos mænd, og i alle aldersgrupper hos kvinder, er relationen mellem hyperlipidæmi og aterosklerotisk hjertekarsygdom mindre distinkt og afvejning af rimeligheden af korrektive indgreb bør derfor i særlig grad relateres til andre forhold end de rent biokemiske. I pædiatrien gælder særlige grænseværdier.

RESUMÉ

Dansk Cardiologisk Selskabs fraktion for præventiv cardiologi har nedsat en lipidgruppe med repræsentanter fra Dansk Selskab for Klinisk Kemi, Dansk Selskab for Intern Medicin, Dansk Cardiologisk Selskab, Dansk Hypertension Selskab, Dansk Selskab for Almen Medicin og Dansk Pædiatrisk Selskab. Lipidgruppen har udarbejdet rekommandationer for klinisk-kemiske afdelinger vedrørende lipid- og lipoproteinanalyser. Udvalget foreslår, at der tilbydes rekvirenter af lipid- og lipoproteinanalyser et analyserepertoire bestående af: S-cholesteroler (total), stofk., (fPt)S-Triglycerider, stofk., S-HDL-cholesterol, stofk. samt (fPt)S-LDL-cholesterol, stofk. Effekten af den biologiske variation anbefales minimeret ved prøvetagning i siddende stilling efter 15 minutters hvil samt ved at basere klinisk stillingtagen på minimalt 2–3 bestemmelser med ca. én måneds mellemrum. Den analytiske variation bør nedbringes til under 3% (beregnet som variationskoefficient), og laboratorier bør deltage i ekstern kvalitetssikringssystemer mindst 4 gange årligt ved anmeldelse af mindst 2 humane referencematerialer med forskellige koncentrationer. Da anvendelse af alders- og kønsafhængige referenceområder, baseret på stikprøver af baggrundspopulation, er mindre informative, anbefales at referere til grænseværdier for klinisk stillingtagen. Følgende grænseværdier anbefales: S-cholesteroler (total), stofk.: 6 mmol/l, (fPt)S-Triglycerider, stofk.: 2,5 mmol/l, S-HDL-cholesterol, stofk.: 0,9 mmol/l, (fPt)S-LDL-cholesterol,

stofk. (beregnet): 4,5 mmol/l. Det fremhæves, at grænseværdier ikke kan sidestilles med interventionsværdier, men repræsenterer signalværdier, der afhængig af den kliniske situation kan udløse intervention.

SUMMARY

Jørn Dyerberg, Steen Stender, Gunnar Eg Andersen, Ole Færgeman, Torben Haghfelt, Torsten Hviid, Tonny J. Jensen, Arne Leth, Bjarne Sigurd & Flemming Skovby (The lipid group within the Danish Society for Cardiology, the section for preventive cardiology): Recommendations for clinical chemical departments: Lipid and lipoprotein measurements. *Ugeskr Læger* 1990; 152: 1434–7.

The section for preventive cardiology within the Danish Society for Cardiology has established a lipid group with representatives from The Danish Society for Clinical Chemistry, The Danish Society for Internal Medicine, The Danish Society for Cardiology, The Danish Society of Hypertension, The Danish College of General Practitioners, and The Danish Paediatric Society. The lipid group has elaborated recommendations for clinical chemical departments regarding lipid and lipoprotein analyses. The group suggests that doctors ordering lipid and lipoprotein analyses are offered the following: S-Cholesterol (total), substance conc., (fPt)S-Triglycerides, substance conc., S-HDL-cholesterol, substance conc., and (fPt)S-LDL-cholesterol, substance conc. (calculated). It is recommended that the biological variation be minimized by sampling in a sitting position after a 15 minutes' rest and by basing the clinical decision on a minimum of 2–3 determinations with an interval of about one month. The analytical variations should be reduced to below 3% (calculated as the variation coefficient), and it is recommended that laboratories participate in external quality control systems at least

four times annually by reporting at least two human reference materials with different concentrations. As the use of reference intervals dependent on age and sex, based on random samplings of the background population, are less informative, it is recommended to refer to cutoff values for the clinical decision. The following cutoff values are recommended: S-Cholesterol (total), substance conc.: 6 mmol/l, (fPt)S-Triglycerides, substance conc.: 2.5 mmol/l, S-HDL-cholesterol, substance conc.: 0.9 mmol/l, (fPt)-LDL-cholesterol, substance conc. (calculated): 4.5 mmol/l. It is emphasized that cutoff values cannot be compared with intervention values, but represent signal values which, depending on the clinical situation, might release intervention.

LITTERATUR

1. Cooper GR, Myers GL, Smith SJ, Sampson EJ. Standardization of lipid, lipoprotein and apolipoprotein measurement. *Clin Chem* 1988; 34: B95–B105.
2. Schaffer R. Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the laboratory standardization panel of the national cholesterol education program. *Clin Chem* 1988; 34: 193–201.
3. Report from the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. From the National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, Md. *Arch Intern Med* 1988; 148: 36–69.
4. Study group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: a policy statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 1987; 8: 77–88.
5. Færgemann O, Hansen JF, Hilden T, Olesen ES, Strunge P. Hyperlipidæmi: retningslinier for undersøgelser og behandling. Fra en arbejdsgruppe nedsat af Dansk Selskab for Intern Medicin. 1985.
6. Behandling av hyperlipidemi. Information från Socialstyrelsens läkemedelsavdelning 1988; 5: 152–7.

Extern kvalitetssäkring för proteinanalyser i Sverige

Första användarmötet

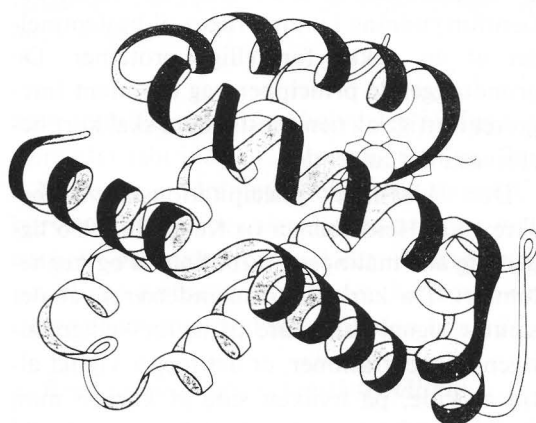
KRISTOFFER HELLSING

Avdelningen för klinisk kemi, Akademiska sjukhuset, S-751 85 Uppsala

När Nationell subkommitté för proteinanalyser (Svenska Proteingruppen) påbörjade kvalitetssäkringssystemet med faktisk början vecka 16, 1989, ingick i planeringen att vi skulle anordna ett användarmöte efter cirka 1 år för att gemensamt diskutera erfarenheter.

Ett sådant användarmöte kom även till stånd 29–30 mars 1990. Till vår glädje kunde vi välkomna dit 49 deltagare från 30 laboratorier samt 11 firmarepresentanter som även deltog med en mindre produktutställning. Lägg därtill ytterligare 3 inbjudna föreläsare så blir totala antalet deltagare 63. Mötet var förlagt till Stora Brännbo kursgård i Sigtuna. På de följande sidorna (sid. 11–29) presenterar vi sammanfattande artiklar av de flesta av föredragen.

I kvalitetssäkringssystemet deltar f. n. 35 laboratorier. 28 av dessa fanns representerade samt dessutom ytterligare 2 laboratorier, som är potentiella deltagare. Vi kunde alltså kon-



statera en närmast totalt uppslutning av de laboratorier som deltar i systemet.

En definitiv slutsats av mötet blev att intresset för frågorna är så stort att det bör tas som in-teckningen för att upprepa mötet – kanske om ytterligare ett år.

Bestemmelse af plasma proteiner v. hj. a. turbidimetri og nephelometri

S. BLIRUP-JENSEN

Afdelingsleder, Klinisk Immunkemi, DAKOPATTS, DK-2600 Glostrup

Kvantitativ bestemmelse af proteiner i biologiske væsker, såsom plasma, serum, cerebrospinalvæske og urin, er idag af stor betydning. Bestemmelsen tjener enten til at bekræfte en

diagnose eller til at følge en sygdom og den deraf følgende behandling. Idag udføres disse kvantitative proteinbestemmelser oftest v. hj. a. automatiske instrumenter, der på

kort tid kan registrere den specifikke reaktion mellem et antigen og det korresponderende antistof i flydende fase. Denne immunkemiske reaktion er imidlertid så hurtig, at optimal programmering af instrumenterne er en vigtig faktor for et troværdigt og reproducerbart resultat.

Ved forsøg er det ikke svært at optimere bestemmelsen af et enkelt protein, men ved rutineundersøgelser i det klinisk-kemiske laboratorium ville det være en stor fordel, hvis den samme standardrække og den samme patientfortyndning kunne bruges til bestemmelser af en række forskellige proteiner. De grundlæggende principper bag et sådant integreret hurtigt og nemt testsystem skal kort beskrives i det følgende.

Den klassiske præcipitationskurve beskrevet af Heidelberger og Kendall i 1935 ligger bag alle målinger i turbidimetri og nephelometri. Da kurvens form indebærer, at det samme signal kan svare til to forskellige antigen-koncentrationer, er det meget vigtigt altid at vide, på hvilken side af kurven man måler. I turbidimetri og nephelometri bør alle målinger foretages på den venstre side af kurven, altså i antistof-overskud. Dette er i modsætning til de kendte gel præcipitationsteknikker, som starter på højre side af kurven – i antigen-overskud – og bevæger sig mod ækvivalens-zonen. Den klassiske kurve, der beskriver signalets variation som funktion af antigen-koncentrationen benævnes ofte dose-response kurven.

Turbidimetri og nephelometri er baseret på optiske aflæsningssystemer. Når en fortyndet antigenopløsning blandes med opløsning af det korresponderende antistof, opstår en tåget uklarhed. Hvis lys sendes igennem reaktionskuvetten, vil det indfaldende lys spredes i en vinkel i forhold til den optiske akse. Denne vinkel er en funktion af størrelsen af de dannede komplekser og bølgelængden af det indfaldende lys. I nephelometri måles intensiteten af det spredte lys, mens turbidimetri er baseret på måling af det transmitterede lys. Idet intensiteten af det transmitterede lys aftager

ved stigende antigen-antistof reaktion, taler man i turbidimetri om, at absorbansen stiger som en funktion af reaktionen.

Det er imidlertid vigtigt at slå fast, at den immunkemiske reaktion i kuvetten er nøjagtig den samme i turbidimetri og nephelometri. Det er blot detektionsprincippet, der afgør, om instrumentet kaldes et turbidimeter eller et nephelometer.

På markedet idag findes mange forskellige typer af automatiske instrumenter, der kan bruges til immunkemisk bestemmelse af proteiner. Afhængig af deres blandeprincip kan disse instrumenter inddeles således:

Centrifugal-analysatorer

Turbidimetri

Cobas Bio
Cobas Fara
Monarch
Encore
Multistat

Statiske instrumenter

Turbidimetri

Cobas Mira

Hitachi 704

Hitachi 717

Technicon RAXT

Nephelometri

Behring Nephelometric
Analyzer

Beckman Array

Alle instrumenter arbejder under softwarekontrol. En del af denne software gør det muligt for brugeren at programmere instrumentet til at foretage målingerne og den efterfølgende beregning i henhold til en optimeret protokol. Det varierer imidlertid meget fra instrument til instrument, hvor åben adgang brugeren egentlig har til at programmere de forskellige parametre i apparatet. Men netop programmeringen af analysen (reagensvolumen, forinkubering, antistoftilblanding, aflæsningstidspunkter, kurvefitning og beregning) er af afgørende betydning for optimale resultater.

Moderne instrumenter kan arbejde med et af tre forskellige principper med hensyn til reagenstilblanding og aflæsningstidspunkter for signaler.

1. Ægte prøveblank (end-point måling)

Den ideelle situation fremgår af figur 1. Først

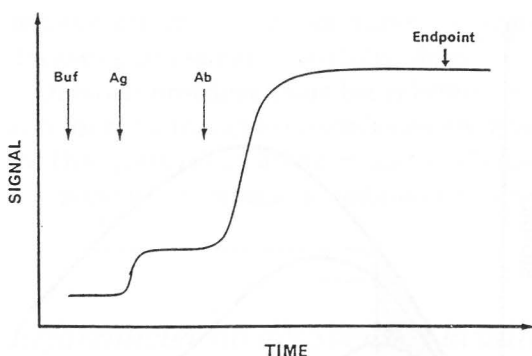


Fig. 1. Signaludvikling som funktion af tid efter successiv tilsætning af buffer, antigen og antistof.

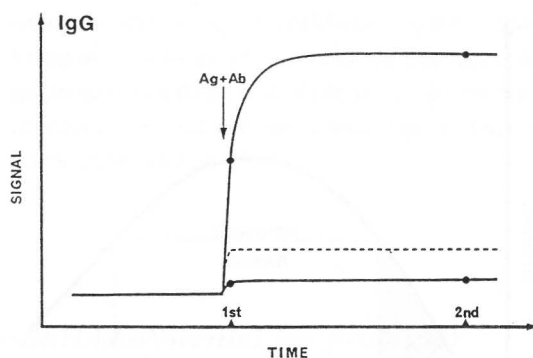


Fig. 2. Signaludvikling og aflæsningstidspunkter ved momentan sammenblanding af buffer, antigen og antistof (IgG).

tilsættes reaktionsbufferen. Derefter tilblandes patientprøven, og efter en forinkubering på 120 sek., aflæses turbiditeten. Denne første aflæsning repræsenterer prøvens blindværdi, og den gemmes i instrumentets hukommelse. Først nu tilblandes det monospecifikke antistof, og turbiditeten øges i takt med antigen-antistof reaktionen.

Når turbiditeten har stabiliseret sig – efter 4–6 minutter – aflæses anden gang. Differencen mellem 2. og 1. aflæsning udgør antigen-antistof reaktionens signal og kan relateres til antigenkoncentrationen, evt. efter korrektion for antistoffets egen turbiditet (reagens blank).

2. Momentan sammenblanding og aflæsning (end-point måling)

Nogle maskiner fungerer imidlertid efter et andet princip, hvad angår tilblanding af antistof og aflæsning af signaler. Initialt sammenblandes reaktionsbufferen, patientprøven og antistoffet. Derefter, så hurtigt som muligt – og det vil normalt være 5–10 sek. efter sammenblandingen – foretages 1. aflæsning.

Når turbiditeten har nået sit maksimum – efter 4–6 minutter – aflæses 2. gang. Problemet er her for det første, at 5–10 sek. er for kort tid til, at prøvens eget signal når at stabilisere sig. Dette kræver normalt ca. 2 minutter. For det andet er reaktionskinetikken mellem antigen og antistof meget forskellig for de enkelte proteiner. For hurtigt reagerende prote-

iner, som f. eks. IgG, vil halvdelen af signalet være gået tabt inden 1. aflæsning (se figur 2).

Dette får en dramatisk effekt på standardkurvens forløb, idet signaltabet er størst ved de høje proteinkoncentrationer. Kurveforløbet bliver derfor mere affladet, hvilket giver større usikkerhed ved interpolation (figur 3).

3. Reaktionshastighed (kinetisk måling)

Det tredje princip består i at aflæse signaltilvæksten pr. tidsenhed og så anvende maksimalværdien – rate max. – som udtryk for reak-

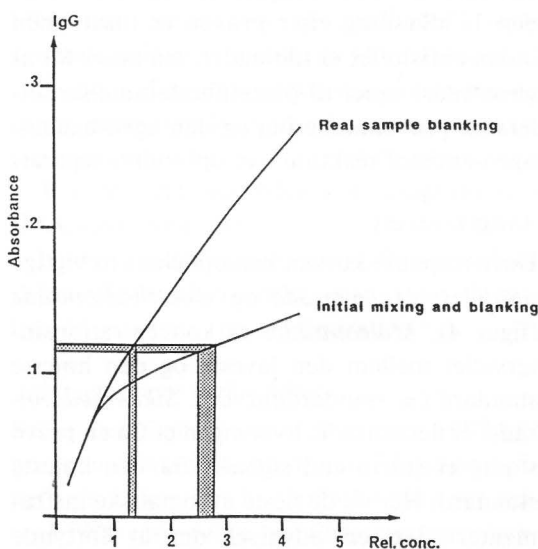


Fig. 3. Standardkurvens forløb optegnet efter de to principper: Ægte prøve blank og momentan sammenblanding.

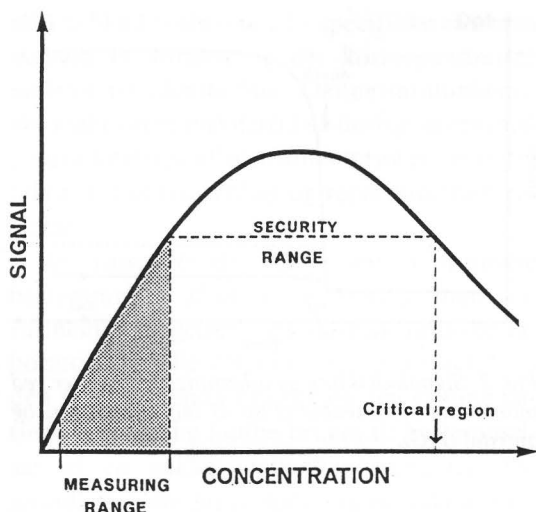


Fig. 4. Dose-response kurve med måleområde og sikkerhedsområde.

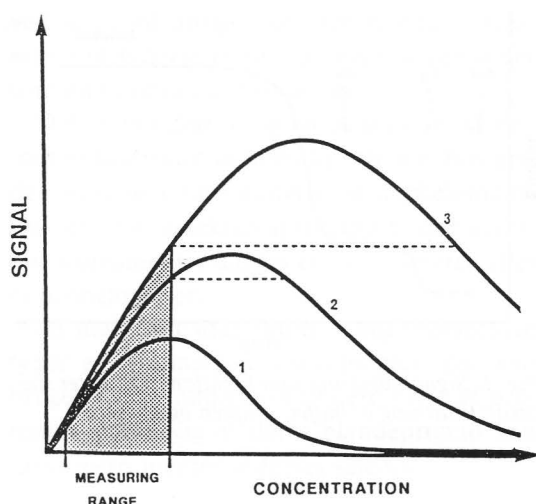


Fig. 5. Dose-response kurver optegnet med stigende antistofkoncentrationer (1 til 3). Måleområdet angivet. Sikkerhedsområde stiple.

tionen. Dette kræver, at aflæsningerne foretages med meget korte intervaller, f. eks. 0,1–0,2 sek., og at prøven derfor forbliver i lysvejen under hele forløbet. Det er ligeledes en forudsætning, at patientens protein reagerer med samme hastighed som kalibratoren.

Det må således konkluderes, at instrumenter, som har den mulighed at kunne foretage den 1. aflæsning efter prøven er tilsat, men inden antistoffet er tilblandet, må anses for at være bedst egnet til proteinbestemmelser, eftersom prøveinkubering og den egentlige antigen-antistof reaktion kan optimeres separat.

Antigen-excess

Dose-response kurven kan opdeles i to vigtige områder: *Måleområde* og *sikkerhedsområde* (figur 4). *Måleområdet* er koncentrationsintervallet mellem den laveste og den højeste standard (= standardkurven). *Sikkerhedsområdet* er det område, hvor signalet fra en prøve stadig er større end signalet fra den højeste standard. Her vil de fleste automatiske instrumenter give en advarsel om at fortynde prøven. Prøver med koncentrationer uden for sikkerhedsområdet vil blive interpoleret på standardkurven. Er prøvens koncentration så-

ledes meget høj, vil den interpolerede værdi på standardkurven helt klart blive for lav (antigen-excess problemet).

Dose-response kurvens form afhænger imidlertid af forholdet mellem antigen og antistof. Figur 5 viser, hvorledes kurven ændrer sig, når antistofmængden øges. Måleområdet er her fastholdt, og man ser tydeligt, hvorledes sikkerhedsområdet er en funktion af antistofmængden.

Det gælder selvfølgelig for enhver analyse om at have den bedste kombination af måleområde og sikkerhedsområde. Problemet er blot, at måleområdet fremgår tydeligt, når standardkurven tegnes. Sikkerhedsområdet ses derimod først, når man gennemfører og optegner et fuldt dose-response forløb. Dette er idag kun muligt at gøre på de såkaldte »åbne« automatiske instrumenter.

Dette var en kort præsentation af nogle af de vigtigste teoretiske og praktiske aspekter, man bør gøre sig klart ved optimeringen af kvantitative proteinbestemmelser v. hj. a. turbidimetri og nephelometri. Sådanne overvejelser og forsøg ligger bag det testsystem, som er udviklet i Dakopatts' laboratorium, og som gør det muligt at bestemme en række

serumproteiner v. hj. a. den samme standar-drække og den samme prøvefortynding.

De basale principper, som her er beskrevet i kort form, vil fremgå af en speciel publikation fra Dakopatts kaldet »Determination of plasma proteins by means of turbidimetry and

nephelometry«, og de praktiske aspekter omkring analysens gennemførelse og den egentlige programmering er allerede for nogle instrumenters vedkommende beskrevet i Dakopatts' Application Notes.

Erfarenheter av det svenska kvalitetssäkringssystemet för proteiner

KRISTOFFER HELLSING

Avdelningen för klinisk kemi, Akademiska sjukhuset, S-751 85 Uppsala

Terminologi

Enligt ECCLS-standarden »Standard for quality assurance« skiljer man mellan

Internal quality control (IQC), som anger »the set of procedures undertaken by the staff of a laboratory for the continual evaluation of the reliability of the work of the laboratory«. Detta är vad vi vanligen kallar kvalitetskontroll på laboratorierna.

External quality assessment (EQA), som anger »a system of retrospectively and objectively comparing results from different laboratories by means of an external agency«. Detta skulle väl närmast kallas kvalitetsvärdering.

Quality assurance avser »the whole programme or activities mounted by laboratories, regions, countries, professional groups or industrial companies in an attempt to improve laboratory performance generally«.

Inom proteingrupp menar vi att det senare uttrycket bäst passar med vad vi avser att försöka åstadkomma och har därför valt uttrycket kvalitetssäkringssystem.

Utveckling

Gruppen utsågs av styrelsen för SFKK i september 1987 och består av Jan Börjeson, Anders Carlström, Kristoffer Hellsing (sammankallande) och Jan-Olof Jeppsson. Den genomförde ett pilotprojekt hösten 1988, som presenterades vid riksstämman 1988. Verksam-

het på reguljär basis startade v. 16, 1989. En del av den dittillsvarande verksamheten presenterades vid Riksstämman 1989.

Arbetsgruppens målsättning

I samband med att gruppen bildades, formulerade vi följande generella verksamhetsområden:

1. åstadkomma gemensam analysnivå för plasmaproteiner vid de svenska kliniskt kemiska laboratorierna. För det ändamålet behövs utarbetande av ett kvalitetssäkringsprogram och specificering av kalibratorer;

2. höja den analystekniska kompetensen inom proteinanalysområdet oavsett använd analysteknik;

3. samarbeta med NKKs proteingrupp och IFCCs proteingrupp.

Under arbetets gång har vi fått ändra på dessa målsättningar något, men i sina väsentliga drag kvarstår de oförändrade.

Arbetsgruppens verksamhet

Sedan det första mötet i december 1987 har gruppen mötts inte mindre än 27 gånger, vilket i praktiken innebär cirka en gång per månad. Vid varje möte har förts minnesanteckningar, som vid det här laget omfattar en mindre pärm. Av det totala antalet möten har 22 skett medelst telefonkonferens, varför

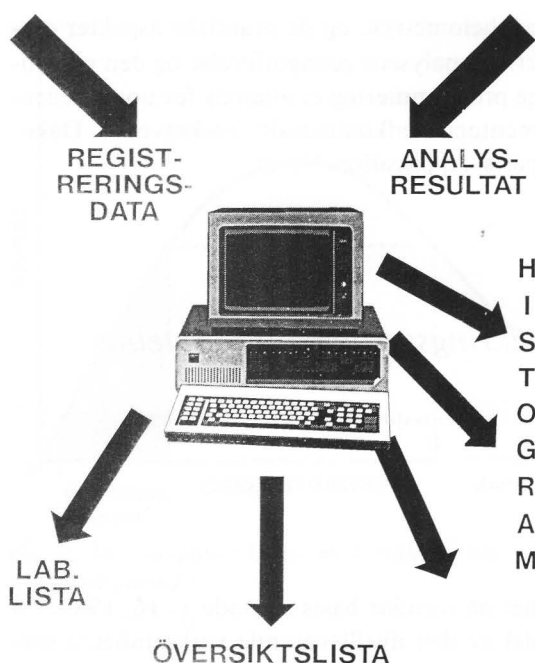


Fig. 1. Uppbyggnad av kvalitetssäkringssystemet

verksamheten kunnat ske utan alltför stora kostnader och tidsavbräck.

Uppbyggnad av kvalitetssäkringssystemet

Systemet har byggts upp i samarbete med Torsten Aronsson. Det har en dator i centrum (Fig. 1), som innehåller detaljerade uppgifter om analysmetoder, utrustningar etc. samt uppgift om vilka proteiner som laboratoriet vill delta med. På basis av dessa uppgifter producerar datorn ett svarsformulär, som sänds till deltagande laboratorier tillsammans med kontrollmaterialen.

Gruppen har till största delen själv producerat kontrollmaterialen (ett för HbA_{1c}, ett för CRP och ett för övriga serumproteiner), som ampullerats av Dakopatts i Danmark. För att ingen skall förledas att snegla på tänkbara resultat, har gruppen producerat sammanlagt sju olika serumkontroller, 7 olika hemolysat och tre olika CRP-material. Dessa har skickats ut på ett slumpartat sätt och utan samband med varann.

Hittills har följande proteiner ingått i systemet:

Albumin
Alfa₁-antitrypsin
C-reaktivt protein
Glykerat hemoglobin, HbA_{1c}
Haptoglobin
Immunglobulin A
Immunglobulin G
Immunglobulin M
Orosomukoid
Prealbumin
Transferrin

Resultaten från de olika laboratorierna har bearbetats varje vecka och sammanställningar har sänts ut så att de nått deltagande laboratorium veckan efter analysen gjorts. Sammanställningen har innehållit uppgift om hur det egna laboratoriets resultat legat i förhållande till medelvärdet för den egna analysmetoden och för samtliga metoder. Resultaten har presenterats i form av:

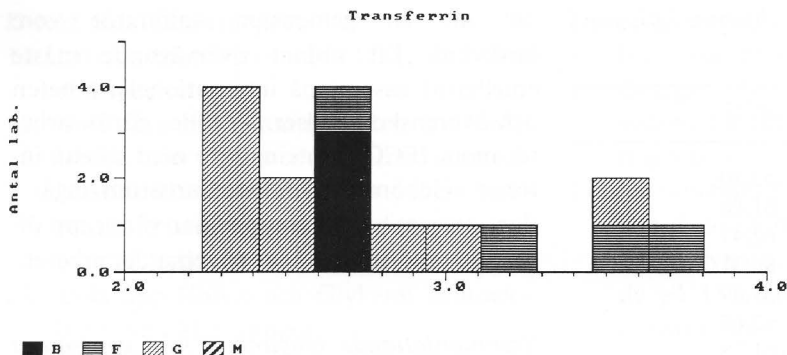
1. Översiktslista som upptar samtliga komponenter och metoder.
2. Histogram som åskådliggör dessa resultat (Fig. 2).
3. Laboratorielista, som upptar det egna laboratoriets resultat och bedömning av dem.

Deltagare

Hittills har 35 laboratorier deltagit.

Besvarande

Hittills har besvarande huvudsakligen skett per post. Emellertid vill gruppen att sammanställningarna skall kunna ske snabbare, varför vi uppmanar till ett ökat användande av telefax. Vi räknar med att under hösten kunna inför en sådan besvaranderutin, vilket kommer att innebära att sammanställningen kan skickas ut redan på torsdagen i analysveckan. På sikt förbereder vi systemet för besvarande via datamodem. Detta har fördelen – förutom snabbheten – av minskad risk för felöverföring samt att användaren själv kan via modem ringa till datorn för att efterfråga den översiktliga sammanställningen.



RESULTAT ALLA METODER

B: Raketmetod

F: Immunofelometri

G: Immunturbidimetri

M: Annan kemisk met.

Analysperiod: 900319

Kontrollmaterial: U12

Medelvärde: 2.89g/l

Stand. dev.: 0.46g/l

Var. koeff.: 16.07%

Antal res.: 16

Var. vidd.: 2.33 - 3.80g/l

Fig. 2. Exempel på ett av de utsända histogrammen gällande analys av transferrin under v. 12.

Slutsatser gällande analysresultatens riktighet

Med nuvarande rutiner kan inte några säkra slutsatser dras generellt. Införande av Cusumplot (vilket är nära förestående) kommer att ge ett bättre underlag för i varje fall beskrivning av resultatens relativa accuracy.

Jag har valt ett enkelt sätt är närma mig begreppet genom att välja ut resultat som avviker med mer än 40 % från totalmedelvärdet. Gränsen 40 % är totalt arbiträr och kan sägas vara extrem för albumin och HbA_{1c}, men inte fullt lika extrem för CRP. Tyvärr finns det relativt många sådana starkt avvikande resultat. Glädjande nog verkar det dock ha skett en minskning av antalet starkt avvikande resultat (Fig. 3). Under första halvåret (v. 16–38) fann vi ett medelvärde av 8,23 avvikande resultat (50 CV%). Under nästa halvår (v. 39–12) var motsvarande medelvärde 4,25 avvikande resultat (36 CV%).

Om orsaken till dessa starkt avvikande resultat kan man spekulera. Några orsaker vet jag emellertid genom kontinuerlig kontakt med de deltagande laboratorier. Till dem hör sammanblandning av prover och felräkningar (användande av en felaktig spädningsfaktor, en felaktig konverteringsfaktor etc.).

Det är uppenbart att en del av problemet består i den använda kalibratoren. Ett och samma laboratorium har under ett längre tag producerat resultat som avvikit med +44–61 % för CRP, ett annat har angett resultat –40–53 % för haptoglobin.

Orsaker till starkt avvikande resultat

1. Sammanblandning av prover.
2. Felräkning.
3. Avvikande kalibrator.
4. Felaktigt utförande.
5. Felaktigt instrument.

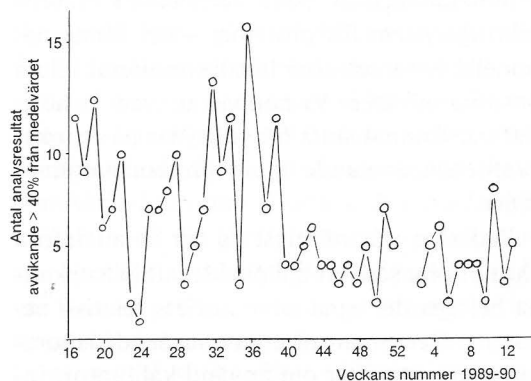


Fig. 3. Antal starkt avvikande analysresultat (> 40 %) under tiden v. 16/1989–v. 12/1990.

Tabell 1. *Medelvärden för albumin (g/l) med olika metoder*

Vecka	Im.nefelo.	BCG
18	66,47	59,80
19	68,70	61,86
22	64,90	62,47
25	65,25	66,31
35	65,18	61,09
39	67,00	62,69
42	69,03	61,28
43	67,21	62,67
44	67,86	60,88

Finns det skillnader mellan olika analysmetoders accuracy?

Ja, det verkade som att immunnefelometrisk analys av albumin skulle ge högre resultat än immunturbidimetri och BCG-metoder (tabell 1).

En uppföljning av vilka kalibratorer som använts visade emellertid att de laboratorier som använder immunnefelometrisk metodik använder sig av andra kalibratorer än de som analyserar med BCG-metoder. Skillnaden kan alltså mycket väl ligga i använda kalibratorer. Detta är något som gruppen räknar med att arbeta vidare med.

Vidareutveckling

Framtagningen av detta nationella kvalitetssäkringssystem för proteiner – det första nationella systemet – har hittills resulterat i flera positiva effekter. Vi hoppas att vad vi hört, sett och kunnat sluta oss till tyder på ett ökat kvalitetsmedvetande inom proteinanalysområdet.

Vad som står närmast på tur är att införa Cusum-plot som ett hjälpmedel att bättre kunna belägga det egna laboratoriets relativa accuracy. Genom att plotta de ingående laboratoriernas uppgifter om använd kalibrator, instrument etc. hoppas vi vidare kunna peka på gemensamma problem. Vi är väl medvetna

om att en gemensam kalibrator vore önskvärd. Ett sådant övervägande måste emellertid baseras på internationella arbeten och överenskommelser. Vi följer därför arbetet inom IFCCs proteingrupp med största intresse. Genom att Anders Carlström ingår i den internationella gruppen har vår grupp direkt och indirekt kunnat påverka det arbetet.

Sammanfattande synpunkter från gemensam diskussion

Under kvällen deltog de flesta av deltagarna i en diskussion av kvalitetssäkringssystemet. Nedan följer kortfattat några av synpunkterna som framkom:

Målformulering

1. Det är viktigt att söka formulera målet med verksamheten. Detta är en iterativ process som alltså skall tas upp vid ett upprepat antal gånger.

Teoretiska aspekter

2. Helst bör systemet vara fullständigt öppet innebärande att förändringar med lätthet skall kunna genomföras.
3. Det är viktigt att hålla fast vid att skilja på kalibrering och kontroll. Om man börjar ändra sin metod på basis av kontrollresultaten använder man kontrollen som kalibrator.
4. Det finns ett starkt uttalat önskemål att få fram åsatta värden (riktvärden) på kontrollmaterialet. Detta skall gruppen börja arbeta med – i första hand gällande HbA_{1c}.

Beräkningsrutiner

5. Skall medelvärde eller medianvärde beräknas?
6. Kanske skulle det vara bättre att använda icke-parametriska beräkningsrutiner?

Plottningsrutiner

7. I första hand skall vi införa Cusumplot.
8. Shewhartplot.
9. Multiple-boxplot.
10. Former för linearitetskontroll vore värdefullt.

Direkt praktisk verklighet

11. Uttryck transferrin i $\mu\text{mol/L}$ järnbindande kapacitet.
12. Omforma histogramutskriften (ex. antal laboratorier skall inte anges med decimal, klassindelningen skall vara i hela koncentrationsenheter så att den lätt kan överblickas)
13. Dela upp HbA_{1c} och Glykerat hemoglobin i två olika grupper.
14. Öka telefaxanvändandet för att minska hanteringstiden.

Framtida projekt

15. Inför linearitetskontroll.
16. Övergå till ett datakommunikationssystem för att ytterligare minska hanteringstiden.
17. Av tänkbara proteinprojekt diskuterades fr. a. kvantitering av M-komponenter, albuminkvantitering (speciellt med avseende på U-albumin inom lågt koncentrationsområde).

CRP – ett kalibreringsproblem?

ANDERS CARLSTRÖM

*Klin. kem. lab., Danderyds sjukhus
S-182 88 Danderyd*

Ganska snart efter det att resultaten börjat strömma in i den svenska proteinkontrollen kunde två problemproteiner identifieras nämligen HbA_{1c} och C-reaktivt protein (CRP) som båda visade en oacceptabel resultatspridning bland de deltagande laboratorierna. Sålunda kunde för CRP variationskoefficienten mellan de deltagande laboratorierna uppgå till 35 % med en variationsbredd på 2–28 mg/l. En förklaring till detta kunde vara att kommersiellt tillgängliga kalibratorer sinsemellan ej visade samstämmighet. Vissa tillverkare uppger att deras kalibrator var ställd mot WHO's CRP-standard, som faktiskt existerar trots andra uppgifter. Andra tillverkare anger ej sitt referensmaterial.

För att utreda denna fråga undersöktes ca 25 olika kalibranter från 10 olika tillverkare. Till att börja med undersöktes de olika kalibranterna med en vanlig agaros screen-elektrofores. Det visade sig då att proteinmatrix varierade på det mest anmärkningsvärda sätt. Man skall då vara medveten om att CRP-analys med turbidimetrisk eller nefelometrisk

metodik är mycket matrix-känslig m. h. t. den relativt låga koncentrationen och därmed den låga utspädningsgraden av proverna. De flesta kalibranterna förelåg i en matrix som ej kunde skiljas från vanligt humant serum men å andra sidan finns det kalibranter som helt saknar en proteinmatrix och sålunda består av rent CRP. En annan kalibrant hade rent albumin som matrix. En tillverkare saluför en serie kalibranter på olika nivåer i syfte att ställa en färdig standardkurva till förfogande. Denna tillverkare hade gått tillväga på så sätt vid framställningen att man blandat rent CRP och serum i olika proportioner vilket medför att matrix varierar med CRP-nivån, vilket man knappast hade förväntat sig av en köpt kalibrantserie även om vi ofta själva syndar på motsvarande sätt. En fabrikant angav dessutom ett CRP innehåll i sina kalibranter som var fyra gånger högre än det verkliga. Förklaringen till detta var att om man använde fabrikantens analysinstrument så fanns det i instrumentet en inbyggd spädningsfaktor på fyra. Koncentrationsangivelsen var sålunda

anpassad till egenskaperna hos ett specifikt instrument, nämligen fabrikantens eget.

I undersökningen ingick också att kalibranterna analyserades med 14 olika metodvarianter med användande av den kalibrant som rutinemässigt användes i respektive metod. I denna jämförelse kom följande instrument till användning: Cobas Fara, Cobas Mira, Technicon RA-1000, Monarch, Multistat, Hitachi 717 och Beckman Array nefelometer. Dessutom analyserades kalibranterna med raketteknik i fem olika kalibreringsvarianter i Malmö och på Danderyds sjukhus.

Det visade sig då som väntat att när den kalibrant analyserades som prov med vilken instrumentet kalibrerats så var utbytet i relation till det av fabrikanten angivna värdet ganska nära 100% men med en ganska stor spridning, 85–107%. När däremot andra kalibranter analyserades så kunde utbytet variera från t. ex. 75% till 152% beroende på vilken metodik som användes. Större variationer fanns men nivåberoende och andra faktorer gjorde resultaten mycket svårtolkade. Intressanta resultat erhöles med rakettekniken där man för en kalibrant, behandlad som prov, fick resultat som låg i storleksordning 150% av det angivna värdet. Analyserades en annan kalibrant var utbytet endast 40% av den angivna nivån. Användes sedan en turbidimetrisk teknik som kalibrerades med samma kalibrant som i rakettekniken så gav den kalibrant (behandlat som prov) som tidigare endast givit ett 40%-igt utbyte nu ett 100%-igt utbyte. Liknande fenomen kunde även ses när man inbördes jämförde vissa turbidimetriska metoder och där skillnaderna möjligen är att hänföra till den blankningsprocedur som tillämpas av olika instrumentfabrikanter.

Det framgick mycket klart av andra föredrag under mötet och under diskussioner att för att kunna göra en tillfredställande turbidimetrisk mätning av speciellt proteiner i det låga koncentrationsområdet så krävs instrument som tillåter att man utför en äkta provblank.

Av de resultat som erhöles i denna under-

sökning kan väl egentligen inga andra slutsatser dras än de att problematiken kring CRP-analysen är mycket komplex och att den analysstandard som vi har i landet inte bara är att hänföra till skiljaktligheter i kalibreringsnivåer, dvs. kalibratorernas riktighet. Uppenbarligen föreligger här också skillnader mellan olika fabrikat vad beträffar proteinets molekyllära tillstånd med konsekvenser för dess epitopegenskaper som uppenbarligen exponeras på olika sätt i olika tekniker. Detta kan också uttryckas så att det mellan olika kommersiella kalibrаторer saknas parallellism eller om man föredrar att kalla det proportionalitet. På så sätt kommer analysprincipen ha en betydelse. Dessutom betyder analysinstrumentets konstruktion mycket vilket bl. a. illustreras av olikheter i möjligheten att göra en äkta provblank.

Ett annat fenomen som har stor betydelse för turbidimetri och nefelometri är det analytiska systemet, dvs. buffertkomposition och tillsatser av olika typer av detergents. Vid den följande kvälldiskussionen, i vilken det var meningen att deltagarna skulle ventilerat sina problem beträffande CRP-analysen, så visade det sig att vi inte kom någon vart med de rent analytiska problemen. Orsaken var att flera företag saluför färdiga lösningar att användas och där fabrikanten ej talar om vilka beståndsdelar som ingår i deras analytiska system. En närmast bisarr illustration av denna situation utgör det rykte som spreds om att en fabrikant hade hittat någon form av »super-PEG» som ingick i deras reaktionsbuffer. Så länge man inte känner analysbetingelserna så är det ganska meningslöst att försöka bena i de problem som uppstår i vissa analysituationer. Här sitter vi helt enkelt fast och det finns ingen annan möjlighet att komma ur denna situation än att man samfällt vägrar att köpa reagens från de tillverkare som hemlighåller sammansättningen av sina reagens. Denna uppfattning framfördes vid sammanfattningen av mötet inför en stor skara representanter för olika företag. Mitt intryck var att man från den kommersiella sidan hade förstå-

else för detta problem. Tillrättaläggande kom i vissa fall omgående men det finns fortfarande en bit kvar att gå.

Man kan hoppas att kalibreringsproblemen kommer att lösas i och med att den nya inter-

nationella interimistiska matrix referenspreparationen från IFCC introduceras 1991. Där-
emot kvarstår i övrigt ovan nämnda faktorer
som problem i samband med analys av CRP.
Arbetet kan börja!

Kvalitetssäkring av HbA_{1c}

JAN-OLOF JEPPSSON

Klinisk kemi, Allmänna sjukhuset,
S-214 01 Malmö

HbA_{1c} är idag en etablerad markör vid metabolisk kontroll av framför allt insulinberoende diabetes. Användning av den glykerade formen av hemoglobin i detta sammanhang har varit känd sedan 1975. Ett stort antal metoder har använts med varierande framgång. I dag är jonbytkromatografi (HPLC) tillsammans med affinitetskromatografi dominerande där den förra metoden numera ökar i popularitet på bekostnad av andra metoder. Orsaken är bl. a. jonbytkromatografins bättre precision och avsaknad av batch till batch variation samt lättheten att automatisera, vilket är några av affinitetskromatografins nackdelar (1). De två metoderna mäter helt olika saker: Affinitetskromatografi ger totalmängden glykerat hemoglobin dvs. glykeringen av aminosyran lysins sidokedjor, medan HbA_{1c} definieras som glykering av den N-terminala aminosyran valin i molekylen β-kedjor. I dagarna lanseras en tredje princip: en ELISA-metod baserad på en monoklonal antikropp (Novo Nordisk Diagnostics Ltd, Cambridge, UK) speciellt riktad mot den glykerade N-terminala peptiden. Preliminära försök visar mycket god överensstämmelse med jonbytkromatografi och en acceptabel inom- och mellanserieprecision. ELISA-metoden kalibreras mot HPLC-jonbytkromatografi och har fördelen att den är helt specifik för HbA_{1c}.

Kliniker har ett flertal gånger vid olika symposier och i enkäter efterlyst större samstäm-

mighet mellan olika laboratorier vid analys av HbA_{1c}. SFKK:s proteingrupp har därför tagit upp HbA_{1c} i sitt kvalitetssäkringsprogram i likhet med många andra europeiska länder. Vid Sigtunamötet redovisades första årets resultat inkl. en enkät samtidigt som vi kom överens om att gemensamt införa flera modifieringar, vilket skall leda till en förbättrad analyskvalitet i framtiden.

Metoder

En enkät innefattande uppgifter om metodval, instrumentering, kvalitetssäkring och refer-

FÖRENKLAD HbA_{1c}-ANALYS 1990 (Mono S jonbytare)

Modifiering av: CLINICAL CHEMISTRY 32 (1986) 1867

17 µl centrifugerade blodkroppar + 900 µl citrat/fosfat, pH 5.4
(0.02 M Na-citrat, 0.055 M Na-fosfat, 0.1% Triton)

Inkubera 30 min, 37°C
(hämolyse och eliminering
av preHbA_{1c})

Centrifugering 3000 rpm, 15 min

Kontrollera färgen
visuellt (Hb 4-8 g/l)

HPLC

A: 0.02 M Malonat, 0.02%
Na-azid, pH 5.7. Gradient

A + 0.185 M NaCl

Flöde: 3 ml/min, 11 min gradient

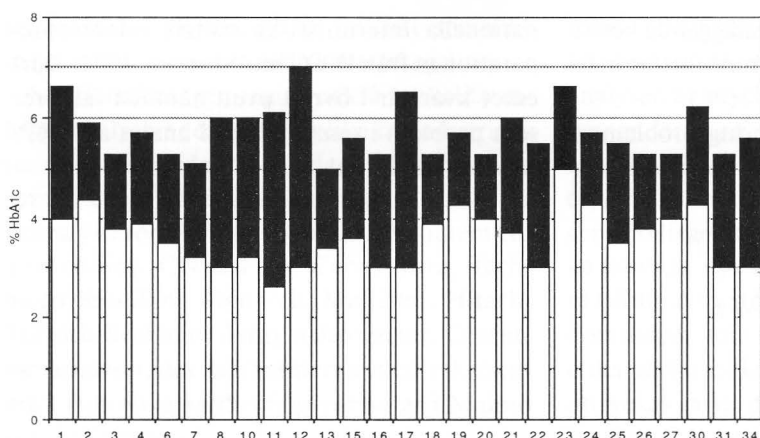


Fig. 1. Uppgivna referensområden. Då endast en högre gräns angivits, har den lägre gränsen 3,0 % använts i diagrammet.

ensområde utfördes under februari 1990. Utgångspunkt för referensstudierna har varit en modifiering av den ursprungliga metoden (2): Litiumklorid har utbytt mot natriumklorid i saltgradienten, för att undvika flush och takykardi hos några medarbetare. Natriumazid, 0,02 % slutkoncentration, har visat sig ha mycket god bakteriostatisk effekt trots att pH är lägre än 7, vilket är optimalt pH för maximal effekt av natriumazid. Den långa inkubationstiden av erythrocyter i fysiologisk koksalt för att eliminera pre-HbA_{1c} har ersatts med en 30 min inkubation vid pH 5,4 (3) samtidigt som hemolys sker av blodkroppar.

Resultat

Av 27 deltagande laboratorier använder 24 jonbytkromatografi (HPLC). Huvuddelen

utnyttjar Mono S katjonbytare (Pharmacia) tillsammans med ett antal olika konventionella HPLC-system. Ett mindre antal använder specialdesignade HPLC-utrustningar för HbA_{1c} (Biorad eller Daiichi). Ett laboratorium använder fortfarande elektrofokusering och två affinitetskromatografi. Svarsprocenten var 27/31 eller 87%. Figur 1 visar angivna referensområden, vilka visar alltför stora variationer. Laboratorier med brett referensområde har en större andel slumpfel i sin metod. Ett av tre tillgängliga hemolysat med varierande HbA_{1c}-koncentration har slumpmässigt sänts ut under varje vecka sedan hösten 1989. Figur 2 visar ett typiskt exempel från vecka 36, 1990. Resultaten från affinitetskromatografi, som mäter glykerat hemoglobin skall mycket riktigt ligga på en högre nivå, övriga

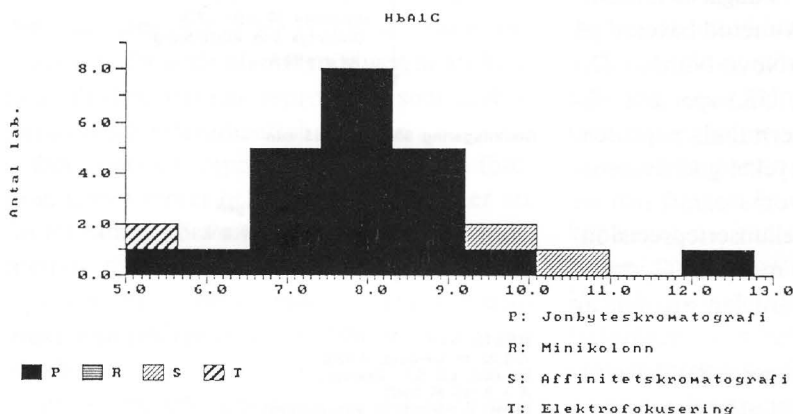


Fig. 2. Resultat av utskickat hemolysat vecka 36/90 från 25 laboratorier. Medelvärde 8,42 %, V.K. 18,8 %.

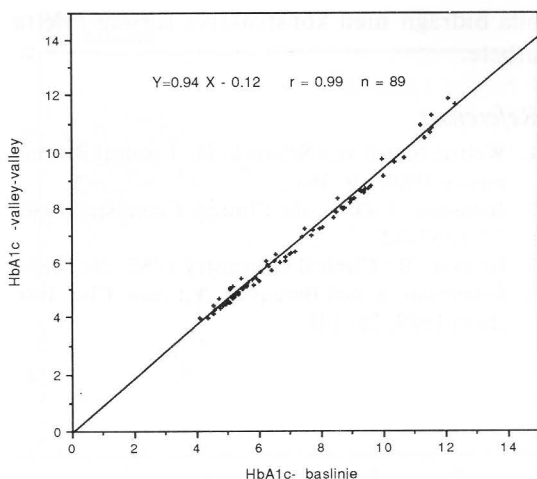


Fig. 3. HPLC av identiska hämolysat, men olika integreringsprinciper.

resultat visar alltför stor spridning för att vara kliniskt acceptabla.

Det praktiska förarbetet till Sigtunakonferensen inleddes med diskussion och tester av olika integreringsmetoder. Två olika metoder »baslinje» och »valley-valley» dominerar.

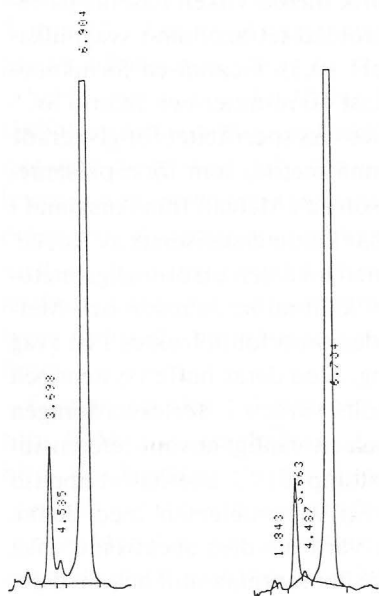


Fig. 4. Två exempel på integreringsprinciper. Baslinje (t. v.) och valley-valley (t. h.). A_{1c} har i detta system retentionstiden 3,6 min. HbF ses t. v. om A_{1c} , HbA₃ t. h. om A_{1c} .

Praktiska försök framför allt i Falun har visat att »valley-valley» integrering är mera robust och ger därför bättre resultat i praktisk verksamhet. Figur 4 ger exempel på två integreringsprinciper och jämförelse av dessa framgår av figur 3. Valley-valley integrering ger ca 8% lägre värden. Denna princip användes även av Biorad och Daiichi.

Under en gruppövning för speciellt intresserade gavs möjlighet att inventera praktiska problem, bl. a. diskuterades kvaliteten på nuvarande Mono-S-kolonner, filterpappermetoden för HbA_{1c}, som utvecklats i Falun (4) samt resultaten i Stockholmsstudien (Bio-Bol). Denna studie visar på svårigheten att idag jämföra olika metoders resultat inom ett sjukvårdsområde.

Diskussion

Resultaten av ett kvalitetssäkringssystem och en enkät visar att förutsättningarna är mycket goda för att i Sverige förbättra kvaliteten av HbA_{1c}-analyser och därmed i stor sett uppnå gemensamma referensområden. Huvuddelen av laboratorierna använder jonbyttarkromatografi-HPLC. ELISA-metoden, som sannolikt kommer att visa sig vara intressant, är även kalibrerad mot samma HPLC-metod. Det laborativa förfarandet har kraftigt förenklats jämfört med ursprungspublikationen 1986, vilket innebär minskad arbetsinsats och högre kapacitet på varje HPLC-system. Enkäten visade på stort tekniskt och kemiskt kunnande samt mycket hög teknisk standard på befintlig kromatografiutrustning.

Följande rekommendationer gavs för att öka kvaliteten av våra HbA_{1c}-analyser:

1. Valley-valley integrering rekommenderas.
2. Två hemolysat med »Target values» skall tillverkas under hösten 1990. Jämförelse skall ske med en kalibrator utvecklad i EG:s regi. »Target values» erhålles från jämförande HbA_{1c}-analyser vid fem olika laboratorier.
3. Hemolysaten med rekommenderade HbA_{1c}-nivåer kommer att distribueras under senare delen av hösten 1990 till samtliga

ga deltagare på SFKK:s proteinkvalitets-säkringsprogram.

4. Samtliga laboratorier uppmanas därefter att trimma sin utrustning och bestämma nya referensområden om möjligt i tjugoårsintervall.

Arbetsgrupp

Ett speciellt tack riktas till Jan Börjesson, Helsingborg, Yngve Bergqvist och Solveig Eckerbom, Falun samt Benny Larsson, Malmö som

alla bidragit med konstruktiva förslag i detta arbete.

Referenser

1. Wettre, S. och von Schenck, H.: Clinical Biochemistry 1986; 19: 364.
2. Jeppsson, J. O. et al.: Clinical Chemistry 1986; 32: 1867-72.
3. Bannon, B.: Clinical Chemistry 1982; 28: 2183.
4. Eckerbom, S. och Bergqvist, Y.: Ann. Clin. Biochem 1989; 26: 148.

Enkät rörande användningen av fruktosamin

ANDERS KALLNER

*Basenheten klinisk kemi, Karolinska sjukhuset
S-104 01 Stockholm*

Den 29-30 mars möttes SFKK:s Proteinstandardiseringsgrupp i Sigtuna. Jag hade där tillfälle att sammanfatta resultatet av den enkät ni besvarat och rapportera några studier rörande bestämningen av S-Fruktosamin med olika reagens och kalibratorer.

Vi sände ut 39 enkäter och erhöll svar från 28 laboratorier. Av dessa utförde 11 bestämning av S-Fruktosamin. Av dessa 11 hade 5 övergått till den nya »Roche Plus»-metoden medan 5 fortfarande använde den gamla kalibreringen och 1 använde en alldeles egen metod som dock sades korrelera väl med övriga. Referensvärden som uppgavs för den nya kalibreringen var 285 mol/L medan de laboratorier som använde den gamla kalibratoren angav värden 2,7 mmol/L eller 2,5 mmol/L. Alla laboratorier som arbetade enligt den gamla metoden tillverkade egna reagens.

De instrument som användes var PRISMA, Cobas Bio, Cobas Mira, Cobas Fara, Multistat, Optima, Hitachi 717 samt Varian Super Scan. Endast ett laboratorium erbjöd protein-korrektion.

Innehållet i min presentation om kalibre-

ring och standardisering var i stor sett följande.

Bestämningen av S-Fruktosamin utförs med en ospecifik metod vilken baseras på reduktion av nitroblått tetrazolium i svagt alkalisk lösning (pH 10,3). Genom en förinkubation under minst 10 minuter och mättid av 5 minuter erhålles viss specificitet för glykerade proteiner. Denna metod, som först presenterades av Johnson och Metcalf från Auckland i Nya Zeeland har kommersialiserats av Roche. Ett av problemen med den ursprungliga metoden var val av kalibrator. Johnson och Metcalf anvisade deoximorfolinofruktos i en svag albuminlösning. Med deras buffertsystem och kalibrator erhöles värden i storleksordningen 2-3 mmol/L och ett vanligt använt referensintervall har varit upp till 2,7 alternativt upp till 2,5 mmol/L. Ett av problemen med denna kalibrator har varit att dess spektrometriska egenskaper icke har sammanfallit helt med det glykerade proteinets i serum. Phillipou et al. visade 1988 (Clin Chem) att man genom att tillsätta detergent (Triton X-100) kunde få DMF att skifta sitt absorbtionsspektrum så att

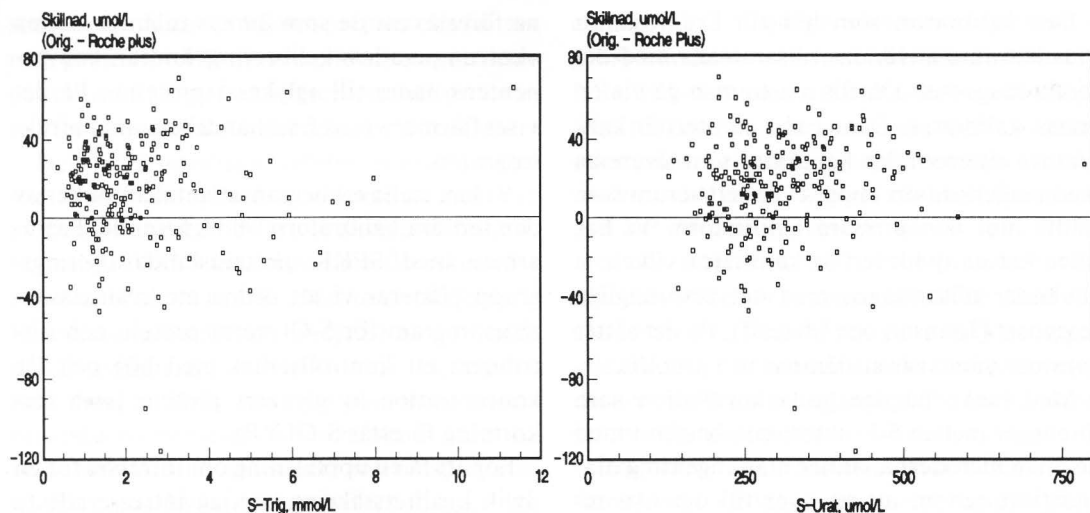


Fig. 1. Skillnaden i mätvärden erhållna med original resp. Fruktosamin Plus-reagens i relation till samtidigt uppmätta S-Triglycerider (t. v.) och S-Urat.

det överensstämmer med det man ser i serum. Vi visade (Clin Chem 1989) att i ett system där bufferten innehåller Triton får man en ökad känslighet för urat. Även fysiologiskt förekommande uratkoncentrationer kunde ge en falsk ökning av S-Fruktosamin med upp till 3 mmol/L. Denna ökning kunde elimineras genom tillsats av uricas.

Schleicher et al. (Clin Chem 1990) har beskrivit en ny kalibrator för fruktosamin. Denna utgörs av glykerat polylysin, som har fördelen att kunna glykeras i varierande grad men också att glykeringsgraden kan bestämmas med en oavhängig metod (t.ex. elementaranalys). Användningen av denna kalibrator tycks förutsätta närvaron av detergent i bufferten.

Genom att den tidigare använda kalibratortorn (DMF) skilde sig från glykerat protein bl. a. vad beträffar reaktionsbenägenhet kom man att överskatta fruktosaminkoncentrationen. Med den nya kalibratortorn får man istället mätvärden i storleksordningen 200–300 mol/L. Den nya reagenssatsen saluförs av både Boehringer och Roche under beteckningen Fruktosamin Plus.

Såvitt man kan bedöma är leverantörernas

reagens identiska, det är också frukten av ett gemensamt utvecklingsarbete.

Vi undersökte om det finns en korrelation mellan resultaten av den tidigare metoden och den nya. Vi fann en mycket god korrelation mellan resultaten ($r = 0,977$; $Y = 0,84x + 68$), ($r = 0,962$; $Y = 0,72x + 74$) och ($r = 0,969$; $Y = 0,85x + 70$) vid försök med olika metodvarianter och kalibratorer. Korrelationskoefficienten är i samma storleksordning som den företagen publicerar.

Eftersom det nya reagenset innehåller både detergenter och uricas kunde det vara av intresse att undersöka om skillnaden i mätvärden på något sätt är korrelerat till endera triglycerider eller urat. Som framgår av figur 1 föreligger det ingen som helst korrelation mellan skillnaden i utfall och dessa två komponenter. Tillsatserna av detergent och uricas förändrar inte bestämningens natur på ett meningsfullt sätt. I reklamen framhålls mindre »matrixeffekter» varmed sannolikt menas lipemiska sera. Med den utspädning vi arbetar är detta emellertid inte något allvarligt problem. Enligt uppgift påskyndas reaktionen så att den kan läsas av redan efter 7–8 minuter, vilket är ett måste för Hitachi's instrument.

Den kalibrator, som hör till Fruktosamin Plus kan inte användas tillsammans med det gamla reagenset. Därför måste man gå via en annan kalibrator. Denna blir en »tertiär kalibrator» eftersom den kalibrator som levereras med reagenssatsen uppges vara ett serum som ställts mot den primära kalibratoren. Vi har tillverkat en dylik tertiär kalibrator vilken vi använder tillsammans med det ursprungliga reagenset (Johnson och Metcalf). På det sättet kommer våra svar att lämnas ut i $\mu\text{mol/L}$.

Med tanke på den goda korrelation som föreligger mellan S-Fruktosamin bestämt med de olika metoderna vinner man ingenting diagnostiskt genom att gå över till det nya reagenset, däremot blir överförbarheten av resultat mellan olika laboratorier större. Med tanke på att man inte erhåller fullständig överensstämmelse mellan de två metodvarianter-

na föreslås att de som ämnar tillämpa denna »korrumperade» kalibrering ändrar komponentens namn till »glykerat protein». På det viset fjärrar vi oss från handelsnamnet »fruktosamin».

Vi kan ställa ett begränsat antal ampuller av den tertiära kalibratoren till förfogande. I samarbete med SFKK proteinstandardiseringsgrupp planerar vi att ordna ett kvalitetssäkringsprogram för S-Glykerat protein och distribuera ett kontrollserum med hög och låg koncentration av glykerat protein (som förkortning föreslås S-GLYP).

För att få en uppfattning om intresset för en dylik kvalitetssäkring ber jag intresserade ta kontakt direkt med mig. De som så önskar sänder jag gärna en fullständig referenslista enligt ovan.

En ny internationell proteinstandard skall ersätta nuvarande WHO standarder

ANDERS CARLSTRÖM

*Klin. kem. lab., Danderyds sjukhus
S-182 88 Danderyd*

I oktober 1988 anordnades i Pont-a-Mousson ett möte gemensamt för IFCC och ECCLS i syfte att undersöka möjligheterna att tillsammans ta fram ett nytt referensmaterial för serumproteiner. I mötet deltog även representanter från diverse andra organisationer bl. a. WHO och BCR (Community Bureau of Reference inom EG).

Skälet till detta initiativ var att man påpekat från vissa håll, industri och forskare, att man ifrågasatte WHO standardens stabilitet. Det primära referensmaterialet från WHO för immunglobuliner framställdes 1970 vilket gör att den med ålderns rätt kan ha förändrats. Dessutom finns ej denna standard längre i sådan kvantitet att den är tillgänglig i en om-

fattning man skulle önska vilket speciellt har konsekvenser för diagnostikaindustrin. Vid mötet beslöts att man skulle sätta igång arbetet för att ta fram en interimistisk europeisk standard för att fylla det omedelbara behovet.

Ovanstående möte resulterade i ett nytt möte i april 1989 i Frankfurt med deltagande av medlemmarna i IFCC's arbetsgrupper för proteiner, representanter för NCCLS, College of American Pathologists (CAP), industrin samt BCR. Vid detta senare möte, som var påtagligt konstruktivt, framkom det att behovet av ett nytt referensmaterial var stort, akut och globalt varför man enades om att i IFCC's regi och utan medverkan av ECCLS så fort som möjligt ta fram en »International interim

secondary matrix reference preparation for serum proteins». Därefter skulle arbetet inriktas på framställning av en »International primary reference preparation for serum proteins».

Den interimistiska referenspreparationen var avsedd att fylla det omedelbara behovet av en ny standard och skulle därför ställas mot befintliga WHO och/eller amerikanska referenspreparationer (US National Reference Preparation for Serum Proteins) som till stor del är avläggare till WHO's referenspreparation. Den av IFCC-gruppen planerade interimistiska referenspopulationen skulle sålunda bli sekundär till dessa senare referenspreparationer vars kvantitetsangivelser bygger på »consensus» och ej på gravimetriskt kvantitering av rena proteiner. För fyra proteiner, som redan finns i renframställd form och som i några fall har givit standardiseringsproblem, frångår man emellertid detta förfarande med sekundärstandardisering och gör en direkt överföring av kvantiteter från rena proteiner till en serummatrix. De proteiner som behandlas på ovanstående sätt är Transthyretin (Prealbumin), α 1-antitrypsin, Orosomucoid och Transferrin. Orsaken till detta är att dessa proteiner är tillgängliga i ren form och dessutom vill man hålla nere antalet omstandardiseringar speciellt då i samband med att den primära matrix referenspreparationen introduceras. För α 1-antitrypsin kommer många laboratorier att tvingas byta nivå på ett ganska dramatiskt sätt då många vedertagna kalibratorer skiljer sig åt med en faktor två.

Den primära matrix referenspreparationen skall så långt som möjligt bygga på torrviktsbestämningar av renframställda proteiner och avsikten är att påbörja arbetet på denna preparation så fort man är klar med den interimistiska preparationen. Med utgångspunkt från denna primära standard framställs därefter en sekundär matrix referenspreparation som kommer att vara tillgänglig för laboratorier av olika slag och för diagnostikindustrin.

Arbetet påbörjades omgående och ovanstående tillvägagångssätt har godkänts av BCR och av amerikanska instanser. I samband med

att den CAP (College of American Pathologists)-standard som används för tillfället i USA är förbrukad kommer man att i USA gå över till den nya internationella interimistiska sekundärstandarden. Detta kommer att ske under senvåren 1991 vilket gör att IFCC-gruppen har en kraftig press på sig att vara färdig med den interimistiska referenspreparationen tills dess vilket av gruppen betraktas som fullt genomförbart. Tidsplanen för projektet anger sålunda att den interimistiska sekundärstandarden skall vara tillgänglig för användarna senast sommaren 1991.

Projektet, som finansieras av BCR, har framskridit så långt att serum tappats från blodgivare på fem europeiska blodcentraler varav Danderys Sjukhus blodcentral är en. Denna insamling kompletteras nu i augusti och september för att uppnå en slutlig volym på 40 l varav hälften skall motsvara det europeiska behovet och hälften det amerikanska. Processningen av serum skall påbörjas under hösten 1990. Stabilitets- och homogenitetsundersökningar av det ampullerade och frystorkade materialet skall utföras och arbetet avslutas med en »value transfer» med deltagande av ett flertal laboratorier i Europa och USA. En »value transfer trial» har genomförts i Europa med deltagande av ett 20-tal laboratorier med överraskande gott resultat beträffande samstämmighet och precision. Denna »trial» tjänar som en test av det protokoll som utarbetats för värdeöverföringen samt som en förberedelse för den slutliga värdeöverföringen från nu gällande standarder (WHO och USNPSP) till den nytappade serumvolymen.

IFCC-gruppen tillämpar en regel, som också är ett krav från BCR, vilken innebär att alla steg i processningen av referensserum och alla värdeöverföringsprocedurer skall dokumenteras och publiceras i form av IFCC-dokument. I detta ligger det hittills största problemet i IFCC-gruppens arbete då man på en väsentlig punkt nämligen delipidiseringen av serum kolliderat med kommersiella intressen. Alla problem finner dock sin lösning.

Ett stort arbete har lagts ned på att bl. a.

verifiera att tillsatser och andra process-steg ej modifierar de ingående proteinerna. Det svenska bidraget har här varit av relativt stor omfattning.

Helt nyligen har det meddelats från WHO

att man ställer sig positiv till möjligheten att upphöja de nya IFCC(BCR/CAP)-standarderna för serumproteiner till status av WHO-standarder.

Svenska proteinsäkringssystemet – synpunkter från SFKK

JAN BÖRJESON

*Avdelning för klinisk kemi, Lasarettet i Helsingborg
S-251 87 Helsingborg*

Frågan om ett nationellt kvalitetssäkringssystem för klinisk kemi har länge diskuterats inom Svensk förening för klinisk kemi. Det råder inom professionen enighet att laboratorierna utöver den interna kvalitetskontrollen bör delta i ett externt kvalitetssäkringsprogram. De flesta europeiska och nordiska länderna har sedan länge också utvecklat sådana nationella program. I Sverige har emellertid den externa kvalitetssäkringen bedrivits på regional basis. Någon samordning av dessa regionala system till ett nationellt system har ej varit möjlig.

Varför är det då så viktigt att vi har ett nationellt kvalitetssäkringsprogram?

– Vi har en skyldighet inför våra kunder och patienter att kunna beskriva och säkerställa en definierad kvalitet på våra laboratorieanalyser.

– Vi måste harmonisera analysresultaten både när det gäller vårt sjukvårdsdistrikt, vår region och också inom landet. Detta är inte minst viktigt för patienter som idag söker sjukvård på skilda inrättningar över landet.

– Genom kvalitetssäkringsprogrammen får vi ett underlag för val respektive bortval av analysapparatur och analysmetoder.

1987 beslöt därför SFKK:s styrelse att successivt bygga upp ett nationellt kvalitetssäkringssystem. Vidare beslöts det att man skulle star-

ta med kvalitetssäkring av proteinanalyser, ett område som ej täcktes av de regionala kvalitetskontrollprogrammen. Erfarenheten från proteinprogrammet skulle sedan få ligga till grund för en utvidgad allsidig kvalitetssäkringsverksamhet.

Användarmötet i Sigtuna utgör ur många synvinklar en milstolpe i den nationella kvalitetssäkringens historia. Vid mötet fanns för första gången representanter för nästan alla svenska laboratorier som utför proteinkemiska analyser. Proteingruppen ser det som en absolut nödvändighet att alla som använder ett kvalitetssäkringssystem minst en gång om året får komma samman för att diskutera uppläggningsen av kvalitetssäkringssystemet och inte minst vad som kan göras för att förbättra analyskvaliteten på de enskilda komponenterna.

För att kvalitetssäkringsprogram skall fungera väl krävs ett intimt informationsutbyte mellan dem som organiserar och driver systemet och användarna. En gemensam databas med lagring av de enskilda användarnas analysutrustning, metoder och resultat från de olika kontrolltillfällena är en förutsättning för att sammanställa relevant information. Denna information kan sedan spridas till deltagarna via t.ex. användarmöte, informationsblad eller genom direkt kontakt mellan användare och databas. »Proteingruppen» har för avsikt

att i framtiden intensifiera detta information-sutbyte ytterligare.

Erfarenheterna från det Svenska protein-säkringssystemet har varit så goda att SFKK:s styrelse har beslutat att föreningen bör verka för en utvidgning av kavalitetssäkringspro-

grammet att omfatta samtliga områden inom klinisk kemi. Verksamheten skall vara öppen för alla som bedriver kliniskt kemiskt analysarbete. Vidare bör verksamheten drivas i stiftelseform, fristående från användare och producentintressen.

NORDKEM publicerar!

Vi har nöjet att meddela om en ny Nordkem-publikation, som nyss har utkommit som resultat av projektarbetet inom Nordkems regi:

KVALITET OG KONTROL I KLINISK KEMI

Analytiske kontrolregler for den enkelte serie

P. Hyltoft Petersen & T. Dreyer

ISBN 951-47-4011-4

ISBN 0783-2907

Boken utgör den första delen av en planerad bokserie för undervisningen av personal vid sjukhuslaboratorierna. Boken har utkommit

på det danska språket och kommer även att publiceras på det svenska språket inom kort. En finsk översättning utges i ett senare skede.

Denna bok kan rekvireras från NORDKEMS kansli i Helsingfors till ett pris på Fmk 40,00 per styck inklusive porto.

Adress:

Nordkem Sekretariatet

Stengårds sjukhus

Norra Hesperiaagatan 23 A

SF-00260 Helsingfors

Telefon: Int. + 358 0 409 178

Telefax: Int. + 358 0 442 591

Från läsekretsen

Bilden på framsidan av KKN nr 1, 1990

Jag måste protestera mot tolkningen i KKN, 1990; 2: 9.

Den introverta blicken, då tungan svullnat upp, tyder ju klart på att vårt första experimentella belägg av Cl-esterasinhitordefekt faktiskt bevisats.

En allegorisk tolkning: – ty vem är räva i kyrkan?

Var klarsynt kemist mände yrka,
att räven, som Bacchus ses dyrka,
i tungsvullet skick

med simmigt i blick,
nog var fan, som tog Dieffvul i kyrka.

En relaterande variant:

En värsting såg i Härkeberga
sin chans att helt gudfruktigt svärja
i kyrkograffiti
med rävfanan mitti;
Albertus sa' se'n: »Sisådärja»

Roy Hansson,

Kemiavd, Centrallasarettet, Växjö

ALAT

[alanine aminotransferase]

ASAT

[aspartate aminotransferase]

CK

[creatine kinase]

γ -GT

[γ -glutamyltransferase]

Snart är tiden inne
för IFCC:s referensmetoder
anpassade av ECCLS
till praktiskt rutinbruk

**BOEHRINGER
MANNHEIM**
SCANDINAVIA

Karlsbodavägen 30
Box 147
161 26 Bromma

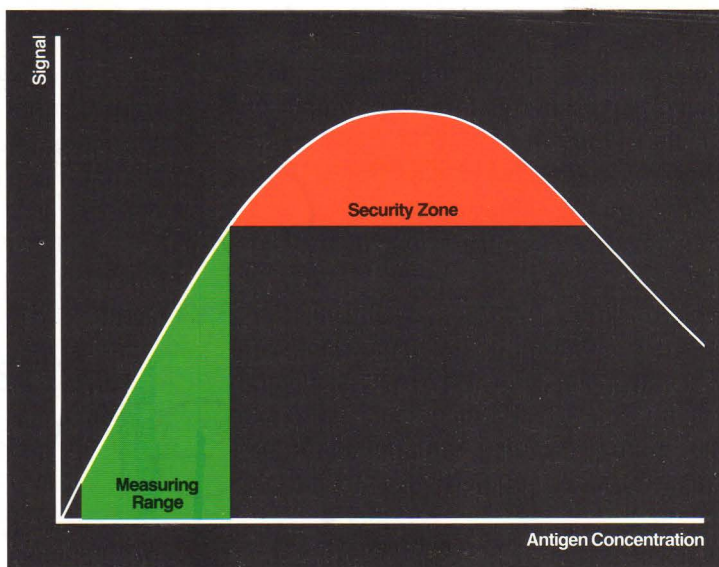
Telefon: 08-98 81 50
Telefax: 08-98 44 42



Turbidimetry and Nephelometry for Clinical Immunochemistry

Complete Test System for Quantitative Determination of Proteins

Dose response curve describing the signal as a function of the antigen concentration at a given antibody concentration.



The DAKO-System offers:

- A wide range of specific protein determination
- Minimum re-run of samples due to wide measuring range
- Maximum security against errors caused by antigen excess
- Same sample dilution for a number of tests
- Same standard dilution for a number of proteins
- Application notes for most used automated analyzers



Danmark	Finland	Norge	Sverige
DAKOPATTS A/S	Suomen biotekniikka Oy	Bio-Test A/S	DAKOPATTS ab
Produktionsvej 42 2600 Glostrup	Sinikalliontie 4 02630 Espoo	Rødsveien 4C Kråkerøy 1600 Frederikstad	Elsa Borgs gata 30 126 06 Hågersten

Nordisk Förening för Klinisk Kemi (NFKK)

NFKK har som syfte att verka för utvecklingen av klinisk kemi i Norden. Den består av medlemmarna i de vetenskapliga föreningarna för klinisk kemi i Danmark, Finland, Island, Norge och Sverige. Verksamheten i NFKK bedrivs bl. a. genom de två huvudkommittéerna, Metodkommittén och Klinikkommittén och ett antal arbetsgrupper. Föreningen står dessutom för arrangerandet av de nordiska kongresserna i klinisk kemi.

Styrelsen består av från: **Danmark:** Ove Lauritsen, Egil Raabo, Sten Stender; **Finland:** Aimo Ruokonen, Reijo Vihko, Lasse Viinikka; **Island:** Leifur Franzson (sekreterare), Eggert Johansson, Veigar Gudmundsson (ordförande); **Norge:** Ludvig Daae, Sverre Landaas, Inge Romslo; **Sverige:** Jan Börjeson, Arne Hamfelt, Carl-Henric de Verdier.

Nordiskt Samprojekt för Klinisk Kemi (Nordkem)

Nordkem inrättades år 1977 i syfte att främja samarbetet mellan sjukhuslaboratorierna i Norden. Till och med 1982 bedrevs verksamheten på försöksbasis och med finansiering från Nordiska ministerrådet. Därefter övergick verksamheten till reguljära former, varvid finansieringsansvaret överfördes till hälsovårdsmyndigheter och sjukvårdshuvudmän i de fem länderna.

Nordkems högsta beslutande organ, dess styrelse, är trepartsammansatt och består år 1990 av: för **hälsovårdsmyndigheterna:** Erik Magid (DK), Jarmo Pikkarainen (SF), Eggert Johansson (IS), Pål Bjørnstad (N), Kurt Roos (S); för **laboratoriemedicinen:** Mogens Hørder (DK, ordförande), Raimo Tenhunen (SF), Veigar Gudmundsson (IS), Inge Romslo (N), Carl-Henric de Verdier (S); för **sjukvårdshuvudmännen:** Johanne Louise Dithmer (DK), Arvo Relander (SF), Ragnar Akre-Aas (N), Thorsten Thor (S, vice ordförande).

Sekretariat: Erkki Leskinen, Arno Nyberg, Sinikka Savolainen. För adress: se omslagets sida 2.

TILL MANUSKRIPTFÖRFATTARE

Bidrag till KLINISK KEMI I NORDEN sändes i två exemplar till den nationella redaktören, som finns angiven på omslagets andra sida. Manuskripten skall vara maskinskrivna och följa de instruktioner som angetts i Vancouver-avtalet (Nordisk Medicin 1988; 103: 93–6). Språket skall vara nordiskt.

Meddelanden och korta inlägg skrives helst fortlöpande, medan längre artiklar med fördel delas i avsnitt med en kort överskrift.

Tabeller skrives på särskilda ark tillsammans med en text, som gör tabellen självförklarande.

Figurer måste vara av tekniskt god kvalitet med text och symboler tillräckligt stora för att tåla förminskning. Till varje figur skrives en förklarande text.

Litteraturhänvisningar numreras i den ordning de anges i texten och skrives som i följande exempel:

Sandberg S, Christensen NB, Thue G, Lund PK. Performance of dry-chemistry instruments in primary health care. Scand J Clin Lab Invest 1989; 49: 483–8.

Innehållet i de insända artiklarna kommer inte att genomgå vanlig granskning med referee-system. Redaktionskommittén kommer emellertid att värdera alla manuskript innehållsmässigt och redaktionellt och eventuellt föreslå ändringar.



The Kodak Ektachem 700XR, 500 and DT60 analyzers. The right choices for every application from major metropolitan trauma center to rural community hospital.

Hospitals and healthcare facilities come in different sizes, with different needs. So Kodak Ektachem analyzers come in different models. Designed for the biggest, busiest labs, the 700XR analyzer offers random access to over 35 tests, with a high throughput of up to 750 tests per hour and remarkable ease of use. The Ektachem 500 analyzer, at 300 tests per hour, is ideal for community hospitals, satellite laboratories and clinics. It has the same extensive test menu as the 700XR. Then for decentralized testing requirements, the DT60 analyzer delivers on-the-spot hospital-quality results with a menu of over 25 tests.

Cost? Less than you think. When all the factors—consumables, parts, supplies, labor and analyzer efficiency—are taken into account, Kodak Ektachem analyzers compete with any system on cost per billable test.

MORE WAYS TO CUT COSTS, FROM KODAK

Clinical Products

