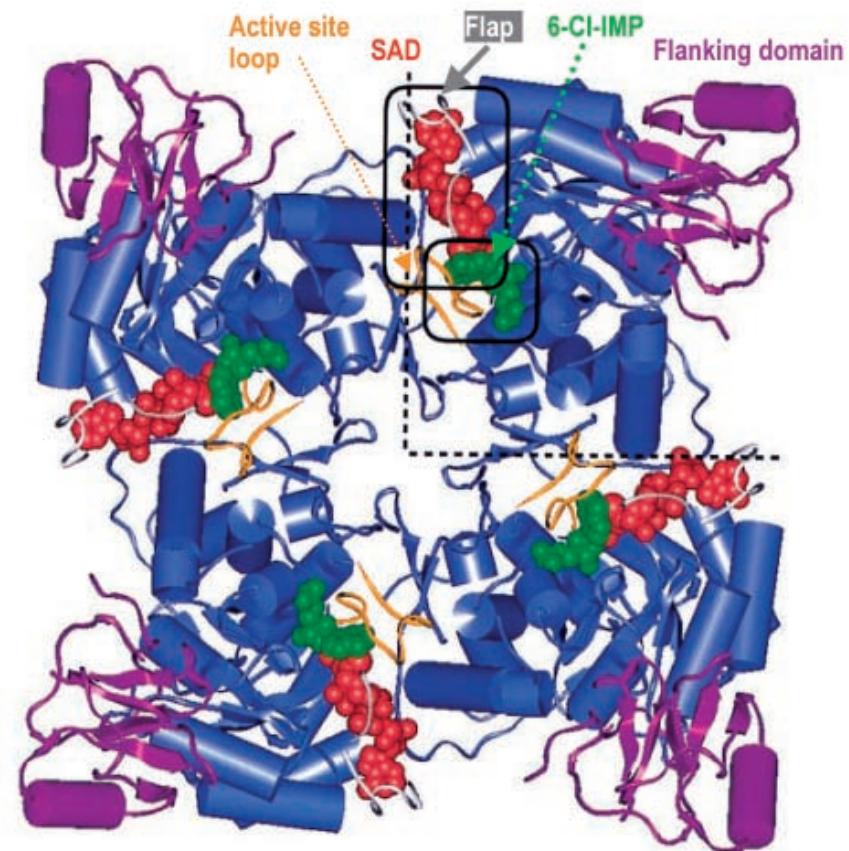
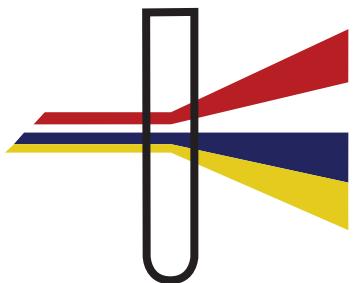


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 1, vol. 19, 2007

Klinisk biokemi & internettet	4
<i>Ulrik Gerdes</i>	
Nytt från NFKK.....	6
<i>Jarkko Ihalainen</i>	
Ovanlig kurs för unga biokemister	8
<i>Mattias Aldrimer</i>	
At rejse er at leve.....	8
<i>Redaktionen</i>	
Inosinmonofat-dehydrogenase (IMPDH) – målenzym for immunsuppresjon og annen farmakoterapi.....	10
<i>Stein Bergan</i>	
Værd at vide. Diagnose af vitamin B12 mangel.....	16
<i>Jolanta Klovaitė</i>	
Hur styra labmedicin för effektivitet och utveckling? Rapport om pågående projekt.	24
<i>Per Simonsson, Lena Dillner, Göran Landberg, Gert-Ove Gren, Sven Rydmarker, Jan Eric Andersson</i>	
Kristoffer Hellsing-prisen 2006.....	30
<i>Redaktionen</i>	
Strategi for udarbejdelse af klinisk biokemiske guidelines	32
<i>Johannes J. Sidelmann</i>	
IFCC News.....	40
<i>Päivi Laitinen</i>	

Forsiden: Forslag til 3D- struktur af inosinmonofosfat-dehydrogenase (IMPDH) fra Colby TD et al.:
*Crystal structure of human type II inosine monophosphate dehydrogenase:implications for ligand binding
and drug design. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1999;96:3531-6. Figurtekst ses på s. 15*

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.



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



Simplify • Automate • Innovate

Klinisk biokemi og Internettet

Ulrik Gerdes



Hvad er det for et euforiserende stof, der kaldes DOI? Det burde vi vel vide på Klinisk Biokemisk Laboratorium, når vi udfører analyser for misbrugsstoffer. DOI? Jeg var helt blank, men kunne 2-3 minutter senere svare: Det er 2,5-dimethoxy-4-iodoamfetamin. Stoffet er hallucinogen, har en virknings-tid på op til 30 timer og kan medføre alvorlige forgifninger, at dømme efter nogle tilfælde i Biggleswade i Sydøstengland for nogle uger siden.

Forklaringen er naturligvis, at jeg sad foran min computer, da jeg fik spørgsmålet, og hurtigt kunne søge på Internettet. Nøgleoplysningerne om DOI fandtes på Wikipedia, som er et kæmpestort leksikon der skrives af folk på Internettet. Der findes nu omkring 6,5 millioner artikler på 250 forskellige sprog, og flere søgemaskiner inkluderer automatisk søgninger i Wikipedia.

Jeg begyndte i den forbindelse at spekulere på, hvorfor der ikke findes et "Wikilab", dvs. en portal eller encyklopædi med kliniske biokemiske informationer for fagfolk? Vi har jo mange typer af informationer, som i høj grad egner sig til at blive samlet, redigeret, ordnet og lagt ud til fælles brug, både for laboratoriepersonale og klinikere.

Der findes naturligvis meget om klinisk biokemi på Internettet, men det er en meget heterogen informationsmængde, som er spredt på et stort antal websites af forskellig oprindelse og kvalitet; selv indenfor små områder som fx Norden. Det betyder måske ikke så meget i hverdagen, men det kan gøre det forbavsende svært, hvis man fx leder efter et laboratorium der udfører en bestemt analyse, eller gerne vil studere andre afdelingers anbefalinger vedrørende en biokemisk udredning eller en fortolkning. Og så har jeg bemærket, at mange websites indenfor området er ret isolerede på Internettet, dvs. at der ikke findes links fra andre steder og at de ikke

selv har links til andre steder. Det gør det svært at finde disse websites med de gængse søgemaskiner, især hvis de er placeret dybt inde i større content management systems, som det fx et tilfældet med en del danske kliniske biokemiske afdelinger på www.sundhed.dk.

Hvis man ville konstruere et effektivt website for klinisk biokemi, så er det afgørende at bruge et moderne, fleksibelt værktøj, som fx det der anvendes på Wikipedia og i andre projekter under Wikimedia, hvor bl.a. søgefaciliteterne er meget fornemme. Og man skal ikke forsøge at låse strukturen til en fast skabelon og slet ikke til en database med koder og navne på biokemiske analyser. Sådanne databaser findes og de kan være udmaerkede, hvis man ved præcist hvad man leder efter (og ikke staver forkert i søgefeltet), men de er for besværlige i daglig praksis: Det er ofte lettere at slå op i en bog! Det smarte ved moderne internetværktøjer er jo bl.a. at de kan søge på kryds og tværs i tekster, selv kan kategorisere søgeresultaterne og sågar også kan håndtere almindelige stavefejl.

En udvikling og vedligeholdelse af et større "Wikilab" ville være et stort arbejde, men det er arbejde som alligevel skal udføres i en eller form, og som jo pågår spredt mange steder. Det ville være fagligt udfordrende og ville også være til glæde for vores rekvisenter, især hvis informationerne på websitet kan hentes via links i elektroniske patient-journaler etc., dvs. at de klinisk biokemiske informationer er tilgængelige ved fingerspidserne.

Kunne man eventuelt udvikle et fælles nordisk website? Der findes flere nordiske lærebøger indenfor sundhedsvidenskab og det varer ikke så længe før computergenererede oversættelser mellem de nordiske sprog bliver pålidelige, så hvorfor i grunden ikke?

Reference

<http://www.wikipedia.org>



Welcome to Siemens Medical Solutions Diagnostics

It is with great pleasure that I welcome you as a customer of Siemens Medical Solutions Diagnostics, a joining together of Bayer Diagnostics and DPC as a part of Siemens AG.

With the formation of this exciting partnership, Siemens Medical Solutions Diagnostics is the first diagnostics company to offer in-vitro diagnostics, medical imaging and clinical IT under one roof. The product portfolio includes DPC's immunochemistry instruments, Bayer Diagnostics' broad base of central laboratory, molecular and point of care solutions and Siemens' comprehensive imaging, therapy and IT portfolio.

While we are undergoing many exciting changes within our organisation, our number one priority remains constant: We are committed to delivering outstanding products, service and support to our customers.

We are looking forward to continue our good co-operation and to contribute to a continuously better health service.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Birgit Eskildsen".

Birgit Eskildsen
Sub Region Manager

www.siemens.com/diagnostics

SIEMENS

Nytt från NFKK

Jarkko Ihälainen



I framtiden bör vi inte vara begränsade av fackliga och geografiska hinder.

Organisationskommittén för Nordiska Kongressen 2008 har i början av år 2007 närmat sig alla Nordiska föreningar för klinisk kemi för att samla förslag till intressanta symposierubriker. När detta nummer

av KBN distribueras på våren har den vetenskapliga arbetsgruppen förhoppningsvis sållat de bästa och mest lämpliga programmen till en balanserad och spännande helhet. Nordiskt samarbete behövs också i förverkligande av programmet och utställningen.

What kind of development is taking place in laboratory life and what might we expect to see in year 2008 in Helsinki? In the following I make a personal estimate on some possible trends.

In vitro diagnostic products industry has changed many rules of our game with their innovations and more seems to come. After analytical automation we got total laboratory automation and have recently began with point-of-care connectivity. New multi-disciplinary analytical platforms and software solutions to manage laboratory workflows will probably also be seen in the Helsinki Fair Centre. The recent reorganisations which have brought industrial giants like Siemens, General Electric and Procter & Gamble to different segments of the IVD market may later lead to even more groundbreaking changes in the longer term.

The Omics (genomics, proteinomics, glycomics, metabolomics...) revolution continues and we may see some of the focus moving back to proteins and sugar structures etc from the nucleic acids and simultaneously from research to clinical laboratories. Financial institutions realised at the verge of year 2000 that they desperately need the dusty old Cobol programmers to update their legacy systems

for the new Millennium and this story might soon can be adapted to experts of analytical chemistry of proteins, lipids etc.

Clinical interaction in terms of planning effective personalised therapies is a duty for tomorrow's laboratories¹. Making our educational forums meeting places for clinicians and laboratories is a challenge but we need to take it. Most of the time, implementation of new diagnostics is driven by innovations in patient care.

Unified Europe, invigorated Baltic states and strengthening Russia directly or indirectly affect the laboratories in Northern Europe. We may have different opinions on international networks when it comes to transporting patient samples and data but professional networks to facilitate increasing knowledge base are necessary to everyone. The aim of NFKK should be approaching the interfaces of our traditional geographical area without losing the Nordic focus.

Vi hoppas att en ny organisation inom Europeisk laboratoriemedicin, ECCLM, föds i Amsterdam år 2007. Omröstning om praktiska arrangemang har pågått under våren och när Europeiska kolleger strålar samman i juni kan vi förhoppningsvis börja med en ny och starkare bas för samarbete.

NFKK har sitt ordinarie styrelsemöte i Stockholm i mitten av April år 2007. Gällande aktuella aktiviteter har annonsen till en ny kurs i klinisk kommunikation nyligen distribuerats och fler nya projekt bedöms under kommande styrelsemöte. Samtidigt kan vi konstatera att vi fortfarande har lite resurser kvar i Nordfond för att stöda Nordiskt vetenskapligt samarbete. Organisationen vid NFKK är väldigt liten och lätt men vårt nätverk omfattar ett allt större område i Norra Europa. Vår struktur som baserar sig mera på sociala, historiska och idealistiska faktorer än på regler är ett betydelsefullt och balanserande exempel i ett allt mera juridikdominerade internationellt samarbete.

¹ Plebani M (2006). Research translation: a new frontier for clinical laboratories CCLM 44(11):1303-1312.



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

Ovanlig kurs för unga biokemister

Den 30 augusti till 2 september, 2007 ordnas en kurs för nordiska, blivande kliniska biokemister. Den heter "the PROFESSIONAL ROLE in a clinical chemistry laboratory". Kursen hålls på en segelskuta och kursarrangörerna hoppas på deltagare från alla nordiska länder. En besättning av erfarna sjömän medföljer, så man behöver inte vara segelkunnig för att delta.

Programmet skall ha fokus på de ickebiokemiska arbetsuppgifterna läkaren har på laboratoriet. Vi planerar fyra seminarier och två grupperbeten. Ämnen som kommer att behandlas är: Yrkesrollen förr, nu och i framtiden, Steget från specialistläge till överläge, Biokemisten som chef och Biokemisten som anställd av universitetet.

Eftersom kurserna är på en båt kommer det finnas gott om tid och möjlighet att i lugn och ro diskutera frågeställningar och utbyta erfarenheter med kollegor och lärare.

Lärare på kurserna är Palle Wang (Danmark), Ingunn Thorsteinsdottir (Island), Per Simonsson och Elvar Theodorsson (Sverige).

Erfarenheten från en liknande kurs 2005 är dessutom att det kan bli mycket trevligt och att maten aldrig smakar så bra som efter en dag på sjön. Deltagarna får en unik möjlighet att knyta kontakter med skandinaviska kollegor för framtida utbyte och samarbete.

Kurserna finansieras helt av Nordiska foreningen för Klinisk Kemi och tidskriften Klinisk Biokemi i Norden.

Intresseanmälan eller frågor skickas till mattias.aldrimer@ltdalarna.se



At rejse er at leve....

Klinisk Biokemi i Nordens rejsestipendium

Klinisk Biokemi i Norden oprettede sidste år et rejsestipendium på op til DKK 50.000,00. Formålet er at styrke klinisk biokemisk udvikling i Norden. Beløbet skal anvendes til rejse og ophold ved et laboratorium i udlandet mhp. at:

- lære nye analytiske teknikker at kende.
- fortsætte en del af sit forskningsprojekt i en periode på et fremmed laboratorium, som har særlig ekspertise på området.
- skabe kontakt mellem sit eget laboratorium og et *Center of Excellence* i udlandet.

Stipendiet kan søges af alle, der arbejder indenfor klinisk biokemi/kemi i de nordiske lande.

Ansøgningen skal indeholde:

- en kort beskrivelse af formålet med rejsen og opholdet.
- en bekræftelse fra lederen af laboratoriet i udlandet på, at man kan komme som gæsteforsker.
- et budget for opholdet.

Det forventes af modtageren af stipendiet, at hun/han skriver en artikel til Klinisk Biokemi i Norden om hvad der kom ud af rejsen.

I 2006 modtog Stein Bergan stipendiet og han skriver i dette nummer om Inosinmonofosfat-dehydrogenase, der kan anvendes om måleenzym ved vurdering af immunsuppression. Han studerede det under et ophold på Mayo-klinikken.

Ansøgningen sendes inden den 1. juni 2007 til:

Palle Wang
Klinisk Biokemi, Vejle Sygehus
Kabbeltoft 25, DK-7100 Vejle
E-post: palle.wang@vgs.regionssyddanmark.dk

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.

Inosinmonofosfat-dehydrogenase (IMPDH) -målenzym for immunsuppresjon og annen farmakoterapi

*Stein Bergan, Avdeling for Medisinsk Biokjemi, Rikshospitalet-Radiumhospitalet HF, Oslo.
E-post: stein.bergan@rikshospitalet.no*



Introduksjon

Interessen rundt enzymet inosinmonofosfat-dehydrogenase (IMPDH) er økende fordi legemidler som hemmer dette enzymet er aktuelle innen flere terapiområder, for eksempel i immunsuppresjon og ved antiviral behandling. Dessuten er man blitt oppmerksom på at endringer i enzymets regulering og funksjon kan være av betydning ved ulike sykdommer som eksempelvis kreft og retinitis pigmentosa.

Purinnukleotider kan syntetiseres fra bunnen av (de novo syntese) eller ved resirkulering av purinbaser som skissert i figur 1. Ulike celletyper har varierende kapasitet for disse omsetningsveiene. Lymfocyttene er relativt avhengige av nysyntese og er dermed spesielt følsomme for reduksjon i IMPDH-aktivitet -ihvertfall gjelder dette populasjoner i rask proliferasjon. Dette gir også grunnlag for en viss spesifisitet av legemidler som hemmer IMPDH.

I nysyntese av purinnukleotider deler omsetningsveiene seg ved IMP, og neste trinn mot henholdsvis AMP og GMP er noe regulert via tilbakekoblingsmekanismer. Med alle de kjente biokjemiske funksjoner hvor purinnukleotidene inngår, er det ikke overraskende at forskynninger i forholdet mellom GMP og AMP kan ha stor betydning for ulike cellers funksjon.

To isoenzymer av IMPDH, type 1 og type 2

Det finnes to isoenzymer av humant IMPDH; type 1 og type 2 består begge av 514 aminosyrer, med 84% sekvenshomologi. Genene for disse to isoenzymene er lokalisert til henholdsvis kromosom 7 og 3. Ekspresjonen av genene er ulikt regulert, og varierer mellom forskjellige celletyper. Mekanismene

for reguleringen er på langt nær avklart, og det er usikkert i hvilken grad disse isoenzymene kan overta hverandres funksjon.

Mykofenolat i immunsuppressiv behandling ved transplantasjon

Mykofenolatmofetil (MMF) er en prodrug som spaltes til mykofenosyre (MPA), som er en unkompetitiv, reversibel hemmer av IMPDH. Medikamentet har vært kjent lenge, men har i det siste tiåret fått en sentral plass i immunsuppressiv behandling. I de store multisenterstudiene som godkjenningen er basert på, ble mykofenolat gitt i faste doser, uten individuell tilpasning. Imidlertid fører slik dosering til ganske hyppig seponering. Etter hvert ble man klar over en rekke farmakokinetiske forhold som bidrar til individuell variasjon, og dermed et potensial for bedre resultat ved mer individualisert dosering. Måling av mykofenolatkonsentrasjonen i plasma umiddelbart før dose ("CO-måling") har imidlertid ikke svart til forventningene, og man har gått videre med to-tre målinger ved ulike tidspunkt innen doseintervallet for å kunne estimere arealet under plasmakonsentrationskurven (AUC). Dette er mer komplisert i praksis og har så langt vist brukbar korrelasjon til effekt i minst en prospektiv studie (1). Et problem ved denne type studier er også at andre immunsuppressiver i de vanligste kombinasjonsregimene påvirker farmakokinetikken for mykofenolat (2).

Det finnes flere alternative teorier til hva som er avgjørende mekanisme for immunsuppressiv effekt av mykofenolat. Imidlertid er det enighet om at alle de potensielt avgjørende effektene følger av at mykofenolat hemmer IMPDH, noe som har stimulert interessen for IMPDH også i transplantasjonssammenheng. Det er for eksempel nærliggende å foreslå at enzymaktiviteten av IMPDH kunne brukes for individualisering av mykofenolatbehandlingen.

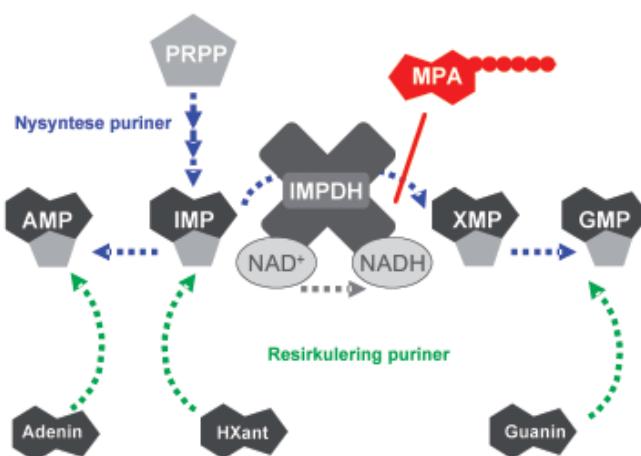
IMPDH-aktivitet hos transplanterte

Foruten hypotesen om at IMPDH-aktiviteten kunne brukes som monitoreringsparameter, vil det være nyttig å fremskaffe mer detaljert kunnskap om sammenhengen mellom mykofenolats farmakokinetikk og effektene på IMPDH, altså de farmakodynamiske effekter. Et slikt konsept er det generelt økende interesse for innenfor TDM-feltet (TDM: Therapeutic Drug Monitoring), dette sammenfattes gjerne under betegnelsen PK-PD (pharmacokinetics-pharmacodynamics) (3). Etter en del undersøkelser omkring mykofenolats farmakokinetikk, har vi fortsatt med undersøkelser av IMPDH-aktiviteten i fullblodlysat hos nyretransplanterte pasienter som ble behandlet med mykofenolat. Aktiviteten av IMPDH varierer umiddelbart og i overst forhold til plasmakonsentrasjonen av MPA i løpet av et doseintervall, se figur 2 (4). Enzymaktiviteten blir hemmet nærmere 90% når plasmakonsentrasjonen er på topp, mens aktiviteten er tilbake nær før-dose-verdien i en stor del av doseintervallet. Resultatene var fra pasienter som hadde stått på mykofenolat i måneder. I en annen gruppe pasienter fulgte vi MPA-konsentrasjon og IMPDH-aktivitet med gjentatte målinger fra før transplantasjon og i 8 uker etter. Dette var nullprøver, altså prøver tatt umiddelbart før morgendosen. I en oppsummering for de 29 pasientene, ser vi av figur 3 (4) hvordan median IMPDH-aktivitet avtok de første dagene for så å øke jevnt utover i forløpet til et nivå hvor medianen var fire ganger høyere enn utgangspunktet før transplantasjon. Spørsmålet er om myko-

fenolatbehandling faktisk kan indusere IMPDH-aktiviteten og dermed motvirke sin egen effekt, nemlig hemming av IMPDH? Hos pasienter som ikke fikk mykofenolat var det også en viss variasjon, men ikke noen systematisk tendens. I denne diskusjonen er analysemetoden viktig. Våre målinger av IMPDH-aktivitet ble gjort ved innkubering av fullblodlysat. Derved vil det sannsynligvis primært være erytrocytene IMPDH-aktivitet som reflekteres. Lignende undersøkelser fra andre grupper har vist noe motstridende resultater. I flere av studiene er mononukleære celler undersøkt spesifikt. En viktig innvending til disse, er at isoleringen av mononukleære celler er basert på gradientsentrifugering og flere vasketrinn. I en av publikasjonene ble det vist at denne prosedyren påvirket IMPDH-aktiviteten kraftig, sannsynligvis fordi den intracellulære konsentrasjonen av mykofenolat ble sterkt redusert. Dette problemet ble unngått med vår analyse av lysat, men da er spørsmålet om cellene (hovedsakelig erythrocytter), er relevante. Det er ønskelig å kunne utføre aktivitetsmåling i relevante celler uten å påvirke MPA. Derfor har vi utviklet og validert en ny metode basert på isolering med paramagnetiske kuler (5); denne metoden vil vi benytte i videre kartlegging av IMPDH-aktivitet.

Resultatene fra vår studie som er gjengitt i figurene 2 og 3 viste en mulig induksjon av IMPDH-aktiviteten, men tolkningen er usikker siden erythrocytter utgjorde den største cellepopulasjonen. Vi har tatt sikte på å avklare dette med en studie hvor vi undersøker endringen i ekspresjon av IMPDH. Til

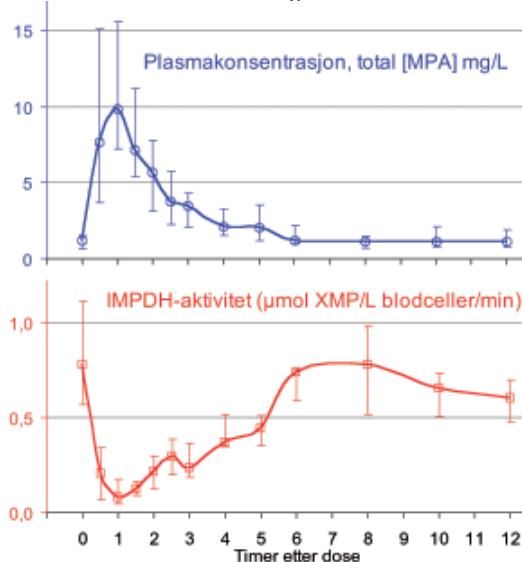
(Fortsætter side 12)



Purinomsetning, IMP-dehydrogenase og mykofenolat. Hovedtrekk i purinomsetningen: nysyntese fra PRPP (fosforibosylpyrofosfat) til IMP (inosimmonofosfat) foregår i flere enzymatiske trinn. Fra IMP dannes henholdsvis adeninnukleotider, her vist som AMP samt guaninnukleotider, her vist som GMP. Xantinmonofosfat (XMP) er produktet som dannes av IMP-dehydrogenase (IMPDH) ved samtidig reduksjon av NAD⁺ til NADH. Alternativ biokjemisk omsetningsvei er resirkulering av purinbaser (Hxant, hypoxantin) via enzymene adeninosforibosyltransferase og hypoxantin-guaninosforibosyltransferase til korresponderende nukleotider med mulighet for påfølgende interkonversjon. Mykofenolat (MPA) virker ved å hemme IMPDH.

(Fortsat fra side 11)

dette har vi utviklet en metode hvor ekspresjon av de to isoenzymene IMPDH1 og 2 bestemmes ved revers transkripsjon og sannlids PCR (Bremer et al; submitted manuscript). Vi har fulgt 30 nyretransplanterte med gjentatte prøver før transplantasjon og i to uker etter, og ekspresjonsanalysene ble utført parallelt i flere celletyper. I analyse av retikulocytter fant vi at ekspresjonen av *IMPDH2* falt de første dagene etter transplantasjon for deretter å øke jevnt utover i observasjonsperioden. Dette tilsvarte den endring som vi tidligere hadde observert for enzymaktiviteten i lysat av fullblod, selv om økningen ikke var like stor i dette kortere intervallet. For *IMPDH1* fant vi derimot en økning rett etter transplantasjonstidspunktet, deretter en flat kurve. En tilsvarende kurve ble observert for ekspresjon av *IMPDH1* i CD4-positive celler, og her hadde kurven for enzymaktiviteten en tilsvarende profil. For ekspresjon av *IMPDH2* i CD4-positive celler fant vi en relativt flat kurve. Foreløpig finnes ingen metode for å undersøke enzymaktiviteten for isoenzymene spesifikt, men våre funn kan tyde på at det er endringer i *IMPDH2* i retikulocytter -og dermed etter hvert i populasjonen av erythrocyter- som står for den endring i aktivitet som obser-



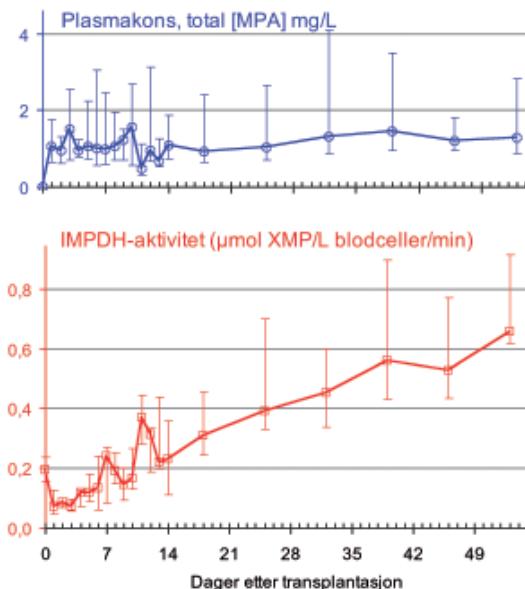
Mykofenolats farmakokinetikk og farmakodynamikk. Målinger innen doseintervall hos nyretransplanterte. Median og quartiler (vertikale linjer) for 20 doseintervall fra 11 pasienter (ett intervall ekskludert for IMPDH-aktivitet). Gjengivelse av data som publisert i ref 4, med tillatelse fra SJCLI.

veres i fullblodlysat. Tilsvarende kan det se ut som *IMPDH1* har betydning for endringen i CD4-positive celler, men dette er ikke like entydig. Et annet viktig funn i denne studien er at de høye dosene av steroider som gis omkring transplantasjonstidspunktet ser ut til å ha en relativt kraftig effekt på ekspresjonen av disse to isoenzymene, med økning for type 1 og reduksjon for type 2. I en tysk studie fant man at høy IMPDH-aktivitet før transplantasjon var en selvstendig risikofaktor for avstøtningsepisoder utover i forlopet, og at IMPDH-aktiviteten var spesielt lav før transplantasjon hos de pasienter som måtte redusere mykofenolatdosen (6). Slike resultater, sammenholdt med våre egne, viser at flere faktorer enn mykofenolatbehandlinga påvirker IMPDH-aktiviteten, og dette kan tas til inntekt for monitorering av enzymaktiviteten.

Monitorering av IMPDH ved transplantasjon ?

Dersom farmakodynamisk monitorering av mykofenolatbehandling med måling av IMPDH-aktivitet, skulle etableres, må man dokumentere hvilke celler som er relevante for slike målinger. Det ideelle ville antagelig være aktiverede lymfocytter, men det kan være vanskelig å gjennomføre i praksis. Lymfocytter generelt er et alternativ, eventuelt CD4+ celler som i noen av våre undersøkelser. Det kan også tenkes at fullblodaktiviteten er relevant, fordi den vil reflektere mengden av resirkulert guanin som vil være tilgjengelig for sirkulerende lymfocytter og eventuelle andre målceller. Det er også avgjørende å finne optimalt tidspunkt for prøvetaking. Dette kan synes banalt, men må sees i sammenheng med oppfatningen av hvordan mykofenolat påvirker IMPDH gjennom doseintervallet. Slike forhold må naturligvis undersøkes nærmere i klinisk sammenheng, først i retrospektive undersøkelser og tilslutt i prospektive intervensjonsstudier -dersom man vil definere et terapeutisk område for IMPDH-aktivitet som den individuelle mykofenolatdoseringen kan styres etter. For slike studier vil det være en fordel med en noe enklere analysemetode.

Kliniske studier for å dokumentere prinsippene for og nytten av farmakologisk monitorering er krevende og tar tid. Derfor er det vesentlig å ta fram mest mulig basalkunnskap om IMPDH, mekanismer for hemming, regulering av genuttrykk etc. Slik kunnskap vil være viktig dersom man etablerer monitoring av IMPDH, men det kan også gi ny kunnskap



Mykofenolats farmakokinetikk og farmakodynamikk. Målinger i 8 uker etter nyretransplantasjon. Median og kvartiler (vertikale linjer) pretransplant samt for hvert prøvetidspunkt de første 14 dager, deretter ukentlige medianer, for 29 nyretransplanterte. Mykofenolatkonsentrasjon og IMPDH-aktivitet målt i samme prove, tatt om morgenen før mykofenolat-dose. Gjengivelse av data som publisert i ref 4, med tillatelse fra SJCLI.

mer basalt innen farmakologi og biokjemi.

IMPDH relatert til andre sykdommer, struktur, mekanismer og regulering

Som nevnt er IMPDH et sentralt enzym med betydning også i helt andre sammenhenger enn i forbindelse med immunsuppressiv behandling ved transplantasjoner. Tidligere har det vært vanlig å omtale IMPDH som et enzym hvor man ikke ville finne mutasjoner som påvirket aktiviteten vesentlig fordi enzymets sentrale posisjon i biokjemien tilsier at slike mutasjoner ikke ville være forenlig med liv. Dette stemmer ikke helt. Nye metoder har også gjort det mulig å undersøke molekulære mekanismer for ulike interaksjoner med IMPDH, noe som har gitt interessante funn som er referert nedenfor.

IMPDH og retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa er den hyppigste arvelige årsaken til nedsatt syn og blindhet i den vestlige verden. Det er en sammensatt blanding av årsaker til syk-

dommen som etter hvert er blitt kartlagt, deriblant en rekke ulike genetiske varianter. Det er påvist at mutasjoner i *IMPDH1* forårsaker en autosomal dominant form (adRP) rubrisert som RP10. Man mener at mutasjoner i *IMPDH1* er årsaken hos 2% av de familiene som er rammet av adRP. De mutasjoner som er koblet til sykdommen ser ikke ut til å påvirke enzymaktiviteten. Dette passer med andre observasjoner som viser at *IMPDH2* og *HGPRT* ikke blir oppregulert og ikke kan kompensere for mutert *IMPDH1*.

IMPDH og kreft

Med sin antiproliferative virkning, er det ikke urimelig at mykofenolat også har vært undersøkt som mulig cytostatikum. I de senere år har det blitt utviklet andre IMPDH-hemmere som mulige cytostatika. Ett eksempel er tiazofurin som riktig nok ikke har nådd utbredt klinisk bruk, men utforskningsingen av medikamentet har bidratt til forståelsen av virkningsmekanismer relatert til IMPDH-hemming og ført til utvikling av nye potensielle cytostatika og antivirale midler med samme mekanisme. Spesielt har man vært opptatt av å få frem hemmere som kunne virke selektivt på ett av isoenzymene. I kreftsammenheng har man vært mest interessert i *IMPDH2* fordi dette synes å være oppregulert i maligne celler. Så langt har dette ikke ført fram til registrerte medikamenter, men denne forskning har ledet til andre observasjoner. Mitchells gruppe (7) har påvist intracellulære aggregater av IMPDH-protein som er dannet i nærvær av mykofenolat. Strukturene reverseres når mykofenolat fjernes, eller ved tilsetning av GTP, delvis også ATP, eventuelt forbehandling med guanosin. Forfatterne har lansert en teori om hvordan disse konformasjonsendringene er relatert til enzymaktiviteten.

Det er også knyttet andre interesser til IMPDH i kreftsammenheng. En gruppe ved Center for Cancer Research MIT, har nylig summert opp data som støtter teorien om at flere kreftformer kan oppstå som et resultat av mutasjoner i adulte stamceller (8). Her beskrives hvordan sirkulerende stamceller kan komme ut av kontroll og generere maligne kloner, en prosess som hindres av normalt fungerende p53. Forklaringen kan være at p53 holder IMPDH på normalt aktivitetsnivå i disse cellene. Dersom p53 ikke funksjonerer som det skal, for eksempel

(Fortsætter side 14)

(Fortsat fra side 13)

på grunn av mutasjoner, vil IMPDH-aktiviteten øke slik at cellene har nok GTP til å ekspandere (8). I hvilken grad denne teorien stemmer, er neppe avklart, men de refererte resultater demonstrerer igjen en sentral betydning av IMPDH.

IMPDH og antivirale midler

Ribavirin er et antiviralt legemiddel som har vært i bruk i flere tiår, og effekt mot en rekke virus er påvist. Klinisk brukes det hovedsakelig kombinert med interferon alfa, mot hepatitt C. Virkningsmekanismen er ikke klarlagt i detalj, men det er påvist at ribavirin hemmer IMPDH. Kombinasjonen av IMPDH-hemming med påfølgende reduksjon i guaninnukleotider og effekt på virale polymeraser kan forklare at ribavirin har et bredt antiviralt spekter -selv om ikke dette har vært mulig å utnytte fullt ut i klinisk bruk (9).

I behandling av HIV kombineres flere legemidler med ulike virkningsmekanismer. For å minimere toksisitet og resistensutvikling forsøkes også medikamenter som kombinerer antivirale og cytostatiske effekter, "virostatika". Bruk av mykofenolat og andre immunsuppressiver kan virke paradokslt ved HIV, men tanken er at man gjenopprettet immunfunksjonen ved å begrense proliferasjonen av CD4+ celler, siden disse er målceller for HIV. Hemming av IMPDH medfører redusert tilgang på deoksynukleotider som er essensielle for HIV reverstranskripsjon. Dette kan virke synergistisk med nukleosid reverstranskriptase-hemmere, dessuten er hemming av IMPDH sannsynligvis mindre sårbar for resistensutvikling (10).

Struktur og molekylære mekanismer

Tredimensjonal struktur av hamster-IMPDH i kombinasjon med mykofenolat ble beskrevet i 1996 (11). Senere har blant annet Colby et al. levert viktige bidrag til forståelsen av struktur-aktivitetsforhold for humant IMPDH2 (12). Spesielt i forskningen omkring IMPDH-relatert retinitis pigmentosa er det utført en rekke studier for å forklare mekanismene som gjør at visse mutasjoner i *IMPDH1* forårsaker en slik øyensykdom. Den noe overraskende konklusjon så langt, er at mutasjonene som er assosiert med sykdommen ikke ser ut til å påvirke aktiviteten av enzymet eller dannelsen av tetramerstrukturen som ser ut til å være en betingelse for aktivitet.

Alternative forklaringer er at IMPDH har en evne til å binde visse oligonukleotider som enkelttråder, og at denne evnen kan være redusert ved de aktuelle mutasjonene (13). Hittil er det imidlertid ikke vist hvilken funksjon denne bindingen av nukleinsyrer normalt skal ivareta.

Karakterisering av mekanismene for hemming av IMPDH har særlig kommet fra studier med det formål å finne fram til nye legemidler som kan hemme IMPDH, fortinnsvis med spesifisitet for IMPDH2. Mykofenolat er en unkompetitiv hemmer som binder seg til komplekset av XMP (enzymreaksjonens produkt) og enzym og løser dette komplekset på en slik måte at enzymet blokkeres. Bindingen skjer antagelig i grenseområdet mellom to av enhetene i IMPDH-homotetramer, der hvor NAD ellers bindes (12,14). Lignende mekanisme er foreslått for binding av en metabolitt av tiazofurin, mens andre IMPDH-hemmere -som mizoribin og ribavirintrifosfat, konkurrerer med substratet IMP om binding til enzymet. Nylig er det publisert arbeid med syntese av indolderivater hvor man finner potensial for mer selektiv hemming av IMPDH2 (15).

Oppsummering

Inosinmonofosfat-dehydrogenase er et av nøkkelenzymene i omsetningen av puriner. De to humane isoenzymene IMPDH1 og 2 er knyttet til ulike sykdommer som retinitis pigmentosa og kreft, og fungerer dessuten som angrepspunkt for legemidler med antiproliferative egenskaper. Dette gjelder etablert behandling innen immunsuppresjon ved transplantasjoner og autoimmune sykdommer, antiviral terapi samt legemidler med potensial i kreftbehandling. Ved organtransplantasjon er IMPDH identifisert som målenzym for behandling med mykofenolat, og prinsipper for individualisert dosering basert på farmakodynamisk monitorering ved måling av IMPDH-aktivitet er under utvikling. Fornyet interesse og forskning omkring IMPDH med disse ulike utgangspunkt har økt kunnskapen om sykdomsmekanismer og legemiddeleffekter relatert til dette enzymet.

Takk

-til stipendiatene Randeep Mandla, Nils Tore Vethe og Sara Bremer samt overlege Helge Rootwelt, for hjelp med utarbeidelse av denne artikkelen; -og takk til *Klinisk Biokemi i Norden* for reisestipend.

Referanser

1. Le Meur Y, et al. Therapeutic drug monitoring of MMF: A randomized multicenter study comparing concentration controlled versus fixed dose in kidney transplant recipients (World Transplant Congress 2006 Oral Abstracts). *Am J Transplant* 2006;6:343-4.
 2. Mandla R, Midtvedt K, Line PD, Hartmann A, Bergan S. Mycophenolic acid clinical pharmacokinetics influenced by a cyclosporine C2 based immunosuppressive regimen in renal allograft recipients. *Transpl Int* 2006;19:44-53.
 3. Burkhardt C, Heusser C, Morris RE, Rauf F, et al. Pharmacodynamics in the development of new immunosuppressive drugs. *Ther Drug Monit* 2004;26:588-92.
 4. Vethe NT, Mandla R, Line PD, Midtvedt K, Hartmann A, Bergan S. Inosine monophosphate dehydrogenase activity in renal allograft recipients during mycophenolate treatment. *Scand J Clin Lab Invest* 2006;66:31-44.
 5. Vethe NT, Bergan S. Determination of inosine monophosphate dehydrogenase activity in human CD4+ cells isolated from whole blood during mycophenolic acid therapy. *Ther Drug Monit* 2006;28:608-13.
 6. Glander P, Hambach P, Braun KP, Fritsche L, et al. Pre-transplant inosine monophosphate dehydrogenase activity is associated with clinical outcome after renal transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:2045-51.
 7. Ji Y, Gu J, Makhov AM, Griffith JD, Mitchell BS. Regulation of the interaction of inosine monophosphate dehydrogenase with mycophenolic acid by GTP. *J Biol Chem* 2005.
 8. Rambhatla L, Ram-Mohan S, Cheng JJ, Sherley JL. Immortal DNA strand cosegregation requires p53/IMPDH-dependent asymmetric self-renewal associated with adult stem cells. *Cancer Res* 2005;65:3155-61.
 9. Parker WB. Metabolism and antiviral activity of ribavirin. *Virus Res* 2005;107:165-71.
 10. Kelly LM, Lisziewicz J, Lori F. "Virostatics" as a potential new class of HIV drugs. *Curr Pharm Des* 2004;10:4103-20.
 11. Sintchak MD, Fleming MA, Futer O, Raybuck SA, et al. Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell* 1996;85:921-30.
 12. Colby TD, Vanderveen K, Strickler MD, Markham GD, Goldstein BM. Crystal structure of human type II inosine monophosphate dehydrogenase: implications for ligand binding and drug design. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3531-6.
 13. Bowne SJ, Sullivan LS, Mortimer SE, Hedstrom L, et al. Spectrum and frequency of mutations in IMPDH1 associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa and leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:34-42.
 14. Gan L, Seyedsayamost MR, Shuto S, Matsuda A, et al. The immunosuppressive agent mizoribine monophosphate forms a transition state analogue complex with inosine monophosphate dehydrogenase. *Biochemistry* 2003;42:857-63.
 15. Beevers RE, Buckley GM, Davies N, Fraser JL, et al. Novel indole inhibitors of IMPDH from fragments: synthesis and initial structure-activity relationships. *Bioorg Med Chem Lett* 2006;16:2539-42.
- Forsiden:** Human type II IMPDH tetramer with bound dinucleotide analogue SAD (circled, red) and substrate analogue 6-C1-IMP (circled, green). The dinucleotide binds at the monomer-monomer interface (dotted lines). The following structures are illustrated: catalytic b-barrel domain (blue), flanking domain (magenta), active site loop (yellow) and active site flap fragments (white).
- 6-C1-IMP, 6-chloropurine riboside 5'-monophosphate; SAD, selenazole-4-carboxamide adenine dinucleotide (ref. 12).
- © 1999, National Academy of Sciences, USA.

Værd at vide

Diagnose af vitamin B12 mangel

Jolanta Klovaitė,

Klinisk biokemisk afdeling, Rigshospitalet, København.

E-post: jolanta.klovaitė@rh.hosp.dk

Vejleder: Ebba Nexø, Klinisk biokemisk afdeling, Århus Sygehus,



Megaloblastær knoglemarv, lavt serum cobalamin og abnorm Schilling test er resultater, der signalerer vitamin B12 mangel. Men i dag overvejes diagnosen vitamin B12 mangel også hos en lang række personer som ikke opfylder disse kriterier.

Igennem de sidste årtier er der udviklet en række supplerende analyser, såsom undersøgelse af de metabolitter, der ophobes når vitamin B12 mangler, methylmalonsyre og homocystein og analyse af den del af vitamin B12 der er tilgængelig for cellerne, holotranscobalamin (holoTC).

På baggrund af en kort gennemgang af vitamin B12's optagelse og udnyttelse i kroppen præsenteres den diagnostiske strategi, der i dag anvendes ved udredning af patienter med vitamin B12 mangel ved Århus Universitetshospital.

Baggrund

Vitamin B12 (det kemiske navn er cyanocobalamin) er nødvendig for at vedligeholde normal myelinisering af nervevæv og for opretholdelse af en normoblastær hæmopoiese (1,2).

Vitaminet er vandopløseligt og skal tilføres med kosten, og kun fødevarer af animalsk oprindelse indeholder vitamin B12. Det daglige behov er 2-6 µg. Vitaminet frigøres fra føden ved enzymfordøjelse i ventriklen og duodenum og bindes til intrinsic factor (IF), et glycoprotein secerneret af ventriklens parietalceller. IF-B12 komplekset absorberes distalt i ileum via specifikke receptorer (3).

Fra tarmepitelet frigøres cobalamin til blodet, hvor det bindes til to proteiner: transkobalamin (TC) og

haptocorrin (HC). Der findes under normale forhold ikke frit cobalamin i blodet. TC binder 20-30 % af det cirkulerende cobalamin (holo-TC) og sikrer transporten til kroppens celler. Resten af det cirkulerende cobalamin (biologisk inaktivt) er bundet til HC (holo HC). En af teorierne vedrørende funktionen af dette protein er, at det fjerner inaktivt cobalamin via metabolisering i leveren og udskillelse med galden (3,4,5).

Cobalamin er coenzym ved omdannelse af homocystein til metionin og ved omdannelsen af methylmalonyl-CoA til succinyl-CoA. Mangel af celletilgængelige, aktive vitamin B12-former forårsager derfor ophobning af methylmalonat og homocystein (1,2,3).

Cobalaminmangel udvikler sig over flere år. Et stort depot i lever og nyrer er antageligt forklaringen på, at tilstanden udvikles så langsomt (2,6).

Hvem skal mistænkes for vitamin B12 mangel?

Cobalaminmangel kan ses i alle aldersgrupper, men først og fremmest skal tilstanden mistænkes hos ældre mennesker, hvor deficit af vitamin B12 og folater er udbredt. Afhængig af hvordan man definerer vitamin B12 mangel, er prævalens hos ældre over 65 år 10-25% (1,2).

De klassiske symptomer i form macrocytær anæmi, paræstesier og glossitis er ikke altid til stede. Cobalaminmangel skal overvejes hos alle patienter med uforklaret anæmi eller pancytopeni, uforklarede neuropsykiatriske symptomer, som neuropati, ataksi, demens, hukommelsesforstyrrelse, depression, psykose, n. opticus neuritis. Det er uvist hvorfor nogle patienter udvikler hæmatologiske problemer, mens andre har tendens til neurologisk dysfunktion.

Desuden bør vitaminmangel udelukkes hos patienter med sygdomme i mave-tarmkanalen, alkoholisme,

hos veganere og hos patienter med nedsat fertilitet. En del patienter med AIDS udvikler også mangeltilstand. Desuden er visse autoimmune sygdomme er associeret med pernicioøs anæmi (2,3).

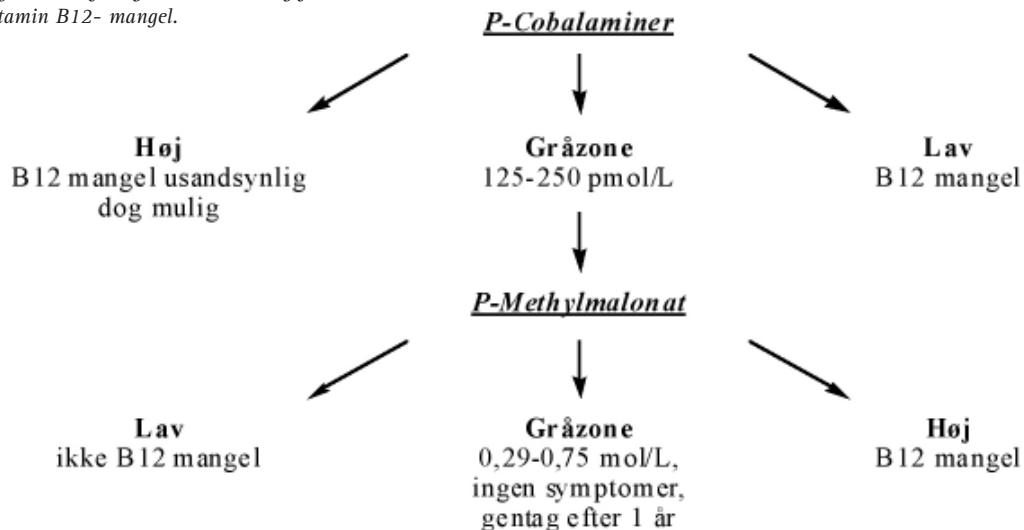
Hos børn har vitamin B12 deficit en anderledes ætiologi og klinisk manifestation og udvikles først og fremmest hos spædbørn med mødre der har pernicioøs anæmi eller kostinsufficiens. Sjældnere er medfødt forstyrrelse i cobalaminomsætningen eller mangel på transcobalamin. Ved neurologiske symptomer og nedsat trivsel eventuelt kombineret med anæmi (1,17) skal vitamin B12-mangel mistænkes i denne aldersgruppe.

Hvad tilbyder de klinisk biokemiske afdelinger ved Århus Universitetshospital ved udredning af vitamin B12-mangel

Ved formodning om vitamin B12-mangel anvendes P-Cobalaminer som primær analyse og der suppleres med P-Methylmalonat, hvis P-Cobalaminer er i gråzon. Måling af P-Homocystein kan udføres, men anvendes almindeligvis ikke ved udredning af patienter mistænkt for vitamin B12-mangel (Fig.1) (8).

Laboratorierne har etableret en analyse *Pt-B12-mangel (diagnostik)*. Når denne undersøgelse rekvireres, vil P-Cobalaminer bliver analyseret. Er P-Cobalaminer i gråzoneområdet, måles P-Methylmalonat (P-MMA). Dvs. der kræves kun en rekvizition og en prøvetagning.

Fig. 1. Anbefalinger ved udredning for vitamin B12- mangel.



Undertiden giver tolkningen af de indledende resultater problemer. I disse tilfælde kan der suppleres med en række analyser. Vi har i Tabel 1. samlet de analyser vi anvender – og udbyder – ved Århus Universitetshospital. De enkelte analyser omtales kort i det følgende.

P-Cobalaminer er summen af cobalamin bundet til TC og HC. Referenceintervalet for P-Cobalaminer er afhængig af den anvendte analysemetode, men stort set uafhængig af køn og alder. Nedsat cobalamin uden cobalaminmangel ses ved østrogenterapi, fx p-piller og under graviditet. Ved termin kan niveauet af P-Cobalaminer være halveret.

P-Cobalaminer værdier vel under referenceintervallets nedre grænse er næsten altid ensbetydende med vitamin B12 mangel, medens et resultat i "gråzoneområdet" sjældent kan tolkes alene.

Forhøjet niveau af cobalamin ses ganske ofte, og ikke blot fordi prøven er udtaget på en patient, der i behandling med vitamin B12. Den kliniske årsag til dette er kun fuldstændigt belyst og det samme gælder den kliniske betydning. Kendte årsager er kroniske myeloproliferative tilstande, andre maligne sygdomme, leveresygdomme og nyreinsufficiens (9,10). Denne patientgruppe vil på trods af det høje P-Cobalaminer kunne udvikle vitamin B12-mangel, hvor en af antagelserne vedrørende dette fænomen

(Fortsætter side 18)

(Fortsat fra side 17)

Analyse	Øget	Nedsat	Bemærkninger
P-Cobalaminer	Behandling med vit. B12 præparerter. Ved visse tumorer, lever og nyre sygdomme. Autoantistoffer mod TC eller -HC.	Cobalamin mangel, i slutningen af graviditeten, østrogenterapi, nedsat HC(sjældent).	Måler summen af cobalamin bundet til TC og HC. Bestemmes ved kompetitiv protein bindings-metode. Metodemæssige forskelle gør at der kan være variation i referenceintervallet.
P-Methylmalonat	Cobalaminmangel, nedsat nyrefunktion, medfødt defekt (sjældent).	Behandling med antibiotika.	Anbefalet som supplerende analyse til P-Cobalaminer. Bestemmes ved GC/MS.
P-Homocystein	Folat mangel, cobalaminmangel, vit. B6 mangel, nyresygdomme, MTHF polymorfi,medfødt defekt (sjældent).		Anvendes primært som risikomarkør for hjerte-kar sygdomme. Kan anvendes ved primær screening for vitamin mangel. Bestemmes ved GC/MS, HPLC eller ELISA
holo-TC	Se P-Cobalaminer	Tidlig markør for vitamin B12 mangel	Ny analyse. Endnu ikke i rutine brug. Vil muligvis erstatte P-Cobalaminer. Kan anvendes til vurdering af cobalamin absorption. ELISA metode.
Total TC	Makrofag aktiverende tilstand, autoantistoffer mod TC	Medfødt mangel	Ny analyse. Anvendes først og fremmest ved udredning af børn mistænkt for transcobalamin mangel. ELISA metode
holo-HC			Forskningsanalyse. Ingen klinisk relevans. ELISA metode.
Total HC	Leukemier, myeloproliferative sygdomme, hypereosinofilt syndrom, visse tumorer, nyre insufficiens.	Vitamin B12 mangel. Medfødt (sjældent)	Ny analyse. Anvendes ved udredning af patienter med uforklarelige værdier af P-Cobalaminer. ELISA metode
anti - IF	Perniciøs anæmi.		Ny analyse. Autoantistoffer (type I og type II) mod intrinsic faktor. Ca. 50% af pt. med perniciøs anæmi har anti-IF. Ses bogstaveligtalt ikke hos andre. ELISA metode.

Tabel 1. Tilgængelige klinisk-biokemiske analyser til vurdering af vitamin B12 status .

er at cobalamin cirkulerer i blodet bundet til HC eller andre proteiner, som kunne være produceret af maligne celler, og derfor er vitaminet biologisk ikke tilgængelig. Herudover udvikler patienter med myeloproliferative sygdomme, især polycytæmia vera, hyppigere end resten af befolkningen gastrointestinale sygdomme og de er mere modtagelige for H. pylori infektion (11).

P-Methylmalonat (MMA) ophobes når vitamin B12 mangler. Patienter med vitamin B12-mangel vil stort set altid have et øget niveau af MMA. Men analysens specificitet kan diskuteres. Man ved at en nedsat nyrefunktion giver anledning til forhøjet MMA, og det er velbeskrevet at et let forhøjet niveau af MMA ikke nødvendigvis tyder på vitamin B12 mangel (7). En MMA koncentration vel over

referenceintervallets øvre grænse ($>0.75 \text{ } \mu\text{mol/L}$) vil med stor sandsynlighed være ensbetydende med vitamin B12-mangel hos patienter, der ikke har nyresygdomme og en MMA værdi $<0.28 \text{ } \mu\text{mol/L}$ udelukker med stor sandsynlighed vitamin B12-mangel (3,8).

P-Homocystein. Homocystein ophobes når vitamin B12 mangler, men er også forøget hvis folat eller vitamin B6 mangler. Anvendeligheden af P-Homocystien til diagnose af vitamin B12 mangel er diskuteret. Nogle mener ikke der er behov for at analysere både MMA og homocystein med henblik på at diagnosticere vitamin B12-mangel. Andre har foreslået at P-Homocystein anvendes som den indledende screeningsparameter og at P-Cobalaminer og P-Folat herefter analyseres hos patienter med P-Homocystein $> 15 \text{ } \mu\text{mol/L}$. Som MMA vil homocystein være forhøjet ved nyresygdomme og som ved MMA er der ikke enighed om, hvordan et let forhøjet niveau af homocystein skal fortolkes (3,8,12).

Holo TC. Det har for nyligt vist sig at holo TC er en bedre tidlig markør for cobalamin status, deficit og absorption, end P-Cobalaminer. Holo TC indeholder kun biologisk aktiv cobalamin og afspejler ikke vitaminets akkumulation. Nuværende metoder er ikke tilgængelig i rutine endnu pga. sin kompleksitet. Desuden mangler det studium, som vil give mere sufficient vurdering af holo TC anvendelighed i klinisk praksis (4,5,13,14,15,16).

Total TC. Analysen er ligeledes nyudviklet og anvendes mest for diagnosticering af medfødt TC mangel (17,18,19).

Total HC. Analysen er nyudviklet, men kan være til hjælp ved tolkning af uforklarlige værdier af P-Cobalaminer. Rollen af HC i vitamin B12 metabolismen er ikke aklaret, men der er påvist tæt relation mellem total HC og cobalamin koncentration i plasma (20). Medfødt mangel af HC er ikke forbundet med symptomer eller metaboliske forstyrrelse, fravært et fald i P-Cobalaminer, der er uden betydning.

Anti-IF. En ny analyse for antistoffer mod intrinsic factor er blevet udviklet (21). Forekomst af disse antistoffer er diagnostisk for perniciøs anæmi, men

kun hos halvdelen af patienter med denne sygdom påvises anti-IF (lav sensitivitet). Specificiteten er høj ($>95\%$).

Schillings test. I mange år blev undersøgelsen anvendt til bedømmelse af vitamin B12 absorption. Analysen anvendes i dag sjældent, fordi IF i de fleste lander er fjernet fra markedet og fordi radioaktivt mærket vitamin ikke mere accepteres i diagnostiske undersøgelser. Aktuelt arbejdes der på udvikling af en ny test, som sandsynligvis vil erstatte Schillings test. Det drejer sig om måling af holo TC koncentration i plasma før og efter peroral indgift af vitamin B12. Testen forventes udviklet med brug af human recombinant IF produceret i Arabidopsis thaliana (22,23).

Andre analyser. P-Gastrin, P-Pepsinogen og antistoffer mod parietalceller kan anvendes ved diagnosticering af gastrisk atrofi, hvor dog endoskopি med fordel kan benyttes. Disse parametre anvendes ikke meget i Danmark, men har en vis udbredelse i Sverige (6).

Konklusion

Vitamin B12 mangel er udbredt tilstand med ukarakteristiske symptomer, hvor tidlig diagnostik er afgørende pga. sygdommens latente natur og risiko for irreversible neurologiske skader. I dag findes der ikke generelt anerkendte retningslinier for definition samt diagnose af cobalaminefficit mest pga. manglende relation mellem symptomer og plasmakoncentration af de biokemiske markører. Desuden har de hidtil anvendte laboratorieanalyser betydelige begrænsninger. P-Cobalaminer kan ikke alene pålideligt udelukke vitamin B12 mangel. Øget P-MMA og P-tHcy er sensitive metaboliske markører for cobalaminefficit, men deres specificitet er tvivlsom.

Inden for de sidste år er der opsamlet viden, som tyder på at holo TC er bedre end P-Cobalaminer som diagnostisk parameter for vitamin B12 mangel. HoloTC forventes også at kunne anvendes i en ny vitamin B12 absorptions test, der kan blive et alternativ til Schillings test. På nuværende tidspunkt må det imidlertid fortsat anbefales at anvende P-Cobalaminer som primæranalyse suppleret med P-Methylmalonat, hvis P-Cobalaminer er i gråzonan.

(Fortsætter side 20)

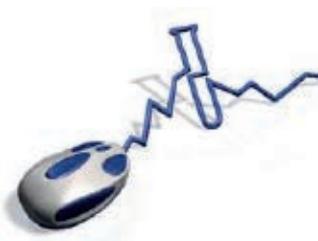
Litteratur:

1. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000; 51:357-375.
2. Andrès E, Loukili HN, Noel E et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004; 171:251-259.
3. Nexø E. Vitamin B12-mangel. *Medicinsk årbog* 1999.
4. Carmel R. Measuring and interpreting holo-Transcobalamin (holo-Transcobalamin II). *Clinical Chemistry* 2002; 48:3.
5. Lloyd-Wright Z, Hvas AM, Møller J, Sanders TAB, Nexø E. Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clinical Chemistry* 2003; 49:2.
6. Schneede J, Ueland PM. Novel and established markers of cobalamin deficiency: complementary or exclusive diagnostic strategies. Review. *Semin Vasc Med* 2005; 5:140-155.
7. Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Vitamin B12 treatment normalizes metabolic markers but has limited clinical effect: a randomized placebo-controlled study. *Clinical Chemistry* 2001; 47:8.
8. Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Diagnostik af vitamin B12-mangel - tid til eftertanke. *Ugeskr Læger* 2003; 165:19.
9. Ermens AAM., Vlasveld LT, Lindemans J. Significance of elevated cobalamin (vitamin B12) levels in blood. *Clinical Biochemistry* 2003; 36:585-590.
10. Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High serum cobalamin levels in the clinical setting – clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haem* 2001; 23:365-371.
11. Torgano G, Mandelli K, Massaro P, Abbiati C et al. Gastroduodenal lesions in polycythaemia vera: frequency and role of *Helicobacter pylori*. *British Journal of Haematology* 2002; 117:198-202.
12. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, Johnston C, Engbaek F, Schneede J, McPartlin C, Scott JM. Facts recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical Chemistry* 2004; 50:3-32.
13. Hvas AM, Nexø E. Holotranscobalamin - a first choice assay for diagnosing early vitamin B12 deficiency? *Journal of Internal Medicine* 2005; 257: 289-298.
14. Morkbak AL, Heimdal RM, Emmens K, Molloy A, Hvas AM, Schneede J, Clarke R, Scott JM, Ueland PM, Nexø E. Evaluation of the technical performance of novel holotranscobalamin (holoTC) assays in a multicenter European demonstration project. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(10):1058-64.
15. Chen X, Remacha AF, Sarda MP, Carmel R. Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(1):110-4.
16. Nexø E, Hvas AM, Bleie Ø, Refsum H, Fedosov NS, Vollset SE, Schneede J, Nordrehaug JE, Ueland PM, Nygård OK. Holo-Transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clinical Chemistry* 2002; 48:1768-1771.
17. Fowler B. Genetic defects of folate and cobalamin metabolism. *Eur J of Pediatr* 1998; 157:S60-S66.
18. Bor MV, Nexø E, Hvas AM. Holo-transcobalamin concentration and transcobalamin saturation reflect recent vitamin B12 absorption better than does serum vitamin B12. *Clin Chem* 2004; 50(6):1043-9.
19. Refsum H, Johnston C, Guttormsen AB, Nexø E. Holotranscobalamin and total transcobalamin in human plasma: determination, determinants, and reference values in healthy adults. *Clin Chem* 2006; 52(1):129-37.
20. Morkbak AL, Hvas AM, Lloyd-Wright Z, Sanders TA, Bleie O, Refsum H, Nygaard OK, Nexø E. Effect of vitamin B12 treatment on haptocorrin. *Clin Chem* 2006; 52(6):1104-11.
21. Nexø E, Nooroya B, Hvas AM, Christensen AL, Waters H. Autoantibodies against intrinsic factor (IF) measured with an ELISA using recombinant human IF as both catching and detecting reagent. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(4):351-6.
22. Bor MV, Cetin M, Aytac S, Altay C, Nexø E. Nonradioactive vitamin B12 absorption test evaluated in controls and in patients with inherited malabsorption of vitamin B12. *Clin Chem* 2005; 51(11):2151-5.
23. Hvas AM, Buhl H, Laursen NB, Hesse B, Berglund L, Nexø E. The effect of recombinant human intrinsic factor on the uptake of vitamin B12 in patients with evident vitamin B12 deficiency. *Haematologica* 2006; 91(6):805-8.

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 ge
Reag**

A



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 Di
Scandinav
SE-161 26
tel +46 8



Generation of Modularity
Intelligent – no manual handling
Always more than one solution
Online Update & information



cobas 6000

Rapport om pågående projekt: Hur styra labmedicin för effektivitet och utveckling?

Per Simonsson, Lena Dillner, Göran Landberg, Gert-Ove Gren,

Sven Rydmarker, Jan Eric Andersson

Laboratoriemedicin UMAS, Universitetssjukhuset MAS, Malmö, Sverige.

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

Det är rätt märkligt att modellerna för ekonomisk styrning inte utvecklats mer för sjukvården, en bransch som är en av de största i vår värld, med en andel av BNP som närmare sig 10 %. Att det därtill rör sig om en essentiell tjänst till skattebetalande medborgare gör det än mer förunderligt. I ett projekt vid Universitetssjukhuset i Malmö har en ny modell för ekonomisk styrning testats med lovande resultat.

Om sjukvårdens ekonomi är oklar så är de ekonomiska spelreglerna för företag tydligare. De ligger i företagets natur; målet är att maximera ägarnas vinster, något som kan göras på olika sätt. Det är relativt lätt att styra ekonomin, i vart fall i teorin. Inom sjukvården är spelreglerna diffusare, och inte speciellt effektiva, speciellt inte om man vill styra verksamheten. En effektiv labmedicin får inte mer resurser än en ineffektiv, snarare kan det vara precis tvärt om: det kostnadseffektiva laboratoriet straffas genom neddragna resurser. Det finns helt enkelt dåliga ekonomiska incitament, d.v.s. motivation och drivkrafter, för ett göra kostnadseffektiv labmedicin.

Behov av bättre spelregler

Budgetstyrning utgör den allt överskuggande principen inom offentlig sjukvård. En central enhet tilldelar, ofta efter ostrukturerad förhandling, varje klinik en viss mängd resurser att förfoga över. Räcker pengarna och det blir ett överskott tar den centrala nivån tillbaka överskottet, oftast för att täcka ständiga underskott någon annanstans i sjukvårdssystemet. Blir det underskott får chefen en tillsägelse, men kan ofta fortsätta sin verksamhet,

kanske till och med få extra tillskott. För det visade ju sig tydligt att medlen inte räckte.

Att kunna styra en klinik på detta sätt är svårt. Att utveckla en verksamhet under sådana premisser är ännu svårare. I princip belönas snålhet, bristande utveckling, dålig service och allmänt stagneras kvalitetsutveckling. Att jobba för en långsiktig effektivisering, som kan ta tid att genomföra, premieras inte. Inte heller att satsa på nya analyser och tjänster som kan kostnadseffektivisera andra delar av sjukvårdskolossen.

Hur förbättra incitament?

Incitament behövs för att vi skall göra något. Belöningssystem krävs för att stimulera en verksamhet att jobba mot etablerade mål. Inom labmedicinen har vi många icke-monetära incitament. Det är dem som håller oss i gång och driver på. Vi vill ge god diagnostik och uppföljning. Vi vill förbättra för läkare och patienter. Vi vill driva utveckling och få fram nya forskningsresultat, till gagn både för forskaren och patienten. Vi är helt enkelt goda och tämligen altruistiska läkare.

Men Hippokrates ed i all ära, vi driver i realiteten ofta stora dotterföretag inom en ekonomiskt mycket pressad koncern. Det behövs mer än människokärlek för att hushålla på hållbart sätt. Detta har diskuterats länge och frustrationerna har ofta varit höga bland oss chefer, och bland de chefer som skall leda oss ute i diagnostiken.

Resultatenheter är en metod för styrning

Intäktsstyrda resultatenheter har blivit en vanlig modell i Sverige. Det innebär att varje klinik och lab fungerar som ett internt företag som säljer och köper tjänster till i huvudsak koncernens egna delar.

Det är en god modell som bidragit till större flexibilitet. Nya analyser kan sättas upp, om köparen är beredd att betala för dem, och om de har medel för det, t ex genom att dra ner på kostnaderna för andra tjänster. Men incitamentet att sköta ekonomin så det blir ekonomiskt plus på slutet har saknats. Eventuella överskott har dragits in. Så varför anstränga sig?

Projekt i samarbete med Handelshögskolan i Stockholm

Sjukhusledningen i Malmö beslöt 2004 sedan att ta sig an problemet och sökte då hjälp av ekonomiforskarna Per Arvidsson och Lars A Samuelsson vid Handelshögskolan i Stockholm. Per Arvidsson har sedan också skrivit projektets rapport.

Det visade sig att det inte fanns mycket internationell erfarenhet av liknande projekt inom sjukvården. Antingen drivs vården som vinstgivande företag eller som offentlig budgetstyrda verksamhet. Ett projekt startade därför med deltagare både från några kliniska enheter och från Laboratoriemedicin UMAS.

Principerna i systemet

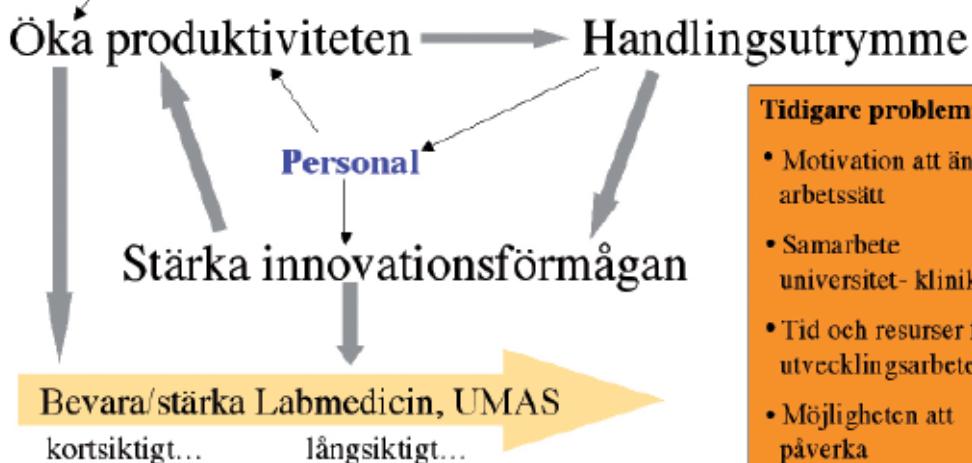
Målet är att ta fram monetära drivkrafter och incitament för kostnadseffektivitet (Se figur 1). Principen är att en viss del av skapat ekonomiskt överskott skall återgå till kliniken som ett incitament. Samtidigt skall denna drivkraft inte få innebär en alltför stor sparnit som kan skada kvalitet, service och utveckling. Men målet under första året är primärt ekonomiskt. Hur premiera att vi blir mer rationella inom labmedicin, utan att dra ner på service och utveckling?

Det är viktigt att inte bara ekonomiska faktorer lyfts in i ekonomistyrning. För varje klinik ställs det därför icke-ekonomiska krav för att få del av eventuellt överskott. Hälften av kraven var 2005 ekonomiska för det var just ekonomin vi ville förbättra för att skapa ett ekonomiskt handlingsutrymme för framtida utveckling. Men 30 % var krav som berörde kvaliteten på den service vi ger sjukvården och 20 % var krav på fortsatt utveckling av våra verksamheten. Kraven för Klinisk kemi finns i Tabell 1.

(Fortsätter side 26)

Fig 1:Incitamentprojektets principer

Relatera till nationell standard och kvalitet



(Fortsat fra side 25)

Uppföljningsvariabel	2004	Mål 2005	Poäng
Personalkostnad/produktionsvärde	0,43	0,41	10
Personalkostnad per analys, specialkemi	31,32	30,0	12
Personalkostnad per analys, allmänkemi	5,25	5,00	12
Materialkostnad per analys, specialkemi	21,08	20,9	8
Materialkostnad per analys, allmänkemi	2,88	2,80	8
Andel akutanalyser som har en processtid understigande 60 minuter	94%	95%	15
Andel patienter för provtagning som får vänta längst 30 minuter	95%	95%	15
Antal nya analyser och förändrade analysmetoder	5	4	10
Antal slutförda utvecklingsprojekt	5	4	10

Tabell 1: Krav på Klinisk kemi för att få del av genererat ekonomiskt överskott. Minst 75 av 100 poäng måste uppnås. Poängen sattes utifrån hur stor prioritet vi ville ha på olika aspekter. 2005 lades fokus på effektivitet och dessa parametrar fick 50 av totalt 100 poäng.

Det finns inga personliga incitament i systemet. Ingen kan få lönebonus eller extra förmåner utifrån det ekonomiska resultatet. Projektet bygger i stället på att stimulera en hel organisation att handla i en viss riktning.

Praktiska riktlinjer togs fram

Grundregeln är att 50 % av genererat överskott skall återgå till den enhet som skapat överskottet. Labmedicin UMAS består av tre självständiga resultatenheterna men kravet var att divisionens samlade resultat skall vara positivt. Av dessa medel förblir 50 % en gemensam förstärkning och resten fördelas till resultatenheterna utifrån hur mycket de bidragit till överskottet. Resurserna skall användas till engångsinsatser, t ex nya projekt och förbättringar, under nästkommande år. För att stimulera och följa upp följdes de olika nyckeltalen upp kontinuerligt under året.

Vad blev effekterna?

2005 genererade Labmedicin UMAS ett överskott på cirka 10 miljoner kronor. Detta överskott betingades av rationaliseringars åtgärder med sänkt produktionskostnad som effekt, samtliga som intäkterna från externa kunder ökade. De tre laboratorierna levde också upp till mer än 75 % av de krav som ställdes, inklusive krav på bättre service och mer utveckling.

Inför 2006 fick därför Labmedicin UMAS ett ekonomiskt handlingsutrymme för nya satsningar motsvarande fem miljoner kronor. Förutsättningen är att laboratorierna ligger kvar på den produktionskostnadsnivå som vi hade under 2005. Hälften av dessa reserverades för gemensamma satsningar eftersom vi vill stärka gränsöverskridande projekt, speciellt de som sker i samarbete med universitets forskning. Under våren uppmanades medarbetarna att komma in med ansökningar om projekt. Kraven var att de skulle involvera minst två olika laboratorier, gärna med institutionen som aktiv part. Vi önskade särskilt att få mer utveckling från de forskare som finns vid Institutionen för laboratoriemedicin i Malmö, en del av Lunds universitet. Under våren godkände vi de flesta projekt (se tabell 2).

Av de projekt som har startats är många nära kopplade till universitetsforskningen, den bas som mycket av vår utveckling vilar på. Genom projekten har vi försökt stimulera kliniska användningar av mer basal forskning inom biomedicin.

Återstoden av incitamentsmedlen delades ut till de enskilda laboratorierna utifrån deras ekonomiska resultat. Eftersom Klinisk kemi och Klinisk mikrobiologi generat merparten av överskottet fick de också merparten av medlen. Vardera fick de cirka en miljon kronor för interna projekt. Klinisk patologi hade en mindre överskott och fick 200 000 kr.

De enskilda klinikerna fick själva bestämma över

utnyttjandet av incitamentsmedlen. De har kommit till nyttå för att göra mindre investeringar, renoveringar, ommålningar och för att förstärka utbildningen. De fick dock inte användas för att öka bemanningen. Klinisk mikrobiologi använde en stor del av sina medel för att samla all personal på internat för gemensam planering av den framtida utvecklingen av kliniken.

Fördelar med incitamentssystemet

Incitamentsprojektet uppfattas som en mycket positiv lösning på ett ekonomiskt styrproblem vi länge brottats med. För första gången finns det klara drivkrafter varför vi skall gå bra ekonomiskt. Gamla brister, som att öka konsumtion mot slutet av ett gott år, kan stävjas eftersom vi nu har fördel av att ha ett positivt resultat. Att koppla incitament till hur vi förbättrar vår kvalitet och vår utveckling är

viktigt. Det finns då ingen risk att dessa essentiella delar glöms bort i ett alltför snävt ekonomiskt tänkande. Att det är tre resultatenheter som gemensamt måste producera ett överskott bidrar till efterföljd, och kan bidra till sammanhållning. Kanske kan det också bli konflikter men det stärker i alla fall vår grundtanke om en gemensam division för laboratoriemedicin vid UMAS.

En fördel med projektet är att det sätter fokus på uppföljningssystemen, både de ekonomiska och de kvalitetsmässiga. Incitamentstyrning kräver helt enkelt relevanta och valida data som därtill kan förstås av verksamheten. Systemet måste också förankras tidigt för att få effekt.

Nackdelar och problem med incitamentssystemet

Vi har ännu inte sett några klara brister. Vissa discussioner har förekommit om vem som skall ha del av medlen. En enhet som dragit ner mer i bemanning borde kanske få mer belöning.

Ett problem är att belöning till sin natur är, och skall vara, ettårig. Startas ett lovande projekt, och det inte blir klart under året, så kan det därför vara svårt att fortsätta det. Detta problem blir också större av att det tog flera månader av det nya året innan resultatet är sammanställt och innan projektmedel beviljats och de olika projekten kommit igång. I realiteten startade därför flera projekt först under hösten och har haft kort tid på sig att bli klara. Å andra sidan stimulerar det till att även det aktuella årets resultat blir så bra att nya medel kan förväntas.

En ökad nedbrytning av incitament ner till enskilda enheter inom lab, t ex hematologi eller virologi, vore nog önskvärt för att förtärliga frågan "what's in it for me". Labmedicin UMAS är en stor organisation med nästan 400 anställda. Kanske skulle det vara ökad stimulans om mindre enheter som gör bra resultat fick extra belöning. En risk är dock att detta kunna leda till intern konkurrens och suboptimering.

Framtiden för Incitamentsprojektet

Det är beslutat är att projektet skall fortsätta 2007. Det skall ännu inte spridas vidare på sjukhuset. En orsak är att det krävs utvecklade uppföljningssystem för att få ett korrekt system. Det är alltid bra att ha samma ekonomiska spelregler inom en organisation.

(Fortsätter side 28)

HPV/vätskebaserad cytologi
Biobanksfunktionen, databasadministration
Biobanksfunktionen, uppgradering av biobankshotellet
Biobank för njurtumörer
Diagnos av aktiverande mutationer i FLT3 i AML-patientmaterial
Tissue Microarray
Mikroskopisk kolit
Prognostisk markör vid koloncancer
Molekylära analyser av biobanksmaterial
Nya molekylära diagnostiska verktyg i cancerdiagnostiken
Center för Labmedicinsk logistik
Utvärdering av patientnära mikrobiologiska snabbtester
Logistik kring laboratoriediagnostik
Entrén vid ingång 78
Elektronisk kvalitetsmanual

Tabell 2: Projekt som fick ekonomiskt stöd från incitamentsmedel.

(Fortsat fra side 27)

Sammanfattning

Incitamentsprojektet har gett klinikerna en mycket tydlig stimulans att prestera bättre ekonomiska resultat, samtidigt som det byggt in säkerhetsmekanismer mot en alltför snäv ekonomisk prioritering, på bekostnad av kvalitet och utveckling.

Slutsatser

Fritt från projektrapporten (1)

- Incitamentstyrning fungerar bäst så decentraliserat som möjligt
- Lokala mål måste finnas och förankras
- Bryt ner så långt som möjligt
- Kommunicera bättre om hur det går
- Undvik standardiserade belöningar
- Stöd pågående förändringsarbete
- Jämför olika enheter
- Förbättra uppföljning, speciellt av kvalitet och utveckling
- Belöna team, inte person
- Säkra balans mellan ekonomiska mål och verksamhetsmål
- Inför ett tak för incitamentsmedel

Referenser

Arvidsson P. Incitament inom sjukvården. Fallstudier om effekter av incitamentstyrning på Universitetssjukhuset MAS. Projektrapport, oktober 2006.

Arvidsson P, Styrning med belöningssystem, ur Controllerhandboken, utg 7. Redaktör Lars A Samuelsson, Industrilitteratur AB kap 4, sid 108-147.

Arvidsson P, Movin T, Rosell C, Empirisk studie av en teambaserad incitamentmodell på Dagkirurgiska kliniken vid Huddinge Universitetssjukhus, Stockholm School of Economics, EFI, The Economic Research Institute, Working paper no 2004:4, Mars 2004.

Herzberg F, One more time: How to motivate employees? , ur Motivating people, Harvard Business Review, jan 2003 sid 87-96.



Cheferna vid Laboratoriemedicin i Malmö som arbetar med incitamentsprojektet: Leif Johansson, (Klinisk patologi), Johan Malm (Klinisk kemi), Gert-Ove Gren (controller), Tommy Andersson (prefekt), Lena Dillner (Klinisk mikrobiologi)



Beware of the microscope effect

CellaVision™ DM analyzers automatically locate and pre-classify the blood cells for you.
Up to 35 slides per hour, with an image quality as good as in a microscope.

Read about the CellaVision effect at www.cellavision.com



Kristoffer Hellsing-prisen 2006

Redaktionen

Redaktionen af Klinisk Biokemi i Norden har ønsket at mindes tidsskriftets grundlægger Kristoffer Hellsing ved hvert år at uddele en pris for den bedste artikel i det foregående år.

Kristoffer Hellsing, som døde i marts 2004, var en central skikkelse i svensk og nordisk klinisk kemi. Han virkede i mange år som overlæge på Akademiska Sjukhuset. I den periode startede han det svenske tidsskrift Klinisk Kemi, som han var redaktør for i 25 år. I 1989 tog han initiativ til at starte det nordiske tidsskrift, som han var hovedredaktør for ind til sin død.

Foruden sin forskning, der handlede om analyser af immunkomplekser interesserede han sig for laboratoriets organisation og bidrog til en mere systematisk opbygning af laboratoriehenvisninger og vejledninger. I 1990 grundlagde han EQUALIS, som fik stor betydning for den eksterne kvalitetssikring af laboratoriemedicin i Sverige.

Kristoffer Hellsing var et varmt og levende menneske med interesse for historie, kunst og især musik. Vi, der kendte ham, mindes ham med stor glæde.

Prismodtageren

Redaktionen har valgt at give Mads Nybo prisen for hans artikel "Faste - hvad er det? Betydning for analyseresultatet" trykt i Klinisk Biokemi i Norden nr. 3/2006 s. 26-32. Prisen bliver givet for viljen til at undersøge en tilstand, som har betydning for det daglige arbejde på alle afdelinger, men hvor litteraturen giver forskellige eller som regel slet ingen retningslinjer for den.

Mads Nybo er afdelingslæge på Afdeling for Biokemi, Farmakologi og Genetik, Odense Universitetshospital. Han er speciallæge i klinisk biokemi og har en ph.d. grad erhvervet i 1999.

Prisen

Prisen består af et grafisk tryk af billedkunstneren, Birgitte Thorlacius, som arbejder med naturalistiske motiver i sin grafik. Det grafiske tryk, som Mads Nybo står med på billedet, forestiller et skraeppeblad, som næsten svæver, men med klar jordforbindelse gennem den lange stilk.



Bilirubin
 Electrolytes
 Metabolites
 Full oximetry
 Blood gas

Creatinine

Add creatinine to your checklist. Now.

Get reliable results at the point of care



Fast

Results in just 90 seconds



Easy

Automated sample handling and measuring



Reliable

Superior analytical performance with accurate results

Go to www.radiometer.com/crea for more information or schedule a live demo today by calling your local Radiometer representative.

ABL800 FLEX with creatinine:
Increased clinical value
at the point of care



RADIOMETER
COPENHAGEN

Denmark

Radiometer Danmark
Åkandevej 21
DK-2700 Brønshøj
Tel: +45 38 27 28 29
Fax: +45 38 27 27 12
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

Sweden

TRIOLAB AB
Åväcksgatan 6, Box 2109
SE-431 02 Mölndal
Tel: +46 31 81 72 00
Fax: +46 31 81 72 28
www.triolab.se

Finland

Triolab Oy
Lemminkäisenkatu 20
FI-20520 TURKU
Puh.: +358 201 226 600
Fax: +358 201 226 601
www.triolab.fi

Strategi for udarbejdelse af klinisk biokemiske guidelines

Vurdering af den gældende CLSI-guideline (H21-A4) for blodprøvetagning og præparation af plasmaprøver til bestemmelse af hæmostasekvantiteter

Johannes J. Sidelmann

Klinisk Biokemisk Afsnit, Sydvestjysk Sygehus Esbjerg

Afdeling for Tromboseforskning,

Institut for Sundhedstjenesteforskning, Syddansk Universitet

E-post: johannes.sidelmann@svs.regionssyddanmark.dk



Introduktion

En af hovedoverskrifterne ved Dansk Selskab for Klinisk Biokemis forårsmøde 2006 var "Betydningen af præanalytiske forhold". Emnet har interesse, uanset hvilken del af det klinisk biokemiske speciale man beskæftiger sig med. Blodprøvetagning og prøvebehandling involverer en række procedurer [1], og de præanalytiske faser, fra prøven ordineres til analysering finder sted (Fig.1), kan have betydning for hvor repræsentativ den udtagne prøve er på analysetidspunktet i forhold til patientens tilstand ved prøvetagningen. Indlæggene ved forårsmødet viste et udpluk af de problemer, der kan trækkes ud af et generelt koncept omhandlende prøvetagning og prøvebehandling. Det er afgjort vigtigt, at de enkelte delelementer, der indgår i de præanalytiske procedurer, diskuteres i detalje, men det er måske endnu mere vigtigt, at der beskrives en overordnet strategi for, hvordan guidelines for prøvetagning og prøvebehandling udformes.

Formålet med denne artikel er, med udgangspunkt i generelle retningslinier for udvikling af medicinske guidelines, at give forslag til en strategi for udvikling af guidelines for blodprøvetagning og præparation af plasmaprøver, samt at vurdere den gældende CLSI-guideline: Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-

Based Coagulation Assays; Approved Guideline-Fourth Edition, H21-A4 [2] på baggrund af den foreslæde strategi.

Guidelines

Medicinske guidelines udarbejdes for at standarisere patientbehandling og diagnosticering af sygdomme samt for at sikre, at procedurer og arbejdsgange er standardiserede og reproducerbare. I en nyligt publiceret artikel omhandlende principper og metoder for evidensbaserede klinisk biokemiske guidelines opdeles medicinske guidelines i tre kategorier; opinionsbaserede, konsensusbaserede og evidensbaserede [3]. De fleste medicinske guidelines er sammensat af rekommendationer fra alle tre kategorier, og nogle rekommendationer er tilstrækkeligt underbyggede af opinionsbaserede eller konsensusbaserede anbefalinger, mens andre kræver evidensbaseret viden, som dog ofte er manglende eller utilstrækkelig til at sikre et tilstrækkeligt evidensniveau. De tilgængelige internationale guidelines vedrørende præanalytiske procedurer for hæmostasekvantiteter er sammensat af opinionskonsensus- og evidensbaserede rekommendationer [2,4,5]. De anførte rekommendationers oprindelse kan ikke altid spores, og der savnes en vurdering af evidensniveauet bag de anførte anbefalinger, samt klare og entydige retningslinier for kriterierne for udvælgelsen af den litteratur, der ligger bag rekommendationerne.

Opinionsbaserede guidelines er baseret på rekommandationer, som er offentliggjort af en eller flere eksperter inden for et givet område. Sådanne guidelines kan ikke betragtes som evidensbaserede, og andre ekspertgrupper kan være uenige i guidelinens rekommandationer.

Konsensusbaserede guidelines kan med relativt få ressourcer udarbejdes forholdsvis hurtigt. Konsensusbaserede guidelines baseres sjældent på systematiske litteraturstudier og kan være fejlbehæftede og angive rekommandationer, der er i modstrid med viden og erfaringer på området og kan derfor være vanskelige at implementere.

Evidensbaserede guidelines får større og større udbredelse. Der er en stigende erkendelse af, at guidelines om muligt bør baseres på en systematisk udvælgelse, kritisk vurdering og sammenstilling af dokumentation. Dokumentationen danner baggrund for de angivne rekommandationer, og rekommandationernes evidensniveau afhænger af den tilgrundlig-

gende litteraturs substans. Det er vigtigt at gøre sig klart hvilken rekommandationsgrad man ønsker for de enkelte trin i guidelinien, samt hvilket evidensniveau der skal opnås, for at rekommandationen kan anses for tilstrækkeligt underbygget.

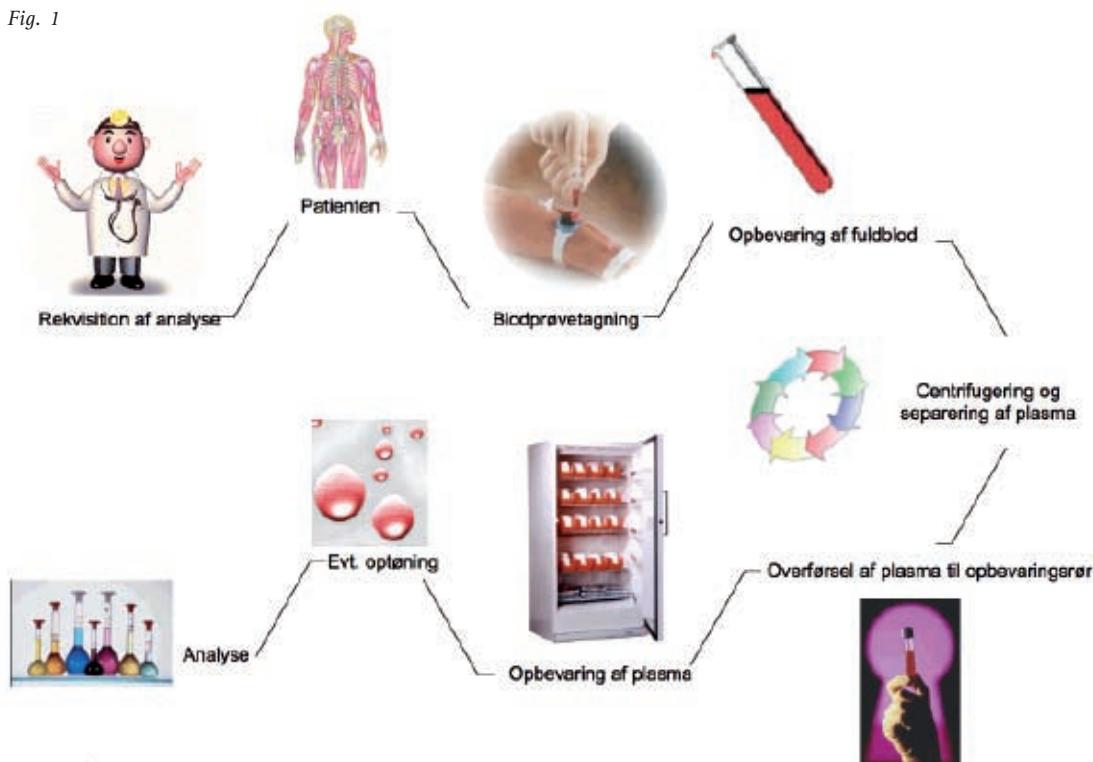
Udvikling af guideline

Udarbejdelsen af guidelines og rekommandationsgrader samt beskrivelse af evidensniveauer er integrerede processer, der kræver mange ressourcer, og de hører derfor hjemme i regi af ekspertgrupper udpeget af nationale eller internationale videnskabelige selskaber, ligesom arbejdet bør tage udgangspunkt i generelle retningslinier for udarbejdelse af medicinske guidelines. Nyligt publicerede oversigtsartikler beskriver de principper og metoder, der kan anvendes, og de vurderinger der kan indgå [3,6-8].

- Der gennemføres en omhyggelig vurdering af den rekommandationsgrad, som beskrevet nedenfor, der er nødvendig for hvert enkelt trin i den præanalytiske proces (Tabel 1).

(Fortsætter side 34)

Fig. 1



(Fortsat fra side 33)

- Rekommandationsgraden ledsages af en vurdering af det nødvendige evidensniveau som beskrevet nedenfor [9,10].
2. Den tilgængelige relevante litteratur vurderes i forhold til de under punkt 1 beskrevne anbefalinger for rekommandationsgrad og evidensniveau.
 3. Vurderingerne beskrevet i punkt 1 og 2 danner grundlag for
 - a. Fastlæggelse af de rekommandationer, hvor dokumentationen tilvejebringer tilstrækkelig evidens
 - b. Beskrivelse af de områder hvor dokumentationen er utilstrækkelig eller modstridende



Henrik Alftan

- c. Angivelse af målrettet arbejde, der tilvejebringer tilstrækkelig dokumentation til sikring af det ønskede evidensniveau
4. Den præliminære guideline udarbejdes og sendes til høring i de relevante videnskabelige organer og revideres i henhold til de indkomne forslag.
5. Guidelinen implementeres og evalueres i klinisk biokemisk praksis.
6. Guidelinen revideres løbende i henhold til punkterne 3-5.

Rekommandationsgrad

- A: Rekommandationen er understøttet af mindst to uafhængige undersøgelser på niveau 1b eller en artikel på niveau 1a ("det blev vist")
- B: Rekommandationen er understøttet af mindst to uafhængige undersøgelser på niveau II eller ekstrapositioner fra niveau I studier ("det er sandsynligt")
- C: Rekommandationen er ikke støttet af tilstrækkelige studier på niveau I eller II ("indikationer")
- D: Rekommandationen hviler på ekspertvurderinger - niveau IV

Evidensniveau

- Ia: Metaanalyse eller systematisk oversigtsarbejde baseret på adskillige niveau 1b-studier
- Ib: Laboratorieundersøgelser af høj kvalitet
- II: Laboratorieundersøgelser af middel kvalitet eller med utilstrækkelig mængde patienter/prøver
- III: Deskriptive studier, case rapporter, andre studier
- IV: Udtalelser fra komiteer, ekspertvurderinger

Vurdering af CLSI-guideline H21-A4

Den mest anerkendte og udbredte internationale guideline vedrørende præanalytiske forhold ved bestemmelse af kvantiteter i koagulationssystemet er udarbejdet af Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI (tidligere NCCLS). CLSI har udarbejdet generelle guidelines vedrørende blodprøvetagning og prøvebehandling [11,12], samt guidelinien H21-A4 [2], der omhandler præanalytiske forhold ved bestemmelse af koagulationskvantiteter. H21-A4 er udarbejdet af en arbejdsgruppe nedsat af CLSI, hvorefter den har været sendt til høring hos en række delegerede. De delegeredes kommentarer og arbejdsgruppens besvarelse af disse kommentarer er inkluderet i guidelinien, som er under løbende

Præanalytisk fase	Faktorer med potential effekt på hæmostasevariable	H21-A4		
		Referencer	Evidens-niveau	Rekommandationsgrad
Prøvetagning	Citratkoncentration	[13]	Ib	C
	Kanyle gauge – "sommerfugl-kanyle"		IV	D
	Prøvevolumen (blodvolumen kontra citratvolumen)	[14-16]	Ib	A
	Sekvens af prøverør – brug af første rør	[17-20]	Ib	A
	Blod fra katetere	[21]	Ia	A
Separation af plasma	Centrifugering - g-effekt		IV	D
	Varighed		IV	D
	Temperatur		IV	D
	Koncentration af thrombocyetter i plasma	[23-26]	IV	D
Opbevaring af blod eller plasma	Temperatur	[22]	Ib	C
	Varighed	[22]	Ib	C

Tabel 1. Faktorer med potentiel effekt på hæmostasevariable opdelt efter præanalytisk fase, efterfulgt af referencerne for de enkeltes faktorers indflydelse som angivet i CLSI guideline H21-A4, samt en vurdering af guidelinens evidensniveau og rekommandationsgrad for de enkelte faktorer.

revision, idet brugere opfordres til at kommentere den, hvorefter arbejdsgruppen vil vurdere kommentarerne og inkludere de relevante ved næste revision af guidelinien.

Titlen "Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays; Approved Guideline" indikerer, at den kan anvendes for alle kvantiteter i koagulationssystemet, men der fokuseres udelukkende på de præanalytiske forhold ved bestemmelse af prothrombintid (INR) og aktiveret partiell thromboplastintid (APTT). Guidelinen giver dog rekommandationer vedrørende opbevaring af prøver til bestemmelse af thrombintid, protein C, Faktor V og Faktor VIII, men der er ikke henvis til referencer, der forklarer hvorfor netop disse kvantiteter er nævnt.

H21-A4 omhandler ikke præanalytiske faktorer,

der kan relateres til patientens tilstand, såsom effekt af faste, døgn- eller årstidsvariation, medicin, tobak, alkohol, fysisk aktivitet, siddende eller liggende position under blodprøvetagningen etc. Desuden er proceduren omkring anlæggelse af stase ikke beskrevet i H21-A4. Disse faktorer er behandlet i CLSI guideline H3-A5 [11], og vil ikke blive diskuteret i denne artikel.

Guidelinens rekommandationer

H21-A4 består af både konsensusbaserede og evidensbaserede rekommandationer, men den indeholder ikke en beskrivelse af, hvilke retningslinjer arbejdsgruppen har lagt til grund for valget af de 16 referencer, der henvises til, og hvoraf 14 udgør de evidensbaserede rekommandationer. Referencerne

(Fortsætter side 36)

(Fortsat fra side 35)

omhandler citratkoncentrationen i prøverørene [13], effekten af afvigelser i det foreskrevne blodvolumen [14-16], hvorvidt det først udtagne glas kan anvendes til koagulationsanalyser [17-20], anvendelsen af blod udtaget fra intravenøse katetere (metaanalyse) [21], temperatur og tid for opbevaring af prøvemateriale [22] og betydningen af centrifugering og trombocytkoncentrationen i plasma [23-26]. Evidensniveauet for rekommendationerne bevæger sig fra IV til Ib og rekommendationsgraden fra D til A som angivet i Tabel 1.

- H21-A4 rekommenderer, at citratkoncentrationen i prøverørene skal være 3.2% eller 0.105 mol/l. Dette understøttes af flere overensstemmende publikationer [27-30], som ved inklusion i guidelinen kunne øge rekommendationsgraden fra C til A.
- H21-A4 rekommenderer, at kanylens gauge tilpasses mængden af blod, der skal udtages, samt patientens alder og venens størrelse, og at "sommerfugl-kanyle" bør anvendes med forsigtighed, for at undgå aktivering af trombocyter og koagulationsfaktorer. Rekommendationerne er ikke ledsgaget af referencer og er således opinions- og konsensusbaserede. Et nyere studie viser, at thrombocytaktivering ikke er mere udtalt i blod udtaget med "sommerfugl-kanyle" end i blod udtaget med konventionel teknik [31], mens der endnu ikke er publiceret studier, der sammenligner aktiveringstenget af koagulationsfaktorer ved de to forskellige prøvetagnings teknikker. Hos børn og urolige patienter vil anvendelse af "sommerfugl-kanyle" ofte være en forudsætning for at blodprøvetagningen lykkes. Evidensniveau IV og rekommendationsniveau D er som følge heraf ikke tilstrækkeligt med hensyn til valg af kanyle, og systematiske studier, der belyser problemstillingen, bør iværksættes.
- Temperatur og tid for opbevaring af blodet efter prøvetagningen er undersøgt i en række studier [32-41], hvis resultater i nogle tilfælde stemmer overens med rekommendationerne i H21-A4 [32-37], mens andre studier finder, at prøvematerialet bør opbevares i kortere tid end anført i H21-A4, og at stabiliteten desuden afhænger af hvilke prøvetagningsrør og hvilke metoder, der anvendes ved bestemmelse af PT [39-41]. Nogle studier indikerer, at prøvematerialet til APTT kan opbevares i længere tid end anført i H21-A4 [34,35]. Det

synes klart, at der må gennemføres flere undersøgelser for at nå frem til en sikker rekommendation med hensyn til temperatur og tid for opbevaring af prøvematerialet.

- H21-A4 rekommenderer, at thrombocytkoncentrationen i plasma bør være $< 10 \times 10^9/l$, hvilket opnås ved centrifugering i 15 min ved 1500g. Denne anbefaling hviler på fire referencer [23-26]. To af referencerne viser, at thrombocytkoncentrationer op til $200 \times 10^9/l$ er uden effekt på bestemmelsen af PT og APTT, hvis friske (ikke frosne) plasmaprøver anvendes, mens den rekommenderede thrombocytkoncentration må overholdes, hvis APTT bestemmelsen indgår i udredning for lupus antikoagulans [23,24]. En reference beskriver fremstilling af plasma med thrombocytkoncentration under $10 \times 10^9/l$ [25]. Den sidste reference vedrører ikke direkte bestemmelsen af PT eller APTT, men er relateret til bestemmelsen af aktiveret protein C resistens, og den angiver desuden at blod skal centrifugeres i 20 min ved 2500g for at opfylde at thrombocytkoncentrationen i plasma er $< 10 \times 10^9/l$ [26]. Evidensniveauet vurderes til II med rekommendationsgraden C. Mere systematiske og målrettede studier er nødvendige, hvis en højere rekommendationsgrad ønskes.

Konklusion

H21-A4 er en kombineret konsensus- og evidensbaseret guideline udarbejdet af en arbejdsgruppe under CLSI. I henhold til de tilgængelige retningslinier for udarbejdelse af medicinske guidelines mangler H21-A4 en beskrivelse af, hvilket evidens- og rekommendationsniveau, der søges opnået for de enkelte trin i den præanalytiske proces. Der savnes en beskrivelse af kriterierne, der ligger til grund for udvælgelsen af de referencer, der danner grundlag for guidelinens evidensbaserede rekommendationer, og guidelinens mangler at udpege områder, hvor dokumentationen er mangelfuld, samt at beskrive hvilke studier, der er nødvendige for at sikre et tilstrækkeligt evidensniveau for de anførte rekommendationer. Endelig mangler H21-A4 en præcis beskrivelse af, hvilke kvantiteter den er gældende for. En gennemgang af litteraturen på området tilvejebringer en række referencer, der kan styrke eller øge antallet af evidensbaserede rekommendationer, mens andre referencer rejser tvivl om de angivne rekommendationer.

(Fortsætter side 38)

X-CLASS

Confidence is ...

- • • the result of unified and true
EASE-OF-USE!

Ease-of-use is an essential prerequisite for true efficiency in medical laboratories.

- 24 parameters in sysmex' most compact 5-part differential haematology analyser
- Fully automated with user-friendly software of 10,000 samples storage capacity
- Virtually maintenance-free with automatic daily shutdown
- Only 20 µl aspiration volume for a CBC + DIFF
- Parameters: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, NEUT (%), LYMPH (%), MONO (%), EO (%), BASO (%), RDW-SD, RDW-CV, MPV, P-LCR, PDW, PCT research parameters: IG (%), Other (%), #)

High quality results and clinical information all based on the one and only Fluorescence Flow Cytometry technology is just a mouse click away. Proven x-technology meets haematology demands and only comes from sysmex.

The new
XS-1000i and **XS-800i**

Don't take risks! Choose

... Sysmex



SYSMEX SVERIGE

Marios Gata 13, 43437 Kungsbacka, Sweden
Phone +46 (300) 56 72 02 · Fax +46 (300) 56 72 03
www.sysmex.se

SYSMEX NORGE

Hvamsvingen 24, 2013 Skjetten, Norway
Phone +47 63 84 01 60 · Fax +47 63 84 31 40
www.sysmex.no

SYSMEX DANMARK

Møsvæj 23, 6051 Almind, Denmark
Phone +45 70 20 45 01 · Fax +45 70 20 45 41
www.sysmex.dk

Sysmex

Referencer

1. Sidelmann J.J., Gram J, Jespersen J, Esbensen KH. On the in vivo-ex vivo threshold - significant IPE associated with human blood sampling and handling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2004;74:177-82.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Collection, transport, and processing of blood specimens for coagulation testing and general performance of coagulation assays; approved guideline - third edition. H21-A4. 35 ed. 2003.
3. Oosterhuis WP, Bruns DE, Watine J, Sandberg S, Horvath AR. Evidence-based guidelines in laboratory medicine: principles and methods. *Clin Chem* 2004;50:806-18.
4. Polack B, Schved JF, Boneu B. Preanalytical recommendations of the 'Groupe d'Etude sur l'Hemostase et la Thrombose' (GEHT) for venous blood testing in hemostasis laboratories. *Haemostasis* 2001;31:61-8.
5. Walker ID. Laboratory techniques in Thrombosis - A manual. 2nd revised edition of ECAT assays procedures. Blood collection and sample preparation: pre-analytical variation. In: Jespersen J, Bertina RM, Haverkate F, editors. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, 1999: 21-8.
6. Atkins D, Best D, Briss PA, Eccles M, Falck-Ytter Y, Flottorp S, Guyatt GH, Harbour RT, Haugh MC, Henry D, Hill S, Jaeschke R, Leng G, Liberati A et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004;328:1490.
7. Horvath AR, Pewsner D. Systematic reviews in laboratory medicine: principles, processes and practical considerations. *Clin Chim Acta* 2004;342:23-39.
8. Carraro P. Guidelines for the laboratory investigation of inherited thrombophilias. Recommendations for the first level clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:382-91.
9. Harbour R, Miller J. A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ* 2001;323:334-6.
10. Guyatt G, Schunemann H, Cook D, Jaeschke R, Pauker S, Bucher H. Grades of recommendation for antithrombotic agents. *Chest* 2001;119:3S-7S.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard - fourth edition. H3-A5. 32 ed. 2003.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline-Third Edition. 38 ed. 2004.
13. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Effect of 3.2% vs 3.8% sodium citrate concentration on routine coagulation testing. *Am J Clin Pathol* 1997;107:105-10.
14. Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration. *Am J Clin Pathol* 1998;109:595-9.
15. Peterson P, Gottfried EL. The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT). *Thromb Haemost* 1982;47:101-3.
16. Reneke J, Etzell J, Leslie S, Ng VL, Gottfried EL. Prolonged prothrombin time and activated partial thromboplastin time due to underfilled specimen tubes with 109 mmol/L (3.2%) citrate anticoagulant. *Am J Clin Pathol* 1998;109:754-7.
17. Adcock DM, Kressin D, Marlar RA. Are discard tubes necessary in coagulation studies? *Laboratory Medicine* 1997;28:530-3.
18. Bamberg R, Cottle JN, Williams JC. Effect of drawing a discard tube on PT and APTT results in healthy adults. *Clin Lab Sci* 2003;16:16-9.
19. Gottfried EL, Adachi MM. Prothrombin time and activated partial thromboplastin time can be performed on the first tube. *Am J Clin Pathol* 1997;107:681-3.
20. Yawn BP, Loge C, Dale J. Prothrombin time: one tube or two. *Am J Clin Pathol* 1996;105:794-7.
21. Laxson CJ, Titler MG. Drawing coagulation studies from arterial lines: an integrative literature review. *Am J Crit Care* 1994;3:16-22.
22. Adcock D, Kressin D, Marlar RA. The effect

- of time and temperature variables on routine coagulation tests. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998;9:463-70.
23. Carroll WE, Wollitzer AO, Harris L, Ling MC, Whitaker WL, Jackson RD. The significance of platelet counts in coagulation studies. *J Med* 2001;32:83-96.
 24. Brien WF, Schaus MR, Cooper KE, O'Keefe BT, Inwood M. Lupus anticoagulant testing: effect of the platelet count on the activated partial thromboplastin time. *Br J Biomed Sci* 1993;50:114-6.
 25. Barnes PW, Eby CS, Lukoszyk M. Residual platelet counts in plasma prepared for routine coagulation testing with the Beckman Coulter power processor. *Laboratory Hematology* 2002;8:205-9.
 26. Tripodi A, Valsecchi C, Chantarangkul V, Battaglioli T, Mannucci PM. Standardization of activated protein C resistance testing: effect of residual platelets in frozen plasmas assessed by commercial and home-made methods. *Br J Haematol* 2003;120:825-8.
 27. Duncan EM, Casey CR, Duncan BM, Lloyd JV. Effect of concentration of trisodium citrate anticoagulant on calculation of the International Normalised Ratio and the International Sensitivity Index of thromboplastin. *Thromb Haemost* 1994;72:84-8.
 28. Danielson CF, Davis K, Jones G, Benson J, Arney K, Martin J. Effect of citrate concentration in specimen collection tubes on the International Normalized Ratio. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:956-9.
 29. Chantarangkul V, Tripodi A, Clerici M, Negri B, Mannucci PM. Assessment of the influence of citrate concentration on the International Normalized Ratio (INR) determined with twelve reagent-instrument combinations. *Thromb Haemost* 1998;80:258-62.
 30. van den Besselaar AM, Chantarangkul V, Tripodi A. A comparison of two sodium citrate concentrations in two evacuated blood collection systems for prothrombin time and ISI determination. *Thromb Haemost* 2000;84:664-7.
 31. Mani H, Kirchmayr K, Klaffling C, Schindewolf M, Luxembourg B, Linnemann B, Lindhoff-Last E. Influence of blood collection techniques on platelet function. *Platelets* 2004;15:315-8.
 32. Ridyard J, Bhavnani M, Seal LH. Laboratory control of oral anticoagulant therapy: preservation of prothrombin time specimens using a polypropylene collection system. *Clin Lab Haematol* 1998;20:369-72.
 33. Baglin T, Luddington R. Reliability of delayed INR determination: implications for decentralized anticoagulant care with off-site blood sampling. *Br J Haematol* 1997;96:431-4.
 34. Neofotistos D, Oropeza M, Ts'ao CH. Stability of plasma for add-on PT and APTT tests. *Am J Clin Pathol* 1998;109:758-63.
 35. Rao LV, Okorodudu AO, Petersen JR, Elghetany MT. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Clin Chim Acta* 2000;300:13-21.
 36. Awad MA, Selim TE, Al Sabbagh FA. Influence of storage time and temperature on international normalized ratio (INR) levels and plasma activities of vitamin K dependent clotting factors. *Hematology* 2004;9:333-7.
 37. Heil W, Grunewald R, Amend M, Heins M. Influence of time and temperature on coagulation analytes in stored plasma. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:459-62.
 38. Froom P, Abramova D, Bar-El M, Barak M. Reliability of delayed prothrombin time INR determinations in a central laboratory using off-site blood sampling. *Clin Lab Haematol* 2001;23:189-92.
 39. Ho CH, Wu SY. The influence of time, temperature and packed cell on activated partial thromboplastin time and prothrombin time. *Thromb Res* 1991;62:625-33.
 40. Geest-Daalderop JH, Mulder AB, Boonman-de Winter LJ, Hoekstra MM, van den Besselaar AM. Preanalytical variables and off-site blood collection: influences on the results of the prothrombin time/international normalized ratio test and implications for monitoring of oral anti-coagulant therapy. *Clin Chem* 2005;51:561-8.
 41. Leeming DR, Craig S, Stevenson KJ, Taberner DA. The determination of INR in stored whole blood. *J Clin Pathol* 1998;51:360-3.

IFCC News

Päivi Laitinen

E-post: paivi.h.laitinen@ppshp.fi

I wrote my previous column in October 2006, when we had just got the first snow here in Northern Finland. The snow lasted for almost a month, the magic white world, but then it was raining for two months till Christmas. The darkness was depressing. Today the world looks white again and the sun is shining beautifully. The temperature is -20 °C. Spring is coming!

I have had the privilege of serving as the Secretary of IFCC for one year now. It has been a year full of a lot of extra, but very interesting work. I have also had a chance to meet inspiring people and even see some interesting places.

IFCC Executive Board (EB) has usually three meetings a year. The first meeting in 2006, where I was the Secretary, was in connection with the COLABIOCLI Congress in April in Asuncion, Paraguay. I have never been in Paraguay before, nor in South America. So this was an adventure to me. It turned out to be more of an adventure than I expected.

For some reason I have often problems with my luggage. Also this time I did not get my suitcase when I arrived in Asuncion. I made the usual reclaim at the airport and was quite confident that I will get my luggage in a couple of days. I took a taxi to the hotel.

I was getting a bit worried after two days, when I was told that nobody knew where the suitcase was. Today with all the bar-coded systems airlines should have been able to tell me if my suitcase had left Helsinki and arrived in Frankfurt etc.. My husband was bombing the airlines from Finland and the hotel reception was calling the airline in Asuncion. This is because in Paraguay very few people speak English.

I had only a few things which I carried in my handbag, blue jeans and a couple of T-shirts and a skirt. There was no time, nor possibility to go

shopping because of the EB meeting. Days passed and still nobody knew where my suitcase was. EB meeting lasted three days and the Congress was beginning.

On the day of the opening ceremonies of the Congress the hotel receptionist suggested as a last possibility that we try to call the manager of the airline in Asuncion. During a coffee break of the EB meeting we finally reached the manager. We had a very long and tough discussion during which I told the manager that the airline should be able to tell me the location of my suitcase. Previously the President of the Congress had told me that the President of Paraguay has been invited and that he might come to the opening ceremonies. Knowing this I told the manager of the possibility of the Paraguayan President's coming to the opening ceremonies. I continued that I will tell the President how the airline has been handling the case of my luggage. The conversation ended quite soon after this threat.

The phone conversation took place at noon. By 4 o'clock I received a message from the airline that my luggage has been found and by 6 o'clock I was happily reunited with my suitcase. Who says that miracles do not happen!

The airlines use bar-codes in luggage as identification of the luggage and as address of the destination. The bar-codes should be read into the systems whenever the luggage arrives at the airport and is transferred to an airplane. This way the airline should be always able to tell the location of suitcases.

Laboratories use bar-coded sample tubes as identification and also as addresses of the sample, which tests have to be analyzed. In today's laboratories we always have to be able to tell where the sample is, when the sample has been drawn, who has done sampling, when the sample has arrived in the labo-

ratory, when it has been placed in an instrument and which instrument, who has done the analyses and when the results have been transferred to the hospital system and by whom. The new ISO/CEN standard 15189 requires this information. Who will write such requirements for the airlines?

After the luggage incident my South American adventure was less stressful. I attended the congress after my first EB meeting. There were about 1000 participants from all over South America and the Spanish speaking world. There was also a small exhibition where mostly local instruments and reagents were shown.

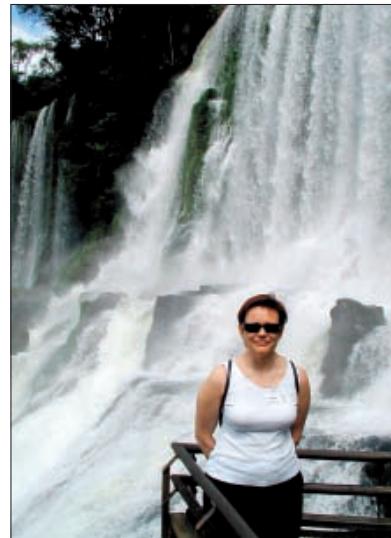
Some symposia were in English, but mostly they were in Spanish, with sometimes simultaneous translation. It is amazing how universal the language of clinical chemistry is; I could understand quite well Spanish lectures on maternal first trimester screening for Down's syndrome. Very popular

topics included lectures on internal and external quality assessments, training and accreditation. In that part of the world a big problem is the lack of quality control materials to be used as internal quality control samples. During the closing ceremonies a prize was given to one of the laboratories that had participated in a survey. The prize was one year's external quality control samples! Other prizes were also given for best posters and the prizes were books on different areas of clinical chemistry, microbiology etc.

After the congress I had a chance to visit Iguassu Falls in both Argentinian and Brasilian sides. Looking at those Falls one could feel the force of Mother Nature, what a magnificent experience!!



Congress venue



Iguassu Falls



Beautiful, colourful Paraguay



Downtown Asuncion. 80% of cars are stolen. There is only one law in Paraguay: there is no law.

OLA makes your life easier

- tailored pre-analysis to fit laboratory workflow

- Intelligent sample sorting to any rack type
- De-capping for selected analysis
- Aliquoting in up to seven additional tubes
- Easy sample tracking
- Automatic archiving
- Unsurpassed speed



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: palle.wang@vgs.region
syddanmark.dk

Danmark

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

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alftan
Helsingfors Universitetscentral-
sjukhus, HUSLAB
Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 9 471 61457
Telefax: +268 9 471 74806
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 18 552562
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

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).



From innovations to insights,
Siemens now gives you the
whole picture.

Proven Outcomes to Redefine Healthcare.

Introducing Siemens Medical Solutions Diagnostics. Combining the strengths of **Diagnostic Products Corporation** and **Bayer Diagnostics**, along with a comprehensive portfolio of industry-leading imaging and IT products, Siemens Medical Solutions becomes the world's first full-service diagnostic company. Now we can provide more customized and innovative solutions for your diagnostic needs. Together, we're taking you closer than ever to personalized healthcare. In a way that only Siemens can.

www.siemens.com/diagnostics

SIEMENS