

Klinisk Biokemi i Norden





SHORTEN TIME TO DIAGNOSIS



» THE ACCESS hsTnI ASSAY

Accuracy. Sensitivity. Speed.

Minutes matter when symptoms suggest acute myocardial infarction (AMI). Access hsTnI can speed patient decision making by identifying $\geq 94\%$ of true AMI patients in **as little as sixty minutes after patient presentation**.

The Access hsTnI high-sensitivity troponin I assay offers better precision than standard troponin assays, rapidly detecting even very low levels of troponin to support efficient care for cardiac patients.

Speak to your ED physicians today and start on the path to better cardiac patient care.

Learn more about achieving excellent diagnostic accuracy with high sensitivity Troponin assays: <https://webinars.on24.com/bec/Troponin>

© 2018 Beckman Coulter, Inc. All rights reserved. Beckman Coulter, the stylized logo and the Beckman Coulter product and service marks mentioned herein are trademarks or registered trademarks of Beckman Coulter, Inc. in the United States and other countries.

For more information, visit www.beckmancoulter.com/ami

AD-147703



Move healthcare forward.

INDHOLD

Leder: Antibiotikaresistens - vad kan vi göra på laboratorierna?	4
<i>Anders Larsson</i>	
Ordförerspalt	6
<i>Henrik L. Jørgensen</i>	
The 37 th Nordic Congress in Medical Biochemistry June 9-12 2020 in Trondheim, Norway	8
<i>Gunhild Garmo Hov, Gustav Mikkelsen</i>	
Pediatrika referensintervall – sammanslagning av danska och svenska studier	10
<i>Peter Ridefelt, Linda Hilsted, Pål Rustad</i>	
Standardisering af assays for 25-hydroxyvitamin D; hvor er vi nu?	16
<i>Niklas Rye Jørgensen, Lise Nørkjær Bjerg</i>	
Rapportering av mätresultat. Siffror, decimaler och sån't.	22
<i>Anders Kallner</i>	
Hemolysis interference studies	26
<i>Gro Gidske, Una Ørvim Sølvik, Sverre Sandberg, Gunn Berit Berge Kristensen</i>	
Hematologi, ett laboratorieområde som kanske står inför stora förändringar	30
<i>Anders Larsson</i>	
Automatiserad metod för screening av Duchennes muskeldystrofi hos nyfödda genom blodprov.	36
<i>Teemu Korpimäki, Liisa Meriö, Pauliina Mäkinen, Anne Timonen och Hanna Polari</i>	
Intervju: Laboratorielegen som lærte seg norsk på Skype og flyttet over 900 mil for en ny jobb.	42
<i>Helle B. Hager</i>	
Centrallaboratoriet på Rigshospitalet, en film fra Poul Astrups tid	46
<i>Henrik L. Jørgensen</i>	
Ett litet tips som kanskje kan hjelpe då man har små provvolymmer.	49
<i>Anders Larsson</i>	

Omslagsbild: "The Portal of Happiness" on the Old Town Bridge in Trondheim. Studies show that you are likely to be more happy after walking under the portal than before. Photo: Aziz Nasuti.

Leder:

Antibiotikaresistens - vad kan vi göra på laboratorierna?

Anders Larsson

anders.larsson@akademiska.se



Antibiotika har räddat oerhört många liv sedan det introducerades för närmare 100 år sedan. När penicillinet kom så gav man doser om 10.000 enheter vid sepsis och det var effektivt. I dag innehåller en vanlig penicillintablett ofta 1 miljon enheter. Vi har alltså kraftigt

ökat doserna av penicillin. Problemet är att vi ser en ökad resistens mot antibiotika som gör att behandlingarna blir ineffektiva och det går inte öka doserna hur mycket som helst för då riskerar patienten att drabbas av biverkningar. Det går alltså inte att fortsätta öka doserna och det är i princip inga nya antibiotika som kommit ut i kliniska prövningar under de senaste åren. Det gör att vi inte kan räkna med att det kommer helt nya antibiotika under den närmaste tio-årsperioden. Antibiotikaresistens anses vara ett av de största hoten mot folkhälsan och ett problem som blir allt vanligare i hela världen. Norden är ännu så länge relativt förskånade från antibiotikaresistens jämfört med andra delar av världen. Om vi tittar på frekvensen meticillinresistenta stafylokocker, som ofta kallas för sjukhussjuka, så är den betydligt lägre i Norden än övriga europeiska länder (se figur).

Vi i Norden kan inte sitta med armarna i kors och säga att det ju ändå är bättre hos oss än i de flesta andra länder, utan vi måste arbeta aktivt för att motverka utvecklingen av antibiotikaresistens på hemmaplan. Nyckeln till att bekämpa antibiotikaresistens är bland annat en god användning av antibiotika i sjukvården. Vi måste ha fokus på rätt användning av antibiotika och framförallt undvika onödig behandling. I praktiken innebär det att vi enbart skall behandla bakteriella infektioner med antibiotika.

Här kommer vi på laboratorierna in. Vi behöver bistå med metoder som kan skilja mellan infektioner som orsakats av bakterier och infektioner orsakade av svampar och virus. Infektioner är också akuta tillstånd vilket innebär att vi behöver kunna tillhandahålla analysresultaten med korta svarstider. I dag har vi CRP

som vi i regel kan tillhandahålla med korta svarstider oavsett om analysen utförs på det större laboratoriet eller som patientnära analys i primärvården. Jag tror att en viktig orsak till att vi i Norden har ett bättre resistensläge är användningen av CRP som gör att antibiotikabehandlingen är bättre inriktad mot bakteriella infektioner än tex i Sydeuropa. Kartan över MRSA förekomsten stämmer väldigt väl överens med användningen av CRP. CRP är bra, men vi kanske kommer behöva något som är ännu bättre på att skilja mellan bakterier och virus. Personligen tror jag att neutrofilmarkörer skulle kunna vara bättre än CRP på att skilja mellan bakterier och virus. Vi pratar då om markörer som tex NGAL/HNL och kalprotektin mätt i plasma. För att vi skall kunna använda dem optimalt så skulle vi behöva patientnära analyser av dessa markörer på samma sätt som CRP. Andra markörer som skulle kunna vara intressanta är tex heparinbindande protein (HBP) eller procalcitonin. Personligen tror jag inte riktigt på procalcitonin, men det är ju min åsikt. Oavsett markör behöver vi utvärdera dem för att se om de är bättre än CRP.

Det är givetvis ännu bättre om vi kunde diagnostisera vilken mikroorganism som patienten har. För att det skall vara riktigt effektivt så skulle vi behöva svar på vilken mikroorganism som orsakar infektionen inom 1-2 timmar och helst inom 10 min. Det är inte någon lätt uppgift, men det pågår en hel del forskning inom området. Ett exempel på detta är Q-linea i Uppsala som utvecklat ett system för den här typen av diagnostik och det finns en hel del ytterligare bolag som jobbar med sådan utveckling. Problemet är vad som händer när de väl får fram metodiken. Var placerar vi instrumenten om vi har tillgång till den här typen av snabba tester? Det naturliga stället hade varit mikrobiologen, men de flesta mikrobiologilab är stängda nattetid, dvs det blir långa svarstider och metoderna förlorar möjligheterna till snabba svar. När vi ser på sjukvårdskostnaderna i Sverige, så är det nog mindre sannolikt att mikrobiologlabben kommer att få dygnet runt-bemanning, utan de här instrumenten kommer

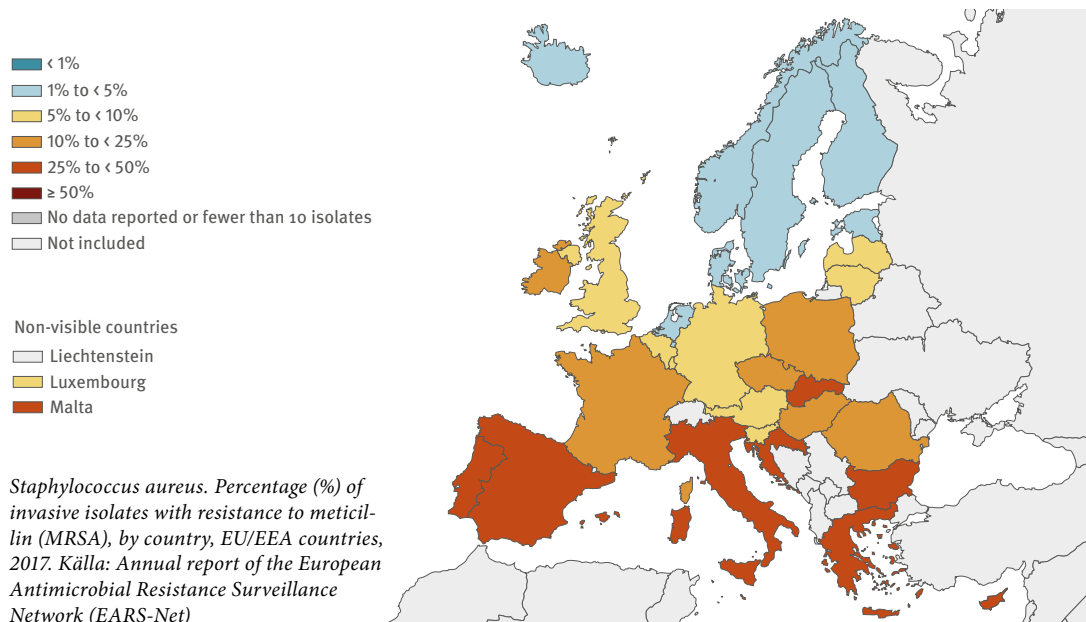
troligtvis antingen placeras på klin kem laboratorierna eller patientnära. Eftersom det är relativt komplexa instrument så tror jag att de hamnar på kem labben åtminstone initialt. Det här är något som vi bör förbereda oss för så vi är beredda när vi får de här kraven från våra sjukhusledning.

När man sedan börjar ge antibiotika så är det viktigt att patienterna får rätt dos för att vi snabbt och effektivt kan ta död på bakterierna. Flertalet av antibiotika elimineras via njurarna, vilket i sin tur troligen kommer att leda till ökade krav på GFR bestämningar med korta svarstider. Inom sjukhusen kan vi i dag ge snabba svar för kreatinin och cystatin C beräknat GFR, men svarstiderna i primärvården är betydligt längre för GFR bestämningar. Det gör att jag tror att antibiotikaresistensproblematiken kommer leda till ökade krav på patientnära GFR metoder i primärvården.

GFR mätningarna är intressant när man börjar antibiotikabehandlingen, men sedan kommer intresset mer att fokuseras på antibiotikakoncentrationen. De flesta laboratorier kan i dag snabbt koncentrationsbestämma några få antibiotika som tex Gentamicin. Huvuddelen av antibiotikaanalyserna utförs på specialiserade laboratorier i Sverige. Uppsala skickar proverna i första hand till Stockholm, men hur användbart är det egentligen för att styra behandlingen? Vi tar provet och skickar det med post/buss vilket gör att provet kommer till Stockholm ett dygn senare. Sedan

är laboratoriet bara öppet kontorstid och analyserna utförs med masspektrometrisk teknik vilket gör att det tar flera dagar innan vi har svaret. Forskningsmässigt kan det vara intressant, men det har ett ganska litet värde för att styra antibiotikabehandlingen för den enskilde patienten. Ofta ordinerar dessa antibiotika 2-3 gånger per dygn och man skulle vilja ha svaret innan man ger nästa dos antibiotika, vilket innebär att man skulle vilja ha svaret inom 8 tim. Det innebär lokala analyser av antibiotika och helst analys av ett stort antal olika antibiotika. Utifrån nuläget så låter det väldigt mycket som att vi behöver se över möjligheterna av att sätta upp antibiotikaanalyser med masspektrometrisk metodik och att de analyserna behöver gå dygnet runt. Jag vet inte om något laboratorium i Norden har dygnet-runt verksamhet med mass-spektrometri, men i så fall lär det vara ett litet antal. Vi övriga behöver nog börja fundera på om det är möjligt/vad det skulle innebära. Det kommer säkert ta några år innan sjukhusdirektören dyker upp, men jag är övertygad om att frågan kommer, för jag ser inte att vi kommer att ha löst antibiotikaresistensproblematiken inom de närmaste 10 åren (och troligen inte därefter heller).

Sammanfattningsvis tror jag att vi behöver ta med antibiotikaresistensproblematiken i våra planer för framtiden och på olika sätt försöka bidra till att minska utvecklingen av detta problem.



Ordførerspaltten:

Uddannelse i klinisk biokemi

Henrik L. Jørgensen



Tiden for den næste nordiske kongres, nummer 37 i rækken, nærmer sig med hastige skridt. Som bekendt, bliver det i Trondheim den 9. juni til den 12. juni 2020. Læs mere om kongressen i dette nummer af KBN og på hjemmesiden <http://nffkk2020.no>.

På kongressen vil NFKK afholde en session om uddannelse i forbindelse med klinisk biokemi i bred forstand, fra medicinstudiet, over speciallægeuddannelsen til de fælles, nordiske kurser og det europæiske arbejde i *UEMS European Board of Laboratory Medicine*.

Yngve Thomas Bliksrud beskrev på denne plads i KBN 2015, nummer 4, hvordan man for en del år siden i Norge ændrede medicinstudiet, således at klinisk biokemi ikke længere var et selvstændigt fag, men i stedet blev prækliniske, parakliniske og kliniske discipliner samlet med det resultat, at de enkelte specialer, herunder klinisk biokemi blev mindre synlige. Den samme udvikling har vi været igennem i Danmark. På medicinstudiet ved Københavns universitet havde vi tidligere et såkaldt ugekursus i Klinisk Biokemi, hvor de studerende tilbragte en hel uge på en klinisk biokemisk afdeling og fik målrettet undervisning i vores fag. Fra min egen studietid husker jeg meget tydeligt mit ophold på Ole Siggaard-Andersens afdeling på Herlev Hospital. En meget inspirerende oplevelse, som sikkert har ligget i baghovedet på mig, da jeg mange år senere skulle træffe mit specialevalg. I dag underviser vi sammen med andre specialer i blokke, fx i endokrinologi. Her kan det være svært på samme måde som tidligere at have en klar klinisk biokemisk profil overfor de studerende.

Som et forsøg på at øge synligheden af vores fag overfor de studerende har både Norsk Forening for Medisinsk Biokemi, Svensk Förening för Klinisk Kemi og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi udarbejdet informationsfoldere om specialet målrettet mod de medicinstuderende og nyuddannede læger. Disse kan downloades fra selskabernes hjemmesider.

Postgraduat findes programmer til speciallægeuddannelse i klinisk biokemi i Sverige, Norge, Finland og Danmark. Disse programmer vil blive præsenteret på NFKK sessionen i Trondheim, hvilket forhåbentlig kan give inspiration landene imellem. I Danmark er der 9 specialespecifikke, obligatoriske kurser, som gentages hvert fjerde år. Bliver man forhindret til et af disse kurser på grund af fx barsel eller sygdom, er der således lang tid at vente, før man igen får chancen for at deltage på kurset. Et større samarbejde de nordiske lande imellem med anerkendelse af hinandens kurser kunne måske afhjælpe dette problem. De nordiske kurser, Helenekurset, Finsekurset og det fællesnordiske kursus er et stort skridt i den retning, og i Danmark indgår det fællesnordiske kursus nu som en obligatorisk del af kursusrækken. På NFKKs kommende bestyrelsesmøde i Turku skal vi endvidere drøfte muligheden for endnu et af disse kurser med placering i Finland.

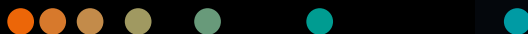
UEMS (*Union Européenne des Médecins Spécialistes*), som vi også skal høre om på sessionen, har eksisteret i 60 år, har 40 medlemslande med mere end 1,6 millioner speciallæger fordelt på 43 specialer. UEMS formål er sætte standarder for høj kvalitet i det lægelige arbejde og at udvikle harmoniserede modeller for uddannelsen af speciallæger, hvilket vil øge muligheden for den fri bevægelighed indenfor medlemslandene. Vores speciale har en underafdeling af UEMS, som hedder ELM/MB (*European Board of Laboratory Medicine/Medical Biopathology*). ELM/MB arbejder for en kvalitetsanerkendelse af speciallægeuddannelsen ("*recognition of quality*"), som vil give kandidaten ret til titlen *Fellowship of the European Board of Laboratory Medicine/Medical Biopathology*.

Prægraduat, postgraduat og international undervisning i klinisk biokemi spiller alle en meget vigtig rolle både for opbygningen af vores identitet som læger i klinisk biokemi og ikke mindst for rekrutteringen til vores fag. Begge dele er af vital betydning for vores fremtid og bør prioriteres højt.

Jeg håber derfor at se rigtig mange kolleger til NFKK sessionen om uddannelse og selvfølgelig også til kongressen som helhed.

The first marker to accurately and simply estimate RRF status with one serum sample

N Latex Beta-Trace-Protein



The N Latex BTP assay from Siemens Healthcare is a fast and accurate screening method for determination of GFR and RRF in serum samples. Beta Trace Protein determination requires only a single serum sample that can be obtained during routine care of dialysis patients.

In patients undergoing dialysis, contribution of the residual native kidney function, also known as residual renal function (RRF), is highly associated with improved outcomes. RRF can be an important marker for monitoring the decline of kidney function, predicting mortality, deciding on peritoneal dialysis versus hemodialysis, and adjusting the dialysis regimen. Maintenance of some level of RRF may also improve quality of life for patients, as it may influence food intake and diet. An optimized approach to dialysis can also help to manage costs, because dialysis contributes significantly to overall healthcare expenditures.

The estimation of RRF by BTP measurement may help support decisions regarding the modality and frequency of dialysis and thus contribute to better patient outcomes.

Adult estimated RRF using BTP:

$$CL_{\text{UREA, CREAT}} (\text{ml/min./1.73 m}^2) = 95 \times \text{BTP}^{-2.16}$$

($\times 1.652$ if the patient is male)
(BTP = mg/L; RRF = mL/min/1.73m²)

Estimation of RRF in dialysis patients. RRF is expressed as average of urinary urea and creatinine clearance.

CKD-EPI equation using BTP:

$$\text{eGFR} = 55 \times \text{BTP}^{-0.695} \times 0.998^{\text{age}}$$

($\times 0.899$ if the patient is female)
(BTP = mg/L; eGFR = mL/min/1.73 m²)

Pediatric estimated GFR using BTP:

$$\text{eGFR} = 10^{(1.902 + (0.9515 \times \text{LOG}(1/\text{BTP})))}$$

BTP is an accurate endogenous marker for GFR estimation in both general CKD, and pediatric patient populations as well as in renal transplant recipients.

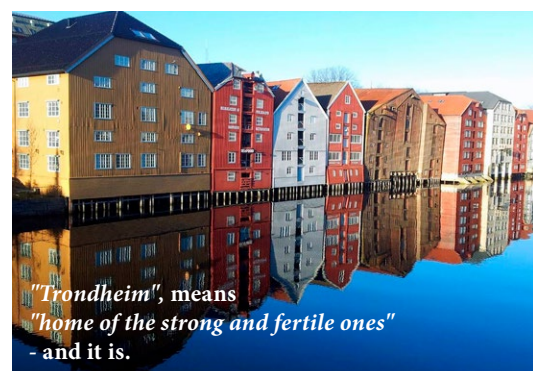
The 37th Nordic Congress in Medical Biochemistry

June 9-12 2020 in Trondheim, Norway

Gunhild Garmo Hov, Gustav Mikkelsen

We are delighted to welcome you all to the 37th Nordic Congress in Medical Biochemistry in Trondheim in 2020.

Trondheim is situated by the seaside in one of the longest fjords in Norway, at the banks of the river Nidelva. The city is the third largest in Norway, with approximately 200 000 inhabitants.



«Bridging science and clinical care»
XXXVII Nordic Congress in Medical Biochemistry
Trondheim 9-12 June 2020



The city was founded by the Viking King Olav Trygvason more than a thousand years ago, and Trondheim was Norway's first capital. There are several historical attractions within the city center which are well worth seeing. Trondheim is an excellent place to start if you want go for a trip to see other parts of Norway.



The cathedral in Trondheim, Nidarosdomen, is one of the largest medieval cathedrals in the Nordic countries, dating back to the year 1070.



Trondheim is a regional center for culture and commerce, but still not bigger than you can walk across the city center in 15 minutes, if you don't get hung up in one of the many restaurants and bars located at almost any street in the inner city. Many restaurants have a strong focus on local food, and the small city has two Michelin starred restaurants.



The congress motto is **Bridging science and clinical care** and it summarizes the scientific ambition of the congress. We want to present state of the art, recent scientific achievements and future perspectives in the field of clinical chemistry. We want to focus on aspects that are likely to have impact on clinical decision making and patient care, now or in the near future.

The scientific program will have 15 parallel sessions. Some of the topics are:

- | | | |
|-----------------|--------------------|-------------------------------|
| • endocrinology | • neurology | • point-of-care testing |
| • hematology | • new technologies | • inborn errors of metabolism |
| • hemostasis | • genetics | • trace elements |
| • troponins | • proteomics | • environmental toxins |
-

We are pleased to already be able to announce some key note speakers:

Fred Apple, University of Minnesota School of Medicine

Patrick Bossuyt, Amsterdam UMC

Dennis Lo, The Chinese University of Hong Kong

Menno P. Witter, Kavli Institute for Systems Neuroscience, Norwegian University of Science and Technology

These are the committees working to make this a memorable congress:

Organizing committee

Gunhild Garmo Hov (Chair)

Solveig Winther

Marthe Wedø Aune

Wenche Irgens

Gustav Mikkelsen

Kristine Bodal Solem

Scientific committee

Gustav Mikkelsen (Chair)

Jens Petter Berg

Gunhild Garmo Hov

Kristin Moberg Aakre

Maria Averina

Ingrid Hov Odsæter

Ketil Thorstensen

Lutz Schwettmann

Arne Åsberg

Scientific Advisory Board

Solveig Linko

Ingunn Þorsteinsdóttir

Holger Jon Møller

Henrik Zetterberg



We are looking forward to seeing you in Trondheim! *On behalf of the Organizing and Scientific Committees Gunhild Garmo Hov and Gustav Mikkelsen*

www.nfkk2020.no/post@nfkk2020.no



Pediatrika referensintervall

– sammanslagning av danska och svenska studier

Peter Ridefelt^a, Linda Hilsted^b, Pål Rustad^c

^aKlinisk Kemi och Farmakologi, Akademiska Sjukhuset, Uppsala

^bKlinisk Biokemisk Afd, Rigshospitalet, København

^cFørst Medisinsk Laboratorium, Oslo

peter.ridefelt@akademiska.se



Tillfredsställande referensintervall för barn har länge en bristvara inom klinisk kemi. I många år var Steven Soldins lärobok en bibel för pediatrika referensintervall (1). Dock kom sjunde och sista upplagan ut 2011. Dessutom, när man gräver djupare i bakgrundsreferenserna till Soldins böcker så visar det sig att det i många fall rör sig om data från utgångna metoder, små studier med stora gap i barnen och ungdomarnas ålder, eller kongressabstracts där vital information om detaljer som instrument, metod eller beskrivning av referenspopulationen saknas. I andra fall kom rådata från mindre utesökningar i labdatasystem, med en blandning av resultat från friska och sjuka barn.

Studier på friska barn

Således fanns ett stort behov av bättre bakgrundsdata inom allmänkemin. Läget förbättrades 2012 när ungefär samtidigt studier från Kanada, Danmark och Sverige publicerades, alla med data från friska barn (2-4). Sedan dess har det kanadensiska CALIPER projektet arbetat vidare och publicerat ett flertal värdefulla artiklar både inom allmänkemin, men även andra delar av ett kliniskt kemiskt laboratoriums sortiment (5). Dessutom har CALIPER bidragit med data från olika instrument, samt artiklar om transferens mellan analysplattformar (6).

Utöver ovannämnda studier har även andra publi-

kationer kommit där prover tagits på friska barn (7-9). Den stora tyska KiGGS studien har bidragit med referensintervall på ett flertal serum- och urinanalyser (10). Tyvärr är inte alla data som kommit fram i KiGGS lätt tillgängliga (11).

LIS-utesökningar och big data

Vidare har en del intressanta studier som bygger på LIS utesökningar/big data kommit sista åren (Tabell 1). Moderna IT-system har gjort att man med relativt enkla medel kan komma åt stora mängder mätvärden. Därigenom undviker man det etiska dilemmat med att ta blodprov på friska barn. Dessa stora LIS-utesökningar har använt traditionella statistiska modeller, t ex Hoffman eller Bhattacharya (12), eller nyare beräkningsmetoder (13-16).

Även om LIS-utesökningar är relativt enkla och billiga, måste dessa data hanteras med försiktighet eftersom det underliggande antagandet att de flesta mätvärden kommer från friska individer inte alltid är så lätt att bedöma eller utvärdera. IFCCs kommitté C-RIDL (Reference Intervals and Decision Limits) lyfte förra året fram de indirekta metoderna för- och nackdelar i ett opinion paper i CCLM (17).

Studierna i Danmark och Sverige

Den nyligen publicerade nordiska studien (18) är en sammanslagning av studier från Danmark (Copenhagen Puberty Study) och Sverige (Falu-projektet). Detta har medfört ett betydligt bättre statistiskt underlag än i ursprungspublikationerna, och möjliggör tillförlitliga barnreferensintervall för en nordisk population för de vanligaste analyterna inom allmän klinisk kemi, som ett komplement till de tidigare referensintervall NORIP-projektet genererade för vuxna (19).

Sammanslagningen innebär ett kraftigt ökat antal

barn då Københavnsstudien hade ca 1 400 deltagare i skolåldern, 6 - 19 år. Studien från Falun hade ungefär hälften så många barn, men inkluderande i gengäld barn ändå ner till 6 månaders ålder. I båda fallen rekryterades försöksdeltagarna från skolor eller daghem. Exklusion av deltagare gjordes baserat på enkäter i samband med provtagningen, t ex medicinska diagnoser eller läkemedelsbehandling. Blodproverna samlades in under perioden 2006 - 2008, och analyserna utfördes 2009. Serum användes i Sverige, och litiumheparin-plasma i Danmark. Deltagarna var inte fastande.

I Danmark gjordes analyserna på Roche-instrument, i Sverige på Abbott-utrustning. Detta ger både för- och nackdelar. Med nivåjustering vid bruk av NFKK Reference Serum X (serum X) har många analyter inom allmän kemin metodskillnader som är så små att gemensamma referensintervall kan tillämpas, t ex som inom NORIP projektet (19). Skillnaderna mellan länder eller metoder var dock som regel små, och inga uppdelningar gjordes på land eller instrument i de slutliga förslagen till referensintervall. Ytterligare detaljer i studiedesign och metoddataba kan hittas i ursprungspublikationerna (3,4,20-23). Där

Tabell 1. Aktuella studier på barnreferensintervall inom allmän klinisk kemi

Studie, land	Ålder (år)	Deltagarantal	Referenspopulation	Referenser
KiGGS, Tyskland	0 – 18	14 000	Friska individer	Kohse 2014
CALIPER, Kanada	0 – 18	1 600	Friska individer + överlevit provmaterial (<1 års ålder)	Colantonio <i>et al.</i> 2012
Falun, Sverige	6 mån - 18 år	700	Friska individer	Ridefelt <i>et al.</i> 2012
København, Danmark	5 – 20	1 400	Friska individer	Hilsted <i>et al.</i> 2013
AACB, Australien + Nya Zeeland	0–18 år + vuxna	200 000	LIS utsökning	Tate <i>et al.</i> 2014
Sydkorea	2 - 16 år	2 400	Friska individer	Cho <i>et al.</i> 2014
pedref.org, Tyskland	0 - 18	32 000	LIS utsökning	Zierk <i>et al.</i> 2015
CHMS, Kanada	3–18 år + vuxna	5 900	Friska individer	Adeli <i>et al.</i> 2015
Loh & Metz, Australien	0 – 18	56 000	LIS utsökning	Loh and Metz 2015
LIFE, Germany	11 mån - 16 år	3 100	Friska individer	Bussler <i>et al.</i> 2018

LIS=rådata från utsökning i laboratoriedatasystem

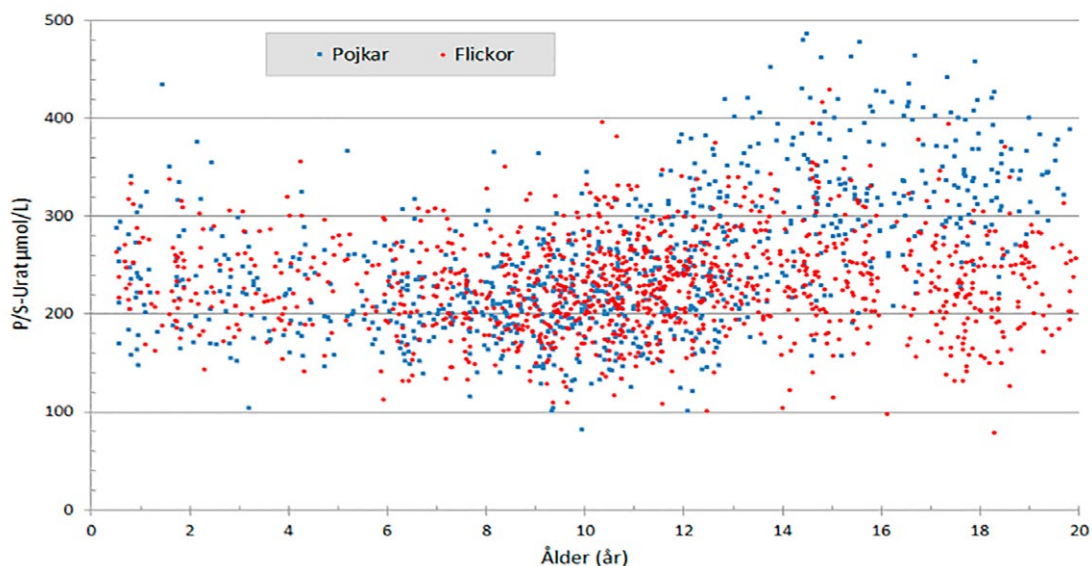
Tabell 2. Beräknade och föreslagna referensintervall för P/S-Urat. NORIPs referensintervallsgränser för vuxna visas som jämförelse.

	Kön	Ålder	Beräknade referensgränser med 90%-iga konfidensintervall*				Antal individer		Föreslagna referensgränser	
			Låg		Hög		Låg	Hög	Låg	Hög
Urat (µmol/L)	Kvi	0.5-9	140	133-146	320	317-331	1087*	1078	140	320
	Män		136	125-145			672		140	
	Kvi	10-12	140	133-146	342	336-352	1087*	646*	140	340
	Män		136	125-145	364	345-383	672	267	140	360
	Kvi	13-17	140	133-146	342	336-352	1087*	646*	140	340
	Män		186	157-205	462	430-480	227-1	227-1	190	460
	Kvi	18							155	350
	Män								230	480

*Siffran är en summa för flera åldersgrupper som delar gemensamt referensintervall.

“1” betyder att en outlier har tagits bort innan beräkning av referensintervall utfördes.

Tabellens innehåll har tidigare publicerats (18).



Figur 1. S/P-Urat (umol/L) hos barn och ungdomar, uppdelat på kön.

finns dessutom data på fler analyter som inte togs med i sammanslagningen p g a att certifierade värden på serum X inte definierats.

I sammanslagningen beräknades alltså nya referensintervall för de 18 analyter där serum X hade certifierade eller indikativa värden (24). Analyterna inkluderade albumin, ALAT, ASAT, CK, bilirubin, alkaliska fosfataser, calcium, enzymatiskt kreatinin, kalium, magnesium, natrium, fosfat, urat, kolesterol, LD, triglycerider, järn och transferrin. Alla rådata i projekten korrigerades utifrån de mätresultat som erhöles på serum X parallellt med mätningarna av barnprover. Efter visuell inspektion av rådata eller ”kvalificerade

gissningar” utifrån föreliggande litteratur testades potentiella köns- eller ålderspartitioneringar enligt Lahti-principen (25). För outlier-eliminering och beräkning av referensintervall användes mjukvaran RefVal 4.0, och 2,5 respektive 97,5 percentiler med 90%-iga konfidensintervall presenterades.

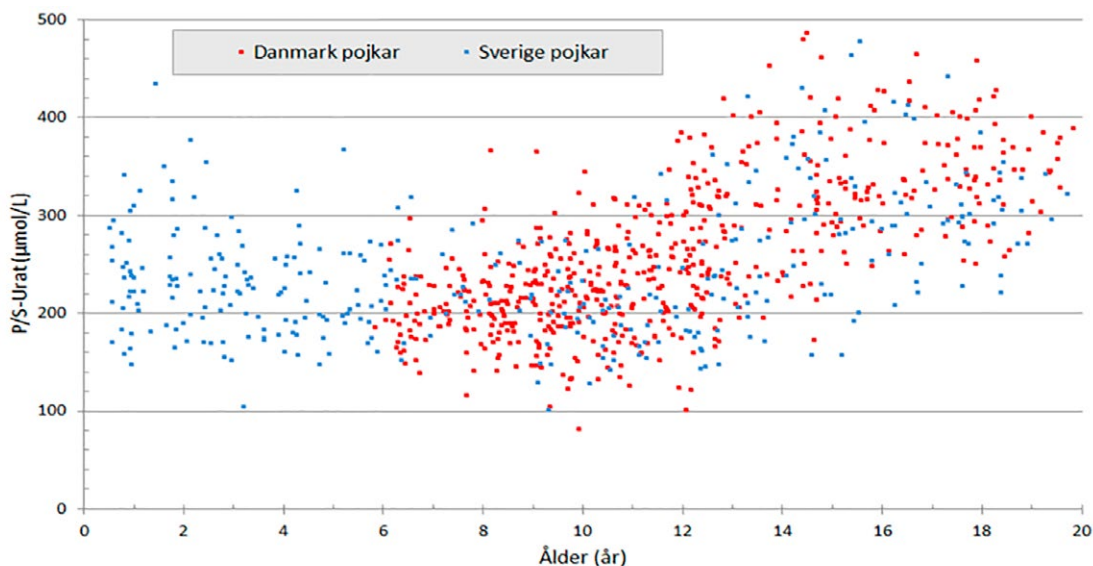
En nackdel med den nuvarande studien är att åldersgrupper från födsel till 6 månaders ålder saknas. Detta är en särskilt utmanande åldersgrupp på grund av de etiska aspekterna av blodprovtagning, men också den låga blodvolymen som finns tillgänglig hos dessa barn. Den stora CALIPER-studien hade liknande problem, och även om de flesta proverna där kom från friska barn var de under ett års ålder överblivet provmaterial från utvalda polikliniska kliniker, inklusive tandvård, ortopedi och plastikkirurgi (2). Således utgör denna åldersgrupp fortfarande en utmaning.

Urat hos barn

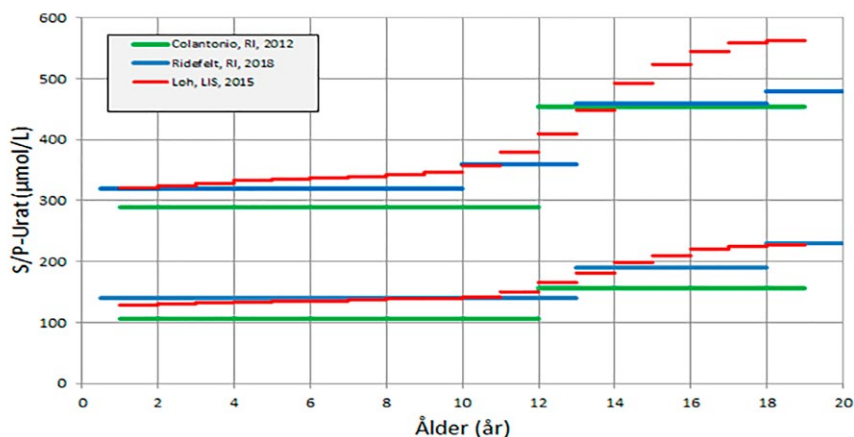
Vi har valt exemplet urat för att illustrera hur rådata ser ut. Urat är en analyt där inga betydande metodskillnader finns. Senaste kvalitetssäkringsutskicken från svenska Equalis i början på 2019 har visat ett total-CV på 2 - 2,5% för de 75-80 deltagande laboratorier, som representerar fem olika stora globala leverantörer, i utskicken för poolad plasma respektive kommersiellt serum. Dock gör den normala fysiologiska utvecklingen hos barn från puberteten och



Foto: Henrik Alfthan.



Figur 2. S/P-Urat (umol/L) hos pojkar, uppdelat på land.



Figur 3. Referensintervallsgränser för S/P-Urat (umol/L) hos pojkar, i tre olika studier (2,15,18). RI = mätningar på friska barn. LIS = utsökning i labdatasystem.

framåt att flera uppdelningar på kön och ålder bör göras (Tabell 2, Figur 1). Däremot finns inte några betydande skillnader mellan de danska och svenska barnen och ungdomarna (Figur 2).

I figur 3 ses föreslagna referensintervall för urat hos pojkar från aktuell studie (18), CALIPERs studier på friska barn (2) och en LIS-utsökning från Australien (15). De nedre gränserna stämmer hyggligt väl överens, men visar också fördelen med LIS-data där man lättare kan dela upp materialet på många åldersgrupper. Samtidigt kan man notera att de två undersökningarna på friska barn har likartade, men betydligt lägre föreslagna övre referensintervallsgränser för

tonåringar jämfört med LIS-utsökningen. Huruvida ett inslag av sjuka patienter i LIS-utsökningen spelar roll i detta fall är svårt att veta, men i alla händelser bör inte instrumentplattform spela någon avgörande roll för just analyten urat.

Sammanfattningsvis finns nu heltäckande barnreferensintervall för de vanligaste analyterna mellan 6 månaders ålder och 18 år, som kompletterar de referensintervall för vuxna som använts i många år efter NORIP-projektet.

Studien har erhållit stöd från NFKK.

Referenser

1. Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, Soldin OP. Pediatric reference intervals. 7th Ed., AACCPress, Washington DC, 2011.
2. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem*. 2012;58:854-68.
3. Hilsted L, Rustad P, Aksglæde L, Sørensen K, Juul A. Recommended Nordic paediatric reference intervals for 21 common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest* 2013;73:1-9.
4. Ridefelt P, Aldrimer M, Rödö PO, Niklasson F, Jansson L, Gustafsson J, Hellberg D. Population-based pediatric reference intervals for general clinical chemistry analytes on the Abbott Architect ci8200 instrument. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50:845-51.
5. Adeli K, Higgins V, Trajcevski K & White-Al Habeeb N. The Canadian laboratory initiative on pediatric reference intervals: A CALIPER white paper. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2017;54:358-413.
6. Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, Chan MK, Marvasti TB, Randell E, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. *Clin Biochem* 2013;46:1197-219.
7. Cho SM, Lee SG, Kim HS, Kim JH. Establishing pediatric reference intervals for 13 biochemical analytes derived from normal subjects in a pediatric endocrinology clinic in Korea. *Clin Biochem* 2014;47:268-71.
8. Adeli K, Higgins V, Nieuwesteeg M, Raizman JE, Chen Y, Wong SL, Blais D. Biochemical marker reference values across pediatric, adult, and geriatric ages: establishment of robust pediatric and adult reference intervals on the basis of the Canadian Health Measures Survey. *Clin Chem* 2015;61:1049-62.
9. Bussler S, Vogel M, Pietzner D, Harms K, Buzek T, Penke M, et al. New pediatric percentiles of liver enzyme serum levels (ALT, AST, GGT): effects of age, sex, BMI and pubertal stage. *Hepatology* 2018;68:1319-1330.
10. Kohse KP. KiGGS - the German survey on children's health as data base for reference intervals and beyond. *Clin Biochem* 2014;47:742-3.
11. Dortschy R, Rosario AS, Scheidt-Nave C, Thierfelder W, Thamm M, Gutsche J, Markert A. Population-based distributions of selected laboratory parameters from the KiGGS study (study on health of children and young people in Germany), 2009. Åtkomst 18 Feb, 2019: https://www.rki.de/DE/Content/Gesundheit-smonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsB/KiGGS_Laborparameter.pdf?_blob=publicationFile
12. Shaw JL, Cohen A, Konforte D, Binesh-Marvasti T, Colantonio DA, Adeli K. Validity of establishing pediatric reference intervals based on hospital patient data: a comparison of the modified Hoffmann approach to CALIPER reference intervals obtained in healthy children. *Clin Biochem* 2014;47:166-72.
13. Tate JR, Sikaris KA, Jones GR, et al. Harmonising adult and paediatric reference intervals in Australia and New Zealand: an evidence-based approach for establishing a first panel of chemistry analytes. *Clin Biochem Rev* 2014;35:213-35.
14. Zierk J, Arzideh F, Rechenauer T, Haeckel R, Rascher W, Metzler M, Rauh M. Age- and sex-specific dynamics in 22 hematologic and biochemical analytes from birth to adolescence. *Clin Chem*. 2015;61:964-73.
15. Loh TP, Metz MP. Trends and physiology of common serum biochemistries in children aged 0-18 years. *Pathology* 2015;47:452-61.
16. Søbey K, Jensen PB, Werge T, Sørensen S. Mining of hospital laboratory information systems: a model study defining age- and gender-specific reference intervals and trajectories for plasma creatinine in a pediatric population. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1621-30.
17. Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, Sikaris K, Streichert T, Katayev A, et al; IFCC Committee on Reference Intervals and Decision Limits.

Indirect methods for reference interval determination - review and recommendations. Clin Chem Lab Med 2018;57:20-9.

18. Ridefelt P, Hilsted L, Juul A, Hellberg D, Rustad P. Pediatric reference intervals for general clinical chemistry components - merging of studies from Denmark and Sweden. Scand J Clin Lab Invest 2018;78:365-72.
19. Rustad P, Felding P, Franzson L, Kairisto V, Lahti A, Mårtensson A, et al. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties, Scand J Clin Lab Invest 2004; 64: 271-84.
20. Aldrimer M, Ridefelt P, Rödöö P, Niklasson F, Gustafsson J, Hellberg D. Reference intervals on the Abbot Architect for serum thyroid hormones, lipids and prolactin in healthy children in a population-based study. Scand J Clin Lab Invest 2012;72:326-32.
21. Aldrimer M, Ridefelt P, Rödöö P, Niklasson F, Gustafsson J, Hellberg D. Population-based pediatric reference intervals for hematology, iron and transferrin. Scand J Clin Lab Invest 2013;73:253-61.
22. Rödöö P, Ridefelt P, Aldrimer M, Niklasson F, Gustafsson J, Hellberg D. Population-based pediatric reference intervals for HbA1c, bilirubin, albumin, CRP, myoglobin and serum enzymes. Scand J Clin Lab Invest 2013;73:361-7.
23. Ridefelt P, Gustafsson J, Aldrimer M, Hellberg D. Alkaline phosphatase in healthy children: reference intervals and prevalence of elevated levels. Horm Res Paediatr 2014;82:399-404.
24. Pedersen MM, Rustad P, Simonsson P. Certificate of analysis: NFKK Reference serum X: a reprint. Scand J Clin Lab Invest 2004; 64: 321-6.
25. Lahti A, Hyltoft Petersen P, Boyd JC, Fraser CG, Jørgensen N. Objective criteria for partitioning Gaussian distributed reference values into subgroups. Clin Chem 2002; 48: 338-52.



Foto: Henrik Alfthan.

Standardisering af assays for 25-hydroxyvitamin D; hvor er vi nu?

Niklas Rye Jørgensen, Lise Nørkjær Bjerg

Klinisk Biokemisk Afdeling, Rigshospitalet Glostrup, København

niklas@dadlnet.dk



Vitamin D

Vitamin D er et hormon, som har en lang række funktioner i den humane organisme. Mest velkendt er det, at vitamin D er vigtig for normal calciummetabolisme og knogleopbygning/-omsætning, hvor det har betydning for både optagelse af calcium i tarmen og for mineralisering af det nydannede knoglevæv. Allerede i starten af 1822 beskrev den polske læge, Jedrzej Sniadecki, en tilstand med knoglesmerter og skeletdeformiteter hos børn, som boede i Warszawa. Sygdommen er den, vi kender som rickets (engelsk syge). Dr. Sniadecki beskrev endvidere, at børn, som boede udenfor byen, ikke udviklede sygdommen. Han konkluderede, at det var mangel på sollys, som forårsagede denne tilstand. I 1890 undersøgte den engelske læge, dr. T. A. Palm hvilke faktorer, der kunne være årsag til rickets, og han konkluderede, at det altid opstod hos børn, som manglede eksposition for sollys. Derfor foreslog han, at patienterne skulle ordineres systematisk solbadning til behandling af tilstanden. I midten af 1800-tallet brugte en fransk læge, dr. Bretonneau, torskleverolie til at behandle et akut tilfælde af rickets hos et 15-måneders gammelt barn. Dr. Bretonneau var for øvrigt også en moderne videnskabsmand, som udover ovenstående bedrift identificerede tyfus og difteri.

Det var dog først, da rickets udviklede sig som en epidemi i Nordeuropa og i det nordøstlige USA omkring år 1900, og den engelske læge Mellanby i 1918 med succes begyndte at behandle ricketske

beaglehvalpe med torskleverolie, at den videnskabelige verden for alvor fik øjnene op for rickets som en ernæringsrelateret sygdom. Dr. Mellanby foreslog, at torskleverolien indeholdt en "antirickets faktor", som senere blev identificeret som vitamin D.

Som det fremgår ovenfor, er de vigtigste kilder til vitamin D sollys og kosten [1]. Vitamin D syntetiseres i huden ved udsættelse for sollys, men i de nordiske lande er mængden af sollys fra oktober til marts ikke sufficient til at give adækvate vitamin D niveauer. Der er således en stor årstidsvariation i vitamin D niveauerne med de laveste niveauer af vitamin D i blodet i de sene vintermåneder med en prævalens omkring 80% [2]. Om sommeren er niveauerne dog højere, men også her er der en relativt høj prævalens af vitamin D mangel, hvor op imod 30% har vitamin D mangel i slutningen af sommeren [2]. I takt med at der de senere år har været mere fokus på at indtage sufficient mængder vitamin D fra kosten og fra kosttilskud, ser det nu ud til at prævalensen af vitamin D mangel er faldende [3]. Den største kilde til vitamin D fra kosten er indtagelse af fede fisk (laks, sild og makrel), mens visse typer svampe, der også indeholder relativt store mængder af vitamin D, nok er en mindre betydende kilde til vitaminet i de nordiske lande.

Måling af vitamin D

Vitamin D eksisterer i to isoformer, vitamin D₂ og vitamin D₃. Det er primært vitamin D₃, man indtager via kosten, hvis man ser bort fra indholdet af D₂ i visse typer svampe. Omvendt kan vitamin D tilskud til fødevarer indeholde både vitamin D₂ og D₃. Der er store geografiske forskelle på, om det er D₂ eller D₃, der anvendes. Ligeledes kan kosttilskud også fås som både D₂ og D₃ tilskud.

Vitamin D dannet i huden eller indtaget via kosten er ikke direkte aktivt, men skal aktiveres gennem en række hydroxyleringer. Vitamin D hydroxyleres

først i leveren til 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) og videre i nyrerne til 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D), som er det biologisk aktive vitamin. 1,25(OH)₂D i serum er imidlertid ikke et godt mål for den samlede vitamin D status hos raske, ikke-nyresyge personer, hvorfor det er serumværdien af 25(OH)D, der bør anvendes som mål for vitamin D status. Typisk måler man serum total 25(OH)D, som er den samlede cirkulerende koncentration af 25(OH)D og defineret som summen af 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃.

25(OH)D er imidlertid en yderst vanskelig analyt at måle, og brugen af forskellige typer assays såsom LC-MS/MS og en bred vifte af forskellige immunoassays og underliggende forskelle i sporbarhed har bidraget til meget forskellige niveauer af 25(OH)D i både klinikken og i forskellige kliniske studier og større befolkningsundersøgelser. Der blev derfor i 2010 etableret det såkaldte Vitamin D Standardization Program (VDSP) med det formål at medvirke til standardisering af kommercielt tilgængelige 25(OH)D assays [4,5]. VDSP er et samarbejde mellem en række internationale organisationer (National Institute of Health (NIH), International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), National Institute of Standardization and Technology (NIST)), og i programmet blev der udviklet en række værktøjer

og metoder til brug for prospektiv standardisering af målinger af 25(OH)D. Der blev også udviklet metoder til retrospektiv standardisering af 25(OH)D målinger, således at også målinger udført i tidligere studier kunne standardiseres [6]. Som en del af VDSP udviklede NIST standard reference materialer med tilhørende referenceværdier bestemt ved analysemetoder, som anses for at være gylden standard. I tilknytning til disse har VDSP angivet nogle kriterier for performance på assays hos slutbrugerne (lokale laboratorier) i forhold til præcision og bias.

En række kliniske guidelines har rekommandationer for, hvornår man bør måle 25(OH)D [7,8]. Sundhedsstyrelsen i Danmark har også udgivet "Anbefalinger vedrørende forebyggelse, diagnostik og behandling af D-vitaminmangel", hvori det er angivet, at "der ikke er indikation for at screene bredt for vitamin D status, men at måling af 25(OH)D bør foreholdes personer i risiko for svær D-vitaminmangel samt patienter med øget risiko for fald og frakturer, nyresygdom, malabsorption eller leversygdom". Tabel 1 viser listen over tilfælde, hvor Sundhedsstyrelsen angiver, at man kan måle 25(OH)D. I det "virkelige liv" anvendes analysen dog væsentligt mere end, hvad der relaterer sig til de tilstande, hvor analysen anbefales brugt til. Alene i Region Hovedstaden (Køben-

Tabel 1. Liste over tilstande, hvor Sundhedsstyrelsen i Danmark angiver, at man kan/bør måle 25(OH)D.

- Patienter med kliniske symptomer på eller hvor man har mistanke om svær D-vitaminmangel som følge af deres livsførelse (ringe solesposition, ophold inden døre, dækkende klæder)
- Gravide med mørk hud eller tildækkende påklædning om sommeren.
- Familiemedlemmer (husstanden) til personer med mørk hud eller tildækkende påklædning, som har svær D-vitaminmangel.
- Patienter med en sygdom, hvor D-vitaminstatus er af betydning som ætiologi og/eller for behandlingseffekt.
 - Osteoporose
 - Gastro-intestinal sygdom med malabsorption
 - Leversygdom
 - Nyresygdom
 - Neuromuskulære sygdomme (patienter med øget risiko for fald og frakturer)
 - Hyperparathyroidisme
 - Hypo-/hyperkalcæmi
- Patienter i behandling med lægemidler, som influerer på D-vitaminmetabolismen.
 - Farmaka som fører til fedtmalabsorption (fx orlistat og colestyramin)
 - Leverinducerende antikonvulsiva (fx carbamazepin, phenytoin og phenobarbital)
 - Fotosensibiliserende lægemidler (fx amiodaron).

havn og Nordsjælland) blev der i 2017 analyseret ca. 350.000 prøver for 25(OH)D, og det tyder ikke på, at forbruget er gået ned siden. Der er således et klart overforbrug af 25(OH)D analysen i Danmark i forhold til, hvad der anbefales. I tillæg kan patienterne selv vælge, hvilket klinisk biokemiske laboratorium, som de vil have taget prøver på, og dette stiller store krav til standardisering af ikke bare 25(OH)D assays, men naturligvis også til assays for en lang række andre biokemiske parametre.

Projekt vedr. status for standardisering af assays
På baggrund af ovenstående valgte vi at gennemføre et forsøg, hvor formålet var at undersøge status for standardisering af tilgængelige 25(OH)D assays i Region Hovedstaden. Vi samlede 200 prøver fra patienter, som alligevel skulle have målt 25(OH)D og målte dem i duplikat med 6 forskellige immunassays på automatiserede udstyr og ét LC-MS/MS assay (Tabel 2). Endvidere udførte vi dobbeltbestemmelse af NIST standard reference material 972a (SRM972a)[9], som indeholder fire niveauer af 25(OH)D₂ og 25(OH)D₃ samt varierende koncentrationer af 3-epi-25(OH)D₃ i humant serum. Ifølge VDSP bør assays hos slutbrugerne kunne opfylde et krav på CV < 10%. CV% i dette blev beregnet ud fra de udførte dobbeltbestemmelser, og vi fandt, at alle de testede assays opfyldte dette krav (Tabel 3). Dog var der stor forskel på, hvor god præcision de enkelte assays kunne præstere, idet CV%

varierede mellem 2,4 og 9,0%. Dernæst bestemte vi bias i forhold til SRM972a. Her var der kun to assays, der overholdt VDSP kravet for bias på < 5%, nemlig Liaison XL og IDS iSYS, hvor den gennemsnitlige bias beregnet ud fra alle fire niveauer af SRM972a svingede fra 3 til 40% i de 7 testede assays (Tabel 3). Specielt så det ud til, at for niveauer af SRM972a, hvor der var større koncentrationer af 3-epi-25(OH)D₃, var der stor bias for de assays, som medbestemmer denne, men også for niveauer af SRM972a omkring cut-off grænsen for vitamin D mangel på 50 nmol/l, hvor koncentrationen af 3-epi-25(OH)D₃ i SRM972a var lav, fandt vi stor bias i forhold til standardprøven (fra -28 til +30% i bias).
Da så stor bias omkring en cut-off grænse kan give problemer i forhold til diagnostik og monitorering af patienter med potentiel vitamin D mangel, undersøgte vi, hvor gode de enkelte assays var til at kategorisere patienterne ud fra de målte vitamin D niveauer, da dette har stor klinisk betydning. Der er ikke international konsensus om, hvordan vitamin D mangel skal kategoriseres, idet forskellige arbejdsgrupper har udstukket forskellige retningslinjer for, hvilke targetniveauer man bør sigte efter [8,10]. Vi valgte derfor at beregne ud fra anbefalingerne fra en ekspertgruppe fra Institute of Medicine, som angiver følgende grænser: <30 nmol/l: vitamin D mangel; 30-50 nmol/l: inadækvat vitamin D; 50-125 nmol/l: adækvat vitamin D; >125 nmol/l: høj vitamin D [10]. Der var stor uoverensstemmelse mellem de forskellige

Tabel 2: Karakteristika ved de anvendte analysemetoder

Producent og udstyr	Måleprincip	Måleområde ¹		LLOQ ¹	Sporbarhed ¹
		ng/mL	nmol/L	nmol/L	
Siemens Healthineers ADVIA Centaur XP	Kemiluminescence immunassay (CLIA)	4.2 - 150	10.5 - 375	10.5	SRM 2972
TOSOH Bioscience AIA900	Fluorescens enzyme immunassay (FEIA)	4.0 - 120	10.0 - 300	NA	SRM 2972
Roche Elecsys Cobas e411 1 st generation	Elektrokemiluminescence immunassay (ECLIA)	3.0 - 70	7.5 - 175	12.5	SRM 972
Ortho Clinical Diagnostics Vitros 5600	Kemiluminescence immunassay (CLIA)	8.0 - 150	20.0 - 375	20.0	In house calibrators
DiaSorin Liaison XL	Kemiluminescence immunassay (CLIA)	4.0 - 150	10.0 - 375	NA	SRM 2972a
IDS-iSYS	Kemiluminescence immunassay (CLIA)	4.0 - 110	10.0 - 275	8.83	SRM 2972
Waters UPLC triple quadrupole LC-MS/MS	Liquid chromatography / tandem mass spectrometry	4.0 - 200	10.0 - 500	10.0	SRM 2972a

¹Information fra assay inserts.

Tabel 3. Overholdelse af VDSP kriterier for præcision (variationskoefficient (CV%) og bias).

Udstyr	CV (%)	Bias (%)	VDSP krav opfyldt?
Liaison XL	2,4	3,7	Ja
iSYS	4,7	3,0	Ja
LC-MS/MS	3,0	27,9	Nej
Vitros	5,2	21,3	Nej
AIA900	5,5	15,6	Nej
Cobas	6,9	40,0	Nej
Centauer	9,0	14,0	Nej

VDSP: Vitamin D Standardization Program.

Tabel 4. Klassifikation af patienter i forskellige kategorier af Vitamin D niveauer. Grøn angiver det assay, som kategoriserer færrest i den enkelte kategori, mens rød angiver det udstyr, som kategoriserer flest i den enkelte kategori.

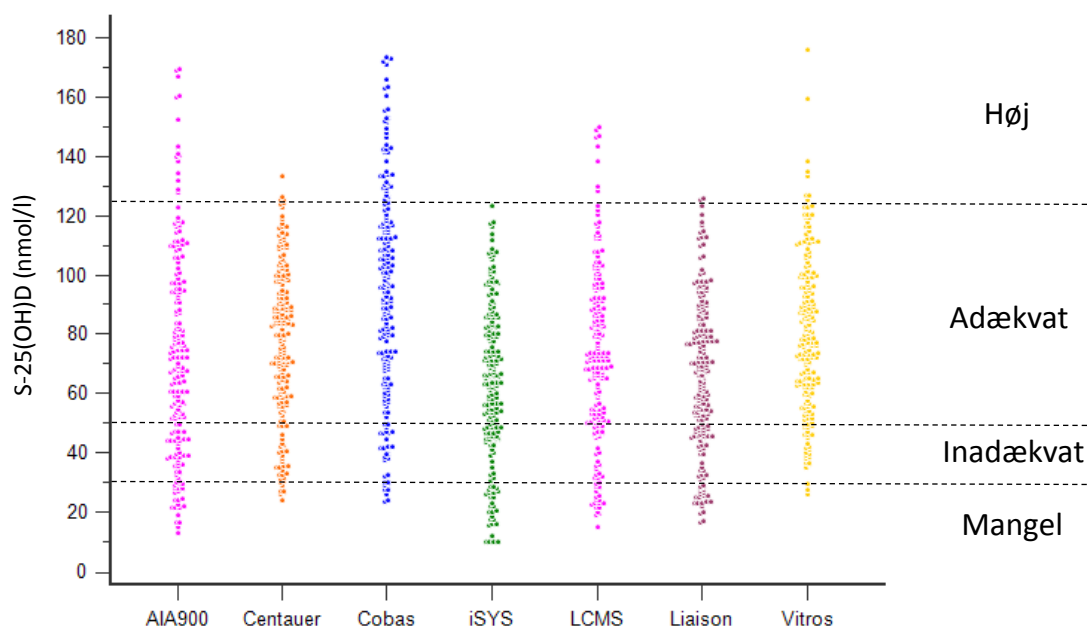
Vitamin D niveau	AIA900	Centauer	Cobas	iSYS	LC-MS/MS	Liaison	Vitros
	N (%)						
< 30 nmol/l	23 (11.5%)	13 (6.7%)	7 (3.5%)	28 (14.3%)	20 (10.0%)	22 (11.0%)	3 (1.5%)
30-50 nmol/l	35 (17.5%)	23 (11.9%)	23 (11.5%)	33 (16.8%)	26 (13.0%)	36 (18.0%)	23 (11.5%)
50-125 nmol/l	124 (62%)	155 (80.3%)	128 (64%)	133 (67.8%)	144 (72.0%)	138 (69%)	164 (84.0%)
>125 nmol/l	18 (9.0%)	2 (1.0%)	42 (21.0%)	2 (1.0%)	10 (5.0%)	4 (2.0%)	10 (5.0%)

assays i forhold til, hvor mange af de 200 patienter, de kategoriserede i de forskellige grupper (Tabel 4 og Figur 1). Kun to assays havde en kappa-værdi på > 0,8, hvilket angiver at de havde en overensstemmelse, som kan anses for at være rigtigt god. De to assays var iSYS og Liaison XL, som også var de eneste assays, som overholdt VDSP kriterierne for bias og præcision. Resultaterne af projektet er netop publiceret i Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology [11].

Diskussion

Som det tydeligt fremgår af resultaterne af forsøget, er der kun to af de undersøgte assays (iSYS og Liaison XL), der opfylder VDSP kriterierne, hvilket tyder på, at der endnu ikke er opnået standardisering af de fleste af de tilgængelige automatiserede biokemiske assays for 25(OH)D. En del af den manglende standardisering kan formentlig forklares med, at nogle assays medbestemmer 3-epi-25(OH)D₃, mens et enkelt

assay (Cobas) ligeledes medbestemmer metabolitten 24,25(OH)₂D. Guidelines anbefaler dog, at hverken 3-epi-25(OH)D₃ eller 24,25(OH)₂D medbestemmes i rutine 25(OH)D assays, men der synes dog også at være en stor uoverensstemmelse mellem assays ud over, hvad der kan tilskrives 3-epi-25(OH)D₃, og 24,25(OH)₂D. Det er problematisk, at det endnu ikke er lykkedes at få flere af de tilgængelige assays standardiseret. Dette medfører problemer på flere niveauer. Kliniske beslutninger af betydning for patienten afhænger af det målte niveau af vitamin D: Skal patienten i behandling eller ej; skal dosis justeres op eller ned. Specielt i disse tider, hvor patienterne frit kan vælge, hvor de vil have taget prøver, vil det medføre store udfordringer, idet patienterne den ene dag kan få taget prøver på et laboratorium og den næste på et andet, hvor der anvendes et andet analyseudstyr, som måler 25(OH)D i et andet niveau. Dette er naturligvis ikke anderledes end for så mange andre biokemiske analytter, men



Figur 1

når man tager i betragtning, at mange patienter får målt 25(OH)D unødvendigt og ofte også for hyppigt, vil det give nogle tolknings- og behandlingsmæssige problemer for de undersøgende og behandlende læger, som måske ikke er klar over problemets kompleksitet. Sundhedsmyndigheder bruger også resultaterne fra store befolkningsundersøgelser til at tage beslutninger i forhold til folkesundheden bl.a. med hensyn til tilsætning af vitamin D til fødevarer, sundhedskampanjer m.v. Den manglende standardisering kan således få store konsekvenser, såfremt beslutninger bliver taget på et forkert grundlag med rod i den manglende standardisering af assays og dermed usammenlignelige resultater fra befolkningsundersøgelser. Heldigvis er der i VDSP foreslået fremgangsmåder og metoder til at standardisere resultater af denne type studier, således at resultaterne kan sammenlignes på tværs af analyseplatforme.

Måling af vitamin D i fremtiden

Det er uomtvisteligt, at den sikreste vej frem er en komplet standardisering af vitamin D assays. Spørgsmålet er så, hvad vi skal gøre i mellemtiden. På overordnet plan fortsætter arbejdet i VDSP i regi af IFCC i den nydannede Committee of Bone Metabolism, hvor kommissoriet indeholder undersøgelse af effekterne

af standardisering af 25(OH)D assays, reevaluering af VDSP kravene og opstilling af performance kriterier for metoder til måling af 3-epi-25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D og vitamin D bindende protein. Dette løser dog ikke problemet med det samme, så der må også tages aktion på det lokale plan. Her kunne det være en mulighed at skifte til en metode, hvor assayet er blevet standardiseret efter VDSP's retningslinjer. På papiret lyder dette oplagt, men problemet er, at de to udstyr er mindre og ikke på samme måde som de større udstyrsplatforme kan kobles til fuldautomatiserede produktionslinjer. Specielt i laboratorier som servicerer almen praksis bliver der i dag udført 25(OH)D analyser i et antal, som kræver fuldautomatisering. Mange af disse analyser er formentlig overflødige i forhold til de retningslinjer, der er udstukket for, hvem der skal have udført 25(OH)D måling, hvor man lokalt burde arbejde på at nedbringe antallet af rekvisitioner gennem oplysningsarbejde overfor almen praksis i kombination med et mere restriktivt filter for, hvilke patienter der skal have målt 25(OH)D. Når eller hvis det så er lykkedes at nedbringe antallet af rekvisitioner, kan man overveje, om det så er muligt at overgå til ét af de mindre og standardiserede udstyr med mindre de større udstyr og analyser er nået at blive standardiserede i mellemtiden.

Konklusion

Der er for nuværende kun to af de testede assays, som er standardiserede i henhold til VDSP 8 år efter programmets start. Dette har potentielt store kliniske såvel som samfundsmæssige konsekvenser, og en fortsat standardisering er derfor ønskeligt. Trods klare råd til, hvorledes vitamin D mangel undgås ved indtagelse af sufficient mængde vitamin D via kosten og kosttilskud, foretages der fortsat mange, formentlig overflødige, målinger af vitamin D, muligvis som resultat af det stigende fokus på vitamin D i kosten. Der bør derfor i fremtiden være mere fokus på at måle vitamin D status, ikke hos raske medborgere, som i forvejen har fokus på indtagelse af sufficient mængde vitamin D, men derimod hos de patienter, hvor der reelt er en indikation for måling af vitaminet. Indtil standardisering er opnået, bør det endvidere anbefales, at patienterne følges med målinger på det samme udstyr over tid.

Referencer

1. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic. Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 2017, 18:153-65.
2. Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, Jakobsen J, Schwarz P, Toft U, et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 2012, 50:605-10.
3. Hansen L, Tjonneland A, Koster B, Brot C, Andersen R, Cohen AS, et al. Vitamin D Status and Seasonal Variation among Danish Children and Adults: A Descriptive Study. *Nutrients* 2018, 10.
4. Binkley N, Carter GD. Toward Clarity in Clinical Vitamin D Status Assessment: 25(OH)D Assay Standardization. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2017, 46:885-99.
5. Sempos CT, Vesper HW, Phinney KW, Thienpont LM, Coates PM, Vitamin DSP. Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2012, 243:32-40.
6. Durazo-Arvizu RA, Tian L, Brooks SPJ, Sarafin K, Cashman KD, Kiely M, et al. The Vitamin D Standardization Program (VDSP) Manual for Retrospective Laboratory Stan-

dardization of Serum 25-Hydroxyvitamin D Data. *J AOAC Int* 2017, 100:1234-43.

7. Aspray TJ, Bowring C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, et al. National Osteoporosis Society vitamin D guideline summary. *Age Ageing* 2014, 43:592-95.
8. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011, 96:1911-30.
9. Phinney KW, Tai SS, Bedner M, Camara JE, Chia RRC, Sander LC, et al. Development of an Improved Standard Reference Material for Vitamin D Metabolites in Human Serum. *Anal Chem* 2017, 89:4907-13.
10. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JE, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011, 96:53-58.
11. Bjerg LN, Halgreen JR, Hansen SH, Morris HA, Jørgensen NR. An evaluation of total 25-hydroxyvitamin D assay standardization; where are we today? *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019; In press.

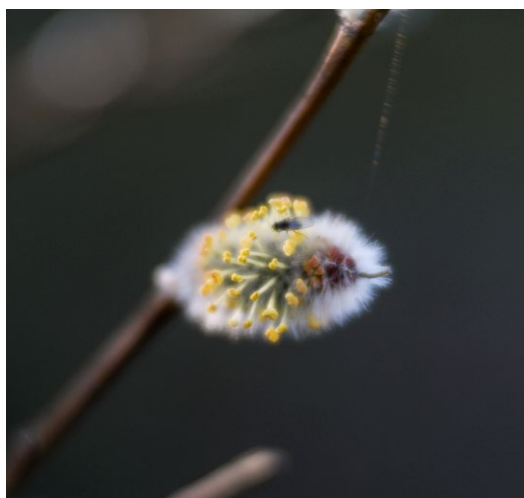


Foto: Henrik Alftan.

Rapportering av mätresultat Siffror, decimaler och sån't

Anders Kallner

Karolinska Universitetssjukhuset Stockholm

anders.kallner@ki.se

Frågan aktualiserades nyligen på Diskussionsforum genom Mattias Aldrimer som fått en begäran från klinikerna att inte bara rapportera låga P-PSA koncentrationer som $< 0,1 \mu\text{g/L}$, utan ge mätvärden ner till $0,03 \mu\text{g/L}$ eller $0,01 \mu\text{g/L}$.



Gränsvärden

I metodbeskrivningar förekommer tre gränsvärden som vi behöver förhålla oss och är definierade i metrologisk litteratur. I tur och ordning: "Limit of Blank" (LoB), "Limit of Detection" (LoD) och "Limit of Quantitation" (LoQ). Se fotnot för detaljer. LoB är ibland ifrågasatt eftersom man försöker mäta "ingenting".

Andra begrepp är "Lower end of the Measuring Interval" (range) (LMR) och "Lower Limit of Linear Interval" (range) (LLR). "Functional sensitivity", som ofta refereras till i immunologiska metoder, hänför sig till mer än 40 år gamla pragmatiska krav på TSH-mätningar (1, 2). Functional sensitivity är den koncentration där osäkerheten överskrider (uppgår till) 20 %.

Specifikation av gränsvärden ingår i regel i en beskrivning av en mätmetod.

Mätmetodens prestanda

Laboratorier i Europa använder enbart CE-märkta produkter. Det innebär bl a att det skall finnas en omfattande dokumentation från tillverkaren av mätmetodens prestanda. I ackrediteringens anda skall laboratorier verifiera att metoden fungerar på det egna laboratoriet, oavsett om det handlar om reagens eller instrument. Därmed inte sagt att produktspecifikationen vare sig uppnår, omfattar eller tar ställning till "analytical goals" så som de diskuterats vid Stockholmsmötet 1999 eller Milanomötet 2014. Kommersiella metoder speglar snarare "state-of-the-art" – man gör så gott man kan och vad som är

ekonomiskt försvarbart. "Analytical goals" får därför lätt en akademisk överton (3).

I verifieringen ingår att ange ett mätintervall och bedöma mätosäkerheten. Det är mätosäkerheten som begränsar mätintervallet och avgör hur många signifikanta siffror som kan anges i svaret.

Om mätosäkerhet – bedömning av resultat

"Mätosäkerhet" har olika innebörd för laboratorier och slutanvändare. Laboratoriet behöver känna till och kontinuerligt övervaka såväl precision (imprecision, standard deviation eller variationskoefficient, både inom- och mellan serievariationen) som riktighet (bias). Slut användarens intresse är att resultaten skall vara jämförbara från undersökningstillfälle till undersökningstillfälle. För användaren är det avgörande att förändringar av mätresultatet motsvarar en biologisk förändring.

Ett enskilda resultat är betydelselöst om det inte jämförs med ett annat – tidigare – definierat (referens) och bedömningen av mätresultatet grundar sig på skillnaden mellan observationen och referensen.

Anta dels att mätosäkerheten (u) är densamma vid två på varandra följande mätningar (A och B) dvs $u_A = u_B$, dels att referensvärdet (R) är utan osäkerhet, definitionsvis.

För att skillnaden ($B-A$) skall vara statistiskt signifikant ("minimal difference": MD) skall den vara större än osäkerheten (u_c) i skillnaden mellan mätvärdena, vilken beräknas som kvadratroten ur summan av metodernas varianser:

$$MD_{A:B} \geq u_c = k \times \sqrt{u_A^2 + u_B^2} = k \times u_A \times \sqrt{2}$$

Formeln motiverar tumregeln MD = $3 \times u_A$ för en minsta signifikant skillnad.

I jämförelse med ett referensvärde skall skillnaden vara större än:

$$MD_{A;R} \geq u_c \geq k \times \sqrt{u_A^2} = k \times u_A$$

Där k är täckningsfaktorn, vanligen 2.

Det innebär att det är lättare att se avvikelser från ett referensvärde än från ett annat mätvärde, dvs det ställs mindre krav på osäkerheten för en metod som används för diagnos än en för övervakning. Om flera konsekutiva mätningar utförts, dvs så att en bedömning av en trend eller utveckling kan göras, bör man fundera i termer som ANOVA eller regressionsanalys, vilket kanske inte passar i vardagen. Ju fler successiva mätresultat som föreligger desto säkrare bedömning av en trend.

Statistisk signifikans är inte detsamma som medicinsk signifikans; den senare måste bedömas i relation till ett referensintervall, som inte nödvändigtvis baseras på en kärnfrisk referenspopulation.

MD är inte ett verklighetstroget mått. I diagnostik behöver man också ta hänsyn till en "biologisk variation" som inkluderas i RCV, Reference Change Value,

$$RCV = k \times \sqrt{u_A^2 + u_{BI}^2}$$

Där u_A är metodens mätosäkerheten, och u_{BI} mesurandens inom-individvariationen.

RCV baseras på epidemiologisk information som inte nödvändigtvis kan överföras på en patient; men RCV är större än MD. Uttrycket kompliceras om man t ex jämför värden från individer med tillstånd där man kan förvänta sig en varierande biologisk variation mellan undersökningstillfällena.

Den förteckning över biologisk variation som Carmen Ricos publicerade till Stockholmskonferensen, uppdateras nu av ECLM.

I begreppet "mätosäkerhet" ingår att bias har kompenserats. I den mån denna är osäker skall mätosäkerheten korrigeras i enlighet med riktlinjerna i "Guide to the expression of uncertainty in measurement" dvs GUM (4).

Osäkerhetsprofil

Inom ett mätintervall kan mätosäkerheten beskrivas som summan av en konstant och en proportionell osäkerhet dvs som en blandning av en homoscedastisk (konstant SD, u_{konst}) och en heteroscedastisk (proportionell SD, variationskoefficient, u_{prop}) mätosäkerhetsprofil.

$$u_c = \sqrt{u_{konst}^2 + C_m \times u_{prop}^2}$$

där C_m är koncentrationen av measuranden.

Mätosäkerheten bör bestämmas vid olika koncentrationer, vanligen i samband med metodverifieringen, för att upprätta en "osäkerhetsprofil". Det är rimligt att anta att u_{prop} är relaterad till den kemiska reaktion som utgör basen för mätningen medan den konstanta osäkerheten u_{konst} är relaterad till t ex temperatur, spädning (volymmätning), detektion av en signal etc. Det är också rimligt att anta att brus/signal kvoten ökar vid lägre koncentrationer när instrumentets inre variation slår igenom och den proportionella variationen minskar. Därför överväger u_{konst} vid låga koncentrationer medan u_{prop} tar över vid högre koncentrationer. Resonemanget förklarar osäkerhetsprofilen men ger inte några generella, kvantitativa eller kvalitativa besked. Inom medicin används i regel %CV, dvs en proportionell osäkerhet, inom hela mätintervallet oavsett osäkerhetsprofilen.

Ett slags medelvärde, eller "best estimate", av mätosäkerheten inom ett mätintervall kan uppnås med Dahlbergs formel för absoluta eller proportionella avvikelser mellan dubbelvärden från patientprover.

LoQ

Som beskrivits ovan gäller för en statistiskt signifikant skillnad:

$$B - A \geq k \times MD \geq k \times u_c \times \sqrt{2}$$

Man når en gräns där man inte längre kan bekräfta en skillnad, $k \times MD$, som är helt avhängig osäkerheten, u_c , vid aktuell koncentration. Med utgångspunkt från detta kan vi definiera LoQ;

$$\begin{aligned} LoQ - k \times u_c &\geq 0; \\ LoQ &\geq k \times u_c \end{aligned}$$

Vanligen sätter man $k=3$ dvs kräver en 99 %-ig signifikans. Värdet på u_c hämtas från osäkerhetsprofilen. Det finns andra kriterier som bestämmer den lägsta kvantifierbara koncentrationen, functional sensitivity är en, en annan baseras på dubbelvärden (5).

Hur många signifikanta siffror?

Vad är en signifikant siffra? Hur många signifikanta siffror kan/skall vi ange i ett svar?

Alla siffror i ett svar är potentiellt signifikanta, men

0 är speciell eftersom den både kan, och inte kan, vara en signifikant siffra. Den är aldrig signifikant ensam före en heltalssiffra men alltid om den står mellan två signifikanta siffror. Står den till höger om övriga siffror i ett heltal utgör den en "place-holder" och anger tiopotensen måste dess signifikans specificeras. Exempelvis kan 100 avse 95-104 eller 99,5 till 100,4. Därför kan talet anses bestå av en, två eller tre signifikanta siffror. För decimaler gäller att om heltalet är noll anger eventuellt följande nollor, till vänster om mätetalet, tiopotensen och räknas inte som signifikanta. Däremot anses nollor som följer mätetalet signifikanta. Tvärtom jämfört med heltal! Antalet signifikanta siffror i 0,01 är bara ett, men i 0,010, två. Innebörden är att 0,01 kan anta värden mellan 0,005 och 0,014 medan 0,010 motsvarar 0,0095 till 0,0104, alltså ett snävare intervall.

Antalet användbara, signifikanta siffror i ett resultat bestäms av antalet signifikanta siffror i råvärdena och de matematiska operationer som utförts. Vid multiplikation/division avgör minsta antalet signifikanta siffror i faktorerna antalet i svaret, vid addition/subtraktion det minsta antalet signifikanta decimaler. Förklara varför hälften av 50 (50/2) kan anges som 25 inte 30!

Antalet signifikanta siffror kan också relateras till mätosäkerheten. En tumregel är att osäkerheten inte får överskrida hälften av den sista signifikanta siffran, om den vore 1. Dvs om osäkerheten, u , kan uppskattas till 0,0004 kan ett resultat rapporteras som 0,023 ($u < 50\%$ av sista siffran i 0,021), dvs med två signifikanta siffror.

Resultat, som anges i relativa termer som procent, brukar anges med en decimal, oavsett utgångsvärdenas antal signifikanta siffror.

Avrundning

Avrundning kan uppfattas som en "förenkling utan att förlora för mycket information". Den innebär också ett ställningstagande till osäkerheten i svaret. Huvudregeln är att göra alla beräkningar med så många siffror som finns tillgängliga och först i svaret göra en korrekt avkorting.

Slutsats

Till syvende och sist är det laboratoriets ansvar att definiera svarsrapportering och dess format. Eftersom det knappast är möjligt att rapportera mätosäkerheten i varje enskilt resultat blir antalet signifikanta siffror ett slags mått på laboratorievärdets tillförlitlighet.

Det vore orimligt om utomstående – de må vara myndigheter, kvalitetsorgan eller oberoende expertgrupper – tilläts diktera rutiner, istället för verkligheten.

Referenser

Det finns tusentals publikationer på detta tema, men här är några lätt åtkomliga:

1. Nicoloff JT, Spencer CA. The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:553-8.
2. Spencer CA. Thyroid profiling for the 1990's: free T4 estimate or sensitive TSH measurement. *J Clin Immunoassay* 1989;12: 82-9.
3. Kallner A. Measurement performance goals: How they can be estimated and a view to managing them. *Scand J Clin Lab Invest* 2010;70(Suppl 242):34-39.
4. JCGM Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM 100:2008, GUM 1995 with minor corrections. http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgml/JCGM_100_2008_E.pdf Stefanie
5. Neubig S, Grotevendt A, Kallner A, Nauck M, Petersmann A. Analytical robustness of nine common assays: frequency of outliers and extreme differences identified by a large number of duplicate measurements. *Biochemia Medica* 2017;27(1):192-8.
6. JCGM International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM 3, 2012). Bureau International des Poids et Mesures. http://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgml/JCGM_200_2012.pdf.

Fotnot

International vocabulary of metrology (VIM) (6)

detection limit

limit of detection

measured quantity value, obtained by a given measurement procedure, for which the probability of falsely claiming the absence of a component in a material is β (false negatives), given a probability α of falsely claiming its presence, "false positives"

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

Hierarchy: LoB < LoD < LoQ

Limit of blank (LoB) – The highest measurement result that is likely to be observed (with a stated probability) for a blank sample; Also called “critical value” (ISO 11843).

Limit of detection (LoD) – The lowest amount of analyte in a sample that can be detected with (stated) probability.

Limit of quantitation (LoQ)//Lower limit of quantitation – The lowest amount of analyte in a sample that can be quantitatively determined with (stated) acceptable precision and trueness, under stated experimental conditions.

- a. The lowest is the “**limit of blank**” (LoB), which is the highest value we expect to see in a series of results on a sample that contains no analyte.
- b. The next lowest is the “**limit of detection**” (LoD), which is the actual concentration at which an

observed test result is very likely to exceed the LoB and may therefore be declared as “detected.”

- c. The “**limit of quantitation**” (LoQ) is the lowest actual concentration at which the analyte is reliably detected and at which the uncertainty of the observed test result is less than or equal to the goal set by the laboratory, or by the manufacturer of the method.
- d. The “**lower end of the measuring interval**” (range) (LMR) is the lowest level at which defined conditions are met. These defined conditions include all stated characteristics of the method, e.g. uncertainty, and often other characteristics.
- e. The “**lower limit of linear interval**” (range) (LLR), is the lowest concentration at which the method response has a linear relationship with the true concentration.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

The Gold book: <https://goldbook.iupac.org/html/L/L03540.html>



Foto: Henrik Alfthan.

Hemolysis interference studies – the method used in the preparation of hemolyzed samples has impact on the test results

Gro Gidske¹, Una Ørvim Sølvi², Sverre Sandberg¹, Gunn Berit Berge Kristensen¹

¹ Norwegian Organization for Quality Improvement of Laboratory Examinations (Noklus)

² Department of Global Public Health and Primary Care, Faculty of Medicine, University of Bergen
gro.gidske@noklus.no



What is known on this topic?

- There is limited knowledge if the method used for preparation of hemolyzed samples for interference studies can affect the test results.
- Studies have shown that interference caused by hemolysis on ammonia measurement depends on the method used in the preparation of hemolyzed samples.

What this paper adds

- This is the first study that compares three different methods often used in the preparation of hemolyzed samples in interference studies: *Osmotic shock*-, *Freeze*- and *Shear* methods.
- The same degree of hemolysis affects the measurements of several measurands differently, especially lactate dehydrogenase (LDH), depending on the method used in the preparation of the hemolysate.
- For the Shear method, there was a considerable between-donor difference in hemoglobin concentrations after aspiration of whole blood through a thin needle.

What we recommend

- We recommend that the *Freeze* method, which is practical and easy to perform, should be used in the preparation of hemolysate since it includes lysis of leukocytes, platelets and erythrocytes, and therefore best mimics the hemolysis that may occur in patient samples.

Hemolysis in blood samples is a major challenge in medical laboratories, and the most common reason for sample rejection (1). How, and to what extent, hemolysis may affect test results, depends on the measured analyte and the measurement principle of the instrument used. Most instruments used in clinical chemistry laboratories today can measure the amount of hemolysis, i.e. free hemoglobin (Hb), present in each patient sample and transfer the result to the laboratory information system (LIS). Thereby test results can automatically be rejected or commented upon at predefined Hb cut-off points (2).

Interference studies are performed to establish instrument specific cut-off points for when a test result should be rejected or commented upon due to hemolysis. Cut-off points are commonly recommended by the manufacturers of in vitro diagnostic (IVD) analytical systems. If laboratories use these cut-off points, they should verify their intended usefulness, strengths and limitations (3). Verification may be challenging since manufacturers' package inserts often lack information about experiment design and how cut-off points were defined (2, 4, 5). Discrepancies between manufacturers' Hb cut-off points and cut-off points from local interference studies have been observed (5-7). This could be due to differences in acceptance criteria or the methods used in the preparation of hemolyzed samples for testing.

Some define in vitro hemolysis as the abnormal breakdown of erythrocytes (2), while others define hemolysis as the abnormal breakdown of erythrocytes, leukocytes and platelets (8). The different definitions of hemolysis in various publications may explain why hemolyzed samples are prepared differently. The methods often used in the preparation of hemolyzed samples in interference studies are (9): 1)

Osmotic shock method; serum added hemolysate of erythrocytes lysed with distilled water (10), 2) *Freeze* method; serum added hemolysate of whole blood lysed by storage at -80°C for two hours (9, 11) and 3) *Shear* method; plasma from whole blood lysed by repeated aspirations through a thin needle (7, 12). The major difference between these methods is that the two latter contain cellular constituents from all the blood cells (erythrocytes, leukocytes and platelets) while the former only contains cellular constituents from erythrocytes. The three methods are currently used interchangeably to simulate hemolysis in interference studies (9, 11). Two previous studies have compared the *Osmotic shock* and *Shear* methods, but for one analyte only; ammonia. Different test results for ammonia were obtained depending on the method used in the preparation of the samples (6, 7). In our study, recently published in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), all three methods were compared for several commonly used analytes (13).

Blood was drawn from seven healthy volunteers (13). The blood from each volunteer was divided into three pools and each pool processed according to one of the three methods: 1) *Osmotic shock* method: Lithium-heparin blood was washed three times with isotonic saline to remove leukocytes and thrombocytes, and the erythrocytes were lysed by adding distilled water. The vial was centrifuged for 10 min at 1300g at 21°C and the top layer used as hemolysate and added to serum from the same donor to achieve the final Hb concentrations of 0, 50, 100 and 200 mg/dL. 2) *Freeze* method; Lithium-heparin blood was stored for two hours at -80°C before it was thawed for one hour at 21°C and centrifuged for 10 min at 1300g at 21°C . The top layer was used as hemolysate and added to serum from the same donor to achieve final Hb concentrations of 0, 50, 100 and 200 mg/dL. 3) *Shear* method: Lithium-heparin blood was centrifuged, and plasma used for baseline sample. The remaining blood was aspirated up to three times through a 1.0 mL BD Micro-Fine™+ 1 ml syringe equipped with a 29-gauge needle, centrifuged for 10 min at 1300g at 21°C and the top layer used for analysis.

The samples were analyzed in duplicate on the wet reagent instrument Modular P800/E170 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) and on the dry slide reagent instrument Vitros 5,1 FS (Ortho Clinical Diagnostics, Inc., Rochester, NY, USA). The following

measurands were measured: alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin, chloride, creatine kinase (CK), gamma glutamyl transferase (GGT), glucose, lactate dehydrogenase (LDH), potassium, sodium, uric acid and H-index (equivalent to Hb concentration in mg/dL on both instruments).

We found that the same degree of hemolysis affected the measurements of several measurands differently, depending on the method used in the preparation of the hemolysate (13). Statistically significant systematic deviation between the three methods were found for total bilirubin, CK and potassium on Vitros, and for potassium on Modular. Particularly large variations were found for LDH on both systems. For example, on Vitros, LDH changed from 153 U/L in baseline sample (no hemolysis) to 185 U/L (21%) in sample with H-index 51 (manufacturer's cutoff point) with the *Osmotic shock* method; from 155 U/L to 196 U/L (27%) with the *Freeze* method and from 148 U/L to 195 U/L (32%) with the *Shear* method.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommends the *Osmotic shock* method where only erythrocytes are lysed (10). Both the *Freeze* and the *Shear* methods include lysis of leukocytes, platelets and erythrocytes, and therefore best mimics the hemolysis that may occur in patient samples (11). However, whereas the *Freeze* method is practical and easy to perform, the *Shear* method is a laborious process which makes it less suitable for interference studies. In addition, there was a considerable between-donor difference in hemoglobin concentrations after

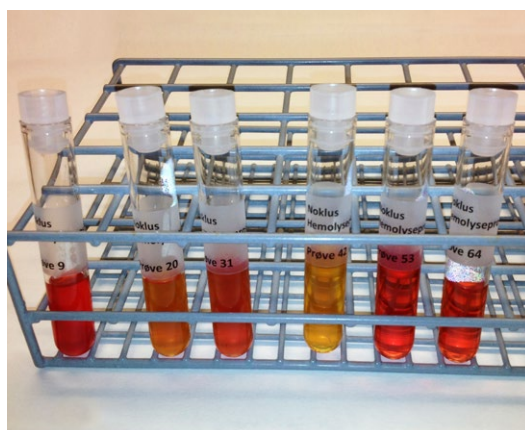


Figure 1: Plasma from six different donors, prepared with *Shear* method. Blood in this picture was aspirated once through a thin needle, centrifuged and plasma pipetted off.

aspiration through a thin needle (Figure 1). This may be related to between-donor differences in red blood cell counts since reduced erythrocyte concentrations may lead to a faster flow through the needle and hence increased shear and cell membrane rupture (8). It may also be related to different erythrocyte fragility (14). For interference studies, the *Shear* method is difficult to standardize, and the method should be used with caution due to other potential interferences caused by glycolysis in the whole blood (15).

In conclusion, our findings indicate that the same degree of hemolysis affects the measurements of several measurands differently, especially LDH, depending on the method used in the preparation of the hemolysate. We argue that the *Freeze* method should be preferred in the preparation of hemolysate since it is practical and easy to perform, and includes lysis of leukocytes, platelets and erythrocytes, which best mimics the hemolysis that may occur in patient samples.

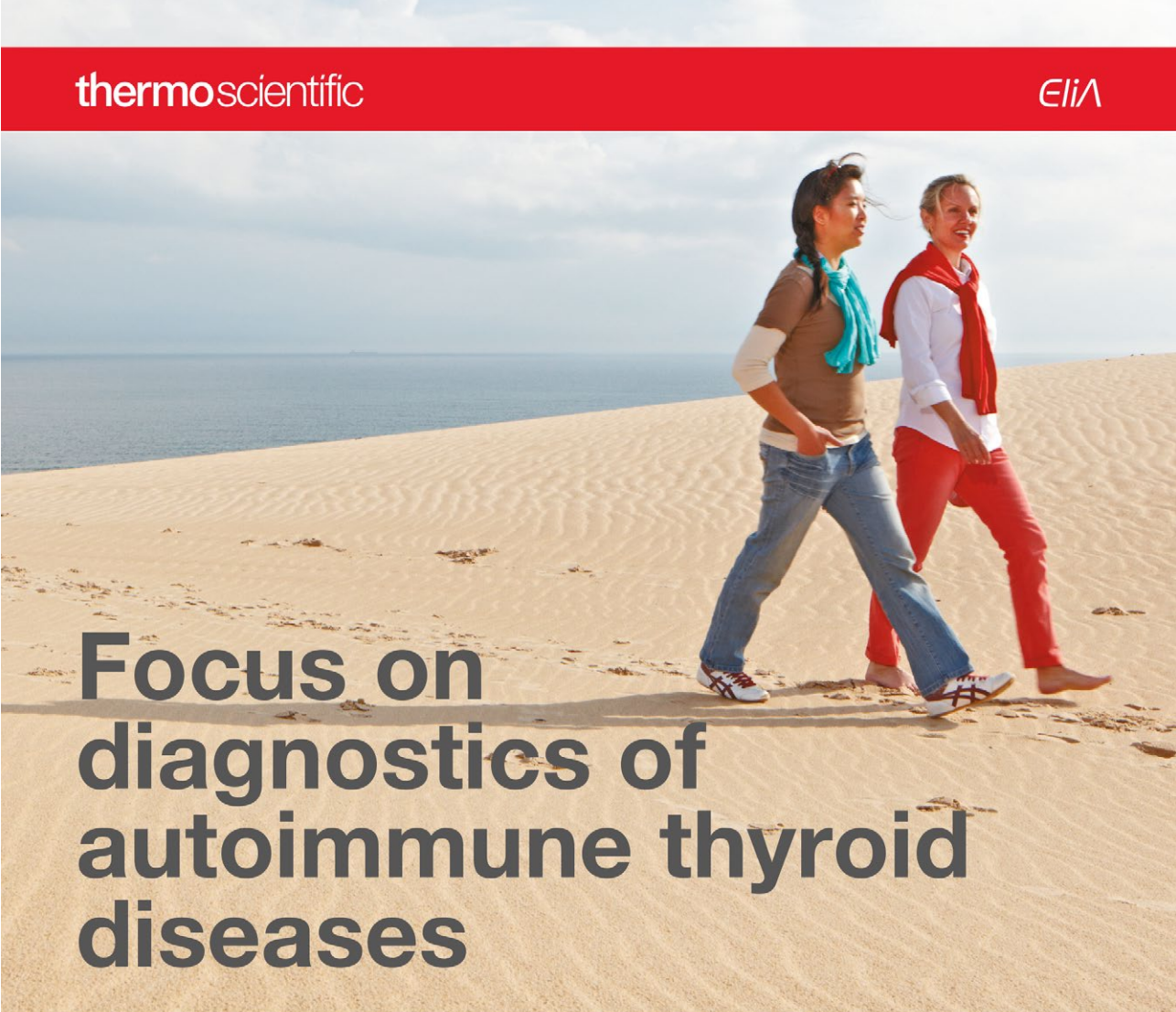
Acknowledgments:

We acknowledge the financial support provided by the Nordic Society of Clinical Chemistry (NFKK).

References

1. Jones BA, Calam RR, Howanitz PJ. Chemistry specimen acceptability: a College of American Pathologists Q-Probes study of 453 laboratories. *Arch Pathol Lab Med* 1997;121:19-26.
2. JDolci A, Panteghini M. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible? *Clin Chim Acta* 2014;432:38-43.
3. JClinical and Laboratory Standards Institute. Hemolysis, icterus, and lipemia/turbidity indices as indicators of interference in clinical laboratory analysis; approved guideline. CLSI document C56-A. 2012.
4. Jvon Meyer A, Cadamuro J, Lippi G, Simundic AM. Call for more transparency in manufacturers declarations on serum indices: On behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta* 2018;484:328-32.

5. JFernandez P, Llopis MA, Perich C, Alsina MJ, Alvarez V, Biosca C, et al. Harmonization in hemolysis detection and prevention. A working group of the Catalan Health Institute (ICS) experience. *Clin Chem Lab Med*.2014;52:1557-68.
6. JEl-Khoury JM, Bunch DR, Wang S. Is the effect of hemolysis on plasma ammonia measurement overrated? *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136:471-2.
7. JDimeski G. Effects of Hemolysis on the Roche Ammonia Method for Hitachi Analyzers. *Clin Chem* 2004;50:976-77.
8. JDimeski G, Clague AE, Hickman PE. Correcting and reporting of potassium results in haemolysed samples. *Ann Clin Biochem* 2005;42:119-23.
9. JDimeski G. Interference Testing. *Clin Biochem Rev*. 2008;29(Suppl (i)):43-8.
10. JClinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; approved guideline, 2nd ed. CLSI document EP07-A2. 2005.
11. JLippi G. Interference Studies: Focus on Blood Cell Lysates Preparation and Testing. *Clin Lab* 2012;58:351-55.
12. JKoseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochemica Medica* 2011;21:79-85.
13. JGidske G, Solvik UO, Sandberg S, Kristensen GBB. Hemolysis interference studies: freeze method should be used in the preparation of hemolyzed samples. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:e220-e2.
14. JLippi G, Mercadanti M, Aloe R, Targher G. Erythrocyte mechanical fragility is increased in patients with type 2 diabetes. *Eur J Intern Med* 2012;23:150-3.
15. JSacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011. p. 709-30.

A photograph of two women walking along the crest of a large sand dune. The woman on the left is wearing a brown top, blue jeans, and a teal scarf. The woman on the right is wearing a white shirt, red pants, and a red scarf. They are both smiling and looking towards the right. In the background, the ocean stretches to the horizon under a cloudy sky.

Focus on diagnostics of autoimmune thyroid diseases

Fully automated tests for thyroid autoantibodies EliA™ anti-TSH-R, EliA anti-TPO, and EliA anti-TG

We have extended our EliA thyroid test panel with the release of EliA anti-TSH-R measuring thyroid stimulating hormone receptor (TSH-R) autoantibodies. The combination of all 3 tests provides reliable diagnostic guidance in autoimmune thyroid diseases.

The tests can be easily integrated into lab routine as they are performed on the fully automated Phadia™ Laboratory Systems.

Just add EliA anti-TSH-R, EliA anti-TPO and EliA anti-TG and start testing.

Find out more at thermofisher.com/EliA

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Legal Manufacturer: Phadia AB, Uppsala, Sweden

ThermoFisher
SCIENTIFIC

www.thermoscientific.com/phadia

Denmark

Tel: + 45 70 23 33 06
info-dk.idd@thermofisher.com

Finland

Tel: +358 9 3291 0110
info-fi.idd@thermofisher.com

Norway

Tel: +47 21 67 32 80
no.idd@thermofisher.com

Sweden

Tel: +46 18 16 60 60
info-se.idd@thermofisher.com

Hematologi, ett laboratorieområde som kanske står inför stora förändringar

Anders Larsson

Klinisk Kemi och Farmakologi, Uppsala

anders.larsson@akademiska.se



Digital bildanalys är ett område som för närvarande utvecklas i en snabb takt. Datorerna blir kraftfullare och kraftfullare vilket gör att den digitala bildanalysen blir både snabbare och säkrare. Med den bakgrunden har vi i Uppsala varit intresserade av att titta på ett helt nytt instrument för bildanalys av blodkroppar för att se vad tekniken kan användas till.

Mikroskopi versus cellräknare

Traditionellt användes manuell mikroskopi för identifiering av blodceller. Det är dock en tidskrävande teknik och den ersattes därför av cellräknare. Cellräknare kan utföra testningen snabbt och med liten arbetsinsats, men en stor nackdel med cellräknare är att endast totalvärden för cellen mäts, och ingen subcellulära data. Det gör att manuell mikroskopi används för identifiering av celler när cellräknarna får problem. Cellerna är bättre differentierade baserat på deras morfologi och färgningsegenskaper än i de automatiserade analysatorerna. Problemet är att manuell mikroskopi är tidskrävande, kräver hög kompetens hos bedömare och en kontinuitet. Det blir också problem om bedömare inte bedömt på ett tag eller om antalet prover per månad är för lågt.

CellAvision, bildanalyssystem för sjukhuslaboratorier

I förra numret recenserades Per Simonssons bok om CellAvision. CellaVision har framgångsrikt utvecklat ett bildanalys system för att identifiera celler baserade på morfologiska och färgningsegenskaper. Många av de Skandinaviska laboratorier har i dag CellaVision för differentialräkning av vita blodkroppar. CellaVision systemen är avsedda för sjukhuslaboratorier och är komplexa system som kräver erfaren personal. Ännu så länge är CellAvision ensamma i sin nisch,

men med tanke på att bildanalys ger bättre information om cellens utseende så är det väl rimligt att anta att fler firmor kommer att utveckla bildanalysmetoder. Tex har Roche köpt rättigheterna till en programvara som heter Bloodhound och som är avsett för bildanalys av blodceller. Det som jag kan tänka mig är den stora utmaningen är att få tillräckligt snabba tolkningar så att kapaciteten kommer i nivå med de stora cellräknarna. Jag tror att det kommer att gå att lösa tex med parallella analyser/processorer.

HemoScreen, POC-hematologianalysator som bygger på digital bildbehandling

Om vi antar att den stora utmaningen är kapaciteten, så borde det vara lättare att utveckla tekniken för mindre enheter som tex vårdcentraler. Med tanke på utvecklingen inom bildanalysområdet så tyckte jag att det var intressant att titta på ett instrument som heter HemoScreen. PixCell Medical är ett Israeliskt företag som nyligen har utvecklat HemoScreen™, en POC-hematologianalysator, som bygger på digital bildbehandling. HemoScreen använder en metod som kallas viskoelastisk fokusering. När jag läser beskrivningar av tekniken så tycker jag det påminner det om vad som händer i små blodkärl där cellerna rör sig centralt i kärlet och plasman finns närmast kärlväggen. Det gör att man kan ta tydliga bilder av cellerna som sedan analyseras med en inbyggd programvara. HemoScreen™ har en särskild provtagningsutrustning som består av 2 parallella kapillärer. För att fylla kapillärerna krävs 40 µL. Kapillärerna skjuts sedan in i en engångskyvett som sedan sätts in i analysatorn. Efter det sköter instrumentet alla provblandningar och analyser och resultaten visas inom 6 minuter. Alla reagenser finns lagrade i engångskyvetten. Eftersom alla steg sker inne i kyvetten så kommer inte blodet i kontakt med själva instrumentet. Det innebär att instrumentet kräver mycket mindre underhåll än en cellräknare och att man bör kunna decentralisera

den här instrumenttypen lägre ut i organisationen än cellräknare. HemoScreen instrumentet mäter både vad vi ofta kallar för blodstatus, men också en fullständig differentialräkning av vita blodkroppar. Det innebär att instrumentet kan analysera antal röda blodkroppar, vita blodkroppar (WBC), trombocyter, hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, storleksvariation hos erytrocyter och trombocyter, neutrophil granulocyter (antal och procent), monocyter (antal och procent), lymfocyter (antal och procent), eosinofila granulocyter (antal och procent) and basofila granulocyter (antal och procent). Storleksmässigt är instrumentet ungefär lika stort som två A4 pärmar bredvid varandra.

Hur kan man använda HemoScreen?

För stunden är det lite svårt att överblicka hur man kan utnyttja den här typen av instrument, men jag ser ett antal klart intressanta applikationer. En sådan applikation skulle kunna vara för att mäta blod och trombocyter i samband med stora akuta blödningar. Instrumentet är så pass litet att man skulle kunna ta in det på en operationssal och då skulle man snabbare kunna bedöma behovet av blod och trombo-

cyttransfusioner. Förhoppningen är givetvis att det skulle leda till bättre anpassade transfusioner utifrån patientens behov. En liknande applikation är tex stora förlossningsblödningar eller traumapatienter på akutmottagningen. För den här typen av användningsområde är det framförallt Hb och trombocyter som är intressanta.

Primärvården är en annan applikation som borde vara intressant. I skandinavien använder vi i hög utsträckning CRP för infektionsdiagnostik och givetvis tillför vita, neutrofiler och diffräkning en del, men vår bedömning är att det framförallt är anemidiagnostiken som kommer vara huvudfokus i primärvården. En stor andel av primärvårdspatienterna söker på grund av trötthet och man beställer ett Hb. Om Hb värdet är lågt så går man ofta vidare och analyserar om anemin är mikrocytär eller makrocytär. Om man redan vid första besöket kunde få information om Hb, EVF, MCV och MCH så skulle förhoppningsvis utredningarna gå snabbare och det skulle krävas färre resor för patienten.

En annan applikation som vi tror kan vara intressant för den här typen av instrument är patienter som får cytostatikaterapi. När patienten kommer för sin



Foto: Anders M. Hager.

nästa cytostatikakur så tar man i regel prover för att räkna vita och neutrofiler och är neutrofilerna under 0,5 så påbörjar man inte nästa kur. Nu tar man proverna och beroende på de lokala förutsättningarna så får man ett svar efter 1-2 timmar och sedan skall doktorn kopplas in, vilket tar ytterligare tid. Det innebär att patienten vistas på en mottagning eller avdelning i en miljö med ökad risk för infektioner och kanske inte ens hinner med tåget/bussen hem samma kväll. Ett alternativt scenario skulle kunna vara att mottagningen utför analysen och har svaret efter några minuter. Är då vitatalet lågt kan man säga åt patienten att åka hem och att doktorn ringer framåt eftermiddagen och diskuterar när patienten istället skall börja sin kur. Patienten kommer snabbt hem och infektionsrisken minskar. En förlängning av detta skulle kunna vara att patienten själv tar provet hemma och ringer in svaret så behöver han/hon inte ens åka till sjukhuset om neutrofilvärdet är för lågt. Eftersom man i den situationen troligtvis kommer följa neutrofilvärdena dagligen så innebär ett enstaka felaktigt lågt värde enbart en dags försening av nästa kur. Det här var några exempel på applikationer som vi diskuterat och ni läsare har säkert en hel del andra ideer.

Metodjämförelse mellan HemoScreen och Sysmex XN med intensivvårdsprover

Utifrån våra diskussioner enligt ovan så började vi (1) med att undersöka prover från intensivvården där vi jämförde resultaten för HemoScreen instrumentet med Sysmex XN instrumentet som vi har här på kem lab för att se hur pass väl de stämmer överens. Enligt diskussionen ovan så fokuserade vi i det fallet jämförelsen i första hand på röda blodkroppar och trombocyter medan totalvita fick följa med som ett komplement. Totalt ingick 104 prover i jämförelsen. Proverna kom från thoraxintensiven, neurointensiven och allmänintensivavdelningen. Analyserna utfördes på avdelningen för klinisk kemi och farmakologi i Uppsala och proverna analyserades först med Sysmex XN instrumentet och sedan med HemoScreen instrumentet. Deming korrelationen mellan HemoScreen och Sysmex instrumentet var för röda blodkroppar (RBC) ($RBC_{HemoScreen} = 0,998 * RBC_{Sysmex} + 0,049$; $r = 0,993$) för trombocyter ($Trombocyter_{HemoScreen} = 1,087 * Trombocyter_{Sysmex} - 14,80$; $r = 0,994$) och för vita blodkroppar (WBC) ($WBC_{HemoScreen} = 1,061 * WBC_{Sysmex} - 0,644$; $r = 0,995$). Det vill säga r-värden

över 0,99 för alla tre analyterna (Figur 1-3). Det goda överensstämmelsen talar för att HemoScreen skulle kunna användas för intensivvårdsprover. Vi planerar nu som nästa steg att utvärdera instrumentet ute på en intensivvårdsavdelning för att verifiera att den goda överensstämmelsen består även då instrumentet används i sin tänkta miljö.

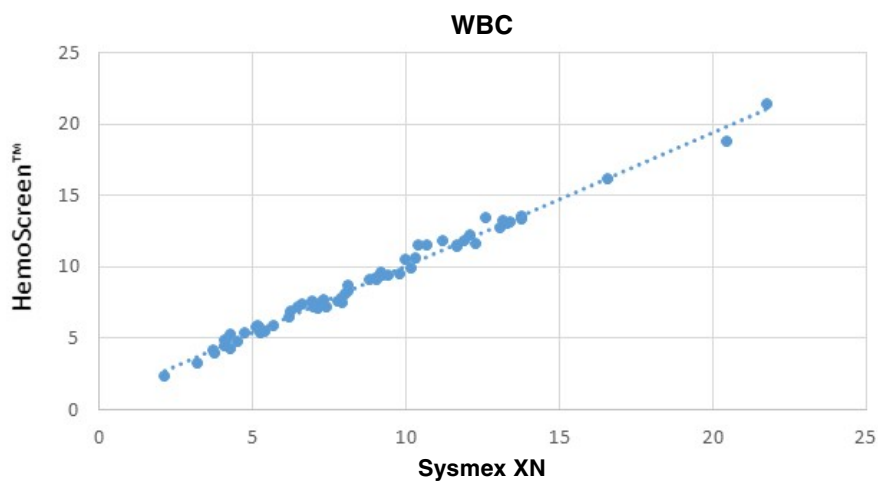
Metodjämförelse mellan HemoScreen och Sysmex XN med primärvårdsprover

Vi har också utvärderat instrumentet med primärvårdsprover med fokus på anemidiagnostik. För jämförelsen med primärvårdsprover använde vi oss av 100 primärvårdsprover där man beställt blodstatus och jämförde resultaten som erhöles med HemoScreen™ och Sysmex XN instrumentet. Med tanke på att våra husläkare i första hand använder CRP som infektionsmarkör riktade vi in den jämförelsen på totalvita, RBC, hemoglobin, MCH, MCV och trombocyter. Eftersom proverna transporteras med buss från primärvården så blir tiderna till analys längre än för intensivvårdsproverna.

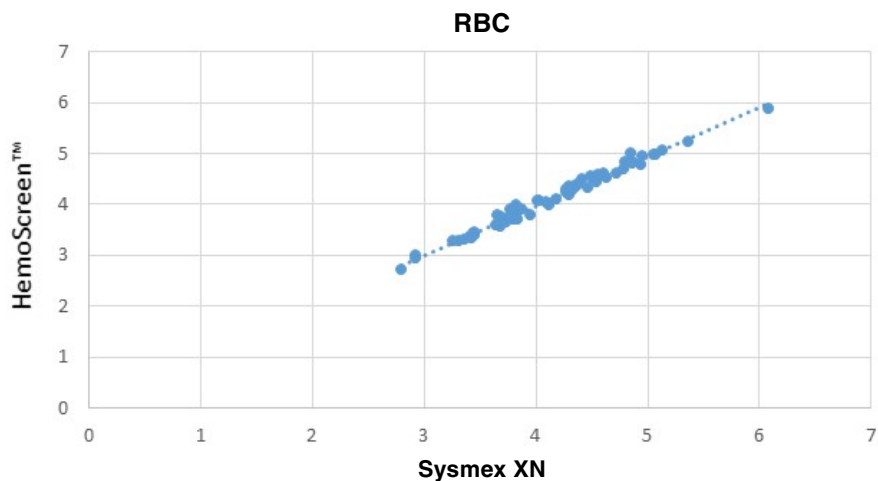
Även för primärvårdsproverna hade vi bra Deming korrelationer mellan de två instrumenten: $WBC_{HemoScreen} = 1,016 * WBC_{Sysmex} + 0,34$; $r = 0,981$, $RBC_{HemoScreen} = 0,988 * RBC_{Sysmex} + 0,015$; $r = 0,974$, $Hemoglobin_{HemoScreen} = 1,081 * Hemoglobins_{Sysmex} - 11,25$; $r = 0,964$, $MCH_{HemoScreen} = 0,978 * MCH_{Sysmex} + 0,78$; $r = 0,939$, $MCV_{HemoScreen} = 0,963 * MCV_{Sysmex} + 8,68$; $r = 0,946$, $Platelets_{HemoScreen} = 0,964 * Platelets_{Sysmex} + 25,7$; $r = 0,953$. Även om korrelationen var bra så var det enligt vår uppfattning lite stor diskrepans för MCV. Det kan givetvis bero på kalibreringsskillnader men det kan också bero på att vi analyserade proverna några timmar efter provtagningen pga transporttiden från vårdcentral till sjukhuslaboratoriet. Eftersom Sysmex XN instrumentet gör erytrocyterna sfäriska före analys, medan bildanalysinstrumenten bibehåller den ursprungliga formen under analysen, så skulle äldre prover kunna ha olika effekter på i första hand MCV relaterade analyser utförda med de olika typerna av instrument.

Plan för framtida utvärderingar

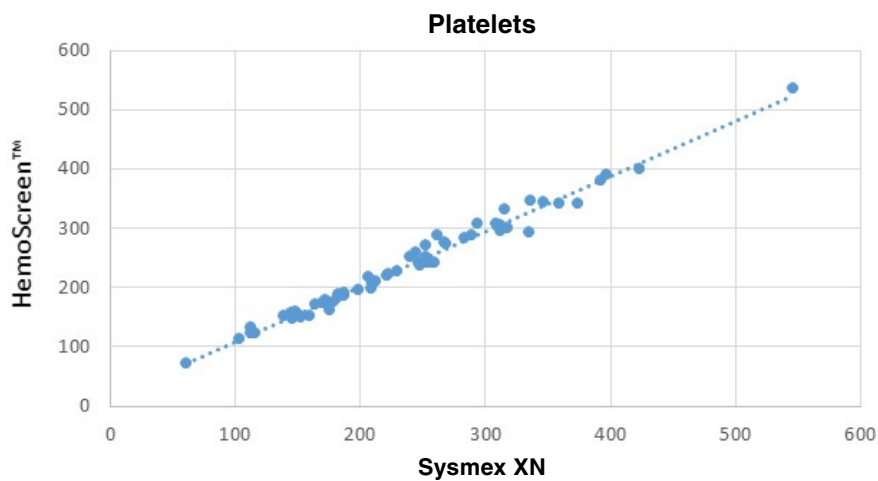
Vi planerar därför att upprepa primärvårdsstudien för att se på korrelationen när HemoScreen analyserna utförs ute på vårdcentralen i nära anslutning till provtagningen, vilket ju är den avsedda kliniska användningen av instrumentet. När vi upprepar studien så



Figur 1. Korrelation mellan antal vita blodkroppar (WBC) i prover från intensivvårdspatienter analyserade med Sysmex XN (x-axel) och HemoScreen (y-axel).



Figur 2. Korrelation mellan antal röda blodkroppar (RBC) i prover från intensivvårdspatienter analyserade med Sysmex XN (x-axel) och HemoScreen (y-axel).



Figur 3. Korrelation mellan trombocytantal i prover från intensivvårdspatienter analyserade med Sysmex XN (x-axel) och HemoScreen (y-axel).

kommer analyserna utföras av personal på vårdcentralen. Vi har precis påbörjat detta arbete. Parallellt med detta skall vi också upprepa intensivvårdsstudien och även där kommer analysen utföras av personal på intensivvården. Med tanke på att instrumentet är så pass enkelt att hantera, så förväntar jag mig inga större problem då vi analyserar proverna på en intensivvårdsavdelning jämfört med analys på centrallaboratoriet. Vi har också diskussioner om man skulle kunna använda instrumentet i tex ambulanssjukvården eller i ambulanshelikoptern. Med tanke på att det är relativt "skakiga" miljöer så undrar man lite om instrumentet klarar av att utföra analyser i samband med transport. Personligen skulle jag nog inte vilja be någon räkna celler i mikroskop i en sådan miljö så det borde vara en utmaning för instrumentet.



Foto: Henrik Alfthan.

Hur hanterar vi differentialräkningar?

Som ni ser av denna text så har vi hittills fokuserat på blodstatuskapaciteten hos HemoScreen instrumentet. Det beror på att blodstatusbeställningarna är så mycket mer frekventa än differentialräkningarna av vita blodkroppar. Erfarenheterna från våra stora instrument är också att vi får betydligt fler flaggor på diffarna än för övriga analyserna som HemoScreen utför. Hanteringen av flaggor är kanske ett större problem än själva analyserandet. Eftersom det är svårt att ge klara riktlinjer om hur man hanterar flaggor så har vi hittills valt att fokusera på de övriga analyserna och ej ta med differentialräkningen. Användningen för analys av patienter som får cytostatikaterapi är en applikation där man sannolikt kan bortse från flaggorna om atypiska vita blodkroppar. När patienten kommer för sin nästa cytostatikakur så kontrollerar man att neutrofilerna är över 0,5 och är det mer än 0,5 så kan man påbörja nästa kur. I det läget kan man med största sannolikhet bortse från att akut utreda eventuella flaggade resultat vidare då patienten ändå får cytostatikabehandlingen.

Slutsats

I den här artikeln redovisar vi lite resultat med prover från intensivvård och primärvård, men det finns sannolikt ett stort antal applikationer där vi kan ha nytta av hematologisk bildanalys. Jag skulle tex kunna tänka mig det på kem lab som backup instrument till en större cellräknare eller CellAvision instrument eller under nattetid på ett mindre laboratorium då vi kanske inte har personal för att hålla igång den stora cellräknaren. Till en början kommer det nog främst vara ett komplement till de stora cellräknarna, men med tanke på att bildanalys ger en mer detaljerad information så tror jag att bildanalys på sikt kommer att ersätta cellräknarna. Det tar säkert många år och jag är nog pensionär då, men jag är övertygad om att vi kommer att se en kraftig ökning av bildanalys inom hematologin.

Referenser

1. Larsson A, Smekal D, Lipcsey M. Rapid testing of red blood cells, white blood cells and platelets in intensive care patients using the HemoScreen™ point-of-care analyzer. Platelets. 2018 Dec 28;1-4.



HemoScreen – A Lab on a Cartridge

Transforming Blood Testing at the Point of Care

OVERVIEW: The HemoScreen is a miniature portable hematology analyzer that uses disposable cartridges. Each cartridge includes all necessary reagents and is designed to accept a single drop of blood.

TECHNOLOGY: The HemoScreen employs an entirely novel approach to blood analysis utilizing **Microfluidics**, **Machine Vision** and **Artificial Intelligence**. The platform will allow running additional assays such as CRP, D-Dimer, BNP and Troponin on dedicated cartridges.

Exceptionally simple

Lab accurate results

Miniature & portable

5 Minutes from test to results

No training or expertise

CE marked and FDA cleared

Fits virtually any settings

Real-time actionable information

HemoScreen provides Complete Blood Count including 5-part WBC Differential



Automatiserad metod för screening av Duchennes muskeldystrofi hos nyfödda genom blodprov

Teemu Korpimäki, Liisa Meriö, Pauliina Mäkinen, Anne Timonen och Hanna Polari

PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo

teemu.korpimaki@perkinelmer.com

Sammanfattning

Duchennes muskeldystrofi (DMD) orsakar progressiv förtvinning av musklerna och för tidig död. Muskelförtvinningen frigör kreatinkinas muskelisoenzym (CK-MM) i blodet. Det möjliggör screening av DMD hos nyfödda genom mätning av CK-MM-halten i torkade blodprov (DBS) som samlats in efter födseln. PerkinElmer utvecklar en ny automatiserad immunologisk metod för mätning av CK-MM i dessa prov. Denna artikel presenterar testresultaten, som beskriver den analytiska och kliniska prestandan hos denna metod. Baserat på dessa resultat lämpar sig den nya metoden väl för screening av DMD.

Abstract

Duchenne muscular dystrophy (DMD) causes progressive muscle degeneration and premature death. The muscle degeneration releases creatine kinase muscle isoenzyme (CK-MM) to the circulation. Thus it is possible to screen newborns for DMD by measuring CK-MM-concentration from dry blood spots (DBS) collected soon after birth. PerkinElmer is developing a novel automated immunoassay for measuring CK-MM from these samples. This article presents test results characterizing the analytical and clinical performance of the assay. Based on these results, the new method will be well suitable for the intended use of DMD screening.

Inledning

Duchennes muskeldystrofi (Duchenne Muscular Dystrophy eller DMD) är en allvarlig muskelsjukdom som uppträder i barndomen. Sjukdomen orsakas av mutationer i dystrofingenen som finns på X-kromosomen (ändrar ofta läsramen) och drabbar i allvarlig form oftast endast pojkar. Flickor kan vara symtomfria bärare av genfelet eller i vissa fall, t.ex. på grund av obalanserad inaktivering av X-kromosomen, vara symtomgivande bärare. Globalt sett har ca en av 5

000 pojkar DMD [1]. Dystrofingenen är människans största gen med ca 2 300 kilobaspar och 79 exoner och är därmed känslig för mutationer: omkring var tredje DMD-patient har inte ärvt sjukdomen, utan fått den genom spontan mutation [2].

Dystrofin är ett protein som håller samman musklerna och fäster stödstrukturen i muskelcellerna (cytoskelettet) till matrisen utanför cellerna (extracellular matrix). Mutationer i dystrofingenen leder till att muskelcellerna kan bli utan fungerande dystrofin, vilket gör att de inte tål mekanisk belastning på normalt sätt och att det uppstår nekros i muskelcellerna. Symtomen upptäcks i genomsnitt vid 2,5 års ålder, men diagnosen görs i genomsnitt på barn som fyllt fem år. Diagnostiseringen har inte blivit snabbare under de senaste tjugo åren i varken USA eller Europa [3].

DMD orsakar funktionsnedsättning redan i tidig barndom, och de drabbade mister ofta sin gångförmåga vid 8–12 års ålder. DMD leder ofta till döden i tidig vuxen ålder på grund av nedsatt funktion i hjärtmuskeln eller andningsorganen. Det finns för närvarande inget botemedel mot Duchennes muskeldystrofi. Genom regelbunden kortikosteroidbehandling har man lyckats sakta ner förlusten av rörelseförmågan och förlänga livslängden. Tack vare tidigt insatt steroidbehandling och god grundläggande vård har den förväntade livslängden ökat med över tio år sedan 1990-talet och patienterna kan nu leva till drygt 30 års ålder. Steroidbehandling har dock biverkningar, som avstannad längdtillväxt, viktuppgång och benskörhet.

Som tur är kommer det nya behandlingsalternativ för Duchennes muskeldystrofi. Genfelet kan lindras t.ex. genom att få cellerna att producera ett protein som ersätter dystrofin. En lovande metod för det är s.k. exon skipping, vilket är läkemedel som bygger på att man hoppar över exoner. I teorin lämpar sig exon skipping-läkemedel för upp till 70–80 procent av mutationerna i dystrofingenen. Det första målet vid utvecklingen av läkemedlen har varit exon 51 och de

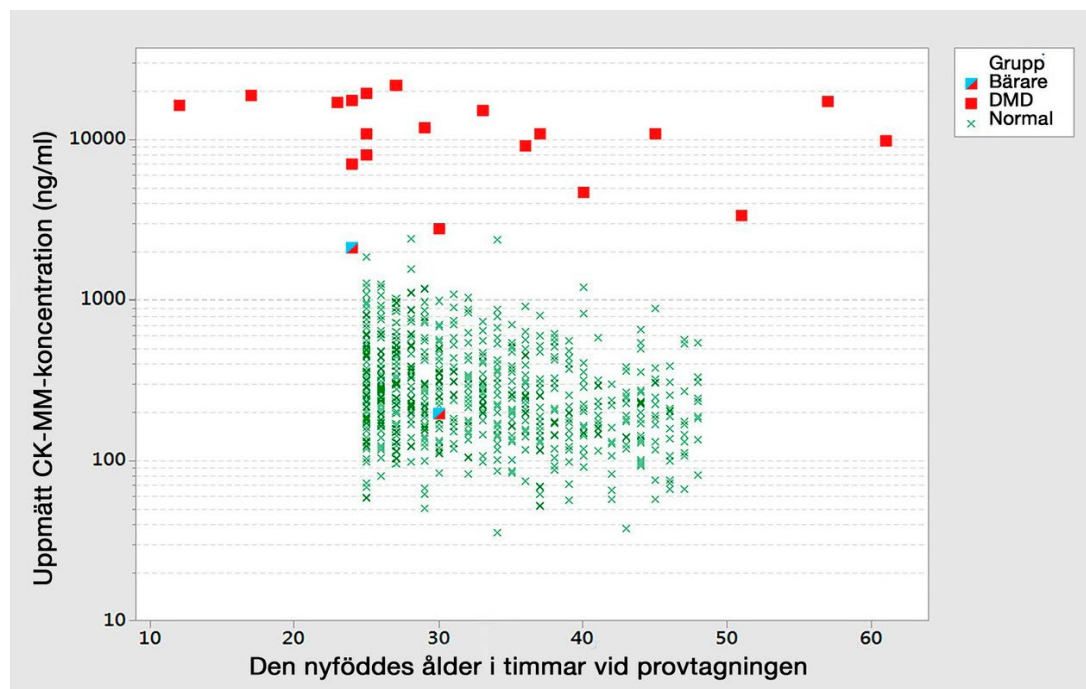
stora mutationerna i de omgivande exonerna. USA fick i september 2016 tillstånd att sälja läkemedlet eteplirsen under handelsnamnet Exondys 51. Läkemedlets effekt bygger på att exon 51 hoppas över vid avläsningen av dystrofingen och lämpar sig för ca 13 procent av alla DMD-patienter [4]. Behandlingar som reparerar muskelcellsskador som orsakas av dystrofinbrist och andra läkemedelsbehandlingar är också på gång.

DMD orsakar bestående muskelskador när det utvecklas. När det kommer nya behandlingsmetoder är det därför ännu viktigare att kunna diagnostisera DMD så tidigt som möjligt så att behandling kan sättas in så snabbt som möjligt. Screening av nyfödda för att upptäcka Duchennes muskeldystrofi har gjorts sedan början av 1970-talet i uppemot ett tjugotal olika studier och screeningprogram i Europa och USA. DMD-patienter har identifierats genom mätning av kreatinkinas (creatine kinase, CK), som frigörs i blodet när muskelcellerna skadas. Hos nyfödda med DMD är framför allt mängden kreatinkinas som förekommer i muskler (muscle-type creatine kinase eller

creatine kinase MM isoform, CK-MM) i blodet mångdubbel jämfört med den hos friska nyfödda barn.

I screeningprogrammen har man traditionellt sett mätt mängden kreatinkinas baserat på enzymaktiviteten. Då mäter man alla former av kreatinkinas, dvs. även sådan som förekommer i hjärtat och hjärnan (CK-MB och CK-BB). Det har utgjort ett problem vid screening av DMD, eftersom kreatinkinas som finns i hjärtat och hjärnan kan vara kopplad till andra faktorer (andra sjukdomar, genotyp m.m.), vilket kan ge felaktiga positiva resultat vid screening. Problemet har också varit att analyserna har varit svåra att automatisera för stora screeningmängder. Analyserna har inte heller standardiserats, vilket gör att resultaten från olika testlaboratorier inte kunnat jämföras med varandra.

PerkinElmer utvecklar en ny automatiserad metod för screening av DMD [5]. Det är en helautomatisk specifik immunanalys av CK-MM-isoenzymet som körs i ett Genetic Screening Platform (GSP)-instrument och där man som provmaterial använder torkade blodprov som används generellt vid screening av nyfödda.



Figur 1. GSP Neonatal Creatine Kinase-MM-metodens kliniska funktion på arkiverade blodprov från nyfödda. Materialet innehöll 700 prov från nyfödda med förmodad normal fenotyp, 19 prov från nyfödda pojkar med DMD-fenotyp samt två prov från nyfödda flickor av bärartyp (den ena DMD och den andra MMD).

Metodens specificitet för isoenzymet CK-MM bidrar till att minska mängden felaktiga positiva screeningsresultat. Metoden kan dessutom även mäta CK-MM-molekyler som mist sin enzymatiska aktivitet, vilket innebär att resultaten från metoden störs mindre av inaktiveringen av kreatinkinas i proven. Kalibreringen i analysen har skapats så att t.ex. variationen mellan olika produktionsomgångar har minimerats, vilket gör att metoden gör det möjligt att jämföra resultaten från olika laboratorier. I den här artikeln beskrivs de tester som utförts för att säkerställa metodens analytiska och kliniska funktion.

Material och metoder

Reagenskitet GSP Neonatal Creatine Kinase-MM (3311-0010) som utvecklas av PerkinElmer (Wallac Oy, Åbo) innehåller alla nödvändiga reagenser som GSP-instrumentet behöver för att köra en analys, med undantag för de separat sålda lösningarna GSP Wash Concentrate (4080-0010) och DELFIA Inducer (3304-0010). Reagenskitet innehåller kalibratorer i form av blodprov (CK-MM Calibrators, 6 nivåer), kontroller i form av blodprov (CK-MM Controls, 3 nivåer), analysbuffert (CK-MM Assay Buffer) samt en CK-MM-specifik monoklonal mus-antikropp märkt med ett europiumkelat (Anti-CK-MM-Eu Tracer) och en mikrotiterplatta beklädd med CK-MM-specifik monoklonal antikropp (Anti-CK-MM Microtitration strips).

Analyskörningen påbörjas genom att 3,2 mm stora blodfläckar klipps ut från kalibrator-, kontroll- och provkorten i mikrotiterplattans brunnar. Plattan förflyttas till GSP-apparaten, som doserar analysbufferten och den märkta antikroppen i plattans brunnar. Under en fyra timmar lång intervallskakning-inkubation i 25 °C extraheras CK-MM från blodprovet och binds till märk- och plattantikropparna. Därefter tas blodfläckarna ut ur brunnarna och brunnarna tvättas sex gånger med en tvättlösning. Slutligen tillsätts DELFIA Inducer-lösning i brunnarna för att disassociera europiumet från den märkta antikroppen och bilda fluorescerande kelater. Europiumfluorescensen mäts tidsupplöst och CK-MM-halten i provet är direkt jämförbar med den uppmätta fluorescenssignalen.

För att testa GSP CK-MM-metodens analytiska prestanda framställdes olika blodprov från frivilliga vuxna hos vilka mängden endogen CK-MM varierar mellan 20–90 ng/ml. Blodprovets hematokrit justerades så att den motsvarade den hos nyfödda (35–65 % [6]) före appliceringen på blodprovskort.

En del av proven spetsades med ren CK-MM från människa (Lee Biosolutions, produktnummer #190-26) för att uppnå höga CK-MM-halter. Mycket låga prov framställdes på motsvarande sätt genom att separera röda blodkroppar och suspendera dem i en 0,9 % NaCl, 120 g/l sackaroslösning, eftersom endogen CK-MM lokaliserats i blodets plasma.

Metodens analytiska specificitet för CK-MM-isoenzym analyserades genom att framställa blodprov som var spetsade till en känd halt antingen med ren CK-MM från människa, ren CK-MB från människa (Lee Biosolutions, produktnummer #190-25) eller ren CK-BB från människa (Lee Biosolutions, produktnummer #191-25), samt genom att mäta varje prov med tolv parallella prover i en körning.

Metodens analytiska känslighet bestämdes i enlighet med riktlinjen EP17-A2 från Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [7]. Där fastställs de storheter som beskriver analytisk känslighet: Limit of Blank (LoB), Limit of Detection (LoD) och Limit of Quantitation (LoQ). För att bestämma LoB framställdes fem CK-MM-fria blodprov och för att bestämma LoD samt LoQ framställdes åtta blodprov med låg CK-MM-halt (mellan 1,5–14 ng/ml). Dessa prov mättes i totalt 15 körningar uppdelade på tre olika GSP-instrument och tre olika användare. Körningarna gjordes under fem arbetsdagar med tre olika reagenskit. I varje körning mättes LoB-, LoD- och LoQ-proven med sex parallella prov vardera.

GSP CK-MM-analysens analytiska repeterbarhet bestämdes i enlighet med CLSI:s riktlinje EP05-A3 [8]. För detta framställdes tio olika blodprov med en CK-MM-halt mellan 22,7–7471 ng/ml. För att bestämma den interna spridningen i laboratoriet mättes proven av två användare genom att köra två plattor (varje prov hade två replikat/platta) per dag i totalt 20 dagar med ett GSP-instrument och en uppsättning reagenser. Spridningen mellan uppsättningarna reagenser bestämdes av två användare genom att köra tre plattor (varje platta från olika uppsättningar reagenser, varje prov hade fem replikat/platta) per dag i totalt fem dagar med en GSP-instrument. Spridningen mellan GSP-instrumenten bestämdes av två användare genom att köra tre plattor (varje platta i olika GSP-instrument, varje prov hade fem replikat/platta) per dag i totalt fem dagar med en uppsättning reagenser.

Metodens analytiska linjäritet bestämdes i enlighet med CLSI:s riktlinje EP06-A [9]. Två olika provserier framställdes för detta. Den första serien omfattade

halterna 6,8–8780 ng/ml och framställdes genom att ett prov med tvättade röda blodkroppar från människa spetsades med ren CK-MM och därefter späddes ut i olika proportioner med ett CK-MM-fritt prov som framställdes med tvättade röda blodkroppar. Den andra serien omfattade halterna 30,6–8240 ng/ml och framställdes genom att helblod från människa spetsades med ren CK-MM och därefter späddes ut i olika proportioner med ett helblodsprov med så låg endogen CK-MM-nivå som möjligt. Båda provserier mättes på egen platta med fyra replikat per prov på varje platta. Mätningen upprepades tre gånger med olika uppsättning reagenser varje gång. Mätningarna gjordes med en GSP-apparat.

Metoden är en s.k. enfass sandwich-immunanlys och är därför känslig för fenomen där all analyt i ett prov med mycket hög analythalt inte får plats att bindas till en fast bärare, utan delvis sköljs bort i tvättskedet och tar med sig en del av europiummärkta reagensen (hook effect). Då kan ett prov som i verkligheten är högt ge ett falskt lågt resultat. GSP CK-MM-metodens känslighet för ett sådant fenomen testades genom mätning av en utspädningsserie prov med halterna 708–55000 ng/ml.

GSP CK-MM-metodens kliniska funktion bestämdes genom att mäta blodprov från 700 nyfödda med förmodad normal fenotyp, blodprov från 19 nyfödda pojkar som senare i livet diagnostiserades med DMD samt blodprov från två nyfödda flickor som konsta-

terats vara bärare av en mutation i dystrofingenen (den ena med mutation typ DMD och den andra med Beckers muskeldystrofi, dvs. mutation typ BMD). De anonymiserade överskottsprov som användes för att bestämma den kliniska funktionen och uppgifterna om dem kom från programmet California Biobank Program (SIS-förfrågningsnummer 684). Folkhälsoinstitutet i Kalifornien (California Department of Public Health) ansvarar inte för resultaten och slutsatserna som författarna av denna publikation kommit fram till.

Resultat

Angivet i korsreaktionsprocent var metodens specificitet 98 % för CK-MM, 2,5 % för CK-MB och ingen korsreaktion upptäcktes för CK-BB. Vid analysen av GSP CK-MM-metodens analytiska känslighet var 95-percentilen för resultatfördelningen för LoB, dvs. CK-MM-fria prov, 0,7 ng/ml. Metodens LoD, dvs. den halt vid vilken 95 % av resultatfördelningen resultat är större än LoB, var 2,2 ng/ml. LoQ, dvs. den halt ovanför vilken analysens totala spridning (CV %) var mindre än 20 %, var 6,8 ng/ml.

Av resultaten från bestämningen av metodens analytiska repeterbarhet räknades med hjälp av variansanalys ut spridningens olika komponenter, som sedan slogs ihop för att beräkna metodens totala spridning. Resultaten presenteras i tabellformat (Tabell 1). Av de spridningskomponenter som presenteras beskriver plattans interna spridning resultatens spridning inuti

Prov	Genomsnittlig CKMM-halt (ng/ml)	n	Plattans interna spridning (CV)	Spridning inuti uppsättningen reagenser (CV)	Total spridning (CV)
1	22,7	230	12,3 %	17,0 %	18,1 %
2	71,2	230	6,9 %	10,0 %	10,1 %
3	106	230	6,9 %	13,1 %	13,1 %
4	119	230	5,5 %	12,5 %	13,2 %
5	251	230	7,2 %	11,9 %	12,0 %
6	457	230	7,2 %	10,7 %	10,9 %
7	1155	230	6,3 %	8,4 %	8,5 %
8	2642	230	6,7 %	8,7 %	9,5 %
9	5596	230	4,9 %	8,2 %	8,9 %
10	7471	230	5,9 %	9,4 %	10,6 %

Tabell 1. Analytisk repeterbarhet hos analysmetoden GSP Neonatal Creatine Kinase-MM

plattan (körningen). Spridningen inuti uppsättningen reagenser beskriver den spridning som påverkas av plattans interna faktorer och av faktorer mellan olika dagar och mellan olika instrument. Den totala spridningen beskriver den spridning som påverkas av ovan nämnda faktorer samt spridningen mellan uppsättningen reagenser.

Metoden var linjär i koncentrationsintervallet 6,8–8780 ng/mL som omfattades av den första serien linjäritetsprov med samtliga tre uppsättningar reagenser samt i koncentrationsintervallet 30,6–8240 ng/ml som omfattades av den andra provserien. Som kriterium för linjäritet användes mindre än 20 % avvikelse från linjäriteten. Avvikelsen beräknades genom att jämföra den linjära modell som anpassats till resultaten samt den andra eller tredje gradens polynoma modell som anpassats till resultaten oavsett vilken grads modell som passar resultaten bättre.

Metodens känslighet för ett falskt lågt resultat som orsakas av mycket hög koncentration (hook effect) var sådan att när CK-MM-koncentrationen steg till över 33000 ng/ml så slutade analysignalen att stiga och började sedan smått sjunka medan halten fortsatte



Foto: Henrik Alfthan.

att öka. Men inte ens det högsta analyserade provet på 55000 ng/ml gav någon fluorescenssignal som var mindre än den högsta kalibratorns signal (8000 ng/mL). GSP CK-MM-metodens kliniska funktion på arkiverade blodprov från nyfödda presenteras i ett diagram som visar den uppmätta CK-MM-halten vs. den nyföddas ålder i timmar vid provtagningen (Figur 1).

Sammanfattning och slutsatser

Vi testade den analytiska och kliniska funktionen hos en automatiserad metod för screening av DMD som utvecklas av PerkinElmer. Testerna genomfördes i enlighet med CLSI:s riktlinjer.

Resultaten visar att metodens specificitet för CK-MM-isoenzymet är bra. Den lilla korsreaktion som upptäcktes för CK-MB påverkar inte metodens funktion, eftersom CK-MB-enzymets nivå i blodet även i övrigt är mycket lägre än CK-MM [10]. Metodens specificitet för isoenzymet CK-MM bidrar till att minska mängden felaktiga positiva screeningresultat, eftersom t.ex. halten av CK-BB i blodet kan vara förhöjd av genetiska skäl som inte är kopplade till DMD [11]. Metodens pålitliga mätområde begränsas i fråga om låga halter av LoQ, dvs. den halt ovanför vilken analysens totala spridning (CV %) är mindre än 20 %. Enligt repetierbarhetsresultaten ligger metodens totala spridning sett till dess användningsändamål på en tillräckligt bra nivå ovanför LoQ upp till 8000 ng/ml, vilket är halten i analysens översta kalibrator. Alla spridningskällor som påverkar rutinanalytiken togs med i den analyserade totala spridningen. Linjäritetsprovet samlades in med två provserier som framställdes med något olika provmatriser, och resultaten från båda stöder analysens linjäritet inom hela det koncentrationsintervall som omfattas av provserierna. Därmed utgjorde 6,8 ng/ml–8000 ng/ml ett pålitligt mätintervall för analysen, eftersom både linjäritetskravet och en tillräckligt bra total spridning uppnås inom detta intervall. Detta mätintervall räcker för att få ett tillförlitligt mätande kvantitativt resultat från de flesta prov från nyfödda. Metodens känslighet för falska låga resultat som orsakas av mycket hög provhalt (hook effect) var enligt testresultaten sådan att endast prov med mycket mer än 33000 ng/ml CK-MM skulle kunna ge ett falskt lågt resultat under screenings tröskelnivå (cut-off). Så höga CK-MM-halter har inte upptäckts ens i populationer av nyfödda med DMD-fenotyp.

GSP CK-MM-metodens kliniska funktion i dess användningsändamål undersöktes genom att mäta

anonymiserade arkivprov från nyfödda. Resultaten från normala nyfödda visar att CK-MM-halten är något beroende av åldern på barnet som provet togs från. Det kan tänkas bero på att förlossningen kan orsaka muskelskador som till viss del höjer CK-MM-halten. Oavsett provtagningsålder var CK-MM-halten däremot mycket högre hos pojkar som diagnostiserats med DMD än hos friska nyfödda. Resultatet för en flicka som bar en mutation av typ BMD låg mellan det normala och DMD-gruppen och resultatet för en flicka med en mutation av typ DMD avvek inte från det normala. Bärarnas CK-MM-nivå är alltså ännu inte nödvändigtvis förhöjd hos nyfödda jämfört med normala nyfödda.

Som helhet betraktad lämpar sig den nya GSP CK-MM-mycket väl för sitt användningsändamål, dvs. screening av DMD hos nyfödda. Metoden har i detta ändamål flera fördelar jämfört med traditionella CK-aktivitetsanalyser. Nu blir det alltså möjligt att inleda effektiva screeningprogram för nyfödda när nya behandlingsmetoder blir tillgängliga för DMD.

Tack

Tack till Minna Alkio, Tiina Pihlaja och Anne-Mari Varjonen för hjälpen med det praktiska genomförandet av bestämningarna samt varmt tack till familjerna med DMD-barn i Kalifornien för deras samtycke att använda arkiverade överskottsprov från nyfödda.

Författare

- Teemu Korpimäki, FT, Team leader, Reagent R&D, PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo
- Liisa Meriö, FM, Senior Chemist, Reagent R&D, PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo
- Pauliina Mäkinen, FM, Senior Chemist, Reagent R&D, PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo
- Anne Timonen, FM, Clinical Study Manager, Medical and Scientific Affairs, PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo
- Hanna Polari, FM, Global Business Manager, Neonatal Screening, PerkinElmer, Wallac Oy, Åbo

Litteratur

1. Mendell JR, Shilling C, Leslie ND, Flanigan KM, et al. Evidence-based path to newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2012;71:304-13.

2. Bladen CL, Salgado D, Monges S, et al. The TREAT-NMD DMD Global Database: Analysis of More than 7,000 Duchenne Muscular Dystrophy Mutations. *Human Mutation* 2015;36:395-402.
3. Ciafaloni E, Fox DJ, Pandya S, Westfield CP, et al. Delayed diagnosis in duchenne muscular dystrophy: data from the Muscular Dystrophy Surveillance, Tracking, and Research Network (MD STARnet). *J Pediatr* 2009;155:380-5.
4. Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, Roush K, Bird L, et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013;74:637-47.
5. Moat SJ, Korpimäki T, Furu P, Hakala H, Polari H, Meriö L, Mäkinen P, Weeks I. Characterization of a blood spot creatine kinase skeletal muscle isoform immunoassay for high-throughput newborn screening of Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chem* 2017;63:908-14.
6. Jopling J, Henry E, Wiedmeier SE, Christensen RD. Reference ranges for hematocrit and blood hemoglobin concentration during the neonatal period: data from a multihospital health care system. *Pediatrics* 2009;123:e333-7.
7. CLSI EP17-A2: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition 2012.
8. CLSI EP05-A3: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline, 2014.
9. CLSI EP06-A: Evaluation of the Linearity of a Quantitative Measurement Procedure, Approved Guideline 2003.
10. Mokuno K, Riku S, Sugimura K, Takahashi A, Kato K, Osugi S. Serum creatine kinase isoenzymes in Duchenne muscular dystrophy determined by sensitive enzyme immunoassay methods. *Muscle & Nerve* 1987;10:459-63.
11. Arnold H, Wienker TF, Hoffmann MM, Scheuerbrandt G, Kemp K, Bugert P. High levels of brain-type creatine kinase activity in human platelets and leukocytes: a genetic anomaly with autosomal dominant inheritance. *Blood Cells Mol Dis* 2012;15:62-7.

Laboratorielegen som lærte seg norsk på Skype og flyttet over 900 mil for en ny jobb

Helle Borgstrøm Hager

Sykehuset i Vestfold

helle.hager@siv.no



Ville du ha sittet til sammen 2,5 timer i bil til og fra jobb (på en strekning på 30 km), jobbet 9 timer daglig seks dager i uken - og nesten ikke ha tid til å se din kone og sønn? Det gjorde Sutirtha Chakraborty. Han jobbet i 2016 som overlege på et sykehuslaboratorium i Kolkata (tidligere kjent som Calcutta) i India. Sønnen på 3 år ble passet av besteforeldrene mens foreldrene jobbet og Sutirtha så ham nesten bare mens han sov. Han følte seg utbrent, og han og kona hadde begynt å leke med tanken på å flytte til et annet land. Så kom mailen som skulle forandre alt.

Mailen som måtte være spam?

Mailen var fra en person i et norsk rekrutteringsfirma med ordlyden: «We have a position for a medical biochemist doctor in a Norwegian Hospital. Are you interested?» Jeg var først sikker på at dette var spam, sier Sutirtha, og hadde ikke tenkt til å svare. Men så sa kona mi: «Det kan ikke skade å svare; de kan jo ikke lure deg for penger hvis du bare spør om litt mer informasjon.» Rekrutteringsfirmaet ville imidlertid ikke gi noen informasjon om hvilket sykehus som ønsket å ansette en lege. De ville ha CV'en hans og ville gjennomføre et intervju på Skype. Så fulgte en lang utveksling av e-poster og etter en måneds tid ville sykehuset i Norge snakke med ham.

Sutirtha og jeg sitter i dype lenestoler foran peisen i hotellfoajéen på Scandic Oslo Airport hotel. Vi har deltatt på Noklusråd for sykehuslaboratoriene der vi blant annet har hatt gruppearbeid om referanseintervaller – om hvordan de etableres, verifiseres og brukes. Sutirtha fortsetter: - Jeg ble intervjuet på Skype av seksjonsleder ved Avdeling for laboratoriemedisin, Helse Fonna. Laboratorium for medisinsk biokjemi i Haugesund hadde ikke hatt overlege ansatt på laboratoriet de siste 3-4 år. Jeg fikk ikke så mange spørsmål,

og det jeg husker best var at jeg ble spurt om jeg ville flytte med eller uten familie hvis jeg fikk jobben. Jeg svarte at jeg ville ta med familien. Det var nok rett svar, for nå ville de at jeg skulle komme til et fysisk intervju. Det er nå de skal ta penger fra meg, tenkte jeg. Men nei, sykehuset skulle betale for reisen til Norge og rekrutteringsbyrået skulle ordne alt. Jeg måtte bare ordne med visum selv. Reisebyrået i India kunne ikke forstå at jeg ville reise til Norge. - Ingen reiser til Norge, sa de. Dra heller til Paris eller til Sveits!

Første møte med Norge

Dagen før han skulle reise til Norge, fikk han visumet. Flyturen gikk fra Kolkata til Chennai og derfra til München og videre til Oslo. Han landet på Oslo lufthavn 17. mai 2017. Intervjuet skulle finne sted i Haugesund dagen etter. Sutirtha overnattet på et hotell på flyplassen, og der var det kun to overnattende gjester på den norske nasjonaldagen. - Den andre gjesten ble min første norske venn, forteller han. Han var vaskehjelp på et cruiseskip og var på vei til ferie i Thailand. Jeg ringte hjem til kona mi og sa at Norge måtte være et rikt land, der selv vaskehjelper kan bo på hotell og reise på ferie til fjerne reisemål!

- Neste dag fløy jeg til Haugesund sammen med damen fra rekrutteringsbyrået. I Haugesund ble jeg intervjuet av flere personer ved sykehuset og fikk en omvisning på laboratoriet og sykehuset. Kristin Aakre, overlege ved LKB, Haukeland Universitetssykehus deltok også på intervjuet via Lync. Jeg fikk dessuten se sykehusleiligheten jeg ville få bo i hvis jeg begynte å jobbe der. Det var kjempedårlig vær mens jeg var i Haugesund. Det var regn, regn og regn hele tiden. Jeg ble tatt med på en fjelltopp for å få se utsikten utover byen, men jeg så ingenting, bare regn og tåke, sier han med et smil.

Lærte seg norsk på Skype

En måned senere fikk han beskjed om at jobben var

hans. Men det var nå den virkelige jobben begynte. Han måtte skynde seg å lære seg norsk. - Rekrutteringsfirmaet sa at det ville ta seks måneder. Jeg fikk en ung norsklærer ved en språkskole i Spania. Hun sa det ville ta minst ett år. Hun var veldig streng, men hyggelig og meget flink. På kvelden etter jobb studerte jeg intensivt norsk fra ca. kl. 20-23 hver kveld. Undervisningen foregikk som e-læringsmoduler med masse hjemmeleker og innleveringer. I tillegg fikk jeg 3-4 timer med norsklærer på Skype hver uke. Det var veldig slitsomt, men kona støttet og oppmuntret meg; hun ønsket nok å flytte til Norge enda mer enn det jeg gjorde. Jeg så også på NRK-nett-TV der jeg særlig likte den norske komiserien *Side om side*. Underveis ble det sendt *progress reports* til rekrutteringsfirmaet, som passet på at jeg overholdt avtalen med sykehuset. Det var også mange formalia å ordne, som at Helsedirektoratet i Norge skulle godkjenne min indiske utdanning, slik at jeg ikke måtte ta medisinstudiet på nytt i Norge.

Juli 2017 flyttet Sutirtha til Haugesund - alene. Han måtte bestå en norsk språkeksamen innen to måneder, den såkalte B2-eksamen, som er en relativt avansert muntlig og skriftlig prøve for innvandrere, samt gjennomføre to obligatoriske kurs for å oppnå norsk autorisasjon. - Jeg likte meg godt i byen og på sykehuset. Men folk i Haugesund snakket ikke norsk slik jeg hadde lært på Skype. De snakket nynorsk og mange ulike dialekter – og jeg følte at jeg ikke forstod noen ting, selv om jeg nettopp hadde bestått B2-eksamenen. Hva betyr korleis? Og dokker? Jeg var frustrert og ville slutte i jobben. Kanskje jeg ikke er god nok? Kanskje dere har valgt feil lege, sa jeg. Jeg ble overtalt til å bli, og ble fortalt at det var helt vanlig at det var vanskelig de første månedene. Jeg fortsatte å studere norsk på egenhånd, gjennom avislesing, radio og TV. Jeg så på komiserien *Side om side* og serien *Skam*. Etter 6-8 måneder i Norge begynte språkforståelsen å bli bedre. Sutirtha er åpenbart en svært flittig og flink elev. Under fagmøtet vi har deltatt på, har han flere ganger bedt om mikrofonen for å stille spørsmål. Han snakker forbløffende godt norsk og stiller intelligente og relevante spørsmål.

Hvordan er forholdene for spesialister i medisinsk biokjemi i India?

- I India er det stor variasjon i kvalitet på helsepersonell og kvalitet på laboratoriene, forteller Sutirtha. Det utdannes 15-20 000 leger hvert år. Utdanning ved offentlige universiteter er gratis, men man kan også



betale for utdanning ved private lærersteder. Etter gjennomført studium må alle lese til en omfattende eksamen. Hvor bra du gjør det på denne eksamenen, vil avgjøre om og hvilken spesialistutdanning du kan søke deg til. Mange blir gående uten arbeid etter endt studium, fordi de ikke består eksamenen eller fordi de ikke oppnår et godt nok resultat på prøven. Sutirtha må åpenbart ha vært en flink student, da som nå. Han må ha bestått eksamenen med god margin for han kunne velge mellom flere spesialistutdanninger. Han valgte medisinsk biokjemi fordi han var spesielt interessert i faget. -Som lege i spesialisering får du dårlig lønn og du behandles nesten som en slave, fortsetter han. Lønnen for spesialister ved offentlige sykehuslaboratorier er også dårlig, mens lønnen ved private laboratorier er forholdsvis bra. Utdanning og opplæring for annet helsepersonell som f.eks. bioingeniører er mye bedre i Norge enn i India. Her i Norge er bioingeniørene veldig flinke; i India er kompetansen svært varierende. I Kolkata alene er det ca. 500 laboratorier, men kvaliteten er varierende og det er ingen kontroll fra myndighetene, forteller hans. En annen ting som er forskjellig er at man i Norge bruker ressurser på å utvikle eller verifisere referanseintervaller. I India brukes amerikanske referanseintervaller eller firmaenes anbefalte referanseintervaller. Men en ting som jeg synes er dumt

i Norge er at det brukes for mye laboratorieanalysepakker. Det medfører at rekvirentene bruker hodet for lite og bestiller for mange unødvendige blodprøver.

"Gal som flytter til Norge"

- Venner og familie i India synes at jeg er litt gal som har flyttet til Norge. Du vil få melatoninmangel, sa de. Men vinteren på Vestlandet er forholdsvis mild og jeg er vant til regn, så det er ikke så ille. Jeg visste ikke hva Gore-Tex var før jeg flyttet hit, men nå tenker jeg ofte at jeg skulle hatt hud laget av Gore-Tex! Jeg har måttet kaste jakkene jeg hadde med meg fra India og har kjøpt meg en skikkelig allværsjakke. Jeg har lært å leve etter det norske uttrykket: Det finnes ikke dårlig vær, bare dårlige klær, sier han og smiler.

- Familien flyttet til Norge tre måneder etter meg. Kona mi lærer seg norsk nå og håper å kunne jobbe i bank etter hvert. Sønnen vår snakker flytende norsk og erter meg og sier at jeg snakker rart. Han begynner på skolen til høsten. I september 2018 fikk jeg norsk spesialistgodkjenning i medisinsk biokjemi. Vi har kjøpt en liten leilighet og en bil – og ser lyst på fremtiden. Til sommeren kommer kanskje min mor på besøk. Hun støttet meg da jeg spurte henne i 2016 om jeg skulle svare på mailen og senere da jeg lurte på om jeg skulle takke ja til stillingen i Haugesund. «Du kommer til å angre hvis du ikke forsøker dette», sa hun.

Sutirtha Chakraborty (38)

- Vokste opp i Durgapur, en by i India 170 km fra Kolkata.
- Studerte medisin ved Universitetet i Kolkata, uteksaminert i 2004. Kolkata, tidligere kjent som Calcutta, er hovedstaden i den indiske delstaten Vest-Bengal.
- Begynte som lege i spesialisering i medisinsk biokjemi i 2005, og jobbet som fastlege på kveldstid. Ble ferdig spesialist i 2009.
- Arbeidet som overlege ved privat laboratorium i New Delhi ett år, senere jobbet på laboratoriet ved Peerless Hospital, et privat sykehus i Kolkata med 400 senger.
- Har arbeidet som teknisk revisor i medisinsk biokjemi for et nasjonalt akkrediteringsorgan.
- Invitert som foreleser til USA av American Association for Clinical Chemistry (AACC) flere ganger.
- Medforfatter på CLSI-dokumentet C49 Analysis of Body Fluids in Clinical Chemistry.
- Skrevet noen vitenskapelige artikler, blant annet to artikler sammen med Anders Kallner.
- Morsmålet er bengali, men snakker også flytende engelsk og hindi og forstår urdu.
- Bor og jobber i Haugesund fra 2017, en by og en kommune i Rogaland på vestkysten av Norge med ca. 45 000 innbyggere. Til sammenlikning er det ca. 500 000 innbyggere i Durgapur og ca. 5,5 millioner innbyggere i Kolkata.





Tailored for emergency use



B·R·A·H·M·S PCT direct: Whole blood Procalcitonin test at point of care

The new **Thermo Scientific™ B·R·A·H·M·S PCT™ direct** test facilitates a fast diagnosis of bacterial infection and sepsis at point of care from just one drop of blood – at any time, independent of lab service availability or internal logistics.¹

References: **1.** Kutz A et al., Clin Chem Lab Med 2016; 54(4); 577-84

Find out more at thermoscientific.com/procalcitonin

This product is not FDA cleared. Availability is related to the registration status in the countries.

© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. B·R·A·H·M·S PCT and all other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Centrallaboratoriet på Rigshospitalet, en film fra Poul Astrups tid

Henrik L. Jørgensen

Klinisk Biokemisk Afdeling

Amager Hvidovre Hospital

hlj@dadlnet.dk



På et loftsrum på klinisk biokemisk afdeling på Bispebjerg Hospital havde en kasse med gamle filmruller (fig 1) i årtier stået og samlet støv, indtil den pludselig for nogle år siden så dagens lys igen i forbindelse med en oprydning. Hvordan kassen var endt der melder historien ikke noget om. På en label på en af filmrullerne kunne jeg se, at filmen havde titlen ”Centrallaboratoriet i funktion”, og at den var indspillet af et firma, der hed Klinisk Film a/s ved Dr. Poul Hjert-holm. Jeg gemte den på mit kontor, da jeg syntes, det ville være synd blot at smide den ud. Her lå den så i yderligere en del år på en hylde og samlede mere støv.

I 2016 havde DSKB 60 års jubilæum, og vi ville gerne i bestyrelsen fejre det ved DSKBs efterårsmøde i Fredericia med et historisk tilbageblik. Talen faldt da på de gamle filmruller, jeg tidligere havde fortalt bestyrelsen om. Det blev besluttet, at vi skulle få filmen digitaliseret for se at, om materialet derpå kunne bruges til lejligheden. Som sagt så gjort opsøgte jeg



Figur 1. Til venstre ses de to filmruller, og til højre ses de to BASF lydband samt en maskinskrevet transskription af det engelsksprogede lydspor.

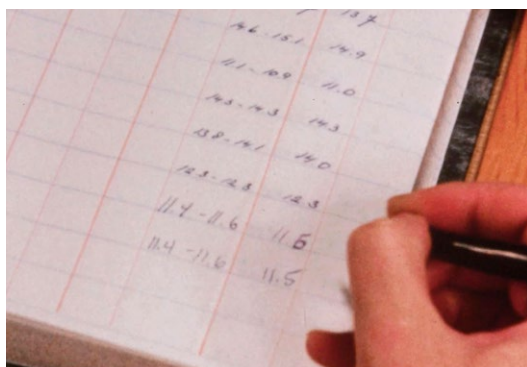
et lille firma i Herlev, som havde specialiseret sig i at digitalisere gamle film. Det skulle vise sig ikke at være helt ligetil. Lydsporet til filmen var på separate, meget gamle BASF bånd, der krævede en helt særlig afspiller, som firmaet i Herlev ikke havde. Dette til trods for, at jeg aldrig før har set så mange gamle båndafspillere, kamaraer mm. samlet på ét sted. De fandt heldigvis et andet firma, som kunne læse lydbåndene og digitalisere dem. Derefter skulle lyd og billede synkroniseres og digitaliseres til det færdige resultat. Det viste sig at være en rigtig god investering. Filmen er en tour de force gennemgang af et topmoderne laboratoriums arbejde i 1962 – Centrallaboratoriet på Rigshospitalet under ledelse af Poul Astrup.

Poul Astrup (1915-2000) var en af de helt store pionerer indenfor dansk klinisk biokemi. Han blev medicinsk kandidat fra Københavns Universitet i 1939 og blev dr.med. i 1944. Efter forskellige stillinger ved Københavns Universitets biokemiske institut, Finseninstituttet, Rigshospitalet, De Gamles By og Blegdamshospitalet blev han laboratorieførstander ved Blegdamshospitalet 1952-54. Han spillede der en stor rolle i forbindelse med den danske polioepidemi, som i disse år ramte flere tusinde danskere. Et stort antal børn med respirationslammelse blev indlagt på Blegdamshospitalet, hvor anæstesiologen Bjørn Ibsen systematiserede assisteret respirationsbehandling til disse patienter. Poul Astrups bidrag var at udvikle metoder til at kontrollere og styre patienternes pH, pCO₂, pO₂ mm. under denne behandling, som sænkede dødeligheden for de hårdest ramte fra langt fra over 50% til langt under 50% (*BMJ* 1954; 1(4865): 780-786).

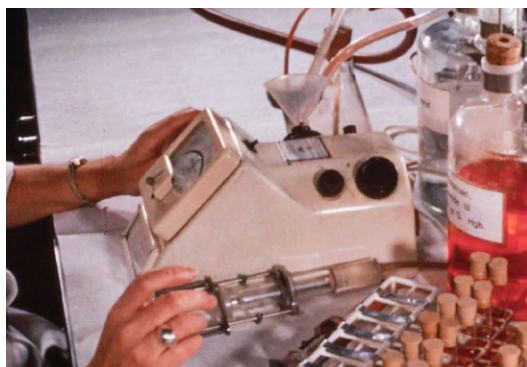
I 1954 blev Poul Astrup ansat som overlæge i det nyoprettede speciale, Klinisk Kemi, på Centrallaboratoriet på Rigshospitalet. Før 1954 var det de kliniske afdelinger selv (først og fremmest de medicinske



Figur 2. Mundpipetter (Centrallaboratoriet i funktion, Klinisk Film a/s)



Figur 4. Bogføring af gennemsnitsberegning af dobbeltbestemmelse af hæmoglobinkoncentration i gram % (Centrallaboratoriet i funktion, Klinisk Film a/s)



Figur 3. Fotometer til aflæsning af hæmoglobinkoncentration i gram %. (Centrallaboratoriet i funktion, Klinisk Film a/s)



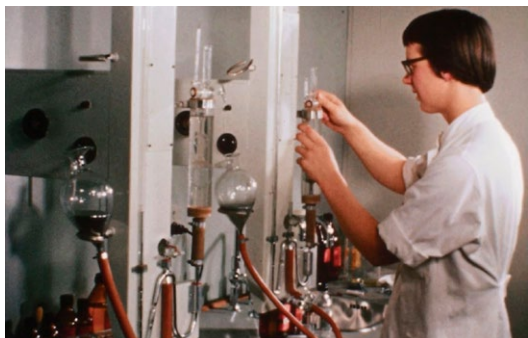
Figur 5. Bestemmelse af carbamidkoncentrationen med Conway metoden. (Centrallaboratoriet i funktion, Klinisk Film a/s)

afdelinger), som forestod den analytiske virksomhed, men med ansættelsen af Poul Astrup blev det nu opgaven med Astrups egne ord i afdelingens 25 års jubilæumsskrift fra 1979 "at etablere en egentlig centraliseret analytisk virksomhed med ensartethed i rekvisitionssystem og svarsystem, med hensigtsmæssig udnyttelse af den forhåndenværende apparaturmasse og forøgelse af denne, at få orden i forskrifter, indføre et kvalitetskontrollsystem etc., etc."

Det må siges at være kommet på plads i 1962, hvor filmen foregår. Den tager os igennem rekvisitionsprocessen, blodprøvetagningen, analyseprocessen og den postanalytiske svarafleveringsfase. Selvom meget i filmen virker utrolig gammeldags, fx afpipettering med mundpipetter, fig 2, analysering af en prøve ad gangen for hæmoglobin ved manuel aflæsning af et fotometer, fig 3, og beregning af gennemsnittet af en dobbeltbestemmelse af hæmoglobin, sirligt indført i

en analysebog, fig 4, så viser filmen også forgængerne til mange af de processer, der bruges i dag: Omhyggelig patientidentifikation, mærkning af prøvetagningsglas, intern kvalitetssikring med kontrolmateriale med kendt værdi osv.

Desværre bliver der ikke nævnt produktionsstatistikker i filmen, men der er ingen tvivl om, at klinikerne den gang måtte klare sig med væsentligt færre blodprøvesvar per indlagt patient end i dag. Som udgangspunkt skulle der tages ét prøvetagningsglas per parameter, som skulle analyseres, og hvert af disse glas blev ført til sin egen analysestation, hvor analyseringen kunne være ganske tidskrævende. Filmene gennemgår fx i detaljer, hvorledes carbamid blev analyseret efter Conway metoden (*Biochem J* 1942; 36: 655–661), fig 5, en særdeles tids- og personalekrævende proces, som lagde et naturligt loft over det totale antal analyser.



Figur 6. Van Slyke manometer. (Centrallaboratoriet i funktion, Klinisk Film a/s)



Figur 7. Centrallaboratoriet på Rigshospitalet (ca. 1960). Fra venstre Lis Emme, Ingrid Due, Alice Frigast, Thomas Laursen og Poul Astrup (Klinisk Biokemisk Afdelings 25 års jubilæumsskrift, 1979)

En andet eksempel på en tidskrævende proces er analyse af blodgasser på et Van Slyke manometer (*J Biol Chem* 1924; 61: 523-573), fig 6.

Filmen giver et utrolig spændende indblik i fortidens laboratorieverden, og den kan frit downloades fra DSKBs hjemmeside (www.dskb.dk) og vises i fx undervisningssammenhænge. Filmen i dens fulde længde er delt i to filer på hver ca 2.5 GB. Den ligger tillige i en forkortet version på hjemmesiden, som kun fylder lidt under 200 MB. Selvom Poul Astrup selv var med til at tilrettelægge filmen optræder han desværre på intet tidspunkt i den. Det sidste billede i denne artikel er derfor et, hvor Poul Astrup selv er med på sammen med kolleger fra centrallaboratoriet, fig 7, ikke fra filmen, men igen fra afdelingens 25 års jubilæumsskrift.

Ud over at være chef for centrallaboratoriet på Rigshospitalet frem til 1979, blev Poul Astrup også udnævnt til lektor i klinisk kemi og laboratorieteknik ved Københavns Universitet i 1958 og til professor samme sted fra 1964. Han bestred tillige en række tillidsposter blandt andet som formand for Dansk selskab for klinisk kemi og klinisk fysiologi (DSK-KKF), 1956–61, var æresdoktor ved universiteterne i Birmingham og Edinburgh og modtog et utal af priser, herunder Novo prisen i 1970.

I dag kan vi i øvrigt alle stadigvæk se et konkret resultat af Poul Astrups virke, idet han i samarbejde med Radiometer udviklede firmaets første ABL, nemlig ABL1, den første i rækken af apparater, som har ført til dem, vi kender nu.



Foto: Henrik Alfthan.

Ett litet tips som kanske kan hjälpa då man har små provvolym

Anders Larsson

Klinisk Kemi och Farmakologi, Uppsala

anders.larsson@akademiska.se

Axel Wallengren, var en svensk humoristisk författare som levde på senare delen av 1800-talet. Han skrev under pseudonymen Falstaff, fakir. Han mest citerade uttalande är nog: Vattnet är ett farligt gift, vilket omger Visby stift.

Vatten är inte alltid farligt utan kan ibland till och med vara nyttigt. Rätt använt verkar det tex kunna användas för att minska dödvolymer åtminstone på vissa analysplattformar. Det är ett enkelt tips som kan vara värt att prova när man står med ett prov som knappt täcker botten på röret.

Vi använder ofta en Mindray BS-380 för att köra forskningsstudier på. För de som inte känner till instrumentet så kan man säga att det i princip är en kinesisk modern variant av Hitachi 717. Då tror jag att de flesta av er har en bild av vilken typ av instrument vi talar om. Instrumentet har en nivåavkännare för provvolym som förhindrar att provproben slår i botten av röret när vi använder inhängs rör. När vi kör små volymer så använder vi i regel ett inhängsrör inuti våra vanliga standardplaströr för att minska provvolymerna. När vi kör biobanksprover så brukar varje provbrun bestå av ca 230–250 ul. Om instrumentet har en dödvolum runt 200 ul så blir det problematiskt att analysera proverna även om vi har inhängsrör.

Vi fick lära oss för något år sedan att om man hällde vatten i ytterröret och sedan satte tillbaka inhängs röret så att det var omgivet av vatten så minskade dödvolymer väsentligen. Figur 1 och 2 visar serumvolymerna som är kvar i röret efter analys. I det vänstra röret (med vatten) så är det ca 15–20 ul kvar och i det högra (utan vatten) är det ca 150 ul kvar i röret. På bilderna använde vi små ”Eppendorf rör” för att få så smal botten som möjligt i röret. Vatten i ytterröret verkar fungera bra även för andra typer av inhängsrör.

Vi har använt den här tekniken under ett år och det har sparat oss en hel del irritation då vi slipper en massa stopp i analysarbetet på grund av att sampleproben slår i botten av röret och stannar. Helt klart är att det minskar behovet av dödvolum. Däremot har

jag ingen aning om hur det fungerar. Jag har hört lite olika förklaringar, men ingen känns helt övertygande.

Det här är ju ingen spjutspetsforskning, men ändå praktiskt. Att ta lite vatten från kranen och hålla i ytterröret innebär ingen större arbetsinsats eller kostnad och skall inte påverka innehållet i provet. Det kräver inte heller några finjusteringar av sampleprobens läge. Det här är ett litet tips som kan vara värt att prova när ni har små provvolym. Det är inte säkert att det fungerar på alla analysplattformar, men det kan ändå vara värt ett försök.

Simma lugnt!

Observationen om vattnet runt Visby stift fanns med i fakir Falstaffs bok ”Professorn” som hade undertiteln ”Allt mänskligt vetande i sammandrag”. En personlig reflektion är att det kanske inte var allt mänskligt vetande som fanns med i boken, för jag hittade ingenting om användning av vatten för att minska dödvolymer vid provanalys.



Bild av rör med vatten i ytterröret till vänster och rör utan vatten till höger. Vätskenivån i ytterröret är knappt skönjbar.

Til manuskriptforfattere

Litteraturhenvisninger (maksimalt 15 - med mindre annet er avtalt spesielt) nummereres i den rekkefølge de angis i manuskriptteksten og skrives i Vancouver-stil. Dersom artikkelen har mer en syv forfattere listes de seks første etterfulgt av "et al". Forfatternes etternavn skrives først, deretter initialer (for og mellomnavn), forfatterne skilles 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:

1. 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:

2. 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:

3. 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:

4. 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:

5. 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:

6. 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:

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

Internett kilde:

8. 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 vitenskapelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av: Lise Bathum (Kobenhavn), Line Rode (Kobenhavn), Anna Linko-Parvinen (Turku), Eeva-Riitta Savolainen (Oulu), Ísleifur Ólafsson (Reykjavík), Leifur Franzson (Reykjavík), Helge Rootwelt (Oslo), Per Bjellerup (Västerås), Lars Breimer (Örebro), Lutz Schwettmann (Alesund). **Ordförande:** Yngve Thomas Bliksrud (Oslo).

Redaktionen för Klinisk Biokemi i Norden

Hovedredaktør: Helle Borgstrøm Hager · Tryk: Clausen Grafisk



Danmark

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



Island

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



Finland

Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB
Topeliusgatan 32
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
henrik.alfthan@hus.fi



Norge

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



Sverige

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



NFKK

Professor Henrik L. Jørgensen
Klinisk Biokemisk Afdeling
Hvidovre Hospital/Københavns
Universitet
hlj@dadlnet.dk



Siemens High Sensitive Troponin I Meeting Universal Guidelines

Offer improved cardiac patient care with a true high-sensitivity troponin I assay that meets the current guideline recommendations (1, 2, 3).

Have confidence in patient results at the low end of the assay range with precision that provides the ability to measure slight, yet critical, changes between serial troponin I value. The assay can be used with 1-, 2- and 3-hour algorithm.

siemens-healthineers.com



*1 Roffi M, et al./Task Force. Eur Heart J. 2015 ;37:267-315.

*2 Amsterdam EA, et al. Circulation. 2014 ;130 :e344-426.

*3 Apple FS, et al. Clin Biochem. 2015 ;48 :201-3.