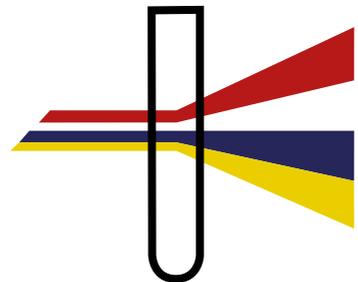


Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi



Nr. 4, vol. 23, 2011

There's **never** been a **better time** to get into **the game**.

Join the most experienced team in lab automation.

What's true on the playing field is equally true in the field of laboratory automation: You can't win until you're in the game.

With the recent addition of the new *AutoMate* 1200 and 2500 sample processing systems to Beckman Coulter's winning automation lineup, the time is right to collaborate with the market leader in lab automation. Get off the sideline and score big results no matter what your level of throughput – from low volume to ultra-high.

Focusing solely on the goals of your lab, Beckman Coulter can help you develop a strategy to optimize your workflow, turnaround time and efficiency.

Don't wait to automate. Team up with your Beckman Coulter representative or visit us on the web today.

www.beckmancoulter.com

Blood Bank Testing Immunodiagnosics Centrifugation Molecular Diagnostics Hematology Hemostasis
Chemistry Disease Management Information Systems **Lab Automation** Flow Cytometry Primary Care



Power Processor



AutoMate 600



AutoMate 800



AutoMate 1200/2500



AutoMate 1250/2550

Laboratoriemedicinens anonyma hjältar	4
<i>Anders Larsson</i>	
Ordförandespalt	8
<i>Ingunn Þorsteinsdóttir</i>	
Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavik, Iceland, June 2012	10
<i>Jón Jóhannes Jónsson</i>	
The Astrup Prize Competition 2012	12
Resebidrag från Carl-Bertil Laurells fond 2012	13
Optimering af den prænatale screening for Downs syndrom: ”Dobbelt-dobbelt-test”?	14
<i>Niels Tørring og Lennart Friis-Hansen</i>	
Analyse av rusmidler i spytt	18
<i>Hallvard Gjerde og Elisabeth Leere Øiestad</i>	
Høst på Manhattan	24
<i>Anne-Lise Bjørke Monsen</i>	
Akkreditering af genetiske analyser: molekylærbiologien bliver voksen- igen!	30
<i>Jens R. Bundgaard</i>	
Prøvematerialets holdbarhet - kriterier og vurderinger	34
<i>Arne Åsberg, Kristine Bodal Solem og Gustav Mikkelsen</i>	
On the comparison and verification of measurement results	40
<i>Anders Kallner</i>	
Bogannmeldelse: Undersøkelser ved sykdom - Oddvar Stokke og Tor-Arne Hagve	48
<i>Linda Hilsted</i>	
Fordeling av fondsmidler i henhold til Talmud	50
<i>Johan Bjerner</i>	
Den vandrande vetenskapsmannen: Till Moskva, till Moskva!	52
<i>Johan Bjerner</i>	

Omslagsbild: Välkommen till den Nordiska Kongressen i juni 2012!

Laboratoriemedicinens anonyma hjältar

Anders Larsson



Det finns ett stort antal personer som bidragit till att driva utvecklingen inom klinisk kemi framåt. En grupp som man ofta glömmer bort i detta sammanhang är alla de personer som lämnat blodprover för referensintervall eller för att öka vår kunskap om vad

som påverkar våra analysresultat. Det är ofta imponerande insatser även om man ibland kan ifrågasätta den praktiska nyttan av studierna.

Jag vill bland annat ge en eloge till de personer som ställde upp och lämnade blodprov varje timme under två hela dygn i en studie för att man skulle kunna studera dygnsvariationens påverkan på analysresultaten. Det ena provtagningsdygnet var efter att försökspersonerna sov på natten och det andra dygnet var efter att de sov på dagen. På så sätt fick man också en uppfattning om störd nattsömn (många patienter har svårt att sova på grund av värk) påverkar analysresultaten.

En ännu större bedrift var de personer i Frankrike som frivilligt lade sig i säng i 45 dagar för att se hur kroppen påverkades av långvarigt sängläge. Vi har ju många patienter som blir sängliggande under långa perioder, men i dessa fall är det svårt att veta vilka förändringar som beror på sjukdomen och vad som beror på att man legat till sängs under lång tid. Försökspersonerna låg i sängen under hela perioden och fick inte ens kliva upp för att gå på toaletten. Personligen förstår jag inte riktigt hur man kan frivilligt ställa upp på något sådant. Ett dygn med en trave bra böcker skulle väl vara OK men inte 45 dagar!

Tony Marklund på Roche sprang för ett tag sedan 10 mil i någon som kallas för ultramaraton. Det gjorde att vi hade möjlighet att ta prover före och efter 10 mils löpning för att se hur fysisk ansträngning påverkar analysresultaten. Det kan väl kallas att man gör en insats som blodgivare! Nu kan man nog misstänka att han inte är riktigt representativ för många av våra något mindre tränade patienter. Enligt min personliga bedömning har han en fysisk prestationsförmåga

som är över normalsvensken. Det måste man ha om man överlever 10 mils löpning! En individ är också lite klen som statistiskt underlag. Det gör att vi gärna skulle se fler firmarepresentanter som ställer upp och springer ultramaraton och lämnar blodprov i samband med detta. Helst bör de ha en kondition mer i nivå med mig det vill säga på en mer basal nivå. (Basal låter på något sätt mindre negativt än väldigt otränad.)

Den kanske mest anmärkningsvärda bedriften som försöksperson som jag hört talas om var av en dansk laboratorieassistent. Jag har tyvärr inte läst originalstudien utan enbart fått det berättat för mig. Syftet med studien var att se om man kunde klara sig på enbart potatis under långa perioder. Försökspersonen ställde upp på att endast äta kokt potatis under ett år (ca 3 kg kokt potatis om dagen, långsamt tuggad) medan professorn/försöksledaren fungerade som kontrollperson och åt en normal kost. Det måste redan efter några dagar ha känts fruktansvärt tråkigt att bara äta potatis och jag förstår att laboratorieassistenten avslutade studien några dagar i förtid (julmatens frestelser blev övermäktiga).

Jag har någon gång frågat om frivilliga för att upprepa den här studien. Av någon anledning har jag aldrig haft några problem att få frivilliga till kontrollgruppen (under förutsättning att de fick en väl tilltagen budget för restaurangbesök). Däremot har jag aldrig lyckats få några som vill ställa upp på potatisdieten trots lockande löften om att vi stod för kostnaden för det ca ett ton potatis som man skulle äta under året. Inte heller löften om att detta skulle vara en effektiv diet för att gå ner i vikt. Det sistnämnda löftet kanske saknar vetenskaplig dokumentation, men jag är tämligen övertygad om att man kommer vara så trött på potatis efter några månader att det kommer leda till viktnedgång. Någon som känner sig frestad att vara försöksperson? Erbjudandet om gratis potatis kvarstår! En annan grupp som jag också skulle vilja lyfta fram är våra provtagare.

För ett antal år sedan hade vi ett doktorandprojekt

(Fortsätter side 6)

Do more with less.

Let allergy testing be part of your Immunoassay main-stream testing

3gAllergy® provides laboratories with a fully automated solution for better diagnosis of allergic diseases, while improving workflow and reliability of testing. IMMULITE® allergen-specific IgE assays are based on a patented, liquid-allergen technology.

Siemens proprietary liquid allergens are the key to making IMMULITE® Immunoassay allergy tests sensitive, specific, and reliable. The soluble polymer support for the allergens increases the number of binding sites and their accessibility to allergen-specific IgE antibodies. Analytical evaluations and clinical comparison studies^{1,2} confirm the reliable performance of the assay system and the utility of 3gAllergy® for specific IgE determinations in the routine laboratory setting.

3gAllergy assays are FDA-cleared for quantitative results and calibrators are standardized against the WHO 2nd International Reference Preparation (IRP)75/502, a coded sample of human serum total IgE.

The comprehensive 3gAllergy® menu covers more than 400 allergens, 55 panels and a growing number of molecular allergens.



With the introduction of molecular allergens the laboratory can provide physicians with additional information such as risk assessment and cross-reactivity patterns and thereby improving allergy diagnosis. Information obtained from analyzing molecular allergens also aids the physician in deciding on allergen specific immunotherapy.

All allergens on the 3gAllergy® menu, including the molecular allergens, can be assayed for specific IgG or IgG4 in addition to the routine testing of specific IgE.

The quantitative measurement of specific IgG antibodies may serve as a monitoring tool for the evaluation of immunological responses during immuno-therapy³.

Allergy testing on the IMMULITE® platform provides laboratories with unparalleled flexibility in terms of work-flow capabilities. Depending on the needs of your laboratory – allergy can be run alongside your routine immunoassays either on a stand alone instrument or fully integrated on a track system (ADVIA WorkCell® or ADVIA LabCell® systems).



There are already several customers in the Nordic countries that are running allergy as part of their fully automated processes.

For further information visit us at www.siemens.com/diagnostics or contact your local Siemens representative.

1. Ollert, M, et al. Allergen-Specific IgE Measure by a Continuous Random-Access Immunoanalyzer: Interassay Comparison and Agreement with Skin Testing. *Clin Chem*, 2005; 51(7) 1241-1249
2. Guilloux, L. et al. Peanut allergy diagnosis in the context of grass pollen sensitization for 125 patients: roles of peanut and cross-reactive carbohydrate determinants specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149:91–97
3. Müller UR. Recombinant hymenoptera venom allergens. *Allergy*. 2002;57:570-6.

ADVERTISEMENT

(Fortsat fra side 4)

vid kliniken som syftade till att studera påverkan av fysiskt ansträngning på laboratorieresultat. Man tog därför prover på en grupp seglare som deltog i Whitbread tävlingen runt världen. Det innebar att provtagarna blev tvungna att åka och möta båtarna när de landade i olika hamnar runt om i världen. Man fick åka till Florida, Rio de Janeiro, Sydney och liknande fjärran platser för att ta proverna. Det gällde att få med sig centrifuger och provtagningsutrustning

och sedan åka till de olika hamnarna och vänta på att båtarna skulle anlända.

Vår huvudredaktör kan intyga att det är svårt att förutse exakt när man anländer med sin segelbåt till en hamn vilket gör att man måste vara där i god tid för att inte missa när båten anländer till kajen. Det medförde att provtagarna fick tillbringa ett antal dagar t.ex. på Rios strand för att akklimatisera sig till värmen, provköra centrifugen och göra sig redo. När jag tänker på det så här i efterhand så kanske det inte



Fjällig bläcksvamp (*Coprinus comatus*) i upplösningstillstånd på hösten. Foto: Henrik Alfthan

är ett riktigt bra exempel på laboratoriemedicinens hjältar. För många låter det kanske mer som en betal semester på intressanta badorter runt om i världen och våra klinikchefer kommer givetvis invända att en resa runt halva jorden för att ta prover på en handfull individer inte är särskilt kostnadseffektivt. Jag måste givetvis instämma i att provtagning på en särskilt mottagning där patienterna står i kö för provtagningen är en mer kostnadseffektiv modell.

Eftersom exemplet inte var riktigt bra valt vill jag istället lyfta fram provtagarna till en studie i Örebro där man tar prover för att se hur långvarig vila påverkar laboratorieanalysresultaten. Man tar prover på björnar som ju naturligt ligger och sover i flera månader. Det låter lite konstigt när man hör det första gången, men det finns en intressant frågeställning bakom studien, nämligen varför drabbas inte björnar av t.ex. benskörhet eller blodproppar när de ligger i vinterdvala? Studien innebär att man tar prover på björnarna både under sommaren när de är vakna och under vintern då de ligger i vinterdvala. Jag vet inte riktigt hur snabb en nyvaken brunbjörn är, men jag har från säker källa fått höra att en isbjörn springer 100 meter på cirka 8 sekunder. Min personliga bästa notering på sträckan är betydligt sämre än så. Jag misstänker att en brunbjörn är ungefär lika snabb som en isbjörn. Om det är någon av läsarna som undrar så kan jag redan nu bekräfta att jag inte på nära håll tänker ta reda på exakt hur snabb brunbjörnen är och inte heller hur pass dåligt morgonhumör den har. En optimal provtagare för denna studie bör ledigt kunna springa ifrån Usain Bolt samtidigt som han/hon bär på en provtagningsbricka i ena handen och försiktigt blandar proverna med den andra.

Man bör också sannolikt vara duktig på att finna lämpliga vener under en tjock björnpäls och vara en synnerligen snabb provtagare så man hinner avsluta provtagningen innan patienten vaknat till helt och hunnit upp ur startblocken. Om det är någon intresserad läsare som anser sig uppfylla dessa kriterier så förmedlar jag gärna kontakten med studieansvarig. Jag vill gärna framhålla fördelarna med denna typ av provtagning dvs frisk luft, mycket motion och man slipper känna stressen av att kön till provtagningen växer i väntrummet.

Torbjörn Åkerfeldt tipsade om att man även kan kombinera provtagning och blodgivning. Det finns en publicerad artikel som beskriver två engelsmän som korsade Antarktis till fots dragande på slädar. När

de startade vägde slädarna drygt ca 220 kg och man tillryggalade 2300 km. Färden tog 95 dygn och var tionde dag togs blodprover. Plasman separerades från blodkropparna genom att provet fick hänga från tält-taket under några timmar varefter plasman överfördes till ett nytt rör. Frysning av prover skedde automatiskt i den arktiska kylan. Även om temperaturen sannolikt varierade från dag till dag så höll den sig med marginal under noll. Om någon av er är intresserade av att upprepa bedriften så kan ni läsa mer om detta i: Stroud et al., Eur J Appl Physiol 1997;76:243-52.

	Före	Efter
CRP (mg/L)	0,3	13,0
Kalium (mmol/L)	4,2	3,8
Kreatinin (mmol/L)	90	75
CystC GFR (mL/min/1,73m ²)	>120	>120
Urea (mmol/L)	6,9	7,8
Albumin (g/L)	42	41
Calcium (mmol/L)	2,34	2,25
Magnesium (mmol/L)	0,80	0,85
Fosfat (mmol/L)	1,21	0,89
LD (mkat/L)	4,0	5,8
GammaGT (mkat/L)	0,35	0,33
CK (mkat/L)	2,1	131,0
Kolesterol (mmol/L)	6,2	6,0
Triglycerider (mmol/L)	1,69	1,04
ApoA1 (g/L)	1,9	1,9
ApoB (g/L)	0,82	0,73
Apob/apoA1	0,4	0,4
Järn (mmol/L)	20	12
Transferrin (g/L)	2,69	2,56
Transferrinmättnad,%	30	18
ASAT (mkat/L)	0,58	6,20
Cystatin C (mg/L)	0,68	0,73
Troponin T- HS (ng/L)	3	3
NT-proBNP (ng/L)	9,24	15,24

Tabell: Effekter av kraftig fysisk ansträngning hos en vältränad man. Tonys värden 2 dygn före respektive efter 10 miles löpning. Som synes är de flesta analyser relativt oförändrade. CK och ASAT steg kraftigt vilket sannolikt återspeglar en muskelpåverkan i samband med den långvariga löpningen.

Ordförandespalt

Ingunn Þorsteinsdóttir



Den nordiska kongressen i klinisk kemi kommer som bekant att äga rum i Reykjavik nästa sommar, närmare bestämt dagarna 12 - 15 juni 2012 (www.nfkk2012.is). Förberedelserna går planenligt.

Två av kongressens symposier ägnas föredrag relaterade till Astrup- och Eldjarnpriserna.

Astruppriset delades ut för första gången 1979. Pris-tagarna de första två gångerna var de välnummerade internationella pionjärerna inom syra-basområdet Poul Astrup själv och hans medarbetare Ole Siggaard-Andersen. Sedan dess har priset haft formen av en tävling bland yngre forskare (yngre än 40 år), och har kommit att bli en viktig del av de nordiska kongresserna i klinisk kemi. Många framstående forskare inom klinisk kemi har som unga fått pris i Astruptävlingen. Yngre forskare i Norden har uppmanats att skicka in abstrakt rörande sin forskning. Bland bidragen har Astrupkommittén valt några tävlande som fått möjligheten att presentera sin forskning på ett symposium under kongressen. Radiometer var sponsor för Astruppriset fram till kongressen i Helsinki 2008. Siemens var sponsor till Astruppriset på den senaste Nordiska kongressen i Oslo 2010, och har dessutom meddelat att de avser att även verka som sponsor för Astruppriset på kongressen på Island kommande sommar.

I detta nummer av KBN finns en annons om deltagande om Astruppriset under kongressen på Island.

Astrupkommittén består av en medlem från vart av de nordiska länderna. Kommitténs uppgift är att läsa alla abstrakter som inkommer till tävlingen och välja ut tre finalister som får presentera sina resultat på ett Astrupsymposium under kongressen på Island. På kongressbanketten utdelas sedan första, andra och tredje pris i tävlingen. Inför senaste kongressen i Oslo mottog Astrupkommittén många abstrakt. Jag vill med detta uppmana unga forskare verksamma inom klinisk kemi i de nordiska länderna att skicka in abstrakt till tävlingen.

Eldjarnpriset delades ut för första gången på kongressen i Oslo sommaren 2010. När professor Lorentz Eldjarn och hans fru Torunn avled, testamenterade de till Nordisk Förening för Klinisk Kemi ett betydande kapital till en fond för finansiering av ett pris inom klinisk kemi. Fonden och priset har till syfte att öka fokus på tidskriften *The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* (SJCLI) med ett pris i Eldjarns namn.

Inför kongressen på Island kommer en priskommitté att välja tre arbeten bland de tjugo mest citerade artiklar som har publicerats de sista fem åren i SJCLI. Första författare för de tre valda artiklarna inbjuds att presentera arbetet på ett symposium under kongressen på Island. Enligt stadgarna för Eldjarnpriset måste minst en av författarna för de aktuella artiklarna vara verksam inom klinisk kemi i något av de nordiska länderna. Liksom för Astruppriset utdelas Eldjarnpriset på kongressbanketten.



IDS-iSYS Growth -

Accurate growth disorder - Diagnosis can be challenging.....



- hGH
- IGF-I
- IGFBP-3

Do your current GH and IGF-1
Immunoassays meet the
international Keswick Consensus
statement of 2011* ?

Coming soon
automated
1,25 Vit D

The Scientific Program of the XXXIIIth Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavík, 2012

Jón Jóhannes Jónsson

Chairman of the Scientific Committee



In the last issue of *Klinisk Biokemi í Norden* (KBN) I described the preparation for the scientific program of the Nordic Congress in Clinical Chemistry in Reykjavík in 2012. In this issue and the next I will describe the program in more detail.

We believe clinical biochemists look mainly for three things when they attend conferences. They want to return home better informed to deal with their daily work. They also want to know what the future is likely to be; keeping in mind that the preparation for the future starts today. Last but not least, they like to take delight in better understanding and appreciating the rich intellectual wonders of clinical biochemistry. And they are many and always growing!

To address these expectations our planned program comprises plenary lectures, symposia and workshops. The plenary lectures will be of general interest for clinical biochemists. They will summarize the current state of knowledge and describe exciting new science in important fields shaping our discipline in the coming years. Symposia are designed to be more interactive and cover selected topics in more detail. Workshops will address critical practical issues facing the clinical laboratory. In addition, posters will describe diverse topics of interest to investigators attending the congress. In this issue I will first describe the plenary lectures and then the workshops. The symposia will be described in the next issue of KBN.

Thomas Renne, professor of clinical chemistry at the Karolinska Institute, will give a lecture on the plasma contact systems. He will also describe new strategies to block thrombosis and inflammation. His group recently described the interesting role of inorganic polyphosphate polymer (polyP) as mediators of platelet-driven inflammatory and procoagulant activity. Dr. Felicitas Müller in his lab won the Astrup prize in 2010 for research in this area.

Vilmundur Guðnason, director of the Icelandic Heart Association (IHA), will give a lecture on aging research. He is the principal investigator of the Age, Gene/Environment Susceptibility (AGES) Study to examine gene and environment interactions in old age. This is a large collaborative study between the National Institute on Aging, NIH and the Icelandic Heart Association.

Larry Bowers, the chief science officer of the United States Anti-Doping Agency (USADA), will talk about the importance of testing in the deterrence of performance-enhancing drug abuse. Few are as experienced in and knowledgeable about this complex field. With the London Olympic Games coming up in 2012 this topic will be of special interest to us.

Piero Rinaldo, professor and director of biochemical genetics at the Mayo Clinic, will talk about inborn errors of metabolism (IEMs). This field is of growing importance with more IEM being discovered and treatments described. Dr. Rinaldo's special interests include clinical applications of tandem mass spectrometry. He leads a worldwide collaborative project to improve testing in newborn screening of metabolic disorders, a project with implications for the coming age of metabolomics.

Nader Rifai, professor of pathology at Harvard Medical School and director of clinical chemistry at Children's Hospital Boston, will talk about the development of new biomarkers, which is a theme of central importance in clinical biochemistry. As editor-in-chief of *Clinical Chemistry*, Dr. Rifai is in a key position to discuss the important problem of why so few markers are making it to the clinic despite heavy funding in marker discovery.

Dennis Lo, Professor of Chemical Pathology of The Chinese University of Hong Kong, will give a lecture on next generation sequencing of plasma DNA as a diagnostic tool. Dr. Lo is a global leader in research on diagnostic applications of molecular biology especially

as they relate to plasma nucleic acids. In no other field do we see more overlap between genomics and clinical biochemistry.

Kari Stefansson, CEO of DeCODE Genetics, will talk about the genetics of complex diseases. DeCODE is currently involved in sequencing the genomes of thousands of Icelanders. This information in conjunction with extensive SNP association studies and a population-based genealogy database will allow imputation of the genome sequence of most Icelanders. How will that information affect medical research and practice?

The workshops are designed to be more practical in nature. We have identified key individuals with special expertise to address important topics of current relevance to clinical biochemistry. We will have a workshop on the diagnosis of anemia of chronic disorders and iron deficiency. The speakers will be Tor Arne Hagve, professor at the University of Oslo and director of the center for laboratory medicine at Akerhus University Hospital, and Guenter Weiss, professor of internal medicine at the Medical University of Innsbruck, Austria.

In a workshop on the patient and the lab we will have two contributions. Eva Björk Guðmundsdóttir will describe the experience of a mother when an asymptomatic child is diagnosed with an inborn error of metabolism on newborn screening. Barbara A. Zehnbaauer, branch chief at Centers for Disease Control and Prevention, will discuss direct-to-consumer testing.

The pros and cons of immunoassays vs. mass spectrometry is a frequent consideration in clinical biochemistry. They will be described by two experts Outi Itkonen, chemist in the Department of Obstetrics and Gynecology at HUSLAB Helsinki University Central Hospital, and Steve Soldin, director of the Bioanalytical Core Laboratory at Georgetown University Medical Center.

A workshop on scientific writing sponsored by the journal *Clinical Chemistry* is aimed at clinical biochemists in their formative stage. The workshop will be organized by Thomas M. Annesley, deputy editor of *Clinical Chemistry*. Nader Rifai, editor-in-chief of *Clinical Chemistry*, will discuss publication ethics.

In the next issue of KBN I will describe the scientific program further focusing on the symposia. Thank you for the interest in the congress.

See you in Reykjavík!

Kongressens hemsida: www.nfkk2012.is



Foto: Henrik Alfthan



The Astrup Prize Competition 2012

Call for abstracts

Siemens Healthcare Diagnostics, in cooperation with the Nordic Society for Clinical Chemistry, arranges a prize competition to reward contemporary Nordic research work related to the field of clinical chemistry. The competition takes place every other year in connection with the Nordic Congress in Clinical Chemistry.

Scientists (below the age of 40 years), who have not previously received the Astrup Prize and who are working in one of the Nordic countries, are invited to submit an abstract of a recent scientific work with a maximum length of 1,000 words (incl. references) and not more than two illustrations. The work must be either unpublished or recently published (defined as published on Pub Med after July 2011). **Abstracts – stating name and affiliation of the author(s) – should be addressed to:**

Siemens Healthcare Diagnostics
Borupvang 3
DK-2750 Ballerup
Denmark
Att.: Lisbeth Wiggers-Ursin

All abstracts must include the applicant's C.V. also stating date of birth. Deadline for receipt of abstracts is Monday, 16th January 2012.

In February 2012 a Nordic prize committee will select up to three of the submitted contributions to be presented by the authors at the XXXIII Nordic Congress in Clinical Chemistry, Reykjavik, June 12-15 2012. The individual presentation should not exceed 20 minutes and will be followed by a free discussion.

Speakers' congress fee, travel within the Nordic countries, and accommodation in Reykjavik will be arranged and covered by Siemens Healthcare Diagnostics.

The three nominated authors are invited to publish their presentation, either as a Regular paper or as part of a Review in The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. The manuscript must be submitted before October 31, 2012.

Based on the scientific value of the paper, and the quality of its oral presentation, the prize committee will award a first prize of DKK 60,000, a second prize of DKK 30,000 and a third prize of DKK 10,000.

Please address questions regarding the Poul Astrup prize to Ingunn Þorsteinsdóttir. E-mail address: ingunnth@landspitali.is

The Astrup Prize 2012

Answers for life.

SIEMENS

Dags att söka resebidrag från Carl-Bertil Laurells fond 2012

En speciell fond skapades 1984 efter den nordiska kongressen i Malmö för att hedra Carl-Bertil Laurell. Fondens avsikt är att stödja yngre forskare som arbetar vid nordiska laboratorier och ge dem möjlighet att besöka andra lab för att där lära sig nya metoder.

Ekonomiskt stöd kan sökas för resa och uppehälle. Medel ges däremot inte till kongresser.

Resestipendier delas ut i samband med varje nordisk kongress och nästa tillfälle är därför vid kongressen i Reykjavik 2012.

Ansökningen skall innehålla en kort beskrivning av sökandes forskningsprojekt och vad som är målet med studieresan. Högst fem särtryck skall bifogas ansökan.

Sista ansökningsdag är 1 april 2012.

Ansökningen skall skickas till ordföranden i organisationskommittén för den nordiska kongressen.

**Ingunn Þorsteinsdóttir
Department of Clinical Biochemistry,
Landspítali
University Hospital Hringbraut
IS-101 Reykjavik
Island**

Optimering af den prænatale screening for Downs syndrom: ”Dobbelt-dobbelt-test”?

Niels Tørring¹ og Lennart Friis-Hansen²

¹ Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Universitetshospital - Skejby

² Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København

nieltoer@rm.dk



Baggrund

Før 2004 var tilbuddet om prænatal screening for aneuploidier (fx Downs syndrom (trisomi 21), trisomi 18, trisomi 13 eller Turners syndrom (XO)) i Danmark begrænset til kvinder over 35 år eller kvinder med særlig indikation. Dette omfattede ca 12-14% af de gravide, svarende til ca 8000 invasive indgreb (amniocentese eller chorion villus biopsi (CVS)) og efterfølgende karyotypeundersøgelser årligt. Alligevel havde screeningen kun en sensitivitet på ca. 35-40%, og med en estimeret abortrisiko relateret til CVS på ca 0,5-0,75% betød det at man årligt i Danmark fandt ca 25-30 fostre med Downs syndrom, overså 50-60 fostre med Downs syndrom og aborterede 40-60 kromosomalt raske fostre.

Performance af denne aldersselektede screening var så ringe - og aldersdiskriminerende - at Sundhedsstyrelsen i Danmark i 2004 udkom med en ny retningslinje, hvorefter alle gravide skulle informeres om og tilbydes første trimester-screening for føtal aneuploidi, samt ultralydscanning for føtale misdannelser.

Erfaringer fra England med første trimester-risiko-screening for føtal aneuploidi viste en sensitivitet for Downs syndrom på ca. 85% med en screen-positiv rate på 5% - altså en markant forbedret performance i forhold til den aldersbetingede screening.

Screeningen var baseret på måling af Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A) og frie beta-kæder af human choriogonadotropin (hCG β) i maternelt serum i gestationsuge 11-14 (dobbelt-testen), og samtidig bestemmelse af tykkelsen af nakkefolden, som er en fysiologisk væskeophobning hos fosteret. Koncentrationerne af PAPP-A og hCG β i serum og tykkelsen af nakkefolden hos fosteret er afhængig af gestationsalderen, og den målte værdi omregnes til en såkaldt MoM-værdi (Multiple of Median), der er uafhængig af gestationsalderen. Hver af disse 3 risikofaktorer blev, sammen med den gravides aldersbetingede risiko, multipliceret til en samlet fosterspecifik risiko for føtal aneuploidi. I Danmark enedes man om en risiko cut-off på 1:300 på undersøgelsestidspunktet, hvilket forventedes at ville give en samlet performance tilsvarende de engelske erfaringer.

Fra starten var der i Danmark et ønske fra en række klinisk biokemiske afdelinger og centre for prænatal diagnostik om at information af gravide og blodprøvetagning kunne foregå hos egen læge i almen praksis, svarende til gestationsuge 8-10. På daværende tidspunkt var der ikke international erfaring med brug af blodprøve fra så tidlige uger. På trods af praktiske problemer har

	Fundet	Overset	Total
Før gestationsuge 10+0	101	4	105
Efter - eller svarende til - gestationsuge 10+0	60	10	70
Total	161	14	175

Tabel 1. Status på første trimester-diagnostik på Aarhus Universitetshospital, Skejby (2004-2011). Årligt prøveantal 15-17.000.

man holdt fast ved denne procedure, hvilket har betydet at der gennem årene er opbygget en stor dokumentation og erfaring med tidlig blodprøvetagning og i mange tilfælde også forsendelse af prøverne med almindelig post, hvilket har vakt international interesse.

Status

Status er at blodprøven til dobbelt-testen kan tages i vinduet mellem gestationsdag 56 og 97, svarende til 8. til 14. gestationsuge, og i de fleste risikoberegnings-programmer findes specifikke medianer til omdannelse af koncentrationer til MoM-værdier for disse gestationsuger.

Erfaringerne fra Danmark viser at mere end 90% af de gravide siger ja tak til tilbuddet om prænatal screening. Antallet af børn født med Downs syndrom i Danmark er faldet fra ca. 60-65 årligt før indførelse af prænatal screening, til i dag ca. 20-25 børn.

Forsendelse af prøver med post påvirker ikke hCGβ nævneværdigt og det er muligt at adskille tidspunktet for blodprøvetagning og tidspunktet for nakkefoldsmåling og risikoberegning, således at det er det muligt at centralisere analysen af blodprøver på få klinisk biokemiske afdelinger, der derved opnår stor rutine i analysering og i monitorering af kvaliteten af den prænatale screening. Således vil de klinisk biokemiske afdelinger, der varetager dobbelt-testanalyserne, ofte analysere mere end 5000 prøver årligt, og enkelte afdelinger analyserer op til 15.000 prøver årligt.

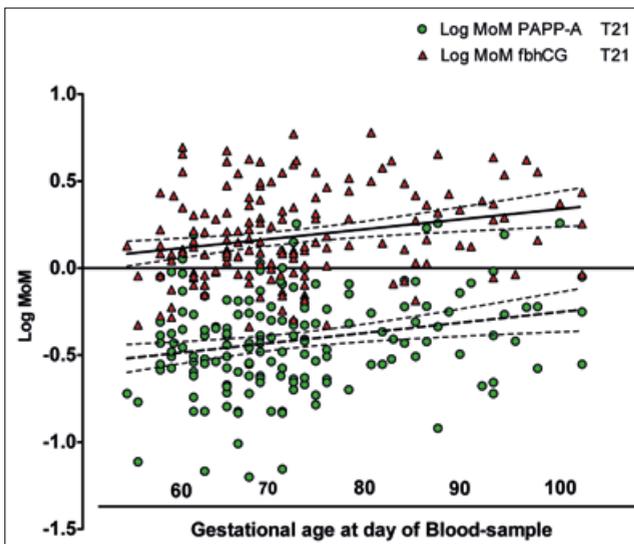
Efter 7 år med prænatal screening i Danmark er det

tydeligt at tidlig blodprøvetagning har fordele. Sensitiviteten af screening for Downs syndrom er samlet betragtet ca. 90%. Hvis blodprøven tages før gestationsuge 10 er sensitiviteten imidlertid signifikant højere [1] (se tabel 1). Således kan man se at sensitiviteten for screening for Downs syndrom er 96% ved tidlig blodprøve (uge 8-10), men 86% hvis blodprøven tages i ugerne 11-14 ($p > 0.03$, chi square). Specificiteten eller screen-positiv raten afhænger ikke af, hvornår i tidsvinduet blodprøven er taget [2]. Grunden til denne markant bedre sensitivitet ved tidlig blodprøvetagning skyldes at PAPP-A's evne til at diskriminere mellem føtal trisomi 21 og kromosomalt normale fostre bliver stærkere, jo tidligere blodprøven er taget, hvilket fremgår af regressionen for PAPP-A og hCGβ log MoM vist i figur 1. Var blodprøven taget allerede i gestationsuge 6 eller 7 vill PAPP-A's styrke forøges yderligere [3], men da ingen af de tilgængelige risikoberegningsprogrammer accepterer resultater fra blodprøver tidligere end uge 8 er dette ikke en mulighed p.t. Det forholder sig imidlertid omvendt med hCGβ, som bliver en dårligere markør, hvis blodprøven er taget i gestationsuge 8-10 set i forhold til gestationsuge 11-14. Men samlet set giver det en signifikant bedre performance af første trimester-screening hvis blodprøven tages tidligt i graviditeten.

Dobbelt-Dobbelt-test

Vi ser altså at PAPP-A er en meget stærk markør i gestationsuge 8-10, hvorimod hCGβ har sin optimale effekt

(Fortsætter side 16)



Figur 1. Lineær regression af Log MoM PAPP-A og Log MoM hCGβ igennem første trimester fra gestationsuge 8-14. Det fremgår at PAPP-A, log MoM er lavest tidligt i første trimester, svarende til at PAPP-A er en stærk markør tidligt. Omvendt er Log MoM hCGβ bedst svarende til uge 12-14.

(Fortsat fra side 15)

hvis den tages i gestationsuge 11-14. Hidtil har man i screening analyseret begge markører på samme blodprøve, men ud fra ovenstående viden om markørernes performance fremgår det at man vil opnå den bedste screening hvis man analyserer PAPP-A i en blodprøve fra uge 8-10 og hCG β i en prøve fra uge 11-14. Allerede i 2005 forudså den engelske statistiker Dave E. Wright at man kunne skille blodprøvetagningen for at opnå en bedre screening [4,5]. Med de danske resultater for tidlig screening er der nu blevet mulighed for at man dokumenterer denne effekt.

Dette er ideen bag ”dobbelt-dobbelt-test” hvor man analyserer PAPP-A på blodprøven taget hos egen læge i uge 8-10, og hvor man analyserer hCG β i en blodprøve taget i uge 12-14 i forbindelse med ultralydsscanning til bestemmelse af nakkefoldstykkelser samt risikoberegning.

Men er det ikke tilstrækkeligt at vi med samtidig analyse af PAPP-A og hCG β i uge 8-10 kan opnå en sensitivitet på 96%? Både ja og nej!

Ja - fordi det ikke er sandsynligt at vi kan opnå en sensitivitet som er meget højere end 96% på første trimester-screening. Og nej - fordi vi har en screen-positiv rate på første trimester-screening i Danmark på ca. 5-6%. Denne forholdsvis høje screen-positiv rate betyder at der i Danmark udføres ca. 2500 invasive indgreb på gravide med kromosomalt helt raske fostre, unødigt ængstelse for den gravide og unødige omkostning for sundhedsvæsenet. Så problemet med den nuværende screening er først og fremmest en for høj screen-positiv rate. Statistiske simuleringer baseret på danske data viser at sensitiviteten kan forøges samtidig med at screen-positiv raten kan reduceres signifikant ved at analysere på to blodprøver i stedet for en.

På baggrund af disse resultater etablerede de tre klinisk biokemiske afdelinger og føtalmedicinske centre på Rigshospitalet i København, Hvidovre Hospital samt Aarhus Universitetshospital, Skejby i 2009 et samarbejde for at dokumentere effekten af ”dobbelt-dobbelt-testen”. På de tre centre bliver de gravide tilbudt en ekstra blodprøve i gestationsuge 12-14. Første blodprøve tages i gestationsuge 8-10 og anden blodprøve i forbindelse med ultralydsscanning i gestationsuge 12-14. Indsamling af prøver blev afsluttet i marts 2011, og resultatet af projektet er netop blevet publiceret på Fetal Medicine Foundation’s verdenskongres på Malta i juni. Konklusionen er at detektionsraten fastholdes på 97% med en reduktion af screen-positiv raten til 3,8% med uændret

cut-off på 1:300 - svarende til et fald i invasive indgreb på 600 årligt i Danmark. Alternativt at man ændrer cut-off til 1:100 med en forventet detektionsrate på 92% og en reduktion i screen-positiv raten til 1,6% - svarende til et fald i invasive indgreb på 1700 årligt, hvis det blev implementeret nationalt.

Fremtiden

Hvis ”dobbelt-dobbelt-test” indføres som rutine på føtalmedicinske centre er udfordringerne mange: Software, logistik og økonomi. Vi skal fremover håndtere betydeligt flere blodprøver end nu, vi skal lave flere analyser end vi gør nu, og vi skal først og fremmest sørge for at blodprøverne analyseres hurtigt, så svaret kan foreligge når den gravide skal ultralydscannes samme dag. Teoretisk set skulle det være muligt kun at analysere PAPP-A på den tidlige prøve og hCG β på den sene prøve, men data fra undersøgelsen viser at det muligvis vil være bedre at bruge resultaterne fra både PAPP-A og hCG β fra begge blodprøver.

En forudsætning for indførelse af ”dobbelt-dobbelt-test” som rutine er, at der kan ske en automatisk overførsel af blodprøveresultater fra LIMS til risikoberegningsprogrammet på ultralydklinikken således at manuelle indtastninger af resultater til risikoberegning undgås.

Reference List

1. Topping N. Performance of first-trimester screening between gestational weeks 7 and 13. *Clin Chem* 2009;55:1564-7.
2. Topping N, Jørgensen LR, Petersen OB, Holmskov A, Hertz JM, Ulbjerg N. [Prenatal diagnostics in Aarhus and Viborg Counties after implementation of first trimester risk assessment]. *Ugeskr Laeger* 2008;170:50-4.
3. Madsen HN, Petersen OB, Topping N. Screening for fetal trisomy 21 in gestational weeks 6 and 7. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010;89:1218-21.
4. Palomaki GE, Wright DE, Summers AM, Neveux LM, Meier C, O’Donnell A et al. Repeated measurement of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in Down syndrome screening: a validation study. *Prenat Diagn* 2006;26:730-39.
5. Wright DE, Bradbury I. Repeated measures screening for Down’s Syndrome. *BJOG* 2005;112:80-3.



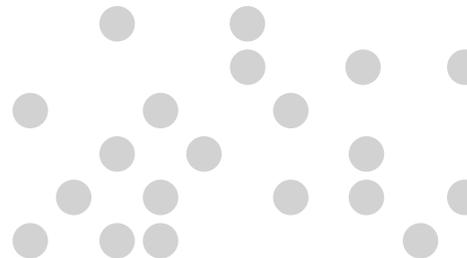
OCD Remote Monitoring Center

Using predictive technology to find issues before they become problems.

With our e-Connectivity system, you benefit from realtime monitoring helping ensure problems are identified before they become issues. The Remote Monitoring Center provides unique predictive monitoring services to laboratories by continuously detecting and tracking known potential instrument problems up to 30 days in advance, before they interrupt the ability of the lab to deliver quality test results.

For more information on our Remote Monitoring Centres go to: www.orthoclinical.com

Ortho Clinical Diagnostics
a *Johnson & Johnson* company



Analyse av rusmidler i spytt

Hallvard Gjerde og Elisabeth Leere Øiestad

Nasjonalt Folkehelseinstitutt, Oslo

hallvard.gjerde@fhi.no, elisabeth.oiestad@fhi.no



Spyttprøver blir i økende grad brukt til analyse av rusmidler, først og fremst i forskningsprosjekter for kartlegging av rusmiddelbruk, til rusmiddelkontroll i yrkeslivet, til screening av bilførere mistenkt for ruspåvirket kjøring ved hjelp av hurtigtester (før eventuell blodprøvetaking), men også til oppfølging av rusmiddelavhengige pasienter som deltar i legemiddelassisteret rehabilitering (1-3). Belgia og enkelte australske delstater har også innført faste grenser for enkelte rusmidler i spytt i forbindelse med bilkjøring. Disse grensene er basert på nulltoleranse-prinsippet, det vil si at det er ulovlig å kjøre bil dersom det kan påvises enkelte rusmidler i blod eller spytt.

De fleste rusmidler går over fra blod til spytt ved passiv diffusjon. Overgangen er avhengig av stoffets fysikalsk-kjemiske egenskaper, primært pKa, proteinbinding, lipofilitet, molekylvekt og konfigurasjon (1). For tetrahydrocannabinol (THC) er overgangen fra blod til spytt liten, så dette stoffet påvises først og fremst etter kontaminering av munnhulen ved cannabisrøyking.

På 1990-tallet var det store forventninger til bruk av spyttprøver for rusmiddeltesting og analyse av legemidler for terapikontroll. Mange forskere antok at man ville kunne estimere konsentrasjonen av et legemiddel eller rusmiddel i blod basert på analyse av spytt dersom man fikk beregnet ratioene mellom konsentrasjoner i spytt og blod ved kontrollerte prøvetakingsbetingelser. Senere forskning har derimot vist at det er store inter- og intra-individuelle forskjeller i ratioene mellom spytt

og blod, slik at det er umulig å estimere blodkonsentrasjonen relativt nøyaktig for de aller fleste stoffer (4, 5). Alkohol er et unntak, hvor konsentrasjonen i spytt ganske nøyaktig reflekterer konsentrasjonen i blod (6). For andre rusmidler og mange legemidler er det bare en semikvantitativ sammenheng.

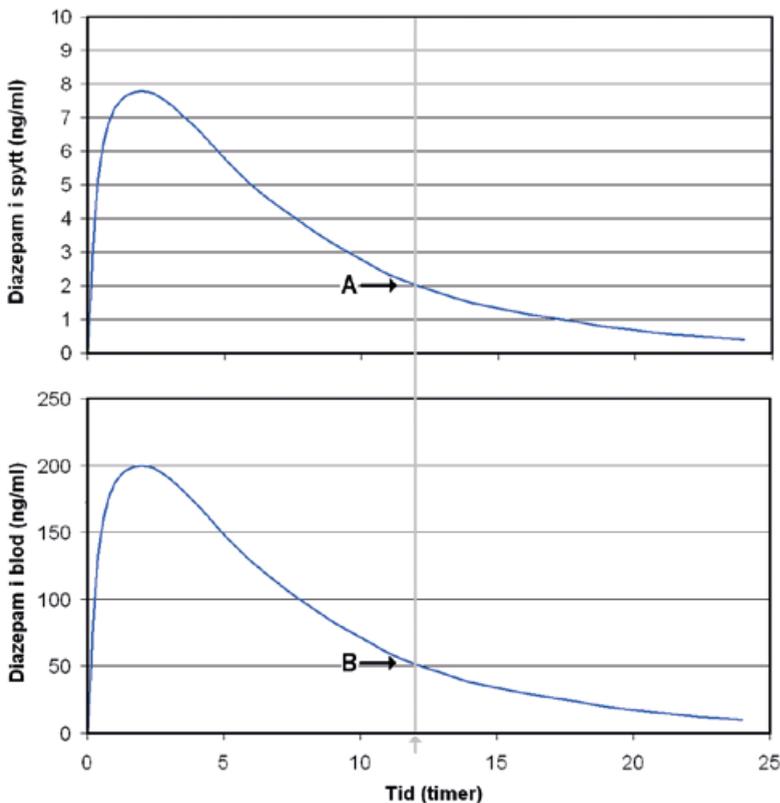
Det finnes mange produsenter av prøvetakingsutstyr for spytt. Utstyret består vanligvis av en prøvetakingspute eller svamp av bomull, cellulose eller en polymer, og denne er festet til et plastskaff, samt et prøverør som inneholder en buffer med konserveringsmidler for å stabilisere prøven og unngå mikrobiologisk nedbrytning. Prøvetakingen består av at man holder prøvetakingsputen under tungen, eller mellom tunge og kinn, i 2-5 minutter, og deretter overføres puten til prøveglasset. Noen prøvetakingsputer er innsatt med stoffer som stimulerer spyttproduksjon, for eksempel sitronsyre. Mengde oppsamlet spytt er avhengig av type prøvetakingsutstyr, vanligvis mellom 0,3 og 1,0 ml. Bruk av en del rusmidler og legemidler kan gi redusert spyttproduksjon og dermed mindre prøvolum.

Det finnes også kombinerte prøvetakings- og analyseutstyr basert på immunologiske analysemetoder, der positiv analyseresultat vanligvis markeres med en fargereaksjon.

ANALYSEMETODER

Immunologiske teknikker

Det finnes både immunologiske hurtigtester som kan utføres pasientnært og laboratorietester som krever avansert instrumentering (7). Hurtigtestene har generelt dårlig spesifisitet og sensitivitet, med unntak av analyse av noen få stoffer (3, 8-11). Falskt positive resultater er spesielt vanlig for cannabis og opiater, mens falskt negative resultater er spesielt vanlig for cannabis og benzodiazepiner. Alle positive resultater med hurtigtester må bekreftes med sikrere metoder, noe som for så vidt også gjelder alle typer immunologiske tester for rusmidler.



Figur 1. Dersom påvisningsgrensen for diazepam i spytt er 2 ng/ml (A) og i blod er 55 ng/ml (B) kan diazepam påvises gjennomsnittlig i 12 timer i begge prøvetypene etter et enkelt inntak av 10 mg.

Til immunologisk testing ved analyselaboratorier har man tidligere brukt tester utviklet for blod eller urin. Spytt ligner mer på blod på grunn av at konsentrasjonene er lavere enn i urin og fordi det er moderstoffet som hovedsakelig kan påvises i spytt, mens metabolitter ofte påvises i urin. Derfor vil nok immunologiske metoder for blod fungere best.

Immunologiske tester er velegnet for screening av et stort antall spyttprøver fordi prøvevolumet er lite (typisk 25 µl per test) analysetiden kort. Dersom andelen positive prøver er stor slik at mange prøver må bekreftes med sikre analysemetoder, kan man vurdere å kutte ut den immunologiske screeningen og i stedet analysere alle prøvene direkte på en rask og kostnadseffektiv massespektrometrisk metode.

Massespektrometriske metoder

Bekreftelsesanalyser blir ofte utført med massespektrometriske metoder på grunn av god spesifitet og sensitivitet (3). Metoder basert på gasskromatografi – massespektrometri (GC-MS) eller tandem massespektrometri (GC-MS/MS) har blitt publisert for alle rus-

midler utenom alkohol (3). Mengde prøvemateriale er ofte lite, derfor utføres vanligvis multikomponentanalyser. Kravet om ulike derivatiseringsreagenser for ulike stoffklasser gir ganske komplisert prøveoppbehandling. Væskrokromatografiske metoder (LC-MS eller LC-MS/MS) blir derfor ofte foretrukket. Slike metoder gjør det mulig å analysere polare, upolare, flyktige, ikke-flyktige og termolabile stoffer uten å måtte derivatisere dem først (3, 12). For alle LC-MS og LC-MS/MS-metoder må eventuelle matrixeffekter undersøkes nøye.

Påvisningsgrenser og -tider

Påvisningsgrensene bestemmes på bakgrunn av analysemetodens kvantiseringsgrenser og i enkelte tilfeller også på bakgrunn av farmakologi og konsentrasjonsratioen mellom spytt og blod. I enkelte tilfeller ønsker man å kunne påvise et rusmiddel så lenge som mulig etter bruk, i andre tilfeller omtrent like lenge som det er påvisbart i blod.

For basiske stoffer, som kokain, amfetaminer og opiater, er konsentrasjonene i spytt vanligvis mye

(Fortsætter side 20)

(Fortsat fra side 19)

høyere enn i blod, mens for benzodiazepiner er konsentrasjonen veldig mye lavere enn i blod. Et konstruert eksempel for diazepam er presentert i Figur 1. Dersom påvisningsgrensen for diazepam er 5 ng/ml i både spytt og blod, kan diazepam påvises i blod i 24 timer etter et enkelt inntak av 10 mg, men bare 6 timer i spytt. Dersom påvisningsgrensen i blod er 55 ng/ml og i spytt 2 ng/ml, kan man påvise stoffet i gjennomsnitt i 12 timer i begge prøvemedier (verdiene i Figur 1 er omtrentlige og basert på data fra flere klinisk studier). For benzodiazepiner kan en høy terapeutisk konsentrasjon i blod altså i enkelte tilfeller gi negativt analyseresultat i spytt. Dette er spesielt et problem for immunologiske metoder som oftest er uspesifikke for benzodiazepiner. Da brukes ofte et antistoff utviklet for høydose-benzodiazepinet oxazepam, mens det er lavdose-benzodiazepinene som oftest blir misbrukt. Dette kan også være et problem for påvisning av diazepam, fordi konsentrasjonsratioen mellom spytt og blod er bare 0.04 (4, 5).

FORDELER MED SPYTTPRØVER

Enkel prøvetaking

En spyttprøve kan tas på enklere måte enn blod- og urinprøve, og spytt er alltid tilgjengelig (bortsett fra hos pasienter med nedsatt spyttproduksjon). I tillegg er det uproblematisk å avgi en prøve under påsyn, i motsetning til urinprøve. Det er også vanskelig å manipulere en spyttprøve med fortynning eller bytting med "ren" prøve, noe som er et problem med urinprøver.

Stor villighet til å avgi prøve

I forskningsprosjekter av rusmiddelbruk er frafallsprosenten mye lavere ved innsamling av spyttprøver enn ved blod- eller urinprøver. Studier i USA har vist en frafallsprosent på 50-60% ved frivilling avgivelse av blodprøve, selv ved utbetaling av 50 US\$ til prøvegiver (13, 14). For urin var frafallsprosenten 24% og for spytt 8-11% ved belønning på 10-20 US\$ (15). I norske studier har vi de siste årene oppnådd en frafallsprosent på rundt 6% ved optimal studiedesign uten å tilby noen belønning (16).

Påviser nylig rusmiddelbruk

Et positivt analysefunn i spytt bekrefter nylig inntak, vanligvis innen de siste 24-48 timer, unntatt etter kroniske bruk der påvisningstiden kan være lenger.

Etter et enkelt inntak er en spyttprøve positiv inntil 12 timer for kokain, inntil 24 timer for cannabis, metamfetamin, heroin (når morfin påvises som metabolitt av heroin) og kokain (ved påvisning av kokain eller metabolitten benzoylcgonin), og inntil 50 timer for amfetamin (17). I urinprøver kan rusmidler påvises i lenger tid, for cannabis opptil flere uker etter siste inntak. Spytt er derfor bedre egnet enn urin for påvisning av nylig inntak.

Godt egnet til påvisning av heroinbruk

Heroin omdannes raskt til 6-monoacetylmorfin (6MAM) i kroppen. Vanligvis blir urinprøver brukt for analyse av 6MAM fordi dette stoffet sjelden kan påvises i blodprøver. I en studie av opiatavhengige pasienter under legemiddellassistert rehabilitering ble prøver av spytt og urin tatt rutinemessig for å undersøke rusmiddelbruk. 6MAM ble oftere påvist i spytt enn urin og var dermed bedre egnet til å påvise heroinbruk (18).

PROBLEMER

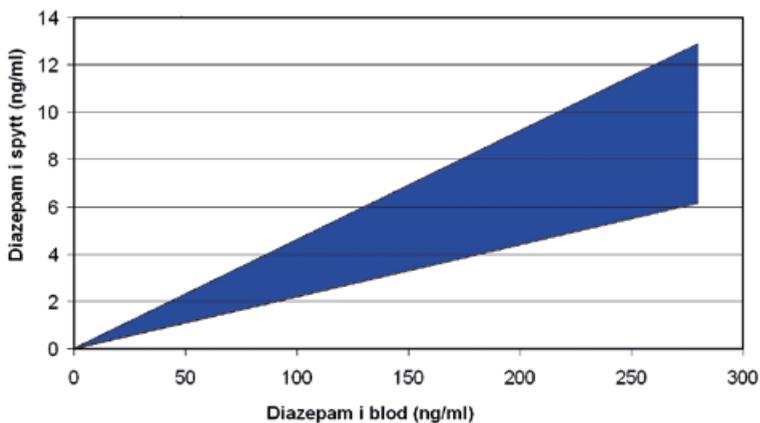
Vanskeligheter ved bruk av immunologiske metoder

Dersom immunologiske metoder benyttes, vil man se mange falskt negative og falskt positive analyseresultater om man bekrefter med massespektrometriske metoder. Dette er et spesielt stort problem for cannabis. Immunologiske tester for opiater vil også krysstestere med andre opiater og gi positivt resultat etter inntak av etylmorfin eller valmuefrø, eller på grunn av inaktive opiatmetabolitter. Immunologiske tester for benzodiazepiner vil detektere høydose benzodiazepiner som diazepam og oxazepam, men vil sannsynligvis ikke detektere terapeutiske doser av klonazepam, flunitrazepam eller nitrazepam. Høyere konsentrasjoner enn terapeutisk nivå av disse stoffene vil ofte heller ikke påvises.

Prøvetaking og prøve kvalitet

Prøvevolumet er vanligvis under 1 ml, for en del prøvetakingssett kan dette inkludere buffer og konserveringsmidler. Dette medfører at det kan være vanskelig å utføre flere typer analyser på en prøve. Bufferen kan også inneholde konserveringsmidler, surfaktanter eller fargestoffer som gir analytiske problemer.

Et annet problem er at konsentrasjonen av et stoff kan være svært høyt i en spyttprøve, for eksempel amfetamin etter injeksjon av en misbruksdose, eller for legemidler like etter at en tablett har blitt tatt.



Figur 2. 50% konfidensintervall for diazepamkonsentrasjoner i prøver av spytt og blod tatt samtidig.

Slike svært høye konsentrasjoner kan føre til kontaminering av analyseinstrumentet og overdraging til senere prøver.

Enkelte prøvetakingssett gir dårlig utbytte for ett eller flere stoffer på grunn av adsorpsjon eller fordi mye av prøvematerialet sitter igjen inne i prøvetakingssettet. Intercept Oral Specimen Sampling Device® gir svært dårlig utbytte for THC på grunn av adsorpsjon (19). Dette medfører at om man bruker en påvisningsgrense på 5 ng/ml vil en cannabisrøyker ha positiv spyttprøve i gjennomsnittlig 4 timer etter røking dersom dette prøvetakingssettet benyttes, men mer enn 12 timer dersom et prøvetakingssett som ikke adsorberer THC blir benyttet. StatSure Saliva Sampler™ holder igjen ca. 1 ml prøvemateriale som man aldri får ut av prøvetakingssettet, noe som kan føre til at prøveløvet blir for lite til fullstendig analyse.

Prøvetakingssett som inneholder stoffer som stimulerer spyttproduksjon kan påvirke konsentrasjonen av stoff i innsamlet prøve, delvis fordi spyttproduksjonen blir høyere med mindre innhold av proteiner, og pH blir surere og dermed påvirker ballansen mellom spytt og blod for stoffer med pKa-verdi nær blodets pH. Resultater fra studier som blir gjort med ulike prøvetakingssett er derfor ikke alltid sammenlignbare.

Individuelle variasjoner i konsentrasjonsratioer mellom spytt og blod

På grunn av store individuelle variasjoner kan man ikke bruke stoffkonsentrasjonen i spytt for å estimere nøyaktig konsentrasjon i blod, med unntak av alkohol (4). Diazepam er vist som eksempel i Figur 2. Dersom diazepam blir påvist i en spyttprøve i en konsentrasjon på 6 ng/ml er det 50% sannsynlig at konsentrasjonen i

blod er mellom 130 og 270 ng/ml (dersom prøven blir tatt med Intercept). Siden den øvre konsentrasjonsgrensen for terapeutisk nivå for diazepam i blod er ca. 150 ng/ml, er det tydelig at konsentrasjonen i spytt ikke sier noe om pasienten har brukt terapeutisk dose eller mer. Lignende individuelle variasjoner har blitt observert for de fleste narkotiske stoffer og legemidler, og store variasjoner har også blitt påvist for samme person på ulike tidspunkter. Det finnes også eksempler på terapeutiske legemidler som har mindre variasjon i konsentrasjonsratioen mellom spytt og blod, for eksempel noen antiepileptiske legemidler (20).

I enkelte tilfeller diskuteres falskt positive og falskt negative resultater i spytt i forhold til analysefunn i blod. Dette er egentlig ikke en riktig begrepsbruk etter vår mening. På grunn av de store individuelle variasjonene vil det alltid være mange tilfeller der en spyttprøve er positiv mens blodprøven er negativ, og vice versa. De analytiske påvisningsgrensene kan justeres for å minimalisere antall slike tilfeller, men problemet kan aldri elimineres.

Konklusjoner

Spytt er et nyttig analysemedium dersom målet er å påvise nylig rusmiddelinntak fordi prøvetaking er enkel og gir lavt frafall ved bruk i forskningsprosjekter. Den gjennomsnittlige tiden et rusmiddel kan påvises i spytt etter inntak av en enkel dose er avhengig av de valgte påvisningsgrensene. På grunn av store individuelle variasjoner kan ikke konsentrasjonen i spytt bli brukt til å gi et nøyaktig estimat på konsentrasjonen i blod, bortsett fra for alkohol. Bruken av immunolo-

(Fortsætter side 22)

(Fortsat fra side 21)

giske tester kan gi et stort antall falskt positive eller falskt negative resultater, og bør derfor kun benyttes til initiell screening. Men man må også være oppmerksom på at immunologiske tester normalt ikke kan påvise bruk eller misbruk av lavdose-benzodiazepiner.

Referanser

1. Choo RE, Huestis MA. Oral fluid as a diagnostic tool. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:1273-87.
2. Drummer OH. Drug testing in oral fluid. *Clin Biochem Rev* 2006;27:147-59.
3. Bosker WM, Huestis MA. Oral fluid testing for drugs of abuse. *Clin Chem* 2009;55:1910-31.
4. Wille SMR, Raes E, Lillsunde P, Gunnar T, Laloup M, Samyn N, et al. Relationship between oral fluid and blood concentrations of drugs of abuse in drivers suspected of DUID. *Ther Drug Monit* 2009;31:511-9.
5. Gjerde H, Mordal J, Christophersen AS, Bramness JG, Morland J. Comparison of drug concentrations in blood and oral fluid collected with the Intercept sampling device. *J Anal Toxicol* 2010;34:204-9.
6. Jones AW. Inter- and intra-individual variations in the saliva/blood alcohol ratio during ethanol metabolism in man. *Clin Chem* 1979;25:1394-8.
7. Townsend S, Fanning L, O'Kennedy R. Salivary Analysis of Drugs—Potential and Difficulties. *Anal Lett* 2008;41:925-48.
8. Pehrsson A, Blencowe T, Vimpari K, Langel K, Engblom C, Lillsunde P. An Evaluation of On-Site Oral Fluid Drug Screening Devices DrugWipe((R)) 5+ and Rapid STAT((R)) Using Oral Fluid for Confirmation Analysis. *J Anal Toxicol* 2011;35:211-8.
9. Wille SM, Samyn N, Ramirez-Fernandez MM, De BG. Evaluation of on-site oral fluid screening using Drugwipe-5(+), RapidSTAT and Drug Test 5000 for the detection of drugs of abuse in drivers. *Forensic Sci Int* 2010;198:2-6.
10. Goessaert AS, Pil K, Veramme J, Verstraete A. Analytical evaluation of a rapid on-site oral fluid drug test. *Anal Bioanal Chem* 2010;396:2461-8.
11. Blencowe T, Pehrsson A, Lillsunde P, Vimpari K, Houwing S, Smink B, et al. An analytical evaluation of eight on-site oral fluid drug screening devices using laboratory confirmation results from oral fluid. *Forensic Sci Int* 2011;208:173-9.
12. Gallardo E, Queiroz JA. The role of alternative specimens in toxicological analysis. *Biomed Chromatogr* 2008;22:795-821.
13. Lacey JH, Kelley-Baker T, Furr-Holden D, Brainard K, Moore C. Pilot test of new roadside survey methodology for impaired driving. DOT HS 810 704. Washington: National Highway Traffic Safety Administration; 2007.
14. Lacey JH, Kelley-Baker T, Furr-Holden D, Voas RB, Romano E, Ramirez A, et al. 2007 national roadside survey of alcohol and drug use by drivers - drug results. DOT HS 811 249. Washington: National Highway Safety Administration; 2009.
15. Fendrich M, Johnson TP, Wislar JS, Hubbell A, Spiehler V. The utility of drug testing in epidemiological research: results from a general population survey. *Addiction* 2004;99:197-208.
16. Gjerde H, Christophersen AS, Moan IS, Yttredal B, Walsh JM, Normann PT, et al. Use of alcohol and drugs by Norwegian employees: a pilot study using questionnaires and analysis of oral fluid. *J Occup Med Toxicol* 2010;5:13.
17. Verstraete AG. Detection times of drugs of abuse in blood, urine, and oral fluid. *Ther Drug Monit* 2004;26:200-5.
18. Vindenes V, Yttredal B, Oiestad EL, Waal H, Bernard JP, Morland JG, et al. Oral fluid is a viable alternative for monitoring drug abuse: detection of drugs in oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and comparison to the results from urine samples from patients treated with Methadone or Buprenorphine. *J Anal Toxicol* 2011;35:32-9.
19. Langel K, Engblom C, Pehrsson A, Gunnar T, Ariniemi K, Lillsunde P. Drug testing in oral fluid-evaluation of sample collection devices. *J Anal Toxicol* 2008;32:393-401.
20. Mecarelli OM, Voti PLM, Pro SM, Romolo FSP, Rotolo MP, Pulitano PM, et al. Saliva and Serum Levetiracetam Concentrations in Patients With Epilepsy. *Ther Drug Monit* 2007;29:313-8.

TAKE THE NEXT STEP IN PEANUT ALLERGY MANAGEMENT



Better allergy definition for improved quality of life

With ImmunoCAP® Molecular Allergology, you can take the diagnosis and management of peanut allergy to a whole new level. Unlike traditional testing, the technology uses single allergen components to quantitatively detect IgE antibodies – a level of insight previously unimaginable. A single blood sample enables a measurement of all

available ImmunoCAP® peanut components, giving you a complete risk assessment. ImmunoCAP® Allergen Components help you differentiate between “true” allergies and symptoms due to cross-reactivity, evaluate the risk of severe reactions and define the optimal treatment. Benefits that ultimately can help improve the patient’s quality of life.

To learn more about the advancements we’re making in allergy and autoimmunity testing, contact your local Phadia (now Thermo Fisher Scientific) representative or visit www.thermoscientific.com/phadia



www.thermoscientific.com/phadia



Reserapport: Høst på Manhattan

Anne-Lise Bjørke Monsen

Laboratorium for Klinisk Biokjemi, Haukeland Universitetssykehus, Bergen

anne.lise.bjorke.monsen@helse-bergen.no



*There is something in the New York air
that makes sleep useless.*

Simone De Beauvoir

Det er i hvert fall et uomtvistelig faktum at det er vanskelig å sove i New York. I enkelte gater er det oppslag om at biltuting straffes med en mindre neve dollar. Hvordan man har tenkt at disse pengene skal innkreves idet bilene suser forbi, er ikke klart for meg. Det samme tanken har åpenbart også slått bilistene, for disse oppslagene har tydeligvis ingen effekt og det tutes over en lav sko dag og natt. Hvis det ikke er privatbilistene som bidrar til bråket, så er det brann-

vesenet eller politiet som raser gjennom gatene med fulle sirener kl. 4 om natten.

Jeg og min yngste datter skulle tilbringe høsten i *The Big Apple*. Vi hadde med friskt mot byttet vårt hus i Italia med en leilighet i 14. etasje (egentlig 13.) i Chelsea med ekorn i hagen, meget hippe homofile naboer og egen vaskehjelp (Hurra!). Om nettene, når jeg ikke fikk sove, kunne jeg sitte i sengen og skue utover skyskraperhimmelen og Hudsonelven. Det var uten tvil den mest fantastiske utsikt jeg noensinne har hatt fra en seng.

Etter 1 uke uten søvn var imidlertid humøret noe redusert. Min tilstand ble ikke bedre av at min 15-årige datter omtrent samtidig begynte på en posh privatskole på Central Park West, der hun øyeblikkelig fikk seg mange nye venner, inkludert en kjærreste som i bar overkropp og med sannsynlig øresus, skrek obskøniteter av full hals i et heavy metal band, når han ikke var på skolen. Det begynte å strømme inn tykke konvolutter med invitasjoner til bursdagselskaper, med svar utbes til mammaen, vanligvis en blond, tynn *stay-home-mom*. Disse selskapene, som fordret en helt ny garderobe, ble vanligvis holdt i en restaurant på Upper East Side med innleid DJ, av og til en levende sangstjerne (av typen Kanye West), etasjekaker og bursdagsbarnet hadde hyret inn egen stylist for anledningen. Min datter var heldigvis forskånet for å feire sin bursdag i New York. Jeg vet ikke om hun hadde klart påkjenningen ved å invitere vennene på mammas hjemmelagede pizza i Chelsea.

*Every day I get up and look through the
Forbes list of the richest people in America.
If I'm not there, I go to work.*

Robert Orben

Det medisinske fakultet på Columbia University ligger på 168. gate og Broadway. Man kan vel si at mye av Broadwaysjarmen har tapt seg når man stiger ut av

toget på denne stasjonen. Fakultet med institutter og sykehus dekker et enormt område i Harlem, og stedet egner seg definitivt best for opphold på dagtid. Langs veien står det små vogner på rekke og rad og her kan man for en billig penge kjøpe seg en usunn, nydelig frokost, lunsj og mellommåltid. Fried eggs in a roll + kaffe var min morgenfavoritt, savner det ennå. En gang i uken var det marked i gaten utenfor instituttet, der gårdbrukere solgte sine grønnsaker, frukt, kaker og ost, åpenbart meget eksotisk for alle snakket om dette fenomenet.

Mailman School of Public Health befinner seg i en verneverdig bygning (ja, de finnes), *Allan Rosenfield building*, og hadde som alle de andre husene på campus plaketter med navnene på de som betalte (mest) for hverdag og fest.

*Early to bed and early to rise probably
indicates unskilled labor.*

John Ciardi

Dette fyndordet gjaldt åpenbart ikke Professor Ezra Susser, som var hjerte og hjerne på instituttet. Dette er kanskje verdens travleste mann. Hans arbeidsdag begynte gjerne i 4 tiden om natten og innbefattet en jevn strøm med artikler, møter, foredrag og reiser til alle verdens avkroker. Susser arbeider med assosiasjonene mellom barns tidlige psykomotoriske utvikling og senere mentale sykdommer, som schizofreni, autisme og ADHD og er blant annet ansvarlig for studien som knytter underernæring i svangerskapet til schizofreni hos avkommet.

På Columbia University er plass en mangelvare, men jeg var så heldig å få et kontor på instituttet. Dette delte jeg av og til med moren til professor Susser, Zena Stein, en elskelig professor emerita på 88 år, kjent for viktige epidemiologiske studier innenfor mental retardasjon, reproduksjon og HIV. Hun skrev fortsatt artikler og var oppdatert på det meste.

Kontoret var uten vinduer og det var alltid iskaldt. Professoren likte at innetemperaturen lå på omkring 10-12 grader. Dette hadde hans mor åpenbart tatt følgen av og jeg så henne aldri uten boblejakke, selv i august da temperaturen utenfor var langt over 30 grader. Hvordan resten av arbeidsstokken klarte å håndtere dette fenomenet var utenfor mine begreper. Selv hadde jeg gjentatte øvre luftveisinfectionsjoner hele høsten, men det er noe vi nordmenn egentlig er vant til.

*There are only three types of people
in the world: those who can count
and those who can't.*

Unknown

Epidemiologer kan telle det meste, også det de ikke vet noe om. Bak dørene på Mailman School of Public Health skulle to verdener møtes, den som kan mye om et svært lite (meg), og den som kan lite om svært mye (epidemiologene). Man kan selvfølgelig ikke forvente at epidemiologer skal ha detaljkunnskap om alt de jobber med, men at de kunne så lite om vitamin B12 (mitt favorittvitamin!) var hardt å svelge.

Bortsett fra denne ergrelsen, var kombinasjon av en liten klinisk kjemiker fra Norge og store epidemiologer fra New York vellykket. Jeg arbeidet med et fantastisk datasett fra den norske Mor-Barn studien, som har inkludert mer enn 100 000 gravide kvinner i årene 1999-2008 og omfatter både biologisk materiale og spørreskjemadata. Mens jeg var på Columbia så jeg spesielt på assosiasjonene mellom biokjemiske data og analyser av barns språkutvikling og kombinasjonen av medisinsk biokjemi og epidemiologi viste seg å være fruktbar.

*Smoking is one of the leading
causes of all statistics.*

Liza Minelli

En av de store fordelene med å være på et sted som Columbia University er muligheten til å få treffe og høre på interessante forskere, både de som jobber der og besøkende fra hele verden. Hver eneste uke ble det tilbudt foredrag innenfor mange ulike forskningsfelt, og med god stedsans og et Columbia identitetskort rundt halsen kunne i prinsipp alle avdelingene på Columbia University frekventeres.

Et av de mer spektakulære møtene jeg deltok på, var en lunsj sammen med Conrad Keating fra The Wellcome Unit for the History of Medicine ved Oxford University. I et lite rom satt han (med svetteinger under armene) og diskuterte sin bok *Smoking Kills: The Revolutionary Life of Richard Doll*, med 6 distingverte professorer fra Columbia University. Samtalen dreide seg om Sir Richard Doll, verdens ledende epidemiolog på 1900-tallet, som med sin *British Doctors Study* påviste sammenhengen

(Fortsætter side 27)

(Fortsat fra side 25)

mellom tobakksrøyking og helseproblemer. Mange av de tilstedeværende hadde førstehåndsopplysninger om den berømte mannen, som de hadde delt forskningsfelt med i mange år.

*Science is a wonderful thing if one does
not have to earn one's living at it.*

Albert Einstein

Professor Susser var en av de få vitenskapelig ansatte som fikk sin lønn fra Columbia University. Alle andre levde av sine grants, som de måtte søke om hvert år for å holde seg flytende. Det var *Publish or Perish - Sydney or the Bush*. Hvis man ikke publiserte, fikk man ikke nye penger og man var dermed uten jobb. Om dette var en god ting for forskningskvaliteten ble jeg aldri klok på.

*New York is the biggest collection
of villages in the world.*

Alistair Cooke

Livet på Manhattan dreide seg imidlertid ikke bare om metabolske spissfindigheter og statistikk. New York var velsignet med et fantastisk fint vær denne høsten og en av mine favorittaktiviteter var å gå. Hvis jeg skulle gått fra Chelsea til Columbia University på 168. gate så ville det tatt hele dagen, men jeg gikk alltid deler av veien, en ny gate og en ny verden hver dag.

Strekningen fra Columbus Circle til 125. gate på Upper West Side er spesielt sjarmerende. Der kunne man finne diverse spesielle etableringer for hunder som spa, smykkebutikk og klesbutikk. For tobente fantes det de vidunderligeste matbutikker, som *Zabar's* på 2245 Broadway med varer fra hele verden og *Magnolia Bakery* med sine *Sex & the City*-berømte cupcakes og fantastiske bokhandlere som *Bookculture* på 536 West 112 street.

*I'm astounded by people who want to
'know' the universe when it's hard enough
to find your way around Chinatown.*

Woody Allen

Chinatown er muligens en hard nøtt, men det er ellers enkelt å ta seg frem i NY. Vil man ikke gå, så kan man ta metroen eller en gul taxi. Metroen er New Yorkernes andre hjem. Der kan man innta frokosten (1 decaf latte

with non-fat milk), legge dagens makeup, det kan øves inn sangtekster og leses artikler, bøker og gratisaviser som om morgenen deles ut ved metrostasjoner over hele Manhattan. De færreste snakker med hverandre og ingen synes å være interessert i det andre foretar seg. Det løftes ikke på et øyebryn selv om sidemannen utbaserer hele evangeliet på full styrke inn i ditt høyre øre.

Metroen er også en arena for performance-artister. Forskjellen mellom New Yorkere og europeere ble åpenbar da jeg et par måneder etter NY oppholdet tok metroen i Roma. I Roma finnes det to metrolinjer og flere blir det neppe fordi ingen orker å grave ut fortidsminnene som befinner seg der toget skal gå. I trappene på vei ned til toget er det et øredøvende lurveleven fordi alle snakker, enten med hverandre eller i mobiltelefon. Å høre sin egen stemme er for en italiener et bevis på at han fortsatt lever og derfor en aktivitet av vital betydning. I New York snakkes det også, i mobilen, men det skjer helt lydløst.

På en stasjon kom det på en ekte italiensk smørsanger med gitar. Med innlevelse musiserte han mens stasjoner kom og gikk. Alle fulgte interessert med og kommenterte høylytt opptreden. Han gjorde ingen mine til å avslutte for å samle inn sine velfortjente Euro og da jeg gikk av sang han fortsatt. I NY tar man fortjeneste etter 1 stasjon – ferdig med det, og artisten forventer ingen gjennomdiskutert vurdering av forestillingen. Alle bare later som om han ikke er der, eventuelt slenger en dollar oppi hatten mens de ser en annen vei.

*Every person on the street of New York
is a type. The city is one big theater where
everyone is on display.*

Jerry Rubin

I følge mine NY venner burde alle tilbringe litt tid hver uke i Central Park, en formaning som sikker var godt ment, men som ikke vant gehør hos en nordmann med begrenset tid på Manhattan. Time Out Magazine har en nettside med informasjon om 100 ulike NY arrangement hver dag. På Columbia var det dessuten et eget kontor som solgte billetter til redusert pris til en rekke ulike kulturelle arrangement. Kunsten er å finne frem til alle tilbudene og ikke bli fullstendig overveldet. I løpet av mine måneder på Manhattan fikk jeg blant annet med meg Patti Smith som sang "Pissing in the river" til stor applaus fra et heller mondent publikum på Metropolitan Museum of Art, ekstragavante operaforestillinger på Metropolitan, teater og danseforestillinger

på diverse Off Broadway scener, kveldskurs i Contemporary Art på MoMa (en Woody Allenskk opplevelse!), diskusjoner om freudianske relasjoner på 92.nd street Y og en rekke merkelige opplevelser på gateplan.

They say life's what happens when you're busy making other plans. But sometimes in New York, life is what happens when you are waiting for a table.

Sarah Jessica Parker

Man vet at man er blitt en ekte New Yorker hvis man treffer sine venner til brunch i helgen. Skal man få et bord på det rette stedet lørdag formiddag, må dette enten bestilles i god tid eller man må belage seg på en lang kø. Veldig hipt er det å frekventere etablissementene i The Meat District og galleriområdet for contemporary art på 10.th Avenue. Brunchen åpner med en Bloody Mary og fortsetter gjerne med en til.

I NY kan man velge mat fra alle verdenshjørner og sjansen er stor for at maten er god, ettersom konkurransen mellom restaurantene er høy. Men åpenbart

ikke alltid høy nok. På en av NY beste kinarestauranter bivånet jeg en ansatt som tørket bestikket med samme serviett som hun tørket munnen sin med. Dagen etter hadde jeg diare, muligens av psykogene årsaker.

New York is the only real city-city.

Truman Capote

NY er et vidunderlig sted og jeg er svært takknemlig for stipendet fra *Klinisk biokjemi i Norden* som bidro til at jeg fikk være der høsten 2010. Under oppholdet fikk jeg også anledning til å reise til San Francisco der jeg var invitert til å ha foredrag ved University of California, Davis og Berkeley, samt til New Haven for å ha et foredrag på Yale University. Dette oppholdet skaffet meg mange interessante og artige faglige og sosiale kontakter. For min 15-årige datter ble Manhattan definisjonen av selve himmelen og det var med nød og neppe jeg fikk henne med meg tilbake til Bergen. Jeg klandrer henne ikke, for selv en innfødt Bergenser forstår at Norges vakreste by ikke kan måle seg med livet på Upper-Upper Manhattan.



Kantarell (*Cantharellus cibarius*) Foto: Henrik Alfthan



Elecsys® S100

To rule out complications following m





Minor traumatic brain injury

cobas[®]
Life needs answers

Akkreditering af genetiske analyser: molekylærbiologien bliver voksen- igen!

Jens R. Bundgaard

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København

jrb@rh.dk



Da molekylærbiologien gjorde sit indtog i den eksperimentelle forskning åbnedes op for nye måder at arbejde på og nye muligheder, som kun fantasien satte grænser for. Sådan er det stadig, men i molekylærbiologiens barndom var teknikker og resultater oftest deskriptive eller kvalitative, hvilket smittede af på arbejdsmetoder og tankegange. Der gik da heller ikke lang tid før skeptikere fra andre discipliner påpegede dette, især da resultaterne efterhånden blev semikvantitative. Med tiden blev molekylærbiologien kvantitativ og dermed ”voksen”, men genetiske analyseteknikker vil altid indeholde et vist kvalitativt og deskriptivt element, og fortolkninger af data baseret herpå er uundgåelige. Mange genetiske analyser bliver i dag udført i - eller er udsprunget fra - klinisk biokemiske laboratorier, hvis klassiske analyserepertoire er baseret på kvantitative analyser, der i de sidste 10-15 år er blevet genstand for kvalitetssikring i form af akkreditering efter internationale standarder. Dette er naturligvis ligeså ønskeligt for genetiske analyser, men centrale punkter i standardkravene har genoplivet tidligere diskussioner omkring vurdering af genetiske metoders korrekthed, usikkerhed og validitet, hvor tilgangen til akkrediteringen ikke er helt så naturlig som inden for biokemiske analyser. Desuden støtter gendiagnostiske metoder og teknikker sig til kommercielle firmaer, der oftest understreger, at instrumenter og reagenser er til forskningsbrug alene, i modsætning til klassiske biokemiske analyser, hvor firmaerne er mere eller mindre aktive partnere i kvalitetssikringen. Endelig er gendiagnostikken ofte tæt knyttet til forskningsenheder, hvor kultur og arbejdsmetoder hyppigt adskiller sig fra den, internationale labori-standards sigter mod. Med andre ord har man fornemmelsen af, at molekylærbiologien ved akkreditering igen må søge ind i de voksnes rækker.

Nedenfor viderebringes nogle overvejelser og erfaringer, vi har haft ved akkreditering af den genetiske sektion i en klinisk biokemisk afdeling.

Behov for akkreditering

Akkreditering betegnes ofte som ”sund fornuft sat i system”, og de fleste vil vel mene, at det allerede kender tegner deres arbejdsplads. Så hvorfor akkreditere genetiske analyser? Den vigtigste begrundelse herfor er, ud over at få dokumenteret laboratoriets sunde fornuft, at der ligger et eksternt pres for at gennemføre processen. Ved kliniske afprøvninger ligger der krav om, at relevante analyser udføres af akkrediterede laboratorier, og eksempelvis farmakogenetiske analyser inddrages hyppigt i disse afprøvninger. Desuden er kun få og meget simple genetiske analyser CE-mærkede, og der arbejdes i EU-sammenhæng på, at kun akkrediterede laboratorier i fremtiden vil kunne få lov at udføre ikke-CE-mærkede analyser, hvilket i realiteten gør akkreditering til et spørgsmål om overlevelse for laboratorier.

Målsætning for akkrediteringen

At gennemføre akkrediteringsprocessen er ressourcekrævende, og fra starten af gjorde vi os klart, at vi med processen ikke kun ville opnå akkreditering, men også søge at opnå et afkast af investeringen i form af reelle kvalitetsforbedringer og effektivisering af arbejdsprocedurer. For at opnå dette benyttede vi os af de redskaber, der naturligt indføres gennem implementeringen af akkrediteringsstandarder (i vores tilfælde ISO15189). Vi har fx benyttet afvigerapportsystemet til ikke kun at registrere afvigelser fra fastlagte procedurer, men også til at registrere generelle ”uhensigtsmæssigheder” og til at få taget stilling til disse. Således giver standarden nogle rammer, inden for hvilke man selv kan fastsætte sit ambitionsniveau.

Strategi

Da den gendiagnostiske sektion er en del af en allerede akkrediteret klinisk biokemisk afdeling, valgte vi at benytte os af det eksisterende ”akkrediterings-skelet” med hensyn til bl.a. kvalitetshåndbog, personaleadministration, arbejdsmiljøforhold og dokumentstyring. Dette reducerede til dels opgaven, men alligevel er der en del essentielle forskelle på udførelse af genetiske analyser og biokemiske analyser, hvilket kræver specielle tiltag, som uddybes i næste afsnit. Dertil kommer, at på grund af genlaboratoriets forskningsmæssige baggrund, var kulturen mere resultatorienteret end fokuseret på processerne. Dette betyder ikke nødvendigvis, at analyseresultaterne var af dårligere kvalitet, men dog betydeligt sværere at dokumentere og kvalitetssikre end den mere strømlinede produktion, der er målet i et akkrediteret laboratorium. Akkrediteringsprocessen førte dermed til en identifikation af særlige krav set i forhold til kravene til biokemiske analyser og en løsningsmodel for disse inden for stan-

dardens rammer, men i særdeleshed også til en gradvis forandring i arbejdskulturen inden for alle faggrupper på laboratoriet.

Særlige forhold ved genetiske analyser

I det følgende vil jeg give eksempler på problematikker, hvor genetikken adskiller sig fra biokemien, og vore overvejelser om hvorledes disse kunne løses.

Sporbarhed og referenceintervaller

Under genomisk analyse har man det problem, at analytten, dvs. genomet, ikke er ens for to individer. Dette kræver, at udgangspunktet bliver en bestemt referencesequens, således at alle variationer angives i forhold til denne. Heldigvis findes der i databaserne efterhånden veldokumenterede referencesequenser, der kan benyttes, men ”dokumentstyring” af disse sekvenser er vigtig, da databaserne ikke nødvendigvis er uforanderlige. De genomiske variationer medfører

(Fortsætter side 32)



Oprensning af PCR-produkter til diagnostik af mutationer i BRCA-generne.

(Fortsat fra side 31)

også, at begrebet referenceinterval bliver til en diskussion omkring den potentielle kliniske betydning af individuelle variationer i genomet. Dette forudsætter viden herom, en viden der er konstant foranderlig og kræver nøje og dokumenteret overvågning af litteratur og databaser.

Ekstern kvalitetskontrol

Hvor ekstern kvalitetskontrol er fasttømret i den kliniske biokemi, er tilfældet anderledes med de molekylærgenetiske analyser. Der eksisterer kun nationale eller internationale EQA-programmer for et begrænset antal af de genetiske analyser som oftest for SNP analyser (fx. Faktor V Leiden eller HFE). Der eksisterer programmer for mere komplicerede analyser, fx arvelige cancertgener som BRCA1 og BRCA2, men udfordringen i EQA-prøven ligger langt fra den, patientprøven fordrer. Prøvningen går typisk ud på sekventering af et bestemt fragment med efterfølgende fortolkning

og rapportering af eventuelle fund. Selvom det sidstnævnte kan være vanskeligt nok i visse tilfælde, så minder situationen mest om en diagnoseprøve, hvor der analyseres for en i en familie kendt mutation, og ikke om de mere omfattende og krævende screeningsanalyser, hvis udfald er fuldstændig ukendte. Oftest udsender EQA-programmerne oprenset DNA, og dette har i sig selv flere ulemper. Dét vigtige trin i analyseprocessen, som DNA-oprensning udgør, bliver dermed ikke indbefattet i prøvningen. Dette kan være uheldigt i den senere behandling af indberetningerne og vurdering af resultaterne. De fleste laboratorier har optimeret deres analyseudførelse til den DNA-kvalitet, laboratoriet selv frembringer. Det er vores erfaring, at i visse analysemetoder, ofte MLPA analysering, har vi svært ved at opnå analyseresultater af tilfredsstillende kvalitet på modtaget DNA. Det mindsker selvsagt værdien af en prøvning, hvis man ved afvigelser fra korrekte resultater blot kan henføre dette til "dårligt DNA modtaget". Som følge af disse problematikker



Stubbsvamp. Foto: Henrik Alfthan

har vi valgt at deltage i EQA-programmer, men søger derudover at finde partnere til prøveudvekslinger. I tilfælde af udvekslinger vil vi helst udveksle blodprøver frem for oprenset DNA.

Svarafgivelse

Biokemiske analyser bliver i modsætning til den genetiske test ofte gentaget. I tilfælde af positive fund ved en genetisk test udfører vi en kontrolprøve, men ved negative fund står et enkelt prøveresultat tilbage som en endegyldig sandhed. Dette stiller store krav til genetiske svar, især når man tager i betragtning, at viden om genvariationer konstant udbygges. Dette betyder, at variationer af ukendt betydning i dag, kan være dokumenteret som klinisk vigtige mutationer eller som ubetydelige SNPs i morgen, og dermed kan man sige at et genetisk svar *per se* har en holdbarhedsdato i forhold til den tilgængelige viden. Et forsøg på at løse dette problem kan være, at alle fund (fx afvigelse fra referencesequensen) rapporteres, således at man senere kan revurdere analyseresultatet ud fra nyere viden. Dette har dog den ulempe, at det vanskeliggør læsning af svarrapporten, da der angives en mængde data, som modtageren ikke kan tage stilling til, med mindre denne er en erfaren genetiker. I det hele taget er det vigtigt, at svarrapporten er klar i konklusionerne og forståelig for modtageren, hvilket ikke altid er simpelt at sikre sig, da modtagerne kan tilhøre mange dele af sundhedssektoren.

Validering af genetiske analyser

En afgørende forskel mellem biokemiske og molekylærgenetiske analysers akkreditering ligger i valideringsprocedurerne, idet langt de fleste biokemiske analyser er kvantitative og karakteriseres ved et numerisk referenceinterval, variationskoefficient, detektionsgrænse m.v. Denne validering kan føre frem til et regelret usikkerhedsbudget med kvantitativ angivelse af analysens "troværdighed". Dette er desværre ikke muligt for de genetiske analyser. Vi udarbejdede derfor en SOP til beskrivelse af, hvordan vi praktisk ville dokumentere vore analysers egnethed og korrekthed. Det er nærliggende at postulere, at det for genetiske analyser blot handler om fx at dokumentere at man kan lave en PCR korrekt og sekventere det resulterende DNA, således at dokumentationen først og fremmest omfatter kompetence til at udføre tekniske enhedsoperationer. Imidlertid kræver den korrekte genetiske analyse ofte en række forudsætninger, der skal overve-

jes, inden den egentlige analyse påbegyndes, ligesom disse forudsætninger kan ændre sig med tiden. Fx kan nye sygdomsfremkaldende mutationer i et gen blive beskrevet, og det må derfor tages i betragtning, om analysemetoden skal ændres for at kunne medtage sådanne mutationer. Med andre ord kan en analyse, der blev udført fyldestgørende i dag være mangelfuld næste år! Dette kræver regelmæssig vedligeholdelse af analysens omfang, eventuelt i samråd med rekvirenterne. Det må også overvejes, om der er faktorer, der påvirker de resultater man opnår, fx tilstedeværelse af pseudogener, loss of heterozygosity eller repeterede sekvenser. Svarende til de biokemiske analyser må man vise, at hver reaktion fungerer efter hensigten og er robust, evt. gennem sammenligninger med andre laboratorier eller analysemetoder.

Usikkerhedsbestemmelse

Et egentligt usikkerhedsbudget er umuligt at lave for genetiske analyser, og netop derfor er det vigtigt at dokumentere kompetence og overblik over elementerne i procedurerne. Usikkerheden hviler i høj grad på valg af metoder (fx hvorvidt alle gensekvenser sekventeres eller om der udføres mutationsdetektionsanalyser) samt hvilke genområder man reelt analyserer, men i særdeleshed også i kvaliteten og forståeligheden af svarrapporten. Usikkerhedsbestemmelsen munder derfor ikke ud i et tal, men ender mere som en vurdering af laboratoriets generelle troværdighed. Netop derfor er det nærliggende at sige, at akkreditering af laboratorier, der udfører genetiske analyser, giver lige så meget mening som akkreditering af biokemiske laboratorier - hvis ikke mere.

Afsluttende bemærkninger

I dette indlæg har jeg forsøgt at give eksempler på specielle problematikker for akkreditering af genetiske analyser set i forhold til biokemiske analyser. I skrivende stund har vi netop af DANAK fået akkrediteret en række af vore kerneanalyser, og oplevelsen af processen har været meget positiv. Vi har gennemgået en kritisk evaluering af vores arbejde og fået rettet mange ting til, der generelt har forbedret vore arbejdsgange og elimineret uhensigtsmæssigheder og potentielle risici. Men vi må også konstatere, at der stadig er ting at arbejde med. At ændre arbejdskultur er en langsom og tålmodighedskrævende proces, samt en hel del sværere end man umiddelbart skulle tro. Det kræver vilje at blive gearret til standarden!

Prøvematerialets holdbarhet

- kriterier og vurderinger

Arne Åsberg, Kristine Bodal Solem og Gustav Mikkelsen

Avdeling for Medisinsk Biokjemi, St. Olavs Hospital, Trondheim



Etter prøvetaking må minst to forutsetninger oppfylles for at prøveresultatet kan gi et korrekt bilde av pasientens tilstand: Analysemetoden må måle rett konsentrasjon av analytten i prøvematerialet og konsentrasjonen av analytten i prøvematerialet må ikke ha endret seg vesentlig i tidsrommet fra prøvetaking til analyse. Alle laboratorier har systemer for å sikre rett måleverdi, mens informasjon om analyttens stabilitet som regel hentes fra litteratur, som for eksempel (1). Likevel kan det enkelte laboratorium få behov for å selv å undersøke analyttens stabilitet i prøvematerialet, eller - som vi ofte sier - prøvematerialets holdbarhet. Behovet kan skyldes at vi benytter spesielle ordninger for oppbevaring og/eller transport av prøver, hvor effekten på aktuell analytt ikke er beskrevet i litteraturen - eller det kan skyldes at vi ønsker å verifisere holdbarhetsdata som er oppgitt i litteratur eller pakningsvedlegg. I mangel av allment aksepterte retningslinjer for holdbarhetsforsøk har vi laget våre egne, som vi her presenterer til diskusjon.

Kriterier for holdbarhet

ISO Guide 30 definerer holdbarhet («stability») for et referansemateriale som den evne materialet har til å beholde den erklærte egenskap innenfor definerte

grenser når det lagres under definerte forhold i et definert tidsrom (2). Det er naturlig å definere prøvematerialets holdbarhet på liknende måte, som dets evne til å beholde opprinnelig måleverdi innenfor definerte grenser når det lagres under definerte forhold i et definert tidsrom. Tiden er lett å definere og måle, likeså forholdene (for eksempel temperatur og belysning), men kriteriene (grensene) for holdbarhet er det ingen enighet om.

De fleste som skriver om saken, tar utgangspunkt i *gjennomsnittsverdien* av konsentrasjonen av en gitt analytt i et gitt antall pasientprøver, og krever at denne gjennomsnittsverdien skal være innenfor et gitt avvik fra gjennomsnittlig utgangsverdi for at prøvematerialet kan kalles holdbart i det undersøkte tidsrommet. Noen kaller dette tillatte avvik for “clinically acceptable limit” og lister opp slike grenser for visse analytter uten å begrunne størrelsen av de tillatte avvikene (3). Andre taler om at gjennomsnittet må være innenfor “Total allowable error range” definert som $\pm(1,65 \cdot \text{analytisk upresisjon} + \text{tillatt bias})$, der tillatt bias er fjerdeparten av total biologisk variasjon (4). Atter andre foreslår at gjennomsnittet må være innenfor utgangsverdi ± 1 analytisk standardavvik (5) eller utgangsverdi $\pm 2,8$ “usual” analytiske standardavvik (6).

Vi mener at gjennomsnittsverdien av analyttkonsentrasjonen i prøver som er oppbevart i en bestemt kombinasjon av oppbevaringsbetingelser og oppbevaringstidsrom må være innenfor gjennomsnittlig utgangsverdi \pm tillatt bias, for tillatt bias er det største avvik gjennomsnittet kan ha for at målemetoden kan beholde sin antatte kliniske nytteverdi. Spørsmålet er heller hva som skal være størrelsen på tillatt bias. Basert på data om biologisk variasjon har Fraser lansert bias-begrepene “optimum performance”, “desirable performance” og “minimum performance” som henholdsvis 0,125, 0,250 og 0,375 ganger total normal biologisk variasjon, dvs. $(CV_2I + CV_2G)^{0,5}$, der CV_1 er “within-subject” normal

biologisk variasjon og CV_G er “between-subject” normal biologisk variasjon (7). Disse betraktninger om tillatt bias er alle basert på akseptabel feilklassifisering av referanseverdier i forhold til referansegrenser (8). Generelt har vi i denne sammenheng valgt å bruke “desirable performance” som tillatt bias for endogene forbindelser, hvis pålitelige data om normal biologisk variasjon finnes.

For eksogene forbindelser (for eksempel legemidler) finnes selvsagt ikke slik informasjon, men avhengig av analysemetode har $\pm 15\%$ og $\pm 20\%$ vært antydning som akseptabelt gjennomsnittlig avvik (9).

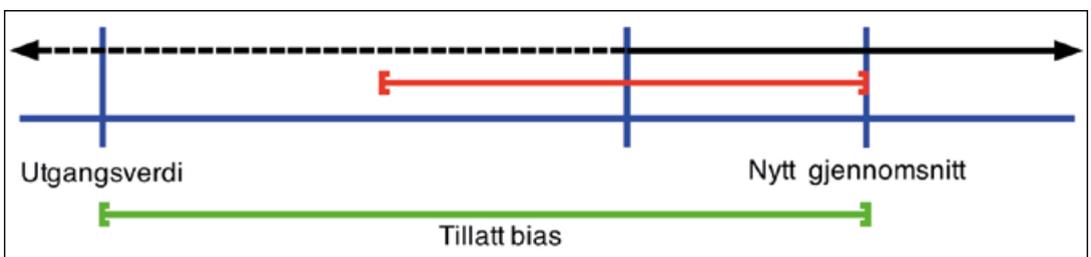
Den målte gjennomsnittsverdien har en tilknyttet usikkerhet. Vi foreslår å konstruere et 90%-konfidensintervall for gjennomsnittet og kreve at konfidensintervallet i sin helhet skal ligge innenfor grensene for tillatt bias for å akseptere at prøvematerialet er holdbart. Da har vi 95% sannsynlighet for å oppdage at gjennomsnittsavviket er større enn tillatt bias når det virkelig er tilfellet, se figur 1. Dette tilsvarer bruken av et konfidensintervall for kontrollverdiens gjennomsnitt i kvalitetskontroll (10). Andre har også foreslått at gjennomsnittets 90%-konfidensintervall i sin helhet skal ligge innenfor predefinerte akseptgrenser (11).

Ligger gjennomsnittets 90%-konfidensintervall i sin helhet utenfor grensene for tillatt bias, mener vi at prøvematerialet med rimelig sikkerhet (minst 95% sannsynlighet) ikke er holdbart, se figur 2. Hvis 90%-konfidensintervallet inkluderer en av akseptgrensene, representerer det et tvilstilfelle.

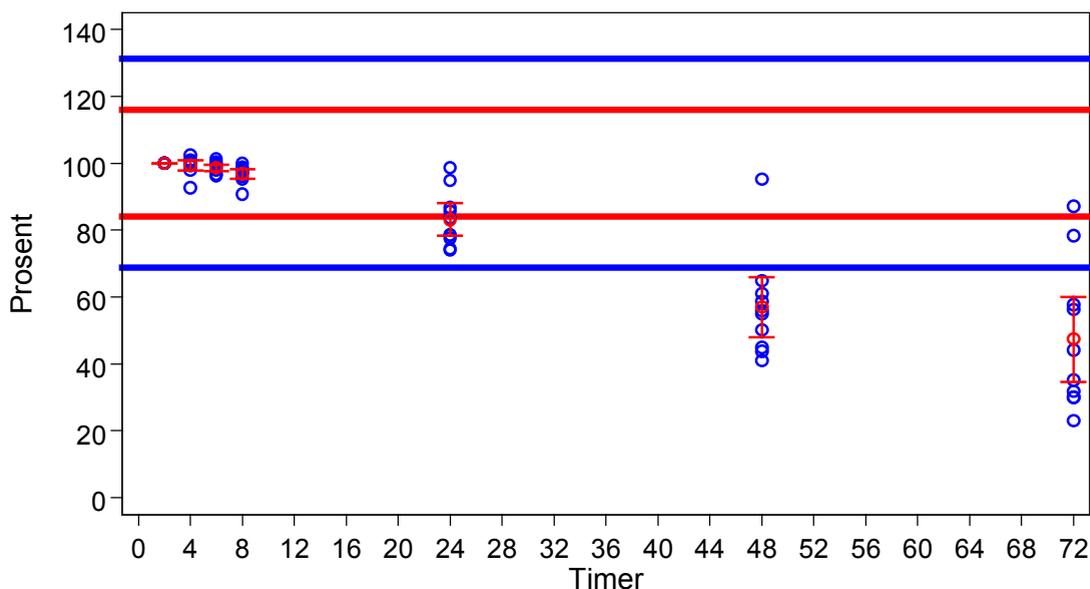
I tillegg til gjennomsnittsverdien for hvert oppbevaringsstidsrom må vi vurdere de enkelte måleverdiene. Disse mener vi må ligge innenfor den enkelte utgangsverdi \pm tillatt totalfeil, for tillatt totalfeil er det største avvik en enkelt måleverdi kan ha for å beholde sin antatte kliniske nytteverdi. Spørsmålet blir da hvor stor tillatt totalfeil skal være. Helst bør vi basere slike vurderinger på kunnskap om kliniske konsekvenser av ulike grader av feilmåling, men i mangel av slik kunnskap kan vi benytte data om normal biologisk variasjon. Det er foreslått at tillatt totalfeil kan settes lik $1,65 \cdot$ tillatt upresisjon + tillatt bias (7).

Hvor stor andel av måleresultatene skal ligge innenfor grensene for tillatt totalfeil? Kjente vi fordelingen til avvikene fra utgangsverdien for bestemte kombinasjoner av oppbevaringsbetingelser og oppbevaringstid, kunne vi regne ut hvor stor andel av prøvene som kunne forventes å ha større avvik enn tillatt totalfeil. Til slike beregninger trenger vi i prinsippet like mange prøver som vi trenger til beregning av referansegrenser, langt flere enn det som er vanlig til holdbarhetsstudier, og langt flere enn vi trenger til vurdering av endringer i gjennomsnittet. Av praktiske grunner foreslår vi at det nødvendige antall prøver i holdbarhetsforsøk beregnes ut fra hensyn til vurdering av gjennomsnittet. Dermed blir antall resultater for lite til at vi med særlig sikkerhet kan vurdere om for eksempel 95% av enkeltverdiene ligger innenfor grensene for tillatt totalfeil. Vårt forslag

(Fortsætter side 36)



Figur 1. En situasjon der gjennomsnittlig konsentrasjon (kalt ”Nytt gjennomsnitt”) etter oppbevaring i en gitt tid og under bestemte betingelser, avviker fra opprinnelig gjennomsnittskonsentrasjon (kalt ”Utgangsverdi”). Den blå akse er en verdiskala og avviket i gjennomsnitt er akkurat lik tillatt bias, som i figuren strekker seg til høyre ende av den grønne linjen. Vi tenker oss nå at vi undersøker gjennomsnittet svært mange ganger, hver gang basert på et visst antall enkeltmålinger. Den svarte, heltrukne pilen symboliserer beliggenheten av de høyeste 95% av alle observerte gjennomsnittsverdier, og den stiplede svarte pilen de laveste 5% av verdiene. Den røde linjen symboliserer 90%-konfidensintervallet for en enkelt, observert gjennomsnittsverdi som er lik startpunktet for den svarte pilen. I dette tilfellet vil høyre ende av konfidensintervallet nå akkurat opp til grensen for tillatt bias, og vi får en ønsket alarm om ikkeholdbarhet - men hadde den observerte verdien vært lavere, i området for den stiplede svarte pilen, ville vi ikke ha fått noen alarm. Vi har derfor 5% sannsynlighet for ingen alarm eller 95% sannsynlighet for alarm om ikkeholdbarhet når avviket i gjennomsnittet er akkurat lik tillatt bias.



Figur 2. S-CK-MB i 10 prøver oppbevart i ulike tidsrom i kjøleskap. Resultatene er angitt som prosent av utgangsverdi, som er måleverdi i prøver oppbevart i 2 timer i romtemperatur. De røde punktene viser gjennomsnitt (i prosent av utgangsverdi) for hvert tidspunkt, mens de røde, lodrette intervallene er 90% konfidensintervall for gjennomsnittet, og de røde, horisontale linjene viser tillatt bias. De blå symbolene markerer enkeltverdier i prosent av utgangsverdi, og de blå, horisontale linjene viser tillatt totalfeil.

(Fortsat fra side 35)

blir følgelig at *alle* enkeltverdier for en bestemt kombinasjon av oppbevaringsbetingelser og oppbevaringstid skal ligge innenfor grensene for tillatt totalfeil for at totalfeilkriteriet kan kalles oppfylt.

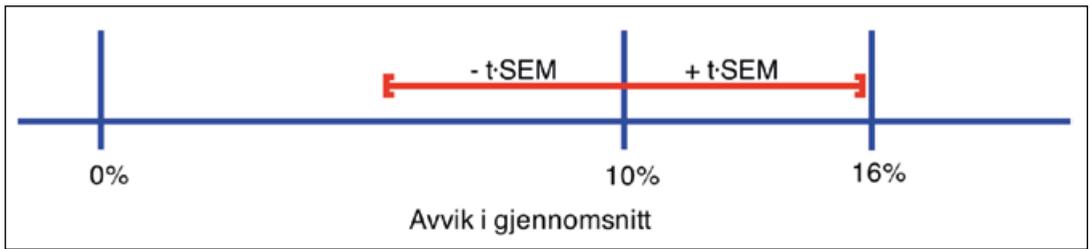
For en bestemt kombinasjon av oppbevaringsbetingelser og oppbevaringstid må *begge* krav, både kravet til gjennomsnittsverdien og kravet til enkeltverdiene, være oppfylt for at prøvematerialet kan kalles holdbart.

Eksempel

For s-CK-MB massekonsentrasjon ønsker vi å undersøke holdbarhet ved romtemperatur og kjøleskaptemperatur, og velger å basere holdbarhetskriteriene på data om biologisk variasjon. Vi finner at tillatt bias er 16,0% og tillatt totalfeil er 31,2% (12). Til denne undersøkelsen vil vi bruke blodprøver fra pasienter, som vi velger slik at prøvenes s-CK-MB fordeler seg noenlunde jevnt i det klinisk relevante området. Serum fordeles i 2 prøveserier, den ene serien oppbevares i romtemperatur, den andre ved 4-8° C. I tillegg trenger vi en porsjon til bestemmelse av utgangsverdi. Den porsjonen oppbeva-

res i 2 timer i romtemperatur (regnet fra prøvetakings-tidspunktet), siden dette er den korteste, standardiserte oppbevaringstid vi kan prestere. I hver prøveserie merkes hvert rør med oppbevaringstid, som vi bestemmer til 4, 6, 8, 24, 48 og 72 timer etter prøvetaking. Ved endt oppbevaringstid nedfrysnes hvert fordelingsrør ved -80° C, og oppbevares ved den temperaturen inntil de analyseres i samme analyseserie. Vi antar at ingen endring av s-CK-MB massekonsentrasjon finner sted ved -80° C.

Hvor mange pasientprøver trenger vi? Ett viktig valg er allerede gjort – vi har bestemt å basere estimatet på vurdering av gjennomsnittet. Dermed oppstår neste valg – hvor stor endring av gjennomsnittet vil vi at *ikke* skal utløse et signal om manglende holdbarhet? La oss for eksempel si at hvis gjennomsnittet har endret seg bare 10%, vil vi ikke feilaktig konkludere med at prøvematerialet ikke er holdbart, fordi vi betrakter 10% som en helt ubetydelig endring. Et 90%-konfidensintervall rundt gjennomsnittet ved 10% endring skal derfor ikke krysse grensen til 16% avvik. Det betyr at $t \cdot SEM$ skal være mindre enn $16\% - 10\% = 6\%$, der SEM er “standard error of the mean” og t for et 90%-konfidensintervall er gitt ved Studentfordelingen (svarende til $z = 1,65$ i Normalfordelingen), se figur 3.



Figur 3. En situasjon der avvik i gjennomsnittet er 10%, mens tillatt avvik er 16%. Vi ønsker ikke at et gjennomsnittlig avvik på 10% skal føre til konklusjon om at prøvene ikke er holdbare. Den røde, horisontale streken viser 90%-konfidensintervall for gjennomsnittet, som er $\pm t \cdot \text{SEM}$. Den høyre delen av konfidensintervallet når akkurat ikke opp til tillatt bias, så alarm om manglende holdbarhet utløses ikke.

Siden $\text{SEM} = \text{SD} / (n^{0.5})$, der SD er standardavviket for alle resultatene ved hver kombinasjon av oppbevaringsbetingelser og oppbevaringstid, og n er antall ulike pasientprøver, blir kravet til antall prøver at $n > (t \cdot \text{SD} / 6\%)^2$. For i sin en helhet å kunne operere på prosentkala oppgir vi alle målefeil, SD og SEM som prosent av måleverdien, og alle måleverdier omgjøres til prosent i forhold til utgangsverdien som settes lik 100%.

Vi kjenner verken SD eller t. Et rimelig minimumsanslag for SD kan være at $\text{SD} = (2 \cdot s_a^2)^{0.5} = 2^{0.5} \cdot s_a$, der s_a er det analytiske innenserie-standardavviket, fordi hvert resultat er måleverdi i forhold til utgangsverdi og avhenger derfor av 2 målinger. Vi har tidligere funnet at s_a er i størrelsesorden 5%. Det gir SD i størrelsesorden 7%, og hvis vi forsøksvis setter t lik 2, blir estimatet for antall prøver at $n > (2 \cdot 7\% / 6\%)^2 = 5,4$. Ut fra tidligere erfaring med holdbarhetsforsøk virker dette urimelig lavt, og for sikkerhets skyld planlegger vi å ta prøver fra 10 ulike pasienter. På denne måten sikrer vi oss også bedre mulighet til å oppdage enkeltobservasjoner med avvik større enn tillatt totalfeil.

Etter optiming og analysering i samme analyse-serie, regner vi om alle måleverdiene til prosent av utgangsverdi, og framstiller resultatene grafisk som vist i figur 2. Den viser bare resultatene fra prøver som ble oppbevart i kjøleskap, men resultatene fra prøver oppbevart i romtemperatur vurderes på samme måte.

Resultatene tolker vi slik: S-CK-MB er holdbar i prøver oppbevart i inntil 8 timer i kjøleskap, for i det tidsrommet er både biaskriteriet og totalfeilkriteriet oppfylt. For prøver oppbevart i kjøleskap i 24 timer ser vi at totalfeilkriteriet er oppfylt, men ikke biaskriteriet. Det kan hende at vi ved å utvide prøveantallet kan innsnevre konfidensintervallet og tilfredsstill

kriteriet, men sannsynligheten er liten, for gjennomsnittet ligger (så vidt) utenfor akseptgrensen. For de to andre tidsrommene oppfylles ikke noe kriterium.

Vi fant ellers at empirisk SD varierte fra 1,6% (etter 6 timers oppbevaring) til 21,9% (etter 72 timers oppbevaring), så vår styrkeberegning var meget usikker. Hvis vi helt hadde feilvurdert antall prøver, kunne vi ha betraktet forsøket som et pilotforsøk og i hvert fall fått estimater for SD og SEM til en ny styrkeberegning. Estimaten for gjennomsnitt og SD kan også brukes til å etterprøve holdbarhet i relasjon til totalfeilkriteriet. For eksempel fant vi at alle måleverdiene etter 24 timers oppbevaring i kjøleskap hadde avvik fra utgangsverdien som var mindre enn tillatt totalfeil. For det tidsrommet var gjennomsnittet 83,2% og $\text{SD} = 8,35\%$, så grensen for tillatt totalfeil ($100\% - 31,2\% = 68,8\%$) ligger bare $(83,2 - 68,8) / 8,35 = 1,7$ standardavvik utenfor gjennomsnittet. Hvis verdiene er normalfordelte, kan vi da forvente at 4,5% av resultatene vil ha et avvik fra utgangsverdien som er større enn tillatt totalfeil. Men disse estimatene er meget usikre fordi estimatet for SD er upresist når det baseres på bare 10 observasjoner, med et 95%-konfidensintervall fra 5,74% til 15,24%.

Et annet funn er at resultatene ikke er enkle å analysere med regresjonsteknikker. Ikke bare må regresjonsmetoden ta hensyn til at vi har gjort gjentatte målinger på samme materiale (11), men dertil kommer at variansen ikke er konstant og uavhengig av oppbevaringstiden, og at gjennomsnittet ikke er en rettlinjert funksjon av oppbevaringstiden.

(Fortsætter side 38)

(Fortsat fra side 37)

Konklusjon

Vi foreslår å vurdere prøvematerialets holdbarhet ut fra enkle krav til bias og totalfeil: Holdbarhet krever at 90%-konfidensintervallet rundt gjennomsnittet i sin helhet ligger innenfor gjennomsnittlig utgangsverdi \pm tillatt bias og at alle enkeltverdier ligger innenfor utgangsverdi \pm tillatt totalfeil. På den måten hindrer vi både at oppbevaring gir for store systematiske endringer og for store endringer i enkeltprøver.

Referanser

1. Guder WG, da Fonseca-Wollheim F, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wissler H, Zawta B. Quality of diagnostic samples. Recommendations of the working group on preanalytical quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 3rd ed. German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: 2010.
2. ISO Guide 30. Terms and definitions used in connection with reference materials. 2nd ed. Geneva: International Organization for Standardization, 1992.
3. Tanner M, Kent N, Smith B, Fletcher S, Lewer M. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Ann Clin Biochem* 2008;45:375-9.
4. O'Keane MP, Cunningham SK. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:662-8.
5. Thiers RE, Wu GT, Reed AH, Oliver LK. Sample stability: a suggested definition and method of determination. *Clin Chem* 1976;22:176-83.
6. Leino A, Koivula MK. Stability of chemical and immunochemical analytes in uncentrifuged plasma samples. *Ann Clin Biochem* 2009;46:159-61.
7. Fraser CG. Biological variation: From principles to practice. Washington: AACC Press, 2001.
8. Gowans EMS, Hyltoft Petersen P, Blaabjerg O, Hørdér M. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories

throughout a geographical area. *Scand J Clin Lab Invest* 1988;48:757-764.

9. Nowatzke W, Woolf E. Best practices during bioanalytical method validation for the characterization of assay reagents and the evaluation of analyte stability in assay standards, quality controls, and study samples. *AAPS J* 2007;9:E117-22.
10. Åsberg A, Bolann B, Mikkelsen G. Using the confidence interval of the mean to detect systematic errors in one analytical run. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70:410-4.
11. Hoffman D, Kringler R, Singer J, McDougall S. Statistical methods for assessing long-term analyte stability in biological matrices. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877:2262-9.
12. Desirable Specifications for Total Error, Imprecision, and Bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (16.02.2011).



Blodvaxskivling (*Hygrocybe coccinea*). Foto: Henrik Alfthan



En **stærk** kombination til måling af akutparametre

AQT90 FLEX

- Analyse af hjerte-, koagulations-, infektions- og graviditetsmarkører fra en enkelt prøve
- Op til 30 prøver i timen
- Overlegen analytisk præcision
- Automatiseret opblanding og måling
- Ingen kontakt med blod eller affald
- Fuld dataudveksling

ABL90 FLEX

- 17 målte parametre inklusiv laktat og bilirubin
- Op til 30 prøver i timen
- Måler på kun 65 µl blod
- Prøveresultat på bare 35 sekunder
- Maksimal opetid - altid klar
- Fuld dataudveksling
- Fuld remote support i POC

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

On the comparison and verification of measurement results

Anders Kallner

Department of Clinical Chemistry

Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

anders.kallner@ki.se



Introduction

We would expect, as axiomatic, that a value obtained for a given quantity that is measured in one and the same sample should be the same, irrespective of the procedure/instrument/laboratory. Unfortunately, reality is different.

Instead we recognise the need to define “comparability” of results and talk about harmonization of measurement procedures as a proactive strategy. Comparability is understood as the closeness between results obtained in different laboratories/instruments and has become more important and interesting as mobility – or volatility – of patients and health care workers increase and laboratories grow larger. The difference between results is often called bias even if bias formally is estimated in relation to results obtained by a reference procedure and represents the systematic error – i.e. the trueness. In estimating the comparability we need to consider also the precision of the measurement.

Ironically, as a consequence of an improved precision in routine measurements, the demand on trueness has increased; the better precision, the smaller differences between results can be observed. This can for instance be illustrated by the formula for calculating the Student’s t -value for independent datasets:

$$t_{ind} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{sd_1^2}{n_1} + \frac{sd_2^2}{n_2}}} \dots\dots\dots (1)$$

Clearly, the t -value will be proportional to the difference between the averages and inversely proportional to the square root of the sum of the squared standard

error of the means (SEM); estimated as the imprecision of the results (variance = sd^2) and the number of observations (n). Consequently, if the imprecision (sd) is small and the number of results is large the denominator will be small and even small differences between means will indicate a statistical significant difference (a large t -value). Therefore high precision will allow identification of small differences in the means.

Verification is the demonstration that a measurement procedure, or measuring system, fulfils specified requirements whereas validation is verification that the given requirements are fit for the intended purpose.

When manufacturers verify specifications of measuring systems they often follow the CLSI EP5 [1] and EP9 [2] documents. It is of some merit that similar strategies and statistical procedures are used by the laboratories in their verification. Verifications in the routine laboratory maybe simplified as described in the CLSI EP15 [3] which addresses precision and trueness. Other properties that are important are for instance detectability, linearity, interferences, sensitivity and specificity but these are, with few exceptions, not usually verified in the routine laboratory and not within the scope of this presentation.

Uncertainty

The concept of uncertainty was introduced in 1993 and has gained wide acceptance in all disciplines dealing with measurements. The principle is simple; all sources of uncertainty is identified, quantified and then combined. The uncertainty can also be estimated from the performance of the complete procedure. This concept not only allows, but requires, that any known and significant bias is eliminated. The success of an elimination of bias is associated with an uncertainty and this needs to be added when estimating the combined uncertainty. Results are reported as a “best

estimate” and a surrounding uncertainty interval. This is the major difference and advantage compared to the concept of “total error” which retains a known bias. The reader is referred to ISO-JCGM “GUM” [4], a document from EURACHEM [5] and a recommendation from CLSI [6] for details on estimation and use of uncertainty.

Precision

Precision cannot be measured but imprecision can. Imprecision is estimated from repeated measurements. In the clinical laboratory it is important to consider the “within run” and the “between run” variation. The combined within and between variations represent the combined (total) laboratory variation.

An experimental design for verification of imprecision claims (EP15) [3] requires that at least five observations are made within each at least five runs (group). Examples of input and output tables are shown in Tables 1 and 2.

The identification of variations is based on analysis of variance (ANOVA), readily available in commonly used spread-sheet programs and virtually in all standard statistics packages.

The ANOVA is designed to reveal a difference between a set of groups and can be understood as an extension of Student’s independent *t*-test. In our application it is used for “analysis of variance components”.

The calculations can be summarized with these assumptions:

	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5
Result 1	140,00	138,00	143,00	143,00	142,00
Result 2	140,00	139,00	145,00	143,00	143,00
Result 3	141,00	137,00	149,00	143,00	142,00
Result 4	140,00	139,00	141,00	142,00	143,00
Result 5	140,00	138,00	144,00	142,00	141,00

Table 1. Results of a precision experiment.

ANOVA

Source of Variation	ss	df	MS
Between Runs	113.44	4	28.36
Within Runs	42.8	20	2.14
Total	156.24	24	

Table 2. Output table. SS is the “Sum of squares”, *df* degrees of freedom and *MS* Mean square.

The *MS Within Runs* (*MS_w*) is equal to the within run variance i.e. the mean of the variances of the individual runs. The *MS Between Runs* (*MS_b*), contains a component of the within run variation and needs correction according to (2) to yield the “pure” between run variance (*Var_b*):

$$Var_b = \frac{MS_b - MS_w}{n_0} \dots \dots \dots (2)$$

where *n₀* is the number of results in each group. In case the groups contain different numbers of observations then the *n₀* needs to be estimated differently¹.

The combined variance, i.e. the within laboratory or intra-laboratory standard deviation (*sd_L*) is then

$$sd_L = \sqrt{Var_L} = \sqrt{Var_b + MS_w} \dots \dots \dots (3)$$

It should be recognized that the number of observations is critical for the reliability of the results. The minimum number in EP15 will give a reliable value of the *MS_w* whereas the *MS_b* and thus the *sd_L* would benefit from more runs.

Under certain conditions the *MS_w* can be less than *MS_b* and thus *Var_b* negative (2). Since this is not possible the *Var_b* is then conventionally set to *MS_w*.

It is not unusual that one or several results in a series of measurements deviate from the majority and may be suspected as an “outlier” but still belong to the distribution of which we only see a small part. As a first check it is recommended to perform the calculations with and without the suspected outlier. If the difference is not too big it is advised to retain the value. Although there are statistical means to identify outliers e.g. Grubbs test, removal of unexplained outliers should be considered carefully.

(Fortsætter side 42)

¹ $n_0 = \frac{N^2 - \sum_{i=1}^k (n_i)^2}{N \times (k - 1)}$ where *N* is the total number of results, *n_i* is the number of results in each run and *k* is the number of runs. If the number of observations is the same in all runs this becomes equal to the arithmetic mean. In many cases the difference between the *n₀* and the arithmetic mean is negligible.

(Fortsat fra side 41)

The ANOVA approach can also be used to verify the performance of many instruments in a laboratory or in many collaborating laboratories. Each instrument/laboratory would then be regarded as equivalent to a run in the ANOVA design. The number of observations in each group may need to be increased.

Evaluation

If the imprecision (sd_L) is smaller than, or equal, to that claimed, the precision verification is accepted. However, if the precision is larger it may still be acceptable provided it passes a statistical test. Different tests may be used, the EP 15 suggests a Chi-square test.

$$\chi^2 = (n-1) \times \frac{s^2}{\sigma^2} \dots \dots \dots (4)$$

where n is the number of observations, s the found standard deviation and σ the claimed standard deviation. The latter is assumed to have no uncertainty.

The 95% confidence interval for the acceptance of sd_L is thus:

$$\sqrt{(n-1) \times \frac{\sigma^2}{\chi_{2.5(n-1)}^2}} \leq sd_L \leq \sqrt{(n-1) \times \frac{\sigma^2}{\chi_{97.5(n-1)}^2}} \dots (5)$$

Trueness and bias

Trueness is the concept and bias its measure. Bias represents the systematic error of an uncertainty. In theory, there would be no bias if a correct, traceable calibrator were used. In the clinical laboratory cali-



Brandgul skålmurkula (*Aleuria aurantia*) Foto: Henrik Alfthan

brators and patient samples may react differently in the measurement procedure and the traceability of a calibrator is no guarantee for trueness *per se*. The property of a calibrator that reacting similar to the test material in different measurement procedures; is recognized as “commutability”²

There are essentially two procedures to estimate bias
 ≈ compare measurement results with an assigned value
 ≈ compare sets of patient samples.

Bias by reference materials

Commutable reference materials with known concentration and uncertainty shall be used. Verification usually requires two different concentrations.

The reference material shall be measured repeatedly to estimate the average value and a representative SEM. The manufacturer shall provide the concentration of the reference material with its uncertainty ($u(ref)$) which is equivalent with the standard error of the mean. If the difference exceeds the uncertainty of the difference ($u(d)$) between the target value and the found value, then the difference is regarded as significant and the verification fails. The uncertainty of the difference is estimated as

$$u(d) = k \times \sqrt{\frac{(u(sample))^2}{n} + (u(ref))^2} \dots \dots \dots (6)$$

where the coverage factor (k) expresses the desired level of confidence, conventionally $k=2$ corresponds to a 95 % level of confidence.

A common question is how many replicates would be necessary. The formula (6) indicates that the uncertainty of the difference and thus the detectable difference cannot be less than the standard uncertainty of the reference material and will approach that as the number of measured replicates increases. It is not justified to increase the number beyond reaching a level that is comparable to the $u(ref)$.

The formula (6) is based on the general rule for

² VIM (www.BIPM.org) defines (5.15) **commutability of a reference material**: property of a reference material, demonstrated by the closeness of agreement between the relation among the measurement results for a stated quantity in this material, obtained according to two given measurement procedures, and the relation obtained among the measurement results for other specified materials.

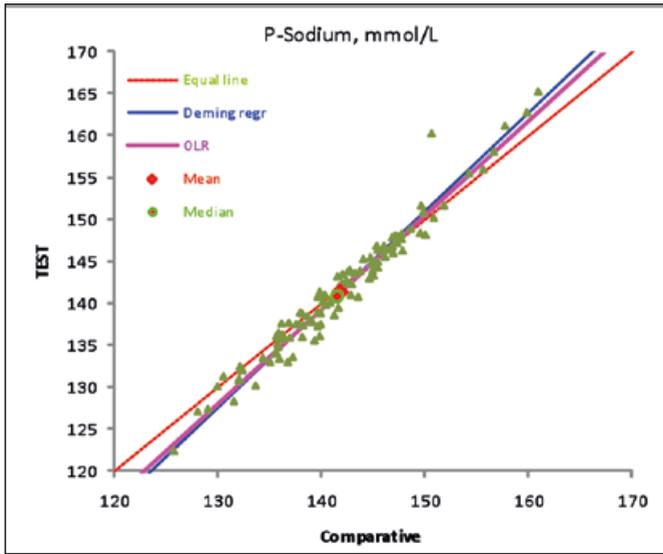


Figure 1. The ordinary linear regression and the DRA are displayed in this diagram, together with the equal line, the mean and the median of the measurement results.

propagation of the uncertainty in a sum or a difference. Thus, if:

$C = A \pm B$ and the uncertainty of A and B are $u(A)$ and $u(B)$, respectively, then the uncertainty of the sum or difference is

$$u(C) = \sqrt{u(A)^2 + u(B)^2} \dots\dots\dots (7)$$

Bias by comparing patient samples

At least 20 patient samples are recommended for a comparison between a “comparative” or reference procedure and test procedure. Representative patient samples which concentrations cover the entire measuring interval should be chosen. It is often recommended to measure the samples in duplicates, at least those of the comparative procedure.

The preferred comparative procedure is a reference or definitive procedure but these are few and those which are available are usually too laborious for the routine laboratory. The laboratory therefore needs to select a procedure that can be regarded as conventionally ‘true’. It is thus different from a reference procedure and may conveniently be called a “mentor” procedure. The laboratory shall define its performance and how that is monitored.

The significance of the difference between the results is estimated using the Student’s t -test for dependent variables.

$$t_{dep} = \frac{\bar{d}}{\frac{sd_d}{\sqrt{n}}} \dots\dots\dots (8)$$

where \bar{d} is the average of the differences between the sample pairs. The degrees of freedom is $n-1$ where n is the number of pairs.

Student’s t -test is a parametric method and assumes that the distribution of the differences between the quantities is Gaussian distributed. If not, a non-parametric method should be used, e.g. the Wilcoxon sign rank test. The Student’s t -test is regarded as a relatively robust test and thus allows some deviation from a true Gaussian distribution.

The relation between the results of the comparative and test procedures should be illustrated in a scattergram (Figure 1). If the same quantity is measured by both procedures, there must be a linear relationship i.e. a direct first order proportionality between the results. Any deviation from a perceived linear relation should be further investigated. Partitioning of the results may indicate limitations in the measuring interval. The scatter of the results can be expressed by the correlation coefficient (r) or the coefficient of determination (r^2). A value of (r) above 0.975 is usually regarded as reasonable for a method comparison.

(Fortsætter side 44)

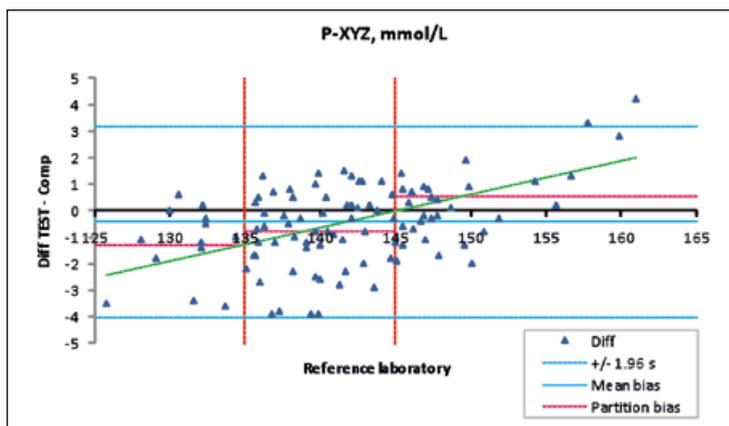


Figure 2. Difference plot. The blue horizontal lines represent the average difference (solid) and $\pm 1,96sd$ (dotted). The dotted red lines show the average difference in each of the partitions which are delineated by the vertical red lines. A regression line (green dotted) illustrates the trend of differences.

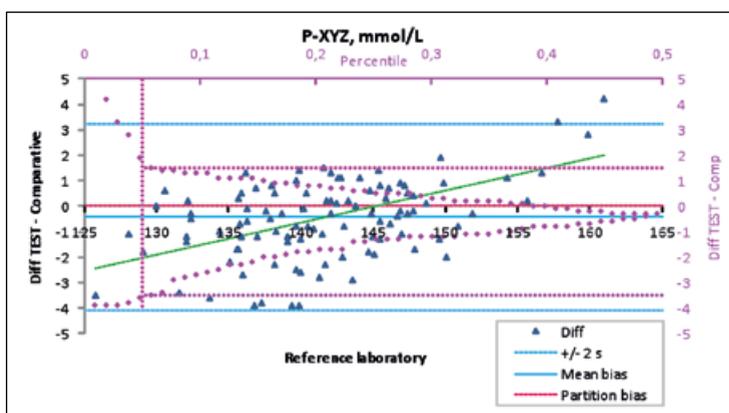


Figure 3. The “tilted mountain plot” with the 2.5 and 97.5 percentiles indicated by a vertical line, thus identifying samples belonging to the tails of the distribution.

(Fortsat fra side 43)

A linear regression function can be found from the observations. The function should ideally have a slope of one and an intercept of zero, i.e. coincide with the equal line. Different methods to estimate the regression function are available; the ordinary linear regression (OLR) allowing a variance of the results of the test procedure but not of the comparative procedure. The Deming regression analysis (DRA) allows variation in the results of both procedures but the variances need to be defined, often assumed equal in both procedures. If the variance in the test procedure is considerably larger than in the comparative procedure the DRA approaches the OLR. The Passing-Bablok has no restrictions on the distribution of the results but requires more advanced calculations.

The regression function, if based on a sufficient number of representative samples, may be used for recalculation of results of the test procedure thereby

eliminating or reducing a bias. Often 40 observations are recommended, measured in duplicates (EP9) [2].

Provided there is a linear relationship between results obtained by two measurement procedures the relation can be determined by measuring concentrations repeatedly of two representative samples and estimating the regression by a two-point formula. A statistical power of the same magnitude as by the method in EP9 is obtained by six repeats of each concentration by each procedure.

The difference between the procedures is usually displayed in a difference plot [7] (figure 2), often in both absolute and relative numbers. Assuming the differences are Gaussian distributed the average of all differences and the width of the distribution e.g. ± 2 sd are displayed. If the dataset can be partitioned the information may be more detailed. It is interesting to note that the difference graph is the same as the regression, tilted 45 degrees. The confidence interval is the

same as that of the prediction of the test result from the regression function [8].

The differences can be displayed as a “folded experimental cumulative frequency plot” or “mountain plot” [9]. To achieve this, the results are ranked and their percentiles plotted. At the 50-percentile (median) the percentile is reversed, i.e. the graph mirrored, or folded, thus producing a mountain-like diagram with the peak corresponding to the median. In figure 3 the “mountain” has been tilted 90 ° and superimposed on the difference plot.

The difference plot shows the distribution of the differences; vertically the difference between the results and horizontally one of the variables or the average of both. The mountain plot also illustrates the distribution of the differences but shows their cumulative probability which gives a visual impression of its symmetry and closeness to a Gaussian distribution. The X-axis is the percentiles and since these are mirrored at 0.5 and the “peak” will correspond to the median of the data set.

A result that deviates much from the rest might be

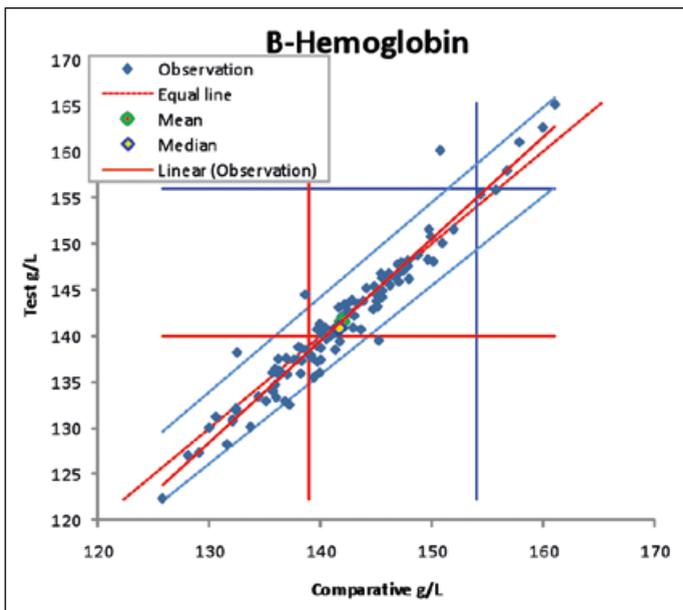
suspected to be an outlier. It is important to be restrictive in eliminating any data and it is useful to recalculate everything with and without a suspected result. If the difference is minor then it is wise to include the suspected result.

Clinical considerations

A statistical significance of a difference between two results is determined by the size of the difference and the uncertainty of the measurements (1). In a clinical context other facts need to be considered e.g. biological variation and the risk that an erroneous result might harm the patient. For the laboratory it is important to decide if the difference to a previous procedure will prompt a change of reference intervals, decision points or other set-points.

Various measures are used to support the evaluation of the comparison. Provided there is a linear relationship between the results – and that is feasible to assume since the same measurand is targeted – then the percentage of results that should be within a cer-

(Fortsætter side 46)



	High	Low
True pos:	4	33
True neg:	48	48
False pos:	1	13
False neg:	2	1
Sum:	55	95
Sensitivity:	0,67	0,97
Specificity:	0,98	0,79
LR:	33,5	4,6
Youden ind:	0,65	0,76
K Index:	0,33	0,21
Efficiency:	0,95	0,85
Prevalence:	0,11	0,36
PV (+):	0,80	0,72
PV (-):	0,96	0,98

	L/E	E
Allow diff, %:		3
ATE	LER above	LER below
95,1	2,9	2,0
Abs/Rel:	Rel	

Figure 4. A regression analysis of two procedures for B-Haemoglobin concentration indicated a slope of 1.11 and an intercept of -16 units. An allowable difference of 3 % shows 95,1 % of the observations within the ATE (dotted lines). The cut-off limits define the diagnostic performance of the test procedure in relation to the comparative procedure. With the chosen set-points a high sensitivity (in relation to the comparative procedure) is obtained for anemia, whereas a high specificity is obtained for “hemochromatosis (?)”. The table also gives the Youden and K-indices which describe the ROC-curve.

(Fortsat fra side 45)

tain deviation from the regression line or equal line is often considered. This is reported as a claim that a certain percentage of all observations, e.g. 95 %, shall be within for instance ± 10 % of the regression function or equal function (fig 4). These limits are called LER, Limit of Erroneous Results and the interval between the limits ATE or Allowable Total Error. Acceptable performance is individual for different quantities and at least theoretically also for different purposes of the measurement.

Other characteristics that are useful in evaluating the performance of a new procedure are estimation of the diagnostic sensitivity and specificity. This approach estimates to what extent a test method provides the same number of correct and false diagnosis as the previous, comparative procedure, desirable or not! The outcome will depend on the cut-off e.g. the suggested reference limits. The approach may also be applicable to ordinal quantities, e.g. obtained by urinary sticks.

Three different situations may be recognized: the disease is characterized by an increased concentration, e.g. S-T4, or decreased, e.g. S-HDL cholesterol or both, e.g. B-Glucose or S-TSH. The two first are trivial, the third may be more controversial. Here I suggest that all results above the high cut-off when estimation the performance of the low cut-off and *vice versa*. Thus, the results within the reference interval (TN) will be used twice (table in figure 4) whereas the FP, FN and TP of the other cut-off are disregarded. Two sets of result will thus be reported. With a suitable software the cut-offs can be optimized for the intended use of the measurand.

The allowable difference is related to the Reference Change Value (RCV) and thus of importance for the utility of the quantity for clinical purposes. The RCV is usually determined by the observed uncertainty of the studied procedures.

ROC-curve

The clinical performance of a procedure is described by a ROC-curve (Receiver Operating Curve). This is obtained by plotting the calculated sensitivity on the Y-axis and (1-specificity) on the X-axis for each tested cut-off. An efficient measurand will produce a hyper-

bolic curve with a maximal ratio between sensitivity and (1-specificity) (LR, Likelihood Ratio) close to the upper left corner of the diagram. LR on the diagonal (slope (b) =1, intercept (a) =0) or below have no diagnostic value. The LR takes any values between 0 and 1, the Youden index describes the maximal distance between the diagonal and the ROC curve, thus a high value is preferable. The K-index describes the distance between the upper left corner and the ROC curve and a small value is thus preferable.

References

1. NCCLS/CLSI. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline - Second Edition. EP5-A2 (ISBN 1-56238-000-0). Wayne, Pennsylvania USA, 2004.
2. CLSI. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. EP9-A2 IR. ISBN 1-56238-472-4. CLSI, Wayne, Pennsylvania USA, 2010
3. CLSI. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline - Second Edition. EP15-A2. ISBN 1-56238-574-7. Wayne, Pennsylvania USA, 2005.
4. JCLM 100-2008 Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement (www.BIPM.org)
5. EURACHEM / CITAC Guide CG 4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. QUAM:2000.1
6. CLSI Uncertainty in measurements. C51. To be published
7. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986; i: 307-10.
8. Carstensen, Bendix. Comparing clinical measurement methods, A practical Guide John Wiley, Chicester 2010, ISBN 978-0-470.69423-7,
9. Monti KL Folded Empirical Distribution Function Curves - Mountain plots. Amer Statistician 1995;49(4):342-345.

Suitable software for EXCEL is available from the author. All formulas are available in Anders Kallner. Commonly used terminology and formulas in laboratory medicine. (ISBN 978-91-633-3272-2)



Name: Paul R.

Job: Haematologist, Lab Manager

Mission: Pioneer

Name: XN-9000

Job: Efficient Analysis

Mission: Pathfinder



XN ÄR SYSTEMET FÖR DIG ...

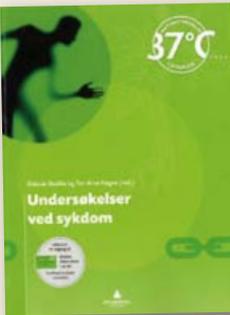
när pålitliga hematologiresultat räknas. När ett effektivt arbetssätt är viktigt. Då förmågan att vara förberedd på framtidens behov gör ditt laboratorium framgångsrikt ... VARJE DAG

GIVING EVERYTHING. EVERY DAY.

Bog anmeldelse:

Undersøkelser ved sygdom

Oddvar Stokke og Tor-Arne Hagve (red.)
 Forlag: Gyldendal Norsk Forlag 2010. Sider 240.
 ISBN 978-82-05-32366-7



Bogen er en del af en 'kundskabspakke i medicinske og naturvidenskabelige fag beregnet på bacheloruddannelsen i sygepleje'. Kundskabspakken 37° C består af i alt 5 bøger, hver med sit netsted med digital arbejdsbog, og denne er den 3. i rækken. Ud

over de 2 redaktører, har 16 speciallæger inden for kliniske og laboratoriemedicinske specialer bidraget til bogen.

Bogen er opbygget af 2 dele:

Del 1 Undersøgelser: Ni kapitler, hver repræsenterende et medicinsk fagområde, hvor de forskellige analyser og undersøgelser bliver gennemgået. Her gives en kort baggrund for undersøgelsen, indikation, patientforberedelse og tolkning. Del 2 Diagnostik ved sygdom: Otte kapitler med udredning af sygdomme i kroppens organsystemer. De 2 dele supplerer hinanden – hvilke undersøgelser fra del 1 vil en kliniker fx bruge ved diagnostik af blodsygdomme. Herefter 2 sider ordforklaringer, og 7 sider om forkortelser anvendt i medicinsk terminologi.

Når man køber bogen får man også gratis 1-årig adgang til en digital arbejdsbog med bl.a. interaktive multiple choice opgaver m.m.

Bogen er meget pædagogisk opbygget, med gode illustrationer og fotos (og litteraturreferencer samt nedadresser). De kliniske biokemiske undersøgelser er helt kortfattet beskrevet – med fokus på indikation, patientforberedelse og tolkning. Det er tydeligt at redaktørerne er vant til at formidle laboratoriemedicinsk stof på en pædagogisk måde. Sygeplejersker er den primære målgruppe – men også bioanalytiker- og lægestuderende, der ønsker en god og klinisk orienteret indgang til de laboratoriemedicinske undersøgelser, kan denne bog anbefales til!

Linda Hilsted



Honungsskivling (*Armillariella mellea*). Foto: Henrik Alfthan



CGM Analytix - ett ÄKTA multidisciplinärt LIS

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

CGM Analytix är nästa generations laborieredatasytem med stöd för klinisk kemi, mikrobiologi och patologi/cytologi.



www.compugroupmedical.se

Fordeling av fondsmidler i henhold til Talmud

Johan Bjerner

Først Medisinsk Laboratorium, Oslo



I vårt fag er det vanlig å søke fondsmidler, og det er vanligvis slik at det er noen fra samme fag som står for fordeling av fondsmidler. Etter min erfaring brukes det ofte uforholdsmessig mye arbeidstid på hvordan fondsmidlene skal fordeles, og jeg vil derfor dele noen erfaringer som kan spare tid og bidra til å unngå konflikter.

Det er lett å fordele fondsmidler når summen av alle søknader er lavere enn beløpet som er til rådighet. Oftest overstiger dog beløpene i søknadene langt det som er til rådighet. Vi har samme situasjon som etter et konkurs, et mindre beløp skal fordeles rettferdig mellom flere kreditorer. Et matematisk ”riktig” forslag til løsning (det finnes også andre løsninger, avhengig av hva en legger inn i begrepet ”rettferdig”) ble funnet i 1969, men Robert Aumann viste senere at denne løsningen allerede var beskrevet i Talmud...

1. Avgjør hvorvidt søkeren oppfyller fondsstatuttene.

Dersom det gjelder medisinsk biokjemi, er dette en søknad til et prosjekt innenfor medisinsk biokjemi eller er det en søknad innen for et annet fagområde? De som faller bort får 0 kroner.

2. Avgjør hvor stort det rettferdige kravet er.

Dersom flere søkere søker reisemidler, er det rettferdig at søknadene skal justeres likt – for eksempel at hotellkostnader angis til 70 % av statens reiseregulativ. Dersom flere søknader oppgir lønnskostnader, er det fornuftig at disse settes til samme kronebeløp per time. Opplevs en søknad som veldig stor, reduser denne.

3. Fordel midlene etter følgende nøkkel.

Fordel beløpet likt på alle søknader inntil en søknad har fått søkt beløp. Nå har denne søknaden fått nok. Fortsett å fordele beløpet likt mellom gjenstående søknader inntil neste søknad har fått søkt beløp. Fortsett slik inntil alle pengene er delt ut.

Eksempel: Dr. Frisks fond for fremming av medisinsk

biokjemi i Narvik har i 2011 NOK 47000 til utdeling. Fondet har følgende søknader:

- A. NOK 13000 for kartlegging av flått i kystnære strøk i Narvik
- B. NOK 10000 (100% av statens reiseregulativ) for deltakelse av overlege fra Narvik på kongress i medisinsk biokjemi i Amsterdam
- C. NOK 10000 til blodprøver i forbindelse med kartlegging av en unik hemokromatosemutasjon fra Narviksområdet
- D. NOK 40000 til et eksperimentelt studie av plasma/RNA-ekspresjon før og etter kuldeeksposisjon etter en NATO-øvelse i Narvik.
- E. NOK 15000 til studie av blodsukret hos Narvikdiabetikere etter ”en kveld på byen”
- F. NOK 6000 (70% av statens reiseregulativ) for deltakelse av assistentlege fra Narvik i et (relativt tvilsomt) profesjonskurs på en seilbåt.

En finner først at søknad A faller utenfor fondsstatuttene og tildeles NOK 0. Det rettferdige kravet til B reduseres til NOK 8000 (hvor opphold er oppført til 70% av statens reiseregulativ).

Vi fordeler først NOK 6000 til alle søknader (NOK 6000 er hva F har søkt) – nå har F fått nok. Vi har nå 35000 igjen til fordeling. Så gir vi NOK 2000 til alle gjenstående søknader (NOK 8000 er hva B har som rettferdig krav) – nå har B fått nok. Så fordeler vi igjen NOK 2000 til alle gjenstående søknader – nå har C fått nok. Vi har nå kun NOK 3000 igjen til fordeling som deles likt på de to gjenstående (D og E).

Fordelingen er altså:

- A NOK 0
- B NOK 8000
- C NOK 10000
- D NOK 11500
- E NOK 11500
- F NOK 6000

Til sist kan nevnes at Robert Aumann, matematiker, spilleteoretiker og nobelprisvinner 2005, har en sterk jødisk tro. Noen av hans ideer kan virke kontroversielle, f.eks at barn bør lære så mye som mulig om krig. Aumann mener at krig er et aktivt valg, og dersom politikere hadde mer kunnskap om krig og krigets effekter, så ville de velge fredelige løsninger foran krig i større utstrekning. Så når du ser min seks- og niåring i bakgården med hver sin israelsk UZI maskinpistol i plastikk, så vet du begrunnelsen.

Referanser

Gura EY and Maschler M. Insights into game theory: an alternative mathematical experience. Cambridge University Press 2008.



Svart trumpetsvamp (*Craterellus cornucopioides*). Foto: Henrik Alfthan



Den vandrande vetenskapsmannen: Till Moskva, till Moskva!

Johan Bjermer

Först Medisinskt Laboratorium, Oslo

1989. Afghanistankrigets Moskva var egentligen väldigt spännande; i det kommunistiska imperiets sprickor hade punkrocken sipprat in från väster och drogerna från öster. Jag märkte förstås ingenting, jag åt bara glass i solskenet och tittade på söndagsklädda familjer med färgglada ballonger. En och annan läskedryck av märket "Bajkal" slank ned också. Det var vackert vårväder, och i stället för att kasta mig in i det explosiva och farliga ungdomens Moskva, åkte jag runt med tunnelbana och trådbuss på jakt efter det Moskva jag hade sett på TV hemma i Sverige.

Sveriges mest kända ryss hette vid den här tiden Vladimir Vysotskij (1938-1980). Fadern var officer under och efter kriget, och skådespelaren/trubaduren Vladimir växte upp i diverse militärförläggningar runtomkring i Östeuropa. Krigsinsatser hyllas ofta i sångerna och kan vara svåra att översätta. Titlar som *Attackflygarens sång* eller *Om min fanjunkare* blir gärna mer pekoral än allvar på svenska. Vid sidan av krigsromantiken skriver han också mångbottnade, samhällskritiska sånger. Trettiofem år senare diskuteras det fortfarande på internet vad sångerna egentligen handlar om. I *Moskva – Odessa* sitter Vysotskij på flygplatsen i Moskva och kommer aldrig iväg till Odessa. Handlar sången om att Vysotskij är frustrerad över inställda flygningar, är det politisk kritik mot att Odessa på grund av militärinstallationer är en stängd stad, eller är kärnan i sången om att Vysotskij är på väg till sin franska fru (i Odessa) och myndigheterna försöker hindra honom att träffa henne?

Vysotskij mörka basröst mörknar mer och mer under sjuttitalet efter ett långvarigt sprit- och drogmissbruk. Flera sånger handlar nu om poeter, tidig död, missbruk och ordningskonflikter med myndigheter och allmänheten. Vysotskij ser sig därvid som den senaste traditionsbäraren från en lång rad ryska fyllepoeter med Jesenin i spetsen. Reinkarnation tas också något förvånande upp i sångerna, kanske är han en egentligen en återfödd fyllepoet, och kanske

kommer han efter sin död att återfödas som fyllepoet eller gris. En återfödelse som vanlig nykter arbetare är dock uteslutet. Vid Vysotskijs arbetsplats Tangan-kateatern sätter man fortfarande fram ett glas vodka före föreställningarna, om den återfödde poeten nu skulle dyka upp.

Hans sista provokation blir att tumultartat lämna jordelivet under den annars så välregisserade Moskvaolympiaden 1980. Den döde Vysotskij visar sig mer lätthanterlig än den levande; posthumt får han en slags halvofficiell status som det sovjetiska samhällets regimkritiker och patriot(!) nr. 1. Sångerna ges ut (om än i begränsade upplagor) på det statliga gramfonbolaget. I svensk version (t.ex. Fria Proteatern och Carsten Palmer) är Vysotskij alltid regimkritikern, i rysk version dock patrioten, och i granitmonumentens Moskva är det den patriotiske Vysotskij som är närvarande:

*På massgraven reses det inga kors;
Här sörjer inga änkor.
Någon har lämnat en blomsterbukett
Och den eviga elden brinner*

*Förr stod här jorden i brand,
Nu i huggen granit
Här finns inga enskilda öden,
Alla öden vilar i samma grav*

*I den eviga elden visas ett stridvagnsvrak,
Brinnande ryska byar,
Ett brinnande Smolensk, en brinnande Reichstag,
Och soldatens brinnande hjärta*

*Vid massgraven finns inga sörjande änkor
Bara starka människor går hit
På massgraven har man inte rest något kors,
Men gör det det hela lättare?*

(Fortsätter side 54)

Become best practice in cell morphology



Using manual microscopy for cell differentials is time-consuming and inconsistent. And when a consultation is needed, your answer may be days away.

These drawbacks can be quickly eliminated by a CellaVision® DM digital cell morphology system that pre-classifies cells and displays them in sharp focus ready for analysis or real-time consultation with your expert.

Invest in CellaVision® digital cell morphology and:

- Compensate for labor you may not have in the future
- Create a lab full of experts
- Reduce patient waiting time

Contact us today as the first step towards becoming best practice in cell morphology.

Our CellAtlas educational App is available at your App Store for iPhone & Android.

CELLAVISION 

CellaVision AB
Lund, Sweden, Phone +46 46 286 44 00
info@cellavision.com, blog.cellavision.com

(Fortsat fra side 52)

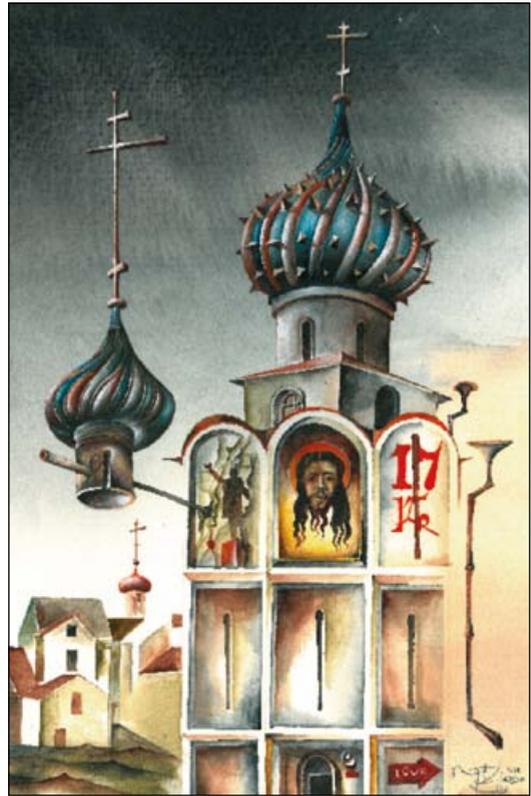
1993. Jag har praktik i Borlänge och bor på vandrarhem. Rumsgrannen är en driftig ryss som har uppfunnit någon sorts solceller som han förgäves försöker få Siemens att köpa. Vi dricker te, äter torra skorpor och talar om livet. Ingen kan tala om livet som ryssar. Kvällens tema är rumsgrannens helikopterkrasch i Sibirien, och vad man tänker under de dagar man vet att man snart skall dö (chanserna att bli hittad var inte stora innan satelliterna och mobiltelefonerna). Jag nynnade på en sång hela tiden, den om trådbussen (Trolleybus), berättade rumsgrannen.

Bulat Okudzjava (1924-1997) är Moskvas andra stora trubadur. Bulat är författaren och poeten som något motvilligt tonsatte sina texter. På många sätt är han Vysotskijs motsats. Bulat hade varit med i kriget, men skrev inte så ofta om det. Bulat låg inte i konflikt med samhället, var medlem i kommunistpartiet och lyrikansvarig på tidningen Literaturnaja Gazeta. Bulat är lyrisk tenor, sångerna är milda, han är kärlekens och vardagslivets trubadur. Bulat knyter här gärna an till efterkrigstidens europeiska chansoner, till Brassens och Biermann. Georgiern Bulat som alltid skriver på ryska är också en representant för den multietniska smältdegeln Moskva som växte fram under Sovjetunionen. När den nyktra sovjetiska arbetaren (den som inte reinkarneras till gris) drömmer sentimentalt om Sovjetunionen, är det till ord och toner från Bulat.

*När det blir för tungt att ta sig ur smärtan,
Och förtvivlan närmar sig
Skänker mig den blå trådbussen tröst
Slutgiltigt och tillfälligt*

*Sista trådbuss, som färdas på gatorna,
Kör en runda,
Plocka upp alla som är förlorade i natten,
Alla vrak och alla rester*

*Sista trådbuss, öppna dörrarna för mig!
Efter en halv natt i kylan litar jag på,
Att dina passagerare; dina matrosor,
Skyndar till hjälp*



Bilden är inköpt av författaren på gågatan "Arbat" 1989.

*Med er har jag ofta åkt i från olyckor,
Fått en hjälpare hand,
Tänk så mycket gott,
Det finns i tystnaden*

*Den sista trådbussen seglar mot Moskva,
Och Moskva, som en sommarflod, torkar ut
Och smärtans hammarslag i tinningarna,
Stillnar, stillnar*

Redaktionskomitén 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

Finland

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

Norge

Overlege Kristin Moberg Aakre
Laboratorium for klinisk biokjemi
Haukeland Universitetssykehus
N-5020 Bergen
Telefon: +47 5597 3188
Telefax: +47 5597 5976
E-mail:
kristin.moberg.aakre@helse-bergen.no

Sverige

Professor Anders Larsson
Avdelningen för klinisk kemi
Akademiska sjukhuset
S-751 85 Uppsala
Telefon: +46 18 6114271
Telefax: +46 18 552562
E-mail: anders.larsson@akademiska.se

Island

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

Sverige

Docent Per Simonsson
Klinisk kemi
Labmedicin Skåne
SE-205 02 Malmö
Telefon: +46 768 890504
E-mail: per.simonsson@med.lu.se

NFKK

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

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/vancouver.htm>). Meddelelser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

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

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptet 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.

Klinisk Biokemi i Nordens redaktion 2011

Linda Hilsted, Kristin Aakre, Per Simonsson,
Palle Wang, Henrik Alfthan, Ingunn
Þorsteinsdóttir, 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 vitenskapelige 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), Henrik Jørgensen (Bispebjerg), Tuula Metso (Helsingfors), Harri Laitinen (Helsingfors), Jón Jóhannes Jónsson (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Lars Eikvar (Oslo), Helge Rootwelt (Oslo), Per Simonsson (Malmö), Lena Norlund (Karlstad).

Ordförande: Ingunn Þorsteinsdóttir. Sekretærene: Vakant.

How can I expand my lab's capabilities but not my budget?



**NOW
AVAILABLE!**

Vitamin D Total
on ADVIA Centaur®
Immunoassay Systems

Siemens offers flexible systems and a versatile assay portfolio to increase capacity without straining your resources.

With our diverse range of immunoassay, clinical chemistry, and integrated platforms, you can enhance your operational efficiency while seamlessly meeting ongoing demands. And, together with our comprehensive disease-state menu, Siemens enables you to focus on what matters most—improving service to clinicians and care to patients. Find out more at www.siemens.com/diagnostics

Answers for life.

SIEMENS