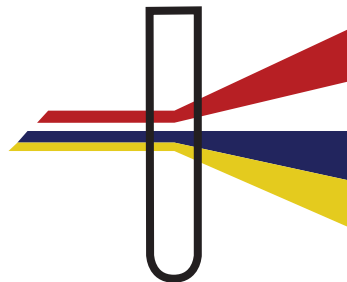


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 4, vol. 17, 2005

Klinisk kemi i nutid och framtid	6
<i>Ingunn Torsteinsdóttir</i>	
Nytt från NFKK.....	7
<i>Per Simonsson</i>	
Bestämning av steroider med vätskekromatografi-tandem-masspektrometri (LC-MS/MS).....	8
<i>Esa Härmäläinen, Ursula Turpeinen og Ulf-Håkan Stenman</i>	
Albuminmodifierat kalcium eller totalkalcium	14
<i>Anders Larsson</i>	
Indførelse af 1. trimester screening med dobbelt-test	18
<i>Lennart Friis-Hansen</i>	
Troponin som biokemisk markör vid diagnostik av hjärtinfarkt.....	28
<i>Susann Eriksson og Kim Pettersson</i>	
Blodgasprojektet i Skåne – Hur blev det i verkligheten?	36
<i>Per Simonsson</i>	
Biochimica Clinica – quo vadimus?	41
<i>Anders Kallner</i>	
SKUP – Resume af 3 U-hCG laboratorieafprøvninger i SKUP regi	44
<i>Esther Jensen</i>	

Forsiden: Venesection.

Klinisk kemi i nutid och framtid

Ingunn Torsteinsdottir



När jag arbetade som ST-läkare på reumatologen på Akademiska sjukhuset i Uppsala i början av 90-talet var min första kontakt med laboratoriet den att de skickade till oss utskrivna svar och personalen på avdelningen skrev in dem i patientjournalen. Det första man gjorde om man såg ett oväntat svar var att kontrollera om någon hade skrivit fel resultat, flyttat på en komma, lagt till eller glömt en nolla, eller skrivit svaret i fel rad på svarsbladet. Mycket har

har hänt under dessa 15 år i laboratoriet vad gäller utvecklingen inom informationsteknologin.

I detta nummer av KBN har vi bland annat en artikel om blodgasprojektet i Skåne, där man har byggt upp en landstingsomfattade organisation mellan laboratoriemedicin, kliniska avdelningar och industrin för att samordna, kvalitetssäkra och förbättra blodgasanalysernas kvalitet i Skåne. Detta är ett lysande exempel på projekt som vi andra kan dra lärdom av. Alla inköp av blodgasinstrument är nu samordnade i Skåne-regionen. Laboratoriepersonalen medverkar vid inköp av instrument och kontrollerar också alla instrument i regionen, de gör i princip allt förutom att analysera patientprover. Analysresultat överförs från de patientnära instrumenten till de aktuella elektroniska journalsystemen. Man har även infört elektroniska beställningar. Detta leder till klara pre- och postanalytiska fördelar när det gäller kvaliteten och man undviker flera manuella moment och möjliga felkällor. I början av nittio-talet skulle detta handlingsätt inte ha varit möjligt därför att IT-teknologin inte ännu hade utvecklats tillräckligt.

Under mina tolv år i laboratoriet har stora förändringar ägt rum, både när det gäller IT-utveckling, automatisering, nya tekniker och nya analyser - till stor nytta för oss och den kliniska verksamheten. Jag tycker inte man skall vara rädd för dessa förändringar utan lyfta fram det positiva i hela

händelseförloppet. Vi kan nu koncentrera oss på viktigare saker på labbet och låta LIS och automatisering underlätta arbetet med proverna och svaren. Istället kan den viktigaste resursen på laboratorierna, personalen, ta hand om andra arbetsuppgifter, t. ex. lära sig de nya spännande tekniker som är på väg till labben. I en artikel i detta nummer om en relativt ny sådan teknik på de klinisk kemiska laboratorierna, masspektrometri, använder författarna Esa Hämäläinen och medförfattare ett nytt ord/begrepp för mig, masspektromister, en person som kan masspektrometri. Här har vi ett exempel på ett kunskapsområde vi måste lära oss.

I de flesta nordiska länderna har vi haft rekryteringsproblem till specialistutbildningen i klinisk kemi. NFKK och KBN ordnade en kurs för ST-läkare i klinisk kemi i Norden om kommunikation i augusti. Kursen ägde rum på en segelskuta utanför Skåne och Själland. Ombord fanns ST-läkare från alla de Nordiska länderna utom Island. Under kursdagarna bodde vi tätt intill varandra och umgicks från morgon till kväll, vilket ledde till att vi lärde känna varandra. På denna kurs lade jag märke till att det finns ett flertal kompetenta unga personer med stark framåtanda under utbildning som gör framtiden för klinisk kemi mycket ljusare.

Nytt från NFKK

Per Simonsson



Den första höstkulingen råder över Öresund och det hade varit kyliga om inte dieselvärmaren Dickinson Pacific stilla spridit sin värme i kajutan. För två månader sedan seglade en stor del av den nordiska kliniska kemins framtid över vattnen här utanför. Det var en seglats vi sent skall glömma. Några stormar drabbade oss inte

och sjösjukan slog bara till sporadiskt. Snarare var det stämningen ombord jag minns, när ett dussin unga kliniska kemister från Danmark, Norge, Sverige och Finland och några seniora kollegor mönstrade på segelskutan Helene av Ystad. Befälet fördes av en grupp gamla sjöbjörnar med många års erfarenhet av brokiga besättningsmän, men kliniska kemister saknade de nog erfarenhet av.

Vi var inte de enda skeppen till sjöss utanför Malmö. Deltävlingen i America's Cup pågick och ostindiefararen Götheborg gled fram ur diset. Det var svårt att veta vad man skulle beundra, racingmaskiner om styrbord, östindiefararen om babord. Vi kunde vara lugna: Bess Frøyshov från Norge fattade tidigt rodret och blev seglatsens mest hängivne styrman.

Målet var att ge några unga kollegor en introduktion och en övning i kommunikation. Vi hade några seminarier i kajutan, längs vars skott våra kojor fanns. Efter övningarnas slut dukades midagen fram. Utsökt kök och bra viner ur skutans kölsvin. När vädret tillät åt vi stående runt lastlyckan som blev kommunikationskursens centrum. Där pågick diskussioner, förbrödring och försystring och stunder av soldyrkan. Kursen ställdes mot Helsingör, sen vidare med nordvästlig kurs mot Gilleleje där Kategatt öppnar sig mot västerhavet. Tredje dagen kryssade vi ner till svenska ön Ven, med dess danska vetenskapshistoria från astronominas genombrottstid. Sista dagen väcktes vi av att Helene tidigt lämnat kaj för en kryss i åtta knop tillbaka mot Malmö.

Det blev mycket kommunikation på seglatsen! Den var givetvis meningen. Inte många av deltagarna kände varann men säkert har vi här kollegor som kan skapa grogrund för ett framtida nordiska samarbete, mitt i alla europeiska och globala nätverk. En improviserad grupp, med en medlem från varje land, bildades men mål att se hur dessa kommunikationer kan utvecklas vidare. Det skall bli spännande att se vad NFKKs styrelse får för förslag för framtiden.

NFKKs styrelse samlas snart igen, för säkerhets skull på fast mark. Vi har löpande ärenden på agendan. NORDFOND har fått flera bra ansökningar, nästa nordiska kongress i Köpenhamn i juni 2006 skall diskuteras, projekt skall avrapporteras. Av dessa projekt är nu NORIPs implementering i klinisk praxis en viktig fråga. För utan införande är det stora arbetet gjort i onådan. NORIPs spin-off projekt om barnreferensintervall har i sommar haft sitt första möte och kommit långt. Frånsett att preliminära resultat skall presenteras på Nordiska kongressen 2006 är det glädjande att det är mest yngre kliniska biokemister som engagerat sig. Det är inte ett lätt projekt och vi kan bara försöka stödja arbetet, som ju sker vid sidan om alla andra aktiviteter en laboriemedicinare skall hinna med.

En viktig punkt är att samla styrelsen och redaktionen för KBN för att ta fram nya aktiviteter som vi kan driva. För en förening är inte bättre än de resultat den åstadkommer. Det finns mycket spännande på gång inom laboriemedicinen. Frågan är vad vi kan göra gemensamt över landsgränserna. Men NORIP har visat vägen, och tydligt illustrerat att nordiska samarbeten kan ge större möjligheter. Förslag från medlemmarna välkomnas givetvis!

Till sist, glöm inte NOBIDA! Där har vi en viktig biobank för framtida arbete!

Bestämning av steroider med vätskekromatografi-tandem-masspektrometri (LC-MS/MS)

Esa Hämmäläinen, Ursula Turpeinen och Ulf-Håkan Stenman

Laboratoriet vid Helsingfors Universitetscentralsjukhus och Institutionen för klinisk kemi, Helsingfors Universitet. E-post: esa.hamalainen@hus.fi



Bakgrund

Vätskekromatografi-masspektrometri (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) är i dag en av de mest effektiva analytiska metoderna för kvalitativ och kvantitativ bestämning av flera olika slag av molekyler. Vanligen används en tandem masspektrometer (MS/MS), som möjliggör fragmentering av valbara molekyler och kvantitering av fragmenten. Ett litteratursök på metodbeskrivningar från de senaste fem åren i tidskriften *Clinical Chemistry* visar att LC-MS/MS är starkt på kommande i kliniska laboratorier. Antalet artiklar, i vilka man har använt LC-MS/MS har ökat från sex år 2001 till 22 år 2004 och trenden förefaller fortsätta.

LC-MS har hittills främst använts för diagnostik av metaboliska sjukdomar hos nyfödda. Inom medicinindustrin är den en rutinmetod för bestämning av läkemedel och deras metaboliter, men allt fler kliniska laboratorier bestämmer speciellt immunsuppressiva medel såsom takrolimus, sirolimus, everolimus och syklosporin med LC-MS/MS. Metoden används även i ökande grad för bestämning av katekolaminer och deras metaboliter (adrenalin, noradrenalin, 5-HIAA, HVA, VMA, metanefriner). Under den senaste tiden har LC-MS alltmer börjat användas för bestämning av steroidhormoner, såsom androgener, kortikosteroider och estrogener samt homocystein och metylmalonsyra. LC-MS används även för analys av proteiner, och karakterisering av hemoglobinvarianter med MS är nu en snabb och enkel metod. MS är även en lovande referensmetod för kvantitativ bestämning av proteiner i serum och urin, men praktiska tillämpningar låter ännu vänta på sig.

Orsakerna till att LC-MS/MS vinner terräng är flera – användning och service har blivit enklare och priserna har sjunkit drastiskt. En användbar apparatur kostar dock ännu över 200 000 euro men MS/MS är ändå ett reellt alternativ för allt flera laboratorier. De tekniska egenskaperna har utvecklats, och uppfattningen att masspektrometriska metoder är svåra och arbetsdryga är därför föråldrad. Utveckling av metoderna kräver visserligen specialkunnande, men att underhålla en färdig applikation är relativt lätt. Då derivatisering av provet sällan är nödvändigt är förbehandlingen föga tidskrävande, och därför tävlar LC-MS framgångsrikt med automatiska immunoanalytatorer för ett flertal bestämningar. Fastän anskaffnings-kostnaderna är höga är användningen billig på grund av ringa reagenskostnader. Hittills har bristen på kunniga masspektromister varit en flaskhals, men i och med att apparaterna blir allt vanligare torde situationen förbättras ⁽¹⁾.

Bestämning av steroidhormoner

Utvecklingen av kommersiella immunologiska metoder för bestämning av steroider under det senaste decenniet har inte enbart medfört fördelar. På grund av kravet på automatisering har man frångått extraktion och kromatografisk rening av proverna och förkortat inkubationstiderna. Analytiken har blivit snabb och reproduibiliteten god men specificiteten och känsligheten har minskat samtidigt som inverkan av störande komponenter har ökat. Det är genant för oss kliniska kemister att detta kunnat pågå så länge, men under den senaste tiden har man börjat fästa uppmärksamhet vid steroidmetodernas bristfälliga validering ⁽²⁾. Nya immunmetoder har sällan jämförts med referensmetoder utan med andra immunologiska metoder, och därför har de automatiska immunologiska metodernas ofta kata-

strofalt dåliga kvalitet inte uppdagats. Resultaten i externa kvalitetsstudier visar att resultatnivån mellan olika metoder kan variera otillåtligt mycket, t.o.m. fem och tiofalt. Manuella RIA-metoder ger ofta bättre resultat, men eftersom efterfrågan på sådana metoder minskat har diagnostikindustrin inte kunnat upprätthålla välfungerande manuella RIA-metoder med extraktion. Som en följd av detta har kvaliteten på de gamla metoderna sjunkit. Uppenbarligen har vi oss själva att skylla för denna utveckling – vi har okritiskt anammat automatiska metoder fastän vi borde ha noterat försämringen i kvalitet.

För steroidanalytik erbjuder LC-MS/MS uppenbar analytiska fördelar jämfört med immunologiska metoder och i kombination med isotoputspädning (ID-MS) används den som referensmetod. Man undviker problem förorsakade av ospecifika antikroppar, bindarproteiner, matriceffekter och andra störande faktorer såsom läkemedel och variande reagenskvalitet. Även i immunologiska metoder kan man undvika dessa problem genom att använda extraktion och kromatografisk rening före, men samtidigt ökar variationen. Även om LC-MS/MS kräver extraktion av provet, är metoden ekonomiskt fördelaktigare samtidigt som den är analytiskt överlägsen och mindre krävande tekniskt. Det är lätt att uppnå en hög provhanteringskapacitet därför att förbehandlingen kan göras i stora serier. HPLC-apparaten är försedd med en automatisk provmatare och körtiderna för kromatografen är korta (2-10 min). Kombinationen av den höga specificiteten i MS/MS med HPLC:ns höga separationsförmåga, gör det möjligt att nå mycket hög specificitet och känslighet. Därför är bestämning av kliniskt viktiga steroider med LC-MS/MS i många hänseenden en konkurrenskraftig teknik. LC-MS är visserligen dyrare än analys med en automatiska immunalaysator, men i de fall där dessa inte ger tillförlitliga resultat bör man inte använda dem. Att göra det är i vårt tycke jämförbart med kvacksalveri, och det skall vi inte syssla med.

LC-tandem masspektrometers funktion

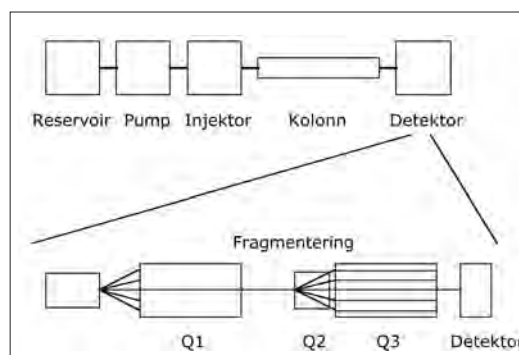
Jonisation med elektro spray (ESI) har spelat en central roll för utvecklingen av masspektrometrin. Molekylerna i provet försätts i ett laddat tillstånd, vilket gör det möjligt att separera dem i masspektrometern, som vanligen kopplas till en högupplösande

vätskekromatograf (HPLC). Det finns många olika typer av masspektrometrar, t.ex. kvadrupol, jonfälla, hybrid-kvadrupol-TOF, FT-IRC och MALDI-TOF. För analys av steroider används vanligen en HPLC anluten till en kvadrupolmaskin (bild 1, princip).

Bestämning av kliniskt viktiga steroider med LC-MS/MS

Masspektrometriska metoder har utvecklats för de flesta kliniskt viktiga steroiderna i serum och urin, såsom testosteron, 5 α -dihydrotestosteron och androstendion⁽³⁻⁸⁾, kortikosteroider såsom kortisol, kortison, 17 α -hydroxyprogesteron och 11-deoksikortisol⁽⁹⁻¹⁶⁾, mineralokortikoiden aldosteron⁽¹⁷⁾, estrogener (estradiol, estron), progesteron⁽¹⁸⁻¹⁹⁾ och olika steroidmetaboliter⁽²⁰⁻²³⁾. LC-MS/MS har används också för screening av kongenital binjurehyperplasi (CAH) hos nyfödda. Genom samtidig bestämning av 17 α -hydroxyprogesteron, kortisol och androstendion ur ett kapillärblodprov kan man avsevärt förbättra screeningresultatens specificitet⁽²⁴⁾.

Kortisol, 17 α -hydroxyprogesteron och testosteron kan lätt bestämmas med LC-MS/MS. Dessa steroider joniseras bra med ESI och producerar minst ett fragment, som kan användas för kvantitering. Med ESI kan man jonisera neutrala föreningar om man tillsätter t.ex. ammoniumacetat i eluenten då föreningens protonaffinitet är större än den för ammoniak. Vid fragmentering av testosteron och 17 α -hydroxyprogesteron bildas positivt laddade



Principen på en LC-MS/MS. Den övre bilden är en HPLC-apparat, där detektorn är ersatt med en masspektrometer.

(Fortsätter side 10)

(Fortsat fra side 9)

joner, och dessa kan bestämmas i samma körning. Kortisol ger bättre känslighet med negativt laddade joner. Estrogenernas koncentrationer är pikomolära och därför lyckas direkt tandem masspektrometri vanligtvis inte utan derivatisering (19).

Metodernas känslighet beror i hög grad på masspektrometern, men man kan genom rätt val av HPLC-kolonn och buffert påverka slutresultatet. Det är alltid nödvändigt att förena serum- och urinprover. Utan rening stör bakgrunden bestämningen och man uppnår inte tillräcklig känslighet.

Vi använder LC-MS/MS rutinmässigt för bestämning av kortisol i serum och urin, kortison, 11-deoxykortisol, 11 α -hydroxyprogesteron, testosteron, andostendion i serum samt tetrahydrokortisol, allo-tetrahydrokortisol och tetrahydrokortison i urin (tabell 1) (12, 13). Applikationer för några kliniskt viktiga steroider beskriv i detalj nedan.

Kortisol

Kortisol i serum och fritt icke-konjugerat kortisol i urin används vid utredning av hyper- och hypokortisolism och som tilläggsundersökning vid diag-

nosticering av blodtryckssjukdom (AME, *apparent mineralocorticoid excess syndrome*) tillsammans med kortison och tetrahydrometaboliter i urin (THE, allo-THF och THF) (25). Immunologiska och vätskekromatografiska metoder påverkas av interferens av andra endogena steroider, och läkemedel så som prednisolon och karbamazepin. Det är svårt att få radioaktiva interna standarder för immunokemiska extraktionsmetoder men deutererade standarder för LC-MS/MS är numera tillgängliga.

Vi extraherar kortisol ur serum eller urin med diklormetan och extraktet separeras med HPLC på en RP-18 kolonn med vatten-metanolgradient. En analysid på 10 minuter ger tillräcklig separation, kortisol elueras vid 4-5 minuter efter huvudparten av störande ämnen (12). Som intern standard används deutererat kortisol. Kortisol med molekylvikten 362.5 fragmenteras till en negativt laddad jon enligt följande: 361 ----> 331 med förlust av 30 amu, vilket sannolikt motsvarar en klyvning av kol-kol-bindningen mellan atomerna 20 och 21. Variationen mellan körningarna rör sig kring 4-8% (CV) men känsligheten beror på apparaturen. Med API 2000 (Applied Biosystems) når vi en känslighet på 800 pmol/L (kvot signal/bakgrund=3) och med

(Fortsätter side 12)

Lista på steroider som rutinmässigt bestäms med LC-MS/MS på Kvinnoklinikens laboratorium.

Analyt	Amu	Mode	Fragmentering			Injektions-volym μ L	API 2000	API 3000
							Känslighet nmol/L S/N = 3	Känslighet nmol/L S/N = 3
Kortisol	362,5	ESI-	361,1	>---->	331	5	0,8	0,02
Kortison	360,4	ESI-	359,1	>---->	328,8		2	
17-OH-Progesteron	330,5	ESI+	331,2	>---->	96,1; 109,0	25	0,2	
11-Deoxykortisol	346,5	ESI+	347,2	>---->	109,1	25	0,3	
Tetrahydrokortisol	366,5	ESI-	365,2	>---->	335	5	0,5	
Allotetrahydrokortisol	366,5	ESI-	365,2	>---->	335	5	0,8	
Tetrahydrokortison	364,5	ESI-	363,1	>---->	333,3	5	0,4	
Testosteron	288,4	ESI+	289,1	>---->	97,2	25	0,1	0,03
Androstendion	286,4	ESI+	287,1	>---->	97,2	25	0,1	
Dihydrotestosteron	290,5	ESI+	291,1	>---->	255,1	25	10	
Pregnenolon	316,5	ESI+	317,4	>---->	299,3	25	6	
17-OH-Pregnenolon	332,5	ESI+	350,2	>---->	133,2	50	50	
		ESI+	333,2	>---->	133,1	50	100	

(Fortsat från sida 10)

API 3000 är känsligheten 20 pmol/L. I båda fallen injiceras en volym som motsvarar 5 µL ursprungligt prov.

17α-hydroxyprogesteron

Det viktigaste användningsområdet för bestämning av 17α-hydroxyprogesteron är diagnostik av CAH och bestämningen är en del i screeningprogram för nyfödda. I immunologiska metoder ger störande faktorer ofta felaktigt förhöjda resultat. Hos nyfödda barn förekommer flera olika sulfaterade progesteronmetaboliter, som korsreagerar med flera antikroppar ⁽²⁶⁾. Extraktion eller kromatografi före den immunologiska bestämningen är därför nödvändig speciellt för prov från nyfödda. Vi gjorde bestämningarna med hjälp av vätske-extraktion, kromatografi på Lipidex 5000 och RIA. Denna teknik fungerar väl men är långsam (3 arbetsdagar), känsligheten är otillräcklig och kalibreringen av kolonnerna är problematisk ⁽²⁷⁾. Det har därför funnits behov av en snabbare och mera specifik metod.

Vi bestämmer numera 17α-hydroxyprogesteron rutinmässigt med LC-MS/MS (13). Serum extraheras med dietyleter och som intern standard används deutererat 17α-hydroxyprogesteron. I ESI joniseras 17α-hydroxyprogesteron och bildar jonen (M-H)⁺, 331 som sönderfaller till fragmenten 97 och 109, som båda kan användas för kvantitering. Som elueringsbuffert i kromatografen lämpar sig en metanol-vattengradient och ammoniumacetat kan användas för att öka produktionen av (M-H)⁺ joner. Med en total körtid på 10 minuter i en RP kolonn uppnås god separation och 17α-hydroxyprogesteron elueras vid 5-6 minuter. Största delen av föroreningarna elueras före själva analyten. Reproduibiliteten mellan körningarna är 8-9%. Metodens känslighet är 200 pmol/L med API 2000.

Testosteron

Testosteronnivåerna i serum hos barn och kvinnor kan inte mätas tillförlitligt med automatiska immunologiska metoder (6, 28) och det är även problem med diagnostik av hypogonadism hos män (6). Nivåskillnaderna mellan olika metoder är så stora att man inte kan skilja åt eugonadala från hypogonadala män om man ej använder metodspecifika

referensvärden. Koncentrationen av fritt testosteron på basen av totaltestosteron, SHBG och albumin beräknas i många laboratorier och detta förutsätter en väl fungerande testosteronbestämning.

I vår masspektrometriska rutinmetod extraheras testosteron med eter-etylacetat och separeras med RP kromatografi med en 10-minuters vatten-metanolgradient. Testosteron fragmenteras med ESI till en positivt laddad jon (M-H)⁺ 289 → 91. Med API 2000 och en provvolym på 25 µL är den lägsta mätbara koncentrationen 100 pmol/L och med API 3000 30 pmol/L.

Konklusion

LC-MS/MS har visat sig vara en specifik, känslig och tillförlitlig teknik för bestämning av ett flertal olika steroider. Metoden lämpar sig bra för daglig rutin och har många fördelar jämfört med direkta immunologiska metoder. Typiska analytiska problem förorsakade av interferens med bärarproteiner och korsreagerande substanser elimineras. Immunkemiska metoder med extraktion är ännu brukbara, men LC-MS/MS är snabbare och minskar markant behovet av manuellt arbete. Vår linje är därför att göra det flesta steroidanalyserna med LC-MS/MS. Det främsta undantaget är estradiol, men lyckligtvis finns det ett fåtal tillräckligt känsliga och specifika immunologiska metoder för denna analyt. LC-MS/MS är ett dyrare alternativ än automatiska immunologiska metoder, men våra kliniker är villiga att betala för bättre kvalitet. En orsak till att vi började utveckla bättre metoder var att en endokrinolog påpekade, att ett felaktigt förhöjt värde för kortisol i urin ofta ger upphov till utredningar, som kostar 10-100-falt mer än kortisolbestämningen.

Antalet steroidbestämningar för diagnostiska behov är begränsat. Förutom estradiolbestämningarna i samband med fertilitetsbehandlingen är steroidanalytiken vanligtvis icke-akut. Enligt vår uppfattning bör man på nationell nivå överväga att koncentrera många steroidbestämningar till laboratorier, som utför analyserna med tillförlitliga metoder.

Litteraturförteckning

1. Kinter M. Towards broader inclusion of liquid chromatography – mass spectrometry in the clinical laboratory, Editorial, Clin Chem, 2004; 50;1500-1.

2. Matsumoto AM, Bremner WJ. Serum testosterone assays – accuracy matters, (Editorial) J Clin Endocrinol Metab 2004;89:520-524.
3. Choi MH, Kim JN, Chung BC. Rapid HPLC-electrospray tandem mass spectrometric assay for urinary testosterone and dihydrotestosterone glucuronides from patients with benign prostate hyperplasia. Clin Chem 2003;49:322-325
4. Chang Y-C, Li C-M, Li L-A, Jong S-B, Liao P-C, Chang LW. Quantitative measurement of male steroid hormones using automated on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry and comparison with radio-immunoassay. Analyst 2003;128:363-368
5. Starcevic B, DiStefano E, Wang C, Catlin DH. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for human serum testosterone and trideuterated testosterone. J Chromatogr B, 2003;729:197-204
6. Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B, Swerdloff RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: Comparison of current laboratory method versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:534-543
7. Magnusson MO, Sandström R. Quantitative analysis of eight testosterone metabolites using column switching and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom 2004;18: 1089-1094
8. Cawood MI, Field HP, Ford CG, Gillinwater S, Kicman A, Cowan D, Barth JH. Testosterone measurement by isotope-dilution liquid chromatography – tandem mass spectrometry: validation of a method for routine clinical practice. Clin Chem; 2005;51: 1472-9
9. Tang C, Kassahun K, McIntosh IS, Brunner J, Rodrigues AD. Simultaneous determination of urinary free cortisol and 6-beta-hydroxycortisol by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry and its application for estimating hepatic CYP3A induction. J Chromatogr, B, 2000; 742:303-313
10. Vogeser M, Briegel J, Jacob K. Determination of serum cortisol by isotope-dilution liquid-chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry with on-line extraction. Clin Chem Lab Med 2001; 39:944-947
11. Taylor RL, Machacek D, Singh RJ. Validation of a high-throughput liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for urinary cortisol and cortisone. Clin Chem 2002; 48:1511-1519
12. Turpeinen U, Stenman U-H. Determination of urinary free cortisol by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Scand J Clin Lab Invest 2003; 63:143-50
13. Turpeinen U, Itkonen O, Ahola L, Stenman U-H. Determination of 17alpha-hydroxyprogesterone in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and immunoassay. Scand J Clin Lab Invest 2005;65:3-12
14. Kushnir MM, Rockwood AL, Nelson GJ, Terry AH, Meikle AW. Liquid chromatography-Tandem mass spectrometry analysis of urinary free cortisol. Clin Chem 2003;49: 965-967
15. Jönsson BAG, Malmberg B, Amilon Å, Garde AH, Oerbaek P. Determination of cortisol in human saliva using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J Chromatogr, B., 2003;784:63-68
16. Tai SS-C, Welch MJ. Development and evaluation of a candidate reference method for the determination of total cortisol in human serum urine by isotope dilution liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Anal Chem 2004; 76:1008-1014.
17. Fredline VF, Taylor PJ, Dodds HM, Johnson AG. A reference method for the analysis of aldosterone in blood by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. Anal Biochem 1997; 252: 308-313
18. Diaz-Cruz MS, Lopez de Alda M, Lopez R, Barcelo B. Determination of estrogens and progestogens by mass spectrometric techniques (GC/MS, LC/MS and LC/MS/MS). J Mass Spectrom 2003;38:917-923
19. Nelson RE, Grebe SK, O'Kane DJ, Singh RJ. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for simultaneous measurement of estradiol and estrone in human plasma. Clin Chem 2004;50:373-384
20. Kim YJ, Choi MH, Kim SJ, Bong CC. Measurement of 19-nortestosterone and its esters in equine

(Fortsætter side 25)

Albuminmodifierat kalcium eller totalkalcium

Är det inte dags att återinföra albuminmodifierat kalcium även på laboratorierna och inte bara inom övriga delar av sjukhuset?

Anders Larsson

Klinisk kemi och farmakologi (KKF), Akademiska Sjukhuset, Uppsala

e-post: anders.larsson@akademiska.se

För några år sedan kom det en nationell rekommendation om att lägga ner albuminmodifierat kalcium i Sverige. De flesta laboratorier följde sannolikt rekommendationen men sedan har det inte hänt så mycket.

Det är nu tre år sedan vi avskaffade vår rapportering av albuminmodifierat kalcium.

Under 2003 utförde KKF 46000 kalciumanalyser och 58000 albuminanalyser. Nästan undantagslöst så beställs albumin tillsammans med kalcium. I princip alla läkare på UAS som man pratar med gör egna beräkningar av albuminmodifierat kalcium. Formlerna varierar kraftigt både vad gäller albuminvärdet i formeln och faktorn. En grov uppskattning är att man lägger ca 1 min per prov för att räkna ut albuminmodifierat kalcium. Om vi räknar med en läkarkostnad på ca 10 kr/min och att uppskattar att beräkningar görs på 50% av proverna så innebär detta en kostnad för sjukhuset på ca 250.000 per år. Om vi räknar om det till ett nationellt plan så motsvarar det ca 10 miljoner per år. Vi är nu på väg att få en ackumulerad kostnad för avskaffandet av albuminmodifierat kalcium som om några år kommer att uppgå till 100 miljoner i Sverige. Är det någon som kan ställa sig upp och säga att kvalitetsvinsten med att avskaffa albuminmodifierat kalcium motsvarar denna kostnad?

Om man fortfarande på avdelningar och mottagningar sitter och räknar ut albuminmodifierat kalcium så måste vi börja fundera över effekterna av avskaffandet av albuminmodifierat kalcium. Den manuella beräkningen är både dyrbar och ger upphov till en betydligt större spridning än när laboratoriet rapporterade ut albuminmodifierat kalcium. En av kritikerna mot albuminmodifierat kalcium var att det uppfattades som störande att det i Sverige

användes 16 olika algoritmer. Nu kan vi ha 16 algoritmer per avdelning! Det är oerhört störande ur mitt perspektiv. De personer som var ledande inom klinisk kemi vad gäller rekommendationen att avskaffa albuminmodifierat kalcium förefaller att ha misslyckats med att föra ut budskapet till klinikerna, åtminstone i Uppsala. Frågan är om de har varit mer framgångsrika inom andra landsting? Jag vet också att det finns laboratorier som ej följt rekommendationen och behållit albuminmodifierat kalcium på direkt uppmaning av sina kliniska kollegor. Extrapolerar vi de effekter vi sett på provtagningsmönstret hittills så kommer man aldrig att lyckas övertyga klinikerna om att avskaffa albuminmodifierat kalcium. Om man inte lyckas med detta så har vi satt oss i en sämre sits än läget var före avskaffandet av albuminmodifierat kalcium.

Om så många använder albuminmodifierat kalcium, kan det vara så att rekommendationen var fel? Kan det t.ex. vara så att motivet till att döma ut metoden var att vi hade ett stort antal olika ekvationer i Sverige för att beräkna albuminmodifierat kalcium. I så fall kanske man istället skulle ha enats om en formel istället för att avskaffa albuminmodifierat kalcium. En annan fundering är att man kanske baserade sina bedömningar på studier där man tagit proverna under optimala förhållanden (=ingen stas) medan verkligheten är att man ofta använder sig av stas. Eftersom stas höjer proteinkoncentrationen med minst 10% och kalcium till en betydande del är albuminbundet så borde det tala för att en albuminmodifiering skulle minska staspåverkan.

Jag läste med intresse Lasse Larsson med medarbetares artikel (1) i Läkartidningen i år där man rekommenderade användning av joniserat kalcium som

(Fortsätter side 25)

(Fortsat fra side 14)

den bästa metoden för att bedöma kalciumstatus. Det är möjligt att man tolkar artiklar som man själv önskar men jag noterade att författarna skrev: "Den mest övertygande prospektiva multicenterstudie som vi känner till är den som publicerats av Thode och medarbetare vilken innefattade 1213 patienter med misstänkt kalciumrubbnig. Man fann där en diskordans mellan totalkalcium och joniserat kalcium hos 31% av patienterna. Skillnaden minskade till 18% när albuminkorrigerat kalcium jämfördes med joniserat kalcium." Det här tolkar jag som att det är en starkare korrelation mellan joniserat kalcium och albuminmodifierat kalcium än mellan joniserat kalcium och totalkalcium." Man nämner också den amerikanska expertgruppens rekommendation om analys av albuminmodifierat kalcium för att fastställa hyperkalcemi (2,3). Jag tror att de flesta på lab är eniga om att joniserat kalcium är den bästa tillgängliga metoden, men den kan i många fall vara opraktisk. Om vi nu anser att joniserat kalcium är den bästa metoden (golden standard) så brukar vi ju i regel säga att den metod som bäst korrelerar med golden standard bör vara den metod som man skall välja om valet står mellan två metoder. För mig låter det därför som albuminmodifierat kalcium skulle vara bättre än totalkalcium.

Min åsikt är att den nuvarande situationen är oacceptabel. Det kan inte vara rätt att vi lägger miljontals kronor i läkartid på dåliga beräkningar av albuminmodifierat kalcium för att laboratorierna anser att man ej skall använda det. Som jag ser det finns det bara två alternativ: återinför albuminmodifierat kal-

cium eller sätt igång en massiv informationskampanj för att få bort albuminmodifierat kalcium. Eftersom jag inte sett några tecken till en sådan informationskampanj och tvivlar på att den någonsin kommer eller att den kommer att vara framgångsrik så finns det väl bara ett alternativ kvar. Själv tänker jag inte driva en sådan kampanj då jag är tveksam till att kalciumdiagnostiken har utvecklats genom avskaffandet av albuminmodifierat kalcium och jag är definitivt motståndare till att sjukhuset lägger så mycket klinisk läkartid på att räkna ut något som laboratoriet kan göra bättre och billigare. Är det vi gör nu en bra laboratorieservice?

1. Larsson L, Magnusson P. Joniserat kalcium ger bättre beslutsunderlag än albuminkorrigerat kalcium. Läkartidningen, 2004;26:2289-90.
2. Nilsson IL, Lundgren E, Ekbom A, Ljunghall S, Rastad J. Handläggning av asymtomatisk primär hyperparatyroidism. Nya nordamerikanska rekommendationer diskuteras i ett svenskt perspektiv. Läkartidningen. 2003;100:3848-50, 3853-4.
3. Bilezikian JP, Potts JT Jr, Fuleihan Gel-H, Kleerekoper M, Neer R, Peacock M, Rastad J, Silverberg SJ, Udelsman R, Wells SA Jr. Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century. J Bone Miner Res, 2002;17, Suppl 2:N2-11.



Foto: Henrik Alfthan

Indførelse af 1.trimester screening med dobbelt-test.

Lennart Friis-Hansen

Klinisk Biokemisk afd., Rigshospitalet, Københavns Universitet.

E-post: lfh@rh.hosp.dk



Introduktion

Et af kommende forældres store ønsker er at få raske børn. Derfor har den danske svangreomsorg siden 1978 været udformet som et forebyggelsesprogram i offentligt regi, hvis formål er at muliggøre fødsel af færre børn med svære handicap. Dette gælder dels forebyggelse af erhvervede risici under graviditeten, dels screening, tidlig diagnose, og tilbud om intervention til de gravide, hvis foster har alvorlige genetiske anomalier.

Kromosomfejl hos fostre

Den hyppigste kromosomfejl blandt nyfødte er Downs syndrom (DS). Syndromet forekommer ved 1 ud af 800 fødsler og blev første gang beskrevet i 1866 af John L.H. Down (1). Voksne med syndromet har nedsat intelligens svarende til en mental alder på 5 år. Ydermere har 6-11 % gastrointestinale misdannelser og halvdelen hjertefejl, hvilket er grunden til, at 20 % af børnene med DS dør før 10 års alderen. Årsagen til DS er et ekstra kromosom 21, som oftest er af maternal oprindelse og betinget af non-disjunction i den meiotiske deling. Trisomi 21 ses også ved translokationer af kromosom 21 og mosaiktilstande. Det ekstra kromosom 21 fører til øget ekspresion af en række gener, som er årsag til dele af fænotypen. Ydermere fører den øgede gen-ekspresion som følge af det ekstra kromosom 21 til øget genetisk instabilitet og dermed risiko for udviklingsanomalier (2).

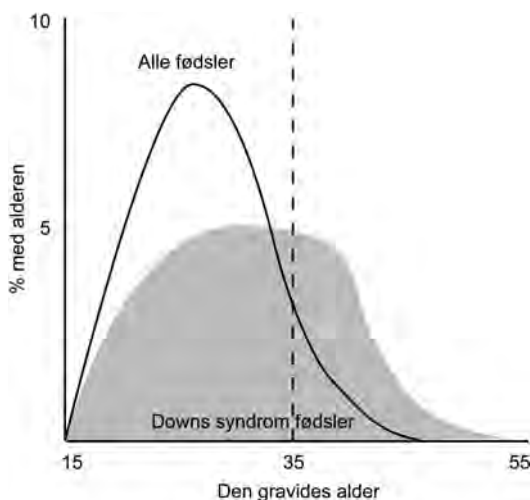
Efter DS er trisomi 13 (Patau syndrom) og 18 (Edwards syndrom) de hyppigste kromosomanomalier, og disse fænotyper er også domineret af svær mental retardering, hjertefejl og fejl i bugvæggen. I 12. uge er prævalensen 0,1-0,2 ‰, og langt de

fleste fødte børn dør inden for de første leveår.

Monosomi X (Turners syndrom) forekommer i én ud af hvert 5000 fødsler og de voksne kvinder har lav statur, evt. let mental retardering, misdannelser i hjerte og nyre samt synsproblemer.

Screening

I 1909 beskrev Shuttleworth, at risikoen for at føde et barn med DS stiger med den fødende kvindes alder. Den næste store landvinding var den prænatale karyotypning i 1968. I Danmark indførtes i 1970'erne prænatal karyotypning ud fra foster-vandsprøver (amniocentese (AC)) mellem uge 15 og 18, men nu foretages primært chorion villus biop-



Figur 1. Aldersfordeling af alle gravide i forhold til de kvinder, der føder et barn med Downs syndrom. Tilbydes kun kvinder over 35 år screening for Downs syndrom ses det, at selvom risikoen stiger med alderen, så vil det store antal gravide under 35 resultere i, at mere end halvdelen af fostre med Downs syndrom fødes af kvinder under 35 år. Tegnet efter (3).

sier (CVS) i uge 10-14. Den vigtigste komplikation er spontan abort, der ses i op til 1 % procent af indgrebene. For både at holde de spontane aborter og de økonomiske omkostninger på et lavt niveau begrænsede den danske sundhedsstyrelse screeningen til højrisikogruppen af gravide: Kvinder, som var over 35 år, eller som havde særlige risikofaktorer (fx tidligere fødsel af barn med kromosomfejl eller positiv 2. trimester triple-test). I Danmark resulterede dette i, at 11-12 % af de gravide fik foretaget CVS/AC (3).

Det store problem med dette screeningstilbud har ikke været tilslutning til programmet, komplikationer i forbindelse med de invasive indgreb, analytiske eller fortolkningsmæssige problemer, eller den forudgående/efterfølgende rådgivning. Problemet har været, at selvom kvinder under 35 år har en lavere risiko for at føde børn med Downs syndrom DS, så fødes der langt flere børn af kvinder under 35 år end over. Derfor blev over halvdelen af børn med DS født af kvinder under 35 år, der ikke havde adgang til screening (Figur 1). En sådan omvendt aldersdiskriminering er i dag uacceptabel. Derfor formulerede den danske sundhedsstyrelse en ny praksis, hvor alle gravide får et tilbud om information, som gør det muligt for dem selv at tage stilling til, om de ønsker yderligere undersøgelser, som fx belyser sandsynligheden for, at fostret har DS (3).

Første trimester screening

Nakkefoldsskanning

Nicolaides beskrev i slutningen af 1980'erne, at der ved ultralydsundersøgelser af fostre med DS allerede i 1. trimester kunne ses en væskeophobning i nakken. Væske er ekkofattigt på ultralyd og det blev derfor til nuchal translucency (DK: fortykket nakkefold/ S: Nackupklarning (NUPP)). Tykkelsen af nakkefolden stiger både med risikoen for kromosomanomalier og gestationsalderen. Derfor er det nødvendigt at foretage en normalisering efter gestationsalder bestemt på baggrund af fostrets "crown rump length" (CRL) eller biparietaldiameter (BPD). Risikoberegningen kan udføres ud fra delta-værdien, der er forskellen mellem den målte nakkefoldstykkelse og den forventede median hos raske fostre med samme gestationsalder. Alternativt benyttes nakkefoldstykkelse udtrykt som Multiple of Median (MoM-værdien) af den forventede mediane nakkefoldstykkelse hos fostre med samme gestationsalder.

Tabel 1: Fremskridtene inden for screening for Downs syndrom

- 1866 Syndromet blev første gang beskrevet af John L.H. Down
- 1903 Risikoen for Downs syndrom stiger med stigende maternal alder
- 1959 Downs syndrom skyldes et ekstra kromosom
- 1966 Den første kromosomanalyse i amnionvæske udføres
- 1968 Den første prænatale diagnostik af Downs syndrom udføres
- 1970 Amniocentese tilbydes kvinder, som er over 35 år eller har andre risikofaktorer
- 1984 Koncentrationen af α -fötoprotein er lav hos kvinder med fostre med Downs syndrom
- 1987 Koncentrationen af hCG er forhøjet i hos kvinder med fostre med Downs syndrom
- 1988 Triple-testen introduceres som screening for Downs syndrom i andet trimester
- 1999 Nakkefoldsskanning bliver accepteret som screeningstest
- 2001 Nakkefoldsskanning kombineres med måling af PAPP-A og β -hCG og tilbydes som 1. trimester screening
- 2004 København tilbyder 1.trimester screening (nakkefoldsskanning og dobbelt-test) til alle gravide
- 2005 1.trimester screening (nakkefoldsskanning og dobbelt-test) af alle gravide indføres stort set i hele Danmark

Begge størrelser er uafhængige af gestationsalderen og bruges dernæst til at modificere den gravides a priori risiko. Risikovurderes gravide mellem uge 11+0 og 13+6 på denne måde opnås en 65-75 % detektionsrate for fostre med DS ved en screenpositiv rate på ca. 4-5 % (3-5).

Det er vigtigt at skelne mellem, om der er tale om risikoen for, at fostret har DS på undersøgelsestidspunktet, eller om risikoen for at føde et barn med DS. På grund af de svære misdannelser dør ca. 30 % af fostrene med DS i perioden fra uge 12 til føds-

(Fortsætter side 20)

(Fortsat fra side 19)

len, 70 % af fostrene med monosomi X og næsten alle fostre med trisomi 13 og 18. Derfor er risikoen for, at fostret har kromosomfejl større end risikoen for, at det fødte barn har kromosomfejl. I Danmark anvendes primært risiko på undersøgelsestidspunktet, da ultralydafdelingerne ønsker at udtale sig om fostret på undersøgelsestidspunktet.

Biokemisk screening - Dobbelt-testen

I 1984 viste Merkatz et al., at der var sammenhæng mellem lavt-føtoprotein og kromosomanomalier. Efterfølgende har mange markører i blod og urin været afprøvet til screening for DS (5) (Tabel 2). To markører: Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) og choriongonadotropins beta-kæde (β -hCG) har vist sig bedre til at diskriminere end de andre markører (6). Bestemmelse af β -hCG og PAPP-A koncentrationerne kaldes derfor dobbelt-testen. Ydermere er disse to markører rimelig uafhængige af maternel alder og nakkefoldens tykkelse, hvorved det var muligt at inkludere markørerne i en risikoberegning for kromosomabnormalier baseret på aldersrisiko, nakkefoldsmål og biokemi. Tilbydes alle med en risiko større end 1:300 på undersøgelsestidspunktet CVS eller AC fås 85-95 % detektionsrate for DS. Med disse grænser fås en screeningspositiv rate på 4-5 %.

Analyserne

NPU22157 P-Pregnancy-associated plasma protein A; arb.stofk. = arb.enh./l

PAPP-A er en IGFBP4 specifik metalloprotease af metzincin familien. Hos ikke-gravide syntetiseres PAPP-A i utallige væv, dog især de kvindelige

kønsorganer og kar. Hos gravide syntetiseres seceres PAPP-A fra syncytiotrofoblasten og koncentrationen fordobles ca. hver sjette dag. Hos gravide cirkulerer næsten alt PAPP-A som et heterotetramer 2:2 kompleks med pro-eosinofil major basisk protein (proMBP), der er den naturlige inhibitor af PAPP-A. ProMBP seceres fra placentas X celler og bindingen sker først efter sekretion af proteinerne. PAPP-A er også vist at være en markør ved iskæmisk hjertesygdom, men her lader det til, at det cirkulerende PAPP-A ikke er bundet til proMBP (7). PAPP-A metoderne måler primært PAPP-A/proMBP komplekset. Detektionsgrænsen er typisk 0,005 IU/liter (IRP 78/610). Hos kvinder med fostre med trisomi 21 og trisomi 13 og 18 er koncentrationen af PAPP-A mindre end det halve af, hvad den er hos kvinder med raske fostre på samme gestationsalder. Derimod lader meget højt PAPP-A sjældent til at være forbundet med morbiditet. Den biologiske variation skønnes at være 30 % for PAPP-A (8).

NPU01580 P-Choriongonadotropin beta-kæde; arb.stofk.(IRP 75/551) = int.enh./l

Human choriongonadotropin (hCG) er et glycoprotein-hormon, der består af en α og β kæde, der er non-covalent bundet til hinanden. Alfa-kæden kodes af et gen på 6q12-q21 og er fælles for hCG, thyrotropin, luteiniserende hormon og follikelstimulerende hormon. Beta-kæden kodes af 6 gener, der sidder som inverterede tandem par på kromosom 19q13.32 (CGB3-8, mens CGB1 og 2 er pseudogener). Generne har samme struktur, men er ikke identiske. hCG syntetiseres i og seceres fra trophoblasten, og koncentrationen stiger de første 6-8 uger af graviditeten, hvorefter den falder (Figur 2). I første del af graviditeten udgør β -hCG ca. 1 % af hCG og β -hCG i blod, mens det kun udgør ca. 0,5 % i sidste del af graviditeten. β -hCG findes intakt eller "nicked" i blod, og begge former medbestemmes i målemetoderne, der er standardiseret mod IRP 75/551. Detektionsgrænsen for metoderne er typisk 0,2 IU/liter. Hos kvinder med fostre med trisomi 21 er koncentrationen af β -hCG ca. dobbelt så høj som hos kvinder med raske fostre, mens koncentration er nedsat til mindre end 40 % af det normale i de tilfælde, hvor fostret har trisomi 13 eller 18. Den biologiske variation af β -hCG er 20 % (8).

Tabel 2: Nogle af de markører der har været brugt ved 1. trimester screening

- β -hCG
- hCG
- hCG+ β -hCG
- PAPP-A
- α -fötoprotein
- Ukonjugeret Østriol
- Inhibin
- ADAM12

Beregningerne

Koncentrationerne af β -hCG og PAPP-A ændres med gestationsalderen i uge 8-14. PAPP-A stiger mens β -hCG falder (Figur 3). Det er derfor nødvendigt at korrigere for gestationsalderen, og det gøres ved at omregne de faktiske koncentrationer til MoM (Multiple of Mean). Ved brug af MoM værdien for β -hCG og PAPP-A kan risikoen for kromosomafvigelser hos fosteret beregnes. Bestemmelsen af gestationsalderen skal ske så præcist som muligt med ultralyd. Der findes interessant nok forskellige algoritmer til at konvertere "crown rump length" (CRL) til gestationsalder, og disse giver ikke altid samme resultat. Betjener et laboratorium flere ultralydafdelinger, skal de benytte samme algoritme til udregning af gestationsalderen. Hvis det ikke er tilfældet, bør der anvendes specifikke datasæt for hver afdeling. Ydermere er det vigtigt at korrigere for moderens vægt, da koncentrationerne af β -hCG og PAPP-A falder med stigende maternel vægt. Denne type risikoberegningen for DS hos fosteret kan foretages i perioden fra gestationsuge 8+0 til 13+6, altså med et vindue på 6 uger. I risikoberegningen vægter PAPP-A generelt mest tidligt i perioden, mens β -hCG vægter mest sidst i graviditeten. Det kræver et større dataunderlag at lave algoritmerne til beregningerne, og derfor benyttes ofte specialiseret software. De mest brugte programmer er Astraia Softwares Astraia®, GE Healthcare's ViewPoint®, Perkin Elmers LifeCycle® og Typolog Software's Prisca®. Det mest brugte i Danmark er Astraia, da det i forvejen benyttes af alle ultralydafdelinger til registrering af scanningerne. Desværre har det været svært at koble Astraia sammen med hospitalernes laboratorieinformationssystemer.

Modeller for prøvetagning

En model for prøvetagning er, at prøverne tages i 8.-11. uge, hvorefter de gravide får lavet nakkefoldsskanningen i uge 11-13+6. Det er en fordel for laboratoriet, da der typisk vil være 1-2 uger til at analysere prøven, og risikoberegningen derfor ikke bliver forsinket ved fx apparaturservice, nedbrud og lignende. Ydermere synes det at være en fordel at tage prøverne tidligt i graviditeten, hvor PAPP-A vægter mest (5). Det nemmeste er, at laboratoriet afgiver de målte koncentrationer til en database, der drives i fællesskab mellem ultralydafdelingen og laboratoriet. Når resultatet af ultralydsskan-

ningen (nakkefold, CRL, gestationsalder, evt. fravær af næseknogle) foreligger, foretages den endelige beregning. Alternativet er, at laboratoriet foretager risikoberegningen ud fra sidste menstruations første dag. Svaret afgives så som en risiko og en likelihood ratio. Desværre bliver gestationsalderen ofte ændret ved den efterfølgende nakkefoldsskanning, hvorfor laboratorium og ultralydafdeling let kvæles i det helt store "genberegningssirkus".

Den biokemiske screening i 8-11 uge vil af og til vise tegn på spontan abort eller fosterdød (Friis-Hansen, upublicerede data). På Rigshospitalet har ultralydafdelingen valgt ikke at indkalde de gravide til akut undersøgelse, da der ikke er noget terapeutisk tilbud. I stedet kommer den gravide til den planlagte nakkefoldsskanning, hvor tabet af fostret så bekræftes. Detektion af de tidlige spontane aborter har aldrig været et mål for en systematisk tidlig prænatal screening, men er en følge af den, og hver screeningsenhed må selv udarbejde retningslinjer for håndteringen af dette.

En anden model er den såkaldte "one stop", hvor prøverne tages i forbindelse med nakkefoldsskanningen, og risikovurderingen foretages mens patienten venter. Det er en fordel for patienterne, men stiller større krav til laboratoriet med hensyn til forsyningsikkerheden og backup. Trods forskelligt prøvetagningstidspunkt giver begge modeller samme detektionsrater.

Detektionsraten forbedres ikke ved at udføre dobbelt-testen i både 10 og 12 uge (8). Biokemisk risikovurdering er mindre velegnet ved flerfoldsgraviditet, mens nakkefoldsskanningen har samme performance hos dichorioniske tvillinger som ved singleton graviditeter. Ved monochoriske tvillinger fås en højere falsk positiv rate, da fortykket nakkefold kan være et tidligt tegn på tvillingetransfusionssyndrom. Flerfoldsgravide kan i stedet tilbydes AC/CVS.

I situationer, hvor nakkefoldsskanningskapaciteten er begrænsende fx pga. mangel af sonografer, kan der indføres betinget-screening, hvor risikoen først bestemmes ud fra dobbelt-test og den materielle alder. Herefter deles de gravide i lav risiko (ingen yderlige handling), intermediær risiko (som får nakkefoldsskanning) og høj risiko (går direkte til CVS). Problemet med dette regime er dog, at gesta-

(Fortsætter side 22)

(Fortsat fra side 21)

tionsalderen beregnes ud fra sidste menstruations første dag, som ofte er usikker. Uden ultralyd kan disse fejl ikke korrigeres og detektionsraten falder ca. 10 % ⁽⁴⁾. Ydermere mistes de andre fordele ved tidlig skanning (Tabel 3).

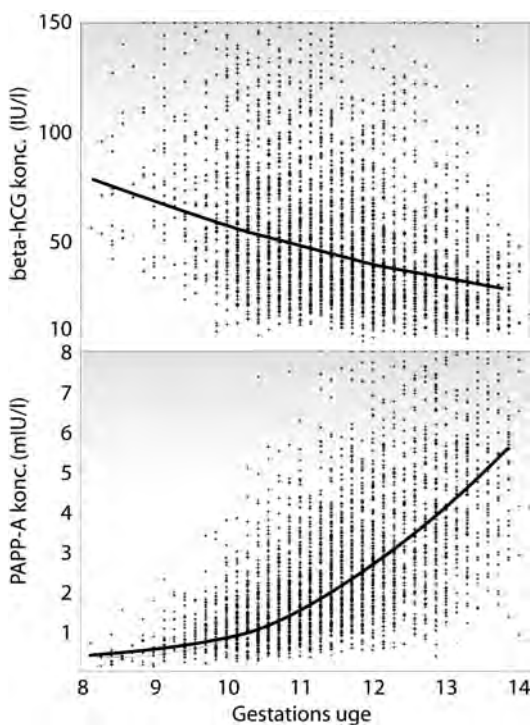
Møder en kvinde for sent til dobbelt-testen kan triple-testen bruges til risikovurdering.

Præanalytiske forhold

β -hCG og PAPP-A skal tages i tørtglas, centrifugeres henholdsvis 6 og 24 timer efter prøvetagning og kan da opbevares ved 2-8°C i 4-6 dage. Brugen af tørtglas med gel (fx Becton-Dickinson SST2 gel) eller tromblinglas påvirker ikke analyserne (Friis-Hansen, upublicerede data). Den danske model foreslår, at prøverne tages hos den praktiserende læge, hvorefter de sendes til laboratoriet. Hvis fuldblodsprøverne henstår 1 døgn ved stuetemperatur før centrifugering stiger værdierne for β -hCG og PAPP-A et par % pr. døgn (Niels Tørring, upublicerede data). Hvis serum henstår 1-8 dage stiger β -hCG 5-10 %, mens PAPP-A er næsten upåvirket (Friis-Hansen, upublicerede data og (9)). Men lægges endog centrifugerede prøver i en postkasse en lun sommerdag kan β -hCG stige 10-25 %, hvilket også ses ved kontrolleret opvarmning til 35°C i 2 timer, og efter yderligere 2 timer ved 35°C stiger β -hCG 100-300 %. Derimod er PAPP-A stort set upåvirket (Friis-Hansen et al., upublicerede data). Derfor bør det primært være serum der sendes, og prøverne bør ikke lægges i postkasser om sommeren, men afleveres på et posthus eller hentes, så de kun udsættes for 4-25°C. I København foregår prøvetagningen på de klinisk biokemiske afdelinger, mens der i resten af Danmark også benyttes sendeordninger.

Tabel 3: Observationer og fordele ved 1. trimester ultralydsskanning

- Bekræftelse af graviditeten
- Bestemmelse af antallet af fostre
- Fastlæggelse af gestationsalder og termin
- Bestemmelse af nakkefoldstykkelser og risikovurdering for Downs syndrom
- Ved flerfoldsgraviditeter kan det bestemmes, om de har fælles moderkage



Figur 2. Koncentrationerne af PAPP-A og β -hCG hos gravide i uge 8 - 13+6. I denne periode falder β -hCG koncentrationerne, mens PAPP-A stiger. Den optrukne linie viser median koncentrationerne. Det ses, at der er store inter-individuelle forskelle.

Praktisk gennemførsel

I foråret 2003 besluttede Københavns Kommune med baggrund i Copenhagen First Trimester Study, at alle gravide skulle tilbydes risikovurdering for DS ved hjælp af nakkefoldsskanning og dobbelt-test. Man besluttede at kopiere det engelske Fetal Medicine Foundations (FMF) program (www.fetalmedicine.com), der har retningslinier for kvalitetssikring af hele screeningsprogrammet. Således kunne der tilbydes en kendt kvalitet af screeningsprogrammet fra første færd. Ydermere var nakkefoldsskanningen allerede akkrediteret af FMF, hvorfor biokemien "blot" skulle kobles på. Det besluttedes, at der skulle etableres egne medianer, hvorfor der blev bestemt PAPP-A og β -hCG på ca. 1800 gravide i 10+0 - 13+6 uge før egne resultater blev brugt til risikoberegning. (Der skal bruges 70-100 målinger pr. gestationsdag). Imidlertid svarede medianerne overens med "default" medianerne i Astraia, hvor-

for vi initialt valgte at benytte disse. Men nu efter at have analyseret mere end 5000 prøver står det klart, at der er behov for en mindre justering, hvilket vi er i gang med. Efterfølgende er flere andre laboratorier begyndt at analysere at etablere egne medianer før opstart. I stedet har de fundet laboratorier, der bruger samme platform og software som de selv, foretaget en metodesammenligning og udbudt analysen, hvis den var tilfredsstillende. Når et tilstrækkeligt prøveantal er analyseret, bør hvert laboratorium dog justere medianerne.

Valg af platforme

Der findes fire instrumenter med tilhørende reagenser til udførsel af dobbelt-testen: Brahms Kryptor, DPCs Immulite2000/2500, Wallacs AutoDelphia og, Delphia Express. Selvom alle metoder er kalibreret overfor samme standard, er der tydelige forskelle i de målte koncentrationer. Ydermere fås også forskellige MoM-værdierne, hvorfor alle beregninger skal foretages med platform-specifikke medianer. Hvis flere laboratorier i en region skal samarbejde, kunne sammenligne data og være backup for hinanden, skal de benytte samme platform og risikoberegningsmodul. Brahms' og Wallacs platforme har ækvivalent performance og overholder FMFs krav (Tabel 4). Derimod har DPC Immulite 2000 lidt større imprecision, hvilket giver lidt lavere detektionsrate, hvis dobbelt-testen bruges alene. Kombineres dobbelt-testen som vanligt med nakkefoldsskanning minimeres denne forskel pga. den større vægtning af nakkefoldsskanningen (10). På Rigshospitalet valgte vi Brahms Kryptor, da det var den platform der var størst klinisk erfaring med på indkøbstidspunktet (2004).

QC programmet

Den danske sundhedsstyrelse kræver, at der gennemføres 500 nakkefoldsskanninger/sonograf/år og 5000 analyser/laboratorium/år for at kunne opretholde en tilstrækkelig kvalitet af 1. trimester screeningen. Udfører et laboratorium færre analyser, skal der indgås en samarbejdsaftale om kvalitetskontrol med et andet laboratorium, således at det samlede antal analyser er større end 5000/år. FMFs krav er mindst 1000 analyser/år, hvilket virker rimeligt, da analyserne synes meget stabile.

Da det stod klart, at vi skulle udføre dobbelt-testen tilmeldte vi os UK-NEQAS kvalitetskontrol, men da

Tabel 4: FMFs kvalitetskrav til dobbelt-testen

β-hCG	Intraseriel CV %	Interaseriel CV %
85iu/l	3.0	5.0
20iu/l	3.0	5.0
8iu/l	4.0	6.0
PAPP-A	Intraseriel CV %	Interaseriel CV%
0.30iu/l	4.0	6.0
1.50iu/l	4.0	6.0
4.00iu/l	3.0	5.0

vi intet instrument havde blev prøverne frosset. Da instrumentet var valideret, blev kontrollerne analyseret, og vi vidste derfor 3 uger efter opstillingen, hvordan vores målinger var i forhold til målinger udført på ca. 80 tilsvarende instrumenter i Europa. Vores daglige kvalitetskontrol består af fabriksfremstillede kontroller og en intern serumkontrol. Vi deltager i UK-NEKAS månedlige eksterne kontrolprogram, hvor der foruden kontrol af målingerne også indberettes beregningen af PAPP-A og β-hCG MoM, og risikoberegning baseret på dobbelt-testen alene eller kombineret med nakkefoldsskanning. Endelig foretages månedlig audit af "Screen positiv-rate" (skal være < 4 %), median MoM for β-hCG og PAPP-A (skal være indenfor 0,90-1,10). På grund af den store biologiske variation kræver dette dog mindst 100 prøver pr. audit. Ultralydafdelingen foretager løbende audit af deres procedurer inklusive årlig kontrol/eksamen af sonograferne efter FMFs regler. Endelig skal ultralydafdelingen og klinisk biokemisk afdeling årligt foretage audit af hele programmet, hvor der via landsdækkende registre følges op på alle screenede graviditeter. For også at kunne foretage audit af alle falsk negative, så snart vi får kendskab til dem, opbevares alle prøver (1,5 ml serum) i 5 år. Udførelsen af dobbelt-testen er på nuværende akkrediteret af både DANAK (17025) og FMF, hvorved hele 1. trimester screeningen på Rigshospitalet nu er FMF akkrediteret. For at sikre rimelig kvalitet af screeningen, bør den klinisk biokemiske afdeling sikre sig, at der kun leveres dobbelt-test svar til sonografer, der er underlagt en formaliseret kvalitetssikring.

(Fortsætter side 24)

(Fortsat fra side 23)

Nye markører

Fravær af næseknoglen: I den oprindelige beskrivelse i 1866 bemærkede Down (1), at mange personer med trisomi 21 havde en lille næse og ved scanning i 1. trimester mangler næseknoglen ofte hos fostre med Downs syndrom. Fravær af næseknoglen er derfor beskrevet som en ny markør for DS.

ADAM12: ADAM12 er en transmembran metalloproteinase, der blandt andet er udtrykt i placenta. Måling af ADAM12 kan være et potentiel supplement til β -hCG og PAPP-A (11), men der mangler endnu prospektive studier, som viser en bedre detektionsrate end med PAPP-A, β -hCG, nakkefoldstykkelse og moderens alder.

Andre fordele opnået efter indførselen af 1. trimester screening

Fortykket nakkefold ses ikke kun hos fostre med DS, mens også hos fostre med hjertefejl, infektioner, metaboliske syndromer, og skeletdysplasier, som derfor nu også kan opdages i 1. trimester.

Det har også vist sig, at PAPP-A MoM under 0,25 er en markør for intrauterin væksthæmning (IUGR). Ligeledes er tyk nakkefold et dårligt prognostisk tegn trods normal karyotype hos fostret. Indførslen af første trimester screening har således ikke kun givet en risikovurdering for DS, men også en screening, der kan udpege nogle af de graviditeter hvor der er fare for IUGR eller fosterdød (12). Disse patienter følges derfor tættere. Endelig tyder forsøg på, at lavt PAPP-A ikke alene er en markør for IUGR, men også selve årsagen, da mangel på PAPP-A giver væksthæmning.

Etiske aspekter

I Danmark diskuteres om fokusering på risikoen for DS og sygdomme hos fostrene sygeliggør graviditeten, gør de gravide bekymrede og fjerner glæden ved at skulle have et barn. De gravide informeres af de praktiserende læge om 1. trimester screeningen, men i København ventede man oprindeligt stor efterspørgsel efter yderligere information. Derfor etablerede ultralydafdelingerne prænatale vejledningskonsultationer bemandet med overlæger (nu erstattet af specialuddannede jordemødre). Men selvom de gravide er glade for tilbudene, har de som regel ikke tid til at benytte dem. I øvrigt føler

de sig velinformerede af egen læge, og gennem information hentet fra både offentlige og private hjemmesider (K Sundberg, 2005). Fornemmelsen er da også, at nu hvor programmet har været i drift i næsten et år, er der stigende forståelse både blandt de gravide og i befolkningen som helhed, for at der er tale om en risikovurdering og ikke en diagnostisk test. Det er dog stadig vigtigt, at sundhedspersonalet løbende bidrager med saglig og præcis information om disse spørgsmål for at undgå rygter og misforståelser. Kun derved kan det generelle informationsniveau i befolkningen stige og de gravide træffe deres valg på et velinformeret grundlag. Det kan også bidrage til, at screeningsprogrammet ikke er med til at stigmatisere personer med Downs syndrom eller de gravide, der vælger at sætte et barn med DS i verden.

Konklusion

Indførselen af dobbelt-testen har teknisk være meget let, og der har ikke været specielle problemer med analyserne. Efter et år synes informationen af de gravide nu at fungere, hvilket er afgørende for de gravides forståelse og accept af screeningsprogrammets begrænsninger. I det område Rigshospitalet betjener, er tilslutningen høj og mere end 90 % får udført dobbelt-test. Der er hidtil fundet 11 fostre med trisomi 21 og 4 med trisomi 13/18. Ti af disse er fundet hos kvinder under 35 år. Det spændende for kliniske biokemi i denne sammenhæng bliver udviklingen af nye og bedre markører, således at forskellen mellem screeningstest og diagnostiske test mindskes og antallet invasive indgreb begrænses. Fremtiden vil derfor også byde på et tættere samarbejde mellem praktiserende læger, klinisk biokemiske, klinisk genetiske og føtal-medicinske afdelinger.

Taksigelser

Karin Sundberg, Niels Tørring og Jens Peter Gøtze takkes meget for mange frugtbare diskussioner og kritisk gennemlæsning.

Referencer

1. Down JL. Observations on the classification of idiots. Lond Hosp Rep 1866;3:259-262 Reprinted In Ment Retard 33; 54-56 (1995).
 2. Patterson D, Costa AC. Downs syndrome and genetics - a case of linked histories. Nat Rev Genet 2005;6(2):137-47.
 3. Sundhedsstyrelsen. Fosterdiagnostik og risikovurdering. København: Sundhedsstyrelsen; 2003.
 4. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 2004;191(1):45-67.
 5. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). Health Technol Assess 2003;7(11):1-77.
 6. Wald NJ, George L, Smith D, Densem JW, Petterson K. Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. International Prenatal Screening Research Group. Br J Obstet Gynaecol 1996;103(5):407-12.
 7. Qin QP, Kokkala S, Lund J, Tamm N, Voipio-Pulkki LM, Pettersson K. Molecular distinction of circulating pregnancy-associated plasma protein A in myocardial infarction and pregnancy. Clin Chem 2005;51(1):75-83.
 8. Spencer K, Cuckle HS. Screening for chromosomal anomalies in the first trimester: does repeat maternal serum screening improve detection rates? Prenat Diagn 2002;22(10):903-6.
 9. Muller F, Doche C, Ngo S, Faina S, Charvin MA, Rebiffe M, et al. Stability of free beta-subunit in routine practice for trisomy 21 maternal serum screening. Prenat Diagn 1999;19(1):85-6.
 10. Spencer K. First trimester maternal serum screening for Down's syndrome: an evaluation of the DPC Immulite 2000 free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A assays. Ann Clin Biochem 2005;42(Pt 1):30-40.
 11. Laigaard J, Sorensen T, Frohlich C, Pedersen BN, Christiansen M, Schiott K, et al. ADAM12: a novel first-trimester maternal serum marker for Down syndrome. Prenat Diagn 2003;23(13):1086-91.
 12. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early-pregnancy origins of low birth weight. Nature 2002;417(6892):916.
- (Fortsat fra side 13)
- plasma by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Rapid Commun Mass Spectrom 2000;14:1835-1840.
21. Kuuranne T, Kurkela M, Thevis M, Schänzer W, Finel M, Kostianen R. Glucuronidation of anabolic androgenic steroids by recombinant human UDP-glucuronosyltransferases. Drug Metab Dispos 2003;31:1117-1124
 22. Taylor RL, Grebe SK, Singh RJ. Quantitative, highly sensitive liquid chromatography- tandem mass spectrometry method for detection of synthetic corticosteroids, Clin Chem 2004; 50: 2345-2352
 23. Frerichs VA, Tornatore KM. Determination of the glucocorticoids prednisone, prednisolone, dexamethasone, and cortisol in human serum using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, J Chromatogr B, 2004; 802:329-338
 24. Lacey JM, Minutti CZ, Magera MJ, Taucher AL, Casetta B, McCann M, Lymp J, Hahn, SH, Rinaldo P, Matern D. Improved specificity of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia by second-tier steroid profiling using tandem mass spectrometry. Clin Chem 2004; 50: 621-625.
 25. Fenske M. How much "urinary free cortisol" is really cortisol during water diuresis in healthy individuals? Clin. Chem. 2004; 50:1102-1104
 26. Wong T, Chackleton CH, Covey TR, Ellis G. Identification of the steroids in neonatal plasma that interfere with 17-alfa-hydroxyprogesterone radioimmunoassays. Clin Chem 1992; 38: 1830-1837.
 27. Apter D, Jänne O, Karvonen P, Vihko R. Simultaneous determination of five sex hormones in human serum by radio-immunoassay after chromatography on Lipidex-5000. Clin Chem 1976; 22; 32-38.
 28. Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot M-C, Mathieu E, Queyrel N, Lacroix I, Sommadelpero C, Boudou P. Testosterone measured by 10 immunoassay and by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women and children. Clin Chem 2004; 49:1381-1395

Troponin som biokemisk markör vid diagnostik av hjärtinfarkt

Susann Eriksson och Kim Pettersson

Institutionen för bioteknik, Åbo Universitet.

E-post: susann.eriksson@utu.fi



Inledning

Diagnos och behandling av patienter med bröstsmärtor utgör en av de största utmaningarna i akutvården. Det är mycket viktigt att snabbt kunna identifiera patienter med hjärtinfarkt för att rätt behandling ska kunna påbörjas i ett tidigt skede och på så sätt mimimera hjärtmuskelskadan. Den initiala bedömningen grundar sig på kliniska faktorer, fysisk undersökning, EKG och mätning av biokemiska markörer. Under de senaste årtiondena har mätning av hjärtmarkörer ökat avsevärt hos patienter med akuta koronara syndrom (AKS). Utvecklingen har gått mot mätning av mera hjärtspecifika enzymer och proteiner, såsom kreatin kinas isoenzym MB (CK-MB) och hjärtspecifikt troponin. De mera specifika markörerna, tillsammans med teknologiska framsteg, möjliggör detektion av mindre omfattande myokardiell nekros än vad som tidigare var möjligt. Idag utgör biokemiska markörer, företrädesvis troponin, tillsammans med ischemiska symtom eller onormala EKG fynd, grunden för diagnostik av hjärtinfarkt (1). Mätning av troponin och tolkning av resultaten kompliceras av en mängd faktorer som anknyter till de biokemiska egenskaperna hos troponin och metoderna som används för analys. De viktigaste faktorerna kommer att behandlas nedan.

Funktion, struktur och expression av troponin

Troponinkomplexet består av tre subenheter, d.v.s. troponin I, T och C, som reglerar den tvärstrimmiga muskulaturens kontraktion. Troponinkomplexet saknas i glatt muskulatur. Troponin I och T i hjärtmuskel (cTnI och cTnT) skiljer sig från motsvarande former i skelettmuskel och detta möjliggör detektion av de hjärtspecifika formerna med

specifika antikroppar utan korsreaktivitet med skelettmuskeltroponin. Alla subenheter har särskilda funktioner vid regleringen av muskelkontraktion. Troponin T förankrar komplexet på tropomyosin och placerar således komplexet på det tunna filamentet. Troponin C (TnC) är den kalciumbindande komponenten som reglerar det tunna filamentets aktivering vid muskelkontraktion. Troponin I är den inhiberande subenheten som förhindrar muskelkontraktion i frånvaro av kalcium. Till följd av en nervimpuls frigörs kalcium från det sarkoplasmiska retiklet och binds till TnC, vilket ökar affiniteten hos troponin C för troponin I. Detta leder till att den inhiberande effekten hos troponin I på aktinomyosin ATPas upphör och att ATP kan hydrolyseras och muskelkontraktion kan ske. Interaktionen mellan TnC och cTnI är mycket dynamisk och starkast när kalcium finns bundet till TnC. Interaktionen mellan cTnI och cTnT är svagare och påverkas inte av närvaro av metalljoner, men tycks däremot vara beroende av reducering av de två cysteinrester som finns vid position 79 och 96 hos cTnI.

cTnI består av 209 aminosyrarester och är större (23,9 kDa) än motsvarande isoformer i långsamma och snabba skelettmuskelfibrer p.g.a. en extra aminoterminal sekvens på 30 aminosyror. cTnI är den enda isoform som uttrycks postnalt i hjärtmuskelceller, och uttrycks inte i skelettmuskler i något skede under utvecklingen och har heller inte påträffats vid sjukdomstillstånd som drabbar skelettmuskler (2).

Olika isoformer av troponin T finns i hjärtmuskeln (35,8 kDa) och i långsamma och snabba skelettmuskelfibrer. Under utveckling av fetala skelettmuskler sker samtidig expression av alla tre troponin T gener. Efter födseln nedreguleras expression av cTnT gradvis så att cTnT inte alls uttrycks i normala skelettmuskler hos vuxna.

Trots att det finns två olika gener för TnC är iso-

formerna mycket homologa. En gen kodar för isoformen i långsam skelettmuskel och i hjärtmuskel (18,4 kDa), medan den andra kodar för isoformen som uttrycks i snabb skelettmuskel.

Frisättning av troponin till blodomloppet

Hastigt försämrat eller totalt blockerat blodflöde i något av hjärtats kranskärl till följd av ruptur eller fissur av ett aterosklerotiskt plack och påföljande trombosbildning leder till myokardischemi i det drabbade området. Beroende på graden och varaktigheten av förloppet, kan resultatet vara hjärtmuskeln nekros, d.v.s. hjärtinfarkt. Cellnekros leder till upplösning av cellmembranen och läckage av intracellulära proteiner som så småningom frisätts till blodomloppet och sedan kan detekteras med hjälp av immunologiska test. De proteinmarkörer som först kan detekteras i blodomloppet är proteiner som finns i hög koncentration i cytoplasman, medan strukturella proteiner frisätts långsammare och sålunda kan detekteras endast med en viss fördröjning efter cellnekros. Majoriteten av cTnI och cTnT finns strukturellt bundna till den kontraktile apparaten i motsats till t.ex. myoglobin som främst finns i cytosolen. Uppskattningsvis mindre än 10% av cTnI och cTnT finns i cytosolisk form. Man antar att de cytosoliska formerna är de första som kan detekteras i blodomloppet efter en hjärtinfarkt, och att den långvariga förhöjningen av troponin beror på fortsatt nedbrytning av den strukturellt bundna komponenten. Troponin kan vanligen detekteras omkring 4 timmar efter att symtomen börjat och kan vara förhöjt upp till 10 dygn eller längre beroende på infarktens storlek. Olika modifieringar kan påverka troponinkomplexet, antingen redan i hjärtmuskeln före frisättning eller efter frisättning till blodomloppet. Således kan en mängd olika molekylära former hittas i cirkulationen. I följande stycken beskrivs främst olika former av cTnI.

Flera forskningsgrupper har visat att största delen av cTnI, mer än 90%, frisätts i komplex med TnC (3-5). Förhållandet mellan totalt och fritt cTnI kan variera med tiden och mellan olika patienter. Enligt vissa rapporter kan också komplexet med alla tre subenheter frisättas.

cTnI molekylerna kan lätt nedbrytas av proteaser, t.ex. μ -calpain. Fosforyleringsstillståndet hos cTnI påverkar nedbrytningshastigheten så att fosforylering med protein kinas A gör cTnI mera resistent

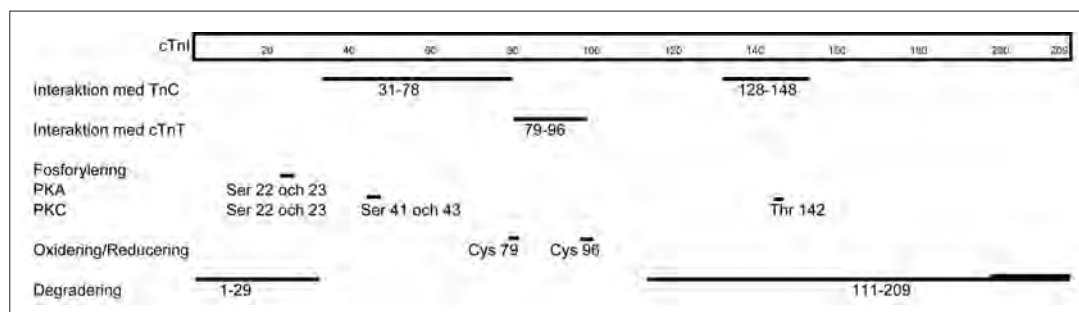
mot nedbrytning, medan fosforylering med protein kinas C ökar nedbrytningen (6). Det förekommer en del avvikande rapporter i litteraturen när det gäller vilka delar av cTnI som är mest känsliga för degradering. Katruhka et al. (7) fann att de amino- och karboxyterminala delarna var extremt instabila och snabbt degraderades när nekrotisk hjärtmuskulvävnad inkuberades vid 37°C. Den centrala delen av cTnI befanns vara stabilare och förblev intakt även efter inkubering i 20 timmar. Den högre resistensen mot degradering i denna del av cTnI tros vara en konsekvens av dess interaktion med TnC, som verkar skydda mot proteolys. Morjana (8) har rapporterat att merparten av cTnI i blodet hos patienter med hjärtinfarkt var degraderat både från amino- och karboxyterminalen, vilket gav upphov till två fragment på 14 respektive 18 kDa. McDonough et al. (9) identifierade upp till sju olika fragment i biopsier från bypass-opererade patienter. Främst kunde ett 22 kDa fragment med karboxyterminal degradering vid position 192 detekteras, men olika fragment med molekylvikter mellan 9 kDa och 22 kDa detekterades också. Fragmentet på 22 kDa, såväl som intakt cTnI kunde också detekteras i serum från samma patienter. I en färsk undersökning publicerad av Law et al. (10), degraderades aminoterminalen först, följt av senare förlust av sekvenser vid C-terminalen. Det har föreslagits att skillnader mellan patienter och mellan olika sjukdomstillstånd i hjärtat kan ge upphov till olika modifieringar av cTnI, vilka i sin tur kan erbjuda insikter i den patofysiologiska processen vid AKS (11).

En del av både intakt och modifierat cTnI i serum från hjärtinfarktpatienter har visats vara fosforylerat (11, 12), men fosforyleringsgraden och vilka aminosyrarester som är fosforylerade är ännu oklara. Man vet inte heller huruvida cysteinresterna vid position 79 och 96 är oxiderade eller reducerade i cTnI som frisätts till blodomloppet.

Immunologisk detektion av cTnI

Det finns mer än 20 tillverkare av cTnI bestämningar på marknaden, medan det p.g.a. patentrestriktioner finns bara en tillverkare av cTnT bestämningar (Roche Diagnostics). Detektion av cTnT har därför inte studerats i särskild hög grad, förutom en del jämförelser mellan första, andra och tredje gene-

(Fortsätter side 30)



Figur 1. Översikt över delar av cTnI som påverkas av olika modifieringar som ger upphov till stor heterogenitet hos cTnI i blodomloppet.

(Fortsat från sida 30)

rationens bestämningar. Däremot vet man att cTnI bestämningar kan ge stora skillnader i resultat beroende på vilken metod som används, eftersom den immunologiska detektionen av cTnI försvåras av en mängd faktorer. Bindningen av antikroppar till cTnI kan påverkas av konformationsförändringar, post-translationell modifiering och makromolekyler som blockerar antikropparnas epitoper på cTnI. Förutom specifika problem för cTnI kan cTnI bestämningar, liksom de flesta andra immunologiska bestämmningar, påverkas av interferens från t.ex. heterofila antikroppar.

Heterogenitet

Som beskrevs i stycket ovan, kan cTnI existera i en mängd olika former i blodomloppet. Helst borde antikropparna som används för detektion ekvivalentt känna igen alla former av cTnI. Man vet dock att bildning av cTnI-TnC komplexet påverkar detektionen hos en del monoklonala antikroppar. En del detekterar endast cTnI i komplex med TnC eller känner bättre igen den komplexerade formen (13), medan andra detekterar endast fritt cTnI eller har en högre reaktivitet för den fria formen (3). Flera studier har visat att det finns skillnader i detektionen av fritt och komplexbundet cTnI hos en del kommersiella cTnI metoder (4, 14, 15). Eftersom både den amino- och den karboxyterminala delen av cTnI lätt kan spjälkas av proteaser, har IFCC:s kommitté rekommenderat användning av antikroppar mot den stabila delen av cTnI, d.v.s. aminosyraresterna 30-110 (16), och de flesta kommersiella metoderna använder antikroppar mot epitoper i denna del (17).

Fosforylering kan också påverka interaktionen med cTnI hos en del antikroppar, men dess inverkan på kommersiella metoder har inte studerats i någon högre grad. Man vet att en del cTnI metoder påverkas olika av en möjlig oxidation av SH-grupper (4), men eftersom det är oklart om cTnI vanligen finns i reducerad eller oxiderad form i blodomloppet är det svårt att utvärdera vikten av denna observation. En sammanfattning över vilka delar av cTnI som kan påverkas av olika modifieringar visas i Figur 1.

Interferens

Preanalytiska faktorer kan påverka detektionen av cTnI. Serum används ofta för immunologiska bestämningar, men användning av plasmaprover kan vara mera praktisk eftersom tiden som behövs för koagulering av serum kan elimineras. Det mest lockande alternativet för snabb bedömning av AKS patienter när det gäller val av provtyp är helblod, eftersom det eliminerar behovet av koagulering och centrifugering. Både heparin och EDTA som används som antikoagulanter i plasmaprover kan störa detektion av cTnI. Eftersom cTnI är ett basiskt protein med en positiv laddning vid fysiologiskt pH-värde kan det dra till sig negativt laddade molekyler, såsom heparin. I en del cTnI analysmetoder har tillsats av heparin ingen effekt på antigen-antikropsreaktionen (12, 18, 19), medan andra metoder kan ge lägre (20-23) eller högre (24) koncentrationer i heparinplasma än i serum. Användning av EDTA som antikoagulant kan störa interaktionen mellan cTnI och TnC, eftersom kalcium som stabiliserar komplexet binds av EDTA. Detta kan i sin

tur leda till förändringar i detektionen av cTnI om antikropparna inte ekvimolärt detekterar fritt och komplexbundet cTnI. Om koaguleringen av serum inte är fullständig, kan närvaron av fibrinsträngar i provet leda till falskt förhöjda resultat (25). Förnyad centrifugering och analys av provet kan i sådana fall eliminera interferensen.

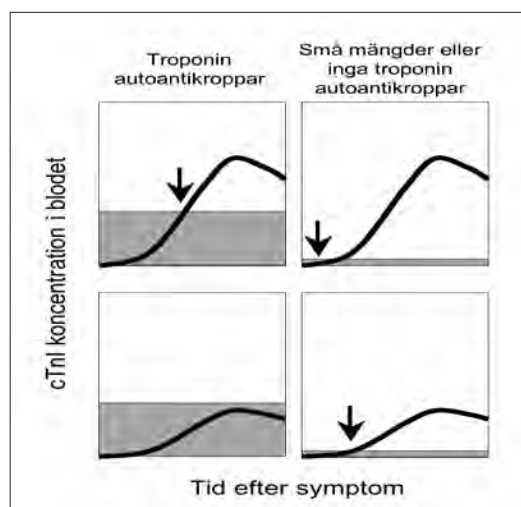
Analytisk interferens är ett problem som påverkar de flesta immunologiska bestämningar i någon grad med falska positiva eller negativa resultat som följd. Ofta beskrivna interferensmekanismer är sådana som förorsakas av heterofila antikroppar, humana anti-mus antikroppar, reumafaktorer och komplement (26). Olika tillvägagångssätt kan användas för att eliminera olika typer av interferens. I kommersiella bestämningar tillsätts i regel blockerande komponenter såsom serum eller immunoglobulin från samma art som de analytiska antikropparna härstammar från. Trots det kan interferenser fortfarande uppträda och därför är det viktigt att man alltid tar i beaktande också de kliniska symtomen.

Ett stort antal falskt positiva cTnI resultat har rapporterats och majoriteten beror på heterofila antikroppar (27-29) och reumafaktorer (30-32). Falskt negativa resultat har rapporterats relativt sällan. Bilirubin och hemoglobin kan förorsaka negativ interferens i AxSYM cTnI bestämningen (33). Bohner et al. (34) rapporterade falskt negativa resultat från en patient som blivit bypass-opererad. När cTnI tillsattes till serum från denna patient kunde inget cTnI detekteras. Behandling av serumet med protein A eller specifikt anti-humant IgG antiserum eliminerade interferensen och 97% av tillsatt cTnI kunde detekteras. Slutsatsen var att interfererande IgG verkade som en analytbindande antikropp och förhindrade detektion av cTnI i den immunologiska bestämningen, eftersom komponenten inte störde detektionen av CK-MB eller cTnT, vilka båda var positiva.

Figur 2. Troponin autoantikroppar (markerat med grått) i patientprov kan maskera cTnI till en viss grad beroende på mängden autoantikroppar. Resultatet kan vara att cTnI blir positivt senare (markerat med pilar) än vad som skulle ha varit fallet i frånvaro av autoantikroppar, eller ifall frisättningen av cTnI är liten kan proven förbli falskt negativa. I prov med inga eller endast små mängder troponin autoantikroppar påverkas inte detektionen av cTnI och cTnI blir positivt tidigare.

Vår forskningsgrupp har rapporterat förekomsten av en tidigare oidentifierad serum och plasma komponent som kan orsaka falskt negativa resultat i cTnI bestämningar som är baserade på antikroppar riktade mot den centrala delen av cTnI (35). Nyligen har vi visat att den negativa interferensen beror på autoantikroppar mot troponin, vilka stör bindningen av analytiska antikroppar till cTnI (36, 37). Den stora förekomsten av dessa autoantikroppar är mycket oväntad. Vi har kunnat visa att omkring 3.5% av populationen har autoantikroppar som blockerar mer än 90% av cTnI som tillsätts till provet. Eftersom den centrala delen av cTnI är den mest stabila, rekommenderas användning av antikroppar mot denna del (16), och följaktligen är de flesta kommersiella cTnI bestämningar baserade på sådana antikroppar. Risken för falskt negativa eller för låga cTnI resultat är alltså stor i de flesta kommersiella metoder om det finns troponin antikroppar i provet. Speciellt små cTnI förhöjningar kan förbli oupptäckta, medan en stor frisättning av cTnI saturerar autoantikropparna och således inte längre påverkar detektionen i nämnvärd grad (se Figur 2). Efter att ha undersökt till vilka delar av cTnI molekylen troponin autoantikropparna binds och vilka som inte påverkas (38), har vi kunnat utveckla en cTnI analysmetod som betydligt bättre än övriga metoder kan detektera cTnI i prov med

(Fortsätter side 32)

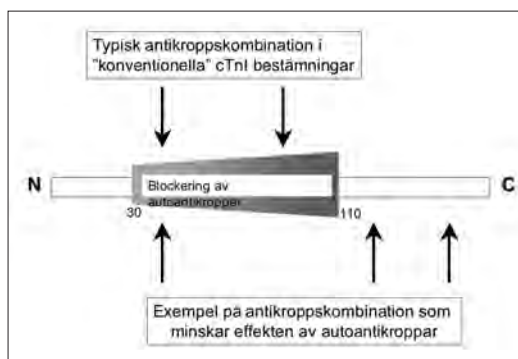


(Fortsat fra side 31)

stora mängder troponin autoantikroppar (39) (se Figur 3). Den största nyttan av den interferensfria metoden ses i det tidiga skedet, där den har en känslighet som är jämförbar med myoglobin (40), som anses vara den tidigaste hjärtskademarkören som kan detekteras efter en hjärtinfarkt. Av de patienter med hjärtinfarkt som kom till akutmottagningen inom tre timmar från symtomens början, kunde 50% identifieras av den nya metoden i det första provet, medan myoglobin identifierade 44.2% och en konventionell cTnI metod (Bayer Immuno 1) endast 11.5% (40). Trots att den nya cTnI analysmetoden är baserad på antikroppar även utanför den stabila centrala delen, har vi inte observerat några problem med stabiliteten hos cTnI.

Brister i standardisering

Eftersom det finns endast en tillverkare av cTnT analysmetoder utgör jämförelse av resultat inget problem för cTnT metoder. Däremot finns det över 20 analysmetoder för cTnI på marknaden och olika metoder kan ge mycket stora skillnader i resultat. Skillnaderna beror på olikheter i både kalibreringsmaterial och antikroppskombinationer. Bristen på överensstämmelse gör det svårt att jämföra värden som mäts med olika metoder och komplicerar tillämpningen av forskningsdata för kliniskt bruk. Så höga som hundrafaldiga skillnader har rapporterats mellan olika metoder (41). Användning av ett gemensamt kalibreringsmaterial reducerade diskrepansen mellan metoder avsevärt (42-44) trots att diskrepansen mellan en del individuella prov kvarstod. Den optimala sammansättningen hos en gemensam kalibrator har undersökts av flera forskningsgrupper. Katrukha et al. (15) fann att det naturliga cTnI-TnC-cTnT komplexet som isolerats från hjärtmuskelvävnad producerade de lägsta skillnaderna mellan olika metoder. Serumpooler har också använts för harmonisering av cTnI testresultat vilket ledde till förbättrad jämförbarhet (42-44) även om detta tillvägagångssätt inte är särskilt praktiskt på lång sikt. Nyligen valde standardiseringskommittén vid American Association for Clinical Chemistry cTnI-TnC-cTnT komplexet från HyTest Ltd. till rekommenderat referensmaterial för troponin bestämningar och detta distibueras nu av National Institute of Standards and Technology. Harmonisering kan



Figur 3. Valet av antikroppskombination kan påverka detektionen av cTnI i prov med troponin autoantikroppar. Genom att välja antikroppar utanför den centrala delen av cTnI kan detektionen av cTnI förbättras avsevärt.

dock knappast uppnås endast genom användning av gemensamt kalibreringsmaterial eftersom mycket av diversiteten uppkommer från skillnader i antikroppskombinationer. Med tanke på de komplicerade biokemiska egenskaperna hos cTnI i blodomloppet, kan den slutliga lösningen på standardisering av cTnI bestämningar vara användning av antikroppar mot "tillåtna" epitoper i kommersiella cTnI bestämningar. För närvarande verkar det ändå inte vara möjligt att rekommendera ett enda antikroppsspar så länge kunskapen om antikropsreaktivitet och kliniskt relevanta former av cTnI är bristfällig.

Precision i det låga området

Huruvida cTnI normalt finns i cirkulationen eller om de mycket låga koncentrationer som kan mätas i en del friska individer bara återspeglar analytiskt brus nära detektiongränsen är ett ämne för diskussion. Hur det än förhåller sig, finns det bevis för att även en mycket liten frisättning av cTnI som tillförlitligt kan detekteras är förknippat med en högre risk för ogynnsamt kliniskt förlopp. Enligt de nya riktlinjerna från European Society of Cardiology/American College of Cardiology bör den diagnostiska gränsen för hjärtinfarkt läggas vid det värde som motsvarar den övre 99:e percentilen hos en frisk referenspopulation (1). Samtidigt bör precisionen (CV) vid denna gräns vara $\leq 10\%$ för att undvika falskt positiva värden som en följd av imprecision nära detta gränsvärde. När de nya riktlinjerna publicerades

(Fortsätter side 34)

(Fortsat från sida 32)

kunde ingen cTnI eller cTnT metod uppnå CV $\leq 10\%$ vid den 99:e percentilen. Istället föreslogs det att den lägsta koncentrationen vid vilken en precision på 10% kan uppnås skulle användas som diagnostiskt gränsvärde (45). Nyligen har ett fåtal kommersiella bestämmningar rapporterats uppnå CV $\leq 10\%$ vid den 99:e percentilen (46–48). Å andra sidan har andra studier inte kunnat bekräfta resultaten (23, 49). Utvecklingen av kommande generationers troponin metoder bör fokuseras på förbättring av precisionen i det låga området. Redan med existerande metoder har man visat att patienter med en hög sannolikhet för AKS och endast smärre förhöjning av cTnI under det diagnostiska gränsvärdet har en större risk för återkommande hjärtkomplikationer (50).

Troponinernas roll i hjärtinfarktsdiagnostik

Diagnos

Eftersom den nya definitionen av hjärtinfarkt starkt bygger på detektion av biokemiska markörer för myokardiell nekros (1), företrädesvis cTnI och cTnT, har dessa en stor roll för diagnos av hjärtinfarkt. Trots att troponinerna har förmågan att detektera kvantitativt mindre grader av myokardiell nekros än andra markörer, krävs det omkring tre timmar eller mera innan de blir detekterbara i serum. Därför rekommenderas upprepad provtagning med början vid intagningen, och sedan 6–9 timmar och igen

Tabell 1. Exempel på tillstånd vid vilka förhöjning av troponin kan förekomma.

Akut reumatisk feber
Amyloidos
Cirros (p.g.a. alkohol)
Cytostatikabehandling
Extrema uthållighetssporter
Hjärtsvikt
Hjärttransplantation
Hypertoni
Lungemboli
Myokardit
Njursvikt
Perikardit
Sepsis

12–24 timmar senare ifall tidigare prov är normala och symtomen indikerar en stor sannolikhet för hjärtinfarkt (1). För att tidigt utesluta hjärtinfarkt kan en multimarkörstrategi som inkluderar myoglobin vara till nytta, eftersom en del rapporter har visat att detta tidigare kan identifiera patienter med hjärtinfarkt (51). Ett förhöjt troponinvärde bör alltid åtföljas av antingen ischemiska symtom eller EKG förändringar som tyder på ischemi för att kriterierna för hjärtinfarkt skall uppfyllas (1), och man bör komma ihåg att förhöjda troponinvärden kan förekomma i en mängd andra tillstånd vid vilka skador på hjärtmuskeln kan uppstå (se Tabell 1).

Prognostik

Troponin är ett användbart redskap för riskvärdering av AKS patienter, speciellt patienter utan ST-höjning på EKG. Redan år 1992 visade Hamm et al. (52) att förhöjt cTnT var förknippat med en märkbart högre risk för hjärtkomplikationer under sjukhustiden. Troponinernas betydelse som riskmarkörer med prognostiskt värde både för korta och långa tidsperioder har visats i flera meta-analyser (53, 54). Eftersom man har insett vikten av förhöjda troponinvärden för riskvärdering, har riktlinjerna för vård av AKS patienter utan ST-höjning inkluderat mätning av troponin (55).

Terapival

Förutom sin överlägsna förmåga att riskvärdera AKS patienter, har troponin testning också visat sig vara av stort värde när det gäller valet av behandling. Patienter med förhöjt troponin har mer sannolikt komplexa trombotiska koronarskador och kommer följaktligen att ha större nytta av mer aggressiva behandlingsmetoder, såsom trombolys och invasiv terapi (56, 57).

Mätning av troponin är alltså ett utmärkt redskap vid hjärtinfarktsdiagnostik och -prognostik, men man bör komma ihåg att den immunologiska detektionen kan påverkas av en mängd olika faktorer som kan orsaka falskt förhöjda eller falskt för låga resultat, eller i värsta fall falskt positiva eller negativa resultat.

Översikten är baserad på en större litteraturgenomgång. Den fullständiga referenslistan kan fås genom att kontakta författaren på e-postadressen susann.eriksson@utu.fi

Referenser

1. Myocardial infarction redefined - A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-13.
3. Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lövgren T, Severina ME, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997;43:1379-85.
7. Katrukha AG, Bereznikova AV, Filatov VL, Esakova TV, Kolosova OV, Pettersson K, et al. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection. *Clin Chem* 1998;44:2433-40.
12. Katrukha A, Bereznikova A, Filatov V, Esakova T. Biochemical factors influencing measurement of cardiac troponin I in serum. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:1091-5.
16. Panteghini M, Gerhardt W, Apple FS, Dati F, Ravkilde J, Wu AH. Quality specifications for cardiac troponin assays. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:175-9.
34. Bohner J, von Pape KW, Hannes W, Stegmann T. False-negative immunoassay results for cardiac troponin I probably due to circulating troponin I autoantibodies. *Clin Chem* 1996;42:2046.
35. Eriksson S, Junikka M, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, Alfthan H, Pettersson K. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays from a frequently occurring serum and plasma component. *Clin Chem* 2003;49:1095-104.
36. Eriksson S, Hellman J, Pettersson K. Autoantibodies against cardiac troponins. *N Engl J Med* 2005;352:98-100.
37. Eriksson S, Halenius H, Pulkki K, Hellman J, Pettersson K. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies. *Clin Chem* 2005;51:839-47.
38. Eriksson S, Junikka M, Pettersson K. An interfering component in cardiac troponin I immunoassays - Its nature and inhibiting effect on the binding of antibodies against different epitopes. *Clin Biochem* 2004;37:472-80.
39. Eriksson S, Ilva T, Becker C, Lund J, Porela P, Pulkki K, et al. Comparison of cardiac troponin I immunoassays variably affected by circulating autoantibodies. *Clin Chem* 2005;51:848-55.
40. Ilva T, Eriksson S, Lund J, Porela P, Mustonen H, Pettersson K, et al. Improved early risk stratification and diagnosis of myocardial infarction, using a novel troponin I assay concept. *Eur J Clin Invest* 2005;35:112-6.
42. Tate JR, Heathcote D, Rayfield J, Hickman PE. The lack of standardization of cardiac troponin I assay systems. *Clin Chim Acta* 1999;284:141-9.
45. Apple FS, Wu AH, Jaffe AS. European Society of Cardiology and American College of Cardiology guidelines for redefinition of myocardial infarction: how to use existing assays clinically and for clinical trials. *Am Heart J* 2002;144:981-6.
53. Ottani F, Galvani M, Nicolini FA, Ferrini D, Pozzati A, Di Pasquale G, et al. Elevated cardiac troponin levels predict the risk of adverse outcome in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2000;140:917-27.

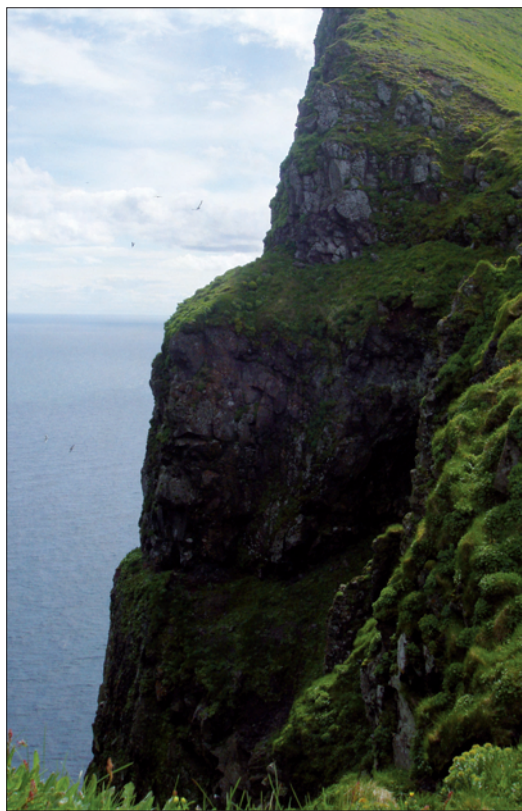


Foto: Ingunn Torsteinsdottir

Blodgasprojektet i Skåne – Hur blev det i verkligheten?

Per Simonsson, Projektledare

Klinisk kemi, Universitetssjukhuset MAS, Malmö, Sverige

E-post: per.simonsson@med.lu.se



För drygt fem år sedan fanns det många problem med blodgasanalyserna i Skåne. Verksamheten var spridd på många händer. Instrument var uttjänta och resurser saknades för reinvestering. Ett skånegemensamt projekt, baserat på kliniska behov och teknisk utveckling, startade därför. Lokala och regionala samarbeten har resulterat i nya samverkansformer, förbättrad kvalitetssäkring, nya IT-lösningar och högre kostnadseffektivitet. Ett gott samarbete med leverantören har varit väsentligt. Projektet visar på en ny modell för kundstyrt och affärsmässigt samarbete mellan laboratoriemedicin, kliniska enheter och industrin inom Region Skåne.

Bakgrund

Under slutet av 90-talet fanns ett starkt behov av att göra en översyn av blodgasverksamheten i Region Skåne. Det fanns ett starkt behov från främst kliniska enheter att reinvestera i ny utrustning. Samtidigt fanns ett krav på bättre kvalitet, ekonomi, organisation och informationshantering (svarsrapportering).

Verksamhetscheferna i klinisk kemi i Region Skåne initierade därför 1998 ett projekt "Blodgasanalyser i Skåne" som fick regionledningens stöd.

Projektets syfte:

"Syftet med projektet är att ta fram en nulägesbeskrivning av befintlig verksamhet, framtida kliniska behov och tekniska lösningar, även med avseende på IT, och lägga förslag på hur blodgasanalyser inom i första hand patientnära verksamhet skall organiseras och kvalitetssäkras. Projektgruppen skall också gemensamt utvärdera de instrument som för

närvarande finns på marknaden. Projektet skall slutligen också producera en kravspecifikation för en skånegemensam upphandling av instrument för patientnära blodgasanalyser som skall genomföras av MA Skåne."

Reinvestering

Efter en upphandling vintern 1999-2000 slöts ett tjänsteupphandlingsavtal med Triolab AB som gav dem ett exklusivitetsavtal för att leverera blodgastjänster till Region Skåne. En snabb installering av Radiometers instrument genomfördes under första året. Kompletterande installationer har därefter gjorts under projektets gång, dels som införande av nya instrument, dels som utvidgning av analysortimentet på existerande instrument.

Under projektets gång har det årliga antalet analyserade prover ökat från cirka 215 000 till 263 000 (+ 22 %). Eftersom sortiment på instrumenten utökats har antalet analysresultat ökat i större omfattning. Antalet instrument har ökat från 36 till 48 st (+ 33 %).

Expertgruppen i Skåne bildades

En viktig komponent i projektet har varit Expertgruppen för blodgasanalyser i Skåne. Denna grupp har samlats två gånger årligen och haft cirka tio protokollförda möten. Gruppens uppgift har varit att verka för ökat samarbete mellan laboratorerna och mellan laboratorerna och klinikerna. Ett stort kunskapsutbyte har skett genom expertgruppens försorg. Gemensamma delprojekt har drivits om t ex instrumentutvärdering, tonometri och IT-uppkoppling. Avtalstolkningar har framgångsrikt diskuterats och beslutats i gruppen. En viktig faktor har

(Fortsätter side 38)



(Fortsat fra side 36)

varit Triolabs aktiva deltagande i mötena, som vid några tillfällen hållit vid tillverkaren Radiometers huvudkontor i Köpenhamn. Nya lösningar har kunnat presenteras på tidigt stadium, ofta under utvecklingsfasen, och gemensamma förbättringsprojekt har genomförts, speciellt när det gäller IT.

Så blev resultatet efter fem år

Det ingick i projektuppdraget att speciellt arbeta inom fyra områden:

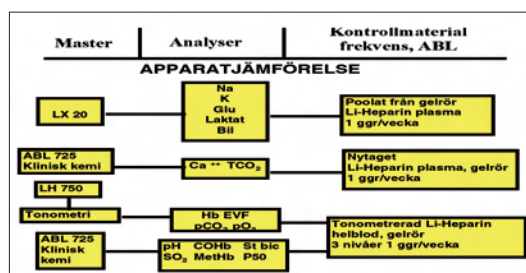
1. Kvalitetssäkring
2. Ekonomi
3. IT
4. Ny patientnära teknik inom slutenvården

1. Kvalitet

Olika, innovativa lösningar har utvecklats vid de olika sjukhusen, i samarbete mellan laboratorium och vårdande enheter. Olika strategier har använts. Vid de flesta sjukhusen har samarbetsprojekt etablerats så att dokumenterad kvalitetssäkring etablerats. Det omfattar installation, validering, utbildning, behörighet, kvalitetsövervakning, service, logistik, ekonomirutiner och svarsrapportering i olika omfattning vid de olika sjukhusen. Utbildning har genomförts av laboratorernas BMA, tillsammans med Triolab AB. Bara i Malmö har mer än 1300 behörigheter utfärdats och uppdaterats årligen av Klinisk kemi.

Vid några sjukhus har kontrakt med serviceavtal och ekonomisk ersättning till klinisk kemi tecknats med samtliga kliniker som driver patientnära blodgasanalyser. Detta avtal inkluderar samtliga aktiviteter utom själva analysarbetet. Målsättningen är att patientnära laborerande ska bedrivas med jämbördig kvalitet oavsett var analysen utförs (se Figur).

Via den centrala nätverkskopplade kvalitets- och



instrumentkontrollen Radiance kan problem upptäckas och åtgärdas på ett tidigt stadium. Initialt krävdes stora IT-insatser för att bygga upp nätverkslösningen. Elektroniska svar går automatiskt till journalsystem via Skånenätverket. Detta ger stora kvalitetsvinster pre- och postanalytiskt.

2. Ekonomi

Ett av målen var att öka kostnadseffektiviteten, inte minst inför en förväntad expansion av den patientnära verksamheten. Eftersom ingen strukturerad och samlad ekonomiuppföljning fanns 1999 är det tyvärr svårt att jämföra kostnader. En initial kostnadsberäkning gjordes 1999. Den är dock behäftad med stor osäkerhet pga. svårigheter att få översikt över så många resultatenheters kostnader. Tjänsteupphandlingen har nu gjort det mycket enklare att identifiera kostnaderna och följa dem.

Gissningsvis, speciellt om man beaktar att Region Skåne fått en ny instrumentpark, förbättrad kvalitetssäkring, ökat utnyttjande och service, så finns det fog för uppfattningen att kostnadseffektiviteten ökat.

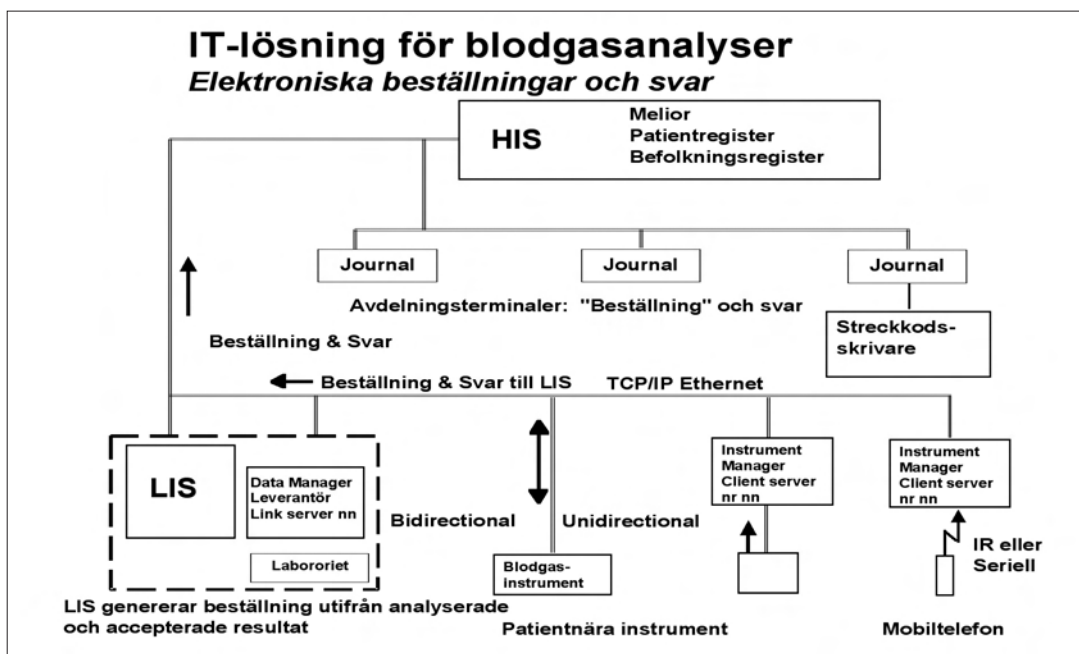
För införande och drift av systemet har flera tjänster krävts (BMA, ingenjör, IT, läkare). Merparten av denna kostnad har legat i Malmö som erhållit ersättning från kliniska avdelningar för tjänsterna via avtal. Övriga laboratorier har också avsatt personal till detta arbete men ersättningsmodellerna har varierat.

3. IT

IT inom slutenvården var 1998 relativt outvecklad med i stort manuell dokumentation av patientinformation och analysresultat. Under de gångna åren har en omfattande datorisering av journalhanteringen skett vid de flesta kliniker i Skåne. För att möta denna utveckling har projektet tillsammans med leverantören utvecklat metoder att säkert och effektivt överföra analysresultat från patientnära instrument till journalsystemen Melior och Swedstar.

Elektroniska beställningar och svar har med detta system införts och gett förenklad svarsrapportering och ökad effektivitet genom att manuella moment tagits bort.

Samtidigt har uppkopplingen av instrumenten vid de flesta sjukhusen till det lokala nätverket gjort det möjligt att använda central kvalitetsuppföljning och instrumentbevakning, utförd av de olika laborato-



rierna via Radiometers Radiance. Detta har givit en starkt förbättrad kvalitetssäkring av verksamheten.

4 Ny patientnära teknik inom slutenvården

Som förutspåddes 1999 har det skett en expansion av den patientnära verksamheten inom slutenvården. Den har dels gällt införande av patientnära blodgasteknik vid många avdelningar, dels har den yttrat sig i utvidgning av sortimentet på blodgasinstrumenten och genom tillägg av andra instrument för analys av främst CRP. 1999 var de flesta patientnära instrumenten enbart avsedda för analys av blodgaser och pH. I nuläget dominerar multikompetenta system, som närmast är att betrakta som minilab, med förmåga att analysera elektrolyter (Natrium, Kalium, joniserat Calcium), metaboliter (Glukos, Laktat) och oximetri (Hb, MetHb, mm). Eftersom vi byggt upp ett förtroende mellan lab och avdelning har det gått lättare att införa kvalitetssystem också för andra analyser.

Spin-off effekter

Projektet har haft flera viktiga spin-off effekter:

- Relationer har skapats och fördjupats både mellan laboratorierna i Skåne och mellan de lokala laboratorierna och de kliniska avdelningarna. Det

har gett ömsesidigt bättre kommunikation och samarbete även inom andra områden än blodgaser, som t ex preanalytik (provtagning, transport, beställningar).

- Förståelse har ökat hos kliniska kollegor och övrig vårdpersonal för betydelsen av kvalitetssäkring av laboratorieanalyser.
- För laboratorierna har det inneburit nya arbetsuppgifter som gett nya tjänster.
- Det elektroniska beställnings- och svarssystemet har lett till att ett skånegemensamt system för patientidentifikation med streckodsmärkning har tagits fram och införts i rutinen. Det används nu inom andra områden än analysarbetet.
- Projektet har också resulterat i nya pilotprojekt att försöka koppla andra patientnära instrument, tex enkla instrument för analys av Hb, till laboratoriets datasystem.
- Ett givande samarbete har skapats mellan laboratorierna, leverantör och instrumenttillverkare, med stora möjligheter att påverka utvecklingen av analystekniken i framtiden.

(Fortsätter side 38)

Ledningserfarenheter

Ett så pass omfattande projekt, som spänner över många sjukhus, laboratorier och kliniker samt leverantör kräver flera ingredienser för att lyckas:

- Målsättningen och förtroendet måste finnas.



Biomedicinska analytikerna Gunilla Lundström och Agneta Hägglöf ansvarar för blodgasprojektet i Malmö.

- Ett långsiktigt stöd från regionledning och verksamhetschefer behövs.
- Kundperspektivet är avgörande för att ta fram nya lösningar. Att lyssna till användarnas behov och styras av dessa är nödvändigt. Det finns också outtalade behov.
- Att våga satsa resurser under en uppbyggnadsfas är viktigt. Investera för vinst!
- Uthålligheten i uppstart av projekt, under upphandlingen och införandet krävs. Ett flerårigt perspektiv måste gälla.
- Ett stort projekt måste ha självständiga delprojekt med stor frihet och stort ansvar att finna lösningar, t ex för utbildning och IT.

Referenser

Strandberg K, Thämlitz R, Simonsson P. A systematic approach to point of care blood gas analyses – The Malmö experience. Point of Care. 2003 Sep; 2, (3), 220-224.

Carl-Bertil Laurell's Nordic Fund for Clinical Chemistry

A grant will be awarded from Carl-Bertil Laurell's Fund during the XXX Nordic Congress in Clinical Chemistry in Copenhagen 2006. Approximately 35.000 SEK will be awarded to scientists under 40 years of age working in clinical chemistry laboratories. The money will first and foremost be used to support development of methods in clinical chemistry. Economic support can be given to travel and expenses in order to study new methods.

The application should contain a short description (max. one page, A4) of the applicant's scientific interests and ongoing work. It must be clearly stated in the application, for what purpose the funding will be used. A maximum of five published papers should accompany the application.

The application must be received at latest April 1, 2006 by chairman of the Organizing Committee: Børge G Nordestgaard · Department of Clinical Biochemistry · Herlev University Hospital
DK-2730 Herlev, Denmark · E-mail: brno@herlevhosp.kbhamt.dk

Biochimica Clinica - quo vadimus?

Visioner

Anders Kallner, Kliniskt kemiska avdelingen, Karolinska Universitetssjukhuset, Solna.

E-post: anders.kallner@kirurgi.ki.se



Anders Kallner har en solid baggrund i almen, organisk og fysisk kemi, som han erhvervede sideløbende med medicin-studier og senere uddannelse til klinisk kemiker. Han var specialstuderende på Kungl. Tekniska Högskolan i organisk kemi og forsvarede sin disputats om syntese og omsætning af galdesyre i 1967. Han har været professor i klinisk kemi ved Serafimerlasarettet i Stockholm, men har tilbragt størstedelen af sin professionelle karriere på Karolinska sjukhuset.

Skal man sammenfatte Anders Kallner's store indsats for klinisk kemi i få ord, må det blive kvalitetsarbejde, internationalt engagement og netværk. Gennem sin interesse for kvalitetssikring kom han tidligt ind i internationalt arbejde og har været på forskellige poster i ledelsen af IFCC og senere i IUPAC. Han har også arbejdet for WHO og har gjort en stor indsats for at styrke laboratoriemedicin i de baltiske lande og Rusland.

Med Diskussionsforum har han skabt en bred kontaktflade mellem kliniske kemikere i de nordiske lande, som har været til stor hjælp for mange.

I forbindelse med hans pensionering blev der afholdt et symposium med overskriften: Klinisk Kemi - Quo Vadimus? (Hvor går vi hen?). Symposiumet sluttede med, at Anders Kallner talte om sin vision for klinisk kemi, som følger her i bearbejdet form.

Det finns tre närbesläktade begrepp som det kan finnas anledning att försöka definiera: spådom, förutsägelse och vision.

Spådom är en ingivelse från en högre makt,

något som man kan förstärka med allsköns hjälpmedel, typiska exempel är kristallkulan och tarotkorten. Den som framgångsrikt ägnar sig åt detta kallas ofta "synsk".

Förutsägelse å andra sidan förutsätter en förhistoria och en extrapolering in i framtiden; ofta identifierar man en trend, den må vara linjär eller exponentiell eller utgöra vilken erfarenhetsmässig slutsats som helst. Gärna med, skenbart precisa, matematiska modeller uttalar man sig sedan om framtiden.

Vision är något helt annat. Den visionäre har en gåva som är få förunnad. Visionären förutsätts ha en gedigen kunskap i ämnet och ett rörligt, intuitivt, kreativt och lateralt tänkande. Visioner skapas fritt, de följer inga lagar och känner inga begränsningar. De innehåller i regel ett mått av önsketänkande och kopplas ofta till en tidsaxel. Det är bara i relation till tidsaxeln som man kan uttala sig om visionen slagit in eller inte.

Väl uttänkta och presenterade visioner kan påverka utvecklingen. I ett tal till nationen uttryckte JF Kennedy detta som "There is nothing so strong as an idea whose time has come". Kanske påverkar inte visionen utvecklingen direkt men gör oss beredda att ta till oss och utveckla nya till synes hisnade utvecklingar. Därför är goda ledare goda visionärer.

Låt oss ta några exempel, hämtade ur rymdhistorien; ett område som lämpar sig för visioner. Ämnet är svårt, det är fantasieggande och det är ökänt för de flesta.

En visionär med förmågan att beskriva sina visioner inom vitt skilda områden var Jules Verne,

(Fortsätter side 42)

(Fortsat fra side 41)

vid sidan HG Wells, ansedd som "science fiction's" fader. Några av klassikerna är 'Jorden runt på 80 dagar', 'En världsomsegling under havet', eller 'Från Jorden till Månen'.

Konstantin Tsiolkovsky läste "Från Jorden till Månen" på 1870-talet och drömde om rymdfärder. 1903, innan ens bröderna Wright lättat publicerade han 'Utforskning av världsrymden med reaktionsmaskiner' och presenterade ritningar och beräkningar av bl.a. vilken kraft som krävs för att föra ut en satellit i en omloppsbana. Han förutsåg att endast flytande bränslen skulle kunna frigöra den kraft som behövdes. Jordnära och användbart. Men tidigare hade han visionen 'The earth is the cradle of the mind, but humanity can't remain in its cradle forever'.

Hans ideer och beräkningar låg till grund för Sovjetunionens lyckade uppskjutning av Sputnik, och ISS har börjat byggas men befolkningen av andra solsystem lär dröja.

Wernher von Braun förutskickade i ett tal 1953 att raketer skulle drivas med kärnkraft inom ett decennium. Det har inte hänt.

Jag återvänder till JF Kennedy, som politiskt pressad i inledningen av det kalla kriget, i ett tal 1961 förutskickade att USA skulle placera en man på månen innan decenniet var till ända. Och det skedde 1969.

När visionen presenteras är den vanligen i huvudsak oprövad och till synes omöjlig. Vad utmärker den enda av rymdvisionerna som inträffat – hittills? Naturligtvis hade Kennedy makt och medel men framför allt tror jag att han genom sin utstrålning, carisma, lyckades entusiasmera många och ingjuta framtidstro och ambition i en hel nation. Retoriken och formen för presentationen av visionen kan vara avgörande för att den skall slå in.

Laboratoriemedicin skall utveckla fysiologiska fynd och egenskaper för diagnos och övervakning av sjukdom. Under de senaste nästan 200 åren har ämnets utvecklats från att knappast varit vad vi skulle anse vetenskapligt, knappt än mindre evidensbaserat, till vad vi har idag.

Många hävdar att den laboratoriemedicinska vetenskapen och särskilt klinisk kemi är mogen, färdigutvecklad och ointressant. Så är det natur-

ligtvis inte. Istället vill jag hävda att varje nyans på vetenskapens palett kan utvecklas till nya problem och nya lösningar. Varje fysiologiskt samband, varje nyfunnen substans måste prövas och studeras och varje metodologisk landvinning leder till fördjupad kunskap som kan bli användbar i diagnostiken. Nanoteknik och alla '-omics' på modet leder till större överblick av individers sjukdom och behov. Men de flesta av oss kommer att lida och dö i någon banal sjukdom. Därför måste det vi uppnått förvaltas, förfinas och finnas tillgängligt med hög tillförlitlighet.

För framskridande krävs att fler med sinne för lateralt tänkande, som kan släppa loss fantasin och kreativiteten, får tillfälle att göra detta inom ramen för sjukvården. Jag tror att många, som liksom jag under vissa tider, fått tillfälle att fördjupa sig i problem finner att nya ständigt dyker upp. Det kan till och med bli svårt att koncentrera och prioritera alla infall och ideer. Kreativitet kan inte mätas i de timmar; det tar tid och ostörd koncentration att tänka, förstå, utveckla och sovra. Få discipliner är så väl lämpade för att utveckla diagnostiska strategier som laboratoriemedicin. Laboratoriemedicinaren har överblicken, kunskapen och förankringen i vetenskapen. Det är en uppenbar fara att fångas in i administrativa åtaganden, ofta kortsiktiga lösningar. De tar oerhört mycket tid och kraft från vår kärnverksamhet.

Arthur Kornberg, som tillsammans med Severo Ochoa delade 1959 års Nobelpris i Fysiologi eller Medicin för 'deras upptäckter av mekanismerna i den biologiska syntesen av ribonukleinsyror och deoxyribonukleinsyror' höll en plenarföreläsning på AACCS kongress 1991. I en passus som etsat sig fast i mitt minne sa han:

A remarkable and profound development is the **confluence of medical sciences**. Research and teaching in medical school science departments have become interdependent and virtually indistinguishable. The basis for this coalescence of the previously diverse medical sciences is their use of a common language, **the language of chemistry**

Kliniska kemisters modersmål är kemi, vi är de som kan tolka, förstå och utveckla budskap inom hela medicinen. Och det är ett ansvar som vi måste ta på oss, ett ansvar som kräver kontinuerlig personlig utveckling. Vi måste också kunna systematisera kunskapen, strukturera och presentera den och

ha den ständigt tillgänglig och aktuell. Det laterala tänkandet kräver att vi försöker leva upp till den gamla studentvisans 'var är de som kunde allt?' utan att förlora djupet i kunskapen inom åtminstone några områden, vi måste utveckla förmågan att associera och dra slutsatser.

Om jag så skulle formulera mina visioner för klinisk kemi väljer jag bort rent tekniska områden t ex utveckling av nya instrument vilket jag, inom parentes, i stora drag tror kan sammanfattas som mindre, snabbare och intelligentare. Istället fokuserar jag på det intellektuella innehållet som jag vill se utvecklas och dominera verksamheten.

Jag tror att

- klinisk kemi koncentreras på att överbrygga kulturella och kunskapsmässiga skillnader mellan grundvetenskap och klinik, vi kommer att fortsätta att arbeta för att stå på en solid vetenskaplig grund, vi kommer att skraddarsy och leda medikamentell behandling av individer genom att utnyttja nanoteknik och ökad förståelse av genetiska samband allt fler söker sig till de kliniska laboratorierna för dessa kan fungera som ett nav i ett globalt medicinskt nätverk kunskap och erfarenhet kommer att tas bättre till vara kliniska kemister ges ökade möjligheter att utveckla sin kreativitet och förmåga till överblick, sjukvårdssystemen kommer att gynna intresse och förmåga att lära ut och entusiasmera andra.

Ingenting av allt detta kommer att kunna genomföras om vi inte talar med varandra och om vi inte också ser till att informationsflödet inte stryps eller blir vinklat. Ingenting kommer att åstadkommas om vi inte ger oss tid och resurser att följa litteratur, delta i vetenskapliga diskussioner och publicera våra fynd och tankar. Sune Bergström, som verkligen var en visionär, lockade mig som ung docent att studera uppbyggnaden och användningen av databaser, något som då tedde sig främmande. Då grundlades mitt intresse för databehandling, statistik och standardisering vid sidan av biokemi och medicin.

En effekt var att vi skapade en referattidskrift för klinisk kemi, Clinical Chemistry Lookout, som med mångas hjälp publicerades i drygt 20 år. Vi la ned den när den gick som bäst när vi insåg att allmänt tillgänglig datateknik nått därhän att publikationen

var dömd att dö. Medlen överfördes till en stiftelse som generöst givit stipendier, stött olika projekt t ex Diskussionsforum, publicering av kompendier, och konferenser.

Styrelsen för Stiftelsen Clinical Chemistry Lookout har nu anslagit SEK 500 000 kronor för att göra återkommande symposier i aktuella ämnen möjliga. Reglerna är enkla:

Symposierna skall

- utgå från en nordisk forskares eller forskargrups verksamhet inom laboratoriemedicin
- ges en vetenskaplig profil
- fokusera på samverkan mellan biokemiska och kliniska frågeställningar
- dokumenteras och om möjligt publiceras i en vetenskaplig tidskrift
- förläggas till Stockholm som ett separat arrangemang
- arrangeras minst vart annat år med början 2006

Symposierna kommer att arrangeras inom ramen för Stiftelsens stadgar och mål. Ingemar Björkhem har åtagit sig att leda arbetet. Redan nu kan förutskickas att Stiftelsen är intresserad av att korrespondera med kollegor och läsekrets och inbjuder till förslag på lämpliga ämnesområden för det symposium som kommer att äga rum under 2006.

Jag vill framföra mitt tack till professorerna Ingemar Björkhem och Elvar Theodorsson samt Docent Britta Landin, tillika verksamhetsschef vid laboratoriet, som var initiativtagare och organisatörer av vårt symposium i Stockholm. För mig har det varit en höjdpunkt i min karriär och ytterst hederande.

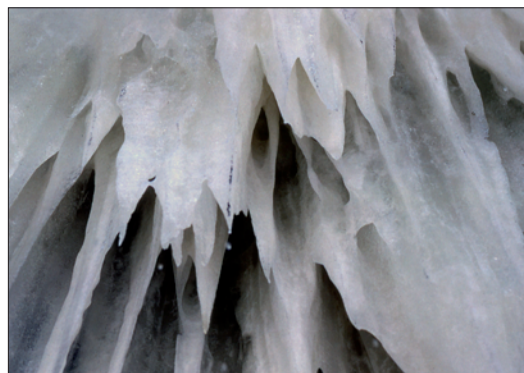


Foto: Henrik Alfthan

SKUP/2003/34* QuickVue® One-Step hCG test, (*QuickVue hCG test*), Medinor
 SKUP/2003/35* RapidVue® hCG Urin test, (*RapidVue*), Medinor
 SKUP/2004/37* Quick Response hCG test, Perivita

Esther Jensen, SKUP E-mail: Esther.Jensen@ouh.fyns-amt.dk



Resume af 3 U-hCG laboratorieafprøvninger i SKUP regi

Baggrund

Medinor AS i Danmark har bestilt to SKUP laboratorieafprøvning af QuickVue og RapidVue hCG test i 2003 med henblik på salg til Almen Praksis i Norden. Perivita AS i Norge bestilte i 2004 en afprøvning af Quick Response beregnet til patientgenmåling.

Laboratorieafprøvningsne er udført af læger, kemikere og bioanalytikere og ikke af slutbrugere. Slutbrugere for QuickVue og RapidVue hCG er praktiserende læger, sygeplejersker, bioanalytikere eller sekretærer og for Quick Response, kvinder, der køber testen på apoteket.

hCG i koncentrationer over 5 IU/L produceres normalt i celler, der bliver til moderkage hos kvinder i alderen 15- 40 år. Kvinder over 40 år kan have hCG produceret i hypofysen i koncentrationer over 5 IU/L¹.

hCG koncentrationer i både blod og urin er nogenlunde ens, men har meget individuelle koncentrationer som funktion af tid efter befrugtning, 40 IU/L ~ et par dage før forventet menstruation.

Kvalitetskrav

Ifølge danske kvalitetskrav² skal koncentrationer mellem 0 til 5 IU/L være negative og koncentrationer på 40 IU/L og derofter, skal være positive. Dette er også SKUP kvalitetskrav.

Testprincip

På QuickVue og RapidVue hCG teststrimler sidder monoklonale antistoffer, der reagerer med beta delen af human chorionic gonadotropin (hCG) i urin. På Perivitas teststrimmel var resultaterne ikke eentydige mht om det er betadelen af hCG.

QuickVue: 3 dråber urin dryppes i testkasettens brønd. RapidVue og Quick Respons dyppes i urin i 10 sekunder. Hvis der er hCG i prøven, vil der dannes et positivt bånd under testens kontrol bånd. Et svagt bånd sammen med kontrol båndet er ensbetydende med positivt resultat. For QuickVue og RapidVue kan negative aflæsninger foretages efter 3 minutter ved 15 – 30°C, mens resultatet med Quick response foreligger efter 5 minutter.

Metode

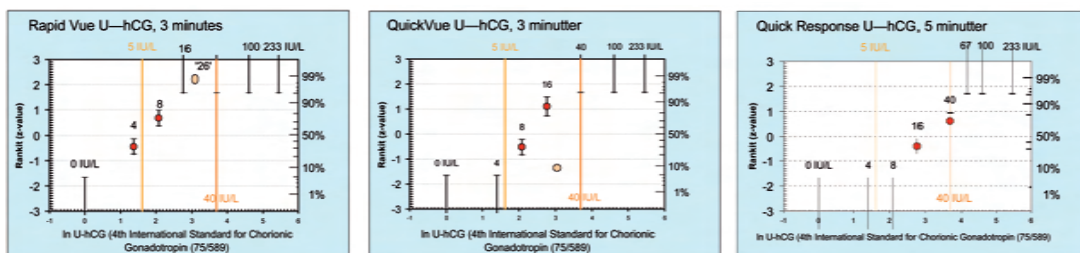
Til bestemmelse af hCG test anvendes seriefortyndinger af den 4th International Standard for Chorionic Gonadotropin (75/589), i 5 eller 6 forskellige koncentrationer, en hCG-fri urin, samt en eller to uriner fra kvinder i tidlig graviditet. Hver koncentration aflæses blindt 20 gange af 4 forskellige personer.

Test vurderes efter analysekvalitet og brugervenlighed, som vægtes ens.

Analysekvalitet belyses ved

- 1a) Procent negative resultater ved koncentrationerne 0 og 4 IU/L
- 1b) Procent positive resultater ved koncentrationer ≥ 40 IU/L
- 1c) Koncentrationen ved hvilken 50 % af resultaterne er positive
- 2) Intra-individuel variation for aflæsning af koncentrationerne
Inter-individuel variation mellem personer for koncentrationerne
- 3) % uanvendelige test
- 4) Kan testen aflæses til anbefalet tid. (ændrer resultaterne sig efter 10 minutter?)

Brugervenlighed er delt op i 4 områder, der hver er delt op i 3-13 problemstillinger



Figuren viser *ln* koncentration af Internationale standard (75/589). I figurerne er den tilsvarende U-hCG koncentration indsat med 90%CI for resultaterne. Det ses i figur 1a at en høj procent (>30%) af RapidVue strimlerne er positive på 4 IU/L og at alle teststrimler er positive ved 16 IU/L. Figur 1b: QuickVue er negativ i koncentrationerne

0 og 4 IU/L og positiv for 40 IU/L og derover. Figur 1c: Quick Response, Perivita er negativ ved koncentrationerne 0-8 IU/L og positiv ved koncentrationerne 67 IU/L og højere. I figur 1c er den ene genuine prøve '26' (beige punkt) erstattet af 67 IU/L

- 1) Manual – er vejledningen tilstede og forståelig?
- 2) Kvalitetssikring – er kvalitetssikring mulig? Kan det håndteres ved slutbruger anvendelse?
- 3) Tidsfaktorer – er testen (præanalytisk, analytisk, postanalytisk) egnet for slutbruger?
- 4) Betjening – hvordan er testen at anvende?

Resultater

Analysekvalitet.

Der var god overensstemmelse for den enkelte aflæser på de forskellige koncentrationer. På de lave koncentrationer kunne der være diskrepans mellem de enkelte aflæsere.

Alle teststrimler var valide med klar baggrund og kontrollinje.

Alle test blev mere positive over tid. Quick Response havde 100% ≥ 100 IU/L positive ved 3 minutter, mens 100% var positive på 67 IU/L efter 5 minutter.

Den koncentration ved hvilken halvdelen af testene var positiv var henholdsvis: 5,7 IU/L, 9,5 og 25 IU/L.

Brugervenlighed

Brugervejledningerne var meget forskellige med hensyn til oplysninger om analyseprincipper og fejlkilder. Alle teststrimlerne kan deltage i ekstern kvalitetssikring. Testene er hurtige at udføre og kan anvendes af slutbrugere. Ved de laveste koncentrationer var det for QuickVue svært at afgøre om der fremkom et svagt bånd. Se rådata og alle rapporter på SKUPs hjemmeside.

Konklusion

Alle tre test opfylder kravene til brugervenlighed i laboratorieafprøvningen.

RapidVue opfylder ikke kvalitetsmålene, da den er for følsom og vil give en del falsk positive graviditets diagnoser.

QuickVue hCG test opfylder kvalitetskravene til analysekvalitet. Efter 3 minutter var koncentrationerne 0 og 4 IU/L negative og 40 IU/L var positiv. Quick Response er negativ i koncentrationerne 0, 4 og 8 IU/L og positiv ved 67 IU/L ~ tidspunktet for forventet menstruation.

Hvordan testene vil klare sig hos slutbrugerne er ikke blevet undersøgt.

Alle rapporter er tilgængelige på www.SKUP.nu eller www.SKUP.dk

Referencer

1. Jennifer A. Snyder, Shannon Haymond, Curtis A. Parvin, Ann M. Gronowski and David G. Grenache. Diagnostic Considerations in the Measurement of Human Chorionic Gonadotropin in Aging Women. Clin Chem 2005;51 1830-1835
2. Laboratorieudvalget under 'Fagligt Udvalg vedr. Almen Praksis'. Kvalitetskrav og kvalitetsvurderingssystem for hyppigt udførte klinisk biokemiske og klinisk mikrobiologiske analyser i almen praksis. November 2003.

Redaktionskomiteen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Palle Wang · Tryk: Clausen Offset

Danmark	Overlæge Palle Wang Klinisk Biokemisk Afdeling Vejle Sygehus DK-7100 Vejle Telefon: +45 7940 6501 Telefax: +45 7940 6871 E-post: palwang@vgs.vejleamt.dk	-Norge	Overlege Tor-Arne Hagve Klinisk-kjemisk avdeling Rikshospitalet N-0027 Oslo Telefon: +47 2307 1071 Telefax: +47 2307 1080 E-post: tor-arne.hagve@rikshospitalet.no	Island	Avdelingsläkare Ingunn Torsteinsdóttir Department of Clinical Biochemistry Landspítali - University Hospital Hringbraut IS-101 Reykjavik Telefon: 354 543 5033 Telefax: 354 543 5539 E-post: ingunnth@landspitali.is
Danmark	Overlæge Ulrik Gerdes Klinisk Biokemisk Laboratorium Psykiatrisk Hospital Skovagervej 2 DK-8240 Risskov Telefon: +45 7789 3521 E-post: ulrik.gerdes@dadlnet.dk	Sverige	Överläkare Anders Larsson Avdelningen för klinisk kemi Akademiska sjukhuset S-751 85 Uppsala Telefon: +46 18 6114271 Telefax: +46 1855 2562 E-post: anders.larsson@akademiska.se	NFKK	Docent Per Simonsson Klinisk kemi Universitetssjukhuset MAS 205 02 Malmö Telefon: +46 4033 1459 E-post: per.simonsson@med.lu.se
Finland	Sjukhuskemist Henrik Alftan Helsingfors Universitetscentral sjukhus HUCS Laboratoriediagnostik Kvinnokliniken Haartmansgatan 2 FIN-00290 Helsingfors Telefon: +358-9-471 61457 Telefax: +268-9-4717 4806 E-post: henrik.alfthan@hus.fi				

Se også KBN's hjemmeside: www.kkno.org

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

NFKK har som oppgave å arbeide for utviklingen av det nordisk samarbeide innen klinisk kjemi med spesiell fokus på forskning, faglig utvikling og utdanning. Den består av medlemmene i de vitenskapelige foreningene for klinisk kjemi i Danmark, Finland, Island, Norge og Sverige. Aktiviteten i NFKK foregår i like arbeidsgrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJLCI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av Per Simonsson (leder), Jørgen Hjelm Poulsen (Århus), Holger Jon Møller (Århus), Päivi Laitinen (Oulu), Jarkko Ihalainen (Helsinki), Leifur Franzson (Reykjavik), Ingunn Thorsteinsdóttir (Reykjavik), Bjørn Bolann (Bergen), Kristian Bjerve (Trondheim), Per Simonsson (Malmö), Kerstin G. Andersson (Malmö).

Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i to eksemplarer samt en elektronisk versjon (E-mail eller på diskette) til den nasjonale redaktøren som er angitt ovenfor. Formen på manuskriptet skal være som beskrevet i Vancouver-aftalen (<http://www.etikkom.no/NEM/REK/vancouv.htm>). Meddelelser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

Figurer skal være av teknisk god kvalitet med tekst og symboler store nok til at figuren tåler forminskning. Til hver figur skal det finnes en forklarende tekst. Tabeller og figurer kan også med fordel sendes i elektronisk form.

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskript-teksten og skrives som i følgende eksempel (Vancouver-stil):

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

Det faglige innhold i de innsendte manuskripter vil ikke bli vurdert med referee-system. Redaksjonskomiteen vurderer imidlertid alle manuskripter innholdsmessig og redaksjonelt og foreslår eventuelle endringer.