

Klinisk Biokemi i Norden

 Nordisk Forening for Klinisk Kemi

NFKK 16% | Nordiska Kongressen 6.5% | Nyheter 2.1% | Stipendier och priser 0.4% | Kurser 1.1% | Klinisk Biokemi i Norden 2.8%

[Start](#) [NFKK](#) [Nordiska Kongressen](#) [Nyheter](#) [Stipendier och priser](#) [Kurser](#) [Klinisk Biokemi i Norden](#)

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)



Senaste nytt

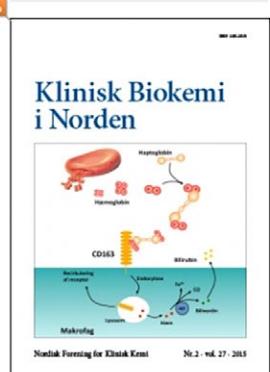
- Astrup priset 2016 (03 juni 2015)
- Hellsing priset för bästa artikel i Klinisk Biokemi i Norden 2014 till Ulf Nyman och Jonas Björk (19 maj 2015)
- "The Arctic Experience 2016" Course in Scientific Writing and Publishing; January 26-29th, 2016; Finse, Norway (23 februari 2015)
- Programme for the Nordic Course in specialist training, September 1-3, 2015 (11 februari 2015)
- The first Nordic Course in specialist training arranged by NFKK. Information and registration (11 februari 2015)
- Ny ordförande för Nordisk förening för klinisk kemi (20 oktober 2014)
- Nordiska kongressen i Göteborg 16 - 19 september (15 augusti 2014)
- Ny hovedredaktør for Klinisk Biokemi i Norden (30 maj 2014)

Nationella föreningar



Klinisk Biokemi i Norden
Tidsskrift för Nordisk Forening for Klinisk Kemi

Senaste nummer av KBN



Nordisk Forening for Klinisk Kemi | Nr. 2 · vol. 27 · 2015

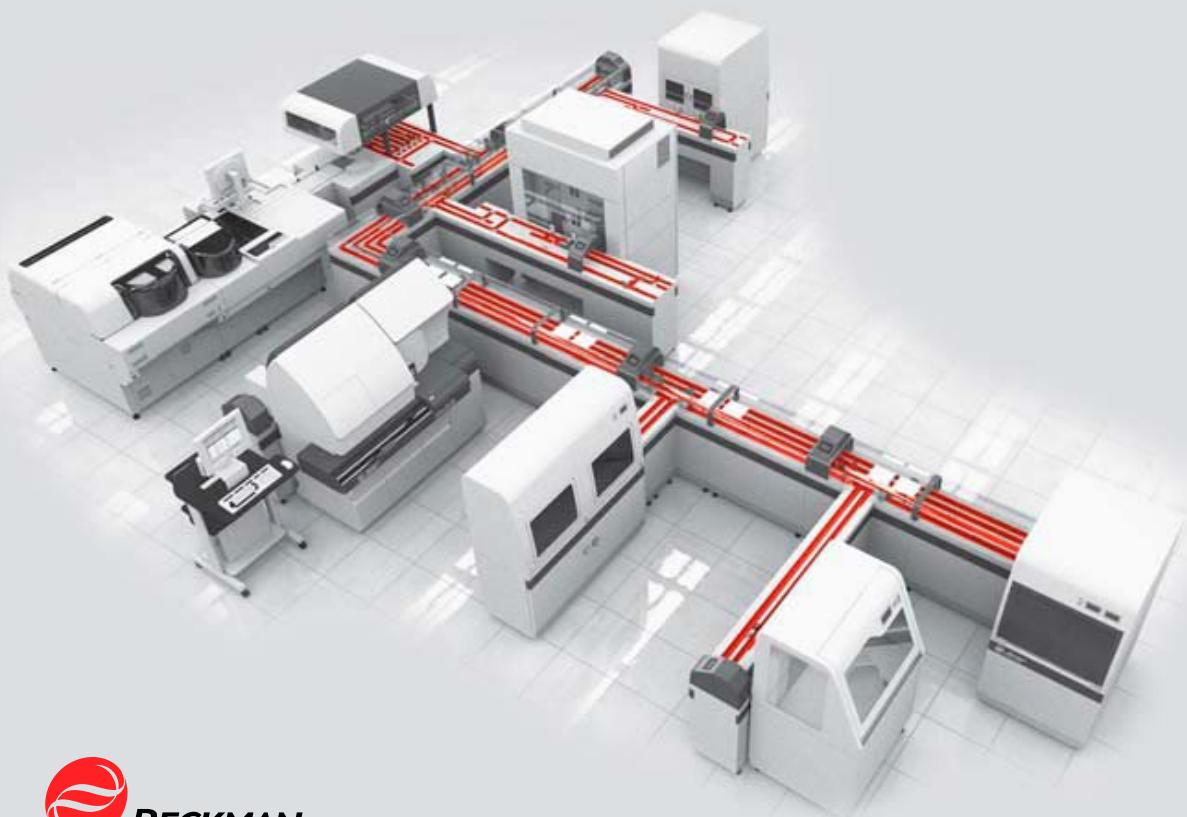
© Nordisk Forening for Klinisk Kemi 2015. Created by MR MEDIA

POWER EXPRESS

INTELLIGENT* LAB AUTOMATION
THE WAY IT'S SUPPOSED TO BE

LAB FORWARD ➤

- Open automation; third-party connection capabilities
- Balanced throughput up to 1200 tubes/hour, no bottlenecks
- FDA approved



* Optimal TAT is always achieved through realtime communication of instrument status and sample load between all connected instruments and the automation.

Power Express, intelligent total lab automation for high-speed routing of primary tubes to connected analyzers, sample preparation, creation of secondary tubes, recapping and compact tube storage (stockyard). It is a modular and scalable solution suitable for all types of laboratories. Carefully read the user manual for further information and instructions. Manufacturer: Beckman Coulter. Accordance with Directive 97/79 / EC – 08-2013 – notified body NSAI Ref: 052015-03

INDHOLD

Ledare	4
<i>Henrik Alftan</i>	
Ordförandespalt	6
<i>Yngve Thomas Bliksrud</i>	
”The Arctic Experience 2016” Course in Scientific Writing and Publishing.....	8
<i>Tor-Arne Hagve</i>	
XXXV Nordic Congress in Clinical Chemistry, June 14-17th 2016, Odense, Denmark.	9
<i>Mads Nybo, Lars Melholt Rasmussen</i>	
Hellsing priset	11
<i>Ingunn Þorsteinsdóttir</i>	
Smakebiter fra europeisk konferanse om preanalyse i Porto	12
<i>Helle Borgstrøm Hager</i>	
Antikoagulation og biokemisk monitorering anno 2015	18
<i>Shoaib Afzal, Malou Philips og Jens Peter Gøtze</i>	
En fuldautomatiseret laboratorieløsning.	
Erfaringer fra Klinisk Biokemisk Afsnit, Sydvestjysk Sygehus, Esbjerg	24
<i>Inge-Lise Søtang Jacobsen, Mustafa Vakur Bor, Jørgen Brodersen Gram</i>	
Albuminkorrigert serum kalsium ved Haukeland universitetssykehus	30
<i>Øyvin Andre Solberg Eng</i>	
Exosomer – nya biomarkörer i klinisk diagnostik.....	36
<i>Gunnar Ronquist</i>	
Doktorsgrad: Essential omega-3 fatty acids in health and disease.	
Association with total mortality and use of biomarkers in clinical practice	40
<i>Morten Lindberg</i>	
Inverkan av hemolys på serumkoncentrationer av insulin.....	44
<i>Henni Hartikainen och Annika Joki</i>	
Bönbok för sjöfarare	48
<i>Johan Bjerner</i>	
Litteraturhänvisningar	50
Info om NFKK och redaktion	51

Omslagsbild: Ett utdrag ur rapporterna från Google Analytics. Bilden visar nätrafiken under år 2015 på hemsidan nfkk.org med den procentuella fördelningen av besök på de olika rubrikerna. Besöken på underrubrikerna syns inte.

NFKK:s hemsida nfkk.org fyller tre år i år!

Henrik Alftman



Arbetet med hemsidan påbörjades våren 2012 och den första oktober samma år öppnades sidan för allmänheten. Efter de inledande och första trevande stegen har sidan utarbetats och kontinuerligt uppdaterats. Den drivande kraften var att kunna erbjuda medlemmarna hela den kompletta serien av Klinisk Biokemi i Norden, från nummer 1/1989 ända till 2/2015, på ett lätt tillgängligt sätt och i elektroniskt format i arkivet. Sedan ett år tillbaka står hela upplagan till ert förfogande och kompletteras kontinuerligt med nummer.

Besöker ni sidorna? Läser ni tidningarna? Hittar ni informationen till de Nordiska kongresserna och till kurserna? Söker ni i gamla nummer? Kollar ni kontaktuppgifterna till redaktionen? Ni behöver inte svara, vi vet! Hemsidan har sedan början varit uppkopplad till Google Analytics, vilken registrerar all trafik på hemsidan. Alltså faktiskt ALL trafik. Rapporten uppdateras kontinuerligt och där finns en enorm mängd information om allt mellan himmel och jord. Både relevant och mindre relevant.

Dagligen har hemsidan besöks 6-30 gånger. År 2012 var besöken i medeltal 6 st./dag och har stigit sedan dess - år 2013 var det 12 besök/dag, 2014 var besöken 18/dag och 2015 var de i medeltal 28/dag. Variationen i antal besök per dag är för det mesta 0-40 st. men enstaka dagar har sidan besöks av många fler. Några exempel på detta är 8.4.2013 (63 besök), 16.9.2014 (57 besök), 27.2., 22.3. och 19.5.2015 (ca 70 besök) samt 1.4.2015 med 124 besök - vilken var måhända orsaken till dessa toppar?

Längden av besöken och antalet uppladdade sidor har utvecklats i motsatt riktning. År 2012 varade besöket i genomsnitt nästan 5 minuter men är för närvarande 1 minut 23 sekunder. En möjlig förklaring till detta är att besökarna är mera hemvana nuförtiden och vet var allt hittas. Denna tanke stöds av utvecklingen av antalet sidor som bläddras under ett besök: år 2012 bläddrade man i medeltal 7.3 sidor per besök, vilket har sjunkit i år till 3.7 sidor/besök.

Veckofrekvensen följer året genom samma möns-

ter: flesta ingångar på måndag och tisdag, vilka sjunker till närmast noll till veckoslutet.

Under hela verksamhetsperioden är det huvudsidan som har besöks mest frekvent, d.v.s. 7.99% (6174 st.) av alla sidvisningar (77312 st.) på domänet nfkk.org. Därefter följer Arkivet med 3.50%, Nordiska kongressen (1.63%), Nyheter (0.92%), KBN årgång 2013 (0.78%) samt Redaktionen (0.75%). I årgång 2013 av KBN var de mest lästa bladen nr 1 och 3.

Under de enskilda kalenderåren har de aktuella sidorna självklart varit väl företrädda. År 2012 låg intresset helt klart på det administrativa: *Redaktionen* (plats 2), Årgång 2012 (3), KBN 4/2012 (4), *Nordiska kongressen* (5) och NFKK:s *Styrelsen* (6). Vardagen på hemsidan började år 2013 då ordningsföljden efter första sidan var *Arkivet*, *Nordiska kongressen*, KBN årgång 2013, KBN 1/2013, KBN 3/2013 och *Nyheter*. Följande år såg ordningsföljden lika ut med endast den skillnaden att de mest uppsökta tidningarna var till nummer år 2014. År 2015 överskred nyheten om den Nordiska specialistutbildningen i september (skriven 11.2.) nyhetströskeln och landade på andra plats bland de mest besökta enskilda sidorna (579 sidvisningar). Tätt uppföld av sidan samma dag med information och registreringsanvisningar (205 sidvisningar).

Det är troligt att de flesta användarna besöker föreningens sajt via ingångssidan nfkk.org. Vartåt leder vägarna därifrån? Under perioden 2014-2015 har *Senaste nytt* fått de flesta påhållningarna, till sammans 380 klick av totalt 1052 klick på sidan. De i särklass mest välbesökta nyheterna var de båda gällande den Nordiska kursen, 180 respektive 110 klick, dit också 31 besök gjordes via rubriken *Kurser*. Här bör man uppmärksamma att dessa två nyheter varit till påseende i bara dryga tre månader. Som jämförelse kan noteras att de övriga äldre nyheterna hade i medeltal 12 klick per nyhet.

Som enskild rubrik var *Klinisk Biokemi i Norden* mest besökt (130 klick) på hemsidan. De flesta träffarna fick *Arkivet* (57 klick) och sökfunktionen (26 klick). *Styrelsen* under NFKK (25 klick), *Nordiska Kongressen* (60 klick) samt *Poul Astrup* under *Sti-*

Stress free QC; accurate, reliable results.

When providing patient results with life changing potential, it's important to ensure the results you give are as exact as possible. Following strict laboratory processes and incorporating a quality control programme will not fully ensure result accuracy.

Introducing a truly independent quality control in your laboratory will guarantee that an unbiased performance assessment will be provided every time, ensuring peace-of-mind and reliability, while also reducing costs of expensive repeat tests.

The **Acusera Haematology** control from Randox is the only comprehensive third party control available for Sysmex analysers. With a 70 day shelf life, barcoded labels and a liquid ready-to-use format, it's easy to streamline laboratory QC processes. The availability of 45 analytes stable for 14 days including CBC and 5 part differentials ensures comprehensive analysis of analytical performance.

Randox QC, providing consolidated solutions, for results you can trust.

RANDOX
QUALITY CONTROL

Randox Laboratories Ltd



+44 (0) 28 9442 2413 +44 (0) 28 9445 2912

marketing@randox.com randoxqc.com



pendier och priser (12 klick) är de övriga ”vinnarna” under respektive rubriker.

Under hemsidans livstid har de flesta kontakterna tagits från Sverige (5500 st.) följt av Danmark (3612 st.), Norge (2584 st.), Finland (1111 st.) och Island (312 st.).

En snabb genomgång av trafiken på vår hemsida nfkk.org visar tydligt att den är i flitigt bruk och att trenden är stigande. Ur tidningens perspektiv är det speciellt glädjande att både arkivet och sökfunktionen har etablerat sig väl hos medlemmarna. Jag tror vi är inne på rätt spår!

Multomics, laboratorielegens gefundenes Fressen

Yngve Thomas Bliksrud



Medisinsk biokemi/klinisk kjemi og hverdagen ved laboratoriet er i stor grad styrt av den teknologiske utviklingen. Historien viser at teknologiske nyvinninger gang etter gang gir dypere innsikt i patologiske prosesser og økt kapasitet til å ta i mot pasientprover. Noen få eksempler fra tidligere tider kan være utvikling av ulike kromatografiske metoder, utviklingen av flowcellen og diverse automatiseringsprosesser. Endringene påvirker også laboratorielegens oppgaver og rolle. En stor grad av automasjon og standardisering av svarrapporter kan styre legen mot en mer tilbaketrukket rolle i sykehuslaboratoriet for eksempel som forsker. Men metoder som gir et ”finere oppløste biokjemiske bilde” av pasientene kan også gi mer krevende tolkningsoppgaver som det ikke kan forventes at klinikerne kan håndtere alene. I så fall styres legen tilbake mot den daglige produksjonen i sykehuslaboratoriet og den enkelte pasientutredning.

Akkurat nå opplever vi svært store bioteknologiske nyvinninger. Alle hviler på informasjons-teknologien og våre muligheter til å samle og tolke enorme biologiske datamengder om enkelt-pasienter. Dypsekvensering gir muligheten til å analysere hele eller store deler av genomet, og mønsteret av genetiske varianter danner grunnlag for individuelle tilpasninger i diagnostikk og behandling (”personalized medicine”). Tilsvarende omfattende profiler på for eksempel protein- og metabolittnivå er på vei. Multomics kan

bli en ikke uvanlig tilnærming ved biokjemisk utredning av mange tilstander.

Jeg tror dette er gode nyheter for profesjonen ”laboratorielege”. Klinikere, laboratorieleger (medisinske biokjemikere/kliniske kjemikere), biokjemikere, kjemikere og bioinformatikere må jobbe enda tettere enn i dag for å forstå en multomicsprofil, og i denne sammensatte gruppen tror jeg laboratorielegen vil kunne ha en samlende rolle. Kunnskap på høyt nivå i både biokemi og human fysiologi vil være den beste utrustning for å kunne anvende datamengden i praksis. Og det er nettopp det laboratorielegen er utdannet til. Jeg tror han/hun vil kunne være biokjemiker nok til å vurdere betydning av de ulike profilene for cellenes ve og vel, og samtidig lege nok til å vurdere betydningen av de samme profilene for organsystemers ve og vel. Særlig ved avvikende mønstre av uklar betydning vil den legespesifikk kompetansen være viktig. Noen må våge å ta ansvaret for at et avvik ikke skal følges videre opp, at mønsteret ikke representerer en trussel mot pasientens helse. Da kreves legespesifikk kompetanse, ikke bare i form av teoretisk skole-ring i fysiologi/patofysiologi, men det som følger av å ha hatt eget pasientansvar.

Spesialiteten ”medisinsk biokemi/klinisk kjemi” må kjenne sin besøkelsestid fremover. Vi har en viktig rolle å spille i det fremtidige laboratoriet med diagnostikk ved hjelp av ”multomics”. Jeg håper alle Nordens nasjonale foreninger og selskaper for medisinsk biokemi vil arbeide for at det vidunderlige faget vårt får den tilbørlige plass både i pasientarbeidet og i medisinstudiet.

Measuring high sensitivity Troponin?

Recent guidelines provides recommendations of high sensitivity Troponin assays as options for the early rule-out of non-ST-segment-elevation myocardial infarction (NSTEMI). Thermo Scientific™ MAS™ **Omni•CARDIO™** provides a QC solution for the new generation of high sensitivity Troponin I and T assays by specific targeting of levels aligned with the new cut-off demands. **Omni•CARDIO** also provides critical coverage for several non-cardiac specific analytes, including D-Dimer, hCG, Myeloperoxidase and Procalcitonin (PCT). For optional target levels, Cardiolimmune XL can also be offered as an alternative.

Is your cardiac QC hitting the target?

- Learn more about MAS Omni Control solutions at thermoscientific.com/QC or email info.sweden.cdd@thermofisher.com



MAS Omni•CARDIO



MAS Omni•IMMUNE Pro



MAS Omni•IMMUNE



MAS Omni•CORE

MAS Omni•CARDIO Troponin Target Levels

	Level Ultra Low	Level Low	Level 1	Level 2	Level 3
Troponin I	0.06 ng/mL	0.21 ng/mL	0.37 ng/mL	1.25 ng/mL	17.0 ng/mL
Troponin T	16.0 pg/mL	165 pg/mL	165 pg/mL	630 pg/mL	7000 pg/mL

Invitation to "The Arctic Experience 2016" Course in Scientific Writing and Publishing

January 26-29th, 2016

Finse 1222, Norway

Tor-Arne Hagve



The Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation (SJCLI) and Nordic Society of Clinical Chemistry (NFKK) hereby invite colleagues from the Scandinavian countries to participate in an extensive course in scientific writing and publishing. The Editorial Board of SJCLI will be responsible for the program. The aim of the course is to increase the awareness of the participants of the importance of scientific writing and to train them in writing a scientific manuscript. The course will be organized in both structured lectures and in groups of participants writing a scientific manuscript based on given data and literature.

Finse is the southernmost part of Europe with an arctic climate located at 1222 meter above sea level and only accessible by train, from either Bergen or Oslo (www.finse1222.no and www.finse.com). This remote location has been selected in order to find the necessary calm and tranquility for maximal focus on the activities during the course as well as for team-building and network forming.

The course is open for Nordic colleagues within the field of medical biochemistry/clinical biochemistry/ clinical chemistry, primarily for those in postgraduate specialist training and/or involved in research projects. The maximum numbers of participants is 20. The official language is English or a language understandable for all participants.

The travel expenses have to be paid by the participants/institutions while the registration fee, housing and meals are financed by NFKK and SJCLI.

Registration

Registration including a description of scientific background, present position as well as experience in writing manuscripts must be sent before October 31st 2015 to:



Tor-Arne Hagve

E-mail: tor.arne.hagve@ahus.no

Address: Multidisciplinary laboratory medicine and medical biochemistry, Akershus University Hospital, 1478 Lørenskog, Norway

Phone: +47-90510956.

Read more about Finse and the Arctic Experience in KBN (www.nfkk.org):

The Arctic Experience 2008: KBN nr 2, 2008

The Arctic Experience 2010: KBN nr 2, 2010

The Arctic Experience 2012: KBN nr 2, 2012

The Arctic Experience 2014: KBN nr 3, 2014

Den XXXVe Nordiske Kongres i Klinisk Biokemi 2016

Mads Nybo, Lars Melholt Rasmussen



Som annonceret i Göteborg afholdes NFKK-kongressen 2016 i Odense, Danmark

Udover at være H.C.
Andersens fødeby er

Odense også byen, hvor den XXe Nordiske Kongres i Klinisk Biokemi blev afholdt for næsten 30 år siden det vil sige i 1986. Som inspirationskilde for vores planlægning af 2016-kongressen har vi kigget i programmet for 1986 for at se, hvad fokus var for klinisk kemi dengang og vi må erkende at mange aspekter i vores fag fortsat er som de var for 30 år siden – men også, at der er kommet rigtig meget nyt til og at mange aspekter i relation til at afholde en kongres er meget anderledes i dag. Vores tilbageblik har samtidigt mindet os om at en del ting på vores afdeling

peger tilbage til den kongres, som Odense med stor succes afholdt for 30 år siden:

En bog! Programmet fra 1986 er en bog på næsten 200 sider (uden annoncer), hvor forsiden er prydet af et til lejligheden fremstillet kunstværk (af Jørgen Svenstrup). Kongresprogrammer i dag består oftest af 8-siders foldere med firmareklamer og farvebilleder, suppleret med diverse henvisninger til internetopslag o.m.a. I den 30 år gamle kongresbog findes i modsætning tætskrevne sider med alskens kluge ord og meget få illustrationer. Fremskridt eller tilbageskridt? Tjah?

Klinisk Kemi er som bekendt i Danmark sidenhen blevet til Klinisk **Biokemi**. Nogle vil mene, at navnforskellen er irrelevant, andre vil mene at den er signifikant og ligefrem vigtig, ja, definerende for faget. Vi vil undlade at tage stilling – og dog alligevel henlede opmærksomheden på det udbredte brug af præfix'et 'bio' i f.eks. uddannelser og studieområder



Mandel (*Prunus dulcis*) Foto: Henrik Alfthan

(Bioinformatics, Bioengineering, osv.). Måske er det trods alt lidt mere sexet?

Kongressen varede dengang 3 dage, ikke 4, som den forrige i Göteborg og den forestående er planlagt til. Har vi mere at snakke med hinanden om? Fylder det sociale mere i dag? Er det blevet billigere at rejse? Eller er faget bare vokset, og inddragelsen af tilstødende fagområder (proteomics, metabolomics, DNA-undersøgelser, Big Data-epidemiologi osv.) kræver simpelthen mere tid? Vi ved det ikke, men måske er det en blanding af alle de nævnte elementer.

Programmet indeholder en oversigt over alle tidligere NFKK-kongresser og deres geografiske placering. En gennemgang af disse steder og placering af kongresserne i perioden 1986-2014 viser at den første kongres i Klinisk Kemi i Norden blev afholdt i Finse i Norge i 1946 og at én by har afholdt kongressen fire gange (Reykjavik), mens 4 byer har afholdt kongressen to gange (Oslo, Göteborg, Bergen og Malmø). I 2016 bliver Odense medlem af denne 2-gangs klub. Måske skal vi bringe listen og kort over kongresbyer i 2016-programmet?



Vithårig cistros (*Cistus albidus*). Foto: Alexandra Alftan.

De fem nationale selskaber fremlagde i 1986 status for deres virke og visioner for den nære fremtid. Er der behov for at gøre det på den forestående kongres? Eller er Verden (læs: Norden) blevet mere ensartet, harmoniseret og måske mere rettet mod fagspecifikke udviklinger (præanalytiske tiltag, massespektrometri, datahåndtering) uden geografiske grænser? Med Internettets komme er megen kommunikation, vidensudveksling og databearbejdning blevet utroligt meget lettere end for 30 år siden; og vi vil derfor vælge at mene, at den nationalitetsopdelte aktivitet i vid udstrækning er, måske ikke erstattet af, men i hvert tilfælde stærkt suppleret af de it-teknologiske landvindinger.

Mange af emnerne fra 1986 har vi stadig fokus på i dag: Klinisk kemi i diabetes diagnostik og behandling, tumor markører, sporstoffer, og brug af klinisk kemi i primærsektoren. Andre har ikke helt samme fokus i dag som dengang: det gælder eksempelvis teknologiske emner, som ionselektive elektroder og NMR spektroskopi, mens evaluering af kvaliteten af diagnostiske tests jo er et gennemgående tema. Desuden var der også sessioner om mere basal forskningsaspekter som cellekommunikation og inflammatoriske mekanismer – og der var en session om rekombinant DNA teknologi. Emnerne og fokus var ikke de samme som i dag, men blandingen af basal biokemisk forskning, med forståelse og udvikling af ny teknologi samt anvendelse af biokemiske analyser i kliniske omstændigheder er jo ganske bekendt for os også i dag – og tyder på at kernen i vores fag er intakt.

Kunst: I forbindelse med kongressen i 1986, som blev afholdt på Odense Universitets Campus (nu hedder det Syddansk Universitet), blev der fremstillet forskellige kunstværker, blandt andet en serie af kunstnerisk modificerede (delvis overmalede) billede af videnskabsmænd fra Norden, dvs. forskere som har opnået de gennembrud som vores fag bygger på, eksempelvis Berzelius, Bohr, Dam etc. Disse kunstværker hænger fortsat på Afdelingen for Klinisk Biokemi og Farmakologi i Odense og minder os om at vi står på skuldrene af disse foregangsmænd.

Vi arbejder sammen med Ivan Brandtslund fra Vejle for at den kommende kongres i Odense 2016 bliver lige så stor en succes som kongressen i 1986. Vi vil forsøge at bevare fokus på kernen i vores fag ved at inddrage de allermest moderne aspekter i relation til både basal biokemisk forskning, ny teknologi og klinisk anvendelse af biokemiske test.

Kristoffer Hellsing priset 2014 till Ulf Nyman och Jonas Björk

Ingunn Þorsteinsdóttir



Ulf Nyman



Jonas Björk

Varje år väljer KBNs redaktion den bästa artikeln som publicerades föregående år. Såväl innehåll som litterära kvaliteter granskas. Det skulle vara en bra läsning om vår specialitet, med fakta men också med fördjupade nyanser.

Priset är instiftat för att hylla minnet av KBNs grundare Kristoffer Hellsing, en sann och entusiastisk nordist som kunde konsten att fånga klinisk kemi i ord.

KBN redaktion var helt enig i att Hellsing priset för 2014 går till Ulf Nyman och Jonas Björk från institutionen för kliniska vetenskaper i Malmö och avdelningen för arbets – och miljömedicin, Lunds Universitet för artikeln: Med dagens kreatininmetoder ger den reviderade Lund-Malmöformeln säkrare GFR-skattningar än MDRD och CKD-EPI. Artikeln publicerades i KBN nr. 4, 2014. Medförfattare är: Anders Grubb, Anders Larsson, Lars-Olof Hansson, Mats Flodin, Gunnar Nordin, Gunnar Sterner och Veronica Lindström.

Artikeln handlar om utvärdering av den reviderade Lund-Malmöformeln (LM-Reviderad) baserad på IDMS-spårbara kreatininanalyser för skattning av glomerulär filtrations rate (GFR). LM-Reviderad jämfördes med de mycket internationellt använda formellerna MDRD och CKD-EPI. Författarnas rekommendation mht god spårbarhet till referensmetodvärdet för kreatinin och med tanke på likartade populationerna

i de nordiska länderna att använda LM-Reviderad istället för MDRD och CKD-EPI för att estimera GFR. Resultaten i denna artikel har tidigare publicerats i Clin Chem Lab Med 2014;52:815-24 och i en rapport från SBU:s (Statens beredning för medicinsk utvärdering) expertgrupp: Skattning av njurfunktion. En systematisk litteraturöversikt från mars 2013.

Artikeln representerar ett gedigt arbete om den kliniska tolkningen av en av de mest använda analyserna på våra lab. Detta är en artikel om klassisk biokemi av speciell nytta för kliniska kemister i vardagen.

Redaktionen vill gratulera Ulf Nyman, Jonas Björk och medförfattare och samtidigt tacka för ett synnerligen gott bidrag till KBN.



Fjäderhyacint (*Muscari comosum*). Foto: Alexandra Alftan.

Smakebiter fra europeisk konferanse om preanalyse i Porto

Helle Borgstrøm Hager

Sentrallaboratoriet, Sykehuset i Vestfold

helle.hager@siv.no

Tre møter – økende popularitet

“European Conference on Preanalytical Phase” i regi av European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) ble arrangert for tredje gang i mars 2015. Denne gangen i Porto i Portugal. Konferansen ble første gang avholdt i Parma i Italia i 2011. Den gangen kom jeg hjem litt klokere om preanalyse og med en stor parmaskinke - som resulterte i innkjøp av en dyr kjøttskjærermaskin, som siden har stått sørgetlig ubrukt.

I Parma var det 300 deltagere og 33 postere og hele arrangementet ble avholdt på universitetssykehusområdet. I pausene var det endeløse køer foran matstasjoner og toaletter, men maten og espressoen var utsøkt og deltakerne glade - over endelig å være på et europeisk møte med fokus på preanalyse, eller kanskje også takket være det pene vårværet og vinen som ble servert til lunsjen?

To år senere, i 2013 var konferansen i Zagreb i

Kroatia, med 381 deltagere og 82 postere. Og nå var det altså tid for det tredje møtet. Denne gangen med imponerende 600 deltagere og 171 postere, og sted for arrangementet var konferansearealene i tilknytning til et fem stjerners hotell i Porto. Konferansen ble åpnet av den veltalende og smittende energiske Ana-Maria Simundic fra Kroatia som er leder av EFLMs arbeidsgruppe for preanalytisk fase. Denne arbeidsgruppen har de siste årene utført spørreundersøkelser og initiert prosjekter i tillegg til at de har arrangert tre preanalytiske konferanser. Norden er sterkt representert i arbeidsgruppen: Kjell Grankvist fra Sverige, Gunn B. B. Kristensen fra Norge og Mads Nybo fra Danmark. Deltakerne på konferansen var laboratorieleger og bioingeniører fra hele Europa. Mitt reisefølge bestod av tre bioingeniører fra Norsk kvalitetsforbedring av laboratorievirksomhet utenfor sykehus (Noklus): Wenche Iren Bjelkarøy, Kari van den Berg og Anne Lise Saga. Med oss i bagasjen hadde vi to



EFLMs arbeidsgruppe for preanalytisk fase. Nr. 2 fra høyre er Gunn B.B. Kristensen, nr. 4 fra høyre er Mads Nybo og nr. 6 fra høyre er Kjell Grankvist.

postere om preanalytiske eksterne kvalitetskontroll vurderingsprogrammer (EKV-programmer), den ene sammen med Gunn B. B. Kristensen fra Norsk Klinisk-kjemisk Kvalitetssikring (NKK). Av de 171 posterne var åtte fra nordiske land: tre fra Danmark, en fra Finland, tre fra Norge og en fra Sverige.



Anne Lise Saga, Helle B. Hager, Kari van der Berg og Wenche Iren Bjelkarøy.

Historiske betraktninger

Walter G. Guder, pensjonert professor fra Tyskland, holdt æresforedraget med tittelen "Preanalytical Phase - Past, Presence and Future". Nå vet vi at hele 2/3 av alle laboratoriefeil skyldes preanalytiske faktorer, men under laboratoriemedisinens spede begynnelse var hovedfokus på analytisk kvalitet. Først på slutten av 1970-tallet begynte man så smått å interessere seg for preanalytiske faktorer. Han ga noen eksempler på historiske preanalytiske utfordringer, som også er beskrevet i en artikkel [1]. Hans spådom for fremtiden er at laboratorieleger i årene fremover i økende grad må involvere seg i den pre-preanalytiske fasen, ved å påvirke hvilke analyser som bestilles.



Walter Guder og Ana-Maria Simundic.

Hvordan redusere unødvendige laboratorieprøver

Tim Lang fra Storbritannia viste oss at britene allerede hadde engasjert seg nettopp i dette siste feltet. I Storbritannia øker mengden prøver til laboratoriene med ca. 10 % per år. Samtidig blir økonomien bare strammere. Den samme endringen ser man over resten av verden. Økningen i analyser skyldes stigning i både nødvendige og unødvendige prøver. Unødvendige laboratorieprøver kan defineres som prøver som har forsvinnende liten sannsynlighet for å:

- Avsløre en uventet patologisk prosess
- Bidra til å finne årsaken til pasientens symptomer
- Påvise evt. bivirkninger av behandling
- Være til hjelp ved oppfølging av en kjent sykdomsstilstand

Hvis laboratoriene kan redusere de unødvendige prøvene som bestilles, vil det både harmonisere oppfølging/utredning og gi lavere kostnader. Strategier som kan brukes for å redusere unødvendige prøver er:

- Opplæring/veileding
- Regler som definerer prøvebestillingsrestriksjoner
- Endre rekvisisjonen for å gi bedre veiledning til rekvirentene, for eksempel legge til indikasjon i parentes bak analysenavnet eller sette analyser man ønsker skal reduseres på baksiden
- Oppgi analysekostnader
- Elektronisk rekvirering – inkludere real-time beslutningsstøtte
- Endringer i finansieringstakster

Tim Lang redegjorde for arbeidet de har lagt ned i Storbritannia på nasjonalt nivå for å redusere unødvendige blodprøver. I det såkalte "The National Minimum Retesting Interval Project" [2] laget de over 100 anbefalinger for en rekke kliniske områder med hensyn til hvor ofte en test kan bestilles. Mange små arbeidsgrupper laget anbefalinger basert på analysens egenskaper og den kliniske situasjonen den brukes i. Deretter ble anbefalingene gjennomgått av et panel av regionale representanter. Der de ikke fant evidensbaserte anbefalinger, ble anbefalingene basert på konsensus i panelene. De endelige anbefalingene ble godkjent av styret i Association for Clinical Biochemistry (ACB) etter høring blant medlemmene.

Anbefalingene kan brukes i opplæring/utdanning, informasjon i laboratoriehåndbøker og ved å legge inn sperringer/varsler som dukker opp ved elektronisk bestilling hvis en analyse bestilles for

tidlig i forhold til anbefalingene. For eksempel kan det legges inn sperre for å gjenta gentester. Det skal også være mulig for rekvirenten å overprøve en sperre og likevel bestille en analyse, men da må det legges inn en begrunnelse. Det planlegges å utvide prosjektet med flere analyser og fagområder innen laboratoriemedisin.



Tim Lang.

Faste er ikke bare faste

Mads Nybo fikk oss til å forstå at faste ikke er entydig og at det er på tide å lage nasjonale anbefalinger. Han har vært med i en arbeidsgruppe i EFLM som har gitt anbefalinger for standardisering av faste [3].

Kort oppsummert er arbeidsgruppens anbefalinger:

- Fastende blodprøver skal tas mellom kl. 7-9 om morgenen etter 12 timers faste (+/- 0,5 timer)
- Inntak av normale mengder vann er tillatt, men ikke kaffe/te eller andre drikker
- Alkohol bør man unngå i 24 timer før prøvetakning
- Ikke røyke eller snuse samme morgen

Vi ble oppfordret til å lage nasjonale anbefalinger for faste hvis vi ikke allerede hadde det – og gjerne bruke arbeidsgruppens anbefalinger som utgangspunkt.

EKV for preanalytisk fase

Gunn B. B. Kristensen holdt et foredrag der hun presenterte de ulike eksisterende typer av EKV-programmer for vurdering av preanalytisk fase med eksempler. Det finnes tre slike typer av EKV-programmer: Type I er spørreskjemaer/registrering av prosedyrer,

type II er utsendelser av prøver som simulerer preanalytiske feil (for eksempel hemolyse) og type III er registrering av faktiske preanalytiske feil/uønskede hendelser. Type I utsendelser er de enkleste og minst ressurskrevende å utføre, og brukes i dag regelmessig av Noklus, NKK, Labquality og mange andre. EQAnord hadde i 2014 en utsendelse av type II i alle de nordiske landene der de sendte ut fire hemolytiske prøver. Noklus startet i 2014 et årlig EKV-program av type III [4]. Mer om EKV programmer for den preanalytiske fasen kan man lese i en artikkel fra 2014 [5].



Zorica Sumarac, Ana-Maria Simundic og Gunn B. B. Kristensen.

Andre temaer

Andre temaer som ble behandlet på kongressen var blant annet: Implementering av EU-direktivet for å forebygge stikkskader, fysisk aktivitet og røntgenkontrastmidler som preanalytiske faktorer, viktigheten av rekkefølgen på rørene ved prøvetakning: myte eller sannhet? Konklusjonen på det siste var at evidensen er begrenset. En rekke studier viser imidlertid at feil rørrekkefølge kan medføre overføring av tilsettningstoffe mellom rørene, for eksempel EDTA. I hvor stor grad dette påvirker prøveresultatene er derimot litt uklart. Siden det ikke er en ulykke å følge en fast rekkefølge, anbefales det å fortsette med standardisert rekkefølge på rørene.

Mot slutten av dag to var det en lang seanse der representanter fra de ulike medlemslandene i EFLM presenterte hvordan de jobber med preanalyse i sine respektive land. Hvert enkelt land hadde fått noen få minutter til disposisjon, men de færreste klarte å holde seg til tidsskjemaet og det ble i stor grad en endeløs kjedelig opprømsing. Det var imidlertid en presentasjon som skilte seg klart ut: Mads Nybos

Immunodiagnostic Systems



 Animal Research

 Cartilage

 Autoimmune

 CKD-MBD

 Bone Metabolism

 Growth

 Calcium Metabolism

 Hypertension



Part of the IDS group



Commitment to Innovation

info.nordic@idsplc.com

www.idsplc.com

presentasjon fra alle de nordiske landene, med ca. 400 medlemmer i Danmark, 430 i Finland, 400 i Sverige, 143 i Norge og 10-15 medlemmer på Island. Han fremstod som en slags dansk Hugh Grant der han elegant og med humor presenterte hvor langt vi har kommet med arbeidet med preanalyse her i nord.



Mads Nybo sjarmerte publikum.

Et felt der vi i liten grad har engasjert oss (i likhet med de fleste andre land i Europa) er i den pre-pre-analytiske fasen. Kanskje vi kunne samarbeide innen Norden om å lage anbefalinger som har som mål å redusere unødvendige laboratorieprøver? Kunne dette kanskje være en oppgave for den nyetablerte nordiske arbeidsgruppen under EFLM? I Porto ble "Preanalytical Working Group of the Nordic countries" nemlig etablert. Medlemmer er: Gudmundur Sigthorsson (Island), Gunn Kristensen (Norge), Jonna Pelanti (Finland), Kjell Grankvist (Sverige) og leder Mads Nybo (Danmark).

Under mange av foredragene ble tilhørernes oppmerksomhet og engasjement økt gjennom bruk av mentometeravstemninger. Konferansen ble avsluttet med en paneldebatt, før det ble foretatt en prisutdeling til beste postere, den ene plukket ut av en vitenskapelig komité, den andre utpekt av kongressdeltakerne selv. Den første prisen gikk til Raffick Bowen fra USA med postertittelen "Chemical modification of plastic blood collection tubes to achieve hydrophilic interior surfaces to minimize interference". Publikumsprisen gikk til Céline Maitte fra Frankrike med postertittelen "Deployment of caregivers pre-analytical referents in units of care: experience feedback from French General Hospital".

Porto - mer enn kongresslokaler

Før og etter kongressen fikk vi anledning til å smake litt på hva Porto har å tilby utenom det faglige. Porto er en av de eldste byene i Europa, plassert ved Douroelvens utløp i Atlanterhavet. Byen fikk verdensarvstatus i 1996, og ble senest i 2014 kåret til kontinentets beste destinasjon av reiselivsmagasinet European Best Destinations. Byen har ikke bare gitt navn til portvinen, men til hele landet. Portvinen oppstod litt tilfeldig da noen engelskmenn i 1678 kjøpte restlageret fra en klostervingård og lurte på hvordan de skulle frakte vinen hjem til England uten at den ville bli ødelagt. De fant på å tilsette litt brennevin til hvert vinfat før den lange sjøreisen. Resultatet ble en kjempesuksess i England, og portvinsindustrien tok for alvor av da en traktat mellom England og Portugal i 1703 reduserte tollen både på portugisisk vin og engelske ullvarer. Turister kan i dag besøke lagerhusene som ligger langs elven i bydelen Vila Nova de Gaia. Store bokstaver på takene viser navn som Taylors, Graham og Croft. Her modnes fremdeles portvinen før den tappes på flasker og transporteres til hele verden. Ikke lenger med lavbunnede båter langs elven, men på lastebiler. I portvinshusene kan man lære om portvinsproduksjonen og smake på de ulike portvinstypene. Bydelene Vila Nova de Gaia og Porto sentrum sveises sammen av en massiv jernbro fra 1877, tegnet av Gustave Eiffel. Og hva kjøpte jeg med hjem fra Porto? Portvin selvfølgelig. Denne gangen var det heldigvis ikke nødvendig å kjøpe en dyr kjøkkenmaskin for å konsumere varen.



Portvinstønner



Gustave Eiffels jernbanebro.

Hvis du gikk glipp av kongressen, kan du få med deg mye ved å lese "Opinion paper" publisert i Clinical Chemistry and Laboratory Medicine som oppsummerer kongressens foredrag [6]. Foredragene er i tillegg publisert på kongressens nettside, se <http://www.preanalytical-phase.org/>

Neste preanalytiske kongress skal avholdes i Amsterdam våren 2017.

1. Guder WG. History of the preanalytical phase: a personal view. Biochem Med (Zagreb) 2014;24:25-30.
2. Lang T. National Minimum Re-testing Interval Project. A final report detailing consensus recommendations for minimum re-testing intervals for use in Clinical Biochemistry. London: Association for Clinical Biochemistry 2013;1-31.
3. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: for the Wor-

king Group on Preanalytical Phase (WGPA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Clin Chim Acta 2014;432:33-7.

4. Bjelkarøy WI, van den Berg K, Hager HB, Saga AL, Sandberg S. National effort to reduce pre-analytical errors on submitted samples from primary care in Norway. [Abstract]. Clin Chem Lab Med 2015;53: P036.
5. Kristensen GBB, Aakre KM, Kristoffersen AH, Sandberg S. How to conduct External Quality Assessment Schemes for the preanalytical phase? Biochem Med (Zagreb) 2014;24:114-22.
6. Lippi G, Banfi G, Church S, Cornes M, De Carli G, Grankvist K, Kristensen GBB et al. Preanalytical quality improvement. In pursuit of harmony, on behalf of European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working group for Preanalytical Phase (WG-PRE). Clin Chem Lab Med 2015;53:357-70.

Antikoagulation og biokemisk monitorering anno 2015

Shoaib Afzal, Malou Philips og Jens Peter Gøtze

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet, København

jens.peter.goetze@regionh.dk



Antikoagulation (AK) giver i dag flere muligheder for medicinsk behandling end tidligere. Fra de klassiske behandlingsformer med Warfarin til AK-behandling og aspirin til trombocythæmning er der i dag tilkommet andre lægemidler, der kan anvendes til reduktion af risiko for eller behandling af trombotiske tilstande. De nyere lægemidler er rettet mod enkeltfaktorer i koagulationskaskaden, hvor enten koagulationsfaktor X (Stuart-Prower faktor) eller koagulationsfaktor II (trombin) selektivt hæmmes (Figur 1). De nyere lægemidler til AK-behandling er blandt andet markedsført på, at de ikke kræver biokemisk monitorering, hvilket kan lette hverdagen for både patienter og sundhedssektoren. Men i takt med introduktionen af lægemidlerne i klinisk praksis er der alligevel opstået et behov for monitorering, som typisk dækker kliniske situationer med mulig overdosering til fornyet trombose under igangværende behandling. Også problemer med patientcompliance kan være en mulig indikation for monitorering. I det følgende gennemgås derfor AK-behandling med fokus på de direkte hæmmere (synonym: non-vitamin K antagonister, NOAC/NOAK) mod enkeltfaktorer og de biokemiske værktøjer til vurdering af deres effekter på koagulations-systemet.

AK-behandling i tal

Ifølge Institut for Rationel Farmakoterapi er ca. 100.000 danske patienter aktuelt i AK-behandling¹. De dominérende indikationer for AK-behandling er forebyggelse mod trombotiske komplikationer til

atrieflimren og dyb venetrombose (Tabel 1). Data fra Lægemiddelstatistikregisteret tyder på et stabilt niveau af brugen af vitamin K antagonistbehandling i befolkningen, men en stigende brug af de direkte hæmmere (Tabel 2)². En undersøgelse af danske patienter med atrieflimren i antitrombotisk behandling viser en stigende anvendelse på bekostning af vitamin K-antagonister. I perioden august 2011 til oktober 2013 blev 53 % af patienterne sat i behandling med Warfarin, 38 % med Dabigatran, 7 % med Rivaroxaban og 1 % med Apixaban³. De seneste data viser dog, at op mod 60 % af patienterne blev sat i behandling med direkte hæmmere for atrieflimren. Forbruget på hospitaler i Region Hovedstaden (2014) viser, at fordelingen mellem de forskellige medicinske behandlinger går mod hyppigere brug af de direkte hæmmere, hvor for eksempel Rivaroxaban tegner sig for cirka 50 % af forbruget (udregnet som daglige døgndoser). Det må derfor forventes, at der bliver stadig flere patienter i behandling med direkte hæmmere og tilsvarende færre patienter i behandling med vitamin K antagonister.

Warfarin

Opdagelsen af Warfarin er af ældre dato. Den tilskrives ofte to dyrlæger, som i 1920'erne observerede en sammenhæng mellem årstider, kost og indre blødninger i kødkvæg⁴. Det førte til identifikationen af stoffet Cumarin, som blev indført som et middel mod rotter (1948). Warfarin interfererer med syntesen af funktionsdygtige vitamin-K afhængige koagulationsfaktorer i leveren; det vil sige koagulationsfaktor II, VII, IX og X. Desuden hæmmes syntesen af de antikoagulante proteiner C og S (Figur 1). Standardmetoden til biokemisk monitorering er da også en analyse, hvor de nævnte faktorer indgår i koagulationskaskaden under navnet ”den interne vej” (i daglig laboratorietale protrombintiden). Ved at normalisere protrombintiden kom INR ind i spil-

let, hvor værdien er direkte sammenlignelig mellem laboratorier og brugbar til kliniske studier og fælles terapeutiske grænser.

Ud over de antitrombotiske effekter har Warfarin blødning som bivirkning, selv i moderne "real-world" brug⁵⁻⁷. Overordnet deles blødningskomplikationerne i fatale (cerebrale) og non-fatale (øvrige). Et hyppigt refereret studie angiver den generelle blødningsrisiko ved Warfarinbehandling til 1,25 (risk ratio), hvor særligt ældre patienter (<70 år) bærer risikoen (1,75)⁸. Fatale blødninger ses stort set kun hos ældre patienter. I Danmark antages 40-50 patienter at dø hvert år som konsekvens af Warfarinbehandling, om end det tal må formodes at være behæftet med betydelig usikkerhed. Risikoen for komplikationer må derfor altid afvejes i forhold til den gavnlige effekt af behandlingen (Tabel 1). Yderligere er Warfarinbehandling ressourcekrævende, da der kræves fortløbende biokemisk kontrol i primærsektoren eller i sygehusregi, uddannelse af patienten til selv at varetage behandlingen og kostvejledning. Der er også oprettet "skoler" til uddannelse af patienterne. På grund af de mange interaktioner med forskellige fødevarer og medikamenter kan der endelig være behov for betydelige livsstilsændringer og ændringer i fast medicin, eller der kan opstå problemer ved opstart af ny medicin⁹.

Direkte hæmmere

Den først godkendte direkte hæmmer var Dabigatran¹⁰. Efter bioaktivering i leveren hæmmer Dabigatran opløseligt og fibrinbundet trombin. Halveringstiden i kroppen er relativt kort, hvor stoffet overvejende nedbrydes i nyrerne (Tabel 3). Dabigatran er derfor kontraindiceret hos patienter med nedsat nyrefunktion¹¹. Da Dabigatran direkte hæmmer trombin, er den mest anvendte biokemiske metode til vurdering af koncentrationen i plasma en modificeret måling af trombintiden; det er henholdsvis ecarin clotting time (ECT) og Hemoclot (dTT). Dabigatran-stofkoncentrationen kan også bestemmes med masspektrometri¹².

Tabel 2. Prævalens af antikoagulant behandling med henholdsvis vitamin K antagonister og direkte hæmmere.

	Prævalens pr 1000 indbyggere	
Lægemiddel	2012	2013
Vitamin K antagonister	16,22	16,32
Dabigatranetexilat ¹	2,88	3,86
Rivaroxaban ²	0,74	1,95
Apixaban ³	0	0,32

¹Godkendt 2011, ²Godkendt 2012, ³Godkendt 2013

Tabel 1. Indikationer for behandling med vitamin K antagonister og direkte hæmmere samt risiko for blødning ved behandling.

	Lægemiddel	
Indikation	Vitamin K antagonister	Direkte hæmmere
Dyb venetrombose eller lungeemboli	x	x
Forebyggelse ved elektiv total hofte- eller knæalloplastik	-	x
Kronisk atrieflimren	x	x
Hjerteklappteser	x	Kontraindiceret
Post-myokardieinfarkt	x	Rivaroxaban
Absolut risiko pr. år (større blødning)	3-4 %	~2 %

Tabel 3. Farmakokinetiske og -dynamiske data vedrørende direkte hæmmere.

Medikament	Dagl. dosis	Bioavailability, %	Halveringstid, timer	Peak conc., ng/mL	Dal conc., ng/mL	Elimination
Dabigatran	150 mg x 2	6,5	12-14	184 (2-3 t)	90	Renal (80 %)
Rivaroxaban	20 mg x 1	66	6-13	274 (2-4 t)	30	Renal (36 %)
Apixaban	5 mg x 2	50	12	129 (3 t)	50	Multiorgan

Hæmning af koagulationsfaktor X har også fået interesse. En fordel ved hæmning af koagulationsfaktor X er, at faktoren cirkulerer i lave koncentrationer og varierer mindre end for eksempel trombinkoncentration¹³. Rivaroxaban hæmmer specifikt og direkte koagulationsfaktor Xa. Halveringstiden er kort (afhængig af køn og alder) og stoffet eliminieres overvejende i nyrerne. Effekten af Rivaroxaban kan biokemisk monitoreres med en modificeret koagulationsfaktor Xa metode samt ved massespektrometri¹⁴. Et lignende stof til hæmning af koagulationsfaktor Xa er Apixaban, som har en længere halveringstid og i mindre grad nedbrydes i nyrerne.

Effekten af direkte hæmmere på de klassiske metoder INR og APPT er forskellig. Fælles er dog, at metoderne ikke kan bruges til monitorering i det terapeutiske område eller ved subterapeutiske koncentrationer¹⁵. Dog kan APPT og INR delvist bruges ved større overdoseringer med henholdsvis Dabigatran og Rivaroxaban.

Blødningskomplikationer ved direkte hæmmere

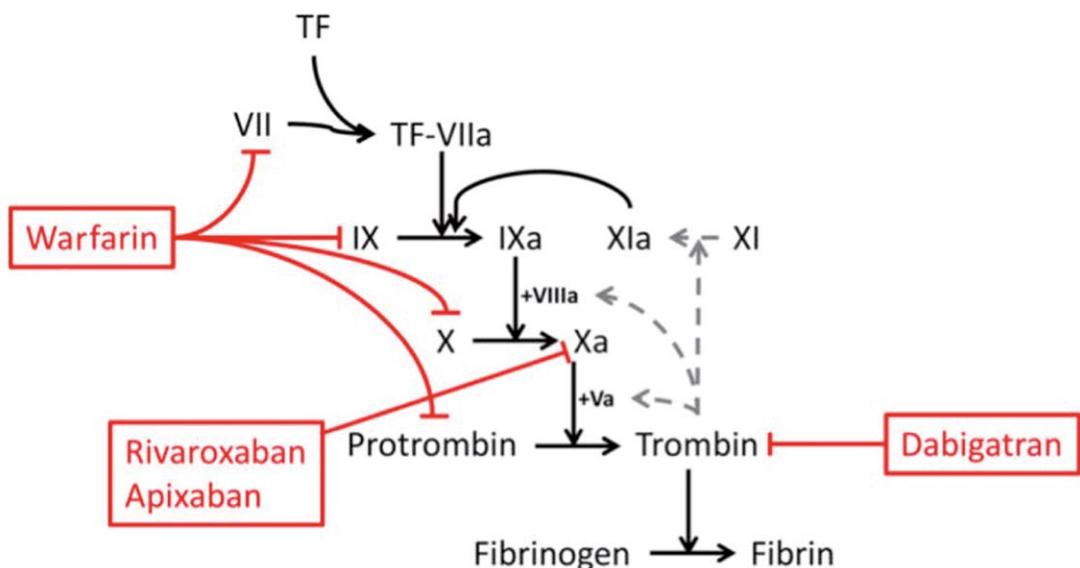
Grundet den begrænsede erfaring med direkte hæmmere er blødningskomplikationer ikke lige så velundersøgt som ved warfarin behandling. Dog viser resultaterne fra randomiserede og observationelle studier, at risikoen for intrakranial blødning er

lavere med en RR ~0.5 sammenlignet med Warfarin, mens fordelens ved at bruge direkte hæmmere ved andre typer af blødninger synes begrænset^{6;16-18}. I øvrigt er det vist for Dabigatran, at forekomsten af blødningskomplikationer stiger som funktion af stigende plasmakoncentrationer, samtidigt med at risikoen for ekstrakranial blødning er sammenlignelig med en velreguleret Warfarinbehandling, muligvis med let øget risiko for gastrointestinal blødning ved højdosis Dabigatran^{19;20}. Desuden er der øget blødningsrisiko ved kombinationsbehandling med anden antitrombotisk behandling, som det også er kendt for Warfarin^{5;21}. Andre direkte hæmmere er endnu ikke undersøgt i samme grad, hvorfor sammenhængene endnu er mindre belyste ved Rivaroxaban- og Apixabanbehandling.

Tid til monitorering af direkte hæmmere

I sagens natur anbefales det ikke at monitorere direkte hæmmere, da deres brug er baseret på faste doseringer og uden behov for løbende justering. Der kan dog være en række kliniske situationer, hvor bestemmelse af stofkoncentrationen alligevel er nyttig. Vi har her samlet en række situationer, hvor biokemisk monitorering kan bidrage til behandlingen:

- Ved mistanke om problemer med patientkomppliance. Præparaterne er endnu dyre, og der har



Figur 1. Stiliseret fremstilling af den pro-koagulante del af hæmostasen. Det er markeret på figuren hvor de forskellige anti-koagulantia virker. TF = tissue factor.

- været eksempler på patienter, der faktisk ikke tog medicinen. Ditto kan spørgsmålet dukke op ved trombose under behandling.
2. Komorbiditet kan påvirke omsætningen af direkte hæmmere, hvor især vigende nyrefunktion øger plasmakoncentrationen.
 3. Ved akut opstået behov for intervention, f.eks. ved cerebral trombose og overvejelse af trombolyse.
 4. Andre typer trombolysebehandling, hvor den samlede blødningsrisiko vil være påvirkeligt af den aktuelle plasmakoncentration.
 5. Svær blødning under pågående behandling med direkte hæmmere.
 6. Ekstrem vægt, både højt som lavt BMI.
 7. Endelig kan der være et behov for monitorering hos ældre patienter grundet ændret farmakokinetik og -dynamik.

Der foreligger endnu ikke konsensusrapporter omkring biokemisk monitorering af direkte hæmmere. De anførte situationer skal derfor ses som forslag, hvor afdelingen allerede har modtaget henvedelser for alle punkter. Et delvist uafklaret spørgsmål er, hvornår man skal måle i forhold til den daglige dosering af direkte hæmmere. I tidlige studier af farmakokinetik og -dynamik blev der ofte målt ved peak- og dalværdier, men i fornævnte studie vedrørende plasma-Dabigatran og risiko for blødning anvendtes dalværdier; altså værdier målt i plasma fra lige før indtagelse af næste pille¹⁹. I en klinisk hverdag kan det virke mest praktisk med dalværdier, og som nævnt findes der evidens, der understøtter denne praksis.

Konklusion

Fordele ved direkte hæmmere i forhold til Warfarin er et bedre terapeutisk interval, forbedret risikoprofil ved behandling og et mindre behov for biokemisk monitorering. Dog er der tale om lægemidler med begrænset klinisk erfaring, og en gennemgang af litteraturen viser, at der kan være betydelige komplikationer ved behandling. Vi mener derfor, at man bør kontrollere plasmakoncentrationen af lægemidlerne i udvalgte grupper. I starten bør kontrollen hellere være lidt for bred end for afgrænset, i hvert fald indtil der er samlet nok evidens til, at specifikke patientgrupper sikkert kan udpeges til tættere kontrol.

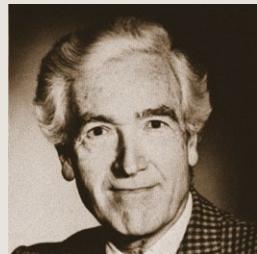
Reference List

1. Institut for rationel Farmakoterapi. 2015.
2. MEDSTAT. Statens Serum Institut. <http://www.medstat.dk/da> (Tilgængelig Jan. 2015).
3. Olesen JB, Sorensen R, Hansen ML, Lamberts M, Weeke P, Mikkelsen AP, et al. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulation agents in anticoagulant naive atrial fibrillation patients: Danish nationwide descriptive data 2011-2013. *Europace* 2014.
4. Wardrop D, Keeling D. The story of the discovery of heparin and warfarin. *Br J Haematol* 2008;141:757-63.
5. Hansen ML, Sorensen R, Clausen MT, Fog-Petersen ML, Raunso J, Gadsbøll N, et al. Risk of bleeding with single, dual, or triple therapy with warfarin, aspirin, and clopidogrel in patients with atrial fibrillation. *Arch Intern Med* 2010;170:1433-41.
6. Larsen TB, Rasmussen LH, Skjøth F, Due KM, Callreus T, Rosenzweig M, et al. Efficacy and safety of dabigatran etexilate and warfarin in "real-world" patients with atrial fibrillation: a prospective nationwide cohort study. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:2264-73.
7. Wieloch M, Sjlander A, Frykman V, Rosenqvist M, Eriksson N, Svensson PJ. Anticoagulation control in Sweden: reports of time in therapeutic range, major bleeding, and thrombo-embolic complications from the national quality registry AuriculA. *Eur Heart J* 2011; 32:2282-9.
8. Palareti G, Leali N, Coccheri S, Poggi M, Manotti C, D'Angelo A, et al. Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study (ISCOAT). Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy. *Lancet* 1996; 348:423-8.
9. Holbrook AM, Pereira JA, Labiris R, McDonald H, Douketis JD, Crowther M, et al. Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. *Arch Intern Med* 2005; 165:1095-1106.
10. van RJ, Goss A, Hauel N, Wienen W, Priepe H, Nar H, et al. The discovery of dabigatran etexilate. *Front Pharmacol* 2013;4:12.

11. Brødbæk K, Gøtze JP. Fatal blødningsskomplikation hos patient med akut nyresvigt behandlet med dabigatran. DSKB Nyt 2013;1:16-8.
12. Schmohl M, Gansser D, Moschetti V, Stangier J. Measurement of dabigatran plasma concentrations by calibrated thrombin clotting time in comparison to LC-MS/MS in human volunteers on dialysis. Thromb Res 2015;135:532-6.
13. Kubitz D, Perzborn E, Berkowitz SD. The discovery of rivaroxaban: translating preclinical assessments into clinical practice. Front Pharmacol 2013;4:145.
14. Rathbun S, Tafur A, Grant R, Esmon N, Mauer K, Marlar RA. Comparison of methods to determine rivaroxaban anti-factor Xa activity. Thromb Res 2015;135:394-397.
15. Cuker A, Siegal DM, Crowther MA, Garcia DA. Laboratory measurement of the anti-coagulant activity of the non-vitamin K oral anticoagulants. J Am Coll Cardiol 2014; 64:1128-39.
16. Bruins Slot KM, Berge E. Factor Xa inhibitors versus vitamin K antagonists for preventing cerebral or systemic embolism in patients with atrial fibrillation. Cochrane Database Syst Rev 2013;8:CD008980.
17. Dentali F, Riva N, Crowther M, Turpie AG, Lip GY, Aggen W. Efficacy and safety of the novel oral anticoagulants in atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis of the literature. Circulation 2012; 126:2381-91.
18. Salazar CA, del AD, Cordova EG. Direct thrombin inhibitors versus vitamin K antagonists for preventing cerebral or systemic embolism in people with non-valvular atrial fibrillation. Cochrane Database Syst Rev 2014;3:CD009893.
19. Reilly PA, Lehr T, Haertter S, Connolly SJ, Yusuf S, Eikelboom JW, et al. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). J Am Coll Cardiol 2014;63:321-8.
20. Wallentin L, Yusuf S, Ezekowitz MD, Alings M, Flather M, Franzosi MG, et al. Efficacy and safety of dabigatran compared with warfarin at different levels of international normalised ratio control for stroke prevention in atrial fibrillation: an analysis of the RE-LY trial. Lancet 2010;376:975-83.
21. Dans AL, Connolly SJ, Wallentin L, Yang S, Nakamya J, Brueckmann M, et al. Concomitant use of antiplatelet therapy with dabigatran or warfarin in the Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy (RE-LY) trial. Circulation 2013; 127:634-40.



Cykamen (*Cyclamen balearicum*). Foto: Alexandra Alftan.



Call for abstracts

The Astrup Prize Competition 2016

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 May 2015).

**Abstracts, stating name and affiliation of the author(s), - should be e-mailed to
merete.askestad@siemens.com**

or sent by ordinary mail to:
Siemens Healthcare Diagnostics
Att.: Merete Askestad
Borupvang 9
DK-2750 Ballerup
Denmark

All abstracts must include the applicant's C.V. also stating date of birth.

Deadline for receipt of abstracts is Monday the 25th january 2016.

In March 2016 a Nordic prize committee will select up to three of the submitted contributions to be presented by the authors at the XXXV Nordic Congress in Clinical Chemistry, Odense, June 14-17 2016. 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 Odense 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 the 3rd October 2016.

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 Astrup prize to Lars Melholt Rasmussen, Chairman of the prize committee
E-mail: lars.melholt.rasmussen@rsyd.dk**

En fuldautomatiseret laboratorieløsning. Erfaringer fra Klinisk Biokemisk Afsnit, Sydvestjysk Sygehus, Esbjerg

Inge-Lise Søtang Jacobsen*, Mustafa Vakur Bor, Jørgen Brodersen Gram

Klinisk Biokemisk Afsnit, Klinisk Diagnostik Afdeling, Sydvestjysk Sygehus (Esbjerg)

* inge-lise.sotang.jacobsen@rsyd.dk



Baggrund

I 2013 var Klinisk Biokemisk Afsnit (KBA) på Sydvestjysk Sygehus (SVS) det første sygehus i Danmark, hvor man sammen med en båndløsning implementerede Tempus systemet (rørpost) i direkte forbindelse med transportsystemet til klinisk kemi, immunkemi, koagulation og hæmatologi udstyr.

KBA er sammen med 3 andre specialer, Klinisk Immunologi, Klinisk Mikrobiologi og Patologisk Anatomi en del af Klinisk Diagnostik Afdeling (KDA), som udfører rutineanalyser og avancerede specialanalyser for SVS samt for praktiserende læger og speciallæger i optageområdet. Fakta ses i tabel 1.

KBA arbejdede i 2011/2012 på et udbud af klinisk kemi og immunkemi udstyr, da en generalplan for SVS gjorde, at laboratoriet skulle flytte til en ny bygning. Endvidere var den maksimale kapacitet på det eksisterende udstyr ved at være nået.

Et af formålene med udbuddet var, at automatisere og konsolidere den fremtidige produktion i så vidt omfang som overhovedet muligt på tværs af laboratoirespecialerne. Et andet mål var, at kunne reducere svartiden for de ”gængse” analyser til 1 time for at supportere de tidsstyrte patientforløb, som skulle implementeres på SVS.

Forventninger til fuldautomatiserede løsninger før udbuddet kan opsummeres i følgende punkter:

- Reduktion i svartid
- Reduktion i personaleressourcer
- Reduktion i driftsomkostninger
- Konsolidering af produktion på tværs af specialerne
- Mulighed for at hjemtage flere analyser og dermed øge analyserepertoiret
- Dimensioneret til behov i år 2020.

Processen

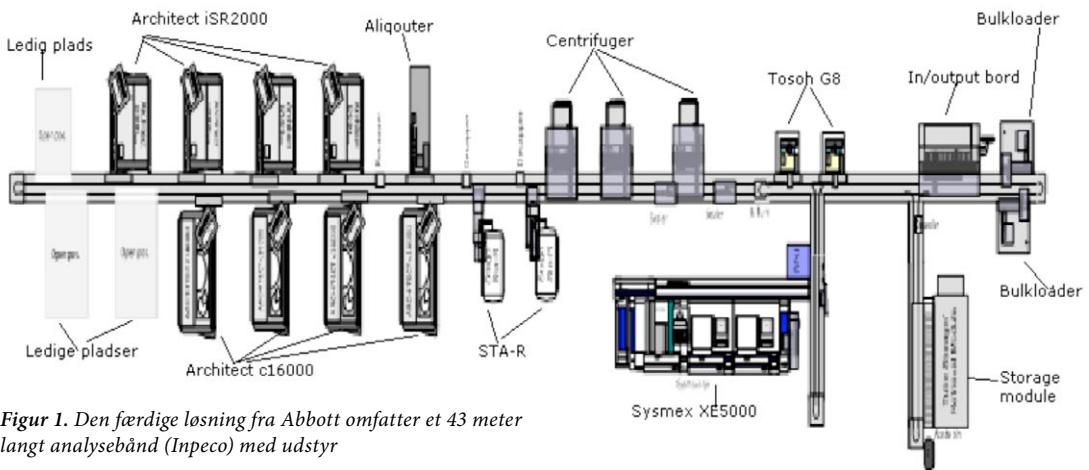
Udbudsprocessen blev afsluttet i efteråret 2012 med Abbott som vinderen. Alle 3 indkomne løsningsforslag kunne leve op til kravspecifikationerne, og var stærke på hvert deres felt. Skematisk præsentation af den færdige løsning fra Abbott er vist i figur 1. Løsningen indeholder back-up af centralt udstyr,

Tabel 1. Fakta om KBA

	2011	2014
Antal ansatte på KBA ¹	64(59)	64(61)
Analyseproduktion ²	Ca. 3.8 millioner	Ca. 5.4 millioner
Andel af rekvizitioner fra praktiserende læger	39%	38%

¹ Ansatte bioanalytikere og laboranter på KBA, Esbjerg, SVS (antal fuldtidsstillinger)

² Analyseproduktionen er ikke direkte sammenlignelig på grund af implementering af nyt IT system i 2013



Figur 1. Den færdige løsning fra Abbott omfatter et 43 meter langt analysebånd (Inpeco) med udstyr

således at nedbrud eller reparationer berører driften mindst muligt.

Tempus systemet (Tempus600), der er anvendt på SVS, er et unidirektionelt system, der afsender blodprøverør fra en fast afsenderstation til laboratoriet, forbundet med et rør hvori blodprøverør transporteres uemballeret. (Figur 2)(1,2). Der er klargjort 16 tempusrør fra afdelingerne og ambulatoriet, hvoraf de 8 rør anvendes i dag (Figur 3). Resten skal anvendes, når hele generalplanen for SVS er implementeret.

Implementering af analysebåndet og de nye udstyr samt flytning til nye lokaler var en spændende og ressourcekrævende opgave, og en god og overskuelig projektstyring var vigtig. Projektet var ekstra udfordrende, da hverdagens opgaver skulle løses

samtidig med implementering, uddannelse og validering af nyt udstyr.

Da KBA var akkrediteret i henhold til ISO 15 189 før flytningen og implementeringen af nyt udstyr, var der en stor opgave i at sikre, at afsnittet kunne bibeholde akkrediteringen under og efter processen. Dette blev muliggjort ved hele tiden at være i åben dialog med DANAK, angående flytteplaner, valideringsstrategier og valideringsplaner.

Selve implementeringsplanen blev delt i flere faser



Figur 2. Tempus



Figur 3. Bulkloader med Tempus



New, fully automated Elecsys® AMH immunoassay

Highly precise assay providing clinical confidence

Quantitative determination of anti-Müllerian hormone (AMH) provides a reliable assay for the assessment of ovarian reserve along with age-specific reference ranges. Available on over 30 000 Roche immunoassays worldwide.

Caring for Maternal Health





munoassay

ence in reliable assessment of ovarian reserve

essment of ovarian reserve supported by technical and clinical evidence
assay platforms worldwide.

al Health

cobas®

Life needs answers

Tabel 2. Implementeringsplan for den fuldautomatiserede løsning

Fase	Tidsplan	Hovedaktiviteter
1	Dec. 2012 til maj 2013	Uddannelse, validering og indkøring af Architect og Tosoh i eksisterende bygninger. Projektering af ny bygning
2	Maj 2013 til okt. 2013	Uddannelse, validering og indkøring af båndløsning, Tempus. Opkobling af Architect, Tosoh, STA-R og Sysmex på båndløsningen. Nedtagning af gammelt udstyr
3	Okt. 2013 til jun. 2014	Oplæring i den automatiserede båndløsning og tilhørende udstyr
4	Jun. 2014 og fremadrettet	Optimering af arbejdsprocesser og konsolidering

(Tabel 2), hvoraf den første var implementering af det nye udstyr i de eksisterende lokaler. Den næste fase, ca. 4 måneder senere, var implementering af transportbånd og Tempus system i den nye laboratoriebygning, hvor det nye klinisk kemi og immunkemi udstyr først blev koblet på transportbåndet, og herefter fulgte opkobling af HbA1c udstyr, koagulation og hæmatologi udstyr.

Fase 3 var efter implementering af nyt udstyr og flytning til de nye lokaler. Fase 3 bestod af uddannelse og tilvænning til Tempus, transportbånd og måden, det hele skulle "tale" sammen på. Der var også en del udfordringer omkring IT, da der nu var flere typer "middleware", der skulle kommunikere. Selve fase 3 tog længere tid end forventet, da der jævnligt opstod nye fejl, som skulle tilrettes. Endvidere var det svært for nogle medarbejdere ikke længere at kunne kontrollere prøveflowet, i forhold til tidligere, hvor man havde mere kontrol over, hvor den enkelte prøve befandt sig.

I dag analyseres ca. 83% af de klinisk biokemiske analyser på det udstyr, der er koblet til transportbåndet og fase 4, som vi kalder optimering er gået i gang. Samtidig med de stadig stigende sparekrav på sygehusområdet, er der nu endnu større og presserende grunde til at optimere og konsolidere.

Ved konsolidering af analyser mellem specialerne til udstyr på transportsystemet er nogle af emner vigtige at overveje inden implementering:

- Fremtidig ressourcemodel
- Analysevolumen
- Analysesvartid
- Analysering (24/7) eller batchanalyser

- Skal laboratorieinformationssystemet fra de forskellige specialer "tale" sammen indbydes eller via en middleware.

Målet til svartiderne (mindre end 1 time), fra prøvetagning til svaret er rapporteret, er endnu ikke opfyldt. Men tiden fra prøverørets ankomst til transportbåndet, og til svaret er færdigt, vurderes at være tilfredsstillende. KBA arbejder i øjeblikket på at optimere arbejdsprocesser og reducere den præanalytiske tid.

Gevinster ved en fuldautomatiseret løsning er:

- Reduceret analysestid fra ankomst af prøverør til transportbåndet, til svaret er rapporteret
- Kontinuert flow af prøverør fra sengeardelingerne
- Reduktion i "hands on" tiden i forhold til håndtering af prøverør
- Konsolidering imellem specialerne
- Ændringer giver mulighed for at få optimeret arbejdsgangene
- Reduktion i driftsomkostningerne

Opmærksomhedspunkter ved en fuldautomatiseret løsning er:

- Laboratoriearbejdet er mere end nogensinde afhængigt af IT, og at det er driftssikkert
- Den totale svartid er blevet reduceret som forventet, dog ikke for de livsvigtige blodprøvesvar
- Udfordringer med IT back-up løsninger
- Mindre fleksibilitet
- Nye arbejdsgange
- Behov for tæt samarbejde med medicoteknik, tekniske afdelinger og leverandøren

- Behov for åben dialog med DANAK vedr. validering
- Stor læringsproces
- Flere ressourcer i implementeringsfaserne 1-3
- Skeptiske medarbejdere i forhold til ny teknologi
- Kræver tilstrækkelig ventilationskapacitet pga. varmeudvikling

Hvad har vi lært

De fremtidige fuldautomatiserede laboratorier stiller andre krav til medarbejderne og ledelsen, og derfor er det vigtigt, at både ledelse og medarbejdere er klædt på til dette og

- tør udfordre de gamle vaner
- sikrer god uddannelse i det nye
- vurderer værdien af hver enkelt arbejdsopgave samt fjerner de ikke værdigivende arbejdsopgaver
- løbende informerer om planer og fremskridt
- løbende optimerer arbejdsprocesser

Fuldautomatiserede laboratorier stiller også andre krav til leverandørerne af udstyr, da der ofte vil være en hovedentreprenør, som skal samarbejde med andre leverandører (i denne sammenhæng underleverandører) inden for klinisk kemi/hæmatologi og koagulation.

Med den fuldautomatiserede laboratorieløsning har KBA endnu ikke fået alle forventninger indfriet. Der er stadig plads til forbedringer med hensyn til svartider på livsvigtige blodprøver. Endvidere har KBA haft - og har stadig - udfordringer med at optimere og konsolidere personaleressourcer og analyseresertoire.

På trods af disse udfordringer giver en fuldautomatisk laboratorieløsning muligheden for konsolidering af produktionen på tværs af laboratoriespecialerne og er et vigtigt bidrag til de tidsstyrede patientforløb og til reduktion af driftsomkostninger i laboratoriet.

Referencer:

1. Hastrup J, Christensen H, Madsen JS, Mogenssen CB, Brandlund I. Stability of biochemical components in blood samples transported by the new dedicated blood tube transport system, Tempus600, Klinisk Biokemi i Norden 2013; 25: 38-46
2. Schrøder APD, Tørring N. Rørpostsystem Tempus600, DSKB-nyt 2014; 3: 6-7



Passionsblomma (Passiflora caerulea). Foto: Alexandra Alfthan.

Albuminkorrigert serum kalsium ved Haukeland universitetssykehus

Øyvin Andre Solberg Eng, lege i spesialisering i medisinsk biokjemi

Laboratorium for klinisk biokjemi, Haukeland universitetssykehus

oyvin.andre.solberg.eng@helse-bergen.no



Fritt kalsium anbefales ikke som screeninganalyse av kalsiumforstyrrelser hos voksne. Vi har likevel observert et stadig økende antall rekvireringer av fritt kalsium ved Haukeland Universitetssykehus. Fritt kalsium er ikke en automatisert analysemetode på lik linje med serum kalsium hos oss, men analyseres på blodgassinstrumenter. Fritt kalsium er derfor en analyse som er ressurskrevende for laboratoriepersonell.

Ved endringer i albuminverdien uten pH-endringer vil albuminkorrigert serum kalsium gi et godt uttrykk for kalsiumverdien hos de aller fleste pasienter og er således godt egnet som screening for hypo- og hyperkalsemi. Vi har derfor tenkt som flere andre sykehuslaboratorier i Norge før oss, å opprette analysen albuminkorrigert serum kalsium for å tilby en bedre screeninganalyse av kalsiumforstyrrelser til rekvirentene enn serum kalsium alene. Blant klinikere ved Haukeland universitetssykehus som i dag albuminkorrigerer serum kalsium selv, er en av de best implementerte albuminkorreksjonsformlene Paynes formel fra 1973, Leeds, UK (1):

$$s\text{-Ca korrigert} = s\text{-Ca} + 0,0200 \times (40 - [s\text{-Alb}])$$

Som et ledd i opprettelsen av analysen albuminkorrigert serum kalsium utførte vi en pilotstudie ved Haukeland Universitetssykehus for å finne ut hvilken formel som passet best ved vårt sykehuslaboratorium. Vi konstruerte en lokal albuminkorreksjonsformel basert på regresjonsanalyse av analyseresultater fra vår egen analyseproduksjon, og sammenlignet denne formelen med to tidligere etablerte og hyppig siterte albuminkorreksjonsformler.

Tidligere etablerte korrekjonsformler

Kalsium i blod er som kjent enten bundet til bindeproteiner eller sirkulerende som ubundet, fritt kalsium. Kalsium bindes hovedsakelig til albumin, men kan også binde seg til andre proteiner. Selv om den totale konsentrasjonen av proteiner i blodet vil bestemme forholdet mellom bundet og ubundet kalsium, vil også pH i blodet være avgjørende for proteiners bindingsaffinitet til kalsium. Flere korrekjonsformler av kalsium basert på albumin, pH, totalproteiner eller en kombinasjon av disse har tidligere blitt foreslått i litteraturen, men kun albuminkorrigert serum kalsium har vunnet frem i nyere tid. Tidligere publiserte albuminkorreksjonsformler fra 70-tallet er fremdeles i bruk den dag i dag. Formlene var ofte konstruert på bakgrunn av analyseresultater fra ett enkelt laboratorium, hvor populasjonsgrunnlaget for å konstruere formlene var små. Det er derfor rimelig å anta at disse formlene kanskje ikke passer til populasjonene vi har i dag, eller til våre analysemetoder og reagenser. For eksempel er Paynes albuminkorreksjonsformel fra 1973 konstruert på bakgrunn av 200 pasientprøver ved St. James University Hospital i Leeds i Storbritannia. En annen hyppig sitert albuminkorreksjonsformel som vi har inkludert i vår pilotstudie er Berrys albuminkorreksjonsformel fra 1973, London (2):

$$s\text{-Ca korrigert} = s\text{-Ca} + 0,0227 \times (46 - [s\text{-Alb}])$$

Formelen ble konstruert ved University College Hospital i London, hvor serum fra 25 friske mannlige leger og medisinerstudenter mellom 21 og 35 år ble inkludert. Forskjellen mellom Payne og Berrys gjennomsnittlige albuminnivå i formlene (40 g/L og 46 g/L) gjenspeiler både deres ulike analysemetoder og deres ulike valg av populasjoner ved konstruksjon av albuminkorreksjonsformlene.

Konstruksjon av en lokal korreksjonsformel

For å konstruere og validere en lokal albuminkorreksjonsformel hentet vi ut aidentifiserte analyseresultater fra vårt eget labdataprogram, Unilab700. Alle analysene var analysert med konvensjonelle reagenser på Modular, Roche Diagnostics. Totalt samlet vi 11 000 rekvisisjoner fra primærhelsetjenesten, sykehusavdelinger og sykehuspoliklinikker fra 2012 til 2014 hvor både serum kalsium, serum albumin og fritt kalsium (pH korrigerte resultater i serum eller arterielt/kapillært fullblod) var rekvisert samtidig. Rekvisisjoner fra personer under 18 år og duplikater av samme person ble ekskludert. Rekvisisjonene ble gruppert i to studiematerialer. Et konstruksjonsmaterialet som bestod av 1 000 rekvisisjoner fra primærhelsetjenesten, og ca. 10 000 rekvisisjoner fra sykehusets avdelinger og poliklinikker som utgjorde valideringsmaterialet. I konstruksjonsmaterialet ble alle resultater av fritt kalsium og albumin utenfor referanseområdene ekskludert for å få en mest mulig homogen og «frisk» studiepopulasjon. Materialet ble så benyttet til å konstruere en albuminkorreksjonsformel. Ved hjelp av Excel utførte vi regresjonsanalyse på konstruksjonsmaterialet av kalsium og albumin og kom da frem til regresjonsformelen:

$$y = 0,0172x + 1,5712.$$

Regresjonsformelen viser at bindingskapasiteten til 1g/L serum albumin er 0,0172 mmol/L serum kalsium. En økning eller reduksjon på 1 g/L serum albumin gir dermed en proporsjonal endring av serum kalsium på 0,0172 mmol/L. Den gjennomsnittlige albuminkonsentrasjonen i konstruksjonsmaterialet var 45 g/L. Ved å kombinere bindingskapasiteten og gjennomsnittsverdien av albumin ga dette oss følgende albuminkorreksjonsformel:

$$s\text{-Ca korrigert} = s\text{-Ca} + 0,0172 \times (45 - [s\text{-Alb}])$$

Hvilken albuminkorreksjonsformel er best?

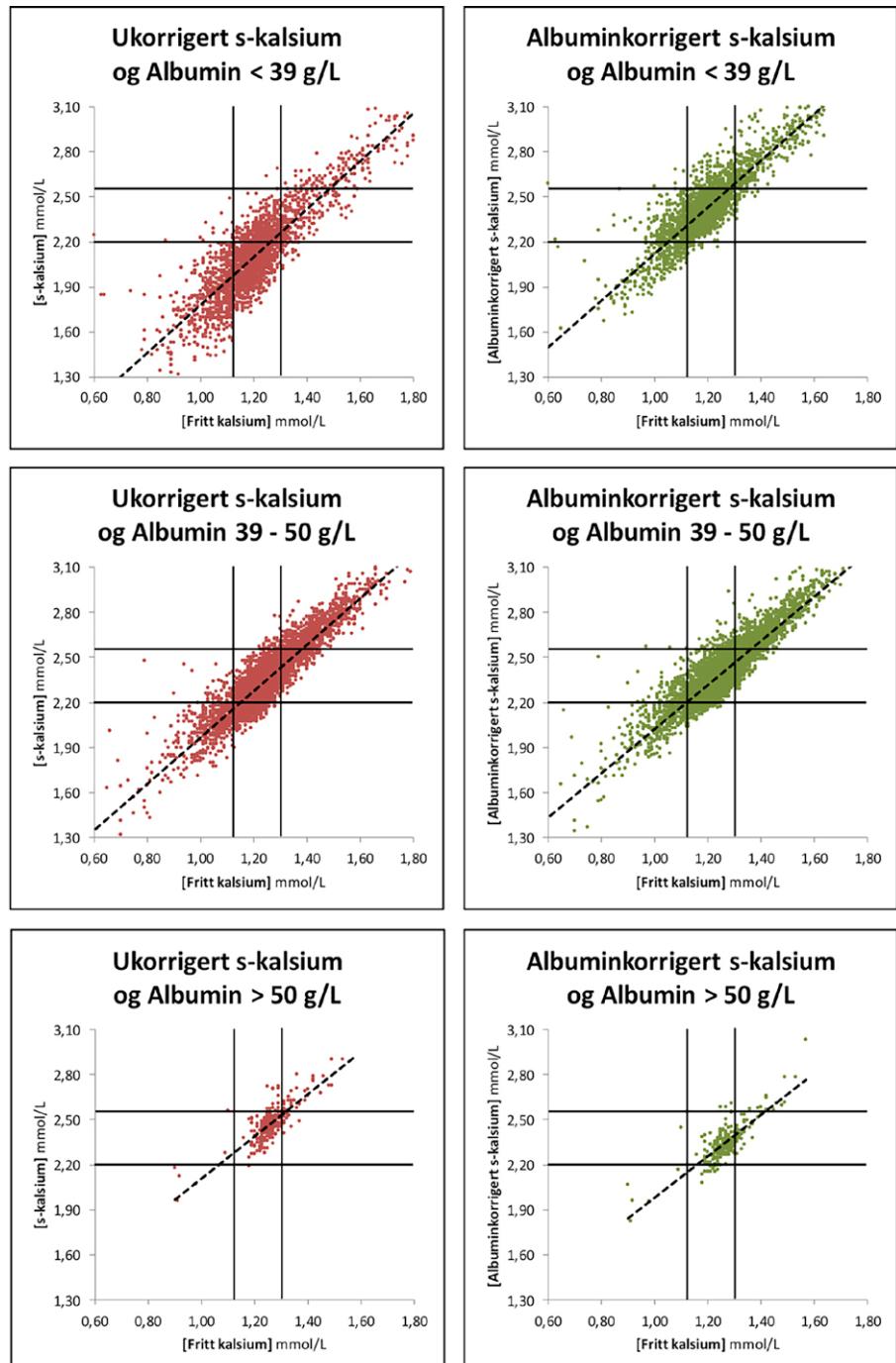
De resterende 10 000 rekvisisjonene utgjorde valideringsmaterialet som vi benyttet til å sammenligne vår konstruerte formel og de to tidligere etablerte albuminkorreksjonsformlene til Payne og Berry.

Fritt kalsium er gullstandard for klassifisering av kalsiumstatus. Ved å dele inn analyseresultatene fra valideringsmaterialet i tre grupper etter referanseområde for fritt kalsium (1,13 – 1,28 mmol/L), får vi klassifisert alle rekvisisjonene som enten hypokalemiske, normokalemiske eller hyperkalemiske. Serum kal-



Port de Sóller, Serra de Tramuntana, Mallorca. Foto: Henrik Alftan.

Figur 1:
Sammenligning av ukorrigert s-kalsium og albuminkorrigert s-kalsium (Berry's formel) ved ulike albuminnivå



De loddrette linjene i diagrammene tilsvarer referansegrensene til fritt kalsium (1,13 - 1,28 mmol/L). De vannrette linjene i diagrammene tilsvarer referansegrensene til serum kalsium (2,20 - 2,55 mmol/L). Den strikkede linjen tilsvarer regresjonslinjen mellom fritt kalsium og serum kalsium. Figuren viser at albuminverdier < 39 g/L har størst effekt av å albuminkorrigeres.

Tabell 1: Alle rekvisisjoner fra valideringsmaterialet (n=9055)

	Serum kalsium ukorrigert			Lokal albuminkorreksjonsformel		
	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55
Hypokalsemi Fritt CA < 1,13	11%	1%	0%	9%	3%	0%
Normokalsemi Fritt CA 1,13 - 1,28	18%	45%	0%	5%	57%	1%
Hyperkalsemi Fritt CA > 1,28	1%	13%	11%	0%	12%	13%

	Payne's albuminkorreksjonsformel			Berry's albuminkorreksjonsformel		
	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55
Hypokalsemi Fritt CA < 1,13	11%	1%	0%	7%	5%	0%
Normokalsemi Fritt CA 1,13 - 1,28	23%	40%	0%	2%	58%	3%
Hyperkalsemi Fritt CA > 1,28	0%	16%	9%	0%	10%	15%

Fritt kalsium klassifiseres (vannrett) som hypo-, normo-, eller hyperkalsemi basert på referanseområdet til fritt kalsium (1,13 - 1,28 mmol/L). Serum kalsium albuminkorrigeres med tre ulike formler og klassifiseres (loddrett) basert på referanseområdet til serum kalsium (2,20 - 2,55 mmol/L). Ved å sammenligne klassifiseringene med fritt kalsium (gullstandard) og klassifiseringene med serum kalsium gir Berrys formel færrest feilklassifiseringer av kalsium.

Tabell 2: Alle rekvisisjoner fra valideringsmaterialet med albuminverdier < 39 g/L (n=2683)

	Serum kalsium ukorrigert			Berry's albuminkorreksjonsformel		
	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55	CA < 2,20	CA 2,20 - 2,55	CA > 2,55
Hypokalsemi Fritt CA < 1,13	7%	0%	0%	3%	4%	0%
Normokalsemi Fritt CA 1,13 - 1,28	13%	5%	0%	0%	15%	2%
Hyperkalsemi Fritt CA > 1,28	0%	3%	2%	0%	1%	5%

Resultatene er oppgitt som % verdier av det totale valideringsmaterialet (n=9055) for å vise effekten av å albuminkorrigere kun lave albuminnivå. Tabellen viser at Berrys albuminkorreksjonsformel gir 9 % færre feilklassifiseringer av kalsiumstatus sammenlignet med ukorrigert serum kalsium ved albuminverdier < 39 g/L.

sium resultatene ble så albuminkorrigert med Paynes, Berrys og den lokalt konstruerte albuminkorreksjonsformelen og delt inn i tre grupper etter referanseområde for serum kalsium (2,20 - 2,55 mmol/L). Ved å sammenligne kalsiumklassifiseringene med serum kalsium mot kalsiumklassifiseringene med fritt kalsium, får vi resultatene som vist i tabell 1.

Bør alle s-kalsium albuminkorrigeres?

Vi ønsket også å se på om det var like nyttig å albuminkorrigere serum kalsium ved ulike albuminnivå. Vi delte inn hele valideringsmaterialet i tre grupper etter referanseområdet for serum albumin

(39– 50 g/L). I hvert av albuminnivåene ble kalsiumklassifiseringene ved bruk av fritt kalsium og kalsiumklassifiseringene ved bruk av serum kalsium sammenlignet på nytt, som beskrevet over. Resultatene er vist i figur 1 og i tabell 2.

Valg av korrekt albuminkorreksjonsformel og resultater som skal albuminkorrigeres

På bakgrunn av resultatene fra vår pilotstudie har vi valgt å ta i bruk Berrys albuminkorreksjonsformel ved Haukeland universitetssykehus. Berrys formel gir færre feilklassifiseringer av kalsiumstatus både totalt sett og for ulike albuminnivå. Vi har besluttet

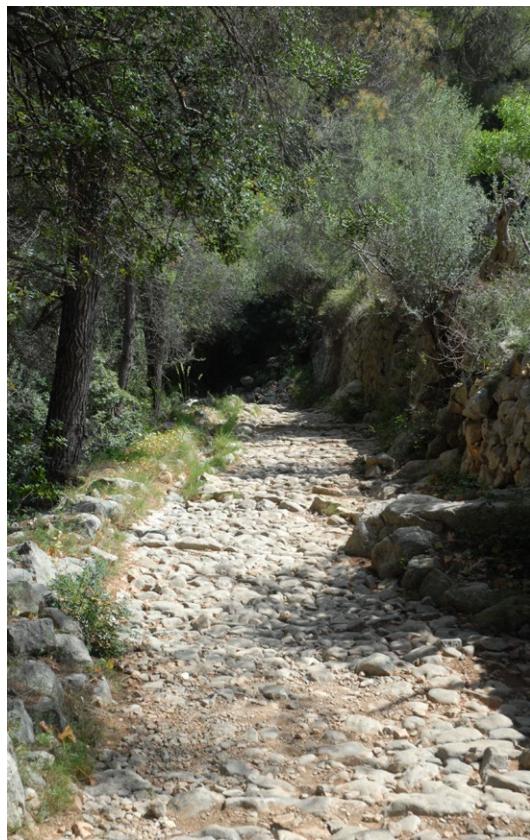
at albuminkorrigert serum kalsium skal kunne rekviseres som en egen analyse og kunne automatisk utgis ved visse oppfylte kriterier:

For primærhelsetjenesten vil albuminkorrigert serum kalsium utgis dersom serum kalsium og serum albumin er rekvrirert sammen, serum albumin < 39 g/L og pasienten er over 18 år.

For sykehusavdelinger og poliklinikker vil serum albumin etterrekvireres på alle rekvisisjoner av serum kalsium. Albuminkorrigert serum kalsium utgis dersom serum albumin < 39 g/L og pasienten er over 18 år.

Hva blir så konsekvensen av å opprette analysen albuminkorrigert kalsium?

Vår pilotstudie har vist at ved å benytte Berrys formel og reglene våre for automatisk utgivelse av



Vandringsstig genom olivlundarna. Foto: Henrik Alfthan.

albuminkorrigert serum kalsium, vil vi redusere antallet falske hypokalsemier med 13 % (*tabell 2*). Om vi summerer alle rekvisisjoner fra 2013 av serum kalsium fra Haukeland universitetssykehus (95 000) og alle rekvisisjoner med serum kalsium og serum albumin fra primærhelsetjenesten (25 000), så vil 13 % tilsvare omkring 16 000 pasienter som potensielt kan spares for en kontroll med fritt kalsium. Opprettelsen av analysen albuminkorrigert serum kalsium vil derfor være et bedre alternativ enn serum kalsium alene som screening av kalsiumstatus, og vil samtidig kunne bidra til å redusere det stadig økende antallet rekvriringer av fritt kalsium.

Diskusjon

Til tross for at vi konstruerte en lokal albuminkorreksjonsformel basert på egne analyseresultater, ga en tidligere etablert albuminkorreksjonsformel en bedre kalsiumklassifisering. Dette har nok multifaktorielle årsaker. Kanskje konstruksjonsmaterialet ikke gjenspeilte en frisk nok populasjon? Eller kanskje våre lokale referanseområder for serum kalsium eller fritt kalsium som lå til grunn for valideringen av formlene ikke er helt korrekt?

Det er både overraskende og bekymringsverdig å se at albuminkorreksjonsformelen til Payne, som er svært utbredt og innarbeidet blant klinikerne, gir en dårligere kalsiumklassifisering enn å benytte ukorrigert serum kalsium. Som tidligere nevnt kan valg av analysemetode, produsent, reagens eller lokale referanseområder ha en stor innvirkning på valg av korrekt albuminkorreksjonsformel. Det er derfor min mening at alle laboratorier som tilbyr analysen albuminkorrigert serum kalsium bør verifisere sin egen albuminkorreksjonsformel.

Referanser:

1. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Brit Med J* 1973;4:643-6.
2. Berry EM, Gupta MM, Turner SJ, Burns RR. Variation in plasma calcium with induced changes in plasma specific gravity, total protein, and albumin. *Brit Med J* 1973;4:640-3.

SIEMENS

A91DX-9247-A1-7600 © 2012 Siemens Healthcare Diagnostics Inc. All rights reserved.



Test smarter.

Siemens answers unite clinical and workflow excellence to help you thrive.

siemens.com/test-smarter

Clinical diagnostic testing is part science and part business. Which means its overall performance depends on how well these two integral parts work together. Siemens Healthcare Diagnostics can make that happen. We offer answers that combine the extensive menu of tests you want with the leading-edge technology you need to run them efficiently. Not only do we deliver assays to support your clinical excellence, we commit all our technical know-how to developing innovative

diagnostic solutions that increase productivity. What's more, we provide the education, services, and support that keep you running at your absolute best. So you can unite and transform both clinical and workflow performance to deliver the highest-quality patient care.

Find out how Siemens helps you work better by working with you. Visit siemens.com/test-smarter.

Answers for life.

Exosomer – nya biomarkörer i klinisk diagnostik

Gunnar Ronquist, professor emeritus, f.d. överläkare,

Avdelningen för Klinisk kemi och Farmakologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala

gunnar.ronquist@akademiska.se



Inledning

Då jag under 1970-talet undersökte prostatavätska (exprimat) från prostatitpatienter fann jag en hög ATPas-aktivitet i denna kroppsvätska och insåg att denna aktivitet måste vara forbunden med ett membranellt system. Jag kom fram till att det rörde sig om ett Mg²⁺ och Ca²⁺-beroende ATPas. Eftersom ATPaser är membranbundna i ett lipoproteinkomplex kunde jag hämma denna aktivitet med detergenter, t ex deoxykolat (DOC), och vidare, visade det sig helt oväntat, kunde denna DOC-hämning upphävas vid tillstsats av concanavalin A (ConA), som är ett lektin (1). Det var känt att ConA kunde binda sig specifikt till glykoproteiner på cellmembranytor innehållande sacharider bestående av mannopyranosyl- och glucopyranosylrester. Nå, hur såg då de membranstrukturer ut, som jag på goda grunder kunde förutsäga fanns i prostatavätskan? Buffert-utspädda exprimatprover fick undergå några differentialcentrifugeringssteg kulminerande i ultracentrifugering under flera timmar, varefter en liten pellet, knappt synlig för blotta ögat, kunde bärgas och prepareras för elektronmikroskopi. Vi kunde då se små rundade vesikler (blåsor) med en diameter av drygt 100 nm men med viss storleksvariation och med mer eller mindre elektrontätt innehåll (Fig.1). Vesiklernas heterogenitet kunde också påvisas med gradientcentrifugering i kolloidal silika (2, 3), sedermera benämnd Percoll, där en huvudfraktion kunde återfinnas tillsammans med åtminstone två mindre fraktioner. Våra olika studier fastslag att vesiklerna hade sitt ursprung i prostatakörtelns acinära celler och 1982 gav vi vesiklerna namnet prostatasomer (4).

Vi noterade att prostatasomerna hade en intracellulär motsvarighet inuti det vi benämnde lagringsvesikler (ekvivalenter till multivesicular bodies, MVB), vilkas membran kunde fusionera med cellens omgivande membran, varefter prostatasomerna kunde frigöras extracellulärt (5) via en frisläppningsmekanism,

som benämns exocytos. Vi misstänkte tidigt att prostatasomerna kunde samspela med spermierna i sadesvätskan, vilkas framåtriktade rörelse gynnades i närvoro av prostatasomer (4, 6). Senare kunde vi också visa, att prostatasomer interagerade med spermier via hydrofob bindning trots att både prostatasomer och spermier uppvisade en nettonegativ ytladning (7). Bland andra observationer som vi gjorde kan nämnas, att prostatasomernas membransammansättning var egenartad (8) och att nukleinsyra var associerad till prostatasomer (9). Vid tidpunkten för den första beskrivningen av vesiklerna i prostatavätska och seminalplasma (prostatasomer) hade vi ingen vetskapp om detta fenomens relevans i andra cellulära system, varför namnet exosom inte övervägdes. De första publikationerna om prostatasomers eventuella generalitet kom 1983 från två olika forskningsgrupper i Nordamerika, där bågge grupper studerade cellbiologiska reaktioner i samband med retikulocyters övergång till mogna röda blodkroppar. Man rapporterade att transferrinreceptorerna, som inte längre behövdes hos de färdiga röda blodkropparna, formligen slängdes ut, extracellulärt, från retikulocyterna associerade till små vesikler (i samma storleksordning som prostatasomer) (10, 11). Fyra år senare fick dessa vesikler namnet exosomer (12) och man trodde att deras uppgift var att vara utkastare av onödigt cellulärt material till det extracellulära rummet och man förbisåg helt möjligheten av dessa vesiklers roll som kommunikatorer mellan celler.

Exosomers funktion

Exosomforskingen fick fart först under de sista åren av 1990-talet samt framförallt under 2000-talet. Startsignalen var ett arbete från Nederländerna 1996 där man visade att B-lymfocyter frisatte antigenpresenterande MHC klass II-berikade vesikler för T-celler med ett förstärkt T-cellsvar som följd (13). Denna rapport resulterade i flera andra som visade exosomfrigörelse från en rad olika typer av celler (14). Ytterligare en publikation, som accentuerade

exosomens cellbiologiska betydelse kom 2006 då man visade att mikrovesikler från embryonala stamceller innehöll mRNA, som kunde överföras till målceller och där ge upphov till nya proteiner (15). Denna rapport följdes av ytterligare en, som visade överföring av både mRNA och mikroRNA (miRNA) till målceller med effekter på deras proteinsyntes (16). Exosomer betraktas idag som en integrerad del i det intercellulära rummet där de fungerar som regulatorer och mediatorer i ett cell-till-cell kommunikativt sammanhang. De finns i samtliga kroppsvätskor och kan fungera som immunomodulatorer med såväl immunsuppressiva som immunaktiviterande effekter och de kan överföra proteiner och nukleinsyrabfragment till mottagarceller. Frisatta exosomer kan således påverka mottagarceller i närområdet eller, efter inträde i en kroppsvätska, nå mer distanse-rade mottagarceller. Det har visat sig att exosomers funktioner är relaterade till deras cellulära ursprung och kan vara mångahanda med influens på: celltillväxt, neuronal signalöverföring, cellrörighet och immunresponsaktivering. Detta illustreras av ovan nämnda exosomer från B-lymfocyter och dendritiska celler, där exosomen förmedlar ett adaptivt

immunsvar gentemot ifrågavarande patogener eller tumörer. Exosomer från tumörer spelar en aktiv roll i tumörbildning, angiogenes, metastasering och terapirespons genom direkt överföring av onkogener och onko-miRNA mellan cancerceller samt mellan cancerceller och tumörstroma. Vad som kan te sig som ännu mera spektakulärt är att exosomer från bröstcancerceller nyligen visades kunna överföra miRNA till normala celler, som därmed stimulerades till att canceromvandlas och friska humana epitheliala celler från bröst började bilda tumörer, då de injiceras i möss som behandlades med cancerexosomer (17). På samma sätt kan man tänka sig att exosomer från friska celler kan ha en positiv effekt på maligna celler, som vi visade redan 2000 i *in vitro*-försök med prostasomtillsats till odlade prostaticancercellinjer, vilkas tillväxt hämmedes (18).

Exosomer i diagnostik

Exosomer frisätts till det extracellulära rummet under både normala och patologiska förhållanden och det kan vara värt att påpeka att det råder enighet om att maligna celler frisläpper fler exosomer än deras normala motsvarigheter. Exosomers innehåll av

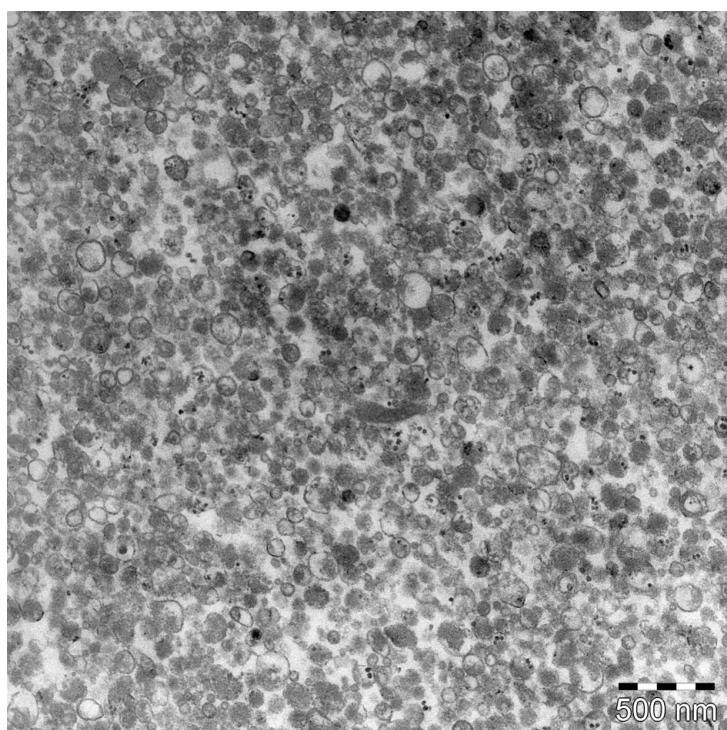


Fig. 1. Transmissionselektronmikroskopbild av seminala prostasomer. Bilden visar membranomgärdade, rundade vesikler med mer eller mindre elektrontätt innehåll, vilka varierar i storlek. Majoriteten prostasomers diameter varierar mellan 40 – 250 nm med en medeldiameter av 142 nm (26).

proteiner och nukleinsyror ger en verklighetstrogen bild av modercellens fysiologiska/patofysiologiska förhållanden, varför det inte är någon överdrift att påstå, att exosomen ger en spegelbild av modercellens tillstånd. Tetraspaniner är en typ av bindarproteiner, som är anrikade i exosomer, vilkas innehåll av tetraspaninproteinet CD63 kunde påvisas i blodplasma i signifikant ökad mängd hos melanompatienter (19). Ytterligare studier har visat att CD63 finns i ökad förekomst i exosomer från cancerceller rent generellt jämfört med motsvarande förekomst från normala celler (20), vilket ger stöd åt tankegången att CD63 skulle kunna vara en cancermarkör. CD81 är ett annat protein, som tillhör tetraspaninfamiljen. Det har visat sig att CD81 är involverat i hepatitis C-virus internaliseringen i celler och man har funnit att serumnivån av exosomalt CD81 är signifikant förhöjd hos patienter med kronisk hepatitis C och en serumnivårelation tycktes föreligga till graden av leverinflammation och fibrosering (21). Vi utvecklade en extremt känslig och specifik assay (4PLA, proximity ligation assay) för just identifiering av komplexa strukturer som prostasomer/exosomer i ett blodprov. Denna assay bygger på infångande av prostasomer med hjälp av en immobilisering antikropp, varefter detektion sker med fyra andra antikroppar som har DNA-strängar bundna till sig. Kravet måste uppfyllas att de sammanlagt 5 antikropparna måste bindas vid samma tillfälle till sin målstruktur (prostasomen), varefter DNA-strängarna kan förenas genom ligation och amplifieras och ge en signal som mäts. Vi fann en signifikant ökad förekomst av prostasomer i blodprov från patienter med prostatacancer innan prostatektomi. Till yttermeravisso såg man de kraftigast förhöjda värdena hos patienter med de högsta Gleasons score-värdena (beräknade efter analys av den borttagna prostatakörteln) avspeglande aggressiv prostatacancer, medan de med lägre Gleasons score-värdena avspeglade indolent prostatacancer uppvisade närmast bakgrundsnivåer beträffande prostasomkoncentration i blodprovet, i paritet med prover från patienter med benign prostatahyperplasi och kontrollpatienter (22).

Det onkogena innehållet i cancer-relaterade exosomer består av bioaktiva molekyler som omfattar DNA-fragment, mRNA och miRNA. Detta sist-nämnda RNA har varit den mest framträdande exosomala biomarkören hittills. Till exempel kunde man visa att 8 st miRNA -profiler för ovariancancer i

vävnadsprov var möjliga att återfinnas i dessa patienters blodprovsexosomer (23). Ett år senare gjordes en liknande studie, denna gång gällande lungcancer, då man jämförde patientblodprovers exosomala miRNA profil med motsvarande profil direkt från själva cancervävnaden med överensstämmende resultat (24). Ett senare japanskt arbete beskriver miRNA vid esofaguscancer. Tanaka och medarbetare rapporterade i nämnda arbete, att exosomalt miRNA 21 är förhöjd i serum från patienter med denna cancerform i jämförelse med patienter med benigna tumörer utan inflammatoriska tecken. Dessutom gjorde författarna observationen att miRNA 21-närvaron korrelerade till tumörutbredningen och dess aggressivitet. Slutligen gjorde författarna påpekatet att miRNA 21 inte kunde påvisas i serumprovet efter det man extraherat exosomerna, något som talade för att exosomalt miRNA 21 är den exklusiva källan till cirkulerande miRNA 21 (25). Dessa studier ger stöd för tankegången, att vävnadsbiopsi skulle kunna ersättas med en "liquid biopsy" efter isolering och rening av cancerexosomer från blodprov. Vi kan således se en framtid, som innebär minskat biopsitagetande från olika organ och vävnader till förmån för det enklare (och sjukvårdsmässigt billigare) och mera patientvänliga blodprovtagandet för diagnostik, prognostik och sjukdomsmonitorering. Det är ingen överdrift att påstå, att exosombaserad analys av blodprover har en stor potential inom rutinsjukvård, icke minst inom cancerdiagnostiken och här kommer inte enbart miRNA-profilen utan också DNA-profilen att vara betydelsefulla.

Referenser

1. Ronquist G, Hedström M. Restoration of detergent-inactivated adenosine triphosphatase activity of human prostatic fluid with concanavalin A. *Biochim Biophys Acta* 1977;483:483-6.
2. Ronquist G, Brody I, Gottfries A, Stegmayr B. An Mg²⁺ and Ca²⁺-stimulated adenosine triphosphatase in human prostatic fluid: part I. *Andrologia* 1978;10:261-72.
3. Ronquist G, Brody I, Gottfries A, Stegmayr B. An Mg²⁺ and Ca²⁺-stimulated adenosine triphosphatase in human prostatic fluid--part II. *Andrologia* 1978;10:427-33.
4. Stegmayr B, Ronquist G. Promotive effect on

- human sperm progressive motility by prostasomes. *Urol Res* 1982;10(5):253-7.
5. Ronquist G, Brody I. The prostasome: its secretion and function in man. *Biochim Biophys Acta* 1985;822:203-18.
 6. Fabiani R, Johansson L, Lundkvist O, Ronquist G. Enhanced recruitment of motile spermatozoa by prostasome inclusion in swim-up medium. *Hum Reprod* 1994;9:1485-9.
 7. Ronquist G, Nilsson BO, Hjerten S. Interaction between prostasomes and spermatozoa from human semen. *Arch Androl* 1990;24:147-57.
 8. Arvidson G, Ronquist G, Wikander G, Ojteg AC. Human prostasome membranes exhibit very high cholesterol/phospholipid ratios yielding high molecular ordering. *Biochim Biophys Acta* 1989;984:167-73.
 9. Olsson I, Ronquist G. Nucleic acid association to human prostasomes. *Arch Androl* 1990;24:1-10.
 10. Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell* 1983;33:967-78.
 11. Harding C, Heuser J, Stahl P. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol* 1983;97:329-39.
 12. Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987;262:9412-20.
 13. Raposo G, Nijman HW, Stoorvogel W, Liejendecker R, Harding CV, Melief CJ, et al. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med* 1996;183:1161-72.
 14. Thery C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature Rev Immunol* 2009;9:581-93.
 15. Ratajczak J, Miekus K, Kucia M, Zhang J, Reca R, Dvorak P, et al. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia* 2006;20:847-56.
 16. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biol* 2007;9:654-9.
 17. Melo SA, Sugimoto H, O'Connell JT, Kato N, Villanueva A, Vidal A, et al. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. *Cancer Cell* 2014;26:707-21.
 18. Carlsson L, Lennartsson L, Nilsson BO, Nilsson S, Ronquist G. Growth-inhibitory effect of prostasomes on prostatic cancer cell lines in culture. *Eur Urol* 2000;38:468-74.
 19. Logozzi M, De Milito A, Lugini L, Borghi M, Calabro L, Spada M, et al. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PloS One* 2009;4:e5219.
 20. Yoshioka Y, Konishi Y, Kosaka N, Katsuda T, Kato T, Ochiya T. Comparative marker analysis of extracellular vesicles in different human cancer types. *J Extracell Vesicles* 2013;2:1-9.
 21. Welker MW, Reichert D, Susser S, Sarrazin C, Martinez Y, Herrmann E, et al. Soluble serum CD81 is elevated in patients with chronic hepatitis C and correlates with alanine aminotransferase serum activity. *PloS One* 2012;7:e30796.
 22. Tavoosidana G, Ronquist G, Darmanis S, Yan J, Carlsson L, Wu D, et al. Multiple recognition assay reveals prostasomes as promising plasma biomarkers for prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:8809-14.
 23. Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110:13-21.
 24. Rabinowits G, Gercel-Taylor C, Day JM, Taylor DD, Kloecker GH. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2009;10:42-6.
 25. Tanaka Y, Kamohara H, Kinoshita K, Kurashige J, Ishimoto T, Iwatsuki M, et al. Clinical impact of serum exosomal microRNA-21 as a clinical biomarker in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2013;119:1159-67.
 26. Ronquist G. Prostasomes are mediators of intercellular communication: from basic research to clinical implications. *J Int Med* 2012;271:400-13.

Doktorgradsavhandling

Essential omega-3 fatty acids in health and disease. Association with total mortality and use of biomarkers in clinical practice

Morten Lindberg

Central Laboratory, Vestfold Hospital Trust, Tønsberg, Norway

Department of Laboratory Medicine, Children's and Women's Health,

Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway

morten.lindberg@siv.no



Morten Lindberg disputerte 31. oktober 2014 for PhD graden ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet i Trondheim. Avhandlingens tittel: Essential Omega-3 Fatty Acids in Health and Disease. Association with Total Mortality and Use of Biomarkers in Clinical Practice. Veiledere: Kristian S. Bjerve og Arne Åsberg

Essential fatty acids

Fat has always been an important source of energy. In 1929 it was demonstrated that rats fed a diet extremely low in fat developed scaly dermatitis, caudal necrosis, weight loss and early death. These symptoms were prevented or reversed when the fatty acid part from lard (rich in omega-6 fatty acids) was added to the diet. In the fifties and sixties, similar symptoms were described in infants and children who received milk substitutes containing little or no fat and in adults dependent on prolonged parenteral nutrition. In adults, the symptoms were resolved by the administration of Intralipid, a soybean-oil based intravenous fat emulsion developed in Sweden by Dr. Arvid Wretlind. By this time, essential fatty acid deficiency was recognized mainly as a deficiency in linoleic acid and its relatives in the omega-6 fatty acid family. It lead to a shift in dietary intakes of fat where saturated and monounsaturated fat were substituted by polyunsaturated fats and oils mainly based on soybean production. During the following decades, it became evident that the increased intake

of omega-6 fatty acids was not solely beneficial. In the mid-eighties, the importance of omega-3 fatty acids for the normal development of the retina and brain was first described in rhesus monkeys. Later, clinical symptoms ascribed to omega-3 deficiency were reported and their importance in human physiology established. Essential fatty acid deficiency per se is restricted to patients on total parenteral nutrition or patients having severe malabsorption syndromes. However, in the following years, a number of physiological functions were attributed to fatty acids and their metabolites.

Fatty acids in health and disease

In addition to the symptoms of essential fatty acid deficiency, both omega-3 and omega-6 fatty acids have been shown to modulate many diseases. More than 40 years ago Bang and Dyerberg described the plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenland Eskimos and introduced a hypothesis to account for the low incidence of coronary heart disease in a population consuming a high-fat, high-cholesterol diet. In the following years, the qualitative difference of plasma fatty acid composition was compared between Greenland Eskimos and Caucasian Danes living in Denmark. It became clear that the main difference was an increased concentration of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in the diet and plasma of Greenland Eskimos. With their observation, Bang and Dyerberg opened a new field of research. Since their first publication in 1971, thousands of scientific reports have contributed to our understanding of how long-chain n-3 fatty acids may modulate a diversity



of conditions and diseases. Although this activity has greatly enhanced our knowledge of the metabolism of fatty acids, there is still a long way to go before we fully understand their influence and action in human physiology.

The thesis

In my thesis, I review current knowledge of essential fatty acids in relation to health effects, physiological actions and molecular mechanisms. The original investigations were performed in two separate populations. The first two papers use fatty acids measurements performed in patients with newly diagnosed type 2 diabetes recruited from the Nord-Trøndelag Health (HUNT) Study, Norway, and their matched controls. The third paper is based on measurements in elderly patients acutely admitted to St Olavs hospital in Trondheim, Norway.

In **paper I** [1], we report long term tracking of plasma phospholipid fatty acid concentrations and their correlation with the dietary intake of marine foods in newly diagnosed diabetic patients. The study provides data for 29 plasma phospholipid (PL) FA concentrations and indices measured in 214 newly diagnosed type 2 diabetic patients at baseline and after 3 years. In measurements 3 years apart, tracking coefficients (Spearman's r) for docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and PLN3-index (EPA + DHA) were 0.60, 0.47 and 0.55, respectively. Fish consumption measured simultaneously with EPA, DHA, sum n-3 and PLN3 index showed Spearman's correlation coefficients of 0.47, 0.44, 0.48 and 0.49, respectively, decreasing to 0.20,

0.19, 0.22 and 0.21 when measured 3 years apart. The within-subject CV of EPA, DHA and PLN3 index were 39.9, 14.3 and 18.0 %, respectively. The corresponding between-subject CV were 33.6, 16.5 and 18.7 %, while the reference change values were 112, 41 and 52 %. We conclude that PL n-3 FA concentrations showed a significant long-term tracking and were positively correlated with marine food intake. Analytical precision, biological variability, reference change value and the index of individuality of EPA, DHA and PLN3 index are similar to commonly used clinical biomarkers, supporting their validity as dietary markers in clinical and epidemiological work.

In **paper II** [2], we investigated the association between plasma phospholipid fatty acid relative concentrations expressed as weight percentage and total mortality in patients with type 2 diabetes. Mortality rates were evaluated at 5, 10, 15 and 20 years in patients with newly diagnosed diabetes ($n=323$) and matched non-diabetic controls ($n=200$). Kaplan-Meier survival curves were constructed and Cox regression analysis was used to calculate hazard ratios (HR) adjusted for biochemical and clinical covariates. After 10 years of follow-up, EPA in the diabetic population was negatively associated with total mortality, with an HR at the fifth quintile of 0.47 (95 % CI 0.25, 0.90) compared with the first quintile. In contrast, DHA was positively associated with total mortality, with an HR at the fifth quintile of 2.87 (95 % CI 1.45, 5.66). Neither EPA nor DHA was associated with total mortality in matched non-

diabetic controls. In conclusion, plasma phospholipid relative concentrations of EPA were negatively associated, while those of DHA were positively associated with total mortality in diabetics. This difference in associations suggests a differential effect of EPA and DHA in patients with type 2 diabetes.

In paper III [3], the relation between long-chain n 3 fatty acids and overall mortality in acutely sick elderly patients was investigated. Frail, elderly patients (n=254) acutely admitted to St Olavs Hospital in central Norway were examined. The plasma phospholipid concentration of EPA was used as a surrogate marker for dietary intake of marine fatty acids. Mortality rates were evaluated after 3 years of follow-up. Cox proportional hazard analysis was used to calculate hazard ratios adjusted for important biochemical and clinical covariates. The hazard ratio of overall mortality was significantly higher in patients with EPA concentrations in the lowest quartile than in patients in the upper 3 quartiles (adjusted hazard ratio: 0.52; 95% CI: 0.35, 0.77). The upper 3 quartiles were not significantly different from one another ($P=0.94$). We conclude that in this population, mortality was inversely and nonlinearly associated with EPA concentrations. Approximately 25% of the population had EPA concentrations below the indicated threshold for maximal protection, suggesting that only this part of the population might have benefited from additional EPA intake.

Further studies

In this thesis, we have documented the association between biomarkers of long-chain n-3 fatty acid dietary intake and mortality in two different patient populations. However, these are merely associations. To demonstrate causal effects, it is necessary to perform randomized clinical trials. Two important observations from the present work could improve future studies. First, information on background diet should be taken into account when allocating patients and analyzing the results. Second, our results suggest that EPA and DHA have different effects. These are fatty acids previously considered equivalent in relation to most clinical endpoints, including mortality. Verification of this observation requires a study design and statistical analysis that allows for this possibility.

The present recommendation to the general population is to increase the dietary intake of long-chain n-3 fatty acids. There is a large industry involved in responding to this demand, and concern has rightfully been expressed because of limited natural resources. In spite of increasing fishing activities, global catches are in decline due to exploited wild fish stock. At present rate of fishing, the world fish population may eventually collapse by 2050. Aquaculture with present procedures and technology is not able to compensate. As fish farms often raise carnivorous fish fed on diets made of meal and oils from smaller fish, the burden on wild stock increases with aquaculture. There are also negative socio-economic consequences in developing countries where an important source of protein is deprived for the sake of the developed world, whose major problems are overnutrition and physical inactivity. As EPA and DHA are produced by plants, algae, yeast and other unicellular organisms, alternatives to fish oils exist and are being developed. Further research is required to obtain sustainable sources of long-chain n-3 fatty acids if current recommendations are to be implemented in large populations.

References

1. Lindberg M, Midtjell K, Bjerve KS. Long-term tracking of plasma phospholipid fatty acid concentrations and their correlation with the dietary intake of marine foods in newly diagnosed diabetic patients: results from a follow-up of the HUNT Study, Norway. *Brit J Nutr* 2013;109:1123-34.
2. Lindberg M, Åsberg A, Midtjell K, Bjerve KS. Plasma phospholipid EPA and DHA are divergently associated with overall mortality in newly diagnosed diabetic patients: results from a follow-up of the Nord-Trøndelag Health (HUNT) Study, Norway. *J Nutr Sci* 2013;2:1-8.
3. Lindberg M, Saltvedt I, Sletvold O, Bjerve KS. Long-chain n-3 fatty acids and mortality in elderly patients. *Am J Clin Nutr* 2008;88:722-9.

*Name: Svetlana R.
Job: Medical Lab Technician
Mission: Guardian Angel*

*Name: XN-9000 DI
Job: Efficient Analysis
Mission: Pathfinder*



XN

XN-SERIEN 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.

Inverkan av hemolys på serumkoncentrationer av insulin

Henni Hartikainen och Annika Joki

Yrkeshögskolan Metropolia, Helsingfors



Inledning

Insulin är ett polypeptidhormon som reglerar kroppens energi-ämnesomsättning. Det utsöndras ur bukspottkörtelns Langerhanska öarnas beta-celler. Höga koncentrationer av glukos i blodet ökar utsöndringen av insulin och låga nivåer hämmar den. Den viktigaste indikationen för bestämning av insulin är diagnosticering av hypoglykemi samt utvärdering av insulinutsöndringen. Ett enstaka insulinresultat har egentligen inget diagnostiskt värde utan responsen utvärderas i samband med olika stimulationstester. Samtidigt bör man också mäta glukoskoncentrationen för att få ett tillförlitligt resultat (1).

Enligt tillverkarna av insulinreagenserna kan man inte analysera hemolyserade prover. Detta beror på att då röda blodkropparna sönderfaller frigörs insulinas, vilket sönderspäljer insulin och sänker felaktigt insulinkoncentrationen (2). Insulinas är ett sinkmetalloprotein, vilket finns i flera olika vävnader, liksom i röda blodkroppar. Enzymet degraderar flera olika patofysiologiskt betydelsefulla extracellulära substrat, däribland insulin och beta-amyloid (3). Enligt andra källor är insulinas inte ett enskilt enzym utan ett samlingsbegrepp för flera olika enzym (4).

I ett flertal tidigare publicerade rapporter har man konstaterat att insulinas bidrar till att sänka insulinkoncentrationen i serumprover (3, 5-7). Forskning kring ämnet är särskilt viktigt på grund av att en ansenlig del av proverna, som anländer till laboratoriet är till olika grad hemolyserade. Ändamålet med denna studie var att klarrätta vilken effekt provets

uppbearingsstid, temperatur och hemolysgrad har på den uppmätta insulinkoncentrationen.

Material och metoder

Serumprovernas insulinkoncentration mättes med en automatisk immunoanalysator (AutoDELFIA®, PerkinElmer Wallac, Åbo). I analysmetoden används två monoklonala antikroppar, vilka är riktade mot olika epitoper på insulinmolekylen. Den ena antikroppen är immobiliseras på en solid fas (inre ytan till en mikrotiterkopp i plast) och den andra antikroppen märkt med ett Europiumkelat. Provet och den märkta antikroppen pipetteras i gropen. Under inkubationen binds insulinmolekylen både till solidfasantikroppen och till den märkta antikroppen och bildar ett så kallat "sandwich"-komplex. Efter inkubationen sköljs överskottet av reagens bort och mätlösning tillsätt i kopparna. Därvid uppstår fluorescens, vilken är proportionerlig till märkt antikropp och insulinkoncentrationen (8).

Hemolysat framställdes utgående från 5 mL EDTA-helblod. Provet centrifugeras, blodplasma avlägsnades och de röda blodkropparna togs tillvara. Till blodkropparna tillsattes 3 mL fysiologisk saltlösning (0.15 mol/L NaCl) varefter provet blandades, centrifugeras och vätskan avlägsnades. Proceduren upprepades tre gånger. Efter sista tvätten ersattes saltlösningen med dejoniserat vatten. Provet hemolyserades genom att frysa det till -20°C. Provet tindades, blandades och centrifugeras. Baslösningarna framställdes genom att späda provet i dejoniserat vatten så att hemoglobinkoncentrationerna var 5, 19 och 150 g/L.

I studien användes två olika serumprover och en serumpool. Till 270 µL serumprov tillsattes 30 µL av en hemoglobinbaslösning. Provernas slutliga hemoglobinkoncentrationer i de prov som analyserade var 0, 0.5, 1.9 och 15 g/L. Proverna inkuberas 0h, 1h, 3h, 24h och 48h vid temperaturerna -20°C, +4°C och +20°C före insulinanalyserna.

Resultat

Av de parametrar som analyserades hade hemolysgraden den största enskilda effekten på insulinkoncentrationerna. Ju starkare provet var hemolyserat desto mera sjönk insulinkoncentrationen (Bild 1a-c). Vid mätningarna gjorda genast efter tillsats av hemolysatet var insulinkoncentrationerna 13% (Hb 0.5 g/L), 19% (Hb 1.9 g/L) och 28% (Hb 15 g/L) lägre än i det ohemolyserade provet.

Effekten av uppbevaringstiden och -temperaturen på insulinkoncentrationen korrelerade starkt till provets hemolysgrad (Bild 2a-d). Vid rumstemperatur (+20°C) minskade även det minst hemolyserade serumprovet (Hb 0.5 g/L) insulinkoncentrationen och sänkningen var desto starkare ju längre tid provet uppbevarades vid rumstemperatur före analysen. Vid +4°C var sänkningen mindre stark och vid -20°C kunde en nedgång endast märkas för det starkast hemolyserade provet (Hb 15 g/L). Insulinkoncentrationen var stabil i de icke hemolyserade proverna i minst 48 timmar.

Efter en timmes inkubation vid rumstemperatur sjönk de hemolyserade serumprovernas insulinkoncentrationer 18% (Hb 0.5 g/L), 27% (Hb 1.9 g/L) och 80% (Hb 15 g/L) i förhållandet till basvärdet. Uppbevaring vid +4°C eller -20°C hade inte nämnvärd effekt på insulinkoncentrationerna.

Efter tre timmars inkubation vid rumstemperatur sjönk de hemolyserade serumprovernas insulinkoncentrationer 20% (Hb 0.5 g/L), 51% (Hb 1.9 g/L) och 98% (Hb 15 g/L). Det mest hemolyserade provet vilket uppbevarades i kylskåp hade 57% lägre insulinkoncentrationer än 0-provet. Insulinkoncentrationerna var stabila vid -20°C.

Uppbevaring i ett och två dygn vid rumstemperatur inverkade tämligen lika på proverna. Efter ett dygn var de hemolyserade provernas insulinkoncentrationer 41% (Hb 0.5 g/L), 92% (Hb 1.9 g/L) och 99% (Hb 15 g/L) lägre än 0-proverna. Även vid -20°C skedde degradering av insulin och motsvarande minskning av koncentrationen var 72%.

Diskussion

Resultaten i denna studie visar att hemolys i serumprover har en betydande effekt på insulinbestämningarnas tillförlitlighet då koncentrationerna är bestämda med AutoDELFIA. Redan ett relativt svagt hemolyserat serumprov (Hb 0.5 g/L) ger ett felaktigt lågt insulinresultat redan efter några timmars upp-

Bild 1a

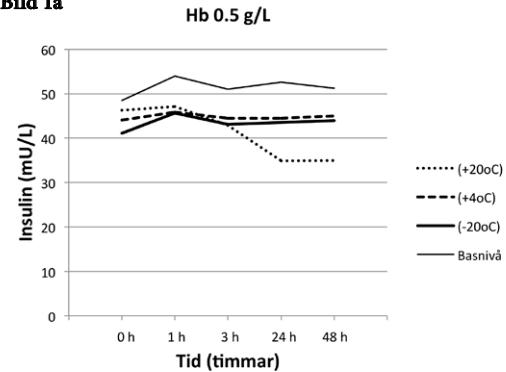


Bild 1b

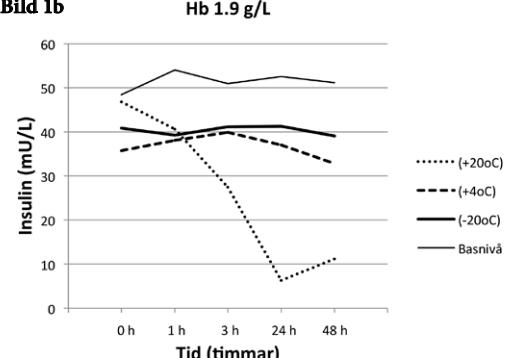


Bild 1c

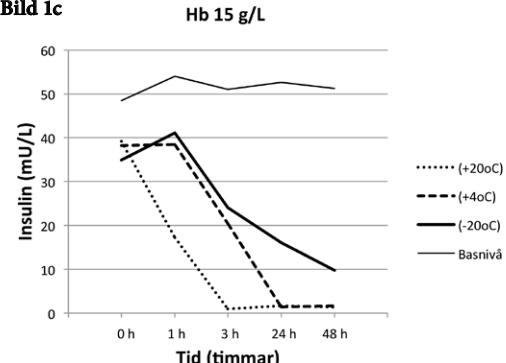


Bild 1a-c. Effekt av inkubationstid på insulinkoncentrationen.

bevaring vid rumstemperatur. Med stor sannolikhet torde hemolys ha en liknande effekt i insulinmetoder även på andra instrument. Det är dock svårt att bedöma hur stor effekten är på grund av att de olika metoderna inte använder samma reagens antikroppar och således har de olika specifitet.

Effekten av hemolys på insulinbestämningen kan endast undvikas genom att använda ohemolyserade

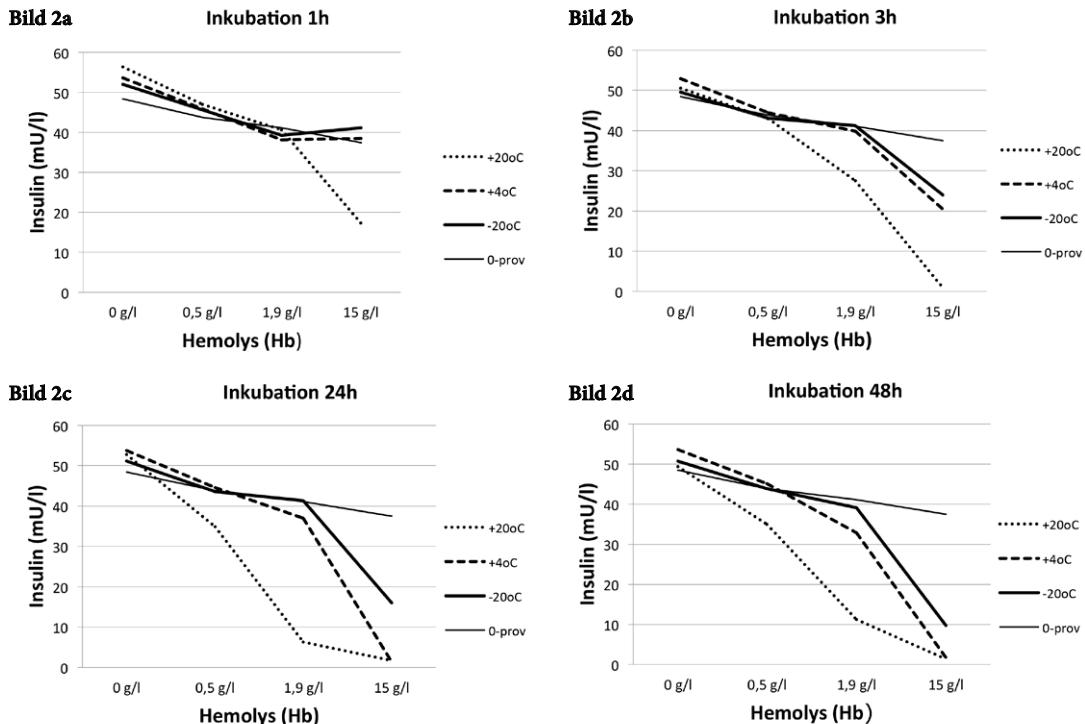


Bild 2a-d. Effekt av hemolysgrad på insulinkoncentrationen.

prover. Att frysar ner provet till -20°C innan bestämmningen hindrar proteasaktiviteten under uppbevaring men degraderingen fortsätter genast då provet har tinats och under de två timmar analysen är i gång på instrumentet.

Denna studie gav en fingervisning om att hemolysade serumprover inte bör användas för insulinbestämningar. Fortsatta studier behövs för att reda ut ett möjligt tröskelvärde för hemolys, då det ännu är möjligt att analysera insulin. En möjlighet värd att utreda är om man kunde kringgå problemet genom tillsats av proteashämmare till serumprovet.

Artikeln är ett examensarbete för bioanalytikerstuderanden vid Yrkeshögskolan Metropolia.

Litteratur

- Pelkonen O, Ruskoaho H, Bardy A. Lääketieteellinen farmakologia ja toksikologia. Kustannus oy Duodecim. 2003;718-9.
- AutoDELFIA® Insulin 2011a. Reagenssert. PerkinElmer Wallac. 1-17.

- Cook P, Glenn C, Armston A. Effect of hemolysis on insulin determination by the Beckman Coulter Unicell DXI 800 immunoassay analyzer. Clin Biochem 2010;43:621-2.
- Miller-Keane 2003. Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health. Seventh Edition.
- Sapin R, Ongagna J-C, Gasser F, Grucker D. Insulin measurements in haemolysed serum: influence of insulinase inhibitors. Clin Chim Acta 1998;274:111-7.
- Chevenne D, Letaillleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of hemolysis on the concentration of insulin in serum determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44:354-356.
- Cantrell J, Hochholzer J, Frings C. Effect of hemolysis on the apparent concentration of insulin in plasma. Clin Chem 1972;18:1423-5.
- Alfthan H. Insuliinimetodens princip. HUSLAB Kvinnoklinikens laboratorium.

Welcome into 2015

We are here to make the world Healthier, Safer and Cleaner

We continue to deliver new unique Allergy and Autoimmunity diagnostic products to the market.

These 3 are ready for you to order ...

ImmunoCAP Alpha Gal

The unbelievable new allergen test – resolving mammalian meat allergy

- Galactose-alpha-1-3-galactose
- Allergen code o215

EliA Calprotectin 2

First-line test to rule out an Intestine Inflammatory process

New Updated test:

- Highest measuring range; up to 6000 mg/kg
- Improved reproducibility and extraction stability
- High clinical sensitivity

As all other EliA markers; fully automated random access

ImmunoCAP Tryptase – Update

For evaluation of mastcell activation (eg. Allergic reactions, Mastocytosis)

New Updated test:

- Elimination of heterophilic antibody interference
- Unique recombinant Tryptase calibrator
- Extended documentation

www.thermoscientific.com/phadia

Denmark

Tel: + 45 70 23 33 06

info-dk.idd@thermofisher.com

Finland

Tel: +358 9 3291 0110

info-fi.idd@thermofisher.com

Norway

Tel: +47 21 67 32 80

no.idd@thermofisher.com

Sweden

Tel: +46 18 16 60 60

info-se.idd@thermofisher.com

Bönbok för sjöfarare

Johan Bjerner

Per Simonssons senaste verk ligger på mitt skrivbord: "Bönbok för sjöfarare".

Per Simonsson är klinisk kemist och tidigare redaktör för KBN. I själen är han sjöfarare. En sjöfarare är en som färdas på havet. Sjöfararen lägger inte nät om kvällen och sover heller inte i sängen hemma vid. När sjöfararen reser har han ett mål, och sjöfararen är sjöfarare också när han inte seglar. Sjöfararen har oron i blodet, och måste ut igen.

Jag minns vad min käresta sa:

Jag kan se när havet kallar dig.

Jag kan se det i din blick.

När du bara måste ut.

När ingenting kan stoppa dig.

I Norge är sjöfart ett yrke; 75 meter båt med grus skall skeppas till Sydamerika. Grusbåtschaufförerna är inga äkta sjöfarare, deras båtar är stora och tunga, och vågorna och stormarna har ingen makt över dem. Grusbåtschauffören är trygg på havet, och den trånga hamnen det han fruktar mest. Sjöfararen däremot är utlämnad till de högre makterna, i sin lilla båt måste han måste söka lä för stormen, han måste tejpa fast ledningen till startmotorn, binda fast sig med lina, och ingen löser av honom när han behöver sova. Sjöfararen reser mellan de trygga hamnarna över det farliga havet.

Ensamsegling:

Var inte rädd!

Jag kan!

Jag har gjort det!

skriver Simonsson två gånger i boken. Innan resan och efter.

Varför en bönbok? Tja, varför inte? "Bönbok för sjöfarare" knyter an till en lång och kanske bortglömd tradition av pilgrimslitteratur. Pilgrimen beskriver sina upplevelser under pilgrimsfärdens, och hur dessa upplevelser för honom närmare Gud. Jag läser "Bönbok för sjöfarare" och sonen sitter vid samma bord och äter soppan. Så säger sonen: Det är olja på soppan! Och plötsligt minns jag det, stället i "En rysk pilgrims

berättelser", när pilgrimen trött av vandring och strapatser blir serverad kålsoppa i ett munkkloster. Och det är olja på soppan! Gud måste ha hört pilgrimen i hans nöd och placerat denna soppa på hans väg.

Sjöresan i "Bönbok för sjöfarare" är alltså en pilgrimsresa. Pilgrimen Simonsson lägger ut på sin ensamsegling från hamnen i Malmö. Jag kan! Jag har gjort det! säger Simonsson och förlitar sig därmed på sina seglingsfärdigheter. Under resans gång når han insikten:

*Det tog mig 47 år att förstå en enda fras
fyra stavelsar
tre ord
"Ske din vilja"*

Till resans mål, Santiago de Compostela kommer Simonsson, återigen med ett "Jag kan! Jag har gjort det". Nu är innebördens dock en annan:

*Ditt beskydd
Din hand jag sakta, sakta lär mig vila i
Som jag på berget sjöng min glada luffarsalm*

Den hemvändande Simonsson säger alltså: Jag kan förlita mig på Dig! Jag har gjort det! Fader i Dina händer lämnar jag min ande.

"Bönbok för sjöfarare" är alltså pilgrimslitteratur. Simonsson är pilgrim, och som i pilgrimslitteraturen är han ensam med Gud, en upplevelse han delar med de andra pilgrimerna som också är ensamma med sin Gud. I alla hamnar och skyddade vikar träffas de, alla de som sökt ensamheten. Ingen har väl formulerat detta utanförskap så precist som Gunnar Ekelöf: Jag bor i en annan värld men du bor ju i samma. Med det menar Ekelöf att de djupt personliga upplevelser och minnen han har också har betydelse för och kan delas av andra. Ekelöf skriver också: Det som är botten i dig är också botten i andra. Simonssons pilgrimer förstår att deras inre upplevelser av ensamseglatserna är viktiga för de andra pilgrimerna, och Simonsson förstår att hans egna högst privata minnen motsvaras av läsarnas egna lika privata minnen.

Men "Bönbok för sjöfarare" är mer än pilgrimslitatur. Simonsson har läst sina klassiker. Eller inte? Är han medveten om att han knyter an till antiken och klassikerna eller delar de bara samma frågor och bristen på svar? Ingrid Ekelöf beskrev sin man Gunnar som en stor lurvig hund som skapade litteratur av det som hade fastnat i pälsen under resorna. Jag menar inte att Simonsson är en lurvig hund, men kanske återvänder han från sin resa med båten full av 30 CD-skivor (Silberlinge?), plastgafflar, ostronskal och toalettpapper från Lidl, och dessa föremål ger ny gestaltning åt antikens klassiker. Har Simonsson läst Odysseus eller bara mött honom i en vik i Biscayabukten? Och spelar det egentligen någon roll? Hjalmar Gullbergs egyptiska häger från dödsriket landar i alla fall på en påle i Cuxhaven:

*Men av alla hägrar jag sett
& i Friesland var det rätt många
stod de alltid på pollare & pinnar
skådande över sina riken som icke är*

Jag lägger tillbaka "Bönbok för sjöfarare" på mitt skrivbord. Sätter på Fartein Valens "Kirkegården ved havet. Mörk musik om Gud och havet". Läser också texten till, denna av Verlaine:

*Le vent se lèvel! . . . il faut tenter de vivre!
L'air immense ouvre et referme mon livre
Det blåser upp, och vi måste försöka fortsätta att leva
Den oändliga himmelen öppnar och sluter så min bok*

Boken är tryckt på ett portugisiskt förlag: Ed. Fabula Urbis, Lisboa, 2014. Boken beställs därmed enklast från författaren. Jag nämnde för författaren hur de populära färgglada litografier som den norska konstnären Ferdinand Finne en gång lät trycka i Portugal fortsatte att strömma ut från det portugisiska tryckeriet i ökande upplagor också efter Finnes död. Simonsson är alltså nu informerad om denna risk.



Blommande körsbärsträd (*Prunus* sp.). Foto: Henrik Alfthan.

Til manuskriptfattere

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil. Dersom artikelen har mer en syv forfattere listes de seks første etterfulgt av "et al". Forfatters navn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skiller ved komma og punktum settes etter siste forfatters initialer evt. etter "et al". Punktum brukes også etter tittel på artikkelen. Journalnavn forkortes som angitt i Pubmed, liste over forkortelser finnes i LinkOut Journals. Etter journalforkortelsen følger et mellomrom, årstall for publikasjonen, et semikolon, volum nummer, et kolon og sidetall. Overflødige sidetall fjernes, som vist i eksempelet 1989;49:483-88. Personlige meddelelser (inkludert fullt navn og årstall) og produkt informasjon skal ikke stå i referanselisten men refereres i manuskriptteksten.

Eksempler

Journal artikkel med inntil syv forfattere:

- Vermeersch P, Mariën G, Bossuyt X. A case of pseudoparaproteinemia on capillary zone electrophoresis caused by geloplasma. *Clin Chem* 2006;52:2309-11.

Journal artikkel med mer enn syv forfattere:

- Fiechtner M, Ramp J, England B, Knudson MA, Little RR, England JD, et al. Affinity binding assay of glycohemoglobin by two-dimensional centrifugation referenced to hemoglobin Alc. *Clin Chem* 1992;38:2372-9.

Abstrakt:

- Hortin GL, King C, Kopp J. Quantification of rhesus monkey albumin with assays for human microalbumin [Abstract]. *Clin Chem* 2000;46:A140-1.

Bok kapitler:

- Rifai N, Warnick GR. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th Ed. St. Louis: Elsevier Saunders 2006:903-81.

PhD teser:

- Haughton MA. Immunonephelometric measurement of vitamin D binding protein [MAppSci thesis]. Sydney, Australia: University of Technology, 1989:87pp.

On-line publisert artikkel som ennå ikke er trykt:

- Milbury CA, Li J, Makrigiorgos GM. PCR-based methods for the enrichment of minority alleles and mutations. [Epub ahead of print] *Clin Chem* February 6, 2009 as doi:10.1373/clinchem.2008.113035.

Supplement:

- Castelli WP. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1996;124 Suppl:S1-9.

Internett kilde:

- American Association for Clinical Chemistry. AACC continuing education. <http://www.aacc.org/development/ce/pages/default.aspx#> (Tilgjengelig Mars 2012).

Se også NFKK's og KBN's hjemmeside: www.nfkk.org

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

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

Det nåværende styre består av: Henrik Jørgensen (København), Line Rode (København), Tuula Metso (Helsingfors), Tommi Vaskivuo (Uleåborg), Ísleifur Ólafsson (Reykjavík), Ingunn Þorsteinsdóttir (Reykjavík), Tor-Arne Hagve (Oslo), Yngve Thomas Bliksrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås) og Mattias Aldrimer (Falun), Lutz Schwettmann (Oslo).

Ordførande: Yngve Thomas Bliksrud (Oslo).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Ingunn Þorsteinsdóttir · Tryk: Clausen Grafisk

Danmark

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

Norge

Overlege Helle Borgström Hager
Sentrallaboratoriet
Sykehuset i Vestfold, Postboks 2168
3003 Tønsberg
Telefon: +47 33 34 30 53
helle.hager@siv.no

Island

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

Sverige

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

Finland

Sjukhuskemist Henrik Alftan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB/Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
henrik.alftan@hus.fi

NFKK

Overlege Yngve Thomas Bliksrud
Avdeling for medisinsk biokjemi
Oslo universitetssykehus HF
Rikshospitalet
Postboks 4950 Nydalen 0424 Oslo
Telefon: +47 23 07 41 13
yngve.thomas.bliksrud@ous-hf.no



Från vänster kring bordet Helle, Linda, Henrik, Anders, Ingunn och Yngve.

Good News: You're automating your lab. Best News: We've done it 1295 times.

Siemens has the most experience turning complexity into efficiency.

siemens.com/automation-leader

The challenges of automating a laboratory, whether for the first time or the third, can be formidable. So having a partner with extensive experience can be the key to achieving your goals. Perhaps that's why more laboratories around the world rely on Siemens for total laboratory automation than any other company.

How does Siemens do something so complex so well? We bring expertise to every phase of your project. For example, our Lean Healthcare-accredited workflow consultants can apply best practices and leverage Siemens' proprietary database of rules to streamline operations. Our teams are equipped with time-tested analytical tools to set achievable benchmarks for throughput, TAT, staffing, and resource utilization.

And by performing periodic, data-driven evaluations, we can help you continually improve productivity throughout years of partnership.

Siemens is the only single-source provider able to connect all four key laboratory disciplines—chemistry, immunoassay, hematology, and hemostasis—to the automation track. Working with one vendor can help reduce interoperability issues to ensure a more integrated and efficient overall solution.

Laboratory automation can be complex, but having completed more than 1295 track-based automation projects, we can put your mind at ease and help you achieve your goals. And that is very good news indeed.

Get more good news at siemens.com/automation-leader.

Answers for life.

