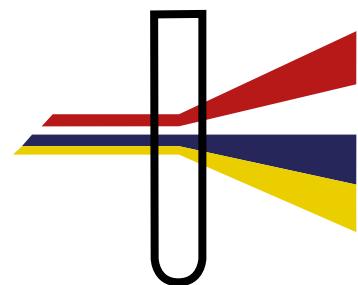


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 3, vol. 21, 2009

Ledare: Om den sköna konsten att ge goda råd	4
<i>Per Simonsson</i>	
Nytt från NFKK: Blick mot Oslo med nya och gamla priser	8
<i>Jarkko Ihälainen</i>	
Labmed 2010 News	9
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Nonfasting triglycerides, remnant lipoproteins, and cardiovascular disease	10
<i>Anne Tybjærg-Hansen and Børge G. Nordestgaard</i>	
The Arctic Challenge 2010	18
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Klinisk immunologi for kliniske biokemikere:	
Anti-neutrofilcyt cytoplasmaantistoffer (ANCA).	20
<i>Allan Wiik</i>	
En ny pris innen fagområdet medisinsk biokemi	
The Lorentz Eldjarn Prize Competition for Best Publication	28
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
Analys av csv-hemoglobin och -bilirubin	32
<i>Anders Larsson, Lars Hillered och Peter Ridefelt</i>	
Dags att söka medel från NORDFOND	35
<i>Jarkko Ihälainen</i>	
Usikkerhetsberegninger	36
<i>Johan Bjerner</i>	
<i>Den vandrande vetenskapsmannen: Sandbankarnas gåta</i>	44
<i>Per Simonsson</i>	
Sänkan – för, mot eller mitt emellan?	45
<i>Per Simonsson</i>	
Sänkan – fortfarande en populär undersökningsmetod	46
<i>Juha Horsti</i>	
C-reaktivt protein (CRP)	
– bättre än SR som förstahandsvalet som inflammationsmarkör	52
<i>Anders Larsson</i>	
SKUP evaluation: Afinion™ system for HbA1c.	56
<i>Arne Mårtensson</i>	
IFCC news	58
<i>Päivi Laitinen</i>	
<i>Forside: Stenmurkla (Gyromitra esculenta). Giftig som rå, rätt tillredd läcker. Svampen kan ge sänkt glomerulär filtrationshastighet, vilket vi inom klinisk kemi måste informera bättre om. Se mer om detta i Ledaren i detta nummer.</i>	
<i>Foto: Henrik Alfthan.</i>	

Small enough to
fit on your desk.

Large enough to
transform your lab.



Introducing the UniCel® DxH 800 Coulter® Cellular Analysis System.

The UniCel DxH 800 is designed to be your next step toward greater productivity. Unparalleled, high-quality results are assured by a host of new and proprietary technologies including High Definition Cellular Analysis and Flow Cytometric Digital Morphology. However, this is only the beginning.



Innovative efficiency tools enable the UniCel DxH 800 to provide one of the leanest platforms in the

Magnetic transport system delivers auto repeat and "load 'n' go" capability.

industry. In only a small desktop footprint, the DxH 800 produces 10 times more data on each cell than traditional hematology systems.

And while it may be small in size, the UniCel DxH 800 offers revolutionary scalability* to meet precisely your laboratory's present and future needs.

To learn how the UniCel DxH 800 can transform your laboratory for a new era of cellular analysis, contact your Beckman Coulter representative or visit us at beckmancoulter.com/DxH.

Chemistry Immunodiagnostics Centrifugation Molecular Diagnostics **Hematology**
Disease Management Hemostasis Information Systems Lab Automation Flow Cytometry Primary Care

 **BECKMAN
COULTER**
We're better together

Om den sköna konsten att ge goda råd

Per Simonsson



"I always pass on good advice. It is the only thing to do with it. It is never of any use to oneself."

Oscar Wilde

Det är inte lätt att ge goda råd, något som också Oscar Wilde underströk för över hundra år sedan. Men kliniska kemisters roll är att ge goda råd och att rekommendera olika utredningar. Det senaste året har jag arbetat med ett projekt om njurfunktionsundersökningar. Det har varit en lärorik resa i det goda rådets landskap.

Enligt kommunikationsteorin finns det alltid en avsändare, som skickar iväg ett budskap, till en mottagare. Denna allra enklaste modell måste sen kompletteras på olika sätt. Bland det viktigaste är att skapa tvåvägskommunikation så att avsändaren hela tiden får återkoppling från mottagaren. Några andra aspekter jag har lärt mig är betydelsen av mediet, d.v.s. hur budskapet förmedlades, och, kanske viktigast av allt, att göra klart från början vad man vill uppnå.

Avsändaren

Detta kan tyckas enkelt. Den vanlige kliniske kemisten uppfattar sig själv som oberoende avsändare och informatör. Så enkelt är det inte. Alla tillhör en organisation. Det är både en formell organisation t.ex. ett visst laboratorium, och mer informella sammanslutningar som t.ex. klinisk kemi. Vi har olika kopplingar till forskning.

I mitt arbete de senaste åren med njurdiagnostik var det viktigt att förtärliga vem som var budskapets avsändare. Här hade jag ett tydligt uppdrag från Svensk Förening för Klinisk Kemi. Detta gav dels en tillhörighet och ett avstamp men också ramar och

mål. Sannolikt gav denna koppling till SFKK och därmed Svenska Läkaresällskapet en ökad trovärdighet. Jag var inte bara en ensam forskare eller intellektuell som torgförde mina egna idéer.

SFKK gav mig i uppdrag att arbetet skulle bedrivas i en projektgrupp med representanter också från olika kliniska specialiteter inom Svenska Läkaresällskapet. Det gav bredd och en diskussionsgrund som var ovärderlig.

Själv är jag ingen njurexpert utan en allmänbildad klinisk kemist. Det gav mig möjlighet att se budskapet från en högre flyghöjd. Det är viktigt vid kommunikation. Krig skall inte lämnas över till generalerna. På samma sätt kan man säga att information inte enbart skall skötas av superspecialister. Det vet den professionella industrin. Den som kommunicerar och informerar måste vara beredd att kunna ta olika perspektiv samtidigt: de olika experternas, likaväl som de olika målgruppernas.

Mottagaren

Mitt uppdrag som projektledare var att ta fram konsensus för hur glomerulär filtration på ett bra sätt kan bestämmas inom klinisk medicin i Sverige. Målgruppen är en stor del av läkarkåren, men inte specialister inom t.ex. njurmedicin. Här var det viktigt att ha medarbetare i projektet som kom från olika läger. Att skriva rekommendationer utifrån ett rent kliniskt kemiskt eller nefrologiskt perspektiv skulle vara farligt. Säkert skulle vissa aspekter belysas exemplariskt, t.ex. kalibrering eller indikatörer för dialys, men viktiga frågor skulle falla bort. Kommunikatörens fingertoppskänsla för mottagaren är antagligen den viktigaste aspekten för att få en god kommunikation till stånd.

Budskapet

Kommunikation handlar om att förenkla. Det gäller att ha ett, eller kanske två, budskap och göra dem tydliga. Detta tänkesätt är främmande för forskaren för

(Leder fortsætter side 6)



Are we going in
the right direction? ↗

↖ Is my lab
going in the right
direction?

The new IMMULITE 2000 XPi helps ensure that your lab is on the right path with its broad menu and connectivity options.

With more than 20 years of proven immunoassay performance, the new IMMULITE 2000 XPi System maximizes productivity and reliability. As with all IMMULITE systems, it features a wide range of routine allergy and specialty assays, while easily connecting to automation and informatics platforms. Find out which IMMULITE system will place your lab on the right path at www.siemens.com/immunoassay

Answers for life.

SIEMENS

(Leder fortsat fra side 4)

vilken de spänande dissonanserna utgör själva livsluftens. Men det är just här som ofta kommunikatören har betydelse. Det gäller att förenkla och tydliggöra för dem som inte har djup och bred insikt i en fråga. För de kliniska kollegor som också har hundratals helt andra spörsmål som måste bearbetas, även om detta kan smärta in i själen hos en specialist. Var sen gränsen går mellan tydlighet och förflackning är en omdömesfråga. Men görs inte denna destillering av budskapet kommer ingenting av budskapet att kunna förmedlas på ett sådant sätt att det har en effekt i verkliga livet.

Rätt snart utkristalliseras ett huvudbudskap: "Lär känna din patients GFR". Att vaska fram detta huvudbudskap innebar att lyfta fram själva essensen, nämligen att inte missa njursjukdomar och att upptäcka dessa tidigt så att behandling kan sättas in och läkemedelsbiverkningar kan undvikas. Genom att som kommunikatör betona detta övergripande huvudbudskap kunde också detaljfrågor rätt enkelt sättas i sitt rätta sammanhang.

Ett huvudbudskap som "Lär känna din patients GFR" kan sen också brytas i ner ett fåtal delbudskap t.ex. "Minska dialysbehov i framtiden" och "Minska läkemedelsbiverkningar". Olika budskap kan vara

olika relevanta för olika mottagare. Då kan olika delbudskap lyftas fram, eller tonas ner.

Medier och kanaler

Att bara nöja sig med ett dokument på en hemsida, någonstans i cyberrymden, är tämligen värdelöst. Det viktiga är att på olika sätt upprepa det budskap som arbetats fram.

I arbetet med att sprida budskapet användes flera olika medier. Att detta var ett initiativ från SFKK öppnade flera dörrar och flera scener. Projektet kunde informeras om redan under arbetsfasen vid Svenska Läkaresällskaps årliga riksstämma och en slutrapport kunde här presenteras på ett större symposium öppet för läkare från alla specialiteter. Det slutgiltiga dokumentet lades ut på Svensk Förening för Klinisk Kemis hemsida (www.kliniskkemi.org) så att det lätt går att referera till originalhandlingen.

Marknadsföring av budskapet har skett nationellt på klinisk kemis vårmöte, Läkaresällskaps riksstämma och via Läkaresällskaps tidskrift Läkartidningen, i några fall vid upprepade tillfällen. En gång är ingen gång! Första informationen rinner oftast bort men den andra kan fungera som en boosterdos. Är det ett viktigt budskap så ska det tåla att upprepas gång på gång. Det är snarare vi amatörmässiga avsändare som



Foto: Henrik Alfthan

i blygsel inte vågar trumma in våra budskap. Annat är det inom andra områden. Tänk bara på Coca Cola! En styrka med att jobba specialitetsgemensamt är att den kliniska kemistens får tillgång till nya kanaler. Det gäller t.ex. Svensk Förening på Allmänmedicins tidskrift som också publicerat en artikel om de nya rekommendationerna. Den skrevs tillsammans med projektgruppens allmänmedicinare. På detta sätt fick artikeln ett anpassat perspektiv, riktat just till allmänläkarna som mottagare. Därtill gav det budskapet en ökad trovärdighet än om det enbart kommit från en klinisk kemist.

Lokala medier kompletterar

Givetvis skall alla lokala medier användas och här kan nyhetsbrev vara viktigt, med notiser och hänvisning till huvudbudskap och dokument utlagt på nätet. Meddelanden kan skickas ut till de närmaste kunderna. Ett färskt konsensusdokument är också en bra biljett till olika läkarmöten vid det lokala sjukhuset och i den kringliggande primärvården. Det är lättare att säga att man har något nytt att presentera om det finns ett dokument bakom. Åtskilliga läkargrupper har fått muntliga presentationer under det senaste året. Regionalt, i vart fall i Skåne, sprids budskapet på flera olika sätt. Det har presenterats vid utbildningsdagar, njurläkarmöte, ST-kurs och möten för olika grupper läkare. Genomslaget från personlig diskussion om ett budskap är mycket större än om det står en artikel i en läkartidning. Dokumentet, eller länk till det, ligger också på lokala hemsidor.

Effekter

Det är viktigt att göra klart för sig vilka effekter man vill uppnå. Det är också viktigt för mottagaren att det inte finns några dolda agendor som skiner igenom. En mottagare blir tveksam till budskap om dolda egenintresse skiner igenom. Ett budskap som är ett försvartal för den egna forskningen tas inte emot med lika öppna öron som om det är budskap om att förbättra diagnostiken för klinikens patienter.

Utvärdering

I de bästa av världar ska all kommunikation utvärderas. Det är svårt. Jag har inte heller gjort några försök ännu. Resursmått, som t.ex. hur många seminarier som har hållits eller hur många som besökt en hemsida, säger inte mycket om effekterna som kommunikationen vill skapa. Andra metoder kan användas



Foto: Henrik Alftan

som sannolik är bättre, t.ex. om läkarnas ordinationer av tester ändrats. Flera svenska kollegor, med Nils Tryding som pionjär, har genom åren studerat t.ex. hur kommunikation påverkar beteende. Mer finns på hans hemsida www.tryding.se (se under Education).

Sammanfattnings

Att kommunicera är lika viktigt som svårt. Det är inte en engångsåtgärd utan ett långvarigt arbete som kräver en genomtänkt kommunikationsstrategi för att uppnå bäst effekt. Liksom allt annat vi gör måste det finnas en plan med aim, materials and methods. Liksom inom forskningen måste varje experiment upprepas och upprepas. Liksom inom forskningen måste olika metoder användas för att kunna belysa samma frågeställning. Det räcker aldrig med ett budskap, i ett medium, en gång, till en mottagare.

Slutligen kan sägas att kommunikation är att lära sig. Förhoppningsvis är det alltid några mottagare som går från ett kommunikationstillfälle något mer kunniga. Men frågan är om det inte är kommunikatören själv, som genom att sätta sig in i frågeställningar, förmedla dem och diskutera dem med andra, som är den som vinner mest insikter. Det är min lärdom.

Nytt från NFKK

Blick mot Oslo med nya och gamla priser

Jarkko Ihäläinen



NFKK hade sitt styrelsemöte på Island den åttonde maj. Mötet tog plats på ett litet hotell på landsbygden och vi kunde se ånga komma upp från den vulkaniska marken mitt emot vårt mötesrumfönster. Island är geologiskt ett ungt land och har fortfarande mycket potential fast finansvikingarna har förlorat sin eld. En stor tack går till Ingunn och kolleger som tog hand om arrangemangen.

Styrelsen noterade att Sverige och Danmark har bytt ordföranden för sina nationella föreningar. Per Bjellerup och Nete Hornung var varmt välkomna. I fortsättningen kommer Lars Eikvar att ersätta Björn Bolann som nationellt representant för Norge och vi ser fram emot att möta Lars vid nästa styrelsemöte. Ny kassör i NFKK, Niklas Rye Jørgensen, jobbar på Klinisk Biokemisk Afdeling, Glostrup Hospital i Danmark. Jag ber om ursäkt för min felaktiga adressinformation i min tidigare Nytt från NFKK.

Aktiviteter kring Lorentz Eldjarn-priset fortsätter. Styrelsen godkände Palle Wangs förslag att en fond sätts upp i Danmark. Vetenskapliga principer för prisutdelningen formuleras av NFKK och styrelsen godkände förslaget från Tor-Arne Hagve och kolleger. De presenteras i detta nummer av KBN.

Med stor glädje kunde styrelsen också se en förnyelsen av Astruppriset. Finansiering av priset var länge hotad och i fjol i Helsingfors informerades det att det var sista prisutdelningen. Nu har dock Siemens tagit över finansieringsansvaret och NFKK får uppdatera några punkter i nuvarande regelverk, enligt våra vetenskapliga experters förslag. Linda Hilstedt koordinerar Astrupprisets fortsätta utveckling.

Both Eldjarn and Astrup Prizes are to be presented at the next meeting of Nordic Clinical Chemistry

in Oslo 2010. The Board heard a presentation from the organising committee. The preparations are well underway for "The best Nordic Congress – ever!" The organisers have set their aim high but they also work hard to achieve them. Look at www.labmed2010.no and see yourself!

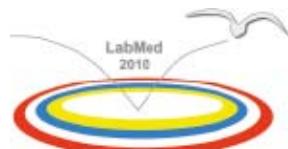
After a mildly negative economical result for 2008, the financial situation of NFKK is stable but there is not much of a surplus to finance new projects. The Board decided to support the sailing course for young Nordic colleagues ("Helene-kursen" named after the ship). In addition, Nordfond continues to support cross-border co-operation as usual. Nordfond-announcement can be found elsewhere in this KBN.

NFKKs websida utvecklas av projektgruppen som består till en början av Johan Bjerner och Jarkko Ihäläinen. Vi kontaktar sakkunniga kolleger och försöker förtäcka NFKKs närvär i cyberrymden. Yngre generation av kolleger har vant sig vid Internet 2.0 och NFKK som nätverkorganisation borde vara särskilt lämplig för existens på Webben.



Foto: Henrik Alftan

Labmed 2010 News Nr. 3



XXXII Nordic Congress in Medical Biochemistry

Facts of today – visions for tomorrow

Oslo, June 1-4 2010

General information

The planning of the scientific program, of the social activities, housing, invitation to sponsors and exhibitors are on the track according to our time schedule.

Find updated information on www.labmed2010.no

A taste of the scientific program

Plenary Lecture: Autoimmunity: Lessons from Coeliac Disease



Ludvig Sollid

Professor Ludvig M. Sollid, is the leader of Centre for Immune Regulation, Institute of Immunology, University of Oslo and Oslo University Hospital – Rikshospitalet, Oslo, Norway. He has been working with the basic immune and molecular mechanisms involved in coeliac disease for more than 25 years and has been able to resolve many of its

puzzling features.

Coeliac disease is an HLA-associated disorder of the small intestine which is caused by an inappropriate immune response to ingested gluten proteins. Clearly this is a food hypersensitivity disorder, but at the same time the disease has several autoimmune features.

The understanding of the pathogenesis of coeliac disease has made huge advances in recent years. This immune response is controlled by CD4+ T cells in the lamina propria that recognise gluten peptides in the context of disease predisposing HLA-molecules DQ2 or DQ8. These T cells are specific for proline- and glutamine-rich gluten peptides that are resistant to proteolysis and that have become posttranslationally modified (deamidated) by the enzyme transglutaminase 2 (TG2). Strikingly, coeliac disease patients produce antibodies to this same

enzyme when exposed to dietary gluten. Professor Sollid will discuss how the new insight in the pathogenesis of coeliac disease may help us to understand autoimmunity.

Vikingskipshuset The Viking Ship Museum

The Viking Ship Museum presents great viking ship discoveries from Gokstad, Oseberg and Tune as well as other finds from viking tombs around the Oslo Fjord. The world's two best-preserved wooden viking ships built in the 9th century are exhibited along with small boats, sledges, cart with exceptional ornamentation, implements, tools, harness, textiles and household utensils.



The Viking Ship Museum at Bygdøy
Foto: Gunnar Strom, VisitOslo

Nonfasting triglycerides, remnant lipoproteins, and cardiovascular disease

Anne Tybjærg-Hansen and Børge G. Nordestgaard

*Departments of Clinical Biochemistry, Rigshospitalet and Herlev Hospital, Copenhagen
at-h@rh.regionh.dk*



Despite the fact that most humans throughout the entire day find themselves in the nonfasting or postprandial state, plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins for cardiovascular risk prediction are usually measured in the fasting state (1-3). A main reason for this is the increase in triglyceride levels seen during a fat tolerance test, where patients typically eat or drink 1g fat per kg body weight (4-6). However, levels of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins after normal food intake only differ minimally from levels in the fasting state (7-8), most likely because most people during ordinary meals eat much less fat than during a fat tolerance test. Furthermore, levels measured in the nonfasting state may be as good as levels measured in the fasting state for cardiovascular risk prediction (7-8). In fact, elevated levels of nonfasting triglycerides as a marker of elevated remnant lipoprotein cholesterol may even be better at predicting elevated risk of cardiovascular disease than fasting levels (9-11), possibly because atherosclerosis partly is a postprandial phenomenon (12).

In the context of previous knowledge, we review

recent developments in the importance of nonfasting or postprandial hypertriglyceridemia for the development of cardiovascular disease. We use the words nonfasting and postprandial synonymously; however, a nonfasting sample often implies a sample taken at any time in relation to previous meals while a postprandial sample can imply a sample taken at a fixed time after a standard meal, such as after an oral fat tolerance test (4-6).

Fasting and nonfasting triglyceride levels

In a cross-sectional sample of 10,300 individuals from the Danish general population, the Copenhagen General Population Study, plasma triglycerides increased already 1 hour after the last meal and stayed elevated for up to 7 hours (Figure 1)(9). In an even larger sample from the same general population

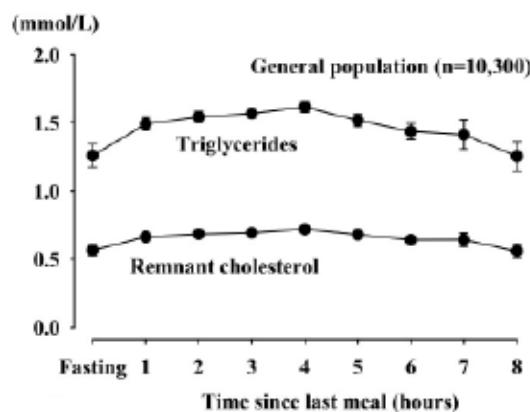


Figure 1. Triglyceride levels and levels of remnant lipoprotein cholesterol as a function of time since the last meal. Values are means and 95% confidence intervals for participants in the Copenhagen General Population Study. Modified from Nordestgaard et al. JAMA 2007; 298: 299-308.

including 33,400 individuals, and compared with fasting levels, total cholesterol, low density lipoprotein (LDL) cholesterol, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, and albumin levels were reduced up to 3-5 hours after the last meal, triglycerides levels were increased up to 6 hours after the last meal, while non-HDL cholesterol, apolipoprotein A1, and apolipoprotein B levels did not change in response to normal food intake (8). After adjustment for albumin levels and thus for hemodilution due to fluid intake, total and LDL cholesterol levels no longer changed in response to normal food intake; however, triglycerides still increased modestly.

In agreement with these results, data from 26,330 women from the Women's Health Study found no substantial changes in the distributions of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as a function of time since the last meal, except for triglycerides (7). The highest levels of triglycerides were observed 4-5 hours postprandially, exactly as seen in Figure 1.

Remnant lipoprotein cholesterol and nonfasting triglycerides

Remnant lipoproteins can be defined and measured in many sophisticated ways, all likely more precise than the definition used in two recent papers (9,11). However, these papers used the simplest possible definition, one that can be used by any clinician as long as lipid profile measurements are performed in the nonfasting state: remnant lipoprotein cholesterol can be calculated as nonfasting total cholesterol minus nonfasting LDL cholesterol minus nonfasting HDL cholesterol.

This calculation of remnant lipoprotein cholesterol includes remnants from chylomicrons as well as remnants from very low density lipoprotein (VLDL). Because degradation of triglycerides in chylomicrons and VLDL begins immediately after these particles are released into plasma, practically all triglyceride-rich lipoproteins in plasma can be classified as remnants, except in the rare case of familial lipoprotein lipase deficiency with chylomicronemia seen in 1 in a million. In other words, this definition of remnant lipoprotein cholesterol includes cholesterol in all triglyceride-rich lipoproteins.

The increase in nonfasting triglycerides seen after normal food intake was mimicked by an increase in remnant lipoprotein cholesterol (Figure 1). In accor-

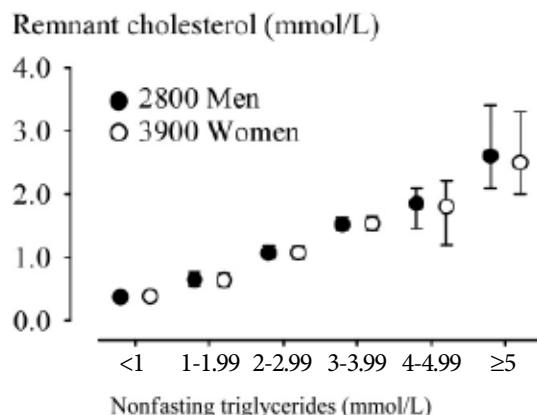


Figure 2. Levels of remnant lipoprotein cholesterol as a function of levels of nonfasting triglycerides. Values are medians and interquartile ranges. These levels were measured in participants from the general population, the Copenhagen City Heart Study, who had nonfasting triglycerides and remnant lipoprotein cholesterol measured at the 1991-1994 examination. Modified from Nordestgaard et al. JAMA 2007; 298: 299-308.

dance with this, the measured levels of nonfasting triglycerides after normal food intake marked increased levels of cholesterol in remnant lipoproteins in both women and men (Figure 2)(9).

Nonfasting triglycerides and myocardial infarction

In a prospective study with 26 years follow-up of 13,000 individuals from the Danish general population, the Copenhagen City Heart Study, nonfasting triglycerides ≥ 5 mmol/L predicted a 17 and 5 fold risk of myocardial infarction in women and men (Figure 3) (9). Because most previous studies (13-15) have focused on fasting levels of triglycerides that exclude remnant lipoproteins, and studied mainly tertiles or quartiles rather than very high levels of triglycerides, the demonstrated predictive ability of nonfasting triglycerides ≥ 5 mmol/L has previously gone unnoticed. Also, the association between stepwise increases in levels of nonfasting triglycerides and stepwise increases in risk of myocardial infarction with no threshold effect was previously undetected.

Importantly, a simultaneously published paper from the Women's Health Study found that upper versus lower tertiles or quintiles of nonfasting triglycerides, but not fasting levels, associated with

(Fortsætter side 12)

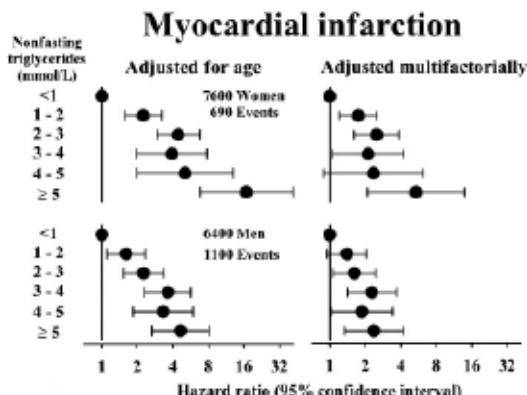


Figure 3. Hazard ratios for myocardial infarction for increasing levels of nonfasting triglycerides. Values are from the Copenhagen City Heart Study with 26 years follow-up. Multifactorial adjustment was for age, total cholesterol, body mass index, hypertension, diabetes mellitus, smoking, alcohol consumption, physical inactivity, lipid lowering therapy, and in women also for postmenopausal status and hormone replacement therapy. Modified from Nordestgaard et al. JAMA 2007; 298: 299-308.

(Fortsat fra side 11)

increased risk of cardiovascular events (10). Although previous studies found that elevated fasting triglycerides also associate with increased risk of cardiovascular disease (13-15), the study from the Women's Health Study (10) together with the one from the Copenhagen City Heart Study (9) highlight that nonfasting levels of triglycerides may be better than fasting levels at predicting risk of cardiovascular disease.

In women versus men, a better predictive ability of nonfasting triglycerides was observed for myocardial infarction (Figure 3)(9), in accordance with similar findings for fasting triglyceride levels in some (13-14), but not all previous meta-analyses (15). However, stratified analyses suggested that the predictive ability of nonfasting triglycerides in young men who only consume small amounts of alcohol was similar to that in women (9). Therefore, because large alcohol intake often leads to increased triglyceride levels, and because these triglyceride-rich lipoproteins may differ from most remnant lipoproteins present in nonfasting plasma (type V versus type IIb hyperlipidemia), it is likely that high alcohol intake may have confounded the association between triglyceride levels and risk of myocardial infarction and ischemic heart disease in recent (9) and former studies.

There are other very different diseases and causes

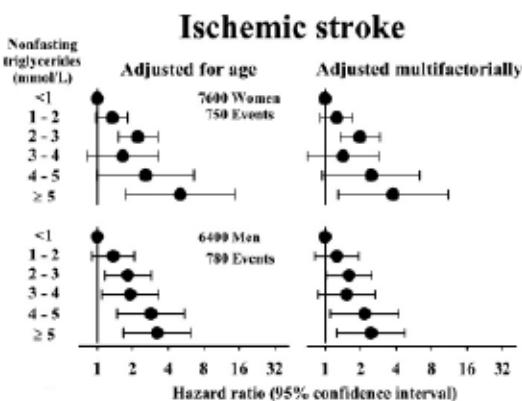


Figure 4. Hazard ratios for ischemic stroke for increasing levels of nonfasting triglycerides. Values are from the Copenhagen City Heart Study with 31 years follow-up. Multifactorial adjustment was for age, total cholesterol, hypertension, smoking, alcohol consumption, atrial fibrillation, lipid lowering therapy, and in women also for postmenopausal status and hormone replacement therapy. Modified from Freiberg et al. JAMA 2008; 300: 2142-2152.

for hypertriglyceridemia, and that may be another major reason for the previous uncertainty of whether or not hypertriglyceridemia leads to increased risk of cardiovascular disease. Patients with extreme triglyceride levels above 25 mmol/L and the familial chylomicronemia syndrome rarely develop atherosclerosis (16). With such extreme triglyceride levels, most lipoproteins in plasma are very large (17). These giant lipoproteins do not enter into the arterial intima (18), and therefore cannot cause atherosclerosis. However, patients with moderate hypertriglyceridemia and conditions like familial hypertriglyceridemia, familial combined hyperlipidemia, metabolic syndrome, and remnant hyperlipidemia do in fact develop premature atherosclerosis (16,19-21). At moderate hypertriglyceridemia, chylomicron remnants and VLDL remnants are present in plasma. These smaller triglyceride-rich lipoproteins do enter into the arterial intima (22-23), appear to be preferentially trapped within the arterial wall (24-26), and thus may cause atherosclerosis leading to myocardial infarction, ischemic heart disease and ultimately early death.

Nonfasting triglycerides and ischemic stroke

The role of triglycerides in risk of ischemic stroke was previously controversial (27-34). Even the most recent European and American guidelines on stroke

prevention do not recognize elevated triglycerides as a risk factor for stroke (3,27).

By using a prospective study with 31 years follow-up of 13,000 individuals from the Danish general population, the Copenhagen City Heart Study, and by using nonfasting rather than the fasting triglycerides used in several former studies (27,30,32-33), and by having more statistical power than any former study (27-34), a previously unnoticed association between stepwise increases in levels of nonfasting triglycerides and stepwise increases in risk of ischemic stroke with no threshold effect was recently reported (Figure 4)(11). The highest levels of nonfasting triglycerides ≥ 5 mmol/L predicted a 5 and 3 fold increased risk of ischemic stroke in women and men in the general population.

In support of these findings, the Women's Health Study showed that upper versus lower tertiles of nonfasting triglycerides, but not fasting triglycerides, associated with increased risk of ischemic stroke (10). This and other former studies on fasting as well as on nonfasting triglycerides did not attempt to associate very high levels of triglycerides with risk of ischemic stroke (10,27-33), and therefore were not able to detect that very high levels of triglycerides associate with very high risk of ischemic stroke in both men and women as shown in Figure 4.

Nonfasting triglycerides and early death

In a prospective study with 26 years follow-up of 13,000 individuals from the Danish general population, the Copenhagen City Heart Study, nonfasting triglycerides ≥ 5 mmol/L predicted a 4 and 2 fold risk of early death in women and men (Figure 5)(9). A previously unnoticed association between stepwise increases in levels of nonfasting triglycerides and stepwise increases in risk of early death with no threshold effect was also detected.

Because myocardial infarction and ischemic stroke are major causes of early death, and given the above-mentioned results (Figure 3 and 4), it seems likely that the association between elevated levels of nonfasting triglycerides and risk of early death is caused by death from these two diseases secondary to development of atherosclerosis.

From nonfasting triglycerides and remnants to atherogenesis

Mechanistically, the explanation for the above-

(Fortsætter side 14)

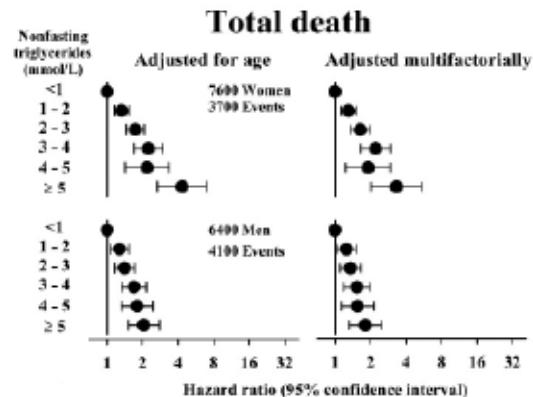


Figure 5. Hazard ratios for total death for increasing levels of nonfasting triglycerides. Values are from the Copenhagen City Heart Study with 26 years follow-up. Multifactorial adjustment was for age, total cholesterol, body mass index, hypertension, diabetes mellitus, smoking, alcohol consumption, physical inactivity, lipid lowering therapy, and in women also for postmenopausal status and hormone replacement therapy. Modified from Nordestgaard et al. JAMA 2007; 298: 299-308.



Foto: Henrik Alfthan

(Fortsat fra side 13)

mentioned findings is most likely straightforward. Elevated levels of nonfasting triglycerides indicate the presence of elevated levels of remnant lipoproteins (Figure 2 and 6), lipoproteins that directly cause atherosclerosis and consequently myocardial infarction, ischemic stroke and ultimately early death. Thus, it is not triglycerides per se that cause atherosclerosis, but rather the cholesterol content of remnant lipoproteins.

Because all human cells can degrade triglycerides but not cholesterol, and because remnant lipoproteins like LDL carry large amounts of cholesterol, it is the cholesterol content of remnant particles that upon entrance into the arterial intima (Figure 6) can cause atherosclerosis (12,35-36). Like LDL, remnant lipoproteins can enter into the arterial intima (22-23), and may even be trapped preferentially within the arterial wall (24-26,37).

In support of this mechanism, patients with genetically large amounts of remnant lipoproteins in plasma develop premature atherosclerosis (20). In addition, patients with familial forms of hypertriglyceridemia have an increased risk of cardiovascular death (19). Also, heterozygosity for genetic defects in lipoprotein lipase, the plasma enzyme degrading triglycerides, associates with elevated triglyceride levels as well as increased risk of ischemic heart disease (16,38-39). Furthermore, patients with the familial chylomicronemia syndrome who during part of their life due to lipid lowering treatment have triglyceride levels down to 3-7 mmol/L, and consequently have remnant lipoproteins in plasma rather than chylomicrons, also develop premature atherosclerosis (40).

Conclusion

These new data open the possibility that nonfasting rather than fasting lipid profiles are used for cardiovascular risk prediction. Also in favor of the use of nonfasting samples is the fact that lipid profiles change minimally in response to normal food intake (7-8). On the basis of such evidence, hospitals in Copenhagen and elsewhere in Denmark now use nonfasting lipid profiles as the standard and suggest a repeat fasting triglyceride measurement only if nonfasting concentrations exceed 4 mmol/L (352 mg/dL) (41-42). If implemented, this would simplify blood sampling for lipid measurements for millions of patients worldwide. Indirectly, this then pos-

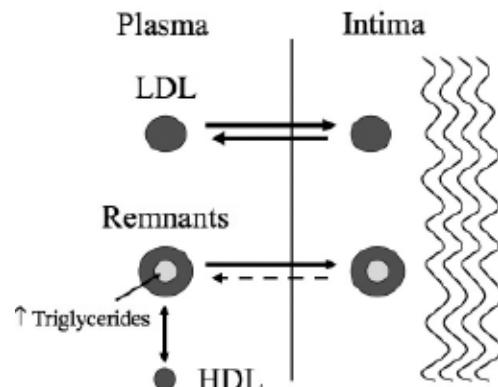


Figure 6. Influx and efflux of LDL and remnant lipoproteins between plasma and the arterial intima, the site of atherosclerotic lesions. Cholesterol (dark gray) and triglycerides (light gray) exchange between triglyceride-rich remnant lipoproteins and HDL particles. Therefore, high levels of triglycerides associate with low levels of HDL cholesterol, and vice versa.

sibly could improve compliance for lipid lowering treatments.

Acknowledgement

Supported by a Specific Targeted Research Project grant from the European Union, Sixth Framework Programme Priority (FP-2005-LIFESCIHEALTH-6) contract 037631, the Danish Medical Research Council, the Danish Heart Foundation, the Research Fund at Rigshospitalet, Copenhagen University Hospital, and the Copenhagen County Foundation.



Foto: Henrik Alfthan

References

- Rifai N, Warnick GR. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 4th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006:903-82.
- Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
- Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Executive summary. *Atherosclerosis* 2007;194:1-45.
- Cohn JS, McNamara JR, Cohn SD, Ordovas JM, Schaefer EJ. Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *J Lipid Res* 1988;29:469-79.
- Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein cholesterol concentrations in the plasma of human subjects as measured in the fed and fasted states. *Clin Chem* 1988;34:2456-9.
- Edelstein C, Fredenrich C, Schuelke JC, Jensen WE, Sitrin M, Iverius PH, Scanu AM. Hypoalphalipoproteinemia: postprandial response of subjects with preprandial normotriglyceridemia and hypertriglyceridemia to various diets. *Metabolism* 1993;42:247-57.
- Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting lipids and apolipoproteins for predicting incident cardiovascular events. *Circulation* 2008; 118:993-1001.
- Langsted A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Fasting and nonfasting lipid levels: influence of normal food intake on lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and cardiovascular risk prediction. *Circulation* 2008; 118; 2047-2056.
- Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007;298:299-308.
- Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA*. 2007;298:309-316.
- Freiberg JJ, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Nordestgaard BG. Nonfasting triglycerides and risk of ischemic stroke in the general population. *JAMA* 2008; 300: 2142-2152.
- Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-85.
- Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11:2-14.
- Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3:213-219.
- Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation* 2007; 115:450-458.
- Brunzell JD, Deeb SS. Familial lipoprotein Lipase Deficiency, Apo C-II Deficiency, and Hepatic Lipase Deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. McGraw-Hill, 2001: 2789-2816.
- Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Reduced atherogenesis in cholesterol-fed diabetic rabbits. Giant lipoproteins do not enter the arterial wall. *Arteriosclerosis* 1988; 8:421-428.
- Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res* 1988; 29:1491-1500.
- Austin MA, McKnight B, Edwards KL, Bradley CM, McNeely MJ, Psaty BM et al. Cardiovascular disease mortality in familial forms of hypertriglyceridemia: A 20-year prospective study. *Circulation* 2000; 101:2777-2782.

(Fortsætter side 16)

(Fortsat fra side 15)

20. Mahley RW, Rall SC. Type III Hyperlipoproteinemia (Dysbeta lipoproteinemia): The Role of Apolipoprotein E in Normal and Abnormal Lipoprotein Metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. McGraw-Hill, 2001: 2835-2862.
21. Sarti C, Gallagher J. The metabolic syndrome: prevalence, CHD risk, and treatment. *J Diabetes Complications* 2006; 20:121-132.
22. Shaikh M, Wootton R, Nordestgaard BG, Baskerville P, Lumley JS, La Ville AE et al. Quantitative studies of transfer *in vivo* of low density, Sf 12-60, and Sf 60-400 lipoproteins between plasma and arterial intima in humans. *Arterioscler Thromb* 1991; 11:569-577.
23. Nordestgaard BG, Tybjærg-Hansen A, Lewis B. Influx *in vivo* of low density, intermediate density, and very low density lipoproteins into aortic intimas of genetically hyperlipidemic rabbits: Roles of plasma concentration, extent of aortic lesion, and lipoprotein particle size as determinants. *Arterioscler Thromb* 1992;12:6-18.
24. Nordestgaard BG. The vascular endothelial barrier-selective retention of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:269-273.
25. Nordestgaard BG, Wootton R, Lewis B. Selective retention of VLDL, IDL, and LDL in the arterial intima of genetically hyperlipidemic rabbits *in vivo*. Molecular size as a determinant of fractional loss from the intima-inner media. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:534-542.
26. Rutledge JC, Mullick AE, Gardner G, Goldberg IJ. Direct visualization of lipid deposition and reverse lipid transport in a perfused artery : roles of VLDL and HDL. *Circ Res* 2000; 86:768-773.
27. Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Dawber TR. Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. The Framingham Study. *Arch Intern Med*. 1981;141:1128-1131.
28. Haheim LL, Holme I, Hjermann I, Leren P. Risk factors of stroke incidence and mortality. A 12-year follow-up of the Oslo Study. *Stroke*. 1993;24:1484-1489.
29. Lindenstrom E, Boysen G, Nyboe J. Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. *BMJ*. 1994;309:11-15.
30. Simons LA, McCallum J, Friedlander Y, Simons J. Risk factors for ischemic stroke: Dubbo Study of the elderly. *Stroke*. 1998;29:1341-1346.
31. Bowman TS, Sesso HD, Ma J et al. Cholesterol and the risk of ischemic stroke. *Stroke*. 2003;34:2930-2934.
32. Shahar E, Chambliss LE, Rosamond WD et al. Plasma lipid profile and incident ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke*. 2003;34:623-631.
33. Patel A, Barzi F, Jamrozik K et al. Serum triglycerides as a risk factor for cardiovascular diseases in the Asia-Pacific region. *Circulation*. 2004;110:2678-2686.
34. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ et al. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group. *Circulation*. 2006;113:e873-e923.
35. Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem* 1995;41:153-8.
36. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP, Cokkinos DV. Clinical relevance of postprandial lipaemia. *Curr Med Chem* 2005;12:1931-45.
37. Proctor SD, Vine DF, Mamo JC. Arterial retention of apolipoprotein B(48)- and

(Fortsætter side 18)

IDS-iSYS - Our Fully Automated Speciality Analyzer

Assay menu

Calciotropic Hormones

25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D*
Intact PTH*
Bioactive PTH (1-84)*

Bone Turnover

Serum CrossLaps® (CTX-I)*
BoneTRAP® (TRACP 5b)*
N-MID® Osteocalcin*
Ostase® BAP*

Growth Disorders

hGH*
IGF-I*
IGF-BP3*

Hypertension

Renin*
Aldosterone*
* in development



Automated Vitamin D now available!

Immunoassays

Bone Markers

25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D
Intact PTH (1-84)
OSTASE® BAP
N-MID® Osteocalcin
BoneTRAP® (TRACP 5b human)
CrossLaps® (CTX-I)



Cartilage Markers

Urine CartiLaps® (CTX-II)
Total Aggrecan



Please ask for our full product catalogue including all pre-clinical markers.

Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic)

Marielundvej 30, 2. Sal, 2730 Herlev, Denmark

Tel: +45 44 84 0091 Email: info.nordic@idsplc.com www.idsplc.com

Visit www.idsplc.com for an extended range of products

(Fortsat fra side 16)

- B(100)-containing lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13:461-470.
38. Hokanson JE. Functional variants in the lipoprotein lipase gene and risk cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 1999; 10:393-399.
 39. Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. *Circulation.* 1999; 99:2901-2907.
 40. Benlian P, De Gennes JL, Foubert L, Zhang H, Gagne SE, Hayden M. Premature atherosclerosis in patients with familial chylomicronemia caused by mutations in the lipoprotein lipase gene. *N Engl J Med.* 1996; 335:848-854.
 41. Nordestgaard BG, Benn M. Fasting and non-fasting LDL cholesterol: To measure or calculate? *Clin Chem.* 2009; 55:845-847.
 42. Nordestgaard BG, Hilsted L, Stender S. Plasmalipider hos ikkefastende patienter og signalværdier på laboratorievar. Dansk Selskab for Klinisk Biokemi. Ugeskr Laeger 2009; 171:1093.

“The Arctic Challenge 2010”

Course in Scientific Writing and Publishing

February 9-12, 2010

Finse 1222, Norway

The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation (SJCLI) and Nordic Society of Clinical Chemistry (NFKK) hereby invite colleagues from the Scandinavian countries to participate in an extensive course in scientific writing and publishing. The Editorial Board of SJCLI will be responsible for the programme.

The aim of the course is to increase the awareness of the participants of the importance of scientific writing and to train them in writing a scientific manuscript.

The course will be organized in both structured lectures and in groups of participants writing a scientific manuscript based on given data and literature.

Finse is located at the southernmost part of Europe with an arctic climate at 1222 meter above the sea level and only accessible by train from either Bergen or Oslo (www.finse1222.no and www.finse.com).

This remote location has been selected in order to find the necessary calm and tranquillity for maximal

focus on the activities during the course as well as for team-building and net-work forming.

The course is open for Scandinavian/Nordic colleagues within the field of medical biochemistry/ clinical biochemistry/clinical chemistry primarily for those in postgraduate specialist training and/or involved in research projects.

The maximum numbers of participants is 20. The official language is English or a language understandable for all participants.

All expences, including travel and housing will be fully financed by SJCLI and NFKK.

Registration (with description of scientific background and present position) before October 1st, 2009 to Managing Editor Tor-Arne Hagve, tor.arne.hagve@ahus.no (Center of Laboratory Medicine, Akershus University Hospital, 1478 Lørenskog, Norway). Phone: 47-90510956

For further information: www.kkno.org

SafirLIS Deltrix - ett ÄKTA multidisciplinärt LIS

- › Ett komplett stöd från provtagning till provsvar - stöd för hela laboratorieprocessen
- › Förenklad och förbättrad driftsituation - ett system istället för flera
- › Nya medicinska möjligheter - patientdata tillgängligt över disciplingränserna i ett och samma system
- › Förenklad integration mot omgivande vårdssystem - gränssnitt mot endast ett laboratoriedatasystem
- › Förbättrad kvalitet, säkerhet och spårbarhet - data på ett ställe i ett och samma system

SafirLIS Deltrix är nästa generations laboratoriedatasystem med stöd för klinisk kemi, mikrobiologi och patologi/cytologi.



- STRAIGHT TO QUALITY CARE

profdoc[®]

Profdoc Lab AB
Cirkelgatan 14
SE-781 72 Borlänge
T: +46 243 21 76 00
F: +46 243 21 76 01
E: info.lab@profdoc.com

Profdoc Norge AS
Postboks 163
NO-1325 Lysaker
T: +47 815 69 069
F: +47 219 36 301
E. firma.post@profdoc.no

Profdoc Danmark A/S
Messingvej 35
DK-8940 Randers SV
T: +45 8861 2000
F: +45 6980 4600

www.profdoc.se

Klinisk immunologi for kliniske biokemikere: Anti-neutrofilocyt cytoplasmaantistoffer (ANCA)

Allan Wiik

Afdeling for klinisk biokemi og immunologi, Statens Serum Institut, København

asw@dadlnet.dk



Anti-neutrofilocyt cytoplasmaantistoffer (ANCA) er en samlebetegnelse for autoantistoffer rettet mod cytoplasmabestanddele i neutrofilocytter og monocyetter. Antistofferne bestemmes ved screening på et blandet leukocytsubstrat (humane buffy coat celler) med indirekte immunfluorescensteknik, og ANCA-tilstedsbevis konfirmeres ved antigenspecifik metode som ELISA eller lign. Positivitet ved brug af begge metoder giver stor sikkerhed for, at serum stammer fra en patient med nekrotiserende småkarvakulit som f.eks. Wegeners granulomatose, mikroskopisk polyangiitis eller Churg-Strauss syndrom. Neutrofilocytspesifikke antistoffer (NSA) af anden art ses meget hyppigt ved kronisk inflammatoriske sygdomme, kendtegnet ved konstant influks af neutrofilocytter i de betændte væv, såsom reumatoïd artrit, ulcerøs colit, sklerosende kolangit og autoimmun hepatit. Differentieringen mellem almindeligt forekommende NSA og ANCA er derfor en for klinikernes diagnostik særlig vigtig opgave.

Anti-neutrofilocyt cytoplasmaantistoffer (ANCA) udgør en klinisk betydningsfuld, men relativt lille population af neutrofilocytspesifikke autoantistoffer

(NSA) (1). ANCA er rettet mod proteiner i neutrofilocytters granula såsom proteinase 3 (PR3), myeloperoxidase (MPO), og i nogle tilfælde mod leukocytelastase (EL) eller "bacterial permeability-increasing protein" (BPI). Alle disse granulabestanddele har vigtige funktioner i organismens forsvar mod mikrober: EL og PR3 som proteolytiske enzymer, MPO som oxyderende enzym til dannelse af mikrobicide oxygenradikaler, og BPI som fagocytoseforstærkende element i fjernelsen af såvel virus som bakterier.

Ved en række inflammatoriske sygdomme præget af stadig influks af neutrofilocytter og monocyetter i de betændte væv, dannes antistoffer rettet mod mange forskellige bestanddele i disse celler, såvel cellekærner som cytosol og granula (2). I disse tilfælde finder man i reglen ikke ANCA rettet mod PR3, MPO, EL eller BPI eller blot gråzonereaktivitet med disse. De nævnte NSA synes at være dannet for at hjælpe organismen af med henfaldende betændelsesceller som led i homøostaseregulering i vævet.

Hvor man i sera fra patienter med klassiske ANCA rettet mod PR3, MPO, EL, eller BPI, som regel kun finder reaktion mod et enkelt antigen, finder man ved de svage, bredt reagerende NSA oftest reaktivitet mod multiple antigener såsom lysozym, kathepsin G, katalase, azurocidin, laktotferrin, α -enolase, histon 1, lamin B1 eller high mobility group (HMG) 1 og 2 (2).

Klassisk ANCA associeret med nekrotiserende vaskulit

ANCA findes typisk hos patienter med såkaldte primære småkarvakulit-sygdomme såsom Wegeners granulomatose (WG), mikroskopisk polyangiitis (MPA), Churg-Strauss syndrom (CSS) og mere lokaliserede former af disse f.eks. "renal-limited rapidly progressive glomerulonephritis" (RPGN), samt øvre luftvejsformer af disse såsom granulomatøs betæn-

delse i larynx, bihuler, ofte medinddragende indre øre og øjenhuler (3,4). Disse betragtes som lokaliserede granulomatøse former af sygdommene WG og CSS, som ubehandlet vil sprede sig til andre væv og organer.

Klassiske ANCA rettet mod de nævnte azurofile granulaproteiner kan også findes ved medikamentelt inducerede syndromer såsom lupus-lignende tilstande, hvor hudvaskulitter, artralgier og myalger dominerer det kliniske billede, mens alvorligere manifestationer fra nyrer og lunger forekommer mere sjældent (5). Medikamenter, der i dag kan udløse sådanne lupus-lignende manifestationer, er hyppigst anti-tyreoide midler såsom propylthiouracil og met-himazol, men tillige epilepsimidler, visse centralt virkende analgetica, penicillamin, antibiotica givet som langtidsbehandling og visse hjerterytme-regulerende midler. I flere af disse patienters serum finder man ANCA rettet mod flere end ét klassisk ANCA-antigen f.eks. mod EL, MPO, PR3 i en tilfældig kombination (1,5). Karakteristisk finder man også anti-nukleære antistoffer (ANA) rettet mod histoner, tillige med IgM-klasse autoantistoffer mod β -2 glykoprotein I, i daglig tale ofte kaldet anti-kardiolipinantistof eller anti-fosfolipidantistof (6).

Det klinisk vigtige i erkendelsen af medikamentelt provokerede tilstande er åbenlys, idet patienterne ofte går i remission efter kort tid, når det inducerende medikament seponeres, og kun en mindre del af patienterne må yderligere behandles med immunsuppressive midler for at fjerne syndromet.

Det skal bemærkes, at ANCA rettet mod EL tillige kan forekomme ved kokainmisbrug. Kokain indtages i reglen gennem nasal inhalation, og patienterne udvikler gradvis destruktion af næseskillevæggen med saddelnæse, hvorfor tilstanden kan forveksles med saddelnæse ved WG (7). Også i disse kokaininducerede tilfælde ser man af og til ANCA rettet mod flere klassiske ANCA-antigener.

Neutrofilocytspesifikke non-ANCA antistoffer

De mere uspecifikke NSA finder man udbredt ved reumatoïd artrit, Felty's syndrom, ulcerøs kolit, primær scleroserende kolangit, kronisk aktiv autoimmun hepatitis type 1, Sweets syndrom m. fl. (2). I ganske få tilfælde – såsom reumatoïd artrit med komplicerende sekundær vaskulit og ved Felty's syndrom (reumatoïd artrit, splenomegali og autoimmun neutropeni) – kan man se ANCA rettet mod laktoferrin, men samtidig

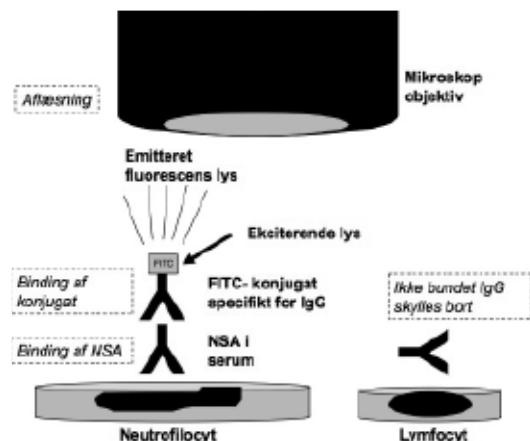
(Fortsætter side 22)

Tabel 1. Forekomst, tilnærmet hyppighed og autoantigene målmolekyler ved en række kronisk inflammatoriske vaskulitter og øvrige medicinske tilstande. Procenter betegner disses forekomst i Europa, men andre frekvenser og antistoffer kan forekomme i andre befolkninger i verden.

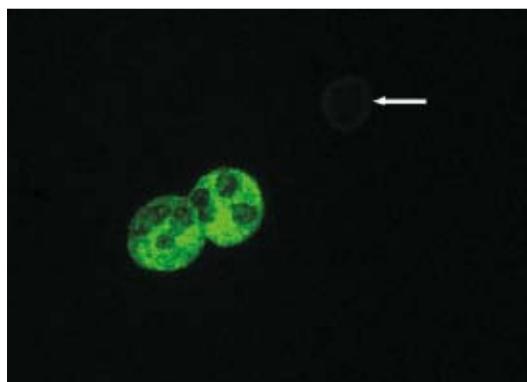
Sygdomme:	IIF ANCA frekvens::	Autoantigener:
Wegeners granulomatose	C-ANCA (70-80%) P-ANCA (10-15%)	PR3 MPO
Mikroskopisk polyangiitis	C-ANCA (15-30%) P-ANCA (50-70%)	PR3 MPO
Churg-Strauss syndrom	C-ANCA (15-20%) P-ANCA (30-40%)	PR3 MPO
Medikamentelt LE-syndrom	Mest P-ANCA	MPO,EL,AZ,PR3,LF
Reumatoïd artrit	NSA (30-70%)	Mange kærne og cytoplasma proteiner
Systemisk lupus erythematosus	NSA (20-30%)	LF
Ulcerøs kolit	NSA (50-70%)	LF,CG,BPI m.fl.
Skleroserende cholangit	NSA (70-80%)	Mange kærne og cytoplasma proteiner
Autoimmun hepatitis type 1	NSA (40-50%)	Mange kærne og cytoplasma proteiner

Forkortelser: ANCA: anti-neutrofilcyt cytoplasma antistof, AZ: azurocidin, BPI: bacterial permeability-increasing protein, C-ANCA: cytoplasmic ANCA, CG: cathepsin G, EL: elastase, IIF: indirekte immunfluorescens, LE-syndrom: lupus erythematosus lignende syndrom, LF: laktoferrin, MPO: myeloperoxidase, NSA: neutrofilcyt-specifikt antistof, PR: proteinase 3.

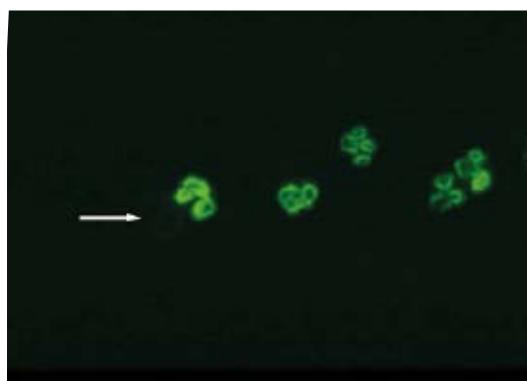
(Fortsat fra side 21)



Figur 1. Princip i IIF-bestemmelse af IgG-klasse ANCA/NSA på ætanol fikseret, blandet leukocytsubstrat.



Figur 2. Typisk C-ANCA. Hvid pil viser negativ lymfocyt, hvilket bestyrker at antistoffet er neutrofilspecifikt.



Figur 3. Typisk P-ANCA. Hvid pil viser negativ eosinofil leukocyt. Lymfocyter er i dette billede usynlige.

findes så multiple antistoffer mod neutrofilocytters kerne- og cytoplasmabestanddele. I disse patienter danner NSA ofte cirkulerende immunkomplekser med reumatoide faktorer (2, 8). Ligeledes ser man hos nogle patienter med ulcerøs kolit (specielt i kombination med scleroserende kolangit) ANCA rettet mod kathepsin G eller laktoferrin, men disse kan ikke isoleret anvendes som markører for sygdommen p.g.a. deres spredte forekomst også ved andre kronisk inflammatoriske tilstande. Også her udgør de blot en lille del af de forekommende NSA.

Tabel 1 opsummerer forekomst og hyppighed af ANCA og NSA ved en række kronisk inflammatoriske sygdomme, samt de mest kendte antigener mod hvilke disse er rettede.

Strategi ved undersøgelse for NSA og ANCA i laboratoriet

Ved international konsensus er det vedtaget, at ANCA skal defineres som neutrofilspecifikke autoantistoffer ved undersøgelse med indirekte immunfluorescens(IIF)-teknik kombineret med påvisning af antistoffer rettet specifikt mod et granuloprotein (9, 10).

Indirekte immunfluorescensteknik

Den vedtagne teknik til påvisningen med IIF blev beskrevet i 1988 under den første internationale workshop om ANCA og vaskulitter i København (11). Her anbefales brug af vaskede "buffy coat" celler fra normale donorer som substrat og IgG-specifikt konjugat som detektionsantistof. I tiden herefter har kommercielle firmaer imidlertid produceret substrater bestående af isolerede neutrofilocyter, hvorved aflæseren af IIF-reaktioner ikke direkte kan se, om en positiv reaktion er specifik for neutrofilocyter/ monocyter som oprindeligt anbefalet. En række andre substrater såsom HEp-2 celler eller vævssnit benyttes i stedet for buffy coat lymfocyter til at udelukke forekomst af ANA resp. non-ANCA antistoffer mod cytoplasma. Fig. 1 illustrerer princippet i bestemmelsen af NSA/ANCA ved IIF-teknik. Fig. 2 og 3 illustrerer IIF-fund af klassisk vaskulit-associeret ANCA rettet mod PR3, resp. mod MPO. Det lidt ejendommelige billede af MPO-antistoffets reaktion med cellekerner og disses nære omgivelser skyldes et artefakt betinget af brugen af ætanol til fiksering af cellerne på glas (1).

Hos patienter med reumatoid artrit, ulcerøs colit og kronisk hepatit finder man IIF-mønstre, som er langt mindre karakteristiske, varierende fra farving af hele cellekæren til farvning af kærnens membran med eller uden farvning af det omliggende cytoplasma. Disse såkaldte "atypiske" ANCA-reaktioner viser blot, at mange forskellige antistoffer mod neutrofilcytter reagerer med hvert sit antigen i blandingsmønstre, der ikke er så distinkte som ANCA (1, 9, 10). En nøjagtig beskrivelse af teknikker, fortolkning og fejlmuligheder findes i senere litteratur (1, 3).

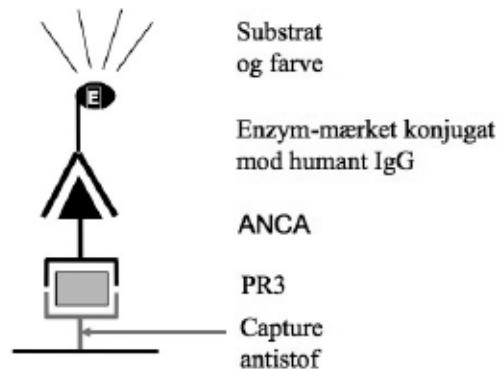
Videre undersøgelse af NSA

Når IgG-NSA/ANCA er fundet med IIF-metode, bliver det næste trin undersøgelse for antistoffer rettet mod et klassisk ANCA-antigen. Dette sker i de fleste tilfælde ved ELISA-teknik med anvendelse af et oprenset granulumprotein som antigen, eksempelvis PR3, MPO, EL eller BPI (1, 3).

Andre teknikker baseret på antigen direkte bundet til faste faser som f.eks. mikro-chips, Luminex-partikler etc. anvendes på samme vis til identifikation af antigenreaktivitet og kvantificering af det specifikke antistof (1, 9, 10). Alle sera, som er indsendt til ANCA undersøgelse på mistanke om ANCA-associeret sygdom og som findes at indeholde IgG NSA, skal videreundersøges, uanset hvilket IIF-mønster man finder ved den primære undersøgelse, da der meget vel kan gemme sig en klassisk ANCA rettet mod PR3, MPO, EL eller BPI bag et ukarakteristisk NSA-mønster. Forekomst af ANCA rettet mod BPI synes at få stor betydning i evaluering af prognosen for patienter med cystisk fibrose (11). BPI-ANCA forekommer dog tillige hyppigt ved ulcerøs colit, infektioner i hjerteklapper eller shunter og ved kronisk bronkitis og bronkiektaser, formentlig som et led i bekämpelse af bakterier, hvor BPI har en rolle i bortskaffelsen af disse ved fagocytose (2).

Indirekte antigenbindingsmetoder

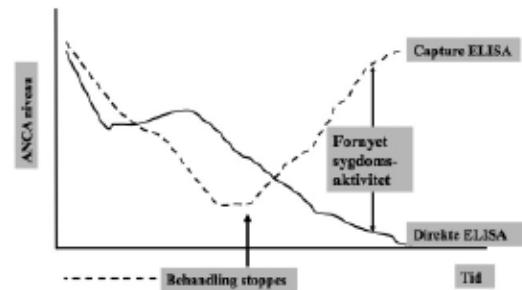
I de senere år er fremkommet fast-fase teknikker baseret på indirekte binding af antigen – især PR3 – ved hjælp af et specifikt monoklonalt museantistof ("capture" antistof) som primært coated protein (Fig. 4). Det specifikke bundne antigen vil herefter blive tilgængeligt for ANCA-reaktion med flere epitoper på antigenet og formentlig tillige bevare en mere nativ konformation, hvilket har betydning for optimal antistofreaktion (1, 3). Med denne teknik



Figur 4. Princip i capture-ELISA til bestemmelse af IgG- klasse PR3-ANCA.

synes det nu sikkert, at en bedre monitorering af ANCA-niveau kan ske. ANCA-niveauet afspejler i de fleste tilfælde sygdomsaktivitet ved PR3-associerede vaskulitilstande, således at niveauet stiger med øget aktivitet (13). Således ser man positive fund ved capture PR3-ANCA ELISA under sygdomssekssacerbationer ved WG, mens direkte ELISA da kan give negative resultater. Dette formodes at være betiget af ANCA-reaktion med neoepitoper efter epitop-spredning. Sådanne epitoper kan således skjules efter direkte PR3-binding til plastik, men er frit reaktive i binding til monoklonalt antistof eller evt. anden ligand. Et eksempel på dette illustreres i Fig. 5.

(Fortsætter side 24)



Figur 5. Patient med Wegeners granulomatose og højt initialt niveau af PR3-ANCA ved både direkte som ved capture PR3-ANCA ELISA-bestemmelse. Efter en tids behandling går patienten i remission og PR3-ANCA-niveau bestemt med begge metoder falder. Da patienten får ny sygdomssekcerbation ses PR3-ANCA at være lav bestemt med direkte PR3-ANCA ELISA, mens niveauet er steget klart bestemt ved capture metode.

(Fortsat fra side 23)

Nomenklatur

Autoantistoffer rettet specifikt mod neutrofile granulocytter og monocyetter blev oprindeligt kaldt "granulocytsspecifikke antinukleære antistoffer", da de fortrinsvis gav anledning til farvning af cellernes kerner (14). Ved 2.nd International Workshop on ANCA and Vasculitis i Holland i 1989 blev en harmonisering af nomenklaturen diskuteret, og man enedes om at kalde alle NSA med betegnelsen ANCA, da de bedst kendte antistoffer ved vaskulit var rettet mod enzymer i azurofile granula, mens antigenspecificiteten af NSA ved f.eks. reumatoid artrit var ukendt, omend disse antistoffer havde været kendt i ca. 20 år før vaskulitassocierede ANCA blev beskrevet. På grundlag af de karakteristiske farvemønstre vedtog man at kalde det klart cytoplasmatiske, granulære mønster (Fig. 2) C-ANCA, mens det mønster, der farvede kerner og disses umiddelbare omgivelser blev betegnet perinukleære ANCA, P-ANCA (Fig. 3) (15). Med anvendelse af den oprindeligt



Foto: Henrik Alfthan

vedtagne IIF-teknik til påvisningen (12), fik man i et EU-støttet multicenterprojekt fint overensstemmende resultater for C-ANCA og P-ANCA (16).

For de specifikke antistoffers vedkommende vedtog man at kalde disse ved antigenets navn efterfulgt af ANCA, f.eks. PR3-ANCA, MPO-ANCA, BPI-ANCA og EL-ANCA.

Gennem det ovennævnte europæiske multicentersamarbejde lykkedes det at opnå overensstemmende resultater også ved brug af ELISA-teknikker. Det vigtigste var dog, at de målte værdier med alle de anvendte teknikker kunne adskille sera fra patienter med nekrotiserende vaskulitter i småkar fra andre kronisk inflammatoriske sygdomme (17).

Indstilling af ELISA cut-off værdier til serologisk differential diagnostik

I den netop nævnte multicenterundersøgelse benyttedes et vigtigt princip: at cut-off værdien for positivt resultat indrettedes efter præcisering af en høj diagnostisk specificitet, valgt af differentialdiagnostiske hensyn for anvendelse hos patienter med nyopstået aktiv sygdom (17). I praksis gjordes dette ved optegning af ROC-kurver, hvor IIF-ANCA-positive vaskulitsera sammenlignedes med værdier hos inflammatoriske kontroller, idet målet var at fastsætte en vedtagen høj sygdomsspecificitet på ROC-kurven. Ved at udføre tilsvarende beregninger for alle de anvendte assays opnåedes i alle tilfælde tilfredsstillende resultater for differentiering mellem vaskulitter og sygdomskontroller. Yderligere sikker differentiering opnåedes, når kravet var et positivt IIF-ANCA-fund kombineret med et antigenspecifikt ELISA-resultat over det nævnte cut-off. Med denne strategi fandt vi, at ANCA havde en specificitet på omkring 99% for nekrotiserende småkarvaskulitter af typerne WG, MPA og CSS, såvel i nyopståede tilfælde af disse, som i tilfælde med etableret sygdom (17).

Resultaterne varierede med under 20% mellem de deltagende centre, hvorfaf nogle ansås som eksperter og andre ikke-eksperter inden for ANCA-diagnostik. Det nævnte princip for udvælgelse af et ideelt niveau for cut-off til differentialdiagnostik mellem ANCA-positive og ANCA-negative tilstande (hhv. vaskulitter og inflammatoriske sygdomskontroller) bør så vidt muligt benyttes af laboratorier og kommercielle diagnostiske firmaer før et assay tages i anvendelse til autoimmun differentialdiagnostik (18, 19).

(Fortsætter side 26)



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

(Fortsat fra side 24)

Nye referencereagenser for PR3-ANCA og MPO-ANCA

I gennem årene 1990 til 2000 indsamledes et stort plasmafæresemateriale fra centre, som regelmæssigt diagnosticerede og behandlede patienter med ANCA-associerede vaskulitter med nyreaffektion. Plasmafære anvendes i behandlingen af nyreinsufficiens i forsøg på at fjerne potentielt sygdomsfremkaldende antistoffer ved RPGN. Blandt disse materialer fandt vi frem til nogle få, der tilsvneladende indeholdt monospecifikke autoantistoffer mod PR3 eller MPO. Disse blev udsendt til 6 ekspertlaboratorier til evaluering af specifikt ANCA-indhold, egnethed som typisk for en ny patient med ANCA-vaskulit og fravær af andre neutrofilocytrettede autoantistoffer. Ud fra de indkomne resultater udvalgtes så et referencereagens for PR3-ANCA og ét for MPO-ANCA. Resultater og egnethed som referencematerialer blev sluttelig evalueret og godkendt i den internationale standardiseringskommitte (IUIS/WHO/AF/CDC Committee for the Standardization of Autoantibodies in Rheumatic and Related Disorders) (20) www.autoab.org. Da disse reagenser endnu ikke er publiceret på kommitteens hjemmeside følger her en e-mail adresse til referencereagens-centret i Centers of Disease Control and Prevention i Atlanta, som huser alle standardreagenser for autoimmunområdet i reumatologien.

E-mail: rvogt@cdc.gov. Det tilrådes at mærke meddelelsen „ANA“, idet denne bemærkning leder Dr. Robert Vogt ind på, at meddelelsen handler om ønske om at få tilsendt et referencereagens. Reagenser tilsendes gratis til laboratorier med tilknytning til autoimmun serologisk diagnostik.

Konklusion

Autoantistoffer mod granulumproteiner af typerne PR3, MPO, EL, BPI og evt. LF er vigtige indikatorer på primær småkarvaskulit, medikamentelt induceret LE-syndrom eller kokaininduceret næsedestruktion. Mens de primære småkarvaskulitter kræver behandling med immunsuppressive medikamenter og prednison, kan medikamentelt induceret sygdom i reglen forsvinde alene ved seponering af det forårsagende medikament. Ophør med kokainindtagelse fører formentlig til, at progression af næseaffektionen standser. En sikker bestemmelse af vaskulitassocierede ANCA kræver positiv reaktion ved IIF-teknik på neutrofilocytter plus klart positiv reaktion med et kendt vaskulit-autoantigen som PR3, MPO, EL eller BPI.

Referencer

1. Wiik A. Antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCAs) and strategy for diagnosing ANCA-associated vasculitides. In: Detrick B, Hamilton RG, Folds JD (eds) Manual of molecular and clinical laboratory immunology. ASM Press, Washington DC, 2006, pp1053-8.
2. Wiik A. Neutrophil-specific autoantibodies in chronic inflammatory bowel diseases. Review. Autoimmun Rev 1:67-72, 2003.
3. Wiik AS. Clinical use of serological tests for antineutrophil cytoplasmic antibodies. What do the studies say? Review. Rheum Dis Clin North Am 27:799-813, vi-vii, 2001.
4. Jennette JC, Falk RJ. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and associated diseases: a review. Am J Kidney Dis 15: 517-29, 1990.
5. Wiik A. Drug-induced vasculitis. Curr Opin Rheumatol 20: 35-9, 2008.
6. Bonaci-Nikolic B, Nikolic MM, Andrejevic S, Zoric S, Zukicica M. Antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA). Associated autoimmune diseases induced by antithyroid drugs: comparison with idiopathic ANCA vasculitis. Arthr Res Ther 7: R1072-R1081, 2005.
7. Wiesner O, Russell KA, Lee AS et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. Arthritis Rheum 50: 2954-65, 2004.
8. Wiik A. Circulating immune complexes involving granulocyte-specific antinuclear factors in Felty's syndrome and rheumatoid arthritis. Acta Pathol Microbial Scand, sect. C 83:354-64, 1975.
9. Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, Hagen EC, Jayne D, Jennette JC, Pasquariello B, Pollock W, Pusey C, Savage CO, Silvestrini R, van der Woude, FJ, Wieslander J, Wiik A. International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). Review. Am J Clin Pathol 111:507-13, 1999.
10. Savige J, Dimech W, Fritzler et al. Addendum to the International consensus statement on

- testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Pathol* 120: 312-8, 2003.
11. Carlsson M, Eriksson L, Pressler T, Kornfält R, Mared L, Meyer P, Wiik A, Wieslander J, Segelmark M. Autoantibody response to BPI predict disease severity and outcome in cystic Europe. fibrosis. *J Cyst Fibros.* 6:228-33, 2007.
 12. Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS, Suppl* 6:12-3, 1989.
 13. Segelmark M, Phillips BD, Hogan SL, Falk RJ, Jennette JC. Monitoring proteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies for detection of relapses in small vessel vasculitis. *Clin Diagn Lab Immunol* 10: 769-74, 2003.
 14. Wiik A. Granulocyte-specific antinuclear antibodies. Possible significance for the pathogenesis, clinical features and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Allergy* 35:263-89, 1980. Review.
 15. Wiik A. van der Woude FJ. The new ACPA/ANCA nomenclature. *Netherlands J Med* 36:107-8, 1990.
 16. Hagen EC, Andrassy K, Csernok E et al. The value of indirect immunofluorescence and solid phase techniques for ANCA detection. A report on the first phase of an international cooperative study on the standardization of ANCA assays. *J Immunol Meth* 159: 1-16, 1993.
 17. Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy KL, Csernok E, Gaskin G, Lesavre P, Lüdemann J, Rasmussen N, Sinico RA, Wiik A, van der Woude FJ. Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. EC/BCR Project for ANCA Assay Standardization. *Kidney Int* 53:743-53, 1998.
 18. Wiik AS, Gordon TP, Kavanaugh AF, Lahita RG, Reeves W, van Venrooij WJ, Wilsom MR, Fritzler M; IUIS/WHO/AF/CDC Committee for the Standardization of Autoantibodies in Rheumatic and Related

Diseases. Cutting edge diagnostics in rheumatology: the role of patients, clinicians, and laboratory scientists in optimizing the use of autoimmune serology. *Arthritis Rheum (Arthritis Care Res)* 51:291-8, 2004. Review.

19. Fritzler MJ, Wiik A, Fritzler ML, Barr SG. The use and abuse of commercial kits used to detect autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 5:192-201, 2003. Review.
20. Chan EKL, Fritzler MJ, Wiik A, Andrade LEC, Reeves WH, Tincani A, Meroni PL, & the IUIS/WHO/AF/CDC committee for the standardization of autoantibodies in rheumatic and related diseases. *AutoABSC.Org – Autoantibody standardization Committee in 2006. Autoimmun Rev* 6: 577-80, 2007.



Foto: Henrik Alftan

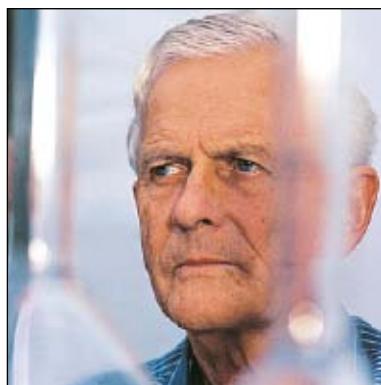
En ny pris innen fagområdet medisinsk biokjemi

The Lorentz Eldjarn Prize Competition for Best Publication

Tor-Arne Hagve

The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation

tor.arne.hagve@ahus.no



Lorentz Eldjarn

Da professor Lorentz Eldjarn gikk bort i 2007 viste hans testamente at han donerte en temmelig stor sum penger til Nordisk forening for klinisk kjemi (NFKK), øremerket til finansiering av et fond med formål å øke

fokus på tidsskriftet "The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation" (SJCLI), i form av en pris med Eldjarns navn.

Eldjarn var sentral i etablering og oppbygging av SJCLI og var hovedredaktør i 12 år. Han var en ledende fagperson og organisator innen fagområdet klinisk kjemi, både i Norge, Norden og internasjonale i flere tiår, blant annet i stillingen som avdelingssjef og professor på Rikshospitalet i Oslo, samt veileder for et stort antall doktorgrader. Lorentz Eldjarn har mye av æren for at fagområdet klinisk kjemi ble etablert og fikk en stor utbredelse i Norge, og at det i dag har en betydelig status som medisinsk spesialitet. En mer utførlig omtale av Lorentz Eldjarn kommer i neste hefte av Klinisk Biokemi i Norden.

I regi av NFKK er det nå utarbeidet statutter for fondet (The Lorentz Eldjarn Fund), samt en utførlig beskrivelse av "The Lorentz Eldjarn Prize Competition". Prisen er planlagt å deles ut for første gang på Nordisk kongress i medisinsk biokjemi i Oslo i juni 2010.



Foto: Henrik Alfthan



Foto: Henrik Alfthan

Beskrivelse av Eldjarn-prisen

1. “The Lorentz Eldjarn Prize Competition for Best Publication”, hereafter referred to as “The Prize” is financed by the Lorentz Eldjarn Fund, established by Professor Lorentz Eldjarn and his wife Torunn in 2009. The Prize is intended to support and promote the international distribution of the journal “The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation” (hereafter referred to as “SJCLI”). Lorentz Eldjarn was the Managing Editor of SJCLI during 16 years.
2. The Prize is awarded each second year to the first author of the best article published in SJCLI during the five years proceeding the prize year. At least one of the authors has to be engaged in activities related to medical biochemistry at an institution in one of the Nordic countries.
3. The twenty most cited articles during the actual five year period are pre-selected for further evaluation by a Prize Committee. The Prize Committee nominates three of the pre-selected articles to be presented at the forthcoming Nordic Congress in Clinical Chemistry.
4. The first author of each of the three nominated articles are invited to present their study as a part of the scientific program at the Nordic Congress of Clinical Chemistry, especially focussing on the scientific impact of the study on the development within the actual field of research. The nominees shall also focus on how the actual article has influenced their own later works.
5. The members of the Prize Committee are selected among the Editorial Board of SJCLI by the Managing Editor of SJCLI, with one member from each of Denmark, Finland, Norway and Sweden. Additionally, the Managing Editor is member and Chairman of the Prize Committee.
6. In addition to nominating the final three articles, the Prize Committee is also responsible for the pre-selection process, for arranging the final presentations and for the contact with the nominees.
7. Based on the scientific quality of the study and the clarity of the presentations the Prize Committee shall reach a consensus on the recipient of the first, the second and the third prize.
8. The recipients of the Prize shall be announced by the Chairman of the Prize Committee at the banquet of the Nordic Congress in Clinical Chemistry.
9. The 1. Prize winner receives DKR100.000, the 2. Prize winner receives DKR 50.000 and the 3. Prize winner receives DKR 30.000. Each of the recipients will also receive a certificate citing their contributions. The Board of The Lorentz Eldjarn Fund may regulate the amount of awarded money depending on the financial situation of the Fund.
10. The Lorentz Eldjarn Fund will pay the travel expenses, accommodation for three nights and the congress fee for the three nominees and the Prize Committee.
11. The Prize Committee shall present a summary report to “The Lorentz Eldjarn Fund” within two months after the awarding



Life needs answers



The cobas® way

Reagent preparation: One unique way to handle more



Diagnostics



cobas[®]

Life needs answers

than 170 applications

Analys av csv-hemoglobin och -bilirubin

Anders Larsson, Lars Hillered och Peter Ridefelt

Klinisk kemi och farmakologi och Neurokirurgen, Akademiska Sjukhuset, Uppsala

Den 18 november 2008 gick Akademiska laboratoriet över från att analysera CSV-bilirubin med scanning spektrofotometri till att utföra bilirubinanalysen på ett kemiinstrument i kombination att mäta absorbansen vid 415 nanometer. Målet var att korta svarstiderna, få en bättre standardisering av bedömningarna och förenkla tolkningen för klinikerna. Vi har nu haft metoden i drift ca 3 månader utan några kundklagomål.

Efter 3 månader har 72 analyser utförts. Av dessa var 62 negativa, d.v.s. både csv-bilirubin och csv-hemoglobin låg under gränsvärdena. Två patienter var positiva på båda analyserna, den ena hade subaraktoidalblödning (SAB), den andra hade en förklaring till stebringarna i en medfödd cerebral missbildning. Sju patienter hade förhöjda värden på csv-hemoglobin, men normalt csv-bilirubin. Dessa hade alla rimliga förklaringar, ex virusinfektioner och traumatiska eller upprepade LP. Ett fall hade lätt förhöjt csv-bilirubin och normalt csv-hemoglobin. Denna patient hade haft SAB åtta månader tidigare, men nu var både CT och angiografi negativa.

Bakgrund

Subaraktoidalblödningar (SAB) har en årlig incidens på ca 6-20 fall/100 000 invånare eller ca 1000 fall per år i Sverige. SAB är orsaken till ca 3-5% av alla stroke och har en hög mortalitet (upp till 50%). De patienter som överlever får ofta kvarstående symptom. En tidig och korrekt diagnos är viktig för att minimera dödligitet och kvarstående symptom efter SAB.

Förstahandsmetoden vid SAB är datortomografi (DT). Metoden är tillgänglig på de flesta sjukhus och har en hög tillförlitlighet. Dock anses det att metoden missar ett par procent av SAB varför lumbalpunktion skall utföras åtminstone på patienter med negativ DT. Sannolikt utförs också många lumbalpunktioner innan man sett DT svaret för att inte försena utredningen och t.ex. om man har en meningitfrågeställning. Vid misstanke om SAB skall man analysera cerebrospinalvätskan med avseende på blod

och bilirubin. I USA använder man ofta en förenklad metodik och bedömer färgen mot rockärmen eller annan lämplig bakgrund. Det är givetvis en mycket grov metod som man i Sverige och övriga Europa inte anser hålla acceptabel analyskvalitet. I Sverige gör vi i regel en screening analys vid 412 eller 415 nm och om absorbansen är mer än 0,025-0,040 (laboratorieberoende) så utförs spinalspektrofotometri med scanning alternativt mäts absorbansen vid flera våglängder. Sedan lämnas svaret ut tillsammans med referenskurva som svarsmedtagaren får tolka själv (som i Uppsala) eller man lämnar med ett tolkningsförslag från laboratoriet. Är man lite självkritisk så måste man konstatera att detta inte är helt optimalt och det finns utrymme för förbättringar. För det första är det inte särskilt bra att vi har olika gränser för screeningen för den här patientgruppen. Patienter med SAB skickas ofta akut till närmaste neurokirurgiska klinik. I Uppsala regionen flygs patienterna ofta med helikopter till Akademiska sjukhuset vid misstanke om SAB. Om länssjukhuset har en lägre beslutsgräns för SAB än Akademiska sjukhuset så blir det en mycket märklig situation. Om provet visar 0,035 och tagits på Akademiska sjukhuset (som har gränsen 0,040) så hade provet varit negativt men när det andra sjukhuset har en lägre beslutsnivå så är provet positivt och patienten har SAB vilket ju är ett allvarligt tillstånd som skall åtgärdas. Detta skapar en hel del problem. En diskussion mellan neurokirurgjouren i Uppsala och en jourhavande läkare på länssjukhuset som försöker tolka resultaten från en kurva som han/hon häller i handen och förklara detta för neurokirurgjouren måste kunna ge upphov till en mängd olika feltolkningar. Hur hög topp var det på kurvan, vid vilken våglängd och hur tolkar man resultatet?

Samtidigt undrar man hur väl underbyggda våra screening-gränser är. Uppsala som har en relativt hög gräns för att utföra scanning anser sig ej ha missat något prov då kurvor kring 0,040 alltid är släta och sakna en distinkt topp. Eftersom 415 toppen orsakas av oxyhemoglobin så kan en färsk stickblödning ge

ett positivt värde. Eftersom graden av stickblödning sannolikt är beroende av den som utför provtagningen så borde man teoretiskt ha olika gränser beroende på vem som tagit provet. Det är givetvis omöjligt att genomföra i praktiken. Med tanke på problemen med olika gränser och patienter som skickas till annat sjukhus för neurokirurgi skulle vi därför vilja rekommendera att vi inför en gemensam gräns i Norden (0,040). Om vi sedan kommer till bedömningen av själva spektrumet där man framförallt bedömer förekomst av bilirubin så är inte heller detta optimalt. Vi anser att vi saknar klara beslutsgränser för när det finns en bilirubintopp eller inte och att bedömningen i alltför hög grad är operatörsberoende. Antalet tolkningar per bedömare är lågt vilket ökar osäkerheten i tolkningarna. Proverna kommer ofta på helger och nächter och är arbetsintensiva. Detta i kombination med att vi måste utbilda många personer på en lågfrekvent analys gör att metoden inte heller ur ett ekonomiskt perspektiv är särskilt bra. Åtminstone de äldre scanningspektrofotometrarna var inte heller särskilt användarvänliga.

Den ökade känsligheten för datortomografi i kombination med problemen att skilja mellan färsk SAB och stickblödning har medfört att man mer och mer fokuserar på bilirubin snarare än oxyhemoglobin i cerebrospinalvätska för SAB diagnostiken. Om man avvaktar minst 12 timmar så har det frisatta blodet omvandlats till bilirubin. Det gör att man har betydligt lättare att skilja mellan SAB och stickblödning då den senare ej skall ge upphov till bilirubinstegring.

Tolkningsmall:

Csv-bilirubin (nmol/L)	Csv-Hemoglobin (Abs 415 nm)	Tolkning/Åtgärd
<350	<0,04	Negativ Ej remiss neurokir
<350	<0,04	Inkonklusiv Troligen remiss neurokir. Kontrollera tid för provtagning (<12 h efter symtomdebut).
>350	<0,044	Förenligt med SAB Remiss neurokir
>350	<0,04	Förenligt med SAB** Troligen remiss neurokir. Kontrollera att ökningen inte beror på förhöjt P-Bilirubin.

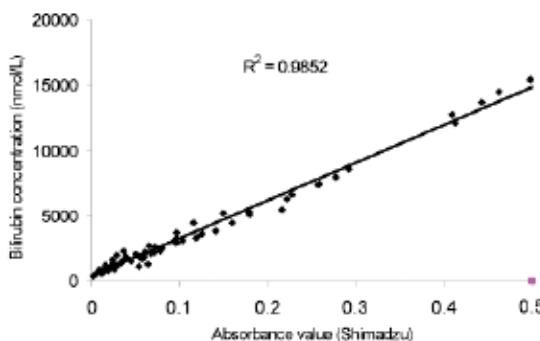
Vi kan därför förvänta oss att cerebrospinalvätske-diagnostiken av SAB mer och mer kommer att inriktas på kvantitativ analys av bilirubin i cerebrospinalvätska. Vi tror att det är få av oss på laboratorierna som kommer vara särskilt trakterade av att kvantifiera bilirubin utifrån våra kurvor. Det kom nyligen en artikel som visade att kvantitativ bilirubinanalys med en beslutsgräns på 359 nmol/L var en mycket bra metod för att utesluta SAB.

Vi har under våren studerat möjligheten av att ersätta scanningspektrofotometri med kvantitativ bilirubinanalys på vårt kemiinstrument. Genom att öka provvolymen så kan vi öka känsligheten för bilirubinanalsen på Architect instrumentet. Vi kan inte se att det skall vara några problem att sätta upp metoden på andra kemiinstrument. Vi använder oss av en standardkurva som går ner till 300 nmol/L och använder oss av spädda kontroller. Vi hade också en acceptabel överensstämmelse mellan spektrofotometrin och den kvantitativa bilirubinmetoden (Fig. 1). Metoden har en god linjaritet (Fig. 2.) och imprecision. Genom att vi använder de vanliga bilirubinreagensen så finns metoden tillgänglig dygnet runt. Metoden minskar tiden för analys och man slipper de individberoende tolkningarna.

Bilirubin metod

Csv-bilirubin (reagens: REF 6L45-40, Abbott Laboratories) utfördes på en Architect C8000 (Abbott Laboratories) efter ökad provvolym jämfört med plasma-bilirubin metoden. Den totala analytiska imprecisionen för plasmabilirubinmetoden var

(Fortsätter side 34)



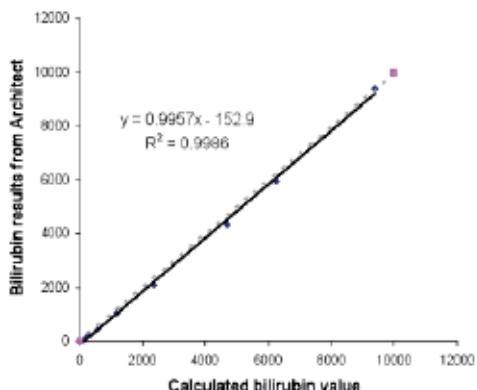
Figur 1. En jämförelse mellan delta absorbens mätt med spektrofotometri (x-axel) och den kvantitativa bilirubinmetoden visade acceptabel överensstämmelse.

(Fortsat fra side 33)

1,4% vid 22 µmol/L. Följande instrumentparametrar användes för analys av csv-bilirubin: Primärväglängd 548 nm, sekundärväglängd 604 nm, 160 µL reagens 1 och 40 µL reagens 2 blandas med 35 µL prov, provblank vid position 14-16, läsposition 20-22 och linjär kalibreringskurva. Standardkurvan beereddes genom att späda plasma bilirubin kalibratorn så att standardkurvan omfattade intervallet 302 till 9479 nmol/L. MQ vatten användes som blank.

Nedanstående information är hämtat från laboratoriets hemsida med information om analysen (för ytterligare information se: <http://akademiska.temp.st/index2.htm>):

Provtagning: Lumbalpunktion bör om möjligt göras tidigast 12 h efter symptomdebut. Provet bör vara



Figur 2. Seriespåträff av prov med hög bilirubinkoncentration upvisade en bra linearitet mellan uppmätt och beräknad bilirubinkoncentration

lab tillhanda inom 40 min efter provtagningen. Ljuskänsligt prov, förvaras och transportereras inlindat i aluminiumfolie.

Om patienten har eller misstänks ha högt P-Bilirubin (P-Bilirubin >20 µmol/L) bör samtidigt prov tas för P-Bilirubin.

Tolkning: Analysen Csv-Hemoglobin och Bilirubin kan användas vid misstanke på subaraknoidalblödning (SAB), framförallt i de fall då datortomografi inte påvisat blödning.

Med analysen bestäms dels halterna av hemoglobin (oxihemoglobin), dels det bilirubin som bildas av fagocyterna i hjärnvävnaden vid nedbrytning av hemoglobin efter de röda blodkropparnas destruktion.

Röda blodkroppar hemolyserar i spinalvätska. Hemolyseen kan vara påtaglig redan före 12 h. Allteftersom hemoglobin omvandlas till bilirubin av makrofager, med början cirka 10 h efter blödningen, ökar gulfärgningen av cerebrospinalvätskan. Först 3 veckor efter en engångsblödning har cerebrospinalvätskan helt normaliseringats.

Vid stickblödning kan man minska risken för falskt positiva resultat genom att ta fyra rör (varav de sista används för analys av hemoglobin och bilirubin) samt att minimera tiden till centrifugering. Csv-Bilirubin >350 nmol/L talar för subaraknoidalblödning under förutsättning att provet inte tagits tidigare än 12 h efter symptomdebut, eller senare än 3 veckor efter. Högt bilirubin i plasma (P-Bilirubin >20 µmol/L) kan ge falskt positiva resultat.



Foto: Henrik Alfthan

Dags att söka medel från NORDFOND

Jarkko Ihäläinen, NFKK

NORDFOND

Ansökningsfrist 1 november 2009

Vad är fondens syfte?

Fondens syfte är att främja utveckling av klinisk kemi och andra laboratoriespecialiteter i Norden.

Resultat som uppnåtts via projekt som stöds av fonden skall förmedlas till laboratorier i Norden, helst via Klinisk Biokemi i Norden.

Vem kan söka?

Medel kan sökas till projekt som uppfyller fondens syfte och som utförs i samarbete mellan minst två nordiska länder.

Vilka utgiftsposter kan täckas?

NORDFOND-medel skall i första hand täcka utgifter för mötesverksamhet, men kan i viss omfattning också täcka driftsutgifter och andra utgifter.

Vad skall ansökningen innehålla?

Ansökningen skall innehålla:

- En kort resumé
- Projektbeskrivning (max 5 sidor)
- Upplysning om deltagare och deras acceptans för deltagande
- Budget med upplysning om eventuell medfinansiering från andra källor

Hur mycket kan delas ut?

Under år 2009 kan fonden dela ut totalt ca 100 000 DKK.

Vem skall ha ansökningen?

Ansökningar skickas till ordförande i NFKK

Jarkko Ihäläinen

Oy Medix Ab

Knektbron 1

FIN-02630 Esbo, Finland

E-post: jarkko.ihalainen@medix.fi

Ansökningsfristen är 1 november 2009

Vad lägger man vikten på vid behandling av ansökningar?

- Att det rör sig om ett projekt av god kvalitet.
- Att det är ett samarbete mellan flera nordiska länder.
- Att projektet har betydelse för klinisk kemi och/eller andra laboratorieområden.

När får man svar?

Ansökningarna behandlas av NFKK:s styrelse och svar sänds ut före 31 december 2009.

När och hur utbetalas pengarna?

Medlen utbetalas från NORDFOND till sökande.

Ta kontakt med

Niklas Rye Jørgensen

Klinisk Biokemisk Afdeling

Glostrup Hospital

Ndr. Ringvej 57-59

DK 2600 Glostrup

E-mail: niklas@dadlnet.dk

Lämna uppgift om till vilket konto pengarna skall överföras. Kontot skall tillhöra den institution dit sökande är knutet.

När skall pengarna användas?

Pengarna skall användas före 1 januari 2012. Eventuella resterande medel betalas tillbaka till NORDFOND.

När skall projektet rapporteras?

Projektet skall rapporteras till NFKK senast 1 januari 2012 och omfatta avslutade räkenskaper och en kort resumé om projektet, eventuellt i form av en artikel, tryckt eller insänd till Klinisk Biokemi i Norden.

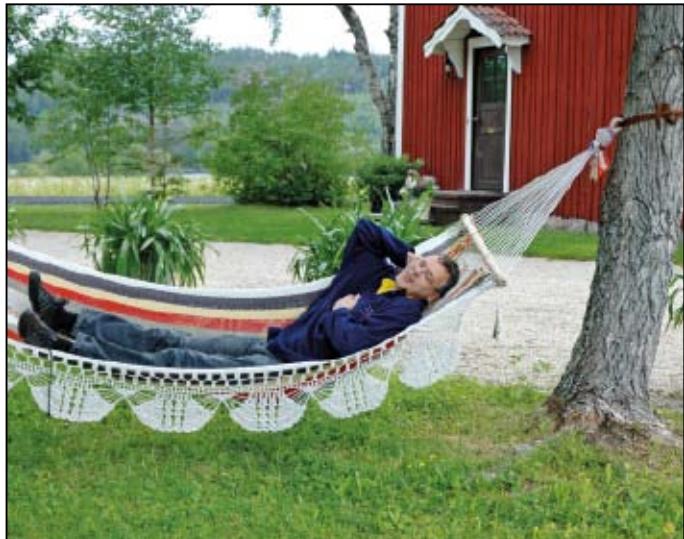
Var kan man få ytterligare upplysningar?

Ytterligare upplysningar kan fås av styrelsemedlemmar i NFKK. Namn och adresser finns i Klinisk Biokemi i Norden eller på NFKK:s websida:
<http://nc.ibk.liu.se/nfkk/>

Usikkerhetsberegninger

Johan Bjerner, Först Medisinsk Laboratorium, Oslo og Klinisk kemi, IKE,
Universitetet i Linköping.

Ofte rapporterer vi en størrelse som er beregnet fra en eller flere måleresultater. Vi kan ha direkte mål (internkontroller) og indirekte mål (eksterne kontroller) for usikkerheten i en beregnet størrelse, men det er ofte nyttig å kalkulere hvordan usikkerhet i måleresultatene forplanter seg til den beregnede størrelsen. Denne artikkelen vil omhandle grunnleggende begreper bak usikkerhetsberegninger og gi noen regneeksempler.



Johan Bjerner i osäker position.

Gjennomsnitt og standardavvik

Vi har et måleresultat, og vi vet at dette måleresultatet ikke er "eksakt", men inneholder usikkerhet som stammer fra analyseinstrumenter og andre usikkerhetskilder. For å kunne formidle dette resultatet videre til andre er det viktig å følge regler for slik rapportering. Vi rapporterer først måleresultatet, som også kan være et gjennomsnitt av flere gjentatte målinger. Usikkerheten beskriver vi med et standardisert mål, standardavviket. Formlene for beregning av gjennomsnitt og standardavvik fra konkrete måletall er velkjente:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad \text{og} \quad s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{(N-1)}}$$

Forventningsverdi og varians

Gjennomsnitt og standardavvik beregnet fra konkrete måletall blir aldri "eksakte", selv om vi har mange målinger. Vi kan dog godt forestille oss eksakte størrelser, for eksempel en serumprove som inneholder eksakt 140 mmol natrium per liter og som kan måles med et standardavvik som er eksakt 2 mmol per liter. Vi betegner gjerne slike eksakte/teoretiske størrelser med greske bokstaver for å skille dem fra størrelser beregnet fra konkrete måletall som skrives med latinske bokstaver. Et eksakt/teoretisk gjennomsnitt betegner vi forventningsverdi. Forventningsverdien av en variabel x vil vi her skrive med vinklet klamme $\langle x \rangle$, men kan også skrives $E(x)$. Eksakt/teoretisk standardavvik skriver vi σ . Formler og beregninger blir dog oftest enklere dersom vi bruker kvadraten av

standardavviket, σ^2 , som betegnes varians. Variansen er definert fra forventingsverdien:

$$\langle(x - \langle x \rangle)^2 \rangle \text{ eller } \langle x^2 \rangle - \langle x \rangle^2$$

Vi har nå to variabler, A og B, som vi ønsker å legge sammen. Variansene for A og B er:

$$\langle(A - \langle A \rangle)^2 \rangle \text{ og } \langle(B - \langle B \rangle)^2 \rangle$$

Variansen for summen A + B er:

$$\langle(A + B - (\langle A \rangle + \langle B \rangle))^2 \rangle =$$

$$\langle(A - \langle A \rangle + B - \langle B \rangle)^2 \rangle =$$

$$\langle(A - \langle A \rangle)^2 + 2(A - \langle A \rangle)(B - \langle B \rangle) + (B - \langle B \rangle)^2 \rangle =$$

$$\langle(A - \langle A \rangle)^2 \rangle + 2\langle(A - \langle A \rangle)(B - \langle B \rangle) \rangle + \langle(B - \langle B \rangle)^2 \rangle$$

Vi kan skrive dette enklere som:

$$f = A + B \Rightarrow \sigma_f^2 = \sigma_A^2 + 2\sigma_{AB}^2 + \sigma_B^2$$

For differensen mellom to variabler vil et tilsvarende regnestykke gi:

$$f = A - B \Rightarrow \sigma_f^2 = \sigma_A^2 - 2\sigma_{AB}^2 + \sigma_B^2$$

Termen σ_{AB}^2 betegnes kovarians (samvariasjon). I medisinsk biokjemi er nesten alltid kovariansen positiv for to prøver/analyser, dvs. at en oftere en forventet finner to høye eller to lave resultater sammen. Ved negativ kovarians forekommer kombinasjonen av et høyt og et lavt resultat hyppigere enn forventet. Positiv kovarians skal altså legges til ved addisjon og trekkes fra ved subtraksjon. Kovariansen kan også beregnes fra korrelasjonskoeffisienten ρ_{AB} :

$$\rho_{AB} = \frac{\sigma_{AB}^2}{\sigma_A \sigma_B} \text{ eller } \sigma_{AB}^2 = \rho_{AB} \cdot \sigma_A \sigma_B$$

I tilfelle vi har konkrete måleverdier kan vi velge latinske bokstaver:

$$r_{AB} = \frac{s_{AB}^2}{s_A s_B} \text{ eller } s_{AB}^2 = r_{AB} \cdot s_A s_B$$

For to uavhengige variabler A og B er kovariansen alltid 0, og vi har:

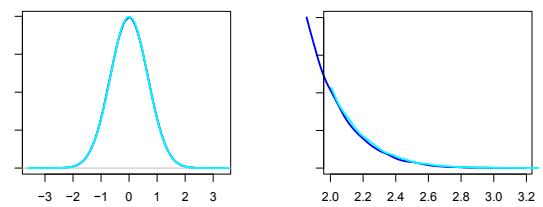
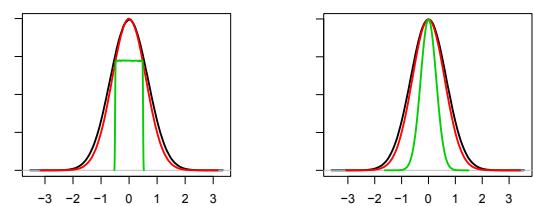
$$f = A \pm B \Rightarrow \sigma_f^2 = \sigma_A^2 + \sigma_B^2$$

Dersom A og B er normalfordelt vil også summen/differensen være normalfordelt.

Eksempel: Serum blir avpipettet til et rør ved å bruke en 100 μl pipette to ganger og vi antar at pipetterte volumer er uavhengig av hverandre.

$$\text{TotalPipetting} = \text{Pipetting1} + \text{Pipetting2}$$

(Fortsætter side 38)



Figur 1. Øverst til venstre: Vi har en normalfordelt analyseusikkerhet (rød) og en rektangulært fordelt avrundingsusikkerhet (grønt). Når disse legges sammen får vi den sorte kurven, som verken har normalfordeling eller rektangulær fordeling.
Øverst til høyre: Siden analyseusikkerheten er større enn avrundingsusikkerheten, kan vi velge å erstatter den rektangulære fordelingen med en like stor normalfordeling (grønt). Når disse legges sammen får vi en normalfordeling.
Nederst: Forskjellen mellom eksakt (med rektangulært fordelt avrundingsusikkerhet) og approksimasjonen er små (her blå og lyseblå kurver), og mest synlig i halene av fordelingene (bilde til høyre).

(Fortsat fra side 37)

Variansen for en pipetting er 4 (tilsvarer et standardavvik på 2 µl og en CV på 2%). Usikkerheten er normalfordelt. Samlet usikkerhet/varians for begge pipetteringer blir 8 (tilsvarer et standardavvik på 2,8 µl og en CV på 2,8%). Usikkerheten er normalfordelt og vi kan lage et 95% konfidensintervall på $200 \pm 1,96 \cdot 2,8$.

Vi kan i dette tilfelle si at hver pipetting bidrar med 50% til totalvariansen.

To avhengige variabler

Total PSA (tPSA) og fritt PSA (fPSA) analyseres på samme instrument og internkontroller stammer vanligvis fra samme prøveglass. Når total PSA er høyt er derfor sannsynligheten større for at fritt PSA også er høyt enn for at fritt PSA vil være lavt. Vi har en positiv kovarians. Vi beregner nå konsentrasjonen av kompleksbundet PSA (cPSA) som differensen mellom total PSA og fritt PSA (cPSA = tPSA - fPSA).

Eksempel: Vi mäter tPSA til $10 \mu\text{mol/L}$ med en analytisk CV på 4% (standardavviket er da 0,4 og variansen 0,16) og fPSA til $4 \mu\text{mol/L}$ med en analytisk CV på 5% (standardavviket er da 0,2 og variansen 0,04). Med en korrelasjonskoeffisient på 0,5 blir kovariansen $0,5 \cdot 0,2 \cdot 0,4 = 0,04$. cPSA blir $10 - 4 = 6 \mu\text{mol/L}$ med variansen $0,04 + 0,16 - 2 \cdot 0,04 = 0,12$ (standardavviket er da 0,35 og analytisk CV 5,8%).

I et usikkerhetsbudsjett har vi at variansen for tPSA er 0,16, variansen for fPSA 0,04, og kombinasjonen av tPSA og fPSA har variansen 0,08 som her skal trekkes fra (siden vi beregner differensen) for å få totalvariansen 0,12. Vi kan uttrykke dette som at tPSA bidrar med 133%, fPSA med 33% og kombinasjonen av tPSA og fPSA med -66% til totalvariansen (100%).

Ikke normalfordelte variabler

Ved avrunding oppstår en usikkerhet med rektangulær/uniform fordeling.

Det går fint å legge sammen variansene fra en variabel med normalfordeling og en variabel med rektangulær fordeling. Resultatvariablen får dog en fordeling som er ”summen” av disse fordelinger (vi kaller en slik ”summert” fordeling for foldet (no)/faltad (sv)/ convoluted (eng)) og som her verken har normalfordeling eller rektangulær fordeling (Figur 1). Vi kjerner størrelsen på variansen, men siden vi ikke

kjerner formen til denne fordelingen, er vi ikke i stand til å beregne konfidensintervaller.

Ofte løses dette ved å approksimere den rektangulære fordelingen (siden avrundingsfeilen ofte er liten) med en normalfordeling. En rektangulær fordeling som oppstår ved avrunding til heltall har variansen $1/12$ og kan approksimeres med en normalfordeling med samme varians.

Andre regnesett enn pluss og minus

Alle funksjoner kan approksimeres av et polynom, såkalt Taylor-ekspansjon. Førsteordens approksimasjon av en funksjon er:

$$f(x) \approx f(\mu) + f'(\mu) \cdot (x - \mu)$$

Her tenker vi oss x som målevariabelen med usikkerhet, μ som måleresultatet og $f(x)$ som en beregnet størrelse. Vi beregner variansen av begge ledd:

$$\begin{aligned} \text{Var}[f(x)] &\approx \text{Var}[f(\mu) + f'(\mu) \cdot (x - \mu)] \approx \\ \text{Var}[f(\mu) + f'(\mu) \cdot x - f'(\mu) \cdot \mu] & \end{aligned}$$

Siden $f(\mu)$ og $f'(\mu) \cdot \mu$ er konstanter (med variansen 0) kan dette forenkles til:

$$\text{Var}[f(x)] \approx \text{Var}[f'(\mu) \cdot x]$$

og siden $\text{Var}(aX) = a^2 \text{Var}(X)$ for en konstant a har vi:

$$\text{Var}[f(x)] \approx (f'(\mu))^2 \cdot \text{Var}[x]$$

Husk at $f'(x)$ også kan skrives som $\frac{df}{dx}$ og i GUM skrives gjerne derfor uttrykket som:

$$\sigma_f^2 \approx \left(\frac{df}{dx} \right)^2 \cdot \sigma_x^2$$

For to variabler har vi:

$$\sigma_f^2 \approx \left(\frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 \cdot \sigma_x^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right)^2 \cdot \sigma_y^2 + 2 \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial x} \right) \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right) \cdot \sigma_{xy}^2$$

og for tre variabler:

$$\begin{aligned} \sigma_f^2 &\approx \left(\frac{\partial f}{\partial x} \right)^2 \cdot \sigma_x^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right)^2 \cdot \sigma_y^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial z} \right)^2 \cdot \sigma_z^2 + 2 \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial x} \right) \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right) \cdot \sigma_{xy}^2 \\ &+ 2 \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial x} \right) \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial z} \right) \cdot \sigma_{xz}^2 + 2 \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial y} \right) \cdot \left(\frac{\partial f}{\partial z} \right) \cdot \sigma_{yz}^2 \end{aligned}$$

Bruk av matriser (ikke omhandlet her) kan forenkle for funksjoner med mange variabler.

Deltametoden kan brukes for flervariabelfunksjoner, for avhengige variabler og for kompliserte funksjoner som kvadratrøtter og eksponentialfunksjoner. Deltametoden gir et uttrykk for usikkerheten som kan brukes i f. eks. et Excel-ark, men krever at en kan derivere funksjonen. Deltametoden har to feilkilder; siden vi ikke kjenner formen til fordelingen av resultatvariabelen må den approksimeres med en normalfordeling (normalapproksimasjon), og at vi bruker en førsteordens Taylor-ekspansjon.

Logaritme, multiplikasjon og divisjon

Vi har for logaritmen av en variabel med deltametoden:

$$\sigma_f^2 \approx \left(\frac{df}{dx} \right)^2 \cdot \sigma_x^2 \Rightarrow \left(\frac{d(\ln(x))}{dx} \right)^2 \cdot \sigma_x^2 \Rightarrow \frac{\sigma_x^2}{x^2}$$

Logaritmering gir forenklingsformler for multiplikasjon og divisjon:

$$f = AB \Rightarrow \ln(f) = \ln A + \ln B \Rightarrow \frac{\sigma_f^2}{f^2} \approx \frac{\sigma_A^2}{A^2} + \frac{2\sigma_{AB}^2}{AB} + \frac{\sigma_B^2}{B^2}$$

$$\text{og: } f = \frac{A}{B} \Rightarrow \ln(f) = \ln A - \ln B \Rightarrow \frac{\sigma_f^2}{f^2} \approx \frac{\sigma_A^2}{A^2} - \frac{2\sigma_{AB}^2}{AB} + \frac{\sigma_B^2}{B^2}$$

Vi legger altså sammen de relative variansene $\frac{\sigma_A^2}{A^2}$ og $\frac{\sigma_B^2}{B^2}$ istedenfor de absolutte σ_A^2 og σ_B^2 .

Bruker vi betegnelsen CV for relativ usikkerhet har vi for uavhengige variabler A og B (med kovarians 0):

$$f = AB \Rightarrow CV_f^2 \approx CV_A^2 + CV_B^2$$

$$f = \frac{A}{B} \Rightarrow CV_f^2 \approx CV_A^2 + CV_B^2$$

(For produktet kan vi bruke annenordens Taylor-ekspansjon (se GUM) for å finne en eksakt løsning:

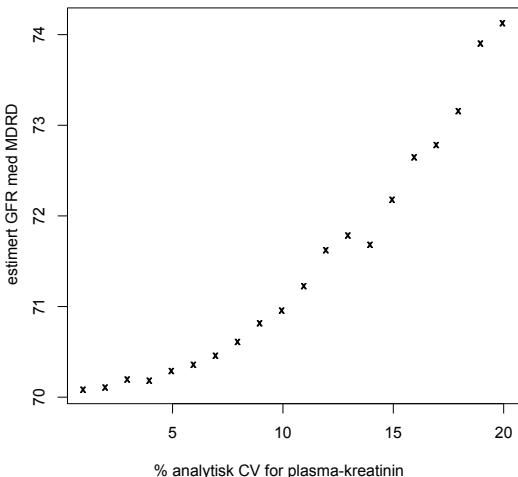
$$f = AB \Rightarrow CV_f^2 = CV_A^2 + CV_B^2 + CV_A \cdot CV_B \text{ som dog brukes sjeldent}$$

Normalfordeling i A og B gir ikke normalfordeling i resultatvariabelen f ved multiplikasjon og divisjon. Tetthetskurvene er alltid mer eller mindre skjeve og med en topp som er spissere eller butttere enn normalfordelingen. For asymmetriske kurver er heller ikke gjennomsnittsverdien (kurvens "tyngdepunkt") det samme som medianverdien. Med økende måleusikkerhet vil avstanden mellom gjennomsnitt og median øke. Ved økende usikkerhet i plasmakreatinin øker avstanden mellom gjennomsnittlig eGFR og median eGFR (Figur 2a) og med asymmetriske fordelinger følger asymmetriske konfidensintervaller (Figur 2b).

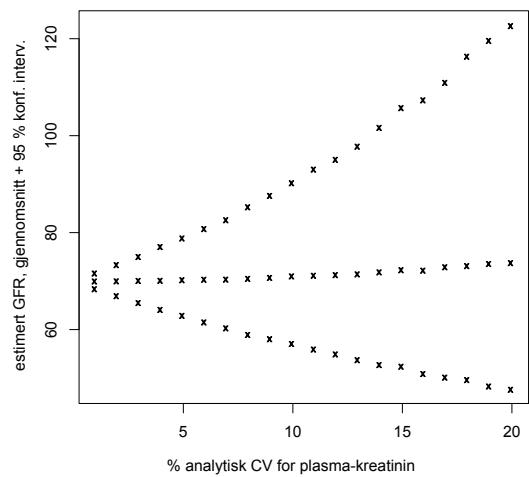
Kragtens approksimasjon

Alle variabler blir håndtert som uavhengige og normalfordelte. For variabler som skal summeres eller

(Fortsætter side 40)



Figur 2A. Gjennomsnittlig estimert GFR øker med økende analytisk usikkerhet for plasma-kreatinin.



Figur 2B. Med økende analytisk usikkerhet for plasma-kreatinin blir konfidensintervallet alt mer skjevt.

(Fortsat fra side 39)

subtraheres legger vi sammen absolute varianser, og for variabler som multipliseres eller divideres, legger vi sammen relative varianser. Vi beregner så konfidensintervall for resultatvariabelen ut fra normalfordelingen (normalapproksimasjon).

Kragtens approksimasjon er enkel i bruk, men gir relativt grove feil for avhengige variabler, og eksponentialfunksjoner og kvadratrøtter blir heller ikke håndtert på en korrekt måte.

Monte Carlo – simulering

Det anbefales i GUM at antallet simuleringer bør være større enn $10000/(1-p)$ hvor p er ønsket konfidensintervall. Et 95% konfidensintervall trenger derfor minst $10000/(1-0,95)=200000$ simuleringer. Vi simulerer først alle delvariabler N ganger. Vi beregner så funksjonsverdien N ganger, sorterer resultatene og lager et konfidensintervall. Hvis vi ønsker å beregne et 95% konfidensintervall for eGFR for en pasient med plasmakreatinin 100 $\mu\text{mol/L}$ og et analytisk standardavvik på 3 $\mu\text{mol/L}$, så simulerer vi 200000 resultater med et gjennomsnitt på 100 og et standardavvik på 3 og beregner eGFR 200000 ganger. Vi sorterer resultatene etter størrelse og et 95% konfidensintervall for eGFR tilsvares av observasjon nr: 5000 og observasjon nr: 195000. Vi kan også lett legge til andre usikkerheter som avrunding. Monte Carlo-simulering er enkelt og eksakt, og er



Foto: Henrik Alfthan

ikke befeftet med feilkildene ved Kragtens approksimasjon og Deltametoden. I praksis er disse feilkildene betydelig større enn usikkerheten fra Monte Carlo-simuleringen av tilfeldige tall. Monte Carlo-simulering burde derfor brukes mer.

Monte Carlo-simulering krever dog dedikert programvare. Jeg har lagd en brukervennlig web-applikasjon i R (www.sjcli.org) som er brukt i eksemplene her. Jeg har også sett en applikasjon i Matlab (M Solaguren-Beascoa Fernández : Accr Qual Assur 2009;95-106).

En fallgruve

Av og til ser en eksempler på at det i et usikkerhetsbudsjett også tas med usikkerhet i parameterverdier, f.eks. stigningstall (slope) og skjæringspunkt (intercept) i en regresjon eller parameterverdiene i eGFR-likningen. Dette er feil. Den usikkerhet i parameterverdiene som fantes ved det opprinnelige MDRD-studiet (studiet bak eGFR-likningen) vil forplante seg som en bias og kan ikke legges sammen med den analytiske usikkerheten for kreatininmålingen. Ved gjentatte målinger av samme pasient vil kreatinkonsentrasjonene endre seg som resultat av analytisk og biologisk variasjon, men bias-bidraget vil være konstant. Variabler og parametre er med andre ord epler og pærer og kan ikke legges sammen.

Eksempel 1 – eGFR

De siste årene har det vært fokus på en beregningsformel for estimert glomerulær filtrasjonsrate, basert på pasientens plasmakreatinin, alder, kjønn og med en eventuell korreksjonsfaktor for etnisitet. Den vanligste formelen stammer fra MDRD-studiet, men det finnes også alternative formler (Malmö-Lund). MDRD-formelen ser ut slik:

$$eGFR = \text{Sex} \cdot \text{Ethnicity} \cdot 175 \cdot \left(\frac{\text{PlasmaCreatinine}}{88,4} \right) \cdot \text{Age}^{-0,203}$$

For "Sex" gjelder at mann er 1 og kvinne 0,742. For "Ethnicity" gjelder at "white" er 1 og "black" 1,210. For enkelhets skyld sier vi nå at vi har en hvit mann, vi kaller eGFR for G, PlasmaCreatinine for C og Age for A:

$$G = 175 \cdot \left(\frac{C}{88,4} \right)^{-1,154} \cdot A^{-0,203}$$

Dette kan forenkles til:

$$G = 30849 \cdot C^{-1,154} \cdot A^{-0,203}$$

Dette uttrykket inneholder komplekse funksjoner av A og C. Kragtens approksimasjon er derfor ikke brukbar. Vi skal først bruke Deltametoden. A og C er uavhengige og vi trenger ikke å bekymre oss for kovarians. Vi har:

$$\sigma_G^2 \approx \left(\frac{\partial G}{\partial C} \right)^2 \cdot \sigma_C^2 + \left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)^2 \cdot \sigma_A^2$$

$$\frac{\partial G}{\partial C} = 30849 \cdot (-1,154) \cdot C^{-2,154} \cdot A^{-0,203} = -35600 \cdot C^{-2,154} \cdot A^{-0,203}$$

og:

$$\frac{\partial G}{\partial A} = 30849 \cdot C^{-1,154} \cdot (-0,203) \cdot A^{-1,203} = -6262 \cdot C^{-1,154} \cdot A^{-1,203}$$

som gir:

$$\sigma_G^2 \approx (-35600 \cdot C^{-2,154} \cdot A^{-0,203})^2 \cdot \sigma_C^2 + (-6262 \cdot C^{-1,154} \cdot A^{-1,203})^2 \cdot \sigma_A^2$$

som kan forenkles til:

$$\sigma_G^2 \approx 1,27 \cdot 10^9 \cdot C^{-4,308} \cdot A^{-0,406} \cdot \sigma_C^2 + 3,92 \cdot 10^7 \cdot C^{-2,308} \cdot A^{-2,406} \cdot \sigma_A^2$$

Vi har en 45 år gammel hvit mann med plasmakreatinin på 120 med en analytisk CV på 3 prosent. Variansen i A er 1/12 (se rektagulær fordeling) og variansen i C er $(120 \cdot 0,03)^2 = 12,96$.

eGFR blir 56,79 ml/min

Variansen for eGFR blir:

$$\begin{aligned} \sigma_G^2 &\approx 1,27 \cdot 10^9 \cdot 120^{-4,308} \cdot 45^{-0,406} \cdot 12,96 \\ &+ 3,92 \cdot 10^7 \cdot 120^{-2,308} \cdot 45^{-2,406} \cdot 0,083 \end{aligned}$$

hvilket blir 3,87. Standardavviket blir da 1,97 som tilsvarer en CV på 3,46%. Vi har at de to usikkerhetene (3% CV for plasmakreatinin og ca 0,6% CV for alder) forplanter seg til en usikkerhet på 3,46% i eGFR. Konfidensintervallet for eGFR blir 52,93 – 60,45 ml/min

Monte Carlo-simulering gir en eGFR på 56,85 mL/min og med et konfidensintervall på 53,18 – 60,91 mL/min. Noter at eGFR altså er lavere ved Deltametoden og konfidensintervallet symmetrisk som følge av approksimasjonene. Med større måleusikkerhet, hadde forskjellene mellom Delta-metoden og Monte Carlo-simuleringen vært enda større. Og som en må merke seg, gjennomsnittet for estimert

GFR øker med måleusikkerheten (Figur 2a) og at konfidensintervallet blir skjevere med økende måleusikkerhet (Figur 2b). MDRD-formelen gir derfor riktige resultater kun når måleusikkerheten ved ditt laboratorium tilsvarer måleusikkerheten i primærstudiet (og denne er ikke rapportert...). En har nok god grunn til heller å bruke en annen formel for estimering av GFR som Malmö-Lund, hvor den analytiske usikkerheten er kontrollert og rapportert i studiet.

Eksempel 2 – PSAratio

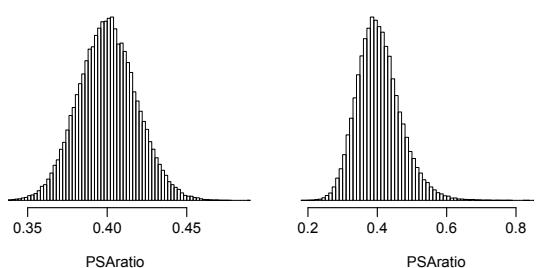
PSA-ratio brukes i diagnostikk av prostatakreft og er simpelthen nivået av fritt PSA delt med totalt PSA. Vi får en ratio, og hvor de to delkomponentene fritt PSA og totalt PSA analyseres samtidig på samme analyseinstrument. Samvariasjonen (kovariansen) er relativt stor, jeg fikk på rutinekontroller ved Radiumhospitalet en korrelasjonskoeffisient på 0,5–0,6. Vi kan derfor ikke bruke Kragtens approksimasjon. Vi bruker i stedet:

$$f = \frac{A}{B} \Rightarrow \frac{\sigma_f^2}{f^2} \approx \frac{\sigma_A^2}{A^2} - \frac{2\sigma_{AB}^2}{AB} + \frac{\sigma_B^2}{B^2}$$

Vi mäter tPSA til 10 umol/L med en analytisk CV på 4% (standardavviket er da 0,4 og variansen 0,16) og fPSA til 4 umol/L med en analytisk CV på 5% (standardavviket er da 0,2 og variansen 0,04). Korrelasjonen er 0,5 (kovariansen blir 0,5·0,2·0,4 = 0,04).

$$\begin{aligned} R = \frac{F}{T} &\Rightarrow \frac{\sigma_R^2}{R^2} \approx \frac{0,04}{4^2} - \frac{2 \cdot 0,04}{40} + \frac{0,16}{10^2} \\ &= 0,0025 - 0,002 + 0,0016 = 0,0021 \end{aligned}$$

(Fortsætter side 42)



Figur 3. Usikkerheten i PSA ratio er relativt symmetrisk ved lav måleusikkerhet i fPSA og tPSA (venstre). Ved økende usikkerhet blir usikkerheten alt mer skjevfordelt (høyre). Noter også at kurven er spissere enn normalfordelingen.

(Fortsat fra side 41)

Dette gir:

$\sigma_{\bar{A}}^2 = 0,0021 \cdot R^2 = 0,000386$ hvilket tilsvarer et standardavvik på 0,018 og en CV på 4,6%. Konfidensintervallet blir med normalapproksimasjon 0,364-0,436.

Monte Carlo-simulering gir en ratio på 0,4 med et konfidensintervall på 0,365-0,437. Ser vi på plottet fra simuleringen (Figur 3 venstre), aner vi en liten skjevhets som ikke normalapproksimasjonen tar høyde for. Med høyere analyseusikkerhet (CV på 20% for fPSA og tPSA) ser vi dette tydelig (Figur 3 høyre). Akkurat som for eGFR så er PSAratio avhengig av analyseusikkerheten og en endring gir en bias i PSAratio. En fordel med Monte Carlo-simulering er her at vi også uten vanskeligheter kan inkludere avrundingsfeil eller liknende.

Eksempel 3 – kritiske endringer

En pasient kommer til prøvetaking ved to forskjellige tidspunkter (t_1 og t_2). Måleresultatet forandrer seg mellom disse to målingene, og vi er interessert i å vite om forandringen i sin helhet kan tilskrives analysevariasjonen, eller om endringen er større enn at den kan forklares av analysevariasjonen (kritisk endring). Endringen kan skrives:

$$f = A_2 - A_1 \Rightarrow \sigma_f^2 = \sigma_{A_1}^2 + 2\sigma_{A_1 A_2}^2 + \sigma_{A_2}^2$$

Hvis måleusikkerhetene er uavhengige og måleusikkerheten har samme størrelse på begge måletidspunkter har vi:

$$f = A_2 - A_1 \Rightarrow \sigma_f^2 = 2\sigma_A^2 \Rightarrow \sigma_f = \sqrt{2}\sigma_A$$

Uten reell endring ($A_2 = A_1$) vil vi få konfidensintervallet (95%):

$$0 \pm 1,96 \cdot \sqrt{2}\sigma_A \Rightarrow 0 \pm 1,96 \cdot \sqrt{2}\sigma_A \Rightarrow \pm 2,77 \cdot \sigma_A$$

Dette er kilden til en kjent tommelfingerregel: er forandringen større enn tre standardavvik er den signifikant.

Det omvendte gjelder dog ikke: en forandring mindre enn tre standardavvik er ikke alltid usignifikant. Hvis måleresultatene samvarierer fordi det er brukt samme analyseinstrument og samme kalibratorlott, så må samvariasjonen trekkes fra i beregningene. Vi kan gjøre dette på to måter: enten trekker vi fra

samvariasjonen i slutten av beregningene, eller vi inkluderer kun de kilder i analysevariasjonen som er forandret mellom målingene (vi tar altså ikke med bidraget fra variasjon mellom analyseinstrumenter og mellom kalibratorlutter i beregningene). Hvilk fremgangsmåte vi bruker er valgfritt.

Vi mäter B12 til 200 pmol/L. Total måleusikkerhet har en CV på 10% og her inngår en usikkerhet mellom kalibratorlutter på 3% og mellom analyseinstrumenter på 2%. Hva er en kritisk endring med samme kalibratorlott og analyseinstrument?

Alternativ 1. Totalvariansen er $(200 \cdot 0,1)^2 = 400$. Samvariasjonen er $(200 \cdot 0,02)^2 + (200 \cdot 0,04)^2 = 80$. Variansen i endringen er: $400 - 2 \cdot 80 + 400 = 640$. Standardavviket for endringen blir 25,3 og kritisk endring $\pm 1,96 \cdot 25,3$

Alternativ 2. Variansen for kilder som endrer seg er $400 - 64 - 16 = 320$. Standardavvik for kilder som endrer seg er 17,9. Kritisk endring er $\pm 2,77 \cdot 17,9$

Begge beregningsalternativer gir en kritisk endring på 49,6 pmol/L.

Oppsummering

Kragtens approksimasjon gir for enkle usikkerhetsberegninger gode resultater, men ofte grove feil når variablene er avhengige eller når det brukes komplekse regneregler i funksjonsuttrykkene. I slike tilfeller kan Deltametoden eller Monte Carlo-simulering brukes. Den senere varianten er både enklere i bruk og mer eksakt, men krever eget program eller programvare.

Takk

Takk til Pål Rustad, Gunnar Nordin og Anders Kallner for verdifulle kommentarer. Takk også til Pål Rustad for norsk korrektur.

Referanselitteratur

Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement (JCGM 100:2008) <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>.

Evaluation of measurement data – Supplement 1 to the "Guide to the expression of uncertainty in measurement" – Propagation of distributions using a Monte Carlo method (JCGM 101:2008).



Identical twins? Look beneath the surface.

There's always more to a picture than meets the eye. What may appear similar or even identical, isn't. Looking beneath the surface is what Ortho Clinical Diagnostics have been doing for nearly 70 years. Finding answers and providing the global healthcare community with the means to make better-informed decisions.

The **VITROS® 3600** Immunodiagnostic System combines three high-quality proprietary technologies into a single system that is self-monitoring, highly efficient, and best of all, easy to use. With minimal staff interventions and reduced error potential, you get quality results.

The **VITROS 5600®** Integrated System consolidates testing like never before with Sample Centered Processing, 5 proven VITROS® technologies, and over 100 assays onboard. So you get performance and quality that improve the lab—and results that touch lives.



Ortho Clinical Diagnostics
a **Johnson & Johnson** company

VITROS® 3600 System **VITROS® 5600** System

Immunodiagnostic

Integrated

Den vandrande vetenskapsmannen: Sandbankarnas gåta

Per Simonsson

Till Frisiens *Inseln, Watten und Seegatten* kommer sällan den vandrande vetenskapsmannen. Hit förläggs garanterat aldrig några kongresser. De Frisiska öarna sträcker sig som ett pärlband mellan Nordsjön och de tyska och holländska sankmarkerna. Det är inga fast avgränsade pårlor. Gränsen mellan hav och land flyter fram och åter i tidvattnets tolvtimmerrytm. Formerna ändras; krymper, sträcker ut, översvämmar, torrlägger.

Här vandrar vetenskapsmannen över fuktig öken av blottlagd ebbstrand. Kilometervis ut i havet, eller om man nu skall säga nautiska mil när man går på havsbotten. Över bäckar där vattnet flyr ut till havs. Över små pölar av instängt hav, över strandmaskarnas pyramider av sandkorvar, över något enstaka snäckskal. Längs stigar utmärkta med nedkörda risknippen, ut till räddningstornet som står berett ifall högvattnet skulle omringa honom. Här gäller det att kunna sin *tide table* och inte överraskas av dimma. Klocka och kompass, som vid alla annan navigering. Här är det öde, i vart fall under lågsäsong. Ingenmansland. Långt in mot land sover standhotellen i



Erskine och Molly Childers på seglats 1910

skydd av sina svallar. Långt ut till havs styr fartygen, i skydd av sina bojar.

Här inspirerades Erskine Childers till *The Riddle of the Sands*. Utgiven 1903, thrillerlitteraturens tidigaste försök, lika frisk idag.

Romanens berättargrepp är klassiskt. Två män på äventyr; den erfarene seglaren, och hans klagande nybörjargast. Som till slut är den som räddar föreställningen, till oss medelmåttors stora lättnad. Ouvertyren är lysande. En dag får den utträkade unge mannen i London ett brev från en skolkamrat med en svåremotståndlig inbjudan: Mönstra snarast på min segelbåt, för närvarande i tyska vatten, och medtag järnkamin, lantmäteriutrustning och ett pund piptobak.

Några dar senare står gasten på Flensburgs kaj – i romanens värld kan frestelser inte motstås – och spejar efter lustjakten han föreställt sig skall före honom på trivsamma andjakter. I stället ror hans ovårdade vän ut honom i mörkret till den primitiva segelbåten som guppar på redden.

Några veckor senare har de två vänerna upplevt halsbrytande seglatser, lurat fientliga tyskar, löst sandbankarnas gåtor och räddar England från tysk invasion. Samtidigt har de också drabbats av en antydan till förälskelse i en tysk amiralsdotter som verklige vet hur en jolle skall seglas. Men mest av allt har de fått frisk luft och säkrat Britannias fortsatta herravälde över haven. Inte illa som vandringslitteratur, och därtill anglosaxiskt berättat av den förfinade snobben som havet obönhörligen förvandlar till sjöbuse.

För Erskine Childers visste vad han skrev om. Som tjänsteman i parlamentet hade han långa sommarlov. Dem använde han till att kryssa omkring i Nordsjöns alla vatten. Bland annat i tidvattnets labyrinter kring de Frisiska öarna. Segelsporten var ung och entusiasterna mest stormrika temagnater som Sir Thomas Lipton. Childers var däremot pionjär bland

medelklassens kryssarsläkte, de som i små båtar söker nya vatten. Han relativa fattigdom, och därmed lilla båt, gjorde också att han verkligen kunde ta sig in i de grunda *Watten* och *Seegat* dit inga djupgående lustjakter vågar segla. Det var här han kom på intrigen, och det var här han fängade den ödsliga och tidvattenskiftande miljön, vars sälta känts på varje sida.

Childers skrev inga fler spionhistorier. Kriget kom och flottan kallade. För sitt hjältemod hedrades han med *Distinguished Service Cross*. Därefter engagerade han sig djupt i irländarnas frihetskamp. I stället för romaner blev det politiska pamfletter. Därtill smugglade han ombord sin segelbåt vapen över Irländska sjön. Winston Churchills dom var hård: "No man has

done more harm or done more genuine malice or endeavoured to bring a greater curse upon the common people of Ireland than this strange being, actuated by a deadly and malignant hatred for the land of his birth.". Småbåtsseglaren och vad havens utforskare arkebuserades inte av engelsmännen, som många hävdar. Han avrättades tragiskt nog av sina irländska landsmän under inbördeskriget 1922, anklagad för illegalt vapeninnehav.

Grå himmel, grå sand, grå västanvinden. Molnen sveper i panoramavy över den obrutna horisonten. Regn är på väg. Och mer vind. Västanvind.

Vad havet i ebb, så nära en dödlig kan komma att gå på vatten.

Sänkan – för, mot eller mitt emellan?

Per Simonsson

Sänkan (Sedimentation Rate) har i många år varit en bespottad analys inom i vart fall svensk klinisk kemi. Den har länge funnits på svarta listan över analyser som vi avråder våra kollegor från att använda. Men trots detta lever den och frodas.

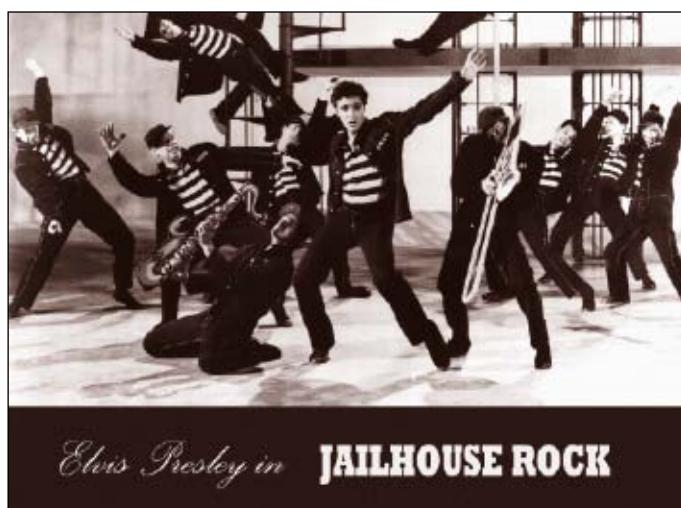
Har då trots allt sänkan ett existensberättigande? Inte bara som en av patienter uppskattad analys, utan också som ett screeningredskap, mitt i denna molekylärbiologiska era?

För kanske har våra kliniska kollegor nyttा av den. Varför skulle de annars fortsätta, år efter år, mot våra tydliga rekommendationer, att beställa den?

"Hundred million fans can't be wrong; Elvis is king!" så sa man en gång i tiden. Kan hundratusen läkare ha fel?

Vår finske kollega Juha Horsti, sjukhuskemist i Tammerfors, har skrivit i ett försvarstal för denna trotjänare. Anders Larsson, Uppsala, svarar och förespråkar CRP.

Diskussionen går vidare!



”Sänkan”

– Fortfarande en populär undersökningsmetod

Juha Horsti, PSHP Laboratoriokeskus, Tammerfors, Finland

juha.horsti@pshp.fi



Sänkningsreaktionen (SR) har som undersökningsmetod inte förlorat i popularitet under gångna decennier utan används fortfarande på både hälsovårdscentraler och sjukhus. Fördelarna med undersökningen är att den är både billig och enkel att utföra även under anspråkslösa förhållanden, vilket gör den till en av världens vanligaste laboratorieundersökningar. Sänkningsreaktionen är en god mätare av ”akutfasreaktionen”, men kan också användas som mångsidigt screeningstest. CRP och SR kompletterar varandra i den kliniska tillämpningen. Den senaste tidens forskning visar att sänkan även kan användas i bedömningen av riskerna för att en patient ska insjukna i hjärtsjukdom.

Inledning

Historiskt går ”sänkan” tillbaka till antikens Grekland, där man observerade att röda blodkroppars sedimentation ökade vid inflammationssjukdomar. Blodsänkan (Erythrocyte Sedimentation Rate, ESR) har behållit sin position som en av världens mest använda laboratorieundersökningsmetoder för patienter inom såväl primärvården som sjukhusvården. Fördelarna med sänkan i ett globalt perspektiv är att undersökningen är billig och kan utföras under såväl anspråkslösa laboratorieförhållanden som i moderna laboratorier med automatiska analysapparater. I Finland görs uppskattningsvis två miljoner undersökningar årligen.

Mättekniken genomgick en påtaglig förbättring på 1920-talet då läkaren Alf Westergren standardiserade mätningen: pipett, mättid, jämförelsevärdon osv. (1). Westergrens metod blev en ”gyllene standard”, mot vilken dagens mätinstrument, metoder och apparater har kalibrerats. Det finns många metoder och instrument, men ”Westergrens gyllene standard” har behållit sin position och resultativärdena kalibreras mot denna. Som grund för tolkningen av resultaten finns referensintervall vilka tyvärr varierar mellan olika användare.

I slutet av 1980-talet skedde en stor förändring då vakuumrör kom ut på marknaden. Undersökningen av sänkan utvecklades då provtagningsrör och mätör förenades i ett och samma rör samtidigt som det även gynnade den hygieniska aspekten (2). Vakuumssänka möjliggjorde även automatiska analytatorer som i dag används i medelstora och stora laboratorier. Kvalitetskontroller har förbättrats vilket har lett till att sänkan som undersökningsmetod i dag är av högre kvalitet än tidigare.

Sänkan har inte heller lämnats utanför den vetenskapliga forskningen. Den är både ett kliniskt undersökningsinstrument och forskningsämne. Nya kliniska användningsområden kompletterar befintliga (3-5). Utvecklingen av analysmetoden har medfört en betydande ökning av variationer av såväl manuella som automatiska metoder (6-9).

Trestegsreaktion

I enlighet med Westergrens rekommendationer är mättiden för sänkan 60 minuter. Reaktionen sker då i tre steg: myntrullebildning 10 minuter, sedimentation i jämn takt 40 minuter, hopklumpning av röda blodkroppar 10 minuter. Den viktigaste faktorn som påverkar sedimentationen är bildningen av myntrullar. I de röda blodkropparna, liksom på cellernas yta, finns normalt en elektrisk laddning, vilken leder till att cellerna repellerar varandra (10). För myntrullebildning behövs proteinbryggor mellan cellerna.

En tillsättning av vissa proteiner möjliggör även att cellerna aggregerar i högre utsträckning. Sedimentationen står i direkt proportion mot skillnaden i tätheten hos myntrullarna och plasman och omvänt i proportion mot plasmans viskositet. I en del länder tillämpas viskositetsbedömning som ersättning för sänkan, eftersom undersökningarna har god korrelation.

Akutfasreaktion

Infektion, inflammation och vävnadsdöd orsakar i organismen en s.k. "akutfasreaktion", vilken är kroppens ospecifika sätt att försvara sig mot skada. Feber, leukocytos och förändringar i koncentrationen av plasmaproteinerna är tecken på den reaktion som cytokinerna förmedlar under de närmaste timmarna och dagarna. Koncentrationen av "den akuta fasens proteiner" (bl.a. CRP, SAA, fibrinogen, haptoglobin, α -1-antitrypsin) stiger med koeficienten 0.5–1000, däremot sjunker halterna av transportproteinerna (albumin, transferrin, prealbumin). CRP är känsligast av proteinerna och en ökning sker efter 6–12 timmar. Halveringstiden är några timmar vilket betyder att även sänkningen av halten sker snabbt. CRP är en god undersökningsmetod genom sin känslighet vid diagnostiseringen under den akuta fasen och för uppföljning och prognos. CRP har ingen betydande inverkan på sänkan på grund av dess ringa molekylstorlek.

Av proteinerna påverkas sänkan mest av det stora, asymmetriska fibrinogenet och minst av immunoglobulinerna IgG, IgA, IgM, vars koncentrationer i plasma förändras långsamt. Sänkan lämpar sig inte lika väl för diagnostisering och uppföljning av akuta inflammationssjukdomar som CRP. Styrkan hos blodsänkan finns i diagnostiseringen av kroniska inflammationssjukdomar (t.ex. ledgångsreumatism, ulcerös colit), där den ger en känslig och långsiktig bild av sjukdomsförloppet (11).

CRP och SR kompletterar alltså varandra. Parikh et al. konstaterar i en studie om jättecellsarterit att CRP och SR tillsammans är en avsevärt känsligare markör än om de används enskilt (12).

Mätmetoder

Med Westergrens metod tas blodprov (4 delar) i citratrör (1 del, 109 mmol/l) för att förhindra koagulering. Metoden är känslig eftersom mätörets längd är 200 mm och omkretsen 2.5 mm. För vakuumsän-

kan tas provet direkt i ett rör med tillsatt citrat (100 mm x 9 mm), varvid det mellan metoderna finns en ickelineär korrelation som används för att överföra resultaten till Westergrens resultatnivå. Motsvarande korrelationer kommer till användning för att korrigera olika metoders, instruments och automatiska apparaters resultatnivå till Westergrens resultatnivå. Utspädningen av blod med citrat (1+4) innebär att provet inte kan användas för andra bestämningar i laboratorium. Detta fördyrar undersökningen. Sänkan kan också tas ur EDTA-blod så att provet kan användas för hematologiska undersökningar. Detta är ekologiskt riktigt och det finns apparatur för ändamålet. Korrelationstolkarna till Westergrens metod är användbara för såväl manuellt som automatiskt utförda analyser (6, 7, 9, 13).

Att späda ut EDTA-provet med citrat (1+4) rekommenderas inte, eftersom det då finns två olika antikoagulanter. Metoden ger felaktiga sänkningsresultat (14). Tyvärr använder 68% av Finlands laboratorier denna "icke rekommendable metod" och bara 20% EDTA/Westergrens metod (13, 15). Andelen laboratorier som tillämpar automatiska analysapparater har ökat radikalt från år 2000 (15.9%) till år 2006 (52.9%).

I B-SR kvalitetsäkringsprogrammet 2008 för Westergrens metod var medelvärdet 47.9 mm/h och CV% 21.3 (n=81) medan medelvärdet för vakuum-metoden var 47.7 mm/h och CV% 19.6 (n=153). Med automatiserad metod var motsvarande värden 55.5 mm/h och CV% 20.3 (n=218).

Felkällor

Förändringar i de röda blodkropparnas form, storlek och antal påverkar förmågan att bilda s.k. myntrullar. Anisocytos, poikilocytos, sfärocytos, acantocytos och mikrocytos minskar bildningen av myntrullar och makrocytos ökar den. Antalet röda blodkroppar påverkar mätvärdena så att sänkningsreaktionen är förhöjd vid erytropeni och normal vid erytrocytos. Heparin och plasmaersättning orsakar felaktigt höga värden.

På grund av variationen mellan metoder används korrelationskurvor. Dessa bör alltid vara uppdaterad med Westergrens metod och referensintervalen.

Mätningstemperaturen påverkar resultatet och Westergrens rekommenderade intervall 18–25 °C är kanske för brett. Temperaturen är en viktig felkälla till SR! Högre temperatur ger falskt höga värden.

(Fortsätter side 48)

(Fortsat fra side 47)

Av tekniska felkällor är den viktigaste felkällan kanske att provet blandats för dåligt.

Referensintervallen

Referensintervallen är av stor betydelse för att läkaren ska kunna tolka resultatet och ta beslut om vårdåtgärder. För att undvika fel bör referensvärdena vara korrekta. Sänkan påverkas av ålder och kön. Det leder till att beslutsgränserna för patologisk sänka varierar kraftigt mellan olika husläkare.

Av finländska laboratorier tillämpar 35% referensvärdet där åldersfördelning saknas. Övriga laboratorier (65%) använder rekommenderad åldersfördelning men med viss variation (5). Rekommenderade värden är (16,17):

B-SR (mm/h)	kvinnor	män
Under 50 år	20	15
Över 50 år	30	20
Över 85 år	42	30

Sänkans kliniska tillämpning

Sänkningsreaktionen används inom primärvården som screeningmetod för olika sjukdomar för exempel cancer och reumatologiska tillstånd men också för att följa inflammatoriska processer specifikt. Man bör dock komma ihåg att den inte helt utesluter alla sjukdomar (18).

I en norsk studie (19) lämnade 559 patienter SR-prov, varvid hälften analyserades för diagnostiskt bruk och 1/3 för uppföljning av vård. Läkarna konstaterade i analysen att sänkningsreaktionen är en befordad undersökning. I 60% av fallen bekräftade sänkan läkarens kliniska bedömning av patienten, medan läkaren i 22% av fallen konstaterade liten eller ingen nytta av provet. Läkarna ansåg även att sänkan är en mycket användbar om patientens specifika diagnos är känd. Den viktiga praktiska betydelsen är att sänkan förstärker läkarens diagnos.

Patienter med hög sänka (över 100 mm/h) är ett välbekant fenomen. I allmänhet klargörs orsaken genom noggrann klinisk undersökning och vid behov fortsätta laboratorie- och röntgenologiska undersökningar. I en studie utförd av Ford et al. (20) konstater-

ras följande tillstånd förorsaka hög sänka. Detta visar ju tyvärr att SR saknar specificitet:

- cancer 28% (varav myelom 7%)
- reuma- och bindvävssjukdomar 20%
- njursjukdomar 11%
- polymyalgia rheumatica 6%
- övriga sjukdomar 41%, av vilka infektioner utgör den största andelen.

När man utreder orsakerna till hög sänka är fortsatta undersökningar, bl.a. fullständig blodbild och serum-protein-elektrofores, i nyckelställning (18). Sänkan är inte särskilt bra som M-komponent/myelom markör. Sänkan reagerar kraftigare på stora proteiner som t.ex. intakt IgM men reagerar betydligt sämre på lätt kedjor. Eftersom den senare M-komponentstypen har sämre prognos så är detta inte optimalt (22). Uppföljande analyser beror ju också på vilka kliniska symptom och fynd patienten har.

Hjärt-kärlsjukdom har länge räknats till inflammationssjukdomarna (23, 24). Sensitivt CRP har en viktig roll som känslig indikator i diagnostiseringen av en subklinisk inflammation eller infektion. Ett lätt förhöjt CRP har visat sig vara förenat med en ökad risk för koronarsjukdom (CRP:s relativ risk 1.45, medan sänkans är 1.30) (23).

Eriksson et al. (24) har i en studie använt Cox regression som analysmetod och konstaterat i en omfattande 23 år lång studie (2014 män, 40–60 år) att sänkan är ett tillförlitligt test vid prognostisering av dödlighet i hjärtsjukdom (relativ risk, RR, 1.59). Sänkan är för patienten en god prognosmarkör när det gäller olika former av alla aterosklerotiska hjärt-sjukdomar. För den enskilda patienten är risken ökad när SR är > 15 mm/h. Hos män med totalkolesterol över 8 mm/l noterade studien en lika hög mortalitetsrisk (RR, 1.33). Sänkans styrka är dess tillförlitlighet vid ”tysta” långvariga inflammationer.

Sänkan är globalt sett i dag ett test som erbjuder mångsidiga användningsmöjligheter och som tidens tand inte lyckats nagga i kanten.

Sammanfattningsvis: Sänkan är en vanlig analys och den kommer säkert att fortsätta vara så under många år framåt. Man skall dock vara medveten om att den har en hel del svagheter i likhet med våra övriga analyser. Jag ser den främst som en markör för kroniska inflammatoriska tillstånd där man vill jämma ut dag till dag skillnaderna.

(Fortsätter side 50)

EXPERTline

... make your work flow

- Reliable & standardised laboratory workflow
- Short reaction times for requests from wards
- Cost reduction for processes
- Disease management concepts
- Innovative parameters
- Sophisticated technical validation and support



Sysmex Sverige

Marios Gata 13, 434 37 Kungsbacka
Phone 0300 56 72 02 · Fax 0300 56 72 03
info@sysmex.se · www.sysmex.se

Sysmex Norge

Hvamsvingen 24, 2013 Skjetten
Phone 63 84 01 60 · Fax 63 84 31 40
info@sysmex.no · www.sysmex.no

Sysmex Danmark

Møsvæj 23 · 6051 Almind
Phone 70 20 45 01 · Fax 70 20 45 41
info@sysmex.de · www.sysmex.dk



Referenser

1. Westergren A. The technique of the red cell sedimentation reaction. Am Rev Tuberc 1926;14:94-100.
2. Patton W N, Meyer P J, Stuart J. Evaluation of sealed vacuum extraction method (Seditainer) for measurement of erythrocyte sedimentation rate. J Clin Pathol 1989;42:313-7.
3. Saadeh C. The erythrocyte sedimentation rate: old and new clinical applications. South Med J 1998;91:220-5.
4. Wolfe F, Michaud K. The clinical and research significance of the erythrocyte sedimentation rate. J Rheumatol 1994;21:1227-37.
5. Rapaport E. Erythrocyte sedimentation rate: is it a useful risk marker for coronary heart disease? Eur Heart J 2000;21:1567-9.
6. Kallner A. On the temporal development of Erythrocyte Sedimentation Rate using sealed vacuum tubes. Am J Hematol 1991;37:186 -9.
7. Plebani M, De Toni S, Sanzari MC et al. The TEST 1 automated system – a new method for measuring the erythrocyte sedimentation rate. Am J Clin Pathol 1998;110:334-40.
8. de Jonge N, Sewkaransing I, Slinger J et al. Erythrocyte Sedimentation Rate by the Test-1 analyzer. Clin Chem 2000; 46:881-2.
9. Horsti J. EDTA samples for the measurement of Erythrocyte Sedimentation Rate using Sedimatic 100 analyser. Clin Chem Lab Med 2001;39:1001-3.
10. Kelley, Harris et. al. Textbook of Rheumatology 1989, W.B. Saunders Company, 720-5.
11. Rajamäki A. Laskotutkimuksen asema tulehdustautien diagnostiikassa (Sänkans roll i inflammatoriska sjukdomars diagnostik). Moodi 1992;2:102-3.
12. Parikh M, Miller NR, Lee AG, Savino PJ, Vacarezza MN, Cornblath W, Eggenberger E et.al. Prevalence of a normal C-reactive protein with an elevated erythrocyte sedimentation rate in biopsy-proven giant cell arteritis. Ophthalmology 2006; 113: 1842-5.
13. Horsti J, Kovanen M. Using EDTA as an anticoagulant for ESR to replace citrate. Klin Lab 2000; 17: 97-100.
14. Pesonen P, Ranta M. Two anticoagulants affect Erythrocyte Sedimentation Rate measurement. Health Care School 1995, Tampere, Finland.
15. Rapporter från kvalitetssäkringsprogram, Labquality, Finland.
16. Böttiger LE, Svedberg CA. Normal Erythrocyte Sedimentation Rate and age. BMJ 1967;2:85.
17. Zauber NP, Zauber AG. Hematologic data of healthy very old people. JAMA 1987;257:2181.
18. Uusitupa M. Korkea lasko (Förhöjd blodsänka). Duodecim 1984;100:801-5.
19. Grønlie M, Hjortdahl P. The erythrocyte sedimentation rate; its use and usefulness in primary health care. Scand J Prim Health Care 1991;9:97-102.
20. Ford MJ, Innes JA, Parrish FM et al. The significance of gross elevations of the erythrocyte sedimentation rate in a general medical unit. Eur J Clin Invest 1979;9:191-4.
21. Larsson A, Hansson L-O. Inflammatory activity: Capillary electrophoresis provides more information than erythrocyte sedimentation rate. J Med Sci 2005; 110: 151-8.
22. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. N Engl J Med 2004;350:1387-97.
23. Strandberg T. Mikä on herkän CRP:n klininen merkitys? (Vilken är den kliniska betydelsen av känsligt CRP?) Suomen Lääkärilehti 2004;59:3861-2.
23. Eriksson G, Liestøl K, Bjørnholt JV et al. Erythrocyte sedimentation rate: a possible marker of atherosclerosis and a strong predictor of coronary heart disease mortality. Eur Heart J 2000;21:1614-20.

You can't do this on a microscope ...

... but you can do it on the Cellavision® DM96.

It automatically locates and pre-classifies blood cells in peripheral blood and body fluids—and it allows slides to be reviewed from any location on your network.



NEW

Body Fluids

Now body fluids can be analyzed on the Cellavision DM96 using a standard cytocentrifuge preparation, simplifying one of your lab's most difficult procedures.

Peripheral Blood

Standardize blood film review and make more efficient use of experienced morphologists' time. Viewing pre-classified and sorted cells allows fast confirmation of the CBC analyzer's results.

More news

Digitize an entire slide or a desired sample area of interesting specimens within hematology, pathology and cytology. Save areas of interest, annotate and send over the network.

CELLAVISION

C-reaktivt protein (CRP) – bättre än SR som förstahandsvalet som inflammationsmarkör

Anders Larsson, Klinisk kemi och farmakologi, Uppsala

I Skandinavien är CRP i regel förstahandsvalet bland inflammationsmarkörerna. Vi har också en mycket hög användning av CRP jämfört med många andra länder. Det beror sannolikt på att vi i Skandinavien har varit internationellt ledande inom proteinområdet. För ett par hundra år sedan myntade Jöns Jacob Berzelius (1779-1848) begreppet protein och sedan dess har Skandinavien varit i framkanten när det gäller proteinanalyser och antikroppsbaseade tester. En annan viktig faktor för den höga CRP användningen har troligen varit att vi i Norden har haft tillgång till enkla, bra och förhållandevis billiga CRP analyser som lämpat sig väl för patientnära analysverksamhet. Man har därför kunnat få snabba svar på CRP vilket varit viktigt för den akuta handläggningen framförallt av patienter med misstänkta bakteriella infektioner.

Patobiologi

CRP stiger som svar på inflammation/akut fas reaktion. Denna reaktion fungerar utan att man först behöver utveckla ett immunologiskt minne och antikroppar och är i sin natur ospecifik. Det gör att CRP är en del av kroppens försvarsmekanismer som tidigt kan ta hand om inkräktare. CRP har förmågan att binda sig till både till mikroorganismer och döda celler/cellfragment och bidra till att dessa elimineras.

CRP produceras framförallt i levern som svar på cytokinstimulering (TNF och IL-6). Halten av CRP



Foto: Henrik Alftman

stiger snabbt vid bakterieinfektioner, andra infektionsstillstånd och vävnadsskador. I regel kan man se en begynnande CRP stegring ungefär 12 timmar efter en skada/infektion. TNF och IL-6 stiger snabbare än CRP, men det är betydligt mer komplicerat/dyr att mäta TNF/IL-6 än CRP. TNF och IL-6 stegringen visar ibland en ganska smal topp vilket gör att det finns risk att man missar toppen. Vi har t.ex. i en grismodell för sepsis sett kraftiga cytokinstegringar som svar på endotoxinfrisättning som sedan normalise-

rats på ett par timmar. Sådana smala cytokintoppar är svåra att påvisa i den kliniska vardagen där vi i regel aldrig vet exakt när sjukdomen började. Cytokiner är i dagsläget intressanta i specifika frågeställningar då man vill ha en väldigt tidig markör, men för vardags-sjukvården kan de inte konkurrera med CRP.

CRP har bättre kinetik

CRP har en kinetik som passar dagens sjukvård. Den reagerar på inflammation inom ett dygn och den sjunker ofta 1-2 dygn efter att inflammationen消除. Det gör att man kan följa CRP förloppet. För att illustrera detta kan vi se på antibiotikabehandling av en lunginflammation. När patienten kommer till vårdcentralen har han/hon haft symptomen i något dygn vilket gör att CRP har hunnit stiga. Normalt så ger man en antibiotikakur som varar ca en vecka. Under den veckan har CRP hunnit sjunka om behandlingen varit effektiv. I regel avvaktar patienter som fått antibiotika till slutet av kuren innan de hör av sig till doktorn igen om patienten inte känner sig helt återställd. Det innebär att patienten i så fall kommer tillbaka efter ungefär en vecka. Det är tillräcklig

tid för att CRP skall hinna sjunka om behandlingen varit effektiv. Fibrinogen eller sänka som inflammationsmarkörer har en betydligt längsammare kinetik än CRP och får sitt maximala utslag 5-7 dagar efter inflammationen. Om vi följer samma sjukdomsförlopp med sänka så har i regel inte sänkan hunnit stiga maximalt då patienten kommer första gången till vårdcentralen vilket gör att det är svårt att värdera sänkan i detta läge. Känner sig inte patienten riktigt bra efter avslutad antibiotikakur så kommer han/hon tillbaka och då har det gått ca 1 vecka efter att man satt in antibiotikan. Med sänkans långsamma kinetik så kommer en sänka tagen vid återbesöket framförallt visa inflammationsstatus då antibiotikan sattes in. Även vid detta besök är alltså sänkan för långsam och ger ringa information. Eftersom den behandlande doktorn vid det första besöket satte in antibiotika så hade han/hon bestämt sig för att patienten var sjuk. Ett svar som kommer en vecka senare kan inte påverka denna behandling.

Dagens strävan att minska sjukvårdskostnaderna innebär att man vill minska vårdtiderna. Det gör att inflammationsmarkörer som kräver en vecka för

(Fortsätter side 54)

	Sänka	CRP	SAA	Haptoglobin	Fibrinogen	IL-6
Sänka		,00004	,00003	,0080	,00001	,0076
CRP	,00004		,00000	,028	,00009	,00034
SAA	,00003	,00000		,0055	,0037	,0046
Haptoglobin	,0080	,028	,0055		,030	,202
Fibrinogen	,00001	,00009	,0037	,030		,065
IL-6	,0076	,00034	,0046	,202	,065	
Morgonstelhet	,73	,52	,94	,40	,60	,11
Vilosmärta	,85	,17	,50	,24	,20	,29
Thompson	,33	,17	,26	,41	,16	,17
Richie	,81	,33	,93	,55	,72	,74
Stoke	,0003	,0002	,00049	,013	,007	,010
Antal svullna leder	,66	,84	,60	,28	,99	,48

Tabell 1. Korrelation mellan olika inflammationsmarkörer hos RA patienter (p-värden, Spearman rank korrelation). Korrelationen mellan inflammationsmarkörer och Stoke index beror framförallt på att resultat från inflammationsmarkörer ingår i detta index.

(Fortsat fra side 53)

att reagera maximalt är för långsamma för dagens akutsjukvård.

Enligt min uppfattning är sänkan för långsam för uppföljning av akuta inflammatoriska reaktioner. En teoretisk nisch för sänkan är den kroniska inflammationen (t.ex. reumatoid artrit) där en långsam markör teoretiskt skulle kunna jämma ut de snabba svängningarna från dag till dag. Det finns också många reumatologer som förespråkar sänka som inflammationsmarkör för autoimmuna sjukdomar. Samtidigt finns det ungefär lika många reumatologer som förespråkar CRP för samma indikation.



Foto: Henrik Alfthan

För ett antal år sedan studerade vi olika inflammationsmarkörer hos en grupp patienter med reumatoid artrit för att se på korrelationen mellan olika inflammationsmarkörer. Vad vi såg var att det var en stor variation i utfallet av olika mått på sjukdomsaktiviteten (morgonstelhet, vilosmärta, antal svullna leder och Stoke, Ritchies och Thompsons index) och dålig korrelation mellan sjukdomsmått och nivåerna av de olika inflammationsmarkörerna. I motsats till detta var det en mycket god samstämmighet mellan de olika inflammationsmarkörerna som vi studerade (1). Min personliga tolkning av denna studie var att man i den kliniska bedömnningen kunde bli mer enhetlig men att det var ganska egalt vilken av inflammationsmarkörerna man använde. De är då bättre att använda en billig och lättillgänglig markör som CRP än analyser som är dyrare och/eller har längre svarstider.

Mina råd till kliniker

Mitt allmänna råd när jag föreläser för husläkare är att man i första hand bör lära sig att tolka resultaten från en inflammationsmarkör och då är enligt min uppfattning CRP förstahandsvalet. Enligt min uppfattning kan CRP i stort helt ersätta SR och oftast även vita som infektionsmarkör. När vi har fortbildningsinsatser för husläkare framskyntar det att en betydande del av sänkaanalyserna görs på äldre för att bibehålla en god patientrelation. Man fortsätter att ta sänka på de äldre där det är en rutin men man undviker att börja ta sänka regelmässigt. Många äldre som kommer på årskontroller har varit med om att

man kontrollerat sänkan i 40 år eller mer. Varje år har man kontrollerat sänkan och har den varit låg så har det varit ett kvitto på att man är frisk. Patienten har under 40 år lärt sig att sänkan är viktig och blir nöjd då sänkan kontrollerats för då har man blivit "riktigt undersökt". Att då som ny doktor komma och säga att det patienten lärt sig under 40 år är helt fel är en svår pedagogisk uppgift och det finns påtagliga risker för att patienten förlorar förtroende för den nya doktorn. Flera sänker tas därför på patienter som är åttio år eller äldre för att bibehålla patientkontakten och man kommer att fortsätta med att mäta sänkan årligen så länge patienten lever. Det är egentligen inte annorlunda än när doktorn lyssnar på hjärtat och

lungorna och sedan tittar en stint i ögonen och säger att man ser frisk ut. Man går sedan hem och känner sig mycket piggare. Den psykologiska effekten av att få höra att man är frisk kan inte underskattas. För detta ändamål (hos äldre där man kontrollerat sänkan i många år) finns det ingen annan metod som kan ersätta sänkan! För övriga applikationer så rekommenderar jag i första hand CRP eller elektrofores (vid myelommissstanke).

Referenser

1. Arvidsson NG, Gudbjörnsson B, Hällgren R, Larsson A. Concordant message of different inflammation markers in patients with rheumatoid arthritis. *Upsala J Med Sci*, 1998;103: 35-42



Troponin I
CKMB
Myoglobin
CRP
D-dimer
βhCG
NT-proBNP
Troponin T*
hsCRP*
PT-INR*
APTT*

* in development

Result in just 18 minutes

The new AQT90 FLEX immunoassay POCT analyzer

- Cardiac, coagulation, infection and pregnancy markers from a single sample
- Superior analytical performance
- Measures on whole-blood or plasma - no sample preparation
- Automated mixing and measurement
- All tests done in parallel - up to 30 tests per hour
- No contact with blood or waste
- Full connectivity

Simpler, faster, better

RADIOMETER

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
Åbäcksgatan 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

SKUP evaluation: Afinion™ system for HbA1c

Arne Mårtensson, EQUALIS AB, Uppsala
arne.martensson@equalis.se



The Afinion™ system (Afinion) is intended for measurements performed by personnel in primary health care. Afinion is so far launched with tests for C-reactive protein, Albumin/Creatinine Ratio and Haemoglobin A1c (HbA1c). CRP and ACR have not been evaluated by SKUP. The test menu will be upgraded when new tests are launched.

The HbA1c test measures on whole blood from a capillary finger prick or a venous sample. Afinion is manufactured by Axis-Shield PoC AS, Norway. The Medinor companies are the agents for the system in the Scandinavian countries. Medinor AB in Sweden ordered this evaluation.

The Afinion system for HbA1c consists of the Afinion AS 100 Analyzer and the Afinion HbA1c Test Cartridges. The sampling device, which is a part of the Test Cartridge, is used to bring the correct sample volume to the Test Cartridge. Afinion uses boronate affinity chromatography to separate HbA1c in the sample. After the addition of the sample to the cartridge and placement of the cartridge in the Analyzer, the procedure is automatic. The result is displayed on the screen at the end of the test. The measuring range is 4,0 to 15,0 HbA1c% (NGSP standardised). The sample volume is about 1,5 µL blood. Measurement duration is 3 minutes and 15 seconds.

The evaluation of Afinion HbA1c is a complete SKUP evaluation. An experienced biomedical scientist in a hospital laboratory carried out measurements on venous blood samples. Two staff nurses in two primary care centres carried out measurements on capillary blood samples.

The comparison method was an accredited High Performance Liquid Chromatography method using

an ion exchange column called Mono S supplied by General Diagnostics. The Mono S measurements were made in the Department of Clinical Chemistry at the University Hospital MAS in Malmö, Sweden. Their method is the Swedish Designated Comparison Method and their results are regularly compared with the IFCC Reference Methods.

Results

The HbA1c values in the report are NGSP standardised.

Imprecision

According to the quality goals set by SKUP, the imprecision of Afinion should not exceed 4,0% in CV. The imprecision calculated for venous patient samples measured in the hospital laboratory was 2,2% in CV. The imprecision calculated for capillary patient samples measured at the primary care centres was 2,1% in CV. The between-days imprecision calculated on patient sample results was 1,6% in CV and not statistically significant different from the within-day imprecision.

The overall assessment is that the precision of Afinion was good and fulfilled the quality goal.

Bias

According to the quality goals set by SKUP, the bias of Afinion should not exceed $\pm 4,0\%$.

For all capillary sample results together, the Afinion bias was estimated to be approximately -3,5% and therefore it fulfilled the quality goals.

In the hospital evaluation Afinion showed both positive and negative bias depending on the HbA1c level. The bias could therefore only be assessed at different levels and a calculated mean bias for all levels has no meaning. The estimated bias for the low HbA1c level was nonsignificantly positive and for the high level it was not significantly negative. The

bias for the medium level was -4,9% and significantly below -4,0%. This bias, valid for HbA1c concentrations between 5,7 and 9,7 HbA1c%, is clinically interesting and includes two thirds of all results in the hospital evaluation. When Afinion is used in primary health care it is expected that about 90% of the results will fall within this concentration interval. This justifies the assessment that Afinion did not fulfil the SKUP quality goal for bias.

Total error

According to the quality goals set by SKUP, 95% of the B-HbA1c results of Afinion should not deviate more than $\pm 10\%$ from the corresponding Comparison Method results. The Afinion results with venous samples measured in the hospital laboratory did not fulfil the quality goal for total error as only 92% were inside the limits. The Afinion results with capillary samples measured at the primary care centres did not fulfil the quality goal either as only as 93% were inside the limits. However, many of the measurements outside the 10% limits were very close to the limits.

User-friendliness

The evaluators had the general opinion that Afinion was user-friendly. They liked the system and thought it was easy to handle. The most important negative opinion concerns the high frequency of error codes. The other negative opinion concerns the internal quality control materials which were very viscous and difficult to mix and handle.

The error code frequency was 8%. The probable explanation was that the detection systems causing the error codes were too sensitive. Regardless of cause, the frequency of error codes was assessed as too high.

Conclusion

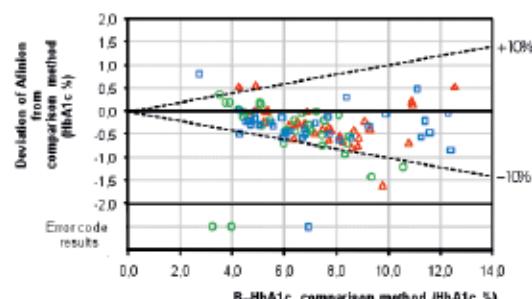
Afinion was easy to handle. The precision of Afinion was good and fulfilled the quality goal. However, the bias for the medium level was -4,9% and too many results were outside the total error limits. Afinion did therefore not fulfil all analytical quality goals. The error code frequency was also too high.

The negative bias found in the evaluation has after the evaluation been confirmed in the EQUALIS and NOKLUS EQA-schemes.

The complete report, with comments and additional information from Axis-Shield, is available at www.skup.nu



Picture of Afinion AS 100 Analyzer



Difference diagram, venous samples in the hospital laboratory

The deviations of the Afinion results from the Comparison Method results are shown for 99 venous patient samples. Stippled lines represent the tolerance limits $\pm 10\%$.

Results are shown with different symbols depending on used lot of Test Cartridges: lot 10128762 = blue squares, lot 10128335 = green circles and lot 10127761 = red triangles. Three results which were error codes on Afinion are shown below -2,0 in the diagram.

In addition to the error code results there were eight results outside the tolerance limits.

Five results were below the low limit and three results were above the high limit.

IFCC NEWS

*Päivi Laitinen
IFCC Secretary*



This year the spring is at its best at the end of May in Northern Finland. You see all over fresh nice green grass and small leaves in trees. It is like a promise of something new, the beginning of a new summer. Everybody is, of course, expecting a hot and sunny summer.

The global economical situation has brought a challenge into our private and professional lives. Every day we hear in the news of cutting of the personnel in factories and businesses. In the public healthcare we all are trying to find ways to cut down expenses. The cities and counties do not simply have enough money for all the expenses of the public sector. This global economic crunch has also touched IFCC, since its investment income has vanished and it will take some time to recover. However, lately there has been some positive news on TV, the shares have started climbing a little and there is some optimism in the air. Let's hope that this optimism will stay and the global recession will revert into a slow and steady rise in the market. But while waiting for the economically better times IFCC needs to look carefully where and how to spend the money during the forthcoming years.

The IFCC website has been under development during the past few years. The new IFCC website went alive in January (www.ifcc.org). It is a great improvement from the previous one, since this website is a more flexible and responsive system. However, there is still a lot to correct and databases to include, a lot of tiding up to do. The website is a very important tool for the IFCC, it is the most important means of communication for us. Communications and Publications Division (CPD) as well as the IFCC Office staff are mostly responsible for the IFCC website, but each Division and Working Group is responsible for the content of its part of the website. CPD has been looking for a volunteer to be appointed

as web editor to be responsible for the website. These days, however, it is very difficult to find persons who are interested in doing voluntary work for free for an organization like IFCC. People are not so willing to commit themselves any more for voluntary scientific work. This is a pity, because this kind of work is rewarding in many ways.

EuroMedLab Innsbruck starts in less than two weeks' time. I have managed to draft the agenda for the Executive Board meeting. This time I am quite late with it, because I have been very busy with laboratory duties. But mainly this is due to the fact that my thoughts are elsewhere; how to manage to wash the windows, clean the house, what will the menu be, and what kind of cakes and cookies to bake, how to get everything ready in a few days' time. It is the end of May and our younger son is graduating from high school. This is the time when the ones who have committed themselves for the IFCC will prioritize; the family issues come before the Federation activities. First I will take care of the graduation festivities and next week I will have a couple of days to concentrate on the IFCC issues.

I wish you all a pleasant, warm and relaxing summer!



Foto: Henrik Alftan

Redaktionskomiteen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Per Simonsson · Tryk: Clausen Offset

Danmark

Overlæge Linda Hilsted
Klinisk biokemisk afd. KB
Rigshospitalet
Blegdamsvej 9
DK-2100 København Ø
Telefon: +45 35 45 20 16
Telefax: +45 35 45 28 80
E-mail: linda.hilsted@rh.regionh.dk

Island

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

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB
Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
Telefax: +358 9 471 74806
E-mail: henrik.alfthan@hus.fi

Norge

Overlege/Professor Tor-Arne Hagve
Medisinsk biokjemi
Laboratoriemedisinsk senter
Akershus universitetssykehus
1478 Lørenskog
Telefon: +47 67894326
Telefax: +47 67928590
E-mail: tor.arne.hagve@ahus.no

Sverige

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

NFKK

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

Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i elektronisk versjon 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>). Meddeleser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

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

Redaktion för Klinisk Biokemi i Norden 2009

Linda Hilsted, Henrik Alfthan, Palle Wang,
Ingunn Þorsteinsdóttir, Tor-Arne Hagve,
Per Simonsson, Anders Larsson



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

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

NFKK har som oppgave å arbeide for utviklingen av det nordisk samarbeide innen klinisk kjemi med spesiell fokus på forskning, faglig utvikling og utdanning. Den består av medlemmene i de vitenskapelige foreningene for klinisk kjemi i Danmark, Finland, Island, Norge og Sverige. Aktiviteten i NFKK foregår i like arbeidsgrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (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 Nete Hornung (Randers), Niklas Rye Jørgensen (Roskilde), Tuula Metso (Helsingfors), Harri Laitinen (Helsingfors), Elin Olafsdóttir (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Lars Eikvar (Oslo), Johan Bjerner (Olso), Per Simonsson (Malmö), Per Bjellerup (Västerås).

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

**Do you trust your team
to keep you on top?**



Laboratory automation delivered by people with their feet on the ground - so you can make it to the top.

Experts in lab optimization – with over 500 automation installations worldwide, our dedicated consulting team provides fully customized solutions to meet your lab's needs, whatever its size. Contact Siemens today and enjoy the view from the top. www.siemens.com/diagnostics-automation

Answers for life.

SIEMENS