

Klinisk Biokemi i Norden

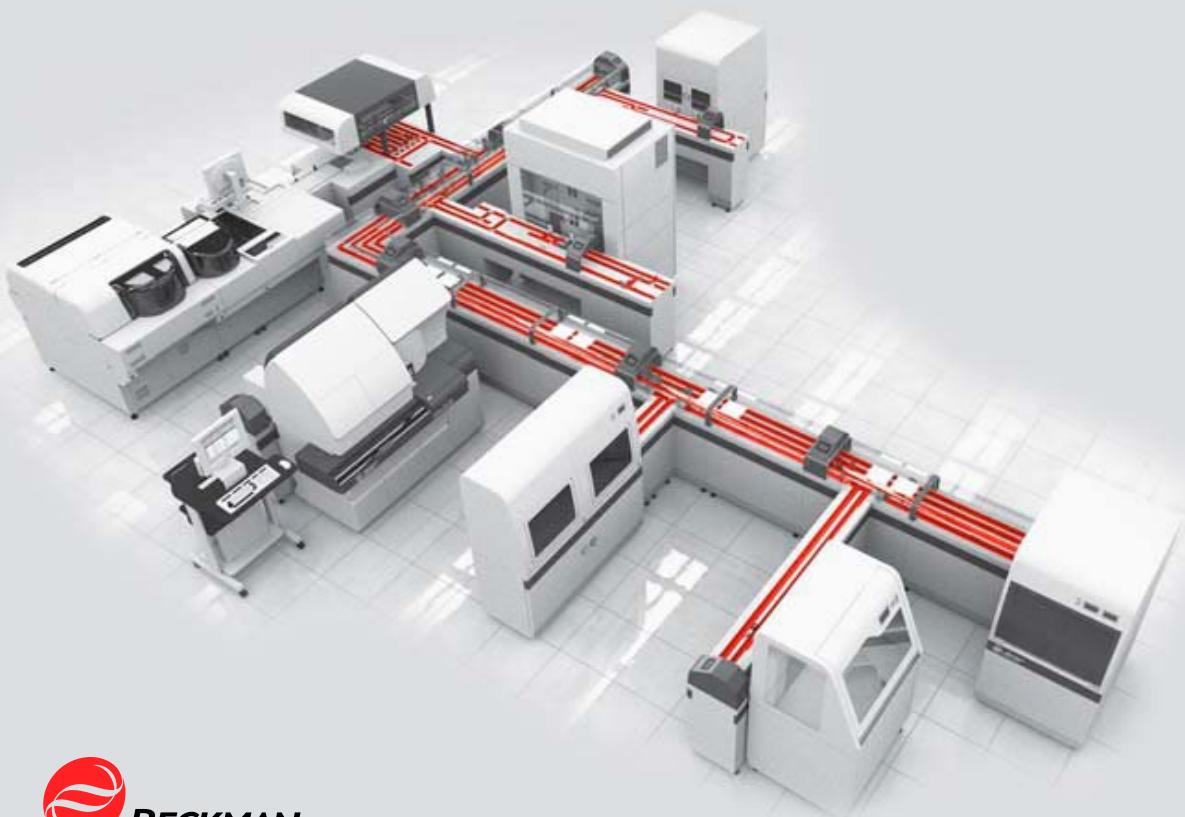


POWER EXPRESS

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>Anders Larsson</i>	
Ordförandespalt	6
<i>Yngve Thomas Bliksrød</i>	
Snø, stamp og sexy titler	7
<i>Joakim Eikeland, Unni Marie Skålvik</i>	
Nordic Congress in Clinical Chemistry / Biochemistry 2016 in Odense, Denmark, June 14-17	10
<i>Ivan Brändslund</i>	
Stability of samples, during transport from General Practices based on pre-analytical goals	12
<i>Erling Birkemose, Esther Jensen, Per Grinsted, Ivan Brändslund, Flemming Østerby</i>	
Basofili – og hva så?	22
<i>Helle Borgstrøm Hager</i>	
TMA, TTP, HUS – likheter och olikheter	30
<i>Ola Samuelsson</i>	
Præcisionsmedicin – ikke lige om hjørnet	36
<i>Jonna Skov Madsen, Ivan Brändslund</i>	
Diagnostic Samples: From the patient to the laboratory	39
<i>Anders Larsson</i>	
Fria lätta kedjor i spinalvätska kan på sikt ersätta analys av oligoklonala band i cerebrospinalvätska	40
<i>Anders Larsson</i>	
Avhandling: Hjärtinfarktdiagnosen kan födröjas på grund av autoantikroppar i blodet	44
<i>Tanja Savukoski</i>	
Den kliniska kemins syskonskap får sig en internationell validering	46
<i>Per Simonsson</i>	
Litteraturhänvisningar	50
Info om NFKK och redaktionen	51
<i>Omslagsbild: Odense Koncerthus.</i>	

Klinisk Biokemi i Norden er medlemsblad for Nordisk Forening for Klinisk Kemi

The times They are A-Changing

Anders Larsson



Det är nu lite drygt 50 år sedan Bob Dylan för första gången sjöng låten "The Times They Are A-Changin'" (1). Ser man tillbaka så måste man säga att det är oerört mycket som har ändrats under dessa 50 år. För 50 år sedan så körde vi mindre än 10 kaliumanalyser per dag och det tog en hel dag för en BMA att utföra analyserna av dessa 10 prover. Om det låter konstigt så var under samma tid också state-of-the-art hjärtinfarktsbehandling att lägga patienten i säng i 6 veckor och man matades med sked och hade bäcken för att inte anstränga hjärtat genom att äta själv eller gå på toaletten. I dag försöker vi få upp hjärtinfarktpatienterna så snabbt som möjligt för att förbättra prognosen för dessa patienter. Under 60-talet kom de första kemianalysatorerna till de svenska laboratorierna. Då använde man sig av hinkar när man fyllde på reagens och idag tar vi fram reagenskassetter som rymmer några 10-tals milliliter. För några år sedan skulle vi utvärdera en ELISA och började läsa metodbeskrivningen som medföljde kitet. Där stod det att flaskan med tvättkoncentrat skulle spädas med 12 liter vatten! Jag tittade runt i våra skåp för att se om vi hade något som rymde minst 12 liter, men hittade ingenting större än 5 liter. Mjölkspannarna/reagens-hinkarna hade för länge sedan pensionerats. Mycket har förändrats i sjukvården under de senaste 50 åren!

Som sagt det är inte bara här på laboratorierna som det skett stora förändringar utan även inom övriga sjukvården. Det är därför kanske inte så konstigt att det finns en hel del publikationer som citerar Bob Dylans låt "The Times They Are A-Changin'". Det kom nyligen en artikel i British Medical Journal där man uppmärksammat användningen av Dylans sånger i vetenskapliga publikationer (2). Enligt denna artikel så var de två mest citerade sångerna "The Times They Are A-Changin'" med 135 citeringar och "Blowin in the Wind" med 36 citeringar (1, 3). Det fanns också titlar med varianter på Dylans sånger som Knockin' on pollen's door: live cell imaging of early polarization events in germinating Arabidopsis pollen.

Vi kan nog förvänta oss att vi kommer fortsätta att citera Dylans sånger även i framtiden för påståendet "The Times They Are A-Changin'" kommer nog gälla

även under de närmaste årtiondena. Jag förväntar mig dels att det börjar bli lite mer fart på DNA- och RNA-analyserna. Visst, de ökar procentuellt snabbare än många andra analyser, men totalantalet är fortfarande väldigt lågt. Ett annat område som jag hoppas på är CNS-relaterade markörer. Det är ett jätteområde som vi knappat har berört ännu så länge. Man tycker t.ex. att det borde vara möjligt att hitta biomarkörer för kronisk smärta. Det är ett område som kostar mycket pengar, man räknar med att kostnaden för kronisk smärta i Sverige närmar sig 100 miljarder kronor om året. Utan något sätt att kvantifiera smärtan är det lätt att nedprioritera dessa patienter. Eller för att citera Dylan: Do you understand my pain (4)?

Den CNS-markör som är den mest aktuella är nog S100B vid misstänkt skallskada. Vi presenterade de nordiska rekommendationerna under 2015 i KBN (5) och det verkar som det är fler och fler laboratorier som sätter upp metoder för att mäta S100B. Detta har i sin tur medfört att Equalis precis har påbörjat ett externt kvalitetssäkringsprogram för S100B vilket innebär att vi har möjligheter att få en extern kvalitetssäkring av analyserna. Det är positivt att kvalitetssäkringsorganisationerna är villiga att satsa på nya analyser som är under utveckling och inte bara hålla sig till de gamla klassiska analyserna där man har stora volymer och många laboratorier som utför analyserna.

Referenser

1. Dylan B. The Times They Are A-Changin. 26 oktober 1963.
2. Gornitzki C, Larsson A, Fadeel B. Freewheelin' scientists: citing Bob Dylan in the biomedical literature. BMJ 2015;351:h6505
3. Dylan B. Blowin in the Wind. 16 april 1962.
4. Dylan B. Is Your Love In Vain? 28 februari 1978
5. Knut Wester, Kristin Lilleholt, Linda Hilsted, Anders Larsson, Johan Undén. New Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults – implications for clinical laboratories. Klinisk Biokemi I Norden, 2015;27(2):12-5. (<http://www.nfkk.org/images/kbn/pdf/kkn2015-2.pdf>)

WHAT IS THE COST OF MISDIAGNOSIS ?

RANDOX
REAGENTS

Delivering the most sensitive and specific tests to aid a more informed diagnosis

Acetaminophen	Glutamate
Acid Phosphatase	Glutamine
APTT	Glutathione Peroxidase
Adiponectin	Glutathione Reductase
Albumin	Glycerol
Aldolase	Hemoglobin
Alkaline Phosphatase	Haptoglobin
Alpha-I-Acid Glycoprotein	HbA1c
Alpha-I-Antitrypsin	HDL Cholesterol
ALT	H-FABP
Ammonia	Homocysteine
Amylase	D-3-Hydroxybutyrate
Antistreptolysin-O	IgA
Antithrombin III	IgE
Apolipoprotein A-I	IgG
Apolipoprotein A-II	IgM
Apolipoprotein B	Iron
Apolipoprotein C-II	Iron/ UIBC
Apolipoprotein C-III	Lactate
Apolipoprotein E	Lactate Dehydrogenase
AST	LDL Cholesterol
Barbiturates	Lipase
Benzodiazepines	Lipoprotein (a)
β_2 Microglobulin	Lithium
Bile Acids	Magnesium
Bilirubin (Total/ Direct)	Methadone
Calcium	Methamphetamine
Cannabinoids	Microalbumin
Carbamazepine	Myoglobin
Ceruloplasmin	NEFA
Chloride	Opiates
Cholesterol	Pancreatic Amylase
Cholinesterase	Phenobarbital
CK-MB	Phenytoin
CK-NAC	Phosphorus
CO ₂ Total	Potassium
Cocaine Metabolite	Pregnancy Test
Complement C3	Prothrombin Time
Complement C4	Rheumatoid Factor
Copper	Salicylate
Creatinine	sLDL Cholesterol
CRP	Sodium
Canine CRP	Superoxide Dismutase
Full Range CRP	Syphilis
High Sensitivity CRP	Theophylline
Cystatin C	Thrombin Time
Digoxin	Total Iron Binding Capacity
Ecstasy	Total Antioxidant Status
EDDP	Total Protein
Ethanol	Transferrin
Fibrinogen	Transthyretin (Prealbumin)
Ferritin	Triglycerides
Fructosamine	TxB ₂ Cardio™ (11dhTxB ₂)
G-6-PDH	Urea
Gamma GT	Uric Acid
Gentamicin	Urinary Protein
GLDH	Valproic Acid
Glucose	Zinc

Available on most automated biochemistry analysers

+44 (0) 28 9442 2413

www.randox.com/reagents

reagents@randox.com



Not all products are available for diagnostic use in all countries. Contact us for more information.



Ordförandespalt

Yngve Thomas Bliksrud



I den norske avisen Aftenposten 2/1-16 reflekterer direktoren for Næringslivets Hovedorganisasjon (NHO), Kristin Skogen Lund over fremtiden for norske arbeidstagere (<http://www.aftenposten.no/okonomi/NHO-direktoren-Norge-er-ikke-flinkest-i-klassen-8300258.html>). Samfunnet er ikke forberedt på graden av automatisering som vil finne sted på mange områder i arbeidslivet, mener hun. Roboter får stadig høyere kognitiv intelligens og vil kunne overta flere og mer avanserte oppgaver. «Tidligere ble rutinearbeid og manuelt arbeid erstattet av roboter, nå vil flere tenkende og kognitive arbeidsoppgaver også kunne erstattes.» hevder Skogen Lund og mener at dette også gjelder legenes arbeid. Hun fortsetter: «Det er mye vi ikke kan tenke oss ennå, men det finnes sikkert snart en maskin der du kan stikke fingeren inn og få en diagnose, som er langt mer presis enn den du får hos fastlegen»

Skogen Lund har selvsagt rett, mye vil endre seg fremover på grunn av den hurtige teknologiske utviklingen som vi bare har sett starten på. Jeg har tidligere i denne spalten pekt på de store mulighetene som ligger i vår tid for faget klinisk biokjemi, ved å kunne beskrive pasienter med et stort antall markører i stedet for noen få. Det som kan kalles en multiomics-tilnærming til pasienten. (Ordförandespalt KBN nr 3



Viperasnok (*Natrix maura*). Foto: Henrik Alfthan.

Vol 27 2015). Jeg tror altså Skogen Lund har et viktig poeng; vi må omstille oss til den nye virkeligheten, våre arbeidsoppgaver kommer til å endre seg.

Men jeg synes også at Skogen Lunds eksempel avslører en litt naiv tro på teknologien. Hun venter altså at det snart finnes en maskin som utkonkurrerer fastleggen som diagnostiker. Men det. Det finnes jo allerede masse markører som gir et mer presist svar enn det man kan få uten kvantitative målinger. En lege kan få klinisk mistanke om at en pasient lider av hypertyreose, en måling av TSH og fritt T4 vil kunne slå det sikkert fast, for å nevne et eksempel. Så rekvirerer da også fastlegen tyroideaparametere, når det trengs, på god indikasjon. Gode indikasjoner er å anbefale før man mäter noe som helst, det endrer seg ikke. All informasjon, også biokjemiske parametere, må dessuten tolkes i en detaljert kontekst. Antar Skogen Lund rett og slett at informasjonen som ligger i selve møtet mellom pasient og lege enten er uvesentlig eller kan erstattes av noe som kan måles i fingertuppen? Begge deler er feil. Møter mellom mennesker er flerdimensjonale, en lege vil raskt, og helt uten målinger, få et viktig førsteinntrykk av hvor syk pasienten er, hvilken sinnsstemning pasienten er i og så videre. Etter en liten prat vil legen vite mye om problemer av mange slag, ikke bare tegn på infeksjon eller hjerte-karsykdom, men også sosiale og psykologiske problemer. Vil pasienter noen gang få en fullverdig bipsykososial vurdering av sin livssituasjon ved å stikke fingeren inn i en ny og flott datamaskin? Jeg tviler.

Vi blir vel alle imponerte av de ekspanderende teknologiske mulighetene vi ser rundt oss, og det er det grunn til. Men det er også grunn til å holde hodet kaldt slik det kan tyde på i Jonna Skov Madsen og Ivan Brandslunds inntrykk fra Personalized Medicine World Congress (januar 2016) i Silicon Valley (se side 36 i dette nummer av KBN). En legeoppgave i fremtiden vil kunne være å forholde seg edrueelig til informasjonsstrømmen, forhindre målehysteri og overtolkning av biokjemiske data og å berolige pasienter, som har stukket alt de har av fingre inn i Skogen Lunds diagnosemaskin, med at avvikene kanskje ikke betyr noe vesentlig allikevel.

Snø, stamp og sexy titler

Joakim Eikeland¹, Unni Marie Skålsvik²

¹Avdeling for Medisinsk biokjemi, Rikshospitalet, Oslo Universitetssykehus

²Avdeling for laboratoriemedisin Nordlandssykehuset, Bodø

joaeik@ous-hf.no



Det er vanskelig å skrive gode artikler. Dette er noe alle som skal beskrive egne forsøk i et seriøst tidskrift sannsynligvis vil erfare. En kjent frase fra nybegynnere opp gjennom tiden heter «Forsøket mitt er ferdig, det er bare skrivingen som gjenstår ...». Det finnes selvfølgelig egne artikler, i seriøse tidsskrifter, om hvordan man skriver gode artikler, men siden 2008 har SJCLI arrangert et eget skrivekurs kalt «The Arctic Experience» med finansiering fra Nordisk Forening for Klinisk biokjemi (NFKK) og SJCLI. Kurset holdes på Finse, et lite sted på høyfjellet i Norge midt mellom Oslo og Bergen hvor deler av Star Wars episode V ble spilt inn i 1980. I filmen er Finse bedre kjent som isplaneten Hoth.

Det overordnede målet med skrivekurset er å få cirka 20 skandinaver som jobber med klinisk biokjemi til å skrive gode artikler. Deltagerne er relativt unge eller ferske forskere som planlegger eller nettopp har begynt å skrive sin første artikkel. De kom denne gang stort sett fra Norge og Danmark. Det var deltagere fra forskjellige profesjoner, i hovedsak leger i spesialisering i klinisk biokjemi, kliniske biokjemikere og bioingenører.

Fremgangsmåten for å nå målet var korte foredrag knyttet til de forskjellige delene en artikkelen består av, flernasjonalt gruppearbeid og sosiale aktiviteter som badestamp og hundesledekjøring.

(Denne introduksjonen er forøvrig skrevet etter kjegleprinsippet, det vil si et av de anbefalte formatene å skrive en introduksjon på, med kortere avsnitt jo lengre ned du kommer i teksten.)

Planlegging

På forhånd utførte kvalitetsberegninger tilsa at kursets deltakerantall burde være n=20. Inkludering skulle skje ved hjelp av informasjon i «Klinisk Biokemi i Norden» samt det noe omdiskuterte virkemiddlet «jungeltelegrafen». Allerede i 2014 på det norske Vårmøtet i Tromsø startet forarbeidet. Engasjerte kursledere hadde da mulighet til å promotere kurset overfor nyansatte uopplyste leger uten kjennskap til hverken skrivekurs eller SJCLI. De nyansatte kunne dermed med entusiasme spre ordet videre til andre uopplyste kollegaer.

Kurset hadde hovedsakelig to intensjoner. Den offisielt viktigste er å lære deltakerne god artikkel-skrivingskultur. Dette skulle skje i små grupper ved å bearbeide et forsøk som var utført på forhånd. Hver gruppe skulle i løpet av kurset produsere en artikkelen basert på dette, og kvaliteten skulle sikres ved hjelp av gruppevis veiledning samt korte plenumsforedrag.

Den andre, noe mer skjulte intensjonen er av sosial karakter. Klinisk biokjemi er et faglig lite miljø, og som deltakerne tidlig ble gjort oppmerksomme på er alle i samme lille familie, og videre fruktbarhet og rekruttering sees på som meget viktig.

Måloppnåelse ble planlagt evaluert på bakgrunn av kvalitet på produsert artikkelen, antall siteringer av denne i fremtiden, samt antall latterbrøl, e-post-adresse/telefonnummer-utvekslinger, positive twitt-ringer og facebook-oppdateringer.

I praksis

Det ble tilslutt etter nøye seleksjon inkludert n=17 deltakere fra henholdsvis Norge og Danmark. En svensk deltaker var påmeldt, men trakk seg av ukjent grunn etter at Norge hadde vunnet 12 av 16 førsteplasser i Tour de Ski. Kurslederne delte ut bakgrunnsmaterialet på togene fra Oslo og Bergen, og de unge padawans (Star Warsk for lærling) prioriterte på det tidspunktet å lese nøye gjennom dette, fremfor å nytte utsikten fra togvinduene eller delta i sosialisering. Ved ankomst hotellet «Finse 1222» fortsatte kurset med en kort introduksjon før deltakerne ble delt i fire grupper, minst to forskjellige nasjonaliteter i hver.

Neste dag arbeidet samtlige grupper flittig. Noen vurderte sågar å korte inn lunsjen, mens andre prioriterte en liten sightseeing ute i snøen. Dagens harde arbeid ble godt belønnet med bading i stamp (norsk utendørs minibasseng) ledsaget av noen dråper akkevitt og medbrakt dansk eliksir. Temperaturmålinger viste 43 grader celcius og deltakerne prøvde seg derfor periodevis på nedkjøling i snøen. Dessverre var det skaresnø på Finse, og man måtte benytte seg av negler og rå kraft for å få lagt igjen avtrykk (engler) i snøen. Median tilbrakt tid i stamp var 29 minutter, minimumstid 0 minutter og maksimal tid (outlier/rekord) var 3 timer, noe som igjen ble funnet å korrelere positivt med antall skrukkete fingre og tær.

Referentene (rekordinnehaverne) ønsker i en fot-

note å påpeke at de etter avsluttet stamping anså seg selv som rene nok, og dermed ikke var ansvarlige for bråk fra stampen etter midnatt, ei heller for tapt dansk «bagasje».

Utbytte

Etter fire dager på hotellet «Finse 1222» var resultaten både litterært og sosialt signifikante, enten man så på det fra en ensidig eller tosidig fordeling rundt et gigantisk trebord som hadde tilhørt dronning Sonja. Praten i gruppene fløt nå sømløst sammenlignet med dag en og to. Nordmenn som før fryktet lengre samtaler på dansk, kommuniserte på dag tre og fire betydelig bedre enn fjellaper i kontrollgruppen, selv om noen filologiske diskrepanser fremdeles ga god underholdning.

Når det gjelder målet om bedre skriveferdigheter har vi ingen definert gullstandard eller kalibrator å sammenligne med, men en klinisk vurdering tilsier at dette målet i høy grad ble oppnådd og vil få stor nytte innen andre bruksområder. En ting man terpet grundig på var f. eks at ethvert manuskript «... need a sexy title!». En mer objektiv vurdering kan for øvrig gjøres av dere lesere; den endelige flerkulturelle integrerte artikkelen kommer forhåpentligvis på trykk i SJCLI en gang i løpet av sommeren 2016.

Underresultater knyttet til sosiale aktiviteter var også fullt ut akseptable. Det er sannsynligvis aldri



Kursdeltakere og redaktører i SJCLI samlet, helt til venstre kursleder, Tor-Arne Hagve. Foto: Tone Bukve



I snøstorm med dødsangst på vei til Rallarmuséet. Foto: Tone Bukve

rappert så mange mennesker i en badestamp av den typen man brukte på Finse. Inkludert de forskjellige konserveringsvæskene og snøbadingen, ga dette ny innsikt i et felt mange tidligere kun har hatt sporadisk kontakt med, på både godt og kaldt. Det planlagte forsøket med hundesledekjøring måtte dessverre avbrytes på dag tre grunnet matrikseffekter knyttet til værforholdene. Den etiske godkjenningen her var dessuten tvilsom i utgangspunktet i det man ville risikert å sammenligne nedarvede polfarere med mer sydeuropeisk anlagte tråsykkelkjørere, sistnevnte fullstendig ukjent med kupert terren. Forsøket ble erstattet av et surrogatguidet besøk på Rallarmuséet

som lå ca 100 meter gange i snøstorm, eller ca 15 anfall målt i dødsangst bortenfor hotellet. Her fikk man mye informasjon om Rallarhistorien samt fikk vite at det på Finse befinner seg et rustent grytelokk til en verdi av 700.000 NOK fra StarWars-innspillingen.

Avsluttende ord

Ved avreise fredag morgen kunne man trygt konkludere med sluttresultatet av dette fantastiske kurset; 17 skandinaver med klinisk signifikant bedre skriveegenskaper enn før ankomst, og ikke minst danselsen av et kjemisk bånd til andre nordiske deltakere som ikke ser ut til å løses opp ved tilsetning av tid ...



Dansk-norsk grupperarbeid. Foto: Tone Bukve



Vikinger i badestamp. Foto: Åsne Bakke

Nordic Congress in Clinical Chemistry / Biochemistry 2016 in Odense, Denmark, June 14-17

Ivan Brændslund



The congress is now close to start. The congress is held in the garden of Denmark, Funen in Hans Christians Andersen's fairy tale city, Odense. The Hotel is located at the site of the old monastery of the Blackfriars community. This is also the middle of the old town with buildings dating back to the Middle Ages and nice small restaurants situated around the lively place with food market every Wednesday and Saturday. In the local beer bar you perhaps will meet the national herald of Danish songs, Kim Larsen.

The congress committee has tried to shape the scientific content to embrace and handle the laboratories routine problems as well as focusing on future challenges and opportunities. The magic words here are Targeted Therapy, Tailored Treatment, Precision Medicine and Personalised Medicine.

The opening plenary lecture

The opening plenary lecture will focus on the rapid increase in life expectancy and hence the increase in number of old and very old people and their health and disease.

We move on to an overview of principles and technologies in the exploration of the enormous amount of data and knowledge that actually can be analysed and put together to meaningful health care information. This will be scrutinised by professionals actually datamining electronic patient-record systems for surveillance of infections and epidemics, large numbers of analytical test results in acutely admitted patients for safer and more precise handling, mining of the human genome in large number of patient and control cohorts for risk prediction for the development of disease; also, further mapping of the human metabolome and use of applied software systems to handle these data will be presented.

The Nordic Working Group on Preanalytics will report on new knowledge concerning preanalytical

mistakes, including a brief introduction to the European work on this area, the plans so far for a similar work in the Nordic countries, and finally a demonstration of different aspects concerning preanalytical variation, e.g. preanalytical EQA programs and sampling QC.

Session 3 will focus on the increasing knowledge on mechanisms in bone disease as seen in diabetes and cancer, where new markers are enabling focused treatment.

A following plenary session will focus on the 15 years of biochemical and immunological research that paved the way for the use of monoclonal antibodies in cancer and inflammatory diseases.

Session 4 is the Astrup Prize competition where we again will have the pleasure and joy of listening to young upcoming researchers from the very top of the Scandinavian laboratory community. We expect good results that can be applied to the benefit of mankind!

Session 5 will take a look into the future of biochemistry to the promised land of cell biology, molecular biology, biochemistry and genetics.

Session 6 will report on new impressive results in the diagnosis, monitoring and treatment of myeloma, the increasing use of cell free DNA in diagnosis and monitoring treatment efficacy in colorectal and breast cancer and finally on the methodology of investigations that have shown how immune competence problems in cancer can be manipulated to improve treatment results. Last, the European Foundation for laboratory medicines working group on Personalized Medicine will report on the work and developments in the area using diagnosis and treatment of melanoma as an example.

Posters:

We hope to present at least 60-80 posters. An arrangement late Wednesday afternoon will combine wine tasting with poster demonstrations and discussions (did you know that Denmark has been internationally approved as a wine producing country?).

Evening:

Cruise on the wild river of Odense.

On Thursday the morning plenary talk will be on the developments in personalised targeted treatment and the concept of precision medicine.

Session 7 is the Eldjarn prize competition which again will be chaired by J.P. Berg.

In Session 8 Sverre Sandberg will focus on the development in clinical biochemistry at a Nordic and International Level, especially on collaboration in the rare diseases area.

Session 9 will deal with all the new tests and possibilities in enabling earlier and more correct diagnosis of dementia and their use in prevention and treatment.

The following plenary session will report on the development of exosome use for precision diagnostics in cancer. This session will be followed by focused detailed reports from research projects using micro particles.

Session 11 will deal with the use of established tests for specific situations but useable for other purposes and applications. An example here is the use of high sensitivity troponins.

Session 12 will go through achievements in knowledge in selected hemostasis diseases.

In the evening, prizes and honour will be given to those who deserve it! We will also enjoy a good meal with the exclusive products from Funen of exquisite meat, vegetables, wine and beer. A couple of hours of dancing should compensate for all the sedentary hard work you have endured.

On Friday, the international recognized endocrinologist J.J. Holst will go through his discoveries of receptors and mechanism in the development and treatment of diabetes. One of the results of this research is new a line of products from the Novo Company for treating diabetes.

nologist J.J. Holst will go through his discoveries of receptors and mechanism in the development and treatment of diabetes. One of the results of this research is new a line of products from the Novo Company for treating diabetes.

Session 13 will deal with clinical proteomics, the methodologies, the technical equipment and application, protein profiling in diseases and the application in the future of this technology in the routine clinical laboratory.

Session 14 will focus on research, principles and practices in using laboratory testing in a rational and optimal way.

These principles will be exemplified in session 15, as results from The Danish Strategic Project in Diabetes type 2 enables an individualized treatment of this disease, combining genetic markers, markers of biochemistry and insulin resistance.

The closing ceremony will take place just before lunch and in the afternoon the general assembly of the Danish Society of Clinical Biochemistry will be held.

We encourage you to stay at Funen for the weekend and have a look at the beautiful countryside, Egeskov Castle, The Head of Funen (Fyns Hoved), The Old Funen village (Den Fynske Landsby) and to visit some of the interesting places in Odense, Brandts Klædefabrik, or just enjoy a city walk in the Hans Christian Andersen Garden of Fairy tales behind the Dome of Sct. Knud. Or maybe a visit to Legoland?

*Looking forward to meet you all,
The congress committee*



Stability of samples, during transport from General Practices based on pre-analytical goals

Erling Birkemose¹, Esther Jensen², Per Grinsted³, Ivan Brandslund⁴, Flemming Østerby³

¹Department of Clinical Biochemistry and Pharmacology, Odense University Hospital

²Department of Clinical Biochemistry, Nordsjællands Hospital, Hillerød

³General Practitioners in Odense

⁴Laboratory Centre, Lillebaelt Hospital, Vejle, Denmark

erling.birkemose@rsyd.dk



Introduction

Still many blood samples for tests at the hospital laboratories are provided by General Practitioner's offices (GP's) and different studies have explored how it is possible to use whole blood samples sent from GP's to hospital laboratories for analyses without compromising the quality of test results.

This paper describes investigations of the transport of samples from General Practitioners (GPs) to the Hospital Laboratory by courier. In two former counties in Denmark courier transport was established with two daily collections and later all GPs in the Region of Southern Denmark have the possibility of sending patient samples by courier twice a day.

The investigations have been performed in three

parts during 2010 – 2014 and are successors to the investigation from 2006 (1).

The following components were investigated.

Part 1: Stability of Parathyroid hormone, Prostate specific antigen, C-Peptide, and Calcium ionized (pH 7.4), all measured in serum.

Part 2: Stability of Glucose and Protim/INR, measured in plasma.

Part 3: Stability of B – Hemoglobin, (B)Erythr – MCV, B – Hematocrit, B – Leucocytes, B – Neutrophilocytes, B – Lymphocytes, B – Monocytes, B – Eosinophilocytes, B – Thrombocytes, and B – Reticulocytes.

Materials and methods

Part 1

Subjects

One hundred adult male patients that were undergoing routine venous puncture at their GP were asked to participate. Extra 8 tubes were drawn and submitted to different pre-analytical conditions. The sample handling and the pre-analytical procedure were carried out by the GP's staff, nurses, secretaries or laboratory technologists. A laboratory technologist from the Department of Clinical Chemistry and Pharmacology, Odense University Hospital was handling the reference samples in GP offices. Four different GPs participated.

Transport

The tubes taken were transported by laboratory technologist and by courier.

The tubes were numbered 1 – 5 and number 1 (4 vials) and number 5 were centrifuged between 30 and 60 minutes after sampling see table 1. Serum from one of no. 1 tubes was separated into 2 vials, tightened and frozen (- 20 ° C). Serum from 2 tubes was separated into 2 vials and tightened. These 2 vials and the fourth tube of no. 1 were stored in the thermo stated box (21 ± 1° C) until the first transport to Dept. of Clinical Chemistry and Pharmacology by courier between 10 – 12 am.

Tube no. 2 was stored in the thermostated box until the first transport; tube no. 3 was stored in the box until the second transport between 2 – 4 pm; tubes no. 4 and no. 5 were stored in the box until the first transport next day.

From Monday to Tuesday the samples were collected at GPs between 8 pm and until the first transport.

Tube 1 was sent to the laboratory and analyzed within 4 hours from collection; tube 2 was sent by the first transport (courier) and analyzed immediately; tube 3 was sent by the second transport and analyzed immediately; tube 4 was sent by the first transport

next day and analyzed immediately. Tube 5 was centrifuged within 45 – 60 min after collection and separated and sent by the first transport next day and immediately analyzed after arrival to the laboratory.

All samples were stored by 21 ± 1° C except the frozen vials.

The result from the tube no. 1 which was sent to the laboratory within 4 hours was used as sample "0"

Time for drawing, centrifugation, transport and analyzing was registered.



Table 1: Method for preparation and transport.

Tube no.	1 (4 vials)				2	3	4	5
Centrifuged 30 – 60 min. after sampling	X serum separated	X serum separated	X serum separated	X				X serum separated
Serum frozen at -20 ° C	X X							
Stored in thermostated box (21°C) until 1. transport		X	X	X	X			
Stored in thermostated box (21°C) until 2. transport						X		
Stored in thermostated box (21°C) until 1. Transport next day							X	X
Samples sent to lab. and analyzed within 4 hrs.	X	X		X				

All samples were analyzed immediately after arrival to the laboratory

Analytical methods

The tubes were Venosafe® Plastic Tubes also used in daily routine: Serum Gel - VF-052SAS (various lot no.) The samples were centrifuged for app. 10 min. at 1300 – 2000 x G according to tube manufacturer's instruction.

Inclusion criteria were samples from men. The components analysed were: Prostate Specific Antigen and C – Peptide, analysed on Wallac AutoDELFIA using a commercial kit from PerkinElmer. Parathyroid hormone was analysed on Immulite 2000 using a commercial kit from Siemens and Calcium ion (pH 7, 4) was analysed on ABL 800 from Radiometer.

The components were analyzed at the Dept. of Clinical Chemistry and Clinical Pharmacology, Odense University Hospital.

The “0-sample” was centrifuged, and separated at the doctor's office within 45 – 60 min and sent to the laboratory within 4 hours and analyzed immediately upon arrival. The sample was considered as the best estimate of a “true” comparison value. The other samples were kept in thermostated boxes at 21° C and transported with the established transport system (by courier in thermostated vehicles at 21° C) from the GP's office to the laboratory.

Part 2

Subjects

The adult patients that were undergoing routine venous puncture at their GP's were asked to participate. Extra 4 tubes were drawn and submitted to different pre-analytical conditions. All tubes were drawn between 8 a.m. and app. 11:45 a.m. The sample handling and the pre-analytical conditions were carried out by the GP's staff, nurses, secretaries, or laboratory technologists. 4 different GPs participated.

Transport

The tubes drawn were transported by the established transport system.

Tube no 1 was transported by the first courier. Tube no 2 was transported by the second courier and tube no 3 was transported the next day with the first courier. All tubes were analysed at arrival to the laboratory. The tubes were stored and transported at $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

Analytical methods

The tubes were the normally used Venosafe FC

mixture (3 ml) for P – Glucose and BD Vacutainer NaCitrate (4.5 ml) for Protim/INR.

Glucose in plasma was analysed with commercial Hexokinase/G6PDH Kit on Abbott Architect. Protim/INR in plasma was analysed with Owren method (modified), commercial SPA+ reagent with STA-R, Stago.

The tube which was transported to the laboratory with the first courier and analysed within 5 hours from blood sampling is used as “0 – sample”

Part 3

Subjects

Adult patients (app. 30) that were undergoing routine venous puncture at their GP were asked to participate. Extra 2 tubes were drawn and submitted to different pre-analytical conditions. All 3 tubes were drawn between 8 a.m. and app. 12 a.m. The sample handling and the pre-analytical were carried out by the GP's staff, nurses, secretaries or laboratory technologists. 3 different GPs participated.

Transport

The tubes drawn were sent by the established transport system.

Tube no 1 was transported by the first courier. Tube no 2 was transported by the second courier and tube no. 3 was transported the next day with the first courier. All tubes were analysed upon arrival at the laboratory. The tubes were stored and transported at $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

Analytical methods

The tubes were the normally used BD Vacutainer K2 EDTA (4, 0 ml).

The included hematology parameters were analysed on Sysmex XN 9000

The tube which was transported to the laboratory with the first courier and analysed within 5 hours from blood sampling is used as “0 – sample”

Analytical quality goals

Limits for acceptable deviation from the “0 – sample” result were predefined by the authors of this paper (table 2, 3 and 4). CLIA rules (as cited in Tietz) (2) and the relevance of the components for the GP's was taken into consideration (3). Because the analytical coefficient of variation (CV) % for the single component in the laboratory influences both the “0

Name: Svetlana R.

Job: Medical Lab Technician

Mission: Guardian Angel

Name: XN-9000 DI

Job: Efficient Analysis

Mission: Pathfinder



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.

– sample” and the transported samples, and because the biological and sampling variations are eliminated as samples were drawn in the same puncture, the total acceptable difference was defined as:

$$SD^2_{\text{Total acceptable deviation}} = SD^2_{\text{Acceptable pre-analytical deviation}} + 2 \times SD^2_{\text{analytical}}$$

The quality demand was that at least 95.5 % of the measurements had to be within $2SD_{\text{Total acceptable deviation}}$ from the “0 – sample”.

Statistics

Relative Difference plots are made with the relative differences between the result from test sample and “0 – sample” (part one) or the sample sent by the first transport “0-sample” (part two and three) on y – axis against time on x – axis. See appendix. The limits for allowed deviation are shown in the plots. The numbers of relative differences which fulfill the allowed deviation in % are calculated.

Ethics

The Regional Danish Science Ethics Committee was contacted by phone, and the Committee had no objections to this technical and quality investigation. Oral informed consent was obtained from all participants.

Results

Part 1

Table 2 shows the maximal allowed deviation estimated from the analytical CV, Clinical pre-analytical deviation and critical level. We have decided that 95.5 % of the results shall fulfill the allowed deviation and therefore use limits of allowable deviations as criteria for transport from the GP’s to the laboratory without preparation.

Table 2. Deviations from “0 – sample” which allows 95.5 % of the results to fulfill goals

Component	CV % Analytical	Critical level	Clinical pre-analytical deviation*		Total CV for deviation(%)	Allowed deviation (%) between 0 – sample and test sample 95.5% results within ± 2 SD
			Concentration CI 95.5 %	CV %,		
Calcium – ion (pH 7,4) mmol/l	2.0	1.3	0.2*	7.7	8.2	16.4
Prostate specific antigen, μ g/l	3.8	4.0	1.0*	12.5	13.6	27.2
Parathyroid hormone, pmol/l	9	7.0	1.0*	6.9	14.5	29.0
Proinsulin-C-Peptide. pmol/l	5	130	50.2	23.9	24.4	48.9

Table 2: Critical level is the level at which the maximal allowed deviation is defined. Clinical acceptable pre-analytical deviation (95.5% CI) is given as a concentration in reported units and as CV%. CV% analytical is the imprecision in the laboratories. Total CV for deviation is the combined CV – analytical for both 0-sample and the test sample and the CV% of accepted deviation. Maximal allowed deviation is the 95.5% CI limits for difference between 0-sample and test sample which fulfill the goals at the critical level.³

*Clinical acceptable pre-analytical deviation is an estimate

Table 2a. No of results which fulfill the goals.

Component	No. of results which fulfill the demand on allowed deviation (%)			
	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Calcium, ionized (pH 7,4), mmol/l	100.0	100.0	100.0	100.0
Prostate specific antigen, µg/l	100.0	100.0	100.0	100.0
Parathyroid hormone, pmol/l	98.0	98.0	93.1	97.0
Proinsulin-C-peptide, pmol/l	76.2	67.3	2.0	56.6

Table 2a show how many samples which fulfill the demand on allowed deviation in % for each group of tubes.

Table 2a shows how many samples fulfill the demand on allowed deviation. Calcium-ion (pH 7.4), Prostate specific antigens fulfill the demand for all tubes (2 – 5). Parathyroid hormone fulfills for the tubes 2, 3 and 5 and Proinsulin-C-Peptide does not fulfill for any of tubes.

Part 2

Table 3. Deviations from "0 – sample" which allows 95.5 % of the results to fulfill goals

Component	CV % Analytical	Critical level	Clinical pre-analytical deviation*		Total CV for deviation(%)	Allowed deviation (%) between 0 – sample and test sample 95.5% results within ±2 SD
			Concentration CI 95.5 %	CV %,		
Glucose	0,5	6,7	0,54*	3,9	4,1	8,0
Protimes/INR	3,3	2,5	0,36	5,8	7,3	14,5

Table 3: Critical level is the level at which the maximal allowed deviation is defined. Clinical acceptable pre-analytical deviation (95.5% CI) is given as a concentration in reported units and as CV%. CV% analytical is the imprecision in the laboratories. Total CV for deviation is the combined CV – analytical for both 0-sample and the test sample and the CV% of accepted deviation. Maximal allowed deviation is the 95.5% CI limits for difference between 0-sample and test sample which fulfill the goals at the critical level.

*Clinical acceptable pre-analytical deviation is an estimate

Table 3a. No. of results which fulfill the goals.

Component	No. of results which fulfill the demand on allowed deviation (%)	
	Second transport	First transport next day
Glucose	96,8	98,9
Protimes/INR	99,0	100

Table 3a show how many samples which fulfill the demand on allowed deviation in % for each group of tubes.

Table 3a shows how many samples fulfill the demand on allowed deviation. Glucose and Protimes/INR fulfill the demand for both second transport and first transport next day.

Part 3

Table 4. Deviations from "0 – sample" which allows 95.5 % of the results to fulfill goals

Component	CV % Analytical	Critical level	Clinical pre-analytical deviation		Total CV for deviation(%)	Allowed deviation (%) between 0 – sample and test sample 95.5% results within ± 2 SD
			Concentra-tion CI 95.5 %	CV %,		
B – Hemoglobin	0,8	7,6	0,62	4,0	4,2	8,0*
(B)Erythr – MCV	1	89	4,24	1,9	2,4	4,8
B – Leucocytes	1,8	7,2	2,33	16,0	16,2	32,3
B – Neutrophils	2,2	5	2,41	23,9	24,1	48,3
B – Eosinophils	6,9	1,95	1,21	29,4	30,9	61,9
B – Lymfocytes	3,7	3,27	0,99	14,3	15,2	30,4
B – Monocytes	10,3	2,17	1,25	24,8	28,8	57,6
B – Trombocytes	1,6	506	130,91	12,7	12,9	25,9
B – Reticulocytes	2,5	75,1	23,72	15,4	15,8	31,6
B – Hematocrit	2,1	0,47	0,05	3,8	4,8	9,6

Table 4: Critical level is the level at which the maximal allowed deviation is defined. Clinical acceptable pre-analytical deviation (95.5% CI) is given as a concentration in reported units and as CV%. CV% analytical is the imprecision in the laboratories. Total CV for deviation is the combined CV – analytical for both 0-sample and the test sample and the CV% of accepted deviation. Maximal allowed deviation is the 95.5% CI limits for difference between 0-sample and test sample which fulfill the goals at the critical level.

*Clinical acceptable pre-analytical deviation is an estimate

Table 4a. No. of results which fulfill the goals.

Component	Percentage of results which fulfill the demand on allowed deviation	
	Second transport	First transport next day
B – Hemoglobin	100	100
(B)Erythr – MCV	100	7,3
B – Leucocytes	100	100
B – Neutrophils	100	100
B – Eosinophils	96,7	100
B – Lymfocysts	100	100
B – Monocytes	100	100
B – Trombocytes	100	100
B – Reticulocytes	96,7	100
B – Hematocrit	100	29,2

Table 4a show how many samples which fulfill the demand on allowed deviation in % for each group of tubes.

Table 4a shows how many samples fulfill the demand on allowed deviation. All listed parameters fulfill the demand on allowed deviation for the second transport and only (B) Erythr – MCV and B – Hematocrit does not fulfill the demands on first transport next day.

Discussion

This paper describes a continuation of the investigation of stability of blood samples during transport described in the paper *Stability of heparin blood samples during transport based on defined pre – analytical quality goals* (1). This investigation has the purpose of examining if the chosen components can be transported as blood samples without any preparation from GPs to laboratory of the hospital with the established transport system by courier twice a day.

None of the results from Calcium-ion (pH 7.4) exceed the allowable deviation. This may be

expected if the actual pH was within 7.2 – 7.6 while the corrected result of Calcium-ion to pH 7.4 can be calculated. The pH results which were measured at the same time showed a continuous decrease from the “0 – sample” to tube 5 due to the degradation of glucose. No pH value was below pH 7.2. Prostate antigen was apparently not affected in the pre-analytical phase and all tubes fulfilled the demands.

For Parathyroid hormone 93.1 % of tube 4 fulfilled the demands, where app. 98 % of tube 2, 3 and 5 fulfilled the demands. Proinsulin-C-peptide was not stable at all and only up to 76 % of tube 2 fulfilled the demands and after one day only 2 % fulfilled if the samples did not undergo any preparation. For tube 5 which were centrifuged within 45 – 60 min after the blood was drawn and stored in the thermostated box to the next day before transportation to the laboratory only 56 % fulfilled the



demands. Half-life for C-peptide is app. ½ hour at room temperature (4).

For part 2 and 3 the tube sent by the first transport and analysed within app. 6 hours is used as "0-sample". Different papers show that the parameters investigated in part 2 and 3 are stable for at least 6 hours at room temperature (5 – 10)

For Glucose 96.8 % of the results from the tubes sent by the second transport same day as the blood was drawn fulfill the demand for allowed deviation, as do 98.9 % of the results from the tubes sent by the first transport next day.

For Protamine/INR 99 % and 100 % of the results from the samples sent by the second transport same day and the first transport next day fulfill the demand.

For the hematology parameters all components fulfill the demand for allowed deviation if sent by the second transport on the same day they were drawn. All components except (B) Erythr – MCV (8.3 %) and B – Hematocrit (29.2 %) fulfill the demand if sent by the transport next day. Of unknown reason, there were no results for Neutrophils, Eosinophils, Monocytes and Lymphocytes in samples from 7 patients sent by the second transport.

Conclusions

The results of the investigations show that all the investigated components except Proinsulin-C-peptide can be sent by courier transport within the same day as they are drawn from the patient, without any preparation, if the samples are stored at $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Likewise samples can be sent by the first transport the next day if the samples for Calcium-ion, and Parathyroid hormone have been centrifuged app. 30 minutes after blood sampling.

Samples for (B) Erythr – MCV and B – Hematocrit cannot be shipped the next day.

Acknowledgements

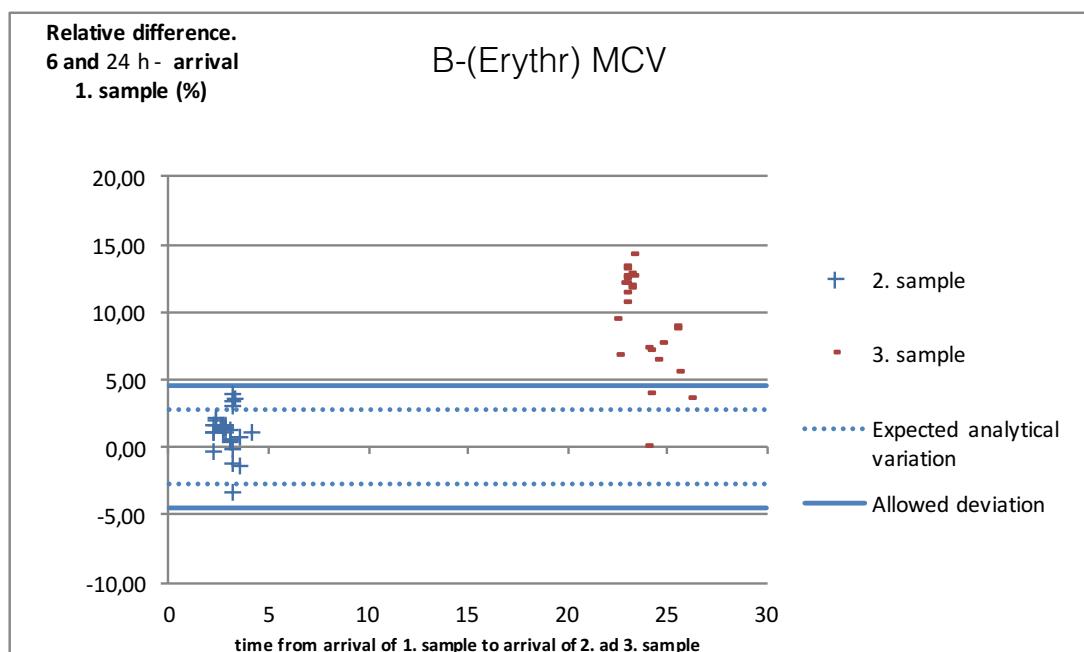
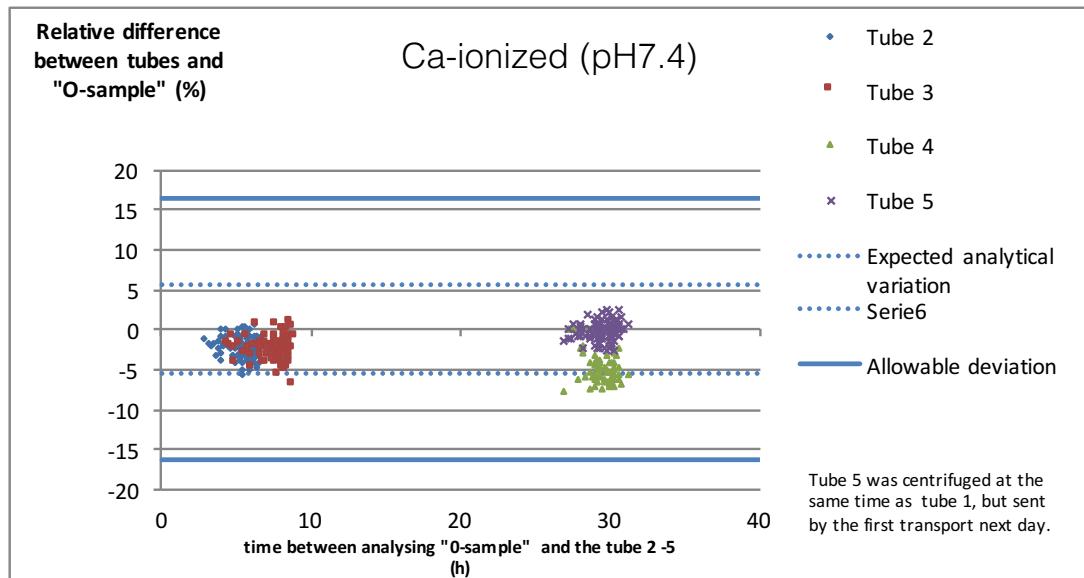
This study was supported in part by grants from the Health Care Organisation of Southern Denmark. A special thank to Laboratory Technologist Ms. Nina Brøgger for her excellent work in part one, which demanded a strict logistic competence in collecting and preparing the samples from GPs. We appreciate the contribution of the primary healthcare centers Lægehuset Kerteminde, Tommerup, Skelvænget Assens and Nr. Lyndelse in part one and two, and Lægehuset Kerteminde, Tommerup and Skelvænget Assens in part three for providing samples.

References

1. Jensen EA, Stahl M, Brandslund I, Grinsted P. Stability of heparin blood samples during transport based on defined pre-analytical quality goals. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:225–34.
2. Linnet K, Boyd JC. Selection and analytical evaluation for methods with statistical techniques. In: C.A. Burtis, Ashwood ER, Bruns DE, eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, 4th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders, 2006: chapter 14.
3. Skendzel LP, Barnett RN, Platt R. Medically useful criteria for analytic performance of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1985;83:200–05.
4. Lyngbye et. al.: Lyngbyes Laboratoriemedicin, Nyt Nordisk Forlag Arnold Busck, 2. udg. 2010, København
5. Totzke U, Kuyas C. Non-frozen transports of whole blood samples do not cause relevant bias for global coagulation tests in clinical trials evaluating the drug safety. *Contemp Clin Trials* 2005;26:488–502.
6. Rao LV, Okorodudu AO, Petersen JR, Elghetany MT. Stability of prothrombin time and activated partial thromboplastin time tests under different storage conditions. *Clin Chim Acta* 2000;300:13–21.
7. Fobker M. Stability of glucose in plasma with different anticoagulants. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1057–60.
8. Imeri F, Herklotz R, Risch L, Arbeitsleitner C, Zerlauth M, Risch GM, Huber AR. Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex 2100. *Clin Chim Acta* 2008;397:68–71.
9. de Baca ME, Gulati G, Kocher W, Schwarting R. Effects of Storage of Blood at Room Temperature on Hematologic Parameters Measured on Sysmex XE-2100. *Lab Med* 2006;37:28–35.
10. Henriksen LO, Faber NR, Moller MF, Nexo E, Hansen AB.: Stability of 35 biochemical and immunological routine tests after 10 hours storage and transport of human whole blood at 21°C . *Scand J Clin Lab Invest* 2014;74:603 – 10.

Appendix

Examples of relative difference plots.



Basofili – og hva så?

Helle Borgstrøm Hager

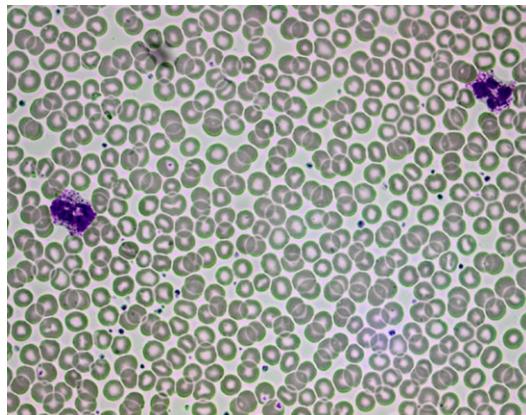
Sentrallaboratoriet, Sykehuset i Vestfold

helle.hager@siv.no

De basofile granulocyttene utgjør normalt mindre enn 1 % av leukocytene i blodet, og både maskinell og manuell telling er forbundet med lav presisjon. Har det da noen hensikt å bry seg om forhøyede basofile, såkalt basofili?

Blodgiver med tilfeldig oppdaget basofili

En 39 år gammel kvinne meldte seg som ny blodgiver ved Blodbanken i Tønsberg i januar 2005. Hun var tidligere frisk og brukte ingen medisiner bortsett fra P-piller. Det ble rutinemessig tatt blodprøver som viste leukocytose og lett basofili (tabell 1, første kolonne). Blodutstryk bekreftet at det dreide seg om en reell basofili. Vi ba blodgiveren komme tilbake for en kontrollblodprøve tre dager senere. Som tidligere hadde hun lett leukocytose og lett økning av de basofile granulocyttene (figur 1). Det var imidlertid ingen venstreforskyvning av de nøytrofile granulocyttene og det ble ikke sett noen umodne celler. Hun ble ikke godkjent som blodgiver, men anbefalt å gå til egen lege for kontroll. Fastlege ble varslet per brev og telefon



Figur 1. Blodutstryk (forstørrelse x 50) som viser to basofile granulocyttter.

om at det kunne dreie seg om en ulmende kronisk myelogen leukemi eller annen myeloproliferativ sykdom. En måned senere var blodbildet uendret, men fem måneder etter at hun meldte seg som blodgiver var leukocytosen lett stigende og antallet basofile fordoblet (tabell 1). Blodutstryk viste i tillegg enkelte myelocytter i perifert blod.

Laboratorielege ringte til pasientens lege og anbefalte henvisning til hematolog med spørsmål om pasienten kunne ha kronisk myelogen leukemi. Pasienten følte seg fortsatt helt frisk og klinisk undersøkelse var normal. Hematolog tok nye blodprøver inkludert prøver til molekylær patologisk undersøkelse på BCR/ABL-transkript og sternalmargsspiral for morfologisk undersøkelse og cytogenetikk. Benmargsutstryket var svært cellerikt med økt antall megakaryocytter og ekspandert granulocyttopoiese, men normalt antall blaster på 2-3%. Cytogenetisk undersøkelse avslørte at hun hadde Philadelphia-kromosom og hybridgenet BCR-ABL i leukemicellene. Pasienten hadde en kronisk myelogen leukemi i kronisk fase med lav risikoscore. Hun begynte med tyrosinkinaseinhibitoren imatinib fra august 2005. Behandlingen har medført komplett hematologisk, cytogenetisk og molekylær remisjon. Hun går til kontroll hos hematolog to ganger per år, føler seg fortsatt helt frisk, har ingen bivirkninger av behandlingen og er i full jobb.

Kronisk myelogen leukemi (KML) karakteriseres laboratoriemessig av leukocytose med basofili og nøytrofili med venstreforskyvning. Mange har også trombocytose og anemi, og det er vanlig å se kjerneholdige erytrocytter i perifert blod. Man sier gjerne at perifert blod ser ut som benmarg. Vanlige symptomer ved diagnosetidspunkt er asteni, økt blødningstendens, vekttap og symptomer relatert til splenomegalii, men så mange som 20 % ble i én studie oppdaget tilfeldig og hadde ingen symptomer (1), slik som denne blodgiveren.

Tabell 1
Hematologiresultater fra blodgiveren.

Analyse	Første prøven på Blodbanken	3 dager senere	1 måned senere	5 måneder senere	Enhet	Referanse- område
B-leukocytter	13,9	13,8	11,5	17,4	109/L	3,5-10,0
B-hemoglobin	14,6	13,9	14,9	14,7	g/100 mL	11,7-15,3
B-trombocytter	269	266	269	284	109/L	145-390
B-nøytrofile	8,9	9,03	7,43	9,84	109/L	1,80-7,40
B-lymfocytter	3,49	3,24	2,99	4,87	109/L	0,90-3,20
B-monocytter	0,78	0,78	0,52	1,22	109/L	0,20-0,80
B-eosinofile	0,29	0,23	0,13	0,52	109/L	< 0,40
B-basofile	0,52	0,52	0,47	0,94	109/L	< 0,10

Historisk tilbakeblikk

Basofile granulocytter utgjør normalt en liten andel av leukocytene i perifert blod, mellom 0-1 % og i absolutte tall opptil $0,1 \cdot 10^9/L$. De ble første gang beskrevet av den tyske legen Paul Ehrlich i 1891 (2). Ehrlich etablerte noen år tidligere den første brukbare metoden for farging av blodutstryk. På basis av morfologi og granula beskrev han de fem klasser leukocytter som vi i dag fortsatt forholder oss til. Fargevæskan var svært lik den fargevæskan vi bruker i dag – May-Grünwald-Giemsa. Metoden fikk etter hvert stor utbredelse og bare kort tid etter at den var publisert ble den oppfattet som standardprosedyre for differensialtelling. Så sent som i 1987 ble alle differensialtellinger av leukocytter utført manuelt med farget utstryk på Rikshospitalet i Oslo (3).

I 1974 kom Tecnicon med det første instrumentet for automatisert differensialtelling av leukocytter (Hematolog D), men først på 1980-tallet begynte automatiske hematologiinstrumenter for alvor å innta laboratoriene. Moderne helautomatiske hematologiinstrumenter skiller de ulike leukocytklassene basert på ulike fysiske karakteristika ved impedanse, lysspredning og -absorbanse. De teller flere tusen celler og gir oss effektivt fem-parts differensialtellinger med vesentlig utmerket analytisk kvalitet. Siden de basofile granulocytene er så få, har metoden likevel en høy analytisk variasjonskoeffisient for denne subpopulasjonen, og det er dårlig korrelasjon mellom basofiltellinger for ulike metoder og instrumenter (4). Manuell differensialtelling regnes fortsatt som

gullstandardmetoden for telling av basofile (5). Ved manuell differensialtelling teller man vanligvis bare 100-200 leukocytter. Siden de basofile granulocytene normalt bare utgjør 0-1 celle per 100, sier det seg selv at manuell telling ikke har høy presisjon. For å få snevre nok konfidensintervall for prosent basofile, bør man egentlig telle flere tusen celler ved manuell differensialtelling (6). De senere år har man i forskningssammenheng tatt i bruk flowcytometriske analyser for telling av basofile granulocytter (4, 7), men foreløpig brukes ikke disse i rutinesammenheng.

Basofile granulocytters morfologi og funksjon

Basofile granulocytter er omtrent like store som nøytrofile granulocytter. De er lett gjenkjennelige i mikroskopet på grunn av sine blåsvarte granula som delvis ligger over kjernen som vanligvis er segmentert (figur 2). Ved myeloproliferative sykdommer og myelodysplastisk syndrom kan det være færre granula per celle enn normalt. En reduksjon i antall granula er ikke alltid reell; de basofile granula er vannløselige og kan derfor vaskes bort hvis utstryket utsettes for fuktighet før fiksering og farging, eller er dårlig fiksert.

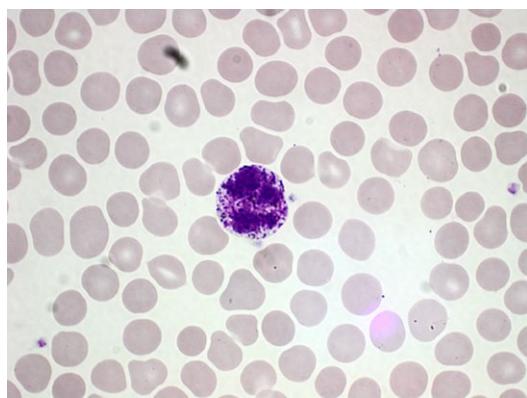
Basofile granulocytter likner funksjonelt på mastcellene ettersom de begge har IgE-reseptorer på overflaten og skiller ut innholdet i de mange granula som finnes i cytoplasma ved aktivering. Kornene hos basofile granulocytter inneholder bl.a. histamin, leukotriener og cytokiner, IL-4 og IL-13 - viktige betennelsesmediatorer som skilles ut ved allergiske reaksjoner. De basofile cellene degranulerer ved både

IgE-mediert og ikke-IgE-mediert aktivering. Det kliniske bildet bestemmes av hvor mye og hvor hurtig innholdet i granula frigjøres til plasma. Basofile granulocytters funksjon er ikke helt klarlagt, men nyere studier har vist at de har en viktig rolle ved Th2 mediert immunrespons og ved aktivering av B-cellene. De har også en mulig funksjon i forsvaret mot parasitter (8).

Betydning av basofili

Hvorfor skal vi i det hele tatt bry oss med basofilantallet – når de uansett utgjør en så liten andel av leukocytten? Betyr det noe om man har basofile granulocytter på $0,5 \cdot 10^9/L$ i steden for $0,02 \cdot 10^9/L$? Basofili kan defineres som basofile granulocytter over øvre referansegrense, det vil si mer en $0,1 \cdot 10^9/L$. Uttalt basofil leukocytose er bare til stede ved kroniske myeloproliferative sykdommer. Ved kronisk myelogen leukemi er basofili nærmest et obligat funn, og graden av basofili har prognostisk betydning. Økende antall basofile indikerer ofte en akselerert fase av sykdommen. Også ved andre myeloproliferative sykdommer som polycytemia vera, myelofibrose, essensiell trombocytose og mastocytose kan det være lett til moderat basofili. I tillegg kan det en sjeldent gang sees en økning av basofile granulocytter ved akutt mylogen leukemi og ved Philadelphia-positiv akutt lymfatisk leukemi.

Lett reaktiv basofili kan i følge en lærebok sees ved en rekke andre tilstander, blant annet hypothyreose (myksødem), ulcerøs kolitt, østrogenbehandling, juvenil reumatoid artritt og allergiske reaksjoner (9), men det er få beskrivelser i litteraturen fra de senere



Figur 2. Blodutstryk (forstørrelse x 100 med olje) som viser en basofil granulocyt.

år. I en artikkel fra 2011 hevdes det at det er lite evidens for en sammenheng mellom allergi og reaktiv basofili i perifert blod. Derimot kan man se en økning av basofile granulocytter i de vev som er affisert av en allergisk reaksjon, f.eks. i luftveiene hos en pasient med astma eller i huden hos en pasient med atopisk dermatitt (10).

Pseudobasofili

Pseudobasofili er imidlertid langt vanligere enn ekte (11). I mange hematologiinstrumenter telles basofile granulocytter ved hjelp av metoder som baserer seg på at basofile granulocytter har cellemembranegenes som gjør dem resistente mot lyse. Patologiske celler som normalt ikke er til stede i perifert blod kan også være lyseresistente. Spesielt patologiske celler fra lymfocyttrekken lar seg vanskelig lysere- og tilstander som mononukleose og kronisk lymfatisk leukemi gir derfor typisk falsk basofili ved analysering på Sysmex-, ADVIA- (Siemens) og Horiba-instrumenter på grunn av reaktive/neoplastiske lymfocytter (12, 13). Plasmaceller, blastceller, umodne nøytrøfile granulocytter og kjerneholdige erytrocytter kan også medføre pseudobasofili (11, 14). CELL-DYN instrumenter fra Abbott teller basofile granulocytter med et annet prinsipp og det er så vidt jeg vet ikke beskrevet tendens til pseudobasofili ved denne metoden.

Forekomst av basofili

Det finnes ingen standardisering eller felles regler for hvordan analyseresultater fra hematologiinstrumenter håndteres. Det ønsket Society for Laboratory Hematology (ISLH) å gjøre noe med, og en ekspertgruppe publiserte i 2005 41 regler for validering av prøvesvar fra hematologimaskiner og morfologiske funn i blodutstryk (15). Regel 21 sier at basofile granulocytter $> 0,5 \cdot 10^9/L$ skal verifiseres ved mikroskop i første gang det opptrer.

I 2012 så jeg på forekomsten av basofili i en årsproduksjon ved mitt laboratorium der vi kun har Sysmex-instrumenter, XE 2100 og XE 5000. Av totalt 124 276 laboratorieresultater for basofile granulocytter var 230 prøver over $0,5 \cdot 10^9/L$ ($0,18\%$). Disse var igjen fra 84 ulike pasienter. Blodutstryk ble undersøkt hos alle pasientene for å vurdere om basofilen var reell og pasientene ble delt inn i diagnosegrupper basert på opplysninger på revisjon og/eller i elektronisk journal (tabell 2). Reell basofili ble bare verifisert hos pasienter med myeloproliferative tilstander, og mono-

Tabell 2

Basofiltall $> 0,5 \cdot 10^9/L$ i en årsproduksjon sortert etter pasientenes diagnoser og alder.

Diagnose	Alder ≤ 35 år (n= 41)	Alder > 35 år (n= 43)	Basofili verifisert i blodutstryk
Myeloproliferative tilstander		35 %	Ja
Lymfoproliferative tilstander		23 %	Nei
Metastatisk cancer		21 %	Nei
Mononukleose eller cytomegalovirus	82 %	11 %	Nei
Alvorlig bakteriell infeksjon		9 %	Nei
Nyfødte	18 %		Nei

nukleose var den vanligste årsaken til pseudobasofili hos pasienter yngre enn 35 år (16).

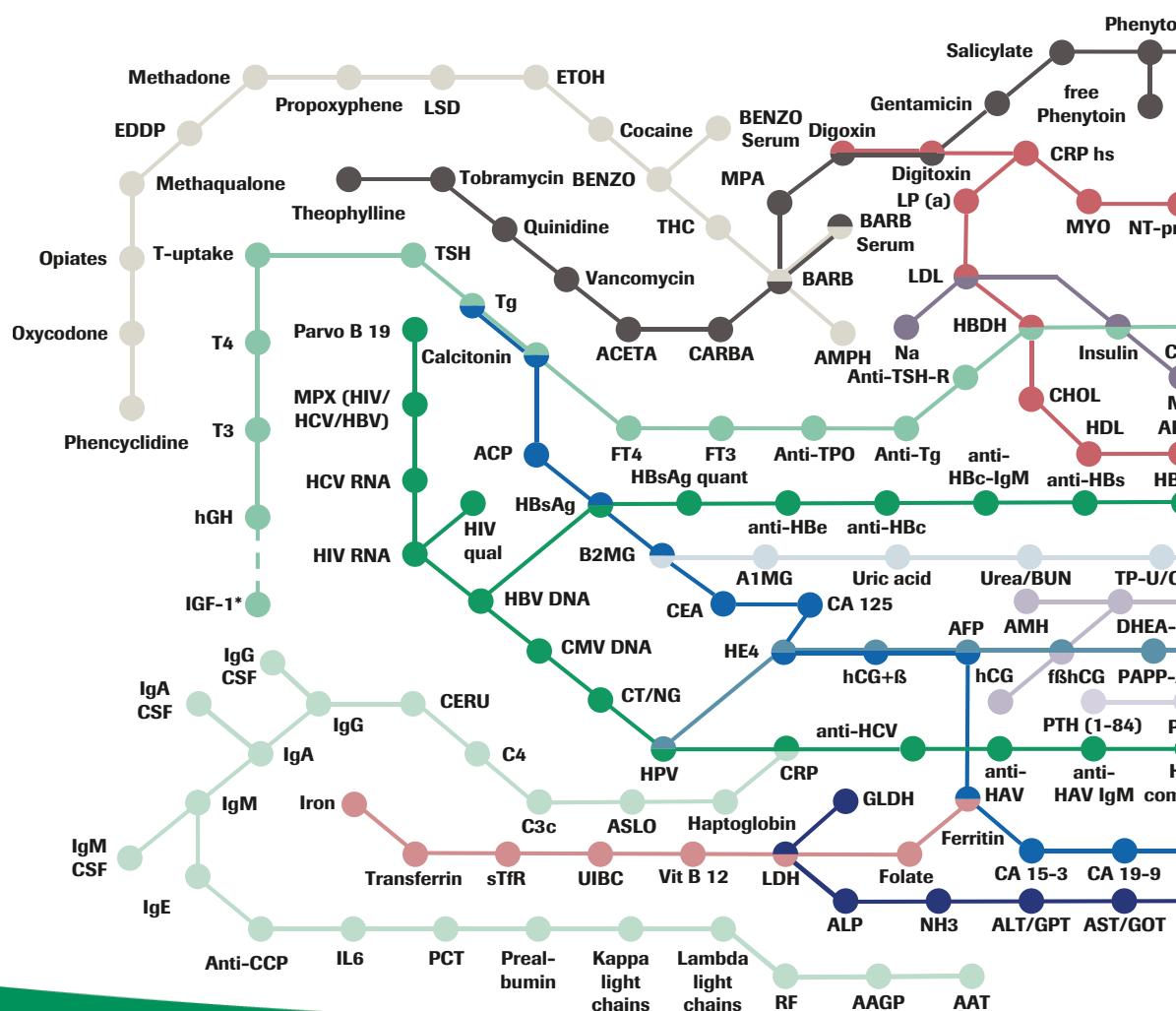
Mikroskopi ved basofili

Mikroskopi er lite egnet til telling av basofile granulocytter når de forekommer i et normalt lavt antall, men for å vurdere om en basofili er falsk eller reell, har undersøkelsen fortsatt en viktig funksjon. Hvis man skal følge Clinical og Laboratory Standards

Institutes (CLSI) anbefalinger, skal man telle minst 400 leukocytter (5). Etter min erfaring får man imidlertid et inntrykk av om det foreligger en reell basofili eller ikke dersom man i flere synsfelt ser mer enn én basofil granulocytt, eller mer enn 10 basofile i hele utstryket. I tillegg får man ved mikroskopi vurdert de andre cellenes morfologi. Isolert reell basofil leukocytose er sjeldent uten at det foreligger morfolo- giske avvik i andre cellerekker, som venstreforskøvet



Helle B. Hager, Mette Brokner og Morten Lindberg ved mikroskopet. Foto: Morten Rakke Photography.



Our Commitment to Medical Innovation

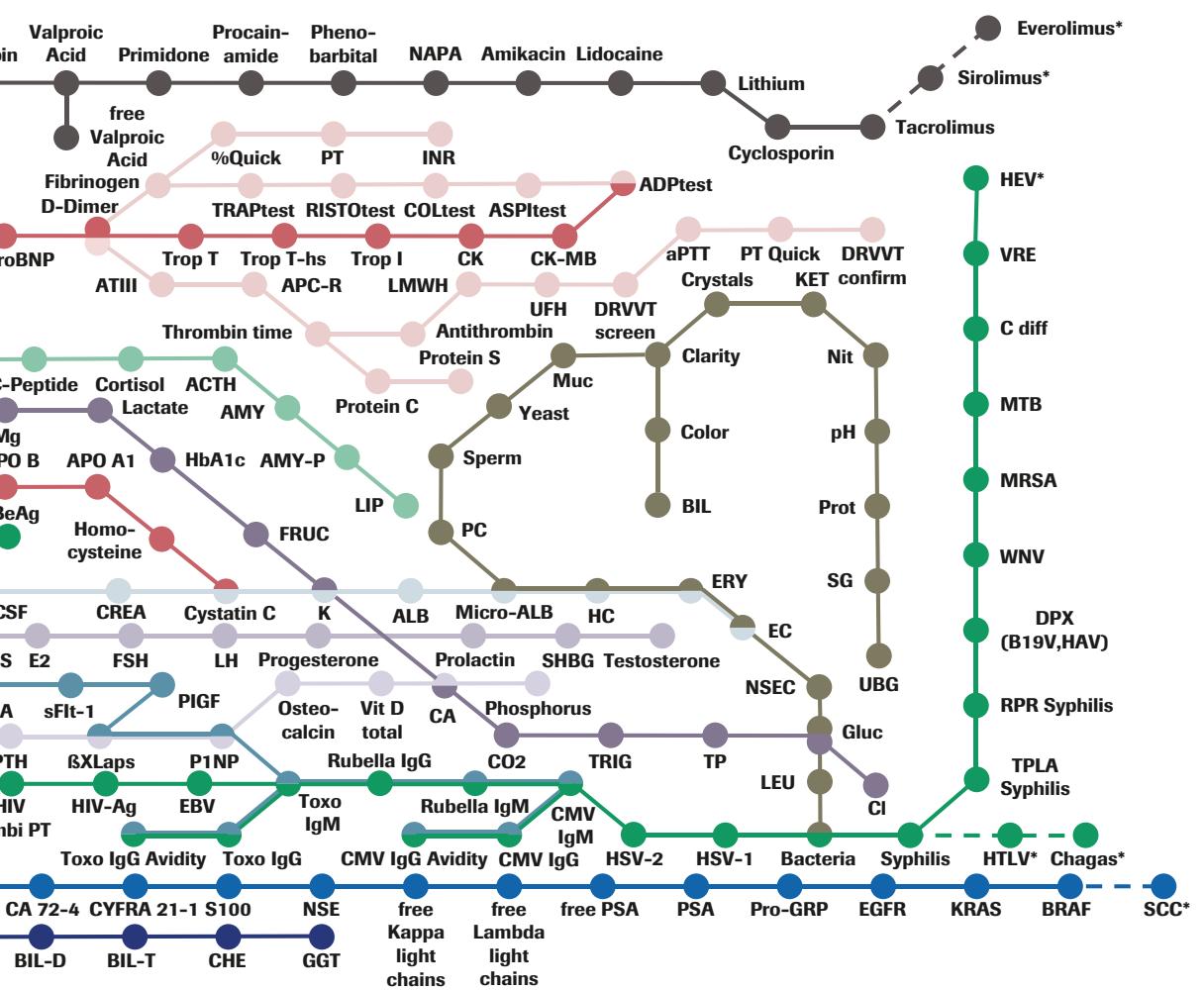
Over 250 tests* and growing!



Learn more at www.cobas.com

*Does not include pathology tests





ovation

ay
ay in different indications
erent assay in same indication
development

cobas®
Life needs answers

granulocytopoiese. Vurdering av blodutstryk krever erfaring og tid, men er ellers en billig, relativt rask og lite ressurskrevende undersøkelse sammenliknet med for eksempel flowcytometri.

Det viktigste spørsmålet man må ta stilling til ved vurdering av blodutstryk på grunn av maskinell basofili er om det er funn ved mikroskopi eller andre laboratorieverdier som gir grunn til å mistenke myeloproliferativ sykdom. Det kan for eksempel være reell basofili, leukocytose, anemi eller polycytemi, venstreforskyvning av myelopoiesen og svært høye kobalaminverdier uten at pasienten er substituert med kobalamin. I så fall må man spørre seg om det er noe som er kjent fra før, eller om man bør varsle rekiventen. Leger som ikke er hematologer har oftest liten kunnskap på dette området, og det er viktig at vi på laboratoriet hjelper dem å sortere hvem som bør utredes videre. Dersom hematologiske funn kun beskrives morfologisk og uten tolkning eller vurdering, er det økt risiko for at viktige budskap ikke forstås av rekiventen.

Konklusjon

Selv om hematologiinstrumentene har blitt stadig bedre, har det ikke gjort mikroskopi og kunnskap om morfologisk vurdering overflødig. Vurdering av blodutstryk ved basofili vil kunne avsløre om basofilien

er reell og om det er andre tegn til myeloproliferativ sykdom. Pasienthistorien illustrerer at man bør ta basofili alvorlig.

I Norge og også i de andre nordiske land er det ofte bioingenører som har som oppgave å vurdere blodutstryk og digitale cellebilder fra automatiserte mikroskop som Cellavision. Bioingeniørene er ofte glimrende på vurdering av morfologi (gjerne bedre enn legene!), men kan mangle den kliniske innsikten. Jeg mener at laboratorieleger i større grad enn i dag bør involvere seg i mikroskopi. Gjennom klinisk erfaring og kunnskap om blodsykdommer, kan leger ha bedre forutsetninger enn bioingenører for å gi råd om videre utredning og oppfølging til rekiventen. Uansett hvem som har denne oppgaven, er det viktig med erfaring i å vurdere blodutstryk og god evne til å kommunisere funn som kan indikere alvorlig sykdom. Vi som jobber på laboratoriet må hjelpe rekiventene med å sortere hvem som bør utredes videre. I noen tilfeller kan man stille en sikker diagnose basert på funn i blodutstryket. Dessuten er mikroskopi gøy og det er stadig noe nytt å lære. De basofile granulocyttene er spesielt interessante – kanskje fordi de er så få og vi fortsatt vet relativt lite om dem. Kall meg gjerne basofil.



Bladvass (*Phragmites australis*) i kvällssolen. Foto: Henrik Alfthan.

- ✓ Økning av basofile granulocytter er sjeldent.
- ✓ Pseudobasofili er vanligere enn reell basofili.
- ✓ Forhøyede basofile varsler at det er trolig dreier seg om en patologisk prøve, og mikroskopi kan avsløre om basofilien er reell og om det er andre tegn til myeloproliferativ sykdom.
- ✓ Pseudobasofili kan sees ved reaktive lymfocytter, abnormale lymfocytter og andre patologiske celler som vanligvis ikke er til stede i blod.
- ✓ Reell basofili er vanlig ved myeloproliferativ sykdom, særlig ved kronisk myelogen leukaemi der basofili ofte er første manifestasjon.

Referanser

1. Savage DG, Szydlo RM, Goldman JM. Clinical features at diagnosis in 430 patients with chronic myeloid leukaemia seen at a referral centre over a 16-year period. *Brit J Haematol* 1997;96:111-6.
2. Fredricks RE, Moloney WC. The basophilic granulocyte. *Blood* 1959;14:571-83.
3. Hagve T. Fra mikroskop til flowcelle. *Klinisk biokemi i Norden* 2007;8:17.
4. Amundsen EK, Henriksson CE, Holthe MR, Urdal P. Is the blood basophil count sufficiently precise, accurate, and specific?: three automated hematology instruments and flow cytometry compared. *Am J Clin Pathol* 2012;137:86-92.
5. CLSI. Reference leukocyte (WBC) differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; Approved standard. 2nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document H20-A2, 2007.
6. Lesesne JF, Benbih M, Lecompte T. Accurate basophils counting: not an easy goal! *Clin Lab Haematol* 2005;27:143-4.
7. Ducrest S, Meier F, Tschopp C, Pavlovic R, Dahinden CA. Flowcytometric analysis of basophil counts in human blood and inaccuracy of hematology analyzers. *Allergy* 2005;60:1446-50.
8. Chirumbolo S. State-of-the-art review about basophil research in immunology and allergy: is the time right to treat these cells with the respect they deserve? *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2012;10:148-64.
9. Bain BJ. Blood cells, A practical guide. 5th edition ed: Wiley Blackwell; 2015.
10. Schroeder JT. Basophils: emerging roles in the pathogenesis of allergic disease. *Immunol Rev* 2011;242:144-60.
11. Davies S, Bain BJ. Basophil counts on the technicon H*1 automated counter. *Clin Lab Haematol* 1996;18:35-8.
12. Gibbs G, Campbell G, Christie I. Pseudobasophilia and the Advia 120. *Hematology* 2009;14:159-63.
13. Jacomo RH, Lozano VF, da Cunha Neto JG, Costa SS. What's the meaning of basophilia in Sysmex XE-2100? *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:415.
14. Hur M, Lee YK, Lee KM, Kim HJ, Cho HI. Pseudobasophilia as an erroneous white blood cell differential count with a discrepancy between automated cell counters: report of two cases. *Clin Lab Haematol* 2004;26:287-90.
15. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E, international consensus group for h. The international consensus group for hematology review: suggested criteria for action following automated CBC and WBC differential analysis. *Laboratory hematology : official publication of the International Society for Laboratory Hematology*. 2005;11(2):83-90.
16. Hager H. Basophilia-is microscopic examination worth the effort? *Int J Lab Hematol* 2012;34:115.

TMA, TTP, HUS – likheter och olikheter

Ola Samuelsson

Redaktör för läroboken Njurmedicin 4:e upplagan 2014, Liber förlag

Docent, Överläkare, Njurmedicin, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, 41345 Göteborg



Den engelska förkortningen TMA betyder ”thrombotic microangiopathy”. På svenska blir det ”trombotisk mikroangiopati”. Det beskriver de typiska förändringar som ses vid mikroskopisk undersökning i de organ som drabbas. Oavsett den bakomliggande orsaken leder TMA till att vissa organ inte fungerar normalt. Orsakerna till TMA är flera och mycket varierande, vilket innebär att TMA är ett syndrom och inte en specificerad sjukdomsidentitet. Definitionen av ordet *syndrom* är ”en typisk konstellation av symptom och fynd som uppträder tillsammans och karakteriseras ett särskilt tillstånd”. TMA-syndromet utgörs av konstellationen: *trombocytopeni, hemolytisk anemi, påverkan på njurarna och/eller centrala nervsystemet* samt förekomst av *fragmentocyter* i blodet.

Trombotisk mikroangiopati kan drabba såväl barn som vuxna. Debuten kan ske akut eller gradvis. Gemensamt för sjukdomar och tillstånd som leder till ett TMA syndrom är att de på något sätt negativt påverkar det celler som är insidan av blodkärlsväggen, dvs. endotelcellerna. Vid TMA skadas dessa celler eller slutar att fungerar normalt. Detta leder i sin tur till att de små blodkärlen, arterioler och kapillärerna, täpps till av små trombocytpluggar och cirkulationen i det drabbade organet sjunker drastiskt. På grund av den påverkade cirkulationen i de små kärlen skadas en del röda blodkroppar och ändrar form från den normala bikonkava formen till fragmenterade delar. Dessa formförändrade cellfragment kan man påvisa i ett vanligt utstryk av perifert blod. Bild 1a och visar hur njurvävnad kan se ut hos en patient som har TMA. I såväl arterioler som i glomeruluskapillärer ses trombmassor. Bild 1b visar ett utstryk av perifert blod med två fragmentocyter.

Historik

Första gången TMA beskrevs kliniskt och histopatologisk var för knappt hundra år sedan. 1924 beskrev

Moschowitz ett fall med en 16-årig flicka som insjuknat med allmän trötthet, blekhet, petechier och hemipares, och som dog i hjärtsvikt efter 14 dagar. Obduktionen visade att hon hade tromboser i arteriolerna och kapillärerna i flera organ inklusive njurarna.

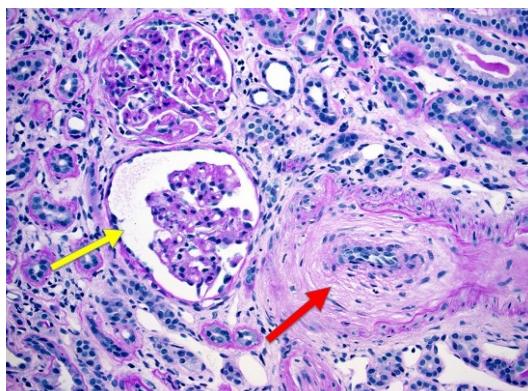


Bild 1 a.

Njurbiopsi från patient med TMA. Liten artärgren med intimal bindvävsökning (fibroplasi) och kraftigt förminskat lumen (röd pil) och sammanfallen glomerulus pga ischemi (gul pil). Omgivande tubuli visar atrofi och förtjockade basalmembran och det finns en begynnande fibros i interstitiet

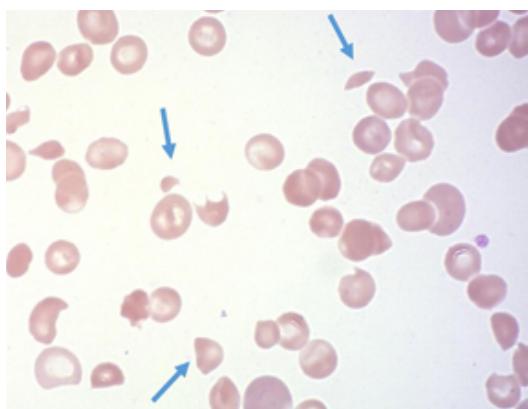


Bild 1 b.

Perifert blodutstryk med fragmentocyter (blå pilar)

Welcome into 2016

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.

EliA Intrinsic Factor Antibody IgG

EliA Parietal Cell Antibody IgG

- Fully automated
- Markers for autoimmune gastritis, Pernicious anemia, B12 deficiency
- Two new markers in the EliA Gastro package

EliA TSH – Receptor antibody IgG (TRAK/TRAS)

- Fully automated
- Based on Human antigen
- Calibrated against new International Reference

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

Trettio år senare, 1955, föreslogs termen hemolytiskt uremiskt syndrom, HUS, hos barn som drabbats av njursvikt, hemolytisk anemi och trombocytopeni. I början av 1960-talet började man misstänka att en infektion låg bakom dessa HUS-fall hos små barn. Det dröjde dock till 1983 innan man med säkerhet kunde identifiera att det orsakades av en bakteriell tarminfektion med *Escherichia coli* och att det var särskilda *E.coli*-stammar som producerade ett specifikt toxin som var "boven i dramat".

1975 beskrevs HUS hos barn utan föregående tarminfektion och att det sågs inom vissa familjer. Fortsatt forskning kunde visa att olika mutationer, förändringar, i specifika gener som kodar för faktorer av betydelse för aktiviteten i komplementsystemet fanns hos dessa barn. Eftersom orsaken inte var en bakteriell infektion benämndes dessa tillstånd för atypisk HUS, aHUS.

I början av 1980-talet gjordes observationer att den så kallade von Willebrand-faktorn var onormalt lång hos patienter med kronisk, återkommande trombotisk trombocytopen purpura, TTP. Trombotisk trombocytopen purpura är ytterligare ett tillstånd som uppfyller kriterierna för ett TMA syndrom. Ytterligare forskning kunde i slutet av 1990-talet fastslå att dessa patienter saknade normal funktion i ett särskilt enzym vars uppgift är att klyva von Willebrand-faktorn ned till kortare längder. Enzymet benämns ADAMTS13.

Orsaker till det trombotiska mikroangiopati-syndromet

Vi vet idag att det finns flera olika bakomliggande orsaker som *primärt* leder till TMA. De ger alla en likartad klinisk bild men såväl de bakomliggande patofysiologiska mekanismer skiljer sig åt som de behandlingsstrategier som blir aktuella. Det kan först delas in i ärfliga, *hereditära*, och i *förvärvade* grundorsaker. Bild 2 visar hur man för närvarande delar in de olika bakomliggande orsakerna till TMA.

Hereditära TMA

De båda ärfliga formerna *metaboliskt medierad* och *koagulationsmedierad TMA* drabbar i de allra flesta fall barn redan före ett års ålder. De insjuknar då i akut njursvikt. Hos dessa barn ses homozygota mutationer i vissa specificerade gener. Behandlingen av metaboliskt medierad TMA består av injektioner med vitamin B₁₂ och folsyra. Barn med koagulationsmedierad TMA behandlas med infusioner av plasma. Trots detta utvecklar de ofta uremi och behöver så småningom njurtransplaneras.

Den hereditära formen av TTP beror på en brist av enzymet ADAMTS13, som i sin tur orsakas av mutationer av dess gen. Som ovan nämnts har enzymet ADAMTS13, som produceras i endotelcellen, till uppgift att klyva de långa formerna av koagulationsfaktorn von Willebrand i kortare bitar. Om en

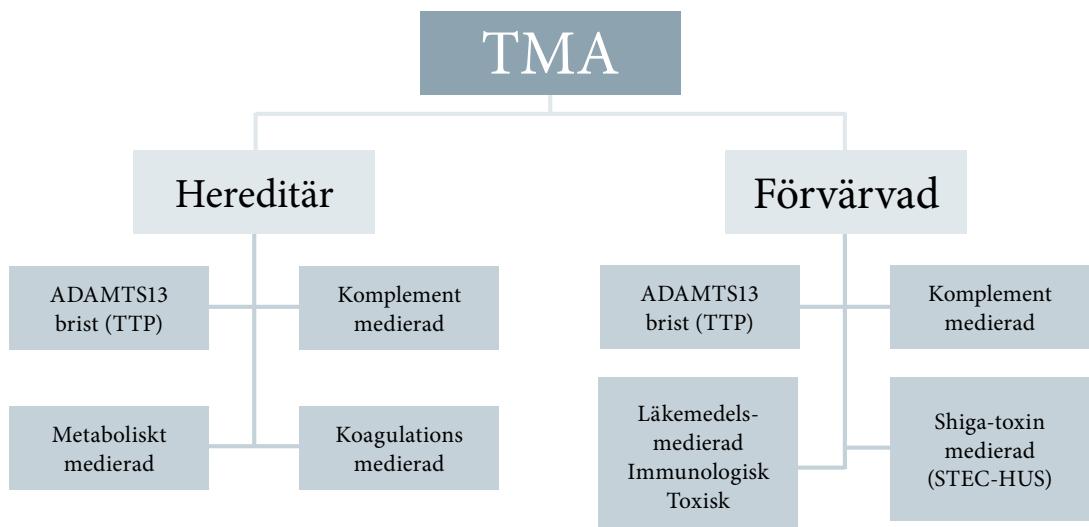


Bild 2. Schematisk indelning i de bakomliggande orsakerna till syndromet trombotisk mikroangiopati.

individ inte har tillräckligt med enzymet kan långa, så kallade multimerer, av denna faktor sitta kvar på endotelet och ”fånga upp” trombocyter som där aktiveras och bildar en ”plugg”. Den täpper då till kärllumen och hindrar blodcirkulationen. Trombocyterna konsumeras när dessa mikrotromber bildas och den kliniska bilden med låga trombocyter och påverkan på drabbade organ uppkommer. Oftast drabbas det centrala nervsystemet med olika neurologiska symtom medan allvarlig njurpåverkan är relativt ovanligt. Behandlingen består i att tillföra enzymet ADAMTS13 i stor mängd. Detta görs genom att tillföra färskfrusen plasma från friska personer via plasmaferes.

Komplementmedierad TMA eller *atypisk HUS* kan orsakas av mutationer i gener som är involverade i kontrollen av den *alternativa komplementvägen* och drabbar oftast barn, men kan även debutera i vuxen ålder. Komplementsystemet är en del av vårt immunförsvar som när det aktiveras skyddar oss mot främmande mikroorganismer. Det kan aktiveras via huvudsakligen två vägar. De är den klassiska vägen och den alternativa vägen. Komplementsystemet är ett mycket komplex system. Väl aktiverat leder det i slutänden till bildandet av ett ”attack-komplex” som skadar den främmande mikroorganismen. Till skillnad mot den klassiska vägen som måste aktiveras av något agens, och bildandet av ett antigen-anti-

kroppskomplex, så är den alternativa komplementvägen ständigt aktiverat på en låg nivå. Det hålls i normala fall under kontroll under inverkan av flera olika faktorer. Om någon av dessa viktiga kontrollerande faktorer saknas eller finns i otillräcklig mängd kan en okontrollerad aktivering ske. Om mutationer finns i någon av dessa kontrollerande faktorer finns förutsättningar för en kontinuerlig, okontrollerad komplementaktivitet som kan leda till skador på kärlväggens endotelceller och utveckling av TMA.

Tidigare har atypisk HUS behandlats med upprepade plasmainfusioner. Sedan 2011 finns en ny effektiv behandling att tillgå. Det är ett av världens dyraste läkemedel, eculizumab, som är en antikropp som blockerar slutsteget i komplementaktiveringen. På grund av att läkemedlets så kallade kostnadseffektivets-kvot bedömdes vara ”långt över vad som kan anses vara rimligt” rekommenderade den Nationella Terapirådet den 1 juni 2015 de svenska landstingen och regionerna att avstå från behandling med eculizumab vid indikationen aHUS. Detta väckte starka negativa reaktioner hos den njurmässiga professionen med bland annat inlägg i Läkartidningen och nyhetsinslag i media.

Förvärvade TMA

Läkemedelsmedierad TMA delas in i de som har sin orsak i en immunologisk reaktion och de som beror



Två huskatter samlar krafter. Foto: Henrik Alfthan.

på en toxisk effekt av läkemedlet. Kinin är det mest kända läkemedlet som orsakar en immunologisk reaktion där antikroppar bildats specifikt mot läkemedlet. Hos en patient som utvecklat sådana antikroppar kan akut njursvikt uppkomma redan efter några timmar efter intag av kinin. Behandlingen är stödjande terapi av den akuta njursvikten och därefter att helt avstå från läkemedlet. Läkemedelsmedierad TMA på grund av en toxisk effekt av ett läkemedel kan uppstå via flera olika mekanismer. Två läkemedel som kan skada endotelet och leda till att trombocyterna klumpar sig samman är cyklosporin och tacrolimus. Båda dessa används som immundämpande läkemedel hos transplanterade patienter. Behandlingsstrategin är densamma som vid immunologiskt orsakad läkemedels-TMA. Det vill säga att sätta ut läkemedlet.

Den förvärvade formen av TTP beror liksom den ärfliga formen på att enzymet ADAMTS13 inte fungerar normalt. Skillnaden är att patienter med den förvärvade formen har utvecklat specifika antikroppar mot enzymet som därför inte finns tillgängligt i tillräcklig mängd fri form att klyva den långa von Willebrand-faktorn (se ovan). Såväl enzymaktiviteten av ADAMTS13 som förekomst av antikroppar riktade mot enzymet kan bestämmas i serum. Därigenom kan man sluta sig till vilken av de två TTP-formerna

som ligger bakom TMA syndromet hos dessa patienter. Behandlingen är att eliminera cirkulerande antikroppar mot ADAMTS13 och samtidigt tillföra enzym från friska personer. Detta görs med plasmaferes med utbyte mot färskfrusen plasma.

En mindre andel av patienter med *atypisk HUS* har ingen påvisbar mutation i någon av de gener som kodar för kontrollerande faktorer av den alternativa komplementvägen. En orsak till förvärvad *komplementmedierad TMA* i dessa fall är att det utvecklats antikroppar mot någon av dessa faktorer. Det leder på samma sätt som vid de hereditära formerna till att aktiveringens av den alternativa vägen kan ske okontrollerat med åtföljande skador på endotelet (se ovan). Faktor H är en sådan faktor mot vilken antikroppar har påvisats. Behandlingen är densamma som vid hereditär komplementmedierad TMA.

Shiga-toxin medierad TMA är den form av TMA som man ofta kallar EHEC-utlöst HUS. Den orsakas av en bakteriell tarminfektion med en *E. coli* stam som producerar så kallat Shiga-toxin. När *E. coli* bakterien sätter sig på tarmslemhinnan transporteras detta toxin in över tarmväggen och ut i cirkulationen. Exakt hur detta sker är ännu inte helt klarlagt. Toxinet skadar sedan endotel i mikrocirkulationen i framförallt njurar och i det centrala nervsystemet. Patienten insjuknar vanligen i buksmärtor och blo-

Behandling av TMA

Hereditära	
ADAMTS13 brist (TTP)	Plasmafusion
Komplementmedierad	Plasmafusion/pkasmaferes, antikomplement
Metaboliskt medierad	Vit B12, folsyra, betaine
Koagulationsmedierad	Plasmafusion
Förvärade	
ADAMTS13 brist (TTP)	Plasmaferes
Shiga-toxin medierad	Stödjande (antibiotika, dialys, resp....)
Läkemedelsmedierad - immunologisk - toxisk	Utsättning av läkemedel, stödjande behandling
Komplementmedierad	Plasmafusion/plasmaferes, antikomplement

Bild 3. Behandling av olika hereditära och förvärvade orsaker till trombotisk mikroangiopati.

diga diarréer och efter några dagar utvecklar han eller hon ett typisk TMA syndrom med akut njursvikt. Den vanligaste *E. coli* stammen som då och då leder till mindre utbrott av ett antal EHEC-HUS fall är av typen O157:H7. Framförallt är det barn som drabbas. Bakterien förekommer normalt hos boskap och smittvägen till människa går via intag av kontaminerat vatten, köttprodukter, grönsaker eller andra livsmedel.

Sommaren 2011 inträffade den mest omfattande och allvarligaste epidemin av EHEC-HUS vi hittills känner till. Det var i norra Tyskland och över 800 vuxna personer insjuknade i HUS. I Sverige rapporterades 53 fall med positiv faecesodling och 17 drabbades av HUS. Detta var importerade fall, dvs. svenskar som rest och smittats i norra Tyskland under maj 2011. Att denna HUS-epidemi blev så allvarlig berodde på att den orsakande bakterien var en särskilt virulent *E. coli* stam av typen O104:H4. I Tyskland rådde stundtals kaos och på flera håll tog man till alla tänkbara behandlingsalternativ. Utöver rent stödjande behandling med andningsstöd och dialys på intensivvårdsavdelning fick många plasmaferes och en hel del gavs även det mycket dyra läkemedlet, eculizumab (se ovan). Noggranna analyser i efterhand har visat att vare sig plasmaferes eller eculizumab har någon plats i behandlingen av Shiga-toxin medierad HUS. Behandlingen av EHEC-HUS är i stället att stödja vitala funktioner tills patienten tillfrisknar. Njurfunktionen restitueras fullständigt hos nästan alla patienter. De neurologiska symptomen går också vanligen helt i regress men kan ta betydligt längre tid.

Sekundära TMA syndrom

Det finns även ett antal olika sjukdomstillstånd som kan ge samma bild som vid ett *primärt* TMA syndrom. Exempel på två sådana är malign hypertoni och preeklampsi/eklampsia. Efter adekvat behandling av blodtrycket respektive förlossning försvinner den kliniska TMA bilden.

Slutkommentar

Inom medicinen liksom i många andra discipliner använder vi oss av många förkortningar. Ibland kan detta skapa viss förvirring. Förkortningen TMA, trombotisk mikroangiopati, är ett samlingsbegrepp för ett antal olika sjukdomstillstånd som leder till en typisk vävnadsskada med typiska kliniska symptom som är desamma för alla. Sjukdomarna TTP och

HUS är exempel på två sådana tillstånd. Orsakerna till TMA är flera. Det innebär att den behandling som blir aktuell för en patient med TMA kan se helt olika ut jämfört med en annan patient och är helt beroende på den utlösande orsaken. De olika behandlingar som är aktuella vid olika orsaker till TMA är sammanfattas i Bild 3.

Artikeln är tidigare publicerad i Vaskulär Medicin 2015;31(3):31-33.

Referenser

1. George JN, Nester CN. Syndromes of thrombotic microangiopathy. New Engl J Med 2014;371:654-666.
2. Back S. Replik till Diana Karpman och medförfattare: NT-rådet vägrar acceptera företagens höga prissättning. Läkartidningen. 2015;112:DI6T.
3. Karpman D. Hemolytiskt uremisk syndrom och trombotisk trombocytopen purpura. Nya rön om EHEC, komplementmutationer och ADAMTS13. Läkartidningen 2008;105:1096-1101.
4. Karpman D et al. Läkartidningen. 2015;112:DI3F och 2015;112:DI7D
5. Kavanagh D, Raman S, Sheerin N. management of hemolytic uremic syndrome. F1000 Prime Reports 2014;6:119(doi:10.12703/P6-1119).
6. Menne J, Nitschke M, Stingele R,et al. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic Escherichia coli O104:H4 induced haemolyticuraemic syndrome: case-control study. BMJ. 2012 Jul 19;345.
7. Nationella Terapirådet. NT-rådets yttrande till landsting och regioner gällande behandling med eculizumab (Soliris) vid atypiskt hemolytiskt syndrom. 1 juni 2015.
8. Samuelsson O, Follin P, Rundgren M, Rylander C, Selga D, Ståhl A. HUS-epidemin sommaren 2011 var allvarlig. Tyska och svenska erfarenheter av EHEC-utbrottet. Läkartidningen 2012;109:1230-1234.

Præcisionsmedicin – ikke lige om hjørnet

Jonna Skov Madsen, overlæge ph.d., Ivan Brandslund, professor dr.med.

Laboratoriecentret, Vejle Sygehus og Syddansk Universitet

jonna.skov.madsen@rsyd.dk

ivan.brandslund@rsyd.dk



Indtryk fra Personalized Medicine World Congress, Silicon Valley, Januar 2016

Nu har jeg forstået hvad det vil sige at have det menneskelige genom til rådighed som viden. Det kan sammenlignes med at man har hele verdens befolknings telefonnumre i en stor bog, men ikke ved hvor de bor, hvad de laver eller hvad de hedder. (Erling Tiedemann)

Adskillige har på det seneste ytret sig i medierne om begreberne Precision Medicine, Targeted Therapy, skræddersyet behandling og Personalized Medicine. Der har dog ikke været indlæg fra de fagfolk, der rent faktisk producerer laboratoriedata til brug i Precision Medicine og på den baggrund og med viden og inspiration fra den nylige verdenskongres i Precision Medicine i Silicon Valley, ønsker vi at gøre nogle ting klart.

Nogle af indlæggene, der har præget debatten i medierne, synes at sætte lighedstegn mellem Precision Medicin og viden om den enkelte patients genom sekvens. Det er ikke fyldestgørende hvis man ønsker at praktisere Precision Medicine og personlig målrettet behandling.

Nødvendig viden

Hvis variationer i gensekvensen skal bruges til noget fornuftigt skal de for det første kunne forbindes korrekt med en bestemt sygdom, og for det andet skal de kunne forbindes med hvorvidt f.eks. et bestemt

lægemiddel har en gavnlig effekt på denne sygdom hos netop denne person.

Denne viden er d.d. ikke til stede i ret stort omfang. Der findes ganske vist flere tusind sygdomme, som er 100 % bestemt af en gensekvensfejl, men de fleste af disse sygdomme er ekstremt sjældne. Typisk beslutter man for hver enkelt sygdom om man vil indføre screening, som det netop er sket for cystisk fibrose og for mange år siden for Føllings sygdom, Fenylketonuri.

Til diagnostik af sygdomme anvender man for øjeblikket rutinemæssigt gendiagnostik af laktose intolerans, ved enkelte tromboosesygdomme og ved diagnosen af glutenallergi i en kombination af væns-typebestemmelse med DNA diagnostik og antistofmålinger. Nogle genvarianter har så høj risiko (60-80 %) for at medføre bestemte cancersygdomme, at man kan forhindre dem ved fjernelse af det truede organ (brystkraeft og æggestokskraeft).

I kombinationen mellem sygdom og medicin findes der for øjeblikket mindre end 100 lægemidler, hvor der er behov for at måle om en given enzymmangel er til stede eller ej, defineret ved en fejl i DNA sekvensen.

Det gælder f.eks. ved medicinsk behandling af en række cancersygdomme, hvor man allerede nu anvender diagnostik af genfejlen (mutationen), men her er det selve cancervævet der undersøges, idet fejlen ikke findes i selve arvematerialet hos personen. Det gælder i dag for under 100 DNA fejl, som så målrettet undersøges på hver cancerpatient med sekventeringsteknologi (Next Generation Sequencing, som efterhånden er rutine på større sygehuse).

Dvs. at man har behov for at have viden om forbindelsen mellem sygdommen, genvariationen og behandlingen for at kunne bruge kendskab om patientens gensekvens til noget som helst. Denne viden skal først tilvejebringes gennem forskning før viden om en persons hele genom sekvens kan anvendes, og i de mange tilfælde hvor valg af behandling baserer sig på diagnostik af genfejl/mutationer i

selve cancervævet, er det faktisk ikke informationen fra personens genom sekvenser der giver nyttig viden – analyserne skal laves jævnligt på DNA fra cancercellerne. En alternativ og ny tilgang er at opnå cancer-muteret DNA fra blodet – og det er også ved at være rutine.

US National Academy of Sciences anfører da også, at Precision Medicine er en metode til at sammenstille og kombinere viden på tværs af et spektrum af biomedicinsk forskning og klinisk praksis. Uanset hvor teknisk eller økonomisk mulig gensekventering er, er det helt utilstrækkeligt til at forstå menneskelig fysiologi og patofysiologi, idet mennesker ikke blot er nittet sammen og ledningsforbundet uden at påvirkninger udefra kan ændre ved dette. Et hvert menneske reagerer på interne og eksterne signaler og det kombinatoriske resultat baseres på et væld af komplekse medvirkende faktorer og interaktioner mellem genetik og biokemi, som definerer det enkelte men-

neskes helbredsstatus og udbrud og forløb af sygdom.

Som anført på konferencen arrangeret af Stanford University og University of California i San Francisco og i øvrigt Oracles nye forretnings spinoff, Oracle Health, er basis for Precision Medicine den samlede viden om gensekvenser, microbiome, miljøpåvirkning, resultater fra kliniske funktionstests samt data indhentet fra patienten selv.

Det ligger ikke lige for at tro, at den enkelte person der ankommer til et hospital, kan få udført personlig skræddersyet behandling. I sin yderste konsekvens vil det betyde at man skal kunne designe et lægemiddel som svarer til personens hele sygdom, diagnose og genetiske variation i proteiner, enzymer og metaboliske produktionssystem. Ganske urealistisk. Det kræver nu engang et vist antal patienter med en afgrænset og definerbar sygdom at finde økonomi til at producere et lægemiddel.



Röd- och blåmire (*Anagallis arvensis* och *A. var. caerulea*). Foto: Alexandra Alfthan.

Økonomi og praktisk gennemførelse

Det er foreslået at sekventere 100.000 menneskers DNA i Danmark og der arbejdes p.t. politisk for at tilvejebringe de 500 mill. kr. som dette måtte koste. Skal dette føres videre og bruges i den enkelte patients behandling, bør der selvfølgelig foreligge helgenom sekvensbestemmelse på samtlige danskere ved indlæggelse. At gennemføre det vil i dag koste op mod 10.000 kr. pr. person, dvs. i Danmark knap 60 mia. kr. og herefter ca. 600 mill. kr. pr. ny fødselsårgang.

Som påpeget på kongressen vil dette ikke blot være en økonomisk udfordring, men det vil også volde store praktiske problemer med datalagring, statistisk analyse og præsentation. Den enkelte patients elektroniske patientjournal ville stige fra i gennemsnit 8 MB til 8 GB data, dvs. med en faktor 1.000. Med de problemer der er med forsinkelser og nedbrud på elektroniske patientjournaler i dagligdagen, er de elektroniske forudsætninger slet ikke tilstede for disse datamængder.

Hvis man forestillede sig sekventeringerne lavet centralt, f.eks. i Kina, vil sekventeringsdata fra hele Region Syddanmarks 1,2 mill. mennesker fylde hvad der i dag svarer til 40-50 tons harddiske. Den side af sagen kunne nok løses, men hertil kommer også en stor opgave med at anskaffe programmel til at vurdere eller præsentere data og ikke mindst at udvikle og teste modeller der kan sætte dem i forbindelse med specifikke sygdomstilstande og/eller korrekt valg af behandling.

Vi har allerede i dag mulighed for at udføre en række undersøgelser der er dokumenteret tilstrækkelig sikre på patienter for at sikre at medicinen virker, at den ikke giver bivirkninger og at den ikke gives, hvis den alligevel ikke virker. Men selv ikke den eksisterende viden er i dag taget i brug i fuldt omfang, f.eks. er det ikke rutine at udføre farmakogenetiske analyser i forbindelse med lægemidler, hvor man ved der er voldsomme, eller endog livstruende reaktioner fra patienter, der ikke kan omsætte et givet lægemiddel. Dette skyldes helt overvejende overvejelser om calculated risk (hvor sjældent sker det og kan det betale sig at lave et vist antal analyser med en vis omkostning for at spare en af disse reaktioner?). Man skal også gøre sig klart, at hvis man vil udfolde den nuværende viden om Precision Medicine for ikke at tale om den kommende viden i fuldt omfang over for den enkelte person på ethvert hospital, kan vi se frem til en mangedobling af analyseaktiviteten på landets laboratorier. Det må landets politikere være indstillet

på at finde finansiering til, hvis løftet til befolkningen fra politisk side er indførelse af Precision Medicine, og ikke kun buzz-words.

Biobanker med enorme datamængder

Præsident Obamas talsmand, direktør i NIH, Kathy Hudson, fortalte da også på kongressen, at præsidentens Precision Medicine Initiative ønskede at fokusere på allerede etablerede biobankers viden om individers sekvenser i kombination med øvrig tilgængelig viden om de pågældende individer.

Der er allerede foretaget helgenom sekventeringer på op mod 1 mill. mennesker tilknyttet Kaiser Permanente Organisationen i USA. De har frivilligt afgivet alle deres informationer til forskning og man kunne jo lægge sig lidt i baghulet i Danmark og vente på hvad der kommer ud af dette og lignende initiativer – og/eller alternativt lave mere målrettet forskning i forbindelsen mellem gener, udsættelser, øvrige markører og sygdom på begrænsede områder frem for at bevidstløst gå i gang med at sekventere en masse mennesker, hvor man ville komme til at mangle data på en række områder.

Ud over det kommer der de særlige danske problemer, hvor der er udtalet beskyttelse af individdata og restriktioner mht. at kombinere data fra forskellige kilder på identificerbare mennesker. Det forudsætter en lovændring før vi i Danmark kan udføre forskning i Precision Diagnostics og targeted medicinsk behandling, hvis det ikke skal være prohibitivt tungt og bureaukratisk.

I England er et projekt allerede afsluttet med 500.000 mennesker i alderen 40-60 år, hvor omfattende undersøgelser er ved at blive udført på dem med henblik at skabe viden om genvariationers betydning for biokemi i sundhed og sygdom, og denne viden er til rådighed for alle til forskning.

Når al denne viden er samlet i databaser, kan udvikles programmer med algoritmer med henblik på præcisionsdiagnostik, forudsigelse af risiko og valg af lægemidler for så vidt tilstrækkelig valide sammenhænge findes. Man anslog ved kongressen, at kun 60 % får effekt af astmamidler, 50 % af midler mod ledbetændelse og kun 25 % af midler mod kræft i dag.

Precision Medicine og skabelse af store mængder data omkring hver enkelt patient skal således gå hånd i hånd med programmel der er i stand til at håndtere store mængder data. I den forbindelse er det også nødvendigt at udvikle hensigtsmæssige måder at

præsentere og kommunikere data på, således at den enkelte patient har en reel mulighed for på et informeret grundlag at vælge f.eks. en given behandling til eller fra.

Der arbejdes i Danmark næsten ikke i dette felt, men det var her Silicon Valley så den store "Business opportunity".

Der var kun fire danskere ved kongressen, de andre to fra et lille dansk softwarefirma.

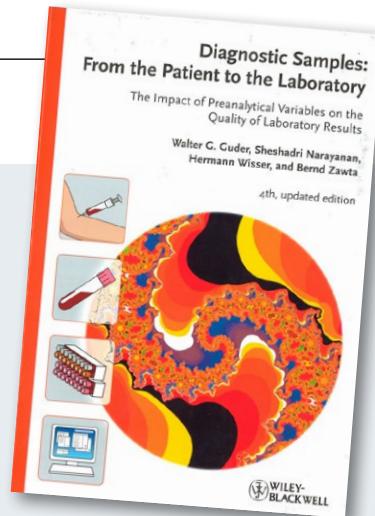
Jonna Skov Madsen er ledende overlæge for Klinisk Biokemisk afdeling, Sygehus Lillebælt og Centerleder ved Institut for Regional Sundhedsforskning, Syddansk Universitet.

Ivan Brandslund er udpeget til European Foundation for Laboratory Medicine's arbejdsgruppe om Personalized Medicine, professor i klinisk biokemi og laboratoriechef ved Sygehus Lillebælt.

Diagnostic Samples: From the patient to the laboratory

Anders Larsson, Klinisk Kemi och
Farmakologi, Uppsala

Det är viktigt för laboratorierna att vara väl insatta i påverkan av preanalytiska faktorer på analysresultaten. Jag sitter för närvarande och bläddrar i den senaste upplagan av *Diagnostic Samples: from the patient to the Laboratory* och kan konstatera att den innehåller en hel del värdefull kunskap. Inte minst kan den användas när vi skall ut och informera alla de som tar prover på sjukhuset och i primärvården om vikten att vara noggrann i den preanalytiska fasen. Det kan ibland vara svårt att övertyga alla våra provtagare inom landstinget om att det är viktigt att vara noga med preanalytiska faktorer. Boken inleds med ett avsnitt där man använder en typ II diabetes patient som exempel är ett bra sätt att exemplifiera vad preanalytiska fel kan leda till. Tydliga figurer där man visar effekter av att dricka kaffe eller alkohol, röka, fasta, träna, inte sitta ner och vila inför provtagningen är också användbara när vi skall ut och informera om vikten av



Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory: The Impact of Preanalytical Variables on the Quality of Laboratory Results, 4th, Updated Edition. Walter G. Guder, Sheshadri Narayanan, Hermann Wisser, Bernd Zawta. ISBN: 978-3-527-32307-4, Wiley-Blackwell

bra preanalys. Provtransport kapitlet är skrivet utifrån regelverket inom EU, vilket gör att det är tillämpligt för oss. Boken innehåller också kapitel med tydliga bilder om kapillärprovtagning respektive hur man hanterar provtagningsmaterial på ett säkert sätt efter provtagningen. De flesta av kapitlen gäller alla typer av provtagning, men det finns också specialkapitel om gentester, läkemedel, antikroppsbaserad diagnostik och endogena antikroppar. Sammantaget är det här en nyttig bok att ha på laboratoriet både för internutbildning och för externutbildning av alla de personer som tar prover på avdelningar och mottagningar.

Fria lätta kedjor i spinalvätska kan på sikt ersätta analys av oligoklonala band i cerebrospinalvätska

Anders Larsson, Klinisk Kemi och Farmakologi, Uppsala



På vårmötet i Klinisk Kemi 2015 som hölls i Örebro, presenterades en poster från Laboratoriemedicin Klinisk Kemi Universitetssjukhuset Örebro, där man jämförde analys av oligoklonala band med analys av fria lätta kedjor i cerebrospinalvätska (1). Man hade analyserat 98 patientprover varav 24 prover hade oligoklonala band och man fann en mycket god överensstämmelse mellan förekomst av oligoklonala band och ökade nivåer av fria lätta kedjor. Det var nog många av deltagarna inklusive jag som fann postern tankeväckande. Ett tydligt exempel på värdet av att delta i våra nationella och nordiska möten inom klinisk kemi.

Proteinelektrofores med isoelektrisk fokusering (IEF) av cerebrospinalvätska och jämförelse med

serum/plasma är en mycket viktig del i diagnostiken av multipel scleros (MS). Förekomst av oligoklonala band i cerebrospinalvätska som ej finns i serum/plasma och/eller förhöjt IgG-index är väletablerade markörer för MS. Förekomst av oligoklonala band är dock ej specifika för MS utan kan även ses vid andra neuroimmunologiska sjukdomar som t.ex. vaskuliter, sarkoidos och SLE men även vid infektioner i centrala nervsystemet (t.ex. Borrelia). Vilken betydelse de oligoklonala banden har för sjukdomsprognos vid MS är något oklart. I en studie från 1996 visade en brittisk forskargrupp att MS-patienter utan oligoklonala band hade en bättre prognos än de patienter som hade oligoklonala band (2). Det var dock en relativt liten studie och en senare svensk studie har inte kunna visa att förekomst av oligoklonala band har någon prognostisk betydelse (3). Även om oligoklonala band är väldigt väletablerat så har metoden

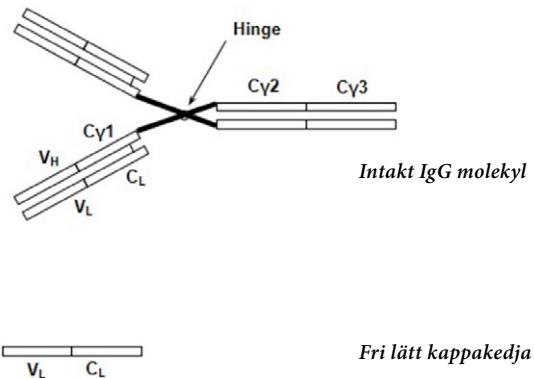


Ljusblå vintergröna (*Vinca difformis*). Foto: Alexandra Alftan.

en del praktiska nackdelar. Den är relativt arbetsintensiv (dyr) och vi har lite olika instrumenteringar på laboratorierna vilket sannolikt innebär att resultaten skiljer sig åt emellanåt, framförallt om vi ser det ur ett internationellt/Europeiskt perspektiv (4). Vi har stora geler, vi har små geler, vi har silverfärgningar, vi har immundetection med anti-IgG (och något lab även anti-IgM) och sannolikt olika antikroppsreaktiviteter över tid. Det gör att det finns en hel del utrymme för interlaboratorievariation vad gäller själva analysen. Sedan har vi säkert en del variation i bedömnningen som tex hur kraftiga banden skall vara för att kallas oligoklonala band och hur många band som krävs för att det skall kallas oligoklonalt. Sannolikt svarar de flesta laboratorier finns/finns inte oligoklonala band möjliga med tillägg som svaga respektive tydliga band dvs vi ger sparsamt med kvantitativa data om de oligoklonala banden. Man kan givetvis undra om en kvantifiering av styrkan i oligoklonaliteten har något kliniskt värde men det är inte orimligt att det skulle kunna ge viss tilläggsinformation. Sammantaget så finns det möjligheter att utveckla/förbättra diagnostiken av oligoklonala band i cerebrospinalvätska.

Det finns tidigare publikationer där man använt ELISA, nefelometri och turbidimetri för att mäta fria lätta kedjor i cerebrospinalvätska. Beroende på den instrumentering vi har på de nordiska laboratorierna och antalet prover per vecka så är ELISA metodiken inte särskilt praktisk. I Norden används numera både nefelometri och turbidimetri för analys av fria lätta kedjor i plasma. En del nordiska laboratorier använder reagens från Siemens och en del reagens från Binding Site för analys av fria lätta kedjor i plasma. Det vore fördelaktigt om man skulle kunna använda samma reagens även för cerebrospinalvätska. Utifrån tidigare publikationer i PubMed så förefaller både Siemens och Bindings Site reagens fungera för ändamålet och jag har svårt att utifrån publikationerna bedöma om någon av dem är bättre än den andra för analys av kappakedjor i cerebrospinalvätska.

Presslauer et al., jämförde oligoklonala band med fria kappakedjor som diagnostiska markörer för MS (5). Totalt omfattade studien 438 patienter varav 70 med MS. Av de 70 patienterna hade 67 förhöjt kapaindex medan 64 patienter hade oligoklonala band och 64 patienter ökat IgG index. Specificiteten för kappakedjor (0,86) var något lägre än för oligoklonala band (0,92) men klart högre än för IgG index (0,77). Samma grupp har också nyligen publicerat en mul-



Figur 1. Intakt IgG och fri lätta kedja. Den fria lätta kedjan består av kostanta (CL) och variabla regioner (VL).

ticenterstudie där man åter jämfört fria kappakedjor med oligoklonala band och där man fann en god sensitivitet och specificitet för fria kappakedjekvoten (6).

Användningen av kappakedjor för att tidigt diagnosticera MS studerades också av Senel et al. (7). De mätte fria kappakedjor med ELISA-metodik och beräknade en kvot mellan cerebrospinalvätska och serum. Studien visade att kappakvoten hade ett något högre positivt prediktivt värde respektive en något lägre prediktivt värde jämfört med oligoklonala bandmönster för att prognosticera utveckling av MS hos patienter med misstänkt MS. Sammanfattningsvis förefaller fria kappakedjekvoten ha ungefär samma specificitet och sensitivitet som oligoklonala band.

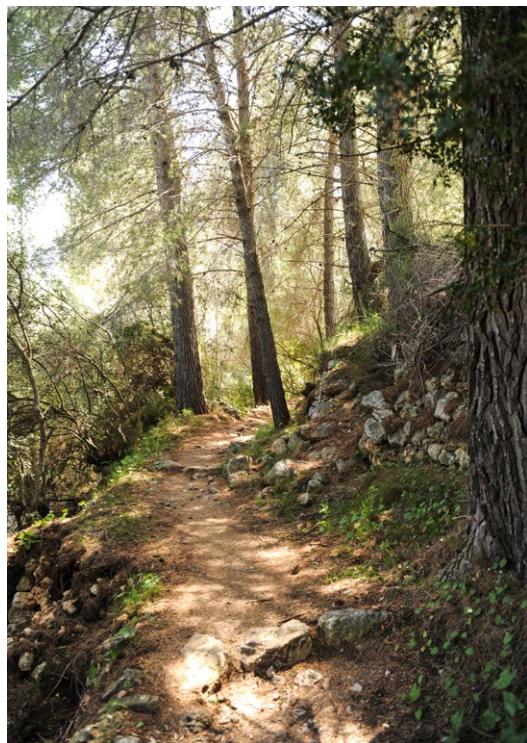
Flera av laboratorierna i Norden har satt upp fria lätta kappa och lamda kedjor som del i M-komponent/myelomdiagnosiken. Det gör att flera av laboratorierna har metoderna uppsatta för i första hand plasma och eventuellt urin. Däremot är det nog inte särskilt många av oss som har använt reagensen för att analysera cerebrospinalvätska.

Om man söker på fria lätta kedjor i cerebrospinalvätska i PubMed hittar man ett 70-tal artiklar och flera av dem handlar just om analys av fria lätta kedjor som alternativ till analys av oligoklonala band i cerebrospinalvätska.

En intakt antikropp består av lika många lätta som tunga kedjor. En IgG molekyl innehåller 2 lätta och 2 tunga kedjor (Figur 1.). Om IgM molekylen är i form av en pentamer så innehåller den 5 antikroppar

dvs 10 lätta och 10 tunga kedjor. De lätta och tunga kedjorna produceras separat och sätts sedan ihop i cellen. I regel bildas ett visst överskott av lätta kedjor i förhållande till tunga kedjor. Detta medför att om vi gör mycket antikroppar (M-komponent eller immunstimulering) så kommer överskottet av fria lätta kedjor ut i cirkulationen där vi kan påvisa dem. Friä lätta kedjor har en molekylvikt på drygt 20 kDa vilket gör att de lättare passerar genom glomeruli. De fria lätta kedjorna tas sedan upp i proximala tubuli vilket gör att vi bara finner låga nivåer av dem i urinen. Eliminationen via njurarna gör att fria lätta kedjor har en kortare halveringstid än intakta antikroppar. Det gör att vi snabbare kan se förändringar i produktionen av lätta kedjor jämfört med intakta antikroppar.

När vi letar efter M-komponenter letar vi efter en enda antikropspproducerande grupp av celler som alla gör samma antikropp/antikroppsfragment. Cellerna gör en unik lätta kedja som antingen är av kappa eller lamda typ. Människor gör ungefär dubbelt så mycket kappakedjor som lamdakedjor. Det innebär att de flesta M-komponenter innehåller kappakedjor.



Vandringsled i Serra de Tramuntana. Foto: Henrik Alfthan.

För att skilja mellan polyklonal Ig-stebring och monoklonal Ig-stebring så använder vi kappa-lamda kvoten. Rör det sig om en polyklonal Ig produktion så bör kvoten ligga runt 2 (med en relativt stor variation) medan en monoklonal Ig-produktion har en kraftigt avvikande kvot. Samma resonemang gäller både för fria lätta kedjor och totala lätta kedjor. Ett problem när vi mäter fria lätta kedjor är att det bildas nästan oändligt många varianter på lätta kedjor för att de skall kunna känna igen alla antigen som vi kan möta i framtiden. Vi har alltså ett mycket stort antal varianter av lätta kedjor och i jämförelse med detta ett mycket begränsat antal detektionsantikroppar i våra analysmetoder. Om våra detektionsantikroppar passar precis ihop med en viss fri lätta kedja så får vi en mycket stark signal men det måste också kunna inträffa någon gång att den lätta kedjan inte alls känns igen av vår detektionsantikropp. Risken är givetvis störst om vi har en enda klon (M-komponent) i provet. Har vi ett stort antal olika antikroppar i provet (polyklonalt/oligoklonalt) så kommer antikropparna alltid känna igen ett stort antal av de lätta kedjorna och variationen minska. Det här är orsaken till att vi i kvalitetssäkringsutskick där vi använder prover från myelompatienter får höga interlaboratorie CV vid analys av fria lätta kedjor. Skulle vi istället skicka ut normalt polyklonalt IgG så får vi betydligt lägre CV. Vill vi använda samma reagens för att påvisa oligoklonal antikropspproduktion så bör vi få lägre variation än när vi analyserar myleomproverna. Det bör innebära att vi får mindre batchvariation och mindre variation över tid om vi följer en viss patient.

Vid immunstimulering så producerar vi både kappa och lamda-kedjor i ökad omfattning. Om vi använder samma reagens för att påvisa immunstimulering så förväntar vi oss att det finns en ökad produktion av både kappa och lamda-kedjor. Det gör att kappa-lamda kvoten bör hamna runt 1-3. Det gäller både i plasma/serum och i cerebrospinalvätska. En oligoklonal antikropspproduktion innebär att det är ett färlit plasmacellkloner som står för produktionen av de lätta kedjorna. Det gör att kappa/lamda kvoten kommer variera mer än vid en polyklonal immunstimulering dvs vi skulle behöva ha bredare gränser för kappa-lamda kvoten för att kunna skilja polyklonal immunstimulering från monoklonal M-komponenter. Vi ser av och till M-komponenter i våra spinalektroforeser som också finns med i plasmaprovet. Det rör sig då i regel om M-komponenter som läckt över

blod-hjärnbarriären. Sådana patienter bör vi i fånga om vi analyserar fria lätta kedjor i både plasma och cerebrospinalvätska och sedan gör en kvot på samma sätt som vi idag beräknar IgG-index. Det gör att vi troligen inte har så stort värde av kappa-lamda kvoten i cerebrospinalvätska som i plasma eller urin.

De flesta publikationerna kring analys av fria lätta kedjor i cerebrospinalvätska har enbart använt sig av analys av kappakedjor. Det blir givetvis billigare att analysera bara kappakedjan, men frågan är om vi missar patienter om vi inte analyserar lamdakedjorna. Om vi gör en statistisk kalkyl och antar att 2/3 av de oligoklonala banden består av kappakedjor och vi har 3-9 oligoklonala band så skulle risken för att enbart ha lamdakedjor i dessa oligoklonala band vara ungefär en på tio (3 band) till en på tusen (9 band). Vi har dessutom ytterligare kloner som vi inte ser i den isolektriska fokuseringen och som också kan innehålla kappakedjor. Det förefaller därför rimligt att anta det kan vara tillräckligt att enbart analysera kappakedjor i cerebrospinalvätska och plasma. Om vi missar någon patient som enbart gör lamdakedjor så kommer de laboratorier som i dag inte analyserar oligoklonala band av IgM-klass i stället med kappakedjeanalyserna hitta fria lätta kappakedjor från patienter som har ett oligoklonalt svar av IgM typ. Vid immunstimulering kommer IgM svaret före IgG svaret vilket gör att ett IgM svar skulle kunna vara en tidigare markör. I forskningssammenhang så kanske det ändå vore intressant att även mäta lamdakedjor för att närmare studera vad en sådan analys skulle tillföra utöver analys av kappakedjor.

För användning av oligoklonala band för MS diagnostik talar att det är en mycket väletablerad metod som vi använt i ett stort antal år. Vi har också en god kunskap baserat på skandinaviska pröver. Fri kappakedjekvoten för MS diagnostik är betydligt nyare och mindre väletablerad. Kappakedjekvoten har dock fördelar som att den är mindre arbetsintensiv, skulle kunna ge kortare svarstider och borde vara lättare att standardisera med avseende på interlaboratorieskillnader. Det är lättare att sätta upp fria kappakedjor än isolektrisk fokusering på ett mindre laboratorium. En övergång till fria kappakedjor kommer därför troligen innebära att det blir fler laboratorier som utför analysen vilket i sin tur medför kortare svarstider.

Ännu så länge har vi inte särskilt stor erfarenhet av hur fria kappakvoten fungerar med skandinaviska pröver. Troligen får vi liknande resultat som man fått

i Österrike, men innan metoden kan bli etablerad i Norden kommer vi att behöva genomföra studier med skandinaviska patienter. Jag tycker det vore av mycket stort värde om vi kunde göra sådana studier vilket är en förutsättning för att vi på sikt skulle kunna ersätta den traditionella isolektriska fokuseringen med snabba analyser av fria kappakedjekvoten för diagnostik av MS.

Jag skulle vilja avsluta med att inbjuda laboratorierna till att göra en nordisk studie kring användning av fria lätta kedjor så att vi kan utvärdera metoden.

Referenser

- Pettersson Pablo P, Bitar M, Karlsson G, Eriksson C-G. Fria lätta kappakedjor i cerebrospinalvätska med Siemens N Latex Kappa FLC. Värmötet i Klinisk Kemi 2015, Örebro. Poster.
- Zeman AZ, Kidd D, McLean BN, Kelly MA, Francis DA, Miller DH, Kendall BE, Rudge P, Thompson EJ, McDonald WI. A study of oligoclonal band negative multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1996;60:27-30.
- Imrell K, Landtblom AM, Hillert J, Masterman T. Multiple sclerosis with and without CSF bands: Clinically indistinguishable but immunogenetically distinct. Neurology 2006;67:1062-4.
- Franciotta D, Lolli F. Interlaboratory reproducibility of isolelectric focusing in oligoclonal band detection. Clin Chem 2013;53:1557-8.
- Presslauer S, Milosavljevic D, Brücke T, Bayer P, Hübl W. Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis. J Neurol 2008;255(10):1508-14.
- Presslauer S, Milosavljevic D, Huebl W, Aboulenein-Djamshidian F, Krugluger W, Deisenhammer F, et al. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study. Mult Scler 2015 Jul 21. pii: 1352458515594044. [Epub ahead of print]
- Senel M, Tumani H, Lauda F, Presslauer S, Mojib-Yezdani R, Otto M, Brettschneider J. Cerebrospinal fluid immunoglobulin kappa light chain in clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. PLoS One 2014;9:e88680.

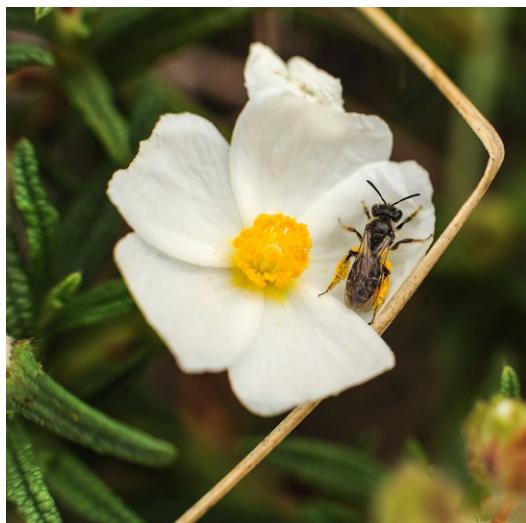
Avhandling: Hjärtinfarktdiagnosen kan fördöjas på grund av autoantikroppar i blodet

Tanja Savukoski, Åbo universitet Institutionen för biokemi / Avdelningen för bioteknik
tanja.savukoski@utu.fi



Hjärtinfarkt är en plötslig sjukdom som orsakas av en plötslig brist på syre, eller ischemi i hjärtat, i vilket en del av hjärtmuskeln skadas permanent. En snabb kartläggning av situationen, vilket gör det möjligt att utan födröjning påbörja behandling, är av avgörande betydelse för dessa patienter. Genom snabb behandling kan omfattningen av en permanent muskelskada begränsas och således förbättra patientens prognos.

Hjärtinfarktdiagnosen grundar sig enligt de nuvarande kriterierna på kliniska fynd och/eller EKG-fynd samt i samband med dessa uppmätta troponinkoncentrationer i blodet. Troponinerna är reglerproteiner, vilka styr sammandragningen i skelettmuskaterna. De hjärtspecifika varianterna troponin I och T, frigörs i blodströmmen endast då



Cistus (*Cistus monspeliensis*) och en pollinerare.
Foto: Henrik Alftan.

hjärtmuskelceller skadas. Koncentrationen av dessa former kan mätas med hjälp av specifika immunologiska metoder.

Även om ett positivt troponinitestresultat är den mest känsliga indikatorn för hjärtskada, kan olika störande faktorer i blodomloppet snedvrida dessa viktiga laboratorieresultat vid diagnos av hjärtinfarkt. Avhandlingen fokuserade på en sådan störande faktor, autoantikroppar som känner igen troponiner, och i synnerhet effekterna av dessa på troponin I-metoder.

Var tionde individ har autoantikroppar mot troponiner

Antikropparna är en del av organismens försvarssystem, vars huvuduppgift är att bekämpa en mängd olika patogener. När antikropparna är felaktigt riktade mot kroppens egna strukturer talar vi om autoantikroppar. Även om autoantikropparna är involverade i uppkomsten av vissa autoimmuna sjukdomar förekommer de även hos friska individer.

Auto-antikroppar som känner igen troponiner binder till antingen troponin I eller troponin T. Av de personer som söker akuten på grund av en misstänkt hjärtattack, har nästan var tionde sådana autoantikroppar i blodet. Dessa orsakar falskt låga troponinkoncentrationer när de binder till samma epitoper som de analytiska antikropparna som används i bestämningsmetoderna för troponin. Falskt negativa troponinresultat kan i sin tur kan fördöja diagnos av hjärtinfarkt och i värsta fall leda till en felaktigt sända hem patienten.

Auto-antikropparna mot troponin är en mycket heterogen grupp av antikroppar riktade mot olika epitoper på troponinmolekylen. Vanligtvis känner dessa igen mittpartiet av molekylen. Resultaten från olika analyskonfigurationer visade att de antikroppar vilka är riktade mot mittpartiet påverkas av störningar som orsakas av autoantikroppar och att

man kan påverka dessa störningar genom rätt val av antikroppar.

Genom att använda antikroppar, vilka är mindre känsliga för autoantikropparnas påverkan kunde vi i detta arbete utveckla en förbättrad version av en tidigare publicerad metod för detektion av autoantikroppar samt en helt ny troponin I-metod fri från störning av autoantikroppar. I denna känsliga troponin I-metod (LOD 2.9 ng/L; 18% av friska har mätbara troponinkoncentrationer) används tre solidfasantikroppar, vilka känner igen aminoterminalen, den centrala delen och karboxyländan av molekylen, samt en märkt antikropp som känner igen karboxyl-terminalen. Även om konfigurationen inte lämpar sig för rutinmässigt bruk på grund av långa inkubations-tider, kan de utvecklade immunologiska metoderna i detta examensarbete ge analytiska verktyg som

möjliggör klinisk utvärdering av troponinspecifika autoantikroppar. Dessutom kan analyserna hjälpa till att klargöra autoantikropparnas etiologi och potentiella patologiska effekter.

Doktorsavhandlingen "Cardiac troponin specific autoantibodies: Analytical tools for exploring their impact on cardiac troponin I testing" (Hjärttropo-nin-specifika autoantikroppar: analytiska verktyg för utforskning av inverkan på analysmetoder för hjärttropo-nin I) hör till området molekylär bioteknik och diagnostik. Avhandlingen granskades vid naturvetenskapliga fakulteten vid Åbo universitet den 17 oktober 2014. Opponent var professor Alan Wu från University of California och kustos professor Kim Pettersson från Åbo universitet. Doktorsavhandlingens handledare var professor Kim Pettersson och FD Sarah Wittfooth.



Sommarsnöklocka (*Leucojum aestivum*). Foto: Henrik Alfthan.

Den vandrande vetenskapsmannen: Den kliniska kemins syskonskap får sig en internationell validering

Per Simonsson

Siemens Healthcare AB

per.simonson@siemens.com



Vi kliniska kemister ingår i ett globalt syskonskap, förenade som vi är i vår biokemiska kompetens, i vår kamp mot sjukdom, död och lidande. Medan andra specialiteter måste släss med olika lingvistiska hinder så har vi ett gemensamt språk, det periodiska systemet och alla de permutationer som det möjliggör. Medan psykiatritiker måste försöka översätta begrepp som ”kroniskt utbrändhetssyndrom” eller ”sekundär sjukdomsvinst” till främmande språk kan vi bara rabbbla lite IUPAC-nomenklatur. Och vara säkra på att inte bli missförstådda.

Så när jag nu angjort San Sebastián de La Gomera några gånger är det dags för lite kollegialt kontakt-sökande. Jag vet inte hur många kliniska kemister det finns på denna lilla ön med 24 000 invånare men laboratorium finns det. Det ser man så fort man angjort hamnen.

Det känns tryggt för en labmedicinare att ligga för-töjd i La Gomera. Vågbrytaren är monumental. Och, än viktigare, när den vandrande vetenskapsmannen sticker upp huvudet ur kajutan efter dagens förfat-targärning möts han av en stor skylt: LGS ANÁLISIS.

Ett lab i varje hamnkvarter borde helt klart vara ett mål för IFCC och NFKK. Närhet, tillgänglighet. För skepparen på SY ISIS känns det också tryggt att hamnens laboratorium delar namn med min skuta. Det bådar gott. Här finns säkert kollegor som väntar på att bli mina vänner.

LGS ANÁLISIS ligger på andra våningen nere vid hamnen, över Café El Muelle, och under Restaurante Caprichos. Praktiskt, mellan två utskänkningsställen, med fullständiga rättigheter, och generösa öppettider, ifall patienten skulle känna sig lite matt efter flebotomin.

Dit går jag en sen förmiddag när jag misstänker att morgonrusningen är över. Det är den. Tydligen är patienter lika morgonpigga här som hemma. Klinisk kemi är i sanning en global specialitet, internationellt standardiseras.

En trevlig dam hälsar mig välkommen, när jag väl lyckats förklara att jag är svensk läkare med klinisk kemi som specialitet. Hon visar stolt runt i de ljusa, nya rummen. Fin provtagningsstol. Där kan det sitta mer än 50 patienter på en förmiddag. Men ibland är det betydligt färre. Det verkar vara en sådan dag idag. Det är det nog rätt ofta. Hon har tid för mig. Invid provtagningsstolen står ett stål bord med provtagningsutrustning, korkar i alla de välkända färgerna.

- Samma färg som i Sverige, lyckas jag få fram på min pidginspanska.

Hon ler glatt och visar mig några patientnära instrument.

- Samma som i Sverige.

Där står till och med en HemoCue.

- HemoCue, en svensk produkt.

Hon nickar, det visste hon nog inte. Att den kommer från Sverige, från Skåne.

- Jag bor nära fabriken.

Det är en djärv mening, alltför djärv för min spanska. Det syns att hon inte förstår. *Factoria*, visar det sig när jag konsulterar lexikon ombord, betyder inte alls fabrik, utan handelstop, en sån som La Gomeras kände besökare Cristobal Colón lätt uppföra i olika amerikanska utposter. Och där brukar inte svenska kliniska kemister bo, inte ens jag.

- Vart skickar ni proverna?

- Många skickar vi till Tenerife.

- Går bra?

- Si, si.

- Med båten?

- Si, no problemas.

Fattas bara, kan vi skicka blodprover helskinnade genom den nordiska nattens polarkyla klarar väl de flesta analyter en timmes preanalytisk vaggning på Atlanten.

- Inget lab på La Gomera?

- Si, på sjukhuset. Dit skickar vi många vanliga prover.

- Det finns sjukhus på La Gomera?

Det är klart att det måste finnas ett sjukhus på varje ö, speciellt så här långt ute i yttersta havsbandet. Sjukhus med förlossning och akutmottagning. Och lab. En mänsklig rättighet. Men jag har aldrig sett det, trots att byn bara har tre gator.

- Var är sjukhuset?

Hon pekar inåt bergen.

Jag tackar och vi skiljs med många hjärtliga *Hasta luego*. Det känns härligt att ingå i labmedicinens globala syskonskara, där vi alla är vänner, god och glada vänner.

Det är inte lätt att bygga sjukhus på La Gomera, som mest består av raviner, klippor och vulkaner, i alla

fall inte om man vill ha ett sjukhus i horisontalplan. Och det brukar ju underlätta sjukvårdens processer. Så de har byggt det nya sjukhuset en bra bit uppför dalen, på en jämn plätt intill fotbollsplanen, som också brukar kräva horisontellt underlag.

Dit går jag. Ur den lilla staden, inte mer än en by, en bra bit, säkert en halvtimme. Där ligger Hospital de La Gomera, en fräsch, ljusgrå låda, helt horisontellt.

Nu skall jag fraternisera mig med den lokala labmedicinen, La Gomeras, hjältarna i Atlantens stormiga farvatten, höra hur de klarar sig, dessa släktningar till kollegorna på Färöarna och Åland. De som fixar saker själv, självförsörjande. Detta kan bli intressant.

Receptionisten bakom disken i den öde entréhallen välkomnar mig med ett leende. Detta både gott. Jag presenterar mig och undrar var laboratoriet ligger.

- Bara gå nerför gången där, rakt fram.

Det gör jag. Med säkra steg. Fram till laboratoriets receptionist. Hon som regerar över väntrummet, som ligger helt öde.



SY Isis förtöjd i San Sebastian de La Gomera, i nära anslutning till det lokala laboratoriet LGS ANÁLISIS, i den vita byggnaden på kajen. (Foto: Per Simonsson)

Där blir det stopp. Totalstopp.

Det ser jag redan på blicken. Här är det inte tal om syskonskap. Inte om den gemenskap som IFCC och EFLM och EU garanterar, Schengen också, i vart fall om man inte är asylsökande.

Kassaskåpsstopp.

Jag stammar en hälsning, klämmer i med både *Buenos tardes* och *Que tal*. Får mumlande svar. Här går det inte att köra med valda utdrag ur periodiska systemet. Så jag stammar min presentation, och får alla verben fel.

- Jag vara turist. Jag komma från Sverige. Jag är klinisk kemist.

Jag vet inte vad "who cares?" heter på spanska – i Malmö säger vi "A-va-då-då?" - men det är precis vad damen säger med en enda tyxtblick.

- Jag vill titta på laboratoriet. Visitera...

- Är ni sjuk?

- Nej, turist.

Inget svar. Hon tittar på mig. Svarta kortbyxor, svart tröja från Blodcentralen, med GE BLOD – RÄDDA LIV! Skrivet på alla kulturspråk, från finska till arabiskan. Det ser hon, den arabiska kalligrafien. Och ryggsäcken och solglasögonen.

Här är det nog bara att dra, bums, erkänna sig slagen men jag tycker inte om att erkänna mig slagen. Jag tror djupt och innerligt på betydelsen av internationella samarbeten. Jag vill riva gränser, lära av andra. Jag är här för att skapa intressanta relationer. En sur receptionist skall inte stoppa mig. Och är man en *party crasher* så får man inte ge upp inför första bästa dörrvakt.

- Förstar jag?

Shit, fel verbform. Inte ens presens klarar jag av. När jag skulle vilja ge henne en föreläsning på bildad kastilianska om att vi alla är del av den kliniska kemins familj, och medlemmar av EU, som för övrigt finansierat hamnen och hospitalet och alla vägarna över vulkanerna och som står för fri rörlighet av pengar, tjänster och sura receptionister.

- *Poco*.

Då minns jag mitt visitkort. Det ger i vissa kulturer en trovärdighet. Jag gräver fram min etui och räcker henne kortet. Hon läser länge, antagligen på den svenska språkiga sidan, men jag tror inte hon förstått mer av den engelska.

Hon nickar, misstänksamt.

Men hon rör sig, för första gången. Motsträvigt lämnar hon receptionen för konsultation med över-

ordnad. Detta måste förankras med högre ort någons stans nerför den öde korridoren som hon bevakat med sin kropp.

- Vänta här.

Jag slår mig ner och undrar varför jag inte sitter med en *café solo* på Café Cuba Libre medan kubanskornas spelar favoritlåtar från ön på andra sidan havet.

En bra stund senare kommer hon tillbaka. Jag ler lika älskvärt som tidigare. Hon skall inte klå mig så lätt, jag har klarat av värre *gate keepers* i mina dar.

- Ni skall inte sälja något?

- Nej, nej, jag är turist. Och klinisk kemist.

Hon tittar på mig igen och undrar för sig själv vad jag gör här om jag nu har semester. Och inte är sjuk. Och inte vill sälja något. Nu borde jag bara tyxt stirra tillbaka med det kan jag inte.

- Jag är sjöman och har en båt i hamnen. En båt med segel.

Detta är nu bortom hennes fattningsförmåga, och antagligen många andras också. En sjöman, en läkare, en klinisk kemist, från fjärran strand. I svarta shorts och svart tröja med en massa oförståeliga ord på. Och arabiska tecken.

Nägonting är fel, helt tokigt.

- Vänta, säger hon igen.

Det är fortfarande lika fridfullt i väntrummet. Inte en enda patient vill följa upp sitt HbA1c.

- Vi ringer, säger hon när hon återkommer efter konsultation med högre ort.

Då ser jag mig själv. En främling, en osammanhängande historia, omöjlig att förstå. En turist som vill besöka ett lab, utan att vara sjuk. En man klädd i svart tröja med vita arabiska bokstäver, sådana som man ser på TV, kvällsnyheter, de svarta flaggorna med de vita arabiska tecknen fladdrande från framrusande jeepar, över sand och ruin. Framför henne står en man med ryggsäck, med solmogen papaya, svarta små potatis, lök, slaktarens bleka korvar. Men det vet hon inte. Hon ser bara en svartklädd man, och en ryggsäck, med plats för 10 kilo trotyl.

Kanske har hon gått sjukhusets säkerhetskurs. I så fall, tryck på knappen! Den stora röda larmknappen du har bakom disken. Den som kallas på *policia local, protección civil, guardia civil*. Tryck på knappen! Allt annat är tjänstefel. Allt annat än orsak till uppsägning. Tryck på knappen! Du kommer att bli hjälte. De kommer att flyga dig hela vägen till kungliga slottet i Madrid och du kommer att få medalj ur regentens

hand, drottningens, det coolaste som hänt Spanien sen Paloma Picasso.

De kommer med största sannolikhet besluta sig för att anlägga massiv verkningseld genom glasvägen, en väl inövad avrättning, profylaktisk, innan jag hinner trycka på ryggssäckens utlösningsmekanism. Höghastighetsvapen, finkalibrigt. En träff räcker. En träff nog för omedelbar död, *mors subita*. Jag vet hur det ser ut, minns från Sjöbefälsskola när vi sköt grisén med ett enda skott. De kommer inte att ge sig förrän de gjort vad de brukar mot pojkkarna som vrålar på de flaggprydda jeeparna.

Tryck på larmknappen och kasta dig under receptionen, som de lärde dig på säkerhetskursen för receptionister. Blunda och håll för öronen. Detta är inget jag vill att någon skall tvingas uppleva. Ligg sen still medan den fjärrstyrda roboten kravlar in på

laboratoriets provtagning och genomsöker resterna av min ryggssäck: Papaya, slaktarens korv, lök.

Hon tar mitt visitkort, med ett internationellt telefonnummer som mycket väl kan leda till en mobilkopplad bomb. Tar kortet men säger inget, gör inget. Trycker inte på stor röd knapp. Skadan är ändå för längesedan skedd.

Vi är alla redan misstänkta och misstänkare. Misstänkliggörare och misstänkliggjorda.

En skyld visar mot cafeteria, som är lika övergiven som sjukhuset i övrigt. Tortillan är mer potatis än ägg, ter sig tillredd av öns dietist. Jag bläddrar i en veckogammal tidning, lämnar minimalt med dricks och ger mig av. I entréhallen möter jag receptionisten på väg hem. Hon nonchalerar mig. Jag ser bort.

Skadan är ändå för längesedan skedd.



Knölsvanar (*Cygnus olor*) på flygtur i Sibbo senaste höst. Foto: Henrik Alfthan.

Til manuskriptforfattere

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;49:483-8. 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), Petra Anttila (Seinäjoki), Tommi Vaskivuo (Uleåborg), Ísleifur Ólafsson (Reykjavík), Leifur Franzson (Reykjavík), Tor-Arne Hagve (Oslo), Yngve Thomas Bliksrud (Oslo), Per Bjellerup (Västerås), Ola Hammarsten (Gothenburg), Lutz Schwettmann (Ålesund). **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 Borgstrøm 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

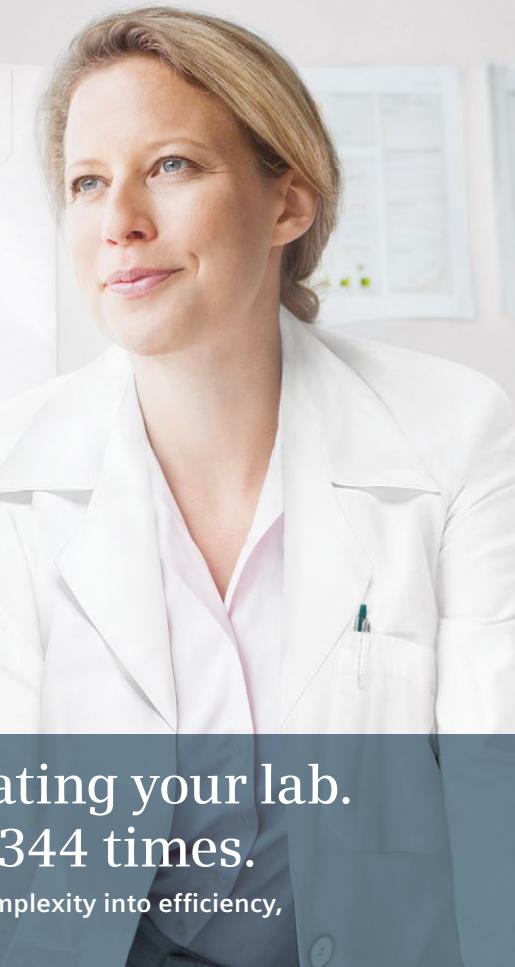
Sjukhuskemist Henrik Alftan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB
Topeliusgatan 35
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
henrik.alftan@hus.fi

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 1344 times.

At Siemens, we have the most experience turning complexity into efficiency, helping you drive better outcomes.

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 is 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 apply best practices and leverage Siemens' proprietary database of sample-processing rules to streamline operations. Our teams are equipped with established analytical tools to set achievable benchmarks for throughput, TAT, staffing, and resource utilization.

We perform periodic, data-driven evaluations that help you continually improve productivity throughout our years of partnership.

And by being the only single-source provider able to connect all four key laboratory disciplines—chemistry, immunoassay, hematology, and hemostasis—to the automation track, we can help reduce interoperability issues, ensuring a more integrated and efficient overall solution.

Laboratory automation can be complex, but having completed more than 1344 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.