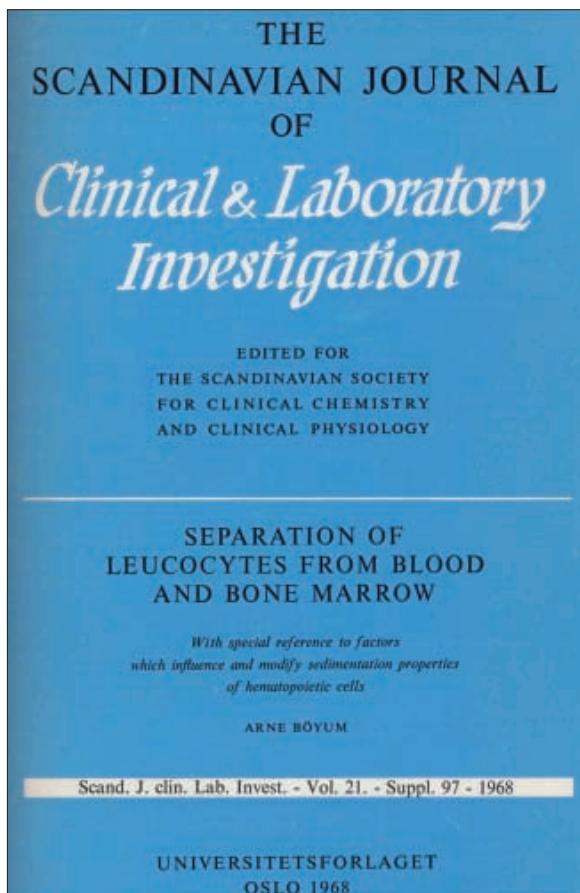
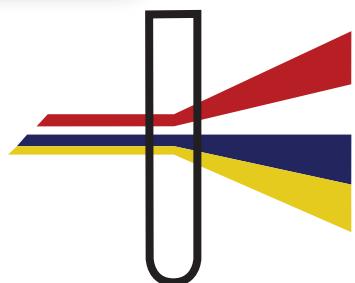


# Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 4, vol. 18, 2006

---

När hårdskivan gick sönder .....	4
<i>Henrik Alftan</i>	
Nytt från NFKK.....	6
<i>Jarkko Ihalainen</i>	
Computerised Pattern Recognition Systems in Routine Haematology .....	8
<i>Per Simonsson, Sven Björnsson, Lennart Friis-Hansen og Birgitta Swolin</i>	
Norges mest citerede artikel .....	16
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Historiske Norske Arbeider: Arne Bøyum (1968).....	17
<i>Arne Klungland</i>	
Kursus for unge under uddannelse i specialet.....	20
<i>Mattias Aldrimer</i>	
Gentestning for arvelig bryst- og eggstokkreft.....	24
<i>Merete Bjørnslett</i>	
Tumormarkører i serum ved bryst- og eggstokkreft: .....	32
Hvilken rolle spiller de i praktisk medisin?	
<i>Ole P. Børmer</i>	
IFCC News.....	40
<i>Päivi Laitinen</i>	
NORICHILD – nordiskt project för referensintervall för barn .....	42
<i>Peter Ridefelt</i>	

*Forsiden: Norges mest citerede artikel.*

# Automation that fits your lab.



## Introducing AutoMate™ 800.

When it comes to flexibility, versatility and ease of use, AutoMate 800 puts the power of automation to work in your lab like no other system. For chemistry, immunoassay, haematology or coagulation, AutoMate 800 manages samples from the moment they arrive to the minute results are delivered. To complement your UniCel® system, AutoMate 800 helps deliver the highest-quality results in less time – with less variability – than ever before.

AutoMate 800's open architecture sorts and manages all common tube types. Dynamic rack configurations allow different rack positions as the workflow changes.

AutoMate 800's intuitive process control software provides complete sample management (from login/receipt through storage condition and time, including sample volume for add-ons) plus stat prioritization and notification. And, our Remisol 2000 Data Manager provides advanced capabilities for data improvement.



Easy operation. Faster turnaround. Increased productivity. Plus, lower operating and maintenance costs. It's automation that fits your lab – in a compact footprint.

To learn more, contact your local representative or visit us at [www.beckmancoulter.com/automate800\\_eu](http://www.beckmancoulter.com/automate800_eu).



General Chemistry   Immunodiagnostics   Centrifugation   Molecular Diagnostics   Haematology  
Disease Management   Information Systems   Lab Automation   Flow Cytometry



Simplify • Automate • Innovate

# När hårdskivan gick sönder

*Henrik Alfthan*



man kan ju inte vara säker på att kameran inte oväntat går sönder.

Till en början gick allt som smort. Men halvvägs hördes det ett svagt "urk" från datorn. Och sedan en olycksbådande och total tystnad. Mina återupplivningsförsök var förgäves! Specialisternas återupplivningsförsök var förgäves! Med en gång försvann största delen av alla under tre år sparade filer. Korrespondens, utlåtanden, tabeller, skisser, presentationer, utredningar, uppföljningar, skattedeklarationer, mallar, historier och allt annat. Det värsta med det hela var ju att det inte fanns några säkerhetskopior på någonting, förutom några enstaka filer. Och jag som alltid har fört sådant liv om säkerhetskopiering och höjt ett varnande finger om vad som kunde hända.

Bara några enstaka utskrivna papperskopior blev kvar .....

En alldel vanlig fredag i början på året gick kollegan Marja-Leena på Barnkliniken i pension. Med sig till det gröna tog hon 35 års erfarenhet av aminosyror, atomadsorption, pediatrisk analytik och metaboliska sjukdomar. Kollegan Ulrica på Kvinnokliniken gick i pension i juni. Hon förde med sig 35 års erfarenhet i immunmetoder, blodgas, blodsocker, kvalitetssäkring och reagensframställning.

Det hela började en sen junikväll då Sebastian och jag kommit hem från en veckolång fotbollsturnering på Åland. I bagaget hade vi över två-hundrafemto tätasituationsbilder från matcherna vilka jag mitt i natten ivrigt började ladda ner från kamerans minneskort till datorn. För säkerhets skull,

Grannkollegan Ulla gick i pension i augusti. Ut ur huset gick gedigen erfarenhet om GC, HPLC, MS, IR och spektralanalys. Lagrad information från sammanlagt 105 år. Och allt detta gick upp i rök inom loppet av en mycket kort tidsperiod.

Bara några enstaka utskrivna papperskopior blev kvar .....

Två helt fristående historier? Utan samband? Nejdå!

I båda fallen rör det sig om enorma förluster. Förluster av en otrolig mängd uppsamlad information som vi inte med bästa vilja har råd att låta gå förlorad. Må informationen sedan vara lagrad som ettor och nollar på en hårdskiva eller som ett neuralt nätverk i form av kunskap och livserfarenhet hos den enstaka kliniska kemisten.

Hårdskivans kollaps kan lätt garderas genom automatisk säkerhetskopiering till en eller flera fristående ytter hårdskivor. Då källinformationen går upp i etern kan den återkallas med ett tryck på rätt tangent.

Men det går inte lika lätt med oss mänskor.

Lisa och Putte, 25 år och nyutexaminerade ur den naturvetenskapliga eller medicinska fakulteten kan inte förväntas bemästra fullt de många olika teknikerna eller ha det nyanserade kunnande som behövs i ett kliniskt laboratorium av dagens mått. Inte heller att fullvärdigt utan övergångsperiod ta över det gapande tomrum som lämnas efter "gamlingarna".

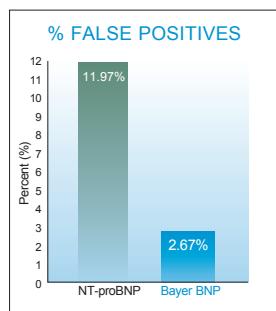
Skolningen av kliniska kemister i Norden är av högsta kvalitet. Men, det torde vara ganska självklart att man inte kan spricka ut i full blom utan erfarenhet. När de stora årgångarna nu börjar gå i pension bör vi med största omsorg se till att vi i god tid rekryterar efterföljare. Av stor vikt är att vi ständigt har ett tätt och långfristigt samarbete mellan mästaren och lärjungen. I labbet, sida vid sida, mötande dagliga problem och lösande dem tillsammans. På så sätt kan vi rädda en betydande del viktig kunskap och jämna vägen för den kommande generationen kliniska kemister. Vilket i slutändan gagnar vår huvudman - Patienten.

# What Are Your Heart Failure Tests Resulting In?

**There is nothing positive about false positives—just more testing, more time, more worry.**

Fortunately, BNP testing can assist in ruling out heart failure in symptomatic patients, with fewer false positives than NT-proBNP.<sup>1,2</sup> Bayer's BNP assay uses widely accepted, very specific antibodies for a high clinical specificity that correctly excludes CHF >97% of the time.<sup>1</sup> This means getting the patient out of the line and onto the correct treatment pathway faster, with less additional diagnostic testing. Backed by Bayer's family of Immunoassay analyzers, you get fast turnaround time delivering hundreds of tests per hour to rule out more patients-positively.

Fewer false positives. More confidence. That's innovation in the real world, only from Bayer HealthCare.



On average, assays measuring NT-proBNP result in 9.3% more false positives than Bayer's BNP assays.<sup>2</sup>

1. ADVIA Centaur Assay Manual BNP - part # 06300497 Rev C June 2003, Bayer HealthCare LLC, Diagnostics Division, Tarrytown, NY.

2. Based on a comparison of the data presented for the reference populations, as stated in the manufacturers' instructions for use. Clinical specificity is calculated from the percentage of patients below the diagnostic cutpoints presented for each assay.



# Nytt från NFKK

*Jarkko Ihäläinen*



## Ta inte det som givet!

Klinisk Biokemi i Norden hade sitt redaktionsmöte i Budapest nästan samma dag som Ungerns folkresning hade sin 50-årsminnesfest. Efter dagens möte gick jag förbi House of Terror -museet i mitten av staden. Unga skolelever i sina modekläder stod i kö för studiebesök med sina lärare. Bredvid dem var affischen till minnesutställningen. Den presenterade en ung pojke från 1956 med gevär i handen lutande mot en lyktstolpe i väntan på pansarvagnar som var på väg för att slå ned folkresningen.

NFKK är en nätverksorganisation som mellan kongresserna i stort sett koncentrerar på att

förmedla information och projekter som främjar nordisk laboratoriemedicin. Det betyder att styrelseorganen till NFKK har inte gjort mycket efter Köpenhamnsmötet i somras. I stället har våra självständiga projekter gått framåt och Klinisk Biokemi i Norden har distribuerat ett intressant nummer 3 i sin journalistiska autonomi.

Den Nordiska Föreningen har de fem nationella föreningarna som medlemmar och i vissa situationer kan vi vara aktiva i att förmedla och koordinera ställningstaganden och åtgärder på nordisk nivå. De situationer baserar sig på nationella föreningarnas frivillighet, någon direkt makt över nationella föreningar har NFKK inte. Vi håller på att förbättra mekanismerna till informationsöverföring och opinionsutforming med att använda IT och utprövade arbetsmetoder från t.ex. internationellt standardisering.

Pågående diskussion om IFCC:s nya definition för HbA1c och Europeiska laboratorieförbundarnas (EC4 och FESCC) sammanslagning är aktuella ärenden där nordisk koordination kunde vara begynnsamt. För tillfället har de nationella föreningarna bollen, det är de som röstar och fattar beslut. Vill de diskutera ställer NFKK gärna upp som forum.

Ett av de viktiga arbetssättena i NFKK är projekter där experter samlas och kan t.ex. producera rekommendationer som sedan godkänns och distribueras via NFKK. NORIP är ett bra exempel på ett sådant projekt.: fältet bör vara tillräckligt moget, samarbetsvilja och entusiasm behövs och man bör vara beredd på att vänta på resultatet för några år. Internationell standardisering av omogna eller kontroversiella områden är ofta nästan slöseri av resurser.

För tillfället har vi flera mer eller mindre standardiseringebetonade projekt (GFR, prenatal

screening, Norichild) på gång och på sistone har t.ex. lipidundersökningar föreslagits som mål för expertarbete. Några av våra projekt är mera om att utreda och informera ("benchmarka")- mitt eget projekt om kritiska värden är av denna natur.

Ungdomar i Budapest i dag och 1956 påminner oss om att fred och samarbete inte är självklarheter utan någonting vi bör hela tiden bör jobba för. Vi har också illa begrundade uppfattningar på laboratoriebranschen. Att säga "analytisk kvalitet har nått sådan nivå att vi inte mera behöver jobba för att förbättra den" är lika fel som att säga "Europa har nått ett läge där våldsamheter folken och folkgupperna emellan bara hör till historien".

Vi har flera exempel på att nya metoder inte är bättre än de gamla och i vissa fall begränsas klinisk utveckling av dålig metodisk kvalitet på laboratorierna. Om vi tänker på differenser i kalibration som finns i HbA1c metoder från stora internationella diagnostikföretag eller den olyckliga variationen

gällande kreatininmetoder är det klart att förutom ledarskap och logistik ger också biologi och teknologi fortfarande utmaningar till oss.

After the NFKK sailing course of communication in 2005 a group of young laboratory professionals has formed a loose network of "future clinical biochemists" in the nordic countries. This kind of spontaneous activity might be an outstanding way to plan our educational activities on the basis of the experienced needs among the junior colleagues. I also feel that this is good for the future of our network organisation. Many international associations are populated mostly by senior colleagues with a lot of experience and prestige. I do welcome them to NFKK as well but even more I welcome young professionals to come, act and develop their careers together. Unfortunately no NFKK course takes place this autumn but for the season of 2007-2008 we have very promising plans.



Island. Foto: Ingunn Torsteinsdottir

# Computerised Pattern Recognition Systems in Routine Haematology

Per Simonsson<sup>1</sup>, Sven Björnsson<sup>1</sup>, Lennart Friis-Hansen<sup>2</sup>, Birgitta Swolin<sup>3</sup>

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

## Abstract

*Artificial neural network is a computerised tool for pattern recognition that can be used in the classification of cells in clinical haematology. We have evaluated DiffMaster Octavia, an automated image analysis system, in routine practice at three different Scandinavian university laboratories. The concept offers analytical quality often compatible with that of a trained morphologist, at least when classifying normal peripheral blood cells. However, a validation based on a review by a medical technologist is necessary, in particular when investigating pathological samples. The digital system offers additional advantages compared to traditional morphology such as increased efficiency, quality assurance, standardisation of interpretation, training, image storage and transferability.*

## Introduction

Success in laboratory medicine requires that clinical work interface with biotechnology and information technology to produce a valuable clinical service. Traditionally laboratory haematology has been very strong in clinical relations. Biotechnology is developing apace as is information technology. The real and important challenge is to link all three parts together optimally.

Another of tomorrow's challenges to the clinical biochemists will be to meet the specific requirement of the user to get results in time. Until now the

service from the clinical biochemical laboratories has been very robust but rigid.

Haematology will be shaped by the progress in science and technology, both of which are advancing rapidly. Immunophenotyping by flow cytometric technique is developing very strongly and molecular biology methods are also a rapidly developing diagnostic tool. Automated cell counters have revolutionised the workflow of the haematological laboratory, and the routine cell counters have new features that increase their capacity to characterize cell classes. Recent advances in automated cell counting technology open up for 6 or 7 part differential counts. The additional groups quantitate nuclear red blood cells (NRBCs) and immature leucocytes and are thus added to the normal differential counts. Also, in many cases knowledge of the exact numbers of each class of immature cells is not needed. This also suggests that an intelligent use of the flags could be possible. Thus some results could be released while others are suppressed until they can be validated. Potentially the same type of algorithms could also be made to work for the digital microscope thereby ensuring release of auto-validated results.

In our departments results from about 80 % of differentials can be released after counting with high quality and great reproducibility in modern cell counters, the remaining 20% needing further examination by microscopy. That means we have only the difficult samples left for microscopy. One consequence of this is that there is loss of microscopy expertise, particularly when combined with one staff generation retiring and another very differently educated generation coming into the laboratory. In many cities like Copenhagen and Göteborg the treatment of patients with haematological diseases has been centralized, and this has reduced

<sup>1</sup>Department of Clinical Chemistry, Malmö University Hospital, Malmö, Sweden, <sup>2</sup>Department of Clinical Biochemistry, Rigshospitalet, Copenhagen University Hospital Denmark, <sup>3</sup>Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Sahlgrenska University Hospital, Göteborg, Sweden

(Fortsætter side 10)

VITROS®

Do More. For Life.



## Gået glip af noget ??



## Opdag hvad andre allerede ved

Måske er det også den rette løsning for dig! Vi vil gerne dokumentere hvordan Vitros 5.1 FS kan gøre din hverdag lettere. Kontakt Ortho-Clinical Diagnostics.

(Fortsat fra side 8)

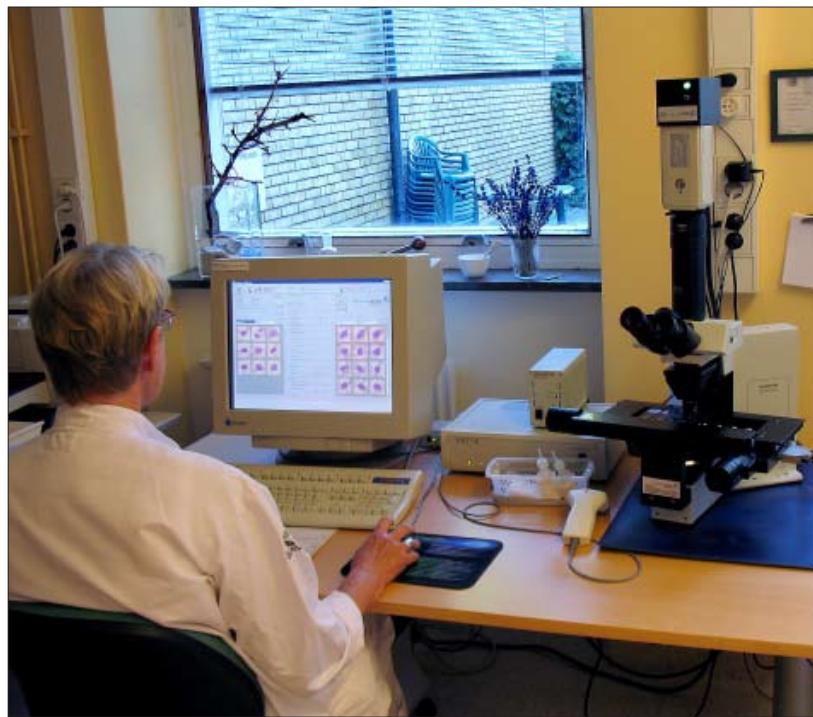
the numbers of abnormal differential counts at the referring hospitals. Subsequently it has become difficult or impossible to maintain the skills needed for high quality microscopic differential counts. Thus evaluation of highly abnormal differential counts often requires external help, either from the departments of clinical biochemistry or pathology. There is little uniformity among different laboratories on criteria for manual action following automated cell counters. An expert group has newly published 41 rules for action, most commonly for morphological review of blood smears (1), which is still a necessity.

### Automated image processing

The informatics of morphological differential leukocyte counting is complicated and specific compared to many clinical chemistry data sets currently handled. The differential count represents a great deal of biological complexity. This can be characterised by pattern recognition systems and the increase in IT knowledge and the enhanced IT power of instruments have facilitated this approach. The first gen-

eration of "computerised microscopes" arrived during the 1970's like Larc (Corning Glass) or Hematrak (Geometric data Corporation) but these instruments were useless for clinical purposes as they could only classify normal blood cells (2-5). Neither the imaging technology to sample cells nor the neuronal networks used for classification were sophisticated enough. During the 1990's, the technologies of artificial neural networks and speed of computer processors developed and a second generation is now arriving with much better capacity, both to localize cells, collect images to present them to the operator and even to a part classify them (6). Applications both within haematology (diff count) and pathology ("PAP smears") are FDA-approved.

In collaboration with Cellavision AB (Lund, Sweden) we (Departments of Clinical Chemistry in Göteborg and Malmö, Sweden) have participated during the development and evaluated DiffMaster™ Octavia (7). This instrument is basically a software product on a hardware platform consisting of an automated microscope, a high quality CCD camera and a computer (figure 1). The slide holder holds eight slides at a time, which are processed



*Figure 1: The DiffMaster at work in the Department of Clinical Chemistry, Malmö University Hospital, Sweden.*

**Table 1**  
**Correlation between computerised classification and results obtained after human review of these classifications (N = 44).**

Cell class	Neutro- phils	Eosino- phils	Baso- phils	Mono- cytes	Lympho- cytes	NRBC	Blast cells	Meta- myelo- cytes	Uniden- tified	Smudge cells
R-value (corrected/ uncorrected classification)	0.99	0.96	0.90	0.72	0.98	0.04	0.70	0.33	0.62	0.78

and scanned automatically. Blood cells are localized and images are collected and processed. The software uses artificial neural network technology. More than 100 features are calculated from each cell image; the features are then analysed and used for the pre-classification of the cells. Following a number of iterations the system learns to identify the cells. The training set contains some 35,000 cells classified by an expert panel.

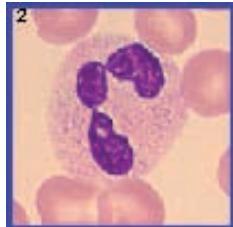
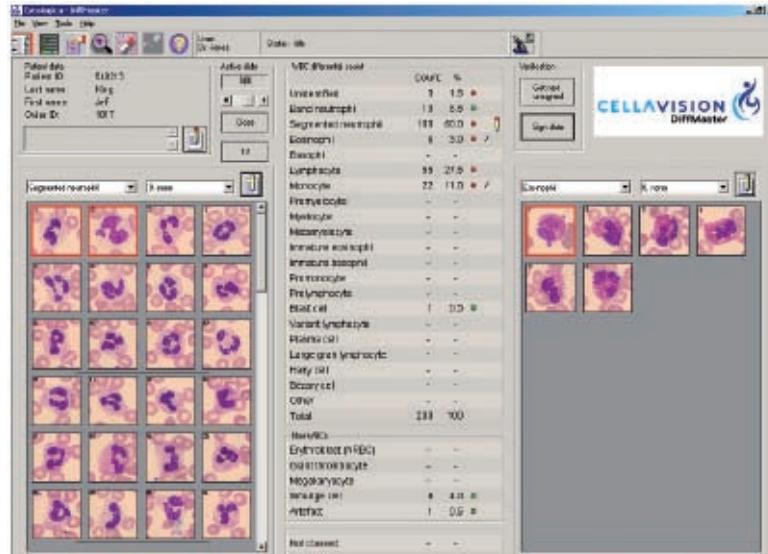
The results are presented on a computer screen, and all cells of the same class can be studied at the same time (figure 2). Different classes can be displayed simultaneously, or an individual cell can be zoomed in and studied more closely (figure 3). The operator always manually verifies the classifications suggested by the system. If the operator is uncertain about how to classify cells, a reference library con-

taining pre-classified cells can be displayed on the screen. This facilitates classification for the operator who improves and stabilizes the classification of the cells. Using the same defined set of reference cells also greatly serves to make the leukocyte classification more uniform both within the laboratory and also between different laboratories.

There are three stages in the process: the first is cell location, the second is cell pre-classification and the third is manual validation. For 10-20% of the cells, reclassification by the technologist is necessary. In general the performance of the computerised classification declines with increasing abnormality/immaturity of the cells.

Our evaluation (7) has been performed on 322 routine specimens; half of them normal, half of

(Fortsætter side 12)



**Figure 3:** A view of a zoom in on a peripheral white blood cell.

**Figure 2:** A view of the computer screen displaying result of a computerised localisation and classification of peripheral cells.

(Fortsat fra side 11)

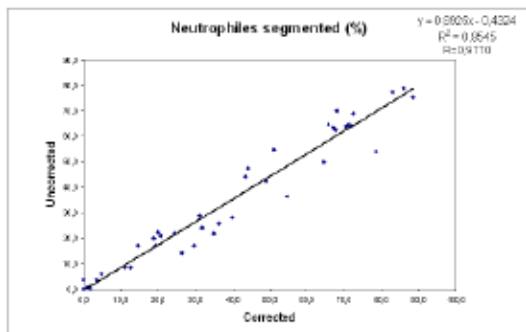


Figure 4: Comparison of uncorrected DiffMaster values for neutrophil granulocyte classification and corrected values after human reclassification.

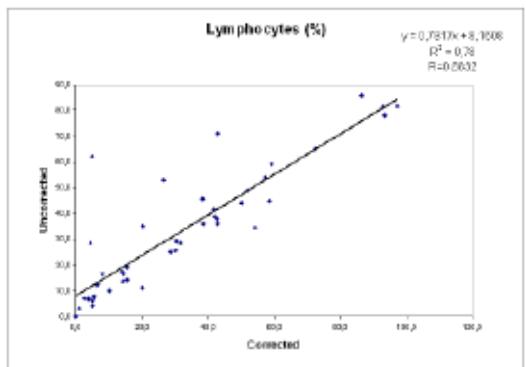


Figure 5: Comparison of uncorrected DiffMaster values for lymphocyte classification and corrected values after human reclassification.

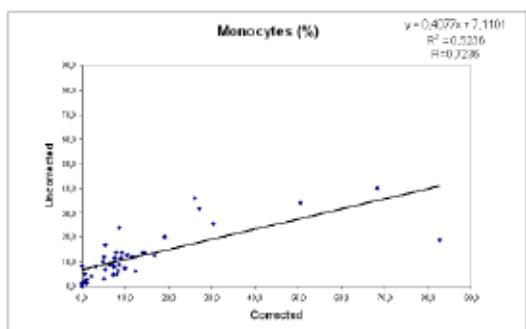


Figure 6: Comparison of uncorrected DiffMaster values for monocyte classification and corrected values after human reclassification.

them pathological. As defined in the NCCLS-H20A protocol, 400 cells were counted, 200 cells each by two different technologists on two different slides. For the evaluation of the DiffMaster system, these slides were processed according to the standard instrument procedure. Instrument pre-classification was undertaken and then manual validation was performed. Generally the results show there was a good correlation between the two methods with concordance of about 89 %. For the 6 normal cell types and blasts cells  $r^2$  was 0.8 – 0.98 while concordance was lower for pathological cell classes (55 %). The correlation of physiologically occurring cell types is excellent as is shown for lymphocytes in figure 4. Thus, the DiffMaster is good for imaging cells from the blood smear as well as presenting them to the microscopist.

But how accurate is the neural network classification of different cell populations compared to human classification? This question can be addressed by comparing the uncorrected values obtained from DiffMaster with the corresponding values from manual reclassification. The correlation between the differential counts obtained with or without manual reclassification was between 0.72 – 0.98 for the major cell classes (Table 1) and showed that the DiffMaster preclassification is clinically usable even without human reclassification. The cell class with largest differences between obtained with/without manual reclassification were the nucleated red blood cells (NRBC) but the number of observations was low. The classification of lymphocytes and monocytes also showed some discrepancy between computer and human classification. The classification of these cells may indeed be difficult and does also vary between trained morphologists (8–10).

An advantage of computerised classification is the presentation of unidentified as well as smudge cells. The proportion of cells in these new classes provide two important quality parameters that tell the validity of the classification in a particular sample. This validity of the DiffMaster preclassification is presently being further investigated in Malmö. Since the differential leukocyte count is qualitative, it is desirable to know the sensitivity of the method. Does the digital differential count identify the samples that would be classified as pathological by the traditional reference method? This was shown to be the case. The clinical sensitivity was 98 %. Only 2%

(n = 4) of the pathological samples were not identified by the digital instrument. In two cases this was due to minor differences in distribution and in one case it was due to the presence of a single blast cell. In one case the distribution was markedly different but in this sample the results from the DiffMaster correlated closely with those from the cell counter.

The clinical specificity was lower (82 %). This was due to the fact that the DiffMaster identified more immature cells than the manual reference method. Imprecision levels for the two methods were similar.

### **Practical experiences and considerations**

The DiffMaster was introduced into the clinical routine more than three years ago and is now used in the laboratory for > 90 % of the slides requiring microscopy review.

The throughput varies according to the counting requirements of the specimens being handled. The number of cells counted on each slide can be adjusted; for 200 cell counts per slide the throughput is 12 – 15 slides per hour; for 400 cell counts per slide, the throughput is 6 – 9 slides per hour. This included analysis of red cell morphology.

The equipment has several advantages: It is very easy to train the operators as the software can be navigated intuitively. The greatest advantage and what has made it appreciated among microscopists is that, using the zoom facility, it gives an improved view of the cells, especially we feel, that the immature characteristics of the cells are easier to appreciate on the screen. Ergonomics are also improved, although attention has to be given to amount of time spent using the mouse. Standardisation has improved in the laboratory and if a given test result is questioned, it can be retrieved and re-evaluated. Further advantages are summed up in table 2.

One special requirement that may cause problems is the need for high quality smears. These digital systems are not as robust in correcting for smearing mistakes and smearing errors as the human eye. In contrast when using an automated slide maker and staining machine these problems have not been encountered. We have also used a manual device successfully for making blood smears (Hemaprep).

Since this first evaluation CellVision AB has introduced a new system to the market named CellVision™ Octavia, which has improved software

and continuous slide feeding, with an initial load of 96 slides.

### **TeleHematology**

The DiffMaster instrument and the not automatic LAFIA system (Sysmex), can be networked and be located in different hospitals. Centralised reviewing and case conferences are possible. If further evaluation is needed, digital images can be sent out to different laboratories for education and training of the staff.

A project in collaboration with CellVision AB and the External Quality Assurance in Laboratory medicine in Sweden (EQUALIS) ( Birgitta Swolin and Gunnar Nordin) a programme for digital morphological cell classification has been developed, CellAtlas EQUATOR. Since two years this program has been available for laboratories in Sweden. The images of the cells are stored in a JPEG format, so that they may be e-mailed within the organization or to colleagues for comment and assessment. This program offers a possibility to standardise the morphological competence, nomenclature and as well define terms.

The digital format offers new possibilities, such as following how a patient responds to a particular treatment. This possibility has, however, not yet been explored in our labs. Finally training of the personal has also improved, as the trainee now first alone classifies the samples, and subsequently the sample can be evaluated by the teacher.

*(Fortsætter side 14)*

Table 2

#### **Advantages of computerised pattern recognition systems in clinical haematology**

- Standardisation
- Improved workflow
- Reduced overall turn-a-round times
- Zoom facility improves view of the cells
- Easy to train the operators
- Improved ergonomics
- Online archive
- Documentation for patient record

(Fortsat fra side 13)

## Conclusions

In conclusion, artificial neural networks can provide a decision support system that can help the morphologist to generate haematological reports of high quality in routine laboratory medicine. Automated cell location and pre-classification improves efficiency but the safeguard of manual validation remains. A common standard traceable to an expert cell atlas can be created in the future. Image storage and retrieval is simple and networking possibilities are considerable. In the future the laboratory will depend more and more on such systems.

It is therefore appropriate to raise the question if the traditional microscope will still have a place in the future. Will not immunophenotyping, molecular biology, etc replace microscopy? However, there are certain strengths in morphology that are very hard to bypass. The pattern recognition capacity of the human expert is still necessary for high quality haematology and it is indeed a challenge to develop new technical systems that are capable of automated pattern recognition similar to that of the human microscopist. On the other hand a flow cytometer will recognize aspects of cells that are not discernable to the human eye. Also, a flow cytometer performs quantitative measurements, and will quantitate at least seven parameters of each cell on 10 000 cells. Microscopic morphology and immunophenotyping are both methods that can be used to assess the complexity of a sample. Molecular biology methods, on the other hand, have gained use in detecting presence or absence of a certain aspect in the total sample but are useless for assessing the complexity of a sample. PCR methods are now being used to detect minimal residual disease (MRD) where very few malignant cells with a specific genetic aberration may be present.

Still, when the patient with acute leukaemia arrives to the hospital late Friday afternoon, a glance in the microscope by an experienced microscopist will establish the diagnosis without the need for expert laboratory methods or advanced technology. Therefore the microscope and the skilled human will survive for the time being.

## References

- Barnes PW, Mc Fadden SL, Machin SJ, Simson E. The international consensus group for hematology review: Suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Lab Hematol* 2005;11:83-90.
- Rosvoll RV, Mengason AP, Smith L, Patel HJ, Maynard J, Connor F. Visual and automated differential leukocyte counts. A comparison study of three instruments. *Am J Clin Pathol*. 1979; 71:695-703.
- Pierre RV, Payne BA, Lee WK, Hyma BA, Melchert LM, Scheidt RM.. Comparison of four leukocyte differential methods with the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) reference method. *Am J Clin Pathol*. 1987; 87:201-9.
- Perel ID, Herrmann NR, Watson LJ. Automated differential leucocyte counting by the Geometric Data Hematrak system: eighteen months experience in a private pathology laboratory. *Pathology* 1980;12:449-60.
- Penttilä IM, Mahlamäki E, Mononen I, Kärkkäinen P Adaptation of the May-Grunwald-Giemsa staining method for automated differential counting of blood leukocytes by a Hematrak analyzer. *Scand J Haematology* 1985; 34: 274-280
- Tatsumi N, Pierre R V. Automated image processing. Past, present, and future of blood cell morphology identification. *Clinics Lab Med* 2002, 22, 299-315.
- Swolin B, Simonsson P, Backman S, Löfquist I, Bredin I, Johnsson M: Differential counting of blood leukocytes using automated microscopy and a decision support system based on artificial neural networks- evaluation of DiffMaster TM Octavia. *Clin Lab Haem* 2003;25:139-147.
- Koepke JA, Dotson MA, Shifman MA, . A critical evaluation of the manual/visual differential leukocyte counting method. *Blood Cells*. 1985;11:173-86.
- Rumke CL.. Imprecision of ratio-derived differential leukocyte counts. *Blood Cells*. 1985;11:311-4, 315.
- Berend Houwen The Differential Cell Count Laboratory *Hematology* 2001; 7: 89-100



## **EliA™ on ImmunoCAP™ 250**

*Automation and quality both in allergy  
and autoimmunity testing*

*State of the arts analytes  
EliA™ CCP and EliA™ Celikey*

**Phadia**

Phadia AB  
Marknadsbolag Sverige  
Box 6460  
SE-751 37 Uppsala

Phadia AS  
Nydalsveien 33  
Postboks 4814, Nydalen  
NO-0422 Oslo

Phadia OY  
Rajatorpantie 41 C  
FIN-01640 Vantaa

Phadia Aps  
Gydevang 33  
DK-3450 Allerød

# Norges mest siterte artikkelen er publisert i SJCLI

Tor-Arne Hagve

*Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*

E-post: tor-arne.hagve@rikshospitalet.no



I den påfølgende artikkelen i dette heftet (1) bekreftes det vi visste om at Arne Bøyums artikkelen om separering av blodceller (2) er den mest siterte artikkelen i SJCLI. At denne artikkelen også er Norges mest siterte artikkelen gjennom alle tider og innen alle fagområder med ca 24000 siteringer er imidlertid nytt. For redaksjonen i SJCLI er dette gledelig og kanskje nyttig fordi det skaper fokus på tidsskriftet, men er det en tilfeldighet at nettopp SJCLI ble valgt? Selv om mangfoldet av tidsskrifter innen vårt fagområde var mindre i 1968 enn i dag var det likevel en rekke tidsskrifter som kunne passe for dette arbeidet. Artikkelen er en av fem med Bøyum som eneste forfatter, samlet i et Supplement med tittel "Separation of leucocytes from blood and bone marrow". Supplementet består kun av disse fem artiklene. I lys av dette må vi vel anta at SJCLI var et bevisst og gjennomtenkt valg for denne nå så berømte publikasjon.

For å sette denne begivenheten inn i en internasjonal sammenheng er det naturlig å ta frem verdens mest siterte artikkelen, nemlig Oliver H. Lowrys arbeide om metode for proteinkvantivering, publisert i *Journal of Biological Chemistry* i 1951 (3). Ved siste opptelling var denne artikkelen sitert ca 250.000 ganger! Et raskt tilbakeblikk på Lowrys produksjon viser at dette er den første av hans publikasjoner som finnes i de kjente databaser (PubMed, Medline). Han har imidlertid før dette publisert flere artikler som omhandler metodeforbedringer, med spesiell fokus på å redusere prøvevolumet, for analyser som askorbinsyre, vitamin A og alkaliske fosfatase (4-6). Det har ikke vært mulig å oppspore tidligere arbeider om kvantivering av proteiner fra Lowrys hånd i tiden før braksuksessen i 1951. Det er her snakk om en metode

som er nyttig, som kom til riktig tid og som altså brukes nærmest uendret etter 55 år. Lowrys metode er en forbedring av en metode som første gang ble beskrevet i 1922 (7).

Det er et tankekors, dog kanskje ingen overraskelse at det er arbeider som beskriver nye metoder som er på siteringstoppen? Det er kanskje viktig å stille spørsmålet om det er de mest betydningsfulle forskningsresultater som blir mest sitert. Kanskje er det slik at arbeider hvor metodene anvendes er vel så vitenskapelig viktige og at siteringshyppighet nødvendigvis ikke er et godt mål på forskningskvalitet?

Det har de siste årene vært mye fokus på siteringshyppighet og impact factor, ikke minst brukt som mål på forskningskvalitet. I den sammenheng er det interessant at det er betydelige forskjeller mellom de nordiske land når det gjelder siteringshyppighet. Situasjonen kan kort og godt oppsummeres slik; "norske forskere publiserer mindre enn svenske, danske og finske, og blir minst sitert" (8). Fra et norsk

## PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT\*

By OLIVER H. LOWRY, NIRA J. ROSEBROUGH, A. LEWIS FARR,  
AND ROSE J. RANDALL

(From the Department of Pharmacology, Washington University  
School of Medicine, St. Louis, Missouri)

(Received for publication, May 28, 1951)

Since 1922 when Wu proposed the use of the Folin phenol reagent for the measurement of proteins (1), a number of modified analytical procedures utilizing this reagent have been reported for the determination of proteins in serum (2-6), in antigen-antibody precipitates (7-9), and in insulin (10).

Although the reagent would seem to be recommended by its great sensitivity and the simplicity of procedure possible with its use, it has not found great favor for general biochemical purposes.

In the belief that this reagent, nevertheless, has considerable merit for certain application, but that its peculiarities and limitations need to be understood for its fullest exploitation, it has been studied with regard to effects of variations in pH, time of reaction, and concentration of reagents, permissible levels of reagents commonly used in handling proteins, and interfering substances. Procedures are described for measuring protein in solution or after precipitation with acids or other agents, and for the determination of as little as 0.2 γ of protein.

st  sted er dette selvsagt ikke bra. Vi kan imidlertid tr  ste oss med at den mest siterte artikkelen i SJCLI kommer fra Norge.

1. Klungland A. Historiske norske arbeider: Arne B  y whole (1968) Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. NBS-nytt 2006; 2: 6-8
2. B  y whole A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Clin Lab Invest 1968; Suppl 97: 77-89
3. Lowry OH, Rosenborough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951, 193; 265-274
4. Lowry OH, Bessey OA. The adaptation of the Beckman spectrophotometer to measurements on minute quantities of biological materials. J Biol Chem 1946; 163: 633-9
5. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimetres of serum. J Biol Chem 1946; 164: 321-9
6. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ, Lopez JA. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. J Biol Chem 1946: 166; 177-88
7. Wu H. A new colorimetric method for the determination of plasma proteins. J Biol Chem 1922; 51: 33-9
8. Engelstad K. Norske forskere publiserer mindre enn svenske, danske og finske, og blir mindre sitert. Synopsis 1997; 4

## Historiske norske arbeider:

Arne B  y whole (1968) Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood.

*Scand J Clin Lab Invest Suppl.;97: vol 21:77-89.*

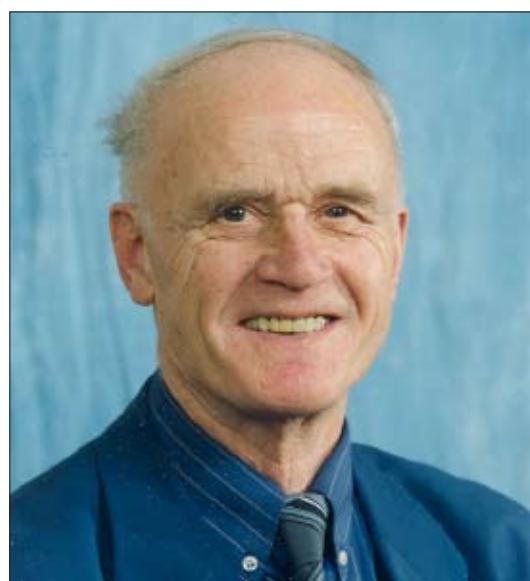
Arne Klungland. Mikrobiologisk Institutt. Rikshospitalet-Radiumhospitalet hf, Oslo

E-post: arne.klungland@medisin.uio.no

Det er naturlig   r starte serien av historiske norske artikler med Arne B  y whole sitt artikkelen fra 1968. I en kort liste som inneholder alle artikler sitert mer enn 10.000 ganger mellom 1981-1995 finner vi Arne B  y whole navn sammen med Bradford, Lowry, Linewear, Maxam, Sanger og Southern. Med en total sitering p  r omrent 24.000 er dette Norges utvilsomt mest siterte arbeid (da inkluderer vi feil-sitering som representerer over 30 % og gjør artikkelen til verdens mest feilsiterte). B  y whole har også publisert i Nature og har flere publikasjoner i det velrenomerte Blood.

### Personalia

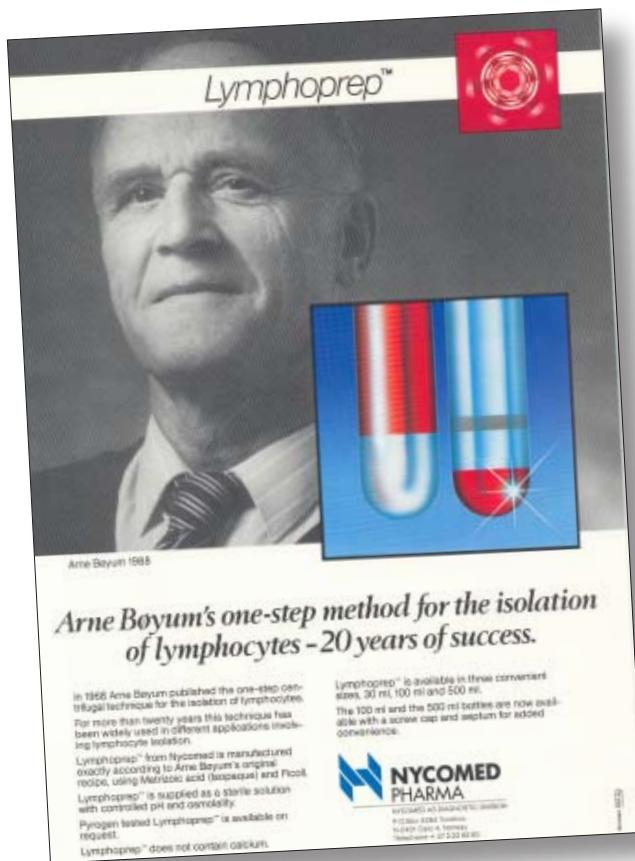
Arne B  y whole er født i 1928 (han er for øvrig fortsatt aktiv i forskning). Han vokste opp på Voss og Sandane og fullførte medisinstudiet i 1954. Etter 6 års legepraksis, inkludert et år ved Rikshospitalet, startet han sin forskningskarriere ved Forsvarets



Arne B  y whole

(Fortsætter side 18)

(Fortsat fra side 17)



Forskningsinstitutt (FFI) på Kjeller. Etter 6 år leverte han inn avhandlingen sin, som bestod av et supplement med fem artikler, en av dem; "Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood". Han var tilknyttet avdeling for toksikologi, FFITOX helt frem til 1998. I dag arbeider han ved Institutt for medisinske basalfag, Avdeling for fysiologi, Universitetet i Oslo.

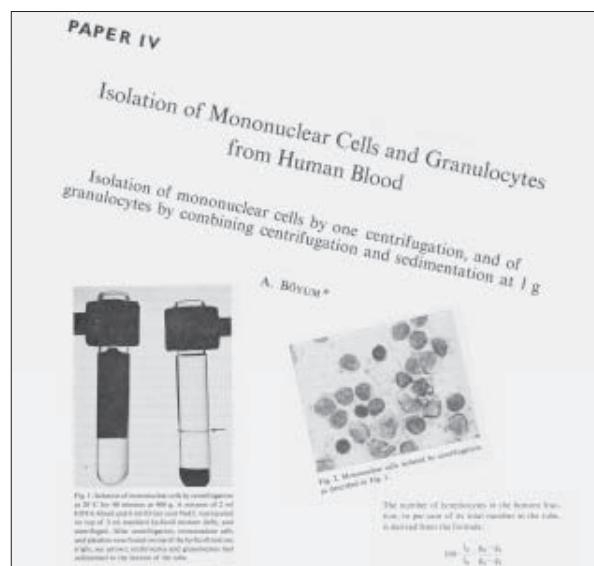
### **Dompa**

Ved FFITOX, også kalt "Dompa" (som beskriver hvordan det så ut der avdelingen var plassert like ved flyplassen på Kjeller), startet Bøyum sitt arbeid for å separere blodceller tilbake i 1961. Utgangspunktet var å utvikle en metode for separering av benmargceller, som kunne brukes eksperimentelt ved benmargstransplantasjon. På den tiden var dette relevant i forbindelse med stråleskader etter atomangrep. Tanken var å utvikle metoder for isolering av lymfocytter for å kunne studere

immunreaksjoner ved benmargstransplantasjon. De første to årene var det likevel, til tross for fiffige gradienter og utallige timer ved mikroskopet, ikke mulig å rense lymfocyttene. Bøyum konstruerte endatil sin egen "monstersentrifuge".

### **Gjennombrudd**

Fremgangen startet når Bøyum skiftet materiale i gradienten og benyttet røntgen kontrastvæske, noe som gjorde det enklere å justere tetthet og osmolaritet. For å lette arbeidet gikk han også over fra å benytte benmarg til å bruke blod som utgangspunkt for rensingen. Gjennombruddet kom en gang da han var ferdig med å forberede gradienten og en kollega benyttet centrifugen. Mens Bøyum ventet noen minutter på at centrifugen skulle bli ledig oppdaget han at de røde blodcellene startet å aggregere og falt til bunnen (kollegaen som benyttet centrifugen mener fortsatt at han burde vært kreditert for denne oppdagelsen). Dermed fortsatte han å observere hva



#### Utdrag fra Arne Bøyums historiske artikkel

som skjedde med sedimentering ved 1 g og testet utallige variable. Disse resultatene ble så benyttet for å forbedre resultatene ved sentrifugering, og etter 3½ år var det mulig å produsere en ren suspensjon av mononukleære celler. Det tok enda et år å perfeksjonere metoden. Bøyum sier at det var avgjørende å finne rett sammensetning av separasjonsmediet, riktig tetthet, osmolaritet og viskositet for gradienten og en passende koncentrasjon av celler. Metoden benyttes for å rense lymfocytter fra blod og er unik ved at dette utføres ved et enkelt trinn. Ved en to-trinns prosedyre kan samme teknikk også brukes til å isolere granulocytter, den største gruppen av hvite blodlegemer.. Bøyums metode er fortsatt overlegen og kan i dag kombineres med de kjente Ugelstad-kulene. Den har også bidratt til den framgang vi har sett de siste tiår for identifisering av vekstfaktorer og mer generelt for forståelsen av immunapparatets rolle under utvikling av HIV/AIDS og kreft.

#### Forskningsmiljø

Arne Bøyum har aldri hatt en stor forskningsgruppe, gruppen har variert fra en til tre personer. Ved FFITOX var han likevel fri nok til å kunne følge de interesser og ideer han hadde. Likevel tenkte han en del på muligheter som ville by seg om gruppen talte 20 – 30 personer, slik som mange utenlandske kolleger representerte. Han mener at det var, og er, viktig å finne en nisje og arbeide målrettet for å hevde seg.

#### Berømmelse og berikelse

Erling Seeberg (tidligere kollega og venn av Bøyum) var for flere år siden på konferanse i utlandet og fortalte at han arbeidet på samme laboratorium som Bøyum. Den som hørte dette kjente "Bøyum-metoden" og bemerket "he must be very rich". Seeberg kunne fortelle at metoden i hvert fall ikke hadde gjort Bøyum rik på penger. Riktignok har Bøyum en del år fått utbetalet et konsulenthonorar fra Nycomed, men dette tilsvarer nok ikke helt de 100.000 liter separasjonsvæske (20.000 liter produsert av Nycomed/AXIS-SHIELD) som produseres årlig. Likevel er det ifølge Bøyum viktigere å få muligheten til delta på internasjonale konferanser. Alle forskere ønsker at forskningen deres skal få gjennomslag og i så måte har Bøyum opplevd mer enn de fleste av oss drømmer om.

Mens NBS-nytt nummer 2, 2006, går i trykken er nynorskmannen Bøyum ute i naturen, denne gang med venner i ei hytte på Hadeland.

Artikkelforfatteren (som også har hatt gleden av å arbeide ved FFITOX samtidig som Bøyum) retter en takk til Arne Bøyum for førstehjelp under dyrking av transfekterte cellelinjer ved FFITOX på slutten av 1980-tallet - og for hjelp og tilgang til originalartikkelen ved utformingen av denne presentasjonen.

*Artikkelen er tidligere publisert i NBS-nyt 2006; 2:6-8.*

*Nordisk Forening For Klinisk Kemi and Klinisk Biokemi i Norden arrange a course on...  
“the PROFESSIONAL ROLE in a clinical chemistry laboratory”*

## 30 August – 2 September 2007 T/S Helene, Ystad



The professional role in a clinical chemistry laboratory consists of many different aspects.

You should be a scientist, a consultant doctor, an economist, an administrator and a director.

Some of these and future aspects will be discussed in seminars and workshops.

The teachers are Per Simonsson, Elvar Theodorsson, Ingunn Thorsteinsdottir and Palle Wang.

We will meet Thursday at noon in Ystad 30th of August and say goodbye Sunday at noon the 2nd of September.

The course and lodgings will take place on a genuine sailing ship – T/S Helene (<http://www.ts-helene.webb.se/>). With help from the professional crew we will visit both Swedish and Danish harbours. No previous sailing experience is required.

The course is open for Scandinavian clinical chemists and chemists in postgraduate specialist training. The maximum number of participants is 16 and the minimum is 12. Registration date and nationality are the only selection criteria. Equal numbers of participant from all countries is desirable. The official language is English or a language understandable for all participants.

The course will be fully financed by NFKK and KBN.

Registration before 1st of May to Mattias Aldrimer,  
[Mattias.Aldrimer@ltdalarna.se](mailto:Mattias.Aldrimer@ltdalarna.se)

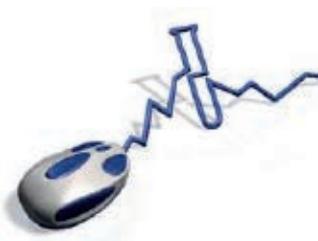
For further information – the email address above.



# En laboratorieorganisation - Ett laboratoriedatasystem



Klinisk kemi, Mikrobiologi, Patologi/Cytologi



Multidisciplinärt laboratoriedatasystem  
Multidisciplinär analys- och tjänstekatalog  
Produktion, pre- och postanalys

---

**profdoc®**

---

Profdoc Lab AB  
Borganäs v. 34  
784 33 Borlänge  
Telefon: +46 243 21 76 00  
Fax: +46 243 21 76 01

Profdoc Norge AS  
Postboks 163  
1325 Lysaker  
Telefon: +47 21 93 63 00  
Faks: +47 21 93 63 01

Profdoc Danmark A/S  
Hejrevej 43  
2400 København NV  
Telefon: +45 7080 8216  
Faks: +45 3819 1255

**cobas®**

*Life needs answers*

# Next generation Reagent Assays



Roche Diagnostics A/S  
Industriholmen 59  
DK-2650 Hvidovre  
tel +45 36 39 99 52

Roche Oy, Diagnostics  
Sinimäentie 10B, 4.krs  
P.O. Box 12  
FIN-02631 Espoo  
tel: +358 9 525 331

Roche Norge A/S  
Divisjon Diagnostics  
Postboks 6610, Etterstad  
NO-0607 Oslo  
tel: +47 23 37 33 00

Roche Diagnostics  
Scandinavia  
SE-161 26 Bromma  
tel +46 8 420 50 00

**eneration of Modularity  
gent – no manual handling  
Always more than one solution  
Online Update & information**



**cobas 6000**

# Gentesting for arvelig bryst- og eggstokkreft

*Merete Bjørnslett*

*Seksjon for molekylærgenetikk, Avdeling for medisinsk genetikk, Rikshospitalet*

*- Radiumhospitalet HF, Oslo*

*E-post: m.p.bjørnslett@medisin.uio.no*



Brystkreft er den kreftformen som rammer flest kvinner hvert år, og tilnærmedesvis vil én av åtte (12,5%) kvinner i den vestlige verden utvikle brystkreft i løpet av livet. Dette er også en av de vanligste dødsårsakene, bare slått av hjerteinfarkt og lungekreft. Eggstokkreft representerer den syvende hyppigste kreftformen i verden (livstidsrisiko på 1,8%), og der de nordiske landene har den høyeste forekomsten av eggstokkreft i verden [1]. I Norge er brystkreft den vanligste kreftformen blant kvinner i aldersgruppen 30-54 år (37-38%) med eggstokkreft på 4.-5. plass (5-6%).

Kreft er ikke betraktet som en arvelig sykdom fordi langt de fleste tilfeller av kreft, kanskje så mye som 80-90%, forekommer hos personer uten familiehistorie for sykdommen. Uansett, en positiv familiehistorie for bryst- og/eller eggstokkreft er den viktigste kjente risikofaktoren for å utvikle sykdommene, selv om genetisk predisposisjon bare påvises i 5% av krefttilfellene.

De fremtredende trekken ved familiær, versus sporadisk, bryst- og eggstokkreft er kreftsykdom tidligere i livet samt hyppig bilateral sykdom. I tillegg er det vist en moderat risiko for prostatakreft, kreft i bukspyttkjertelen samt en relativt hyppig forekomst av brystkreft blant menn [2].

De to genene, *BRCA1* lokalisert til kromosom-region 17q21 og *BRCA2* lokalisert til 13q12.3, er identifisert å være årsak til arvelig bryst og eggstokkreft [3;4]. Kimbanemutasjoner i disse to genene er antatt å utgjøre så mye som 6-7% av alle tilfellene av brystkreft og 10% av alle tilfellene av eggstokkreft. Tallene varierer betydelig mellom populasjoner, der etnisitet og geografisk tilhørighet

er av stor betydning. F.eks. er 30-35% av Ashkenazi jødiske brystkrefttilfeller før fylte 40 år relatert til mutasjoner i *BRCA1* eller *BRCA2* [5;6], mens mutasjonsprevalensen i Sverige er ca. 9% [7].

Den detaljerte biologiske funksjonen for *BRCA1* og *BRCA2* er fortsatt uklar men begge proteinene synes å ha flere ulike funksjonelle domener. De er involvert i viktige signalveier for gjenkjennning av DNA skade, reparasjon av dobbelttrådbrudd (DSB), sjekkpunktskontroll, transkripsjonsregulering og kromatin remodellering [8;9]. Celler som mangler disse proteinene har bl.a. feil i reparasjonen av dobbelttrådbrudd ved at prosessen med homolog rekombinasjon ikke fungerer som den skal. Denne prosessen er antatt feilfri, og alternativet for cellen er da mer skadeutsatte mekanismer (ikke-homolog rekombinasjon, 'end joining' og annealing av enkeltråder) som er potensielt mutagene og som kan gi deleksjoner ved bruddpunktene. Slike feil i DNA reparasjonen vil kunne føre til genomisk instabilitet og på den måten være en underliggende faktor for predisponeringen for kreftsykdom som følger loss-of-function mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2* [8;9].

Kreftutvikling er en flertrinnsprosess der kimbanemutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2* er startpunkt for utviklingen av bryst- og/eller eggstokkreft. De påfølgende hendelser som er nødvendig for kreftutviklingen er fortsatt uklar, likeledes årsaken til at mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2* primært predisponerer individer til å få bryst- og eggstokkreft.

## Gentesting for mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2*

I Norge er gentesting regulert av Lov om humanmedisinsk bruk av bioteknologi m.m. (bioteknologiloven), og gentesting kan kun foregå i institusjoner som er godkjent for dette. I Norge er Rikshospitalet – Radiumhospitalet ett av fem godkjente sykehus.

Gentester finner mutasjoner, ikke sykdom. En presis gentest kan gi svar på om en mutasjon er tilstede, men det behøver ikke å bety at sykdommen vil utvikle seg. En metaanalyse av 22 studier har beregnet den gjennomsnittlige kumulative risikoen for en at mutasjonsbærer skal ha utviklet kreft ved fylte 70 år til 65% for mutasjoner i *BRCA1* og 45% for mutasjoner i *BRCA2* [10]. Risikoen er høy, men ikke absolutt. Samtidig er familiemedlemmer som tester negativt for familiens mutasjon på ingen måte frittatt for kreftrisiko, og vil over tid også kunne få genetiske endringer relatert til bryst- og/eller eggstokkreft i samme grad som befolkningen generelt.

Mutasjonsspekteret i *BRCA1* og *BRCA2* er svært heterogent og dekket hele det kodende området samt intron-exon overgangene. The Breast Cancer Information Core (BIC) har registrert mer enn 1600 ulike varianter i *BRCA1* og mer enn 1900 varianter i *BRCA2* i sin database (<http://research.ncbi.nlm.nih.gov/bic/>). Disse variantene representerer også normalvariasjon og varianter med usikker biologisk betydning. Hovedtyngden av variantene i disse genene er substitusjoner og delesjoner/insersjoner av en eller flere basepar. Slike varianter samme med nonsensemutasjoner fører til for tidlig stopp i proteinesyntesen og gir derved ufullstendige proteiner. Disse variantene representerer patogenetiske mutanter. Mutasjonsspekteret i *BRCA1* og *BRCA2* inkluderer også missensemutasjoner samt større genomiske rearrangementer, inkludert delesjoner og insersjoner av hele exons. På grunn av genenes størrelse samt kompleksiteten i funksjonell biologi, er det grunn til å tro at ulike mutasjoner vil resultere i ulike effekter i forhold til kreftrisiko.

### Metodologi for mutasjonsscreening

Siden ingen analysemetode alene er tilstrekkelig for å detektere alle mulige typer mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2*, er det nødvendig å bruke flere ulike teknikker i kombinasjon ved mutasjonsscreening. Ulike laboratorier har valgt ulike strategier, men det er likevel vanlig med komplementære metoder for mutasjonsdeteksjon.

Direkte sekvensering defineres gjerne som "gullstandarden" ved mutasjonsscreening. Metoden er presis og påviser variasjoner nøyaktig, men den er tidkrevende og forholdsvis kostbar. Flere raskere og mer kostnadseffektive metoder benyttes gjerne

alene eller i kombinasjon med direkte sekvensering for mutasjonsscreening.

Flere av disse metodene er basert på egenskaper relatert til den termodynamiske forskjellen mellom DNA trådene ved ulik basesammensetningen (mobility-shift assays). DNA trådene analyseres i en stasjonær fase under delvis denaturerende betingelser og gir separasjon av homo- og heteroduplexer. I slike systemer opptrer både homo- og heterozygote variasjoner forskjellig fra wild type og eigner seg derfor også godt til påvisning av homozygote variasjoner. Deteksjonssensitiviteten varierer ved ulike metoder, fra forholdsvis lav for SSCP (single strand conformational polymorphism) (70-85%) til opp mot 100% for dHPLC (denaturing high-performance liquid chromatography) og CSCE (conformation-sensitive capillary electrophoresis).

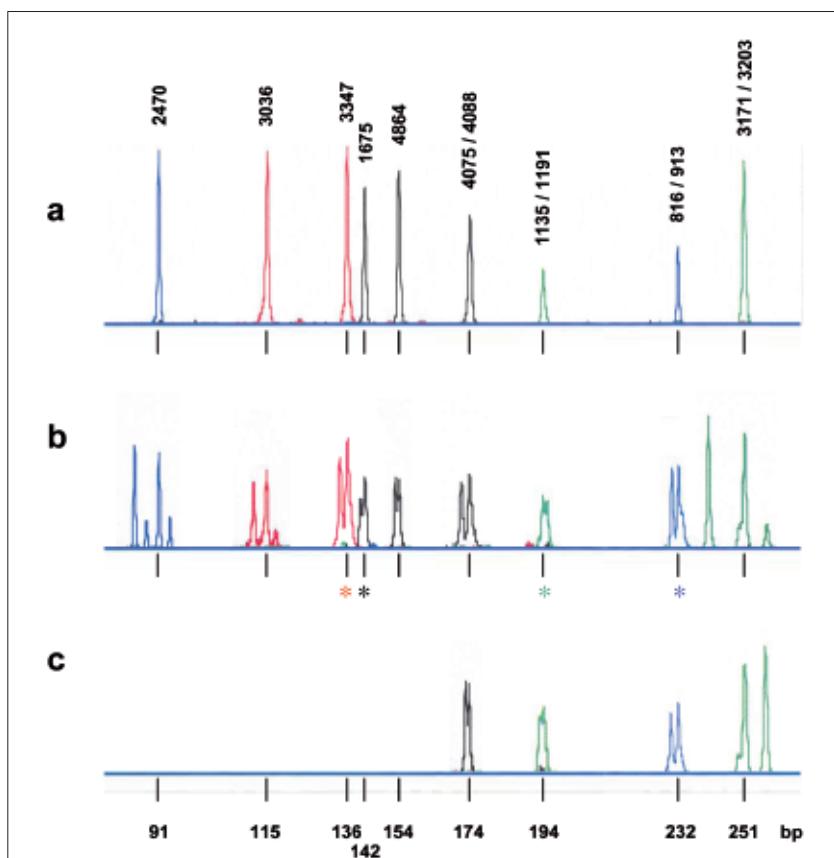
Svært mange sykdomsrelaterte mutasjoner gir for tidlig stopp i proteinesyntesen, og en relativt effektiv screeningsmetode er PTT (protein truncation test). PTT er et *in vitro* system for koblet transkripsjon-translasjon som brukes for mutasjonsscreening av hele det kodende området i små gener med mange exons (via mRNA og cDNA) samt screening av store exons (bl.a. exon 11 i *BRCA1* og exon 10 og 11 i *BRCA2*) direkte på genomisk DNA. Ved analyser via mRNA vil denne metoden også detektere mutasjoner relatert til RNA prosessering samt enkelte genomiske delesjoner/insersjoner som involverer hele exons.

(Fortsætter side 26)



Island. Foto: Ingunn Torsteinsdottir

(Fortsat fra side 25)



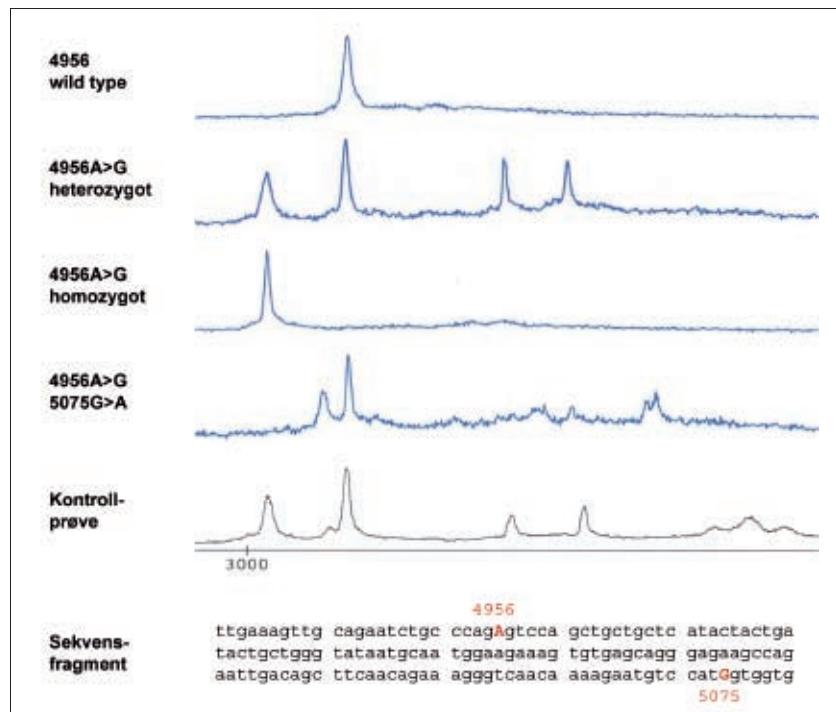
Figur 1

Testpanel for fragmentlengdeanalyser av hyppige mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2*. (a) Wild type resultat for screening av 13 ulike mutasjoner; 10 i *BRCA1* (816delGT, 913delCT, 1135insA, 1191delC, 1675delA, 2470del7, 3171ins5, 3203del11, 3347delAG og 4864delA) og tre i *BRCA2* (3036del4, 4075delGT og 4088delA). Nummerering under (c) er størrelser på wild type fragmentene. (b) Positive kontroller for de ulike mutasjonene i det opprinnelige panelet som ble designet, med \* under foundermutasjonene 816delGT (blå), 1135insA (grønn), 1675delA (sort) og 3347delGT (rød). (c) Positive kontroller for fire andre kjente mutasjoner som også detekteres av dette panelet.

Standard PCR baserte metoder detekterer ikke større genomiske rearrangementer, inkludert delesjoner og insersjoner av hele exons. To relativt nye metoder for deteksjon av slike endringer i DNA er MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) og MAPH (multiplex amplification and probe hybridization). Disse er basert på sekvensespesifikk hybridisering av prober til genomisk DNA, etterfulgt av amplifisering av den hybridiserte proben og semikvantitativ analyse av det resulterende PCR produktet. Den relative intensiteten på produktene fra hver probe indikerer konsentrasjonen i templatet (dvs. tilstedevarsel av én eller flere kopier av det undersøkte området).

Langt de fleste kjente mutasjonene i *BRCA1* og *BRCA2* er mutasjoner som involverer mindre delesjoner eller insersjoner. Denne typen mutasjoner kan også detekteres ved fragmentlengdeanalyser (FA) som er enkle å designe, raske og kostnadseffektive, i tillegg til at de er forholdsvis lette å sette opp i multiplex. Denne metoden er spesielt egnet ved undersøkelse i store pasientmaterialer eller ved hyppig forekommende mutasjoner (f.eks. ved foundereffekter).

Ved bruk av disse mer "indirekte" metodene vil en ved funn forskjellig fra wild type ikke komme utenom sekvensering når det gjelder å påvise variasjonen eksakt på DNA nivå.



Figur 2

CSCE av normalvariasjoner i *BRCA1* exon 16. Ulik migrasjon i gelbaserte systemer gjør det mulig å skille homo- og heterozygote variasjoner av 4956A>G samt kombinasjoner av heterozygote variasjoner av 4956A>G og 5075G>A fra wild type. Sekvensfragmentet som analyseres med de aktuelle variantene uthevet i rødt.

### Foundereffekter og screeningsstrategier

I de nordiske landene er det identifisert ulike foundermutasjoner som ikke er vanlige i andre populasjoner. I Norge har vi fire foundermutasjoner i *BRCA1* som trolig daterer tilbake til Svartedauen [11]. På Island, en befolkning som delvis stammer fra Norge, har de en enkelt foundermutasjon i *BRCA2* [12] mens Sverige og Finland har foundermutasjoner i både *BRCA1* og *BRCA2* [13;14]. Foundermutasjonene i Sverige og Finland er delvis de samme, men alle disse er forskjellige fra de norske og den islandske. Blant de publiserte mutasjonsfunnene i Danmark er ingen definert som foundermutasjoner [15]. De danske laboratoriene som utfører gentesting i disse genene opplyser at mutasjonsspekteret i Danmark delvis er overlappende med det svenske.

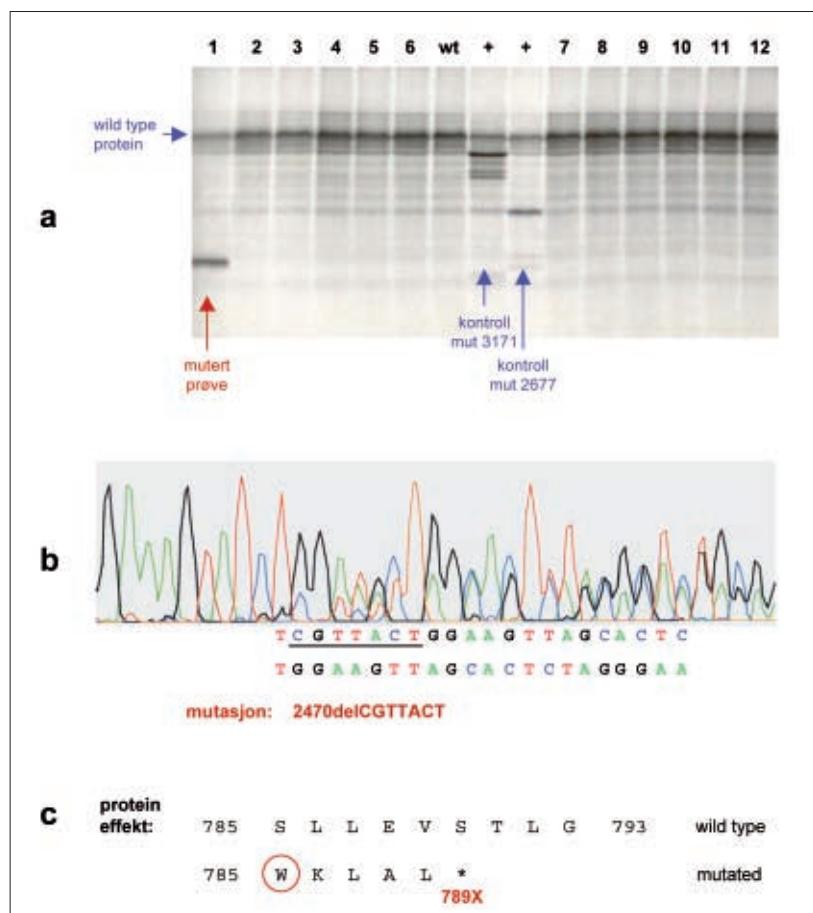
Kanskje så mange som 70% av alle norske mutasjonsbærere har en av de fire foundermutasjonene i *BRCA1*; 816delGT, 1135insA, 1675delA eller 3347delAG. Disse er antatt å være etterkommere av noen få mutasjonsbærere (kanskje så få som fire)

som overlevde Svartedauen for 600 år siden [16]. I tillegg finnes det flere mutasjoner som opptrer med en viss hyppighet, noe som har resultert i at det er satt opp FA-paneler som dekker de hyppigst forekommende mutasjonene i den norske befolkningen. Disse panelene dekker ca 25 kjente mutasjoner og brukes som den første screeningen av pasienter med mistanke om arvelig bryst- og eggstokkkreft. Figur 1 viser analyse av to av disse panelene sammen, der bl.a. foundermutasjonene inngår. Sørvest i Sverige er det vist at *BRCA1* mutasjonen 3171insTGAGA forekommer hos så mange som 65% av mutasjonsbærerne [13], noe som har resultert i at denne mutasjonen også er inkludert i våre testpaneler.

Blant de hyppig forekommende mutasjonene inngår også noen nonsensemutasjoner og disse analyseres ved CSCE. I tillegg brukes denne metoden for screening av de fleste små exons i *BRCA1* og *BRCA2*. CSCE er en effektiv metode med 100% deteksjon av alle kjente mutasjoner og kjente normalvariasjoner

(Fortsætter side 28)

(Fortsat fra side 27)



Figur 3

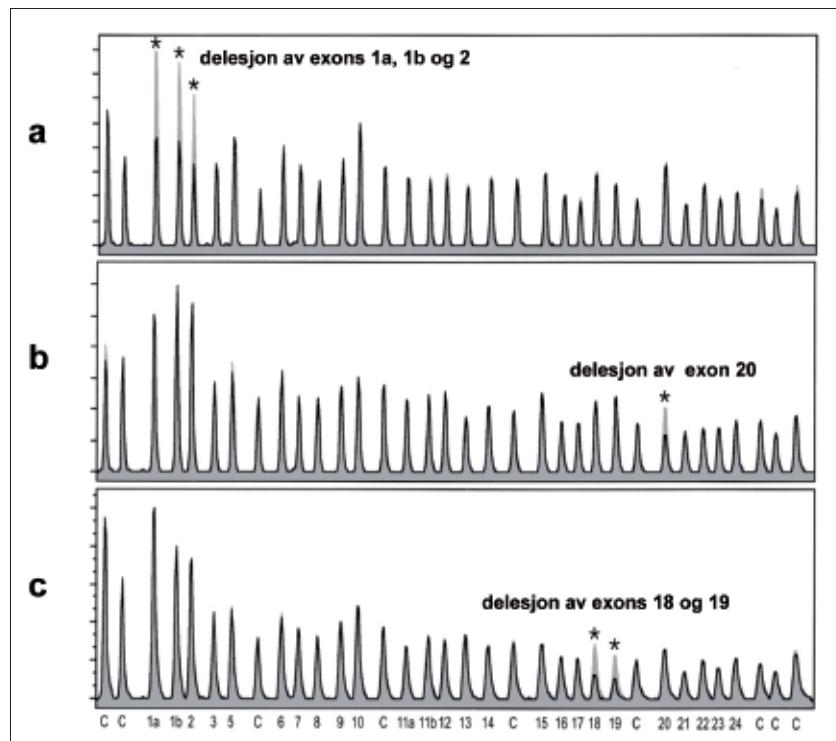
Mutasjonsscreening i *BRCA1* exon 11 med PTT. (a) Separasjon av tolv individuelle pasientprøver i SDS-PAGE gel med to positive kontroller for kjente mutasjoner. En mutasjon er påvist i pasientprøven i lane 1. (b) Sekvensering av aktuelt område og påvisning av den aktuelle mutasjonen på gennivå. (c) Proteineffekten av 2470delCGTTACT er stopp i protein syntesen i kodon 789.

i nærmere 400 undersøkte tilfeller som også er undersøkt ved sekvensering. Figur 2 viser deteksjon av en normalvariasjon (4956A>G) i *BRCA1* exon 16. Nesten halve den norske befolkningen er bærere av denne variasjonen, som opptrer både i homo- og heterozygot form. I tillegg er det flere kjente, men sjeldnere, normalvariasjoner i samme exon, bl.a. 5075G>A som er funnet i ca 3% av de undersøkte tilfellene. Alle kjente variasjoner detekteres ved at de gir ulik mobilitet i gelbaserte systemer, noe som også gjør det mulig å skille wild type fra homozygote variasjoner samt ulike kombinasjoner av disse variantene.

For screening av større exons (eks. *BRCA1* exon 11

og *BRCA2* exon 10 og 11) er PTT en effektiv metode som påviser mutasjoner som fører til for tidlig stopp i proteinsyntesen. Metoden er fortsatt mye brukt, men ulempen er at den er mest sensitiv ved innkorporering av radioaktivt merkede aminosyrer i protein syntesen. Figur 3 viser mutasjonsscreening i *BRCA1* exon 11, med påfølgende sekvensering for eksakt mutasjonspåvisning. Ved denne analysen undersøkes ca 1500 bp genomisk sekvens. Ulempen ved metoden er at missensemutasjoner ikke detekteres samt at små in frame delesjoner eller insersjoner kan være vanskelige å påvise.

I tillegg til enkeltmutasjoner kan årsaken til forhøyet kreftrisiko være assosiert med større genom-



Figur 4

*BRCA1* MLPA analyse av tre pasientprøver. Nummerering nederst i figuren refererer til *BRCA1* exons som detekteres av hver MLPA probe. Exon 11 analyseres i to fragmenter på grunn av størrelsen. "C" indikerer kontrolltopper fra amplifisering av prober lokalisert til andre kromosomer. Profilene er laget ved at resultatet fra de individuelle prøvene er lagt oppå et wild type resultat og det fremgår derved en halvering av signalet der hele exons er deletert (lys grå for wild type og mørk grå for muterte prøver); (a) Delesjon av exons 1a, 1b og 2 (exons 1a og 1b er ikke-kodende); (b) Delesjon av exon 20; (c) Delesjon av exons 18 og 19 (Montagna, M. et al, 2003).

iske forandringer i genene. Slike endringer vil ikke standard PCR baserte metoder detektere, da en ikke nødvendigvis vil vite hvor mange DNA kopier en analyserer dersom det ikke påvises heterozygotitet i den undersøkte sekvensen. MLPA er i økende grad tatt i bruk der det ved andre metoder ikke er påvist mutasjoner. Metoden påviser kopinummer av de undersøkte sekvensene, f.eks. "loss or gain" av hele exons (se Figur 4), og et stadig økende antallet publikasjoner viser at slike genomiske forandringer er assosiert med sykdom.

Det vil alltid være usikkerhet knyttet til alle metoder i forhold til påvisningsgrad av ulike variasjoner. Fordelen med hurtige og kostnadseffektive screeningsmetoder er at en unngår mer tidkrevende og kostbar sekvensering. I mange tilfeller vil sekvensering likevel være aktuelt for individer der mutasjoner ikke påvises men en vil likevel spare tid og ressurser

i forhold til de som blir funnet og karakterisert ved andre screeningsmetoder.

Seksjon for molekylærgenetikk ved Rikshospitalet – Radiumhospitalet HF tilbyr i dag hurtigtesting for kjente mutasjoner i *BRCA1* og *BRCA2* samt full mutasjonsutredning i *BRCA1* etter nærmere avtale. Full mutasjonsutredning i *BRCA2* samt MLPA analyser for begge gen er under utvikling og vi håper å kunne tilby dette i løpet av kort tid.

I tillegg til utredninger assosiert med arvelig bryst- og eggstokk kreft, tilbys det også full mutasjonsutredning for Cowden Syndrome (Bannayan-Riley-Ruvalcaba Syndrome og Proteus Syndrome) ved mutasjonsutredning i *PTEN* samt Li-Fraumeni Syndrome ved full utredning i *TP53*. En mer detaljert oversikt over seksjonens testpanel finnes på <http://www.radiumhospitalet.no/>.

(Fortsætter side 30)

## Referanser

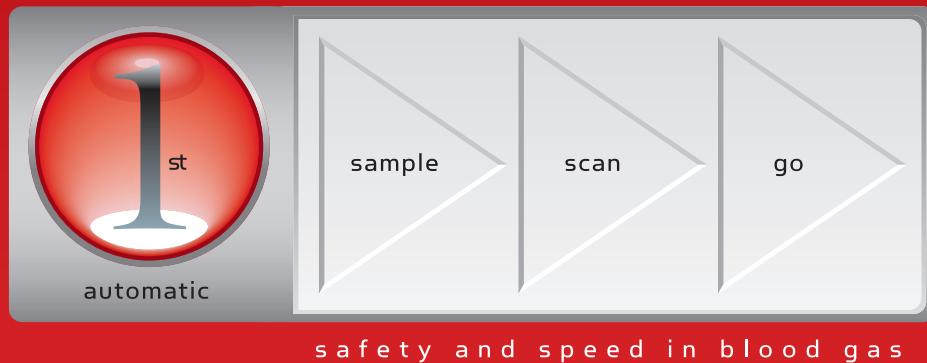
- [1] M.Sogaard, S.K.Kjaer, S.Gayther. Ovarian cancer and genetic susceptibility in relation to the *BRCA1* and *BRCA2* genes. Occurrence, clinical importance and intervention, *Acta Obstet. Gynecol.Scand.*, 85, (2006) 93-105.
- [2] B.J.Lorenzo, K.Hemminki. Risk of cancer at sites other than the breast in Swedish families eligible for *BRCA1* or *BRCA2* mutation testing, *Ann. Oncol.*, 15, (2004) 1834-1841.
- [3] Y.Miki, J.Swensen, D.Shattuck-Eidens, P.A.Futreal, K.Harshman, S.Tavtigian, Q.Liu, C.Cochran, L.M.Bennett, W.Ding, . A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*, *Science*, 266, (1994) 66-71.
- [4] R.Wooster, S.L.Neuhausen, J.Mangion, Y.Quirk, D.Ford, N.Collins, K.Nguyen, S.Seal, T.Tran, D.Averill, . Localization of a breast cancer susceptibility gene, *BRCA2*, to chromosome 13q12-13, *Science*, 265, (1994) 2088-2090.
- [5] D.Abeliovich, L.Kaduri, I.Lerer, N.Weinberg, G.Amir, M.Sagi, J.Zlotogora, N.Heching, T.Peretz. The founder mutations 185delAG and 5382insC in *BRCA1* and 6174delT in *BRCA2* appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women, *Am.J.Hum.Genet.*, 60, (1997) 505-514.
- [6] M.C.King, J.H.Marks, J.B.Mandell. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in *BRCA1* and *BRCA2*, *Science*, 302, (2003) 643-646.
- [7] H.Jernstrom, N.Loman, O.T.Johannsson, A.Borg, H.Olsson. Impact of teenage oral contraceptive use in a population-based series of early-onset breast cancer cases who have undergone BRCA mutation testing, *Eur.J.Cancer*, 41, (2005) 2312-2320.
- [8] A.R.Venkitaraman. Cancer susceptibility and the functions of *BRCA1* and *BRCA2*, *Cell*, 108, (2002) 171-182.
- [9] A.Tutt, A.Ashworth. The relationship between the roles of BRCA genes in DNA repair and cancer predisposition, *Trends Mol.Med.*, 8, (2002) 571-576.
- [10] A.Antoniou, P.D.Pharaoh, S.Narod, H.A.Risch, J.E.Eyfjord, J.L.Hopper, N.Loman, H.Olsson, O.Johannsson, A.Borg, B.Pasini, P.Radice, S.Manoukian, D.M.Eccles, N.Tang, E.Olah, H.Anton-Culver, E.Warner, J.Lubinski, J.Gronwald, B.Gorski, H.Tulinius, S.Thorlacius, H.Ferola, H.Nevanlinna, K.Syrjakoski, O.P.Kallioniemi, D.Thompson, C.Evans, J.Peto, F.Lalloo, D.G.Evans, D.F.Easton. Average risks of breast and ovarian cancer associated with *BRCA1* or *BRCA2* mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies, *Am.J.Hum.Genet.*, 72, (2003) 1117-1130.
- [11] P.Moller, A.Borg, K.Heimdal, J.Apold, J.Vallon-Christersson, E.Hovig, L.Maehle. The *BRCA1* syndrome and other inherited breast or breast-ovarian cancers in a Norwegian prospective series, *Eur.J.Cancer*, 37, (2001) 1027-1032.
- [12] G. Johannesdottir, J.Gudmundsson, J.T.Bergthorsson, A.Arason, B.A.Agnarsson, G.Eiriksdottir, O.T.Johannsson, A.Borg, S.Ingvansson, D.F.Easton, V.Egilsson, R.B.Barkardottir. High prevalence of the 999del5 mutation in icelandic breast and ovarian cancer patients, *Cancer Res.*, 56, (1996) 3663-3665.
- [13] A.Bergman, A.Flodin, Y.Engwall, E.L.Arbblad, K.Berg, Z.Einbeigi, T.Martinsson, J.Wahlstrom, P.Karlsson, M.Nordling. A high frequency of germline *BRCA1/2* mutations in western Sweden detected with complementary screening techniques, *Fam.Cancer*, 4, (2005) 89-96.
- [14] L.Sarantaus, P.Vahtero, E.Bloom, A.Tamminen, L.Unkila-Kallio, R.Butzow, H.Nevanlinna. *BRCA1* and *BRCA2* mutations among 233 unselected Finnish ovarian carcinoma patients, *Eur.J.Hum.Genet.*, 9, (2001) 424-430.
- [15] J.T.Bergthorsson, B.Ejlertsen, J.H.Olsen, A.Borg, K.V.Nielsen, R.B.Barkardottir, S.Klausen, H.T.Mouridsen, K.Winther, K.Fenger, A.Niebuhr, T.L.Harboe, E.Niebuhr. *BRCA1* and *BRCA2* mutation status and cancer family history of Danish women affected with multifocal or bilateral breast cancer at a young age, *J.Med.Genet.*, 38, (2001) 361-368.
- [16] P.Moller, K.Heimdal, J.Apold, A.Fredriksen, A.Borg, E.Hovig, A.Hagen, B.Hagen, J.C.Pedersen, L.Maehle. Genetic epidemiology of *BRCA1* mutations in Norway, *Eur.J.Cancer*, 37, (2001) 2428-2434.

# 1st automatic

## The world's first automatic blood gas system

We've taken so many steps and so much time out of blood gas analysis, people are calling us simple-minded.

We take that as a compliment.



Introducing the world's **1st automatic** blood gas analysis system:

- Helping to ensure patient and staff safety
- Reduce steps – increase speed
- Link right patient with right result, right now
- Automatic mixing of samples – assured sample integrity

Watch the 3-minute video of 1st automatic in action at

**[www.radiometer.com/1st](http://www.radiometer.com/1st)**

### Denmark

Radiometer Danmark  
Åkandevej 21  
DK-2700 Brønshøj  
Tel: +45 38 27 28 29  
Fax: +45 38 27 27 12  
[www.radiometer.dk](http://www.radiometer.dk)

### Norway

Bergman Diagnostika AS  
P.O. Box 403  
N-2001 Lillestrøm  
Tel: +47 63 83 57 50  
Fax: +47 63 83 57 40  
[www.bergmandiag.no](http://www.bergmandiag.no)

### Sweden

TRIOLAB AB  
Åbäcksgatan 6, Box 2109  
SE-431 02 Mölndal  
Tel: +46 31 81 72 00  
Fax: +46 31 81 72 28  
[www.triolab.se](http://www.triolab.se)

### Finland

Triolab Oy  
Lemminkäisenkatu 20 B  
FIN-20520 Turku  
Tel: +358 201 226 600  
Fax: +358 201 226 601  
[www.triolab.fi](http://www.triolab.fi)

# Tumormarkører i serum ved bryst- og eggstokk Kreft: Hvilken rolle spiller de i praktisk medisin?

Ole P. Børmer, Avd. for medisinsk biokjemi, Rikshospitalet

- Radiumhospitalet HF, Oslo

E-post: oboermer@online.no



Som nevnt i den ledsagende artikkelen om arvelig ca. mammae og ca. ovarii, har kvinner i den vestlige verden en livstidsrisiko for å utvikle disse sykdommene på henholdsvis 12,5% og 1,8%. Gjennom de siste 40 år har vi sett nær en fordobling av de alders-spesifikke insidensrater for ca. mammae i Norge, noe mindre for ca. ovarii.

Relativt mange av disse cancer tilfellene kommer hos yngre og middelaldrende kvinner under 55 år. Dette er ulikt den hyppigste kreftformen hos menn, ca. prostatæ, som er sjeldent før 55 års alder og deretter øker raskt [1].

Heldigvis har ikke mortaliteten av disse to kvinnesykdommene hatt den samme dystre utviklingen. Denne bedre prognosens skyldes nok først og fremst en forskyning mot tidligere studier på diagnosetidspunktet, på grunn av bedre primær-diagnostikk (inkl. mammografiscreening). Men vi har også fått en bedre overlevelsesrate innen det enkelte sykdomsstadium, på grunn av bedre kirurgisk teknikk, bedre adjvant primærbehandling og, formodentlig, som følge av en bedre oppfølging etter primærbehandlingen og en mer effektiv behandling ved residiv.

Hvilken rolle kan vi spille med våre tumormarkøranalyser ved disse to sykdommene?

## **Ca. mammae**

For en klinisk biokjemiker som har observert de kliniske rutiner for behandling av ca. mammae i 35 år, er det interessant å se hvor sent disse rutinene endrer seg. Dette gjenspeiler at brystkreft ofte

utvikler seg langsomt, slik at kontrollerte kliniske behandlingsstudier kan kreve mange års observasjonstid før vi får det endelige resultatet. Vi vet mye mer om tumors biologi og biokjemi i dag enn for 35 år siden, og vi har fått en rekke cellulære markører som sier noe om prognose og terapivalg (f. eks. Ki67; østradiol- og progesteronreceptorer; HER-2). Genekspresjonsanalyser i tumorvev synes lovende, og spørsmålet er om de kan gi et bedre grunnlag for valg av behandling. Men svaret på dette spørsmålet får vi først om flere år.

## *Biokjemi*

I serum er det bare et fåtall tumorprodukter som er aktuelle for rutinemålinger. Det epiteliale mucin 1 (MUC1) forekommer normalt i høy konsentrasjon i serum. Ca. mammae-vev produserer glykosyleringssvarianter av dette [2], og immunometriske analyser med spesifisitet for disse variantene fungerer som tumormarkøranalyser. Et systematisk søk etter kombinasjoner av monoklonale antistoff som gir best mulig tumorspesifisitet har gitt lovende resultater [3]. Den mest brukte kommersielle varianten er CA15-3, mens MCA, BR 27.29 og CA549 i praksis har tilsvarende spesifisitet. Den diagnostiske sensitivitet er ikke optimal; 50-70% av pasienter med fjernmetastaser har forhøyete verdier [4].

Carcinoembryonalt antigen (CEA) er et produkt av normal colonmucosa, og er i rutinebruk som serummarkør ved colorectal cancer. Normalt mammakjertelvær uttrykker knapt noe CEA, men interessant nok dukker det opp i en signifikant andel av mammatumores. Erfaringen viser at det kan ha en viss verdi som tumormarkør også ved ca. mammae, spesielt ved viscerale metastaser [4].

HER-2 er en transmembran vekstfaktorreceptor, som overuttrykkes i tumor hos omkring 20% av ca. mammae-pasientene. Påvisning av slik overekspresjon er en forutsetning for å få effekt av behandling med trastuzumab (Herceptin®). Det ekstracellulære domenet av HER-2 kan påvises i serum. Forhøyte verdier kan være vanskelige å tolke, ettersom de vil være produktet av ekspressionsgrad og tumormasse.

#### *Klinikk*

I hvilke kliniske faser av ca. mammae kan vi ha nytte av tumormarkøranalysene? Dette er en kreft-type som normalt skal oppdages i et tidlig stadium. Serummarkøranalyser har derfor ingen plass i primærdiagnostikken, heller ikke hos pasienter med genetisk betinget høy risiko for sykdommen [4]. Når en tilsynelatende liten og lokal tumor er påvist, kan en MUC1-måling i serum likevel ha en verdi, som prognostisk faktor. En forhøyet verdi kan tyde på tumorspredning; pasienten tilhører

en høyrisikogruppe, og indikasjonen for adjuvant behandling styrkes [5].

Oppfølgingen av pasientene i månedene og årene etter primærbehandling dreier seg dels om å påvise eventuelle locoregionale residiv på et tidlig stadium, hvor reseksjon fortsatt er mulig. Tumormarkøranalysene har ingen verdi for dette formål. Det andre mulige formålet med oppfølgingen er å oppdage eventuelle systemiske residiv (fjernmetastaser) på et tidligst mulig tidspunkt, i håp om at tidlig diagnose gir en bedret overlevelse. Det er vist at en systematisk oppfølging med måling av MUC1 og evt. CEA i serum hver 3. måned i årene etter primærbehandling kan fremskynde residivdiagnosene med gjennomsnittlig et knapt halvår hos 50-60% av pasientene. Problemet er at det ikke er vist at dette gir noen bedre prognose for pasientene, heller ikke for pasienter som i utgangspunktet er i en høyrisikogruppe [4]. En nylig gjennomført litteraturstudie identifiserte ikke mindre enn 4418 artikler om

(Fortsætter side 34)



Grønland. Foto: Henrik Alftahn

(Fortsat fra side 33)

"Follow-up care of patients treated for breast cancer", hvorav bare 38 kunne inkluderes [6]. Hovedkonklusjonen var at det ikke er vist at hyppig etterkontroll, med bruk av en rekke forskjellige analyser og undersøkelser, gir noe bedre resultat enn et enklere opplegg, med hovedvekt på å oppdage lokoregionale residiv.

Og uansett hvilket kontrollopplegg som følges, er det viktig å tenke gjennom resultatalternativene før man bestiller tumormarkøranalysen. Pasienten vil føle seg beroliget hvis resultatet er "normalt", men hva om det viser en signifikant økning? Tjener det pasienten totalt sett? Spørsmålet er vanskelig, og den ideelle fordring for legen er å sette seg inn i pasientens situasjon og forventninger, i tillegg til de objektive medisinske data som foreligger.

Spørsmålet om bruk av tumormarkøranalysene er noe enklere hvis pasienten får et residiv med fjernmetastaser, som fortsatt rammer et betydelig antall tross tidlig primærdiagnose og bedre primærbehandling. Det er vist signifikant korrelasjon mellom sykdomsutvikling under behandling og endring av S-MUC1-nivå hos de 60-70% av pasientene som har fått patologisk høye verdier. Konservativt regnes økning med mer enn 25% eller reduksjon med mer enn 50% som signifikant i slike situasjoner [4, 5]. Onkogene har i dag flere alternative behandlingsopplegg å spille på ved residiv. Endring i MUC1-nivået indikerer om den valgte behandling er effektiv, eller om den er ineffektiv og bør avsluttes.

Måling av konsentrasjonen av HER-2's ekstracellularære domene i serum er blitt aktuelt i forbindelse med trastuzumab-behandling av residiv. Dette gjelder først og fremst for å vurdere effekten av et ekstremt dyrt medikament, men kan kanskje også brukes for å vurdere om det er indikasjon for å bruke medikamentet hos en pasient hvor HER-2 status i primærtumor er ukjent [7]. Det gjenstår å se om dette blir etablert praksis.

## Ca ovarii

De kliniske problemstillingene ved ovariancancer er minst like vanskelige som ved mammacancer. Med CA125 har vi en utmerket serummarkør for denne tumorformen, men en beklagelig stor andel av pasientene har likevel avansert sykdom

når diagnosen stilles. Så samlet sett representerer ovariancancer en stor utfordring.

## Biokjemi

CA125 ble først beskrevet av Bast *et al.* i 1981 [8] som liganden for det monoklonale antistoff OC125. En immunometrisk analyse basert på dette antistoffet viste seg raskt å ha interesse, og kom i rutinebruk lenge før vi visste hva CA125 var. Epitopreaktiviteten for 26 ulike monoklonale antistoffer mot CA125 ble undersøkt i en internasjonal "workshop" i 1995 [9], som fant at de i hovedsak fordele seg på to hovedgrupper. Molekylstrukturen forble likevel ukjent helt til 2001, da det ble vist at også CA125 er et mucin, nå kalt MUC16 [10].

Dagens immunometriske analyser baserer seg på monoklonale antistoffer med forskjellig epitopspesifisitet, vanligvis ett fra hver av de nevnte epitopgruppene. De er derfor vesentlig mer robuste og reproducerte enn første generasjons analysene, som bare brukte OC125.

Biologisk sett er CA125 (MUC16) et interessant molekyl. Normalt finner vi meget høy konsentrasjon i coelom-deriverte hulrom (pleura, pericard og peritoneum), samt i tuber, endometrium og endocervix. I det lille væskevolumet som normalt er i peritonealhulen, har CA125 en molekylmasse på flere MDa, med konsentrasjon i størrelsesorden 2 000 kU/L. I serum har vi en referansegrense som vanligvis er 35 kU/L, og molekylmassen her er bare noen hundre kDa.

## Klinikk

Denne normale forekomsten er årsaken til at CA125-analysen ikke har optimal spesifisitet som ovariancancermarkør. De fleste sykdommer som affiserer pleura, pericard eller peritoneum kan gi forhøyete serumverdier, på grunn av økt lekkasje. Vår lokale "tommelfingerregel" er at slike uspesifikke årsaker en sjeldent gang kan gi S-CA125-verdier opptil 2000 kU/L, selv om det vanligvis bare er moderat økning. Slike "uspesifikke" årsaker til forhøyet S-CA125 er hyppigere hos premenopausale enn hos postmenopausale kvinner, noe som må tas med i vurderingen av den enkelte pasient. Videre er det praktisk viktig å vite at omkring 1/3 av alle gravide har en lett forhøyet S-CA125 i

(Fortsætter side 36)

Nothing Beats  
This Pair.

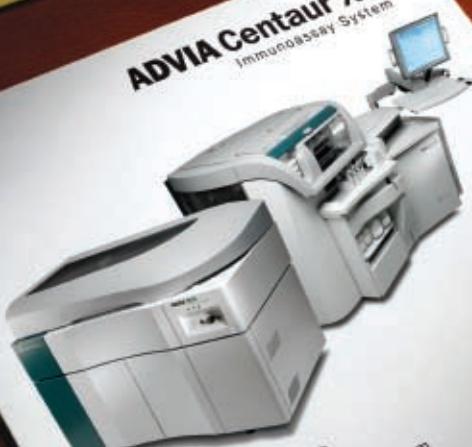
ADVIA Centaur® XP

Immunoassay System



ADVIA® 1800  
Chemistry System

ADVIA Centaur® XP  
Immunoassay System



ADVIA® 1800  
Chemistry System

## Make a perfect match for advanced capabilities and productivity

Together, the new ADVIA Centaur® XP and ADVIA® 1800 systems are the smart combination for winning productivity in immunodiagnostics and chemistry testing. With high-scoring throughput and comprehensive menus, these fast, flexible analyzers represent the highest standard of testing for your lab. Intuitive controls and user-friendly designs pair with ultimate compatibility and greater connectivity for reliable efficiency, today and tomorrow - now that's a winning strategy.

Bayer HealthCare Diagnostics. Focusing on your world.

**NEW**

Solutions for  
Immunoassay and  
Chemistry Systems



(Fortsat fra side 34)

første trimester, uten at dette korrelerer med noen patologi.

De fleste former for ovarialcancer produserer CA125. Unntakene utgjør omkring 20%, først og fremst de mucinøse carcinomene. Også disse gir imidlertid forhøyete serumverdier ved mer avansert sykdom.

Også andre cancertyper kan gi høye serumkoncentrasjoner hvis de affiserer de nevnte organer. Forhøyet S-CA125 ved mammacancer kan tyde på spredning til pleura [11], og vi har sett et tilfelle av ovariantumor med skyhøy CA125 som peroperativt viste seg å være en solitær metastase fra et ventrikkelcarcinom ("Krukenberg-tumor").

Gitt en så tilsynelatende utmerket tumormarkør som CA125, var entusiasmen stor de første årene for å bruke analysen, supplert med transvaginal ultralydundersøkelse ved forhøyet CA125-verdi, til screening med henblikk på tidlig diagnose av ovarialcancer. Dessverre har dette ikke slått til, først og fremst fordi prevalensen av "uspesifikke" funn i forhold til prevalensen av ovarialcancer gir allt for mange laparoskopier og eventuelt laparo-

tomier. Det lille antall krefttilfelle som oppdages, forsvarer ikke omkostningene og komplikasjonene [12]. Det er fortsatt usikkert om dette også gjelder høyrisikoindivider (BRCA-mutasjoner eller familiær ca. ovarii). To nylig publiserte arbeider var relativt negative i sin konklusjon, selv om screeningen faktisk påviste en rekke cancertilfelle [13, 14]. Siste ord er således ikke sagt når det gjelder ovariancancerscreening [15].

Problemet for klinikeren er at denne kreftformen vanligvis bare gir vagt og uspesifikke symptomer, helt til den er i et avansert stadium med dårlig prognose. En kollega i gynekologisk onkologi ved Radiumhospitalet fant for 20 år siden at det i gjennomsnitt tok 6 måneder fra pasienten begynte å kjenne et svakt ubehag til hun gikk til lege, og så tok det ytterligere nesten 6 måneder før pasienten kom til behandling for sin ovariancancer. Vi håper jo at vi er bedre i dag, men fortsatt stilles diagnosen i avansert stadium hos et flertall av pasientene [1].

Primærbehandlingen av ovarialcancer er kirurgisk, og spesielt ved avansert sykdom er kompetansen og erfaringen hos operatøren helt avgjø-



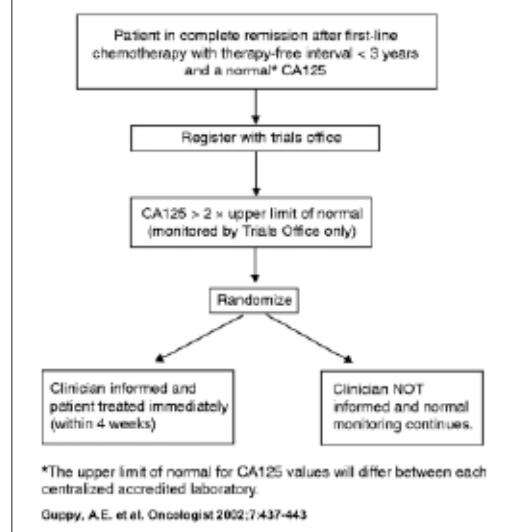
Grønland. Foto: Henrik Alftan

rende for pasientens prognose. Forklaringen er enkel; det man ikke får fjernet ved primæroperasjonen, får man ikke gjort noe med ved en eventuell reoperasjon. Da har pasienten fått uunn-gåelige postoperative adheranser. Det betyr at det er uhyre viktig å identifisere disse pasientene, som ikke skal opereres ved et lokalt sykehus, men hen-vises til en gynekologisk avdeling med onkologisk spesialkompetanse. Her spiller CA125-målingen en viktig rolle. En "Risk of Malignancy Index" (RMI) identifiserer med stor sikkerhet pasienter med sykdom i FIGO stadium II eller høyere [16]. RMI er produktet av S-CA125-konsentrasjonen i kU/L, multiplisert med en faktor for menopause-status (premenopausalt = 1, postmenopausalt = 2) og en faktor for ultralydfunn som kan være 0, 1 eller 2. Hvis produktet av denne beregningen over en gitt grenseverdi, skal pasienten behandles i en spesialavdeling. Det er nylig også vist at RMI er et robust og "portabelt" begrep, som er gyldig også hvis undersøkelsene utføres av flere klinikere og laboratorier [17].

Den kirurgiske behandling av avansert ovarialcancer er vanligvis radikal, med fjernelse av ovarier, tuber og uterus, etterfulgt av adjuvant cytostatikabehandling. Etter en vellykket primærbehandling vil S-CA125-verdien hos de fleste pasientene ligge i nederste del av referanseområdet. Vår erfaring, med en meget presis egenviklet immunofluorometrisk CA125-analyse, er at økninger selv innenfor referanseområdet varsler et kommende residiv med stor sannsynlighet.

Spørsmålet er, som med andre tumormarkør-analyser og cancerformer, om dette er kunnskap som gagner pasienten. Forskjellen er at med CA125 og ovarialcancer vil vi antakelig få svar på spørsmålet. Det britiske Medical Research Council (MRC) i samarbeid med European Organization for Research on Treatment of Cancer (EORTC) startet i 1996 et klinisk forsøk, MRC/EORTC Trial OV05, for å belyse dette (se Figur 1). Opplegget er at etter en vellykket primærbehandling følges pasientene regelmessig, med klinisk undersøkelse og måling av S-CA125. Analyseresultatet sendes bare til MRC Trials Office, og meddeles ikke til pasientens lege. Hvis det kommer en CA125-økning til  $>2\times$  øvre referansegrense, blir pasienten randomisert av Trials Office: Enten meddeles økningen til pasientens lege og residivbehandling startes hvis hvis

**Figur 1. MRC/EORTC CA125 follow-up trial design**



det ikke er kontraindikasjoner. Alternativt holdes CA125-verdien fortsatt skjult, og behandling starter først når residivet påvises med konvensjonelle midler. Sluttanalysen vil se etter forskjeller i levetid, livskvalitet og ressursbruk mellom de to gruppene. Vårt sykehus og laboratorium deltar i denne studien med pasienter og analyser, og vi ser med spenning frem til resultatet om noen år.

Ved residiv av ovarialcancer etter primærbehandling, og ved inoperabel primærsykdom, kan pasienten ha nytte av cytostatikabehandling. Vi viste allerede i 1987 at CA125-analysen ga klinisk nyttig informasjon om effekten av slik behandling [18]. Økende verdier betød alltid manglende terapieffekt og progredierende sykdom, og det måtte overveies å avslutte behandlingen for å spare pasienten for bivirkningene. I dag har vi flere behandlingsalternativer, og det er ennå viktigere å skille de ineffektive fra de som hjelper pasienten. Det er i denne sammenheng vist at CA125 kan tjene som surrogatmarkør for terapieffekt ved fase II-trials av nye behandlingsopplegg [15].

Så selv om forventningene til effektiv ovarialcancerscreening med CA125-analysen ikke er innfridd, så har analysen vist seg å være svært nyttig for mange pasienter.

(Fortsætter side 38)

(Fortsat fra side 37)

## Hva nå?

Nye potensielle markører for bruk ved disse sykdommene dukker opp i litteraturen med ujevne mellomrom, men de fleste dør stille hen uten noensinne å nå klinisk rutine. Behovet for sensitivte biokjemiske markører er størst ved ovariancancer, og her ser vi en rekke tumormarkørkandidater i horisonten. Spesiell oppmerksomhet fortjener kanskje "proteomikk-tilnærmingen", hvor man ser etter peptidmønstre i serum [15]. Men fallgrubene og artefaktene er mange, og for en med 36 års fartstid i rutinelaboratoriet ved et spesialsykehus for cancer er det fristende å sitere et gammelt ordtak: "Nye markører er alltid best". I rutinelaboratoriet har vi fortsatt en jobb å gjøre, for å lære oss selv og klinikerne å bruke de laboratorieverktøy vi har, på best mulig måte for pasienten.

## Referanser

1. Cancer in Norway 2004. Cancer Registry of Norway, Oslo 2006.
2. Karsten U, von Mensdorff-Pouilly S, Goletz S. What makes MUC1 a tumor antigen? *Tumor Biol* 2005; 26(4): 217-20.
3. Norum LF, Sauren AM, Rye PD, Nustad K. New immunoassays for MUC1 in breast cancer. *Tumor Biol* 2001; 22:216-22.
4. Molina R, Barak V, van Dalen A, Duffy M, Einarsson R, Gion M, *et al*. Tumor markers in breast cancer – European Group on Tumor Markers recommendations. *Tumor Biol* 2005; 26:281-93.
5. Duffy M. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value? *Clin Chem* 2006; 52(3): 345-51.
6. Collins RF, Bekker HL, Dodwell DJ. Follow-up care of patients treated for breast cancer: a structured review. *Cancer Treat Rev* 2004; 30(1): 19-35.
7. Kong S-Y, Nam B-H, Lee KS, Kwon Y, Lee ES, Seong M-W, *et al*. Predicting tissue HER2 status using serum HER2 levels in patients with metastatic breast cancer. *Clin Chem* 2006; 52(8): 1510-5.
8. Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 1981; 68: 1331-7.
9. Nustad K, Bast RC, O'Brien TJ, Nilsson O, Seguin P, Suresh MR. Specificity and affinity of 26 monoclonal antibodies against the CA125 antigen. First report from the ISOBOBM TD-1 workshop. *Tumor Biol* 1996; 17: 196-219.
10. Yin BW, Lloyd KO. Molecular cloning of the CA125 ovarian cancer antigen: identification as a new mucin, MUC16. *J Biol Chem* 2001; 276(29): 26371-5.
11. Norum LF, Erikstein B, Nustad K. Elevated CA125 in breast cancer – a sign of advanced disease. *Tumor Biol* 2001; 22(4): 223-8.
12. Fields MM, Chevlen E. Ovarian cancer screening: a look at the evidence. *Clin J Oncol Nurs* 2006; 10(1): 77-81.
13. Gaarenstroom KN, van der Hiel B, Tollenaar RA, Vink GR, Jansen FW, van Asperen CJ, *et al*. Efficacy of screening women at high risk of hereditary ovarian cancer: results of an 11-year cohort study. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16 Suppl 1: 54-9.
14. Olivier RI, Lubsen-Brandsma MA, Verhoef S, van Beurden M. CA125 and transvaginal ultrasound monitoring in high-risk women cannot prevent the diagnosis of advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006; 100(1): 20-6.
15. Bast RC Jr, Badgwell D, Lu Z, Marquez R, Rosen D, Liu J, *et al*. New tumor markers: CA125 and beyond. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15 Suppl 3: 274-81.
16. Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, Onsrud M, Kiserud T, Halvorsen T, Nustad K. Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the pre-operative diagnosis of pelvic masses. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103(8), 626-31.
17. Bailey J, Tailor A, Naik R, Lopes A, Godfrey K, Hatem HM, *et al*. Risk of malignancy index for referral of ovarian cancer cases to a tertiary center: does it identify the correct cases? *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16 Suppl 1: 30-4.
18. Vergote IB, Bormer OP, Abeler VM. Evaluation of serum CA125 levels in the monitoring of ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157(1): 88-92.



## AU3000i – IMMUNOASSAYS WITHOUT COMPROMISE

- High throughput for peak workload situations: 240 results per hour - for any assay mix.
- The system you can trust legendary Olympus experience and reliability finally available for immunoassays..
- Minimum training requirements: the consistent look & feel of all Olympus analysers allow easy operation and job rotations even within different laboratories.
- Superior reagent quality: best-in-class assays for thyroid, fertility, cardiac, anaemia and cancer testing.
- Flexible consolidation capabilities using the AU-CONNECTOR: improved workflow, shorter turn-around time, reduced costs and better patient service.

[www.olympus-dagnostica.com](http://www.olympus-dagnostica.com)



# OLYMPUS

Your Vision, Our Future

# IFCC News

*Päivi Laitinen*

IFCC Secretary. E-mail: [paivi.h.laitinen@ppshp.fi](mailto:paivi.h.laitinen@ppshp.fi)

I like four seasons. We had the most beautiful, warm summer here in the North as well in the whole Scandinavia. I also like that the seasons change over night. After summer we have fall, and after fall it is winter time. We have had unusually warm September and October till last week, when we had freezing temperatures on a few mornings. And this Sunday morning we woke up seeing that it had snowed over night. So we have winter now, over night as I wanted!



I started this column "IFCC News" in the previous issue of KBN, telling about the organization of the IFCC. Now I am going to discuss the role of the National Representative and Council meetings. National Representative has the most important role as a link between the National Society and the IFCC. National Representative gets all the information from the IFCC. It is the responsibility of the National Representative to inform the National Society and see that the National Society responds to requests for nominations of awardees, Division, Committee and Working Group members, participates in votings and attends the Council meetings. IFCC Executive Board has sent in September a letter to all National Societies and National Representatives reminding them of the important role of the National Representatives. The IFCC Procedure Manual states:

*The responsibilities of the National Representatives are as follows:*

- 1.4.1 To submit to the IFCC Office a full and up-to-date address for official correspondence (to include: mailing address, telephone, fax, and e-mail).
- 1.4.2 To submit to the IFCC Office a list of the officers of their Society, and their full addresses,

and to immediately notify the IFCC Office of any change in the officers of the Society.

- 1.4.3 To receive from the IFCC Office all official correspondence, and to be responsible for circulating these documents to the officers and members of their Society as appropriate.
- 1.4.4 To reply, on behalf of their Society and within the allotted time, to all requests sent to the Society by IFCC Functional Units, and to all mail ballots sent by the IFCC Office.
- 1.4.5 To propose, on behalf of their Society, names of appropriate individuals for membership, or Corresponding Membership, in IFCC Divisions, Committees and Working Groups.
- 1.4.6 To propose, on behalf of their Society, candidates for election to the IFCC Executive Board.
- 1.4.7 To attend the triennial IFCC Council meeting, or to nominate an alternative representative according to the prescribed procedure, and to vote on the issues raised before it.

Council meetings take place in every three years in connection with the International Congresses of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. The previous Council meeting was in Orlando in July 2005, and the next one will be in Fortaleza, Brazil, in 2008. Every National Society has a right to send its National Representative or another authorized person to attend the Council meeting. IFCC Procedure Manual states of the Council meeting as follows:

*The IFCC Council will meet on a triennial basis, coinciding with the IFCC International Congress.*

*During this meeting the Council will carry out the following activities:*

- 1.5.1 Hear the report of the IFCC President on the achievements of the IFCC since the previous Council meeting, and its plans for the future.

- 1.5.2 Hear a detailed financial report from the IFCC Treasurer.
- 1.5.3 Hear detailed reports from the Division Chair on the projects and actions of each Division.
- 1.5.4 Be informed of the Executive Board decision for the site of the next plus one IFCC Congress.
- 1.5.5 Vote for the officers of the IFCC Executive Board for the following triennium.
- 1.5.6 Express opinion, and comment, on the items brought before the Council.
- 1.5.7 Request additional information on present actions of the Executive Board, and suggest additional activities, if necessary, for promoting the goals of the IFCC, for its advancement in the provision of health care, or for its reputation in the international professional community.
- 1.5.8 All Divisional Chairs and EB members presenting reports at the Council meeting will have sent reports to the Secretary at least one month prior to the meeting.

General Conference is another occasion, where National Societies can meet IFCC officials. It is not a scientific conference (although it discusses many scientific issues) but rather a meeting of all participants with IFCC Divisions, Committees and Working Groups. Its aim is to facilitate the work of the IFCC. General Conference is organized during the second

year of every three-year cycle of the IFCC. The next General Conference will be in Antalya, Turkey, in March 2008. The purpose of the General Conference is to present to all the participants the achievements of the past triennium and the programs for the future, as well as to discuss with the National Societies. Congress and Conference Division will organize the General Conference and the preparations for the program of the next General Conference are on the way. CCD will inform National Societies of the General Conference well in advance before the meeting.

I want to encourage you all to visit the IFCC website [www.ifcc.org](http://www.ifcc.org), where you can find all the information concerning the activities of the Federation. You can find information of the Divisions, Committees and Working Groups, summaries of the minutes of meetings, information on the forthcoming events etc in the website. The new website is user friendly and easier to use.

I am pleased to inform you that IFCC has a new Full member. The Association of Clinical Laboratory Directors and Biomedical and Clinical Laboratory Scientists in Nicosia - Cyprus (ACLDBCLS) has been unanimously approved as a full member of the IFCC in a formal voting. IFCC has now 75 Full Members in its membership.

It is Monday morning and I am sitting in my office, finishing this column. I am looking through my window and the world still looks magically white!



Grönland. Foto: Henrik Alfthan

# NORICHILD – nordiskt projekt för referensintervall för barn

Peter Ridefelt, Klinisk kemi och farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala

E-post: peter.ridefelt@akademiska.se

Referensintervall är viktiga och kritiska inom laboratoriemedicin. Det samnordiska NORIP-projektet som genomfördes under de första åren på 1990-talet och nu har implementats på många håll runt om i Norden (Rustad P, Klinisk Biokemi i Norden 2003;15;10-17) har givit oss betydligt större samstämmighet mellan olika laboratorier för referensintervall för vuxna inom allmänkemi och hematologi.

NORIP gav anledning till ytterligare ett samnordiskt projekt varför Nordisk Förening för Klinisk Kemi (NFKK) 2004 initierade och stödjer ekonomiskt en uppföljare för att se över barnreferensintervall. Gruppen som består av medlemmar från alla de fem nordiska länderna; Finland, Island, Sverige, Norge och Danmark, arbetar under namnet NORICHILD "Nordic Reference Intervals in CHILDren". En första presentation av gruppens arbete i Köpenhamn.

Däremot har referensintervallen inte utvecklats i samma takt. NORIP-projektet för vuxna gjorde att spårbarhet och skillnader mellan de olika laboratoriernas referensintervall kunde minskas. Samma svagheter gäller förstas även för de nu använda referensintervallen för barn, men för dessa är tro-ligen spårbarhet och relevans ännu lägre än för vuxna.

Det pågår ett antal mindre projekt i Norden där man samlar in prover på barn, ex Skakkebæk,

Rikshospitalet, Danmark som har startat en studie kring endokrina analyser i puberteten. Internationellt finns några större projekt på gång. KiGGS i Tyskland är en stort upplag studie på hälsa hos barn och ungdomar upp till och med 17 år, där det bland annat ingår blodprovtagning på ca 18 000 barn. I USA gör det privata ARUP-laboratoriet ett projekt där man samlar in prover på friska barn, ca 4000 individer i åldern 6 månader till 17 år.

NORICHILD gruppen kommer initialt att fokusera på samma analyspanel, drygt 20 allmänkemianalyser plus hematologi, som undersöktes i NORIP tillämpat på åldersgruppen 0-18 år. I en andra fas skall sedan dessa förslag verifieras mot patientresultat från de deltagande laboratoriernas labdatasystem. Fördelen med detta förfarande är att det går att få fram stora mängder rådata. Deltagarnas metoder är som regel spårbara mot referensserum X som användes i NORIP. Nackdelen är att dessa data inkluderar prover tagna på sjuka patienter, ett faktum som förmodligen spelar större roll än hos vuxna - man tar inte prov i onödan på barn. Denna effekt kan mildras med att ex exkludera patienter med upprepad provtagning, att exkludera vissa remitterande avdelningar som hematologi och onkologi. Om utfallet av verifieringen mot data från labdatasystem blir undermålig kan även insamlande av nya blodprover bli aktuellt.

## Gruppmedlemmar:

Esa Hämäläinen	HUSLAB, Helsingtors, Finland
Lotta Joutsi-Korhonen	HUSLAB, Helsingtors, Finland
Isleifur Olafsson	Landspítali Reykjavík, Island
Peter Ridefelt	Akademiska Hospital, Uppsala, Sverige
Lars Mørkrid	Rikshospitalet, Oslo, Norge
Søren Ladefoged	Århus Sygehus, Danmark
Nete Hornung	Randers Centralsygehus, Danmark

## 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: palwan@vgs.vejleamt.dk

### Danmark

Overlæge Ulrik Gerdes  
Klinisk Biokemisk Laboratorium  
Psykiatrisk Hospital  
Skovagervej 2  
DK-8240 Risskov  
Telefon: +45 7789 3521  
E-post: ulrik.gerdes@dadlnet.dk

### Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan  
Helsingfors Universitetscentral-sjukhus  
HUSLAB  
Kvinnokliniken  
Haartmansgatan 2  
FIN-00290 Helsingfors  
Telefon: +358 9 471 61457  
Telefax: +268 9 4717 4806  
E-post: henrik.alfthan@hus.fi

### Finland

NFKK: Medicinsk direktør  
Jarkko Ihälainen  
Oy Medix Laboratorier Ab  
Knäktbrogården 1  
FIN-02630 Esbo  
Telefon: +358 9 5256259  
Telefax: +358 9 5256255  
E-post:jarkko.ihälainen@medix.fi

### 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

### Sverige

Professor 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

### Island

Överläkare Ingunn Torsteinsdóttir  
Department of Clinical  
Biochemistry Landspítali - University  
Hospital Hringbraut  
IS-101 Reykjavík  
Telefon: 354 543 5033  
Telefax: 354 543 5539  
E-post: ingunnth@landspitali.is

### Sverige

Docent Per Simonsson  
Klinisk kemi  
Universitetssjukhuset MAS  
5205 02 Malmö  
Telefon: +46 4033 1459  
E-post: per.simonsson@med.lu.se

## Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i 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 figurer 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.

Se også KBN's hjemmeside: [www.kkno.org](http://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 ansvaret for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), 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 Linda Hilsted (København), Holger Jon Møller (Århus), Päivi Laitinen (Oulu), Jarkko Ihälainen (Helsinki), Isleifur Olafsson (Reykjavík), Ingunn Thorsteinsdóttir (Reykjavík), Bjørn Bolann (Bergen), Kristian Bjerve (Trondheim), Per Simonsson (Malmö), Hans Wallinder (Stockholm).

Ordførande: Jarkko Ihälainen. Sekreterare: Pamela Edgren (Helsinki).



## The Affordable Automation Solution



- **Consolidation of chemistry and immunoassay on a single platform**
- **170 assays and 400 specific allergens and allergy panels**
- **Linked but functionally independent systems**
- **RealTime Solutions capability, proactive service and support**

*Estimated release Q1 2007*